

Université de Sherbrooke

**Développement d'un modèle de suivi en imagerie TEP de la cardiotoxicité induite
par chimiothérapie chez la souris**

Par
Suzanne Gascon
Programme de Sciences des Radiations et Imagerie Biomédicale

Mémoire présenté à la Faculté de médecine et des sciences de la santé
en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (M. Sc.)
en Sciences des Radiations et Imagerie Biomédicale

Sherbrooke, Québec, Canada
février, 2015

Membres du jury d'évaluation
Roger Lecomte, codirecteur de maîtrise, Dép. de médecine nucléaire et radiobiologie
Éric E. Turcotte, codirecteur de maîtrise, Dép. de médecine nucléaire et radiobiologie
Martin Lepage, Dép. de médecine nucléaire et radiobiologie
Stephen Cunnane, Dép. de médecine

© Suzanne Gascon, 2015

RÉSUMÉ

Développement d'un modèle de suivi en imagerie TEP de la cardiotoxicité induite par chimiothérapie chez la souris

Par Suzanne Gascon

Programme de Sciences des radiations et imagerie biomédicale

Mémoire présenté à la Faculté de médecine et des sciences de la santé en vue de l'obtention du diplôme de maître ès science (M. Sc.) en Sciences des radiations et imagerie biomédicale, Faculté de médecine et des sciences de la santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada, J1H 5N4

Le cancer est la première cause de décès au Canada et le cancer du sein est la forme la plus courante de cancer chez la femme. Le traitement privilégié lors d'un diagnostic de cancer du sein est l'utilisation de la doxorubicine, un agent de chimiothérapie de la famille des anthracyclines. Cet agent grandement utilisé en clinique permet de traiter différents types de cancer et possède un large spectre d'action. Cependant, son utilisation est limitée par l'apparition d'effets secondaires, lesquels peuvent se manifester longtemps après l'arrêt des traitements. L'un de ces effets particulièrement nocifs est le développement d'une cardiotoxicité, qui est dépendante de la dose et conduit à une insuffisance cardiaque congestive et irréversible. Les techniques utilisées en clinique pour déterminer le développement d'une cardiotoxicité reposent principalement sur l'évaluation de la fraction d'éjection du ventricule gauche (FEVG).

Le projet comprend deux objectifs; 1) développer un modèle de cardiotoxicité, induite par l'administration de doxorubicine, chez la souris; 2) effectuer un suivi longitudinal par tomographie d'émission par positrons (TEP) afin de vérifier si certains paramètres métaboliques ou physiologiques permettraient de prédire le développement de la cardiotoxicité. Le suivi est effectué avec deux traceurs, le ^{11}C -acétoacétate (^{11}C -AcAc), permettant d'évaluer à la fois la captation et la clairance du traceur par le cœur, mais semble avoir l'avantage de mettre en évidence l'insuffisance cardiaque sans avoir recours à un test à l'effort, comme le ^{11}C -acétate. Le deuxième traceur est le ^{18}F -FDG, couramment utilisé pour les examens cliniques, il permet de mesurer la consommation de glucose par le tissu cardiaque ainsi que la FEVG. Les deux traceurs ont été analysés à l'aide de modèles pharmacocinétiques afin de vérifier si les changements observés permettent de prédire rapidement le développement de la cardiotoxicité, avant d'atteindre un état de non-retour.

Les travaux réalisés ont permis de mettre au point un modèle de cardiotoxicité chez la souris suite à l'administration de chimiothérapie. Les résultats obtenus démontrent que des changements révélant le développement d'insuffisance cardiaque peuvent être observés rapidement par une diminution de la captation myocardique et de la clairance du ^{11}C -AcAc, indice de la perfusion et du métabolisme oxydatif myocardique, suivi d'une augmentation du taux de transfert du glucose vers le cœur qui arrive au même moment que la diminution de la FEVG.

Mots-clés : Cardiotoxicité, doxorubicine, tomographie d'émission par positrons (TEP), cancer du sein, ^{11}C -acétoacétate, ^{18}F -FDG.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ -----	II
LISTE DES FIGURES -----	VI
LISTE DES ABRÉVIATIONS -----	IX
1. INTRODUCTION -----	1
1.1 Cancer-----	1
1.2 Les principaux traitements anticancéreux -----	1
1.2.1 La chirurgie-----	2
1.2.2 La radiothérapie-----	2
1.2.3 La chimiothérapie -----	3
1.3 Les agents de chimiothérapie-----	3
1.3.1 Les anti-métabolites -----	4
1.3.2 Les agents alkylants -----	5
1.3.3 Les antimitotiques -----	5
1.3.4 Les antibiotiques -----	6
1.4 Les anthracyclines -----	6
1.4.1 Mécanisme d'action des anthracyclines -----	7
1.5 Maladies cardiaques -----	8
1.6 Cardiotoxicité -----	9
1.6.1 Mécanisme de cardiotoxicité de la doxorubicine -----	10
1.6.1.1 Stress oxydatif-----	11
1.6.1.2 L'homéostasie calcique -----	12
1.6.1.3 Liaison avec les phospholipides -----	12
1.6.1.4 La production de métabolites -----	13
1.6.2 Stratégie de cardioprotection-----	13

1.7	Tomographie d'émission par positrons -----	15
1.7.1	Principes de la tomographie d'émission par positrons -----	15
1.7.2	Les radiotraceurs ^{18}F -FDG, ^{11}C -Ac et ^{11}C -AcAc -----	17
1.8	Analyse de la fonction cardiaque-----	19
1.9	Analyse pharmacocinétique -----	20
2.	OBJECTIFS DE L'ÉTUDE -----	24
3.	MATÉRIELS ET MÉTHODES -----	26
3.1	Culture cellulaire et implantation de tumeurs -----	26
3.2	Préparation des doses de doxorubicine et son administration -----	26
3.3	Définition des différents protocoles -----	27
3.3.1	Protocole #1 -----	28
3.3.2	Protocole #2 -----	28
	Protocole #3-----	29
3.3.4	Protocole #4 -----	29
3.3.5	Protocole #5 -----	29
3.4	Séance d'imagerie TEP -----	30
3.5	Validation de la fonction d'entrée-----	31
3.6	Reconstruction d'images dynamiques-----	32
3.7	Reconstruction d'images synchronisées -----	32
3.8	Analyse de la fraction d'éjection du ventricule gauche -----	33
3.9	Modélisation pharmacocinétique-----	34
3.10	Correction par la méthode de factorisation de matrice non-négative -----	35
3.11	Préparation des échantillons pour analyses histopathologiques-----	36
3.12	Analyses statistiques-----	36
4.	RÉSULTATS -----	37
4.1	Validation de la fonction d'entrée-----	37

4.2	Protocole #1	42
4.3	Protocole #2	43
4.4	Protocole #3	49
4.5	Protocole #4	49
4.6	Protocole #5	56
4.6.1	Mesure de la FEVG	56
4.6.2	Analyses pharmacocinétiques	58
4.6.3	Analyses histologiques	63
5.	DISCUSSION	66
5.1	Validation de la fonction d'entrée	66
5.2	Développement d'un modèle de cardiotoxicité chez la souris	68
	CONCLUSION	76
	PERSPECTIVES D'AVENIR	78
	REMERCIEMENTS	81
	LISTE DES RÉFÉRENCES	82
	ANNEXE	92
10.1	Illustration des différents protocoles de traitement utilisés	92
10.1.1	Protocole #1	92
10.1.2	Protocole #2	92
10.1.3	Protocole #3	93
10.1.4	Protocole #4	93
10.1.5	Protocole #5	94

LISTE DES FIGURES

- Figure 1** – Schéma représentant les différents compartiments et constante d'échange présent dans les équations des modèles d'analyse pharmacocinétique des traceurs ^{18}F -FDG et ^{11}C -AcAc.23
- Figure 2** – Analyse de la fraction d'éjection du ventricule gauche d'une souris contrôle, suite à l'injection de ^{18}F -FDG, après réorientation et application des axes pour délimiter les parois cardiaques.33
- Figure 3** – Courbes d'activité dans le temps de la cavité ventriculaire gauche et de la paroi myocardique extraites d'une série d'images dynamiques effectuées avec du ^{11}C -acétoacétate.....38
- Figure 4** – Courbes d'activité en fonction du temps, de la cavité ventriculaire gauche et de la paroi myocardique extraites des images obtenues avec du ^{18}F -FDG.39
- Figure 5** – Graphique représentant une comparaison entre l'interpolation de l'activité mesurée par les prélèvements sanguins manuels et de la courbe de la veine cave dérivée d'une série d'images obtenue après injection de ^{11}C -acétoacétate.....40
- Figure 6** – Graphiques représentant les courbes d'activité, en fonction du temps, extraites de la cavité ventriculaire, de la paroi myocardique et de la veine cave dérivées de l'image pour des études effectuées avec (A) le ^{11}C -AcAc et (B) le ^{18}F -FDG.41
- Figure 7** – Courbes de l'évolution de la croissance des cellules MC7-L1 et MC4-L2 dans le temps suite à l'implantation chez un modèle de souris. (A) Sans traitement (Reproduit avec la permission de Elsevier [Aliaga *et al.*, 2004]) et (B) avec traitement hebdomadaire de doxorubicine ($n=4$).....44
- Figure 8** – Mesure (A) du taux de consommation de glucose par les cellules tumorales (TMRG) comparée à leur croissance cellulaire et (B) la pente de la régression linéaire du TMRG des deux lignées cellulaires en fonction des traitements reçus.45
- Figure 9** – Évaluation du métabolisme cardiaque et l'application d'une régression linéaire en mesurant (A et D) le taux métabolique du glucose par le cœur (MMRG), (A et B) la captation (K_1) et (A et C) la clairance myocardique du traceur (k_2) en fonction des traitements reçus ($n=4$).47

- Figure 10** – Évaluation de la fonction cardiaque, en mesurant (A) la fraction d'éjection du ventricule gauche et les volumes ventriculaires en fin de diastole et en fin de systole, et (B et C) analyse de la pente en fonction du temps par régression linéaire.....48
- Figure 11** – Graphique des volumes ventriculaires (A et B) en fin de diastole, (C et D) en fin de systole et les pentes de régression linéaire sur (B) les volumes diastoliques et (D) les volumes systoliques pour les deux groupes de souris traitées avec des doses de 7,5 ($n=4$) et 9 mg/kg ($n=3$).51
- Figure 12** – Graphique de l'évaluation de (A) la fraction d'éjection du ventricule gauche et (B) les pentes obtenues suite à une régression linéaire pour le groupe de souris traitées avec des doses de 7,5 mg/kg ($n=4$) et le groupe de souris traitées avec des doses de 9 mg/kg ($n=3$).52
- Figure 13** – Évaluation (A) du taux de consommation du glucose par le cœur (MMRG), (B) du taux de transfert du glucose dans le cœur (K_i), (C) de la régression linéaire du MMRG et (D) de la régression du K_i pour les deux groupes de souris traitées avec des doses de 7,5 mg/kg ($n=4$) ou des doses de 9 mg/kg ($n=3$).54
- Figure 14** – Analyse pharmacocinétique (A) à trois compartiments et (B) une régression linéaire pour mesurer le taux de captation myocardique des souris traitées avec des doses de 7,5 mg/kg ($n=4$) ou avec des doses de 9 mg/kg ($n=3$).55
- Figure 15** – Évaluation des volumes ventriculaires (A) en fin de diastole et (B) en fin de systole, pour le groupe ctrl ($n=7$) et le groupe traité ($n=4$) à partir des images synchronisées sur l'ECG d'une acquisition au ^{18}F -FDG.....57
- Figure 16** – Évaluation de la fraction d'éjection du ventricule gauche (FEVG) des souris contrôles ($n=7$) et des souris traitées à la doxorubicine ($n=4$), tout au long du suivi....58
- Figure 17** – Évaluation du taux de transfert du glucose dans le cœur (K_i) par analyse Patlak, pour le groupe de souris ctrl ($n=7$) et le groupe de souris traitées ($n=4$) tout au long du suivi.59
- Figure 18** – Évaluation des valeurs (A) du taux de consommation du glucose par le cœur (MMRG) et (B) de la glycémie mesurée avant l'acquisition des images dynamiques effectuées au ^{18}F -FDG durant le suivi, pour les deux groupes de souris.60
- Figure 19** – Analyse de la clairance du ^{11}C -AcAc par le muscle cardiaque tout au long du suivi pour les groupes de souris contrôles ($n=7$) et traitées ($n=4$) avec de la doxorubicine, par l'application d'une monoexponentielle.....61

- Figure 20** – Analyse pharmacocinétique de (A) la captation myocardique (K_1) et de (B) la clairance du radiotraceur par le myocardique (k_2) des groupes de souris contrôles ($n=7$) et traitées ($n=4$) avec de la doxorubicine tout au long du suivi.....62
- Figure 21** – Images des analyses histopathologiques des échantillons cardiaques des souris suite au suivi de traitement avec (A et B) de la saline et (C et D) de la doxorubicine. .64
- Figure 22** – Image de coupes histologiques d'un cœur traité avec des doses de doxorubicine, à plusieurs reprises, (A) présence de fibrose dans l'encadré, (A et B) présence d'un thrombus représenté par les flèches et (C) Présence de minéralisation dans l'encadré.65

LISTE DES ABRÉVIATIONS

^{11}C -Ac	1- ^{11}C -acétate
^{11}C -AcAc	1- ^{11}C -acétoacétate
^{18}F -FDG	2-désoxy-2- ^{18}F -fluoro-D-glucose
ADN	Acide désoxyribonucléique
BEM	Biopsie endomyocardique
Cp	Concentration plasmatique
Ct	Concentration tissulaire
Ctot	Concentration dans le sang total
DMEM/F12	(Dulbecco's modified eagle medium : nutrient mixture F12)
ECG	Électrocardiographie
EDV	Volume en fin de diastole (End-diastolic volume)
ESV	Volume en fin de systole (End-systolic volume)
FBS	Sérum foetal bovin (Fetal bovine serum)
FEVG	Fraction d'éjection du ventricule gauche
FTHA	Acide fluoro thia-heptadécanoïde
[Glu]	Glucose (Concentration de glucose dans le sang)
keV	Kiloélectronvolt
K_1	Captation du traceur par le myocarde
k_2	Clairance du traceur par le myocarde
K_i	Taux de transfert du glucose vers le myocarde
LC	Facteur de conversion entre l'absorption du ^{18}F -FDG et le glucose (Lumped constant)
MLEM	(Maximum likelihood expectation maximization)
<i>MMRG</i>	Taux métabolique du glucose par le myocarde (Myocardial metabolic rate of glucose)
Pompe PGP	Pompe phospho-glycoprotéine
ROS	Dérivés réactifs de l'oxygène (Reactive oxygen species)
TBV	Volume sanguin dans le tissu (Tissue blood volume)
TEP	Tomographie d'émission par positrons
<i>TMRG</i>	Taux métabolique du glucose par les tumeurs (Tumor metabolic rate of glucose)

1. INTRODUCTION

1.1 Cancer

Le cancer est la première cause de décès au Canada. Selon les statistiques de 2013, deux Canadiens sur cinq recevront un diagnostic de cancer au cours de leur vie. De plus, les statistiques démontrent que le cancer du sein, le plus fréquent chez la femme, est diagnostiqué dans 29 % des cas, avec un taux de mortalité estimé à 15 % [Siegel *et al.*, 2014].

Le cancer est une maladie qui se traduit par un dérèglement d'une cellule, qui par la suite, se divise de façon anarchique [Tacar *et al.*, 2013]. De plus, ces cellules deviennent immortelles et incontrôlables puisqu'elles ont acquis des mutations favorisant leur prolifération et elles ne possèdent plus les éléments leur permettant de répondre aux stimuli du corps afin de contrôler la croissance cellulaire. Le cancer est une maladie de plus en plus souvent diagnostiquée au niveau d'une population qui est vieillissante. Il est donc important de trouver de nouvelles stratégies afin d'obtenir des traitements efficaces, et ce, en diminuant les effets secondaires néfastes.

1.2 Les principaux traitements anticancéreux

Lorsqu'un cancer est diagnostiqué chez un patient, de nombreux protocoles de traitements peuvent être envisagés pour en favoriser la rémission. Les principaux traitements proposés sont la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie. Souvent, un protocole de traitement va combiner plusieurs de ces méthodes afin de maximiser les chances d'éliminer ou de diminuer la masse tumorale.

1.2.1 La chirurgie

Cette méthode est employée pour enlever une masse tumorale solide et localisée. La chirurgie peut avoir différentes finalités; 1) enlever la tumeur en totalité; 2) poser un diagnostic et définir le stade de la masse; 3) soulager une douleur ressentie en enlevant une partie de la tumeur. La réalisation d'une chirurgie est effectuée si deux conditions sont respectées, soit la faisabilité de la technique et si le patient est en bonne condition pour supporter l'opération. Lorsque la masse est facilement accessible et localisée, la chirurgie devient plus simple et facile à réaliser. Lors de la chirurgie, une marge de cellules autour de la masse tumorale est retirée en même temps que la tumeur. Cette opération permet de constater l'état des cellules environnantes et voir si l'ensemble des cellules cancéreuses a été retiré [Hickey *et al.*, 2013].

1.2.2 La radiothérapie

Cette méthode utilise des sources capables d'émettre une forme de radiation ionisante de haute énergie. En clinique, les principales formes de radiation ionisante sont les rayons X, les rayons gamma et les électrons. Ces radiations vont agir principalement sur les cellules en division, en causant des dommages à l'ADN qui conduisent à la mort des cellules cancéreuses. Les dommages à l'ADN se traduisent par des bris simples ou doubles brins et peuvent être provoqués de façon directe ou indirecte par la production de radicaux libres. Les traitements de radiothérapie attaquent l'ensemble des cellules qui sont à l'intérieur du faisceau, soit les cellules saines et les cellules cancéreuses. Cependant, les cellules saines ont la capacité de réparer les dommages causés durant la période séparant deux traitements. À l'inverse, les cellules tumorales qui n'ont pas la capacité de réparation finiront par mourir suite à une trop grande accumulation de dommages. Il existe deux types de traitement en radiothérapie, soit les radiothérapies adjuvantes et néo-adjuvantes. La radiothérapie adjuvante est utilisée en complémentarité avec d'autres traitements comme la chirurgie ou la chimiothérapie pour éradiquer les dernières cellules cancéreuses présentes.

La radiothérapie néo-adjuvante peut être utilisée comme première ligne de défense et ainsi faciliter l'opération chirurgicale en diminuant la taille de la masse cancéreuse [Kirthi Koushik *et al.*, 2013].

1.2.3 La chimiothérapie

Lors d'un traitement, plusieurs agents de chimiothérapie sont administrés en même temps afin de favoriser la mort des cellules cancéreuses et de minimiser la toxicité vis-à-vis des autres organes. Ce type de traitement est utilisé en premier lieu lorsqu'aucune des autres méthodes ne peut être employée ou que le cancer est au stade de métastases. Le stade de métastase fait référence à la présence de foyers tumoraux qui se développent dans d'autres organes, qui diffèrent de l'endroit où la tumeur principale est apparue. Ces foyers tumoraux secondaires se forment suite au détachement de certaines cellules de la tumeur principale et enclenchent une migration via les vaisseaux sanguins ou par les vaisseaux lymphatiques [Bogenrieder et Herlyn, 2003]. Par la suite, les cellules tumorales vont s'établir dans un organe éloigné et commencer à reformer un environnement propice à la formation d'une nouvelle tumeur [Tanaka *et al.*, 2014]. La chimiothérapie peut aussi être utilisée de deux façons, notamment comme première ligne de traitement (néo-adjuvante), ou en complémentarité de la chirurgie (adjuvante). Cette méthode utilise des agents cytotoxiques qui ont un effet systémique, c'est-à-dire un effet sur l'ensemble des cellules du corps, mais ils ciblent particulièrement les cellules en division rapide [Hickey *et al.*, 2013].

1.3 Les agents de chimiothérapie

Au cours d'un traitement par chimiothérapie, plusieurs paramètres sont à considérer : la méthode d'administration et le choix du ou des agents de chimiothérapie. L'administration des agents de chimiothérapie peut être effectuée selon deux voies. La

première voie est celle dite traditionnelle, car administrée par la voie veineuse. La seconde peut s'effectuer par la voie orale. Cette méthode est souvent préférée, puisqu'elle diminuerait les symptômes contraignants normalement ressentis lors de l'administration de chimiothérapie, sans toutefois diminuer l'activité antinéoplasique de la molécule administrée. Une fois la méthode d'administration choisie, il reste à savoir quelles classes ou combinaisons de familles seront utilisées pour traiter le type de cancer diagnostiqué. Chaque classe de chimiothérapie possède un mécanisme d'action qui lui est propre, lui permettant ainsi d'agir sur différentes cibles dans la cellule, selon son stade de croissance. Les agents de chimiothérapie se divisent en quatre grandes familles : les anti-métabolites, les agents alkylants, les antimétoprotiques et les antibiotiques. Les quatre familles vont interagir directement avec les molécules d'ADN ou cibler des structures présentes durant la phase de la mitose, empêchant ainsi la division cellulaire.

1.3.1 Les anti-métabolites

Les anti-métabolites sont des molécules antagonistes qui sont synthétisées chimiquement et qui possèdent une structure similaire aux produits naturels [Hatse *et al.*, 1999]. Leurs mécanismes d'action reposent sur l'inhibition de la synthèse d'ADN et de la réparation de l'ADN. Cette inhibition va conduire à une accumulation de dommages sur les brins d'ADN, qui au final va mener à l'apoptose des cellules [Robak et Robak, 2013]. Il existe trois types de molécules, les antagonistes des purines, les antagonistes des pyrimidines et les antagonistes du folate. Les purines et les pyrimidines sont les bases azotées qui sont incorporées dans les molécules d'ADN. Lorsque les antagonistes sont incorporés dans la molécule, cela induit l'impossibilité de synthétiser de nouveaux brins d'ADN et cette situation a comme répercussion d'inhiber la division des cellules. Les antagonistes des purines et les antagonistes des pyrimidines sont principalement utilisés dans le traitement des lymphomes et des leucémies. L'acide folique est une enzyme cellulaire responsable de l'incorporation des nucléotides dans la molécule d'ADN. L'utilisation de l'antagoniste de cette enzyme permet d'inhiber son activité cellulaire, ce

qui induit la mort cellulaire, puisque la cellule ne peut pas produire les molécules nécessaires à sa survie.

1.3.2 Les agents alkylants

Les agents alkylants appartenant à la deuxième classe d'agent de chimiothérapie sont des molécules qui agissent spécifiquement au niveau du cycle cellulaire. Le mécanisme d'action des agents alkylants est d'agir au niveau des bases azotées des molécules d'ADN. Ces molécules ajoutent un groupement alkyle sur les bases azotées en formant des liens, principalement entre les guanines. Les ponts ainsi créés vont nuire à la séparation des brins et arrêter la division cellulaire [Bordin *et al.*, 2013].

1.3.3 Les antimitotiques

La troisième classe d'agents de chimiothérapie se nomme « antimitotique » ou « poisons du fuseau mitotique » [Cheetham et Petrylak, 2013; Marzo et Naval, 2013]. Cette classe comprend deux types de molécules qui vont agir sur la tubuline, qui est une protéine structurelle nécessaire lors de la phase mitotique de la cellule : les vinca-alcaloïdes et les taxanes. Les vinca-alcaloïdes empêchent la polymérisation de la tubuline, ce qui induit une inhibition de la formation du fuseau mitotique. Le fuseau mitotique joue un rôle important dans la migration des chromosomes dans les deux cellules filles. Les taxanes vont empêcher la dépolymérisation de la tubuline. Le fuseau mitotique sera formé, mais ne pourra pas être défait pour finaliser la migration des chromosomes dans les deux nouvelles cellules.

1.3.4 Les antibiotiques

Les antibiotiques appartiennent à la dernière classe d'agents de chimiothérapie. Dans ce groupe, on retrouve entre autres l'actinomycine D, la mitomycine C et les anthracyclines. Ces molécules agissent principalement au niveau de l'ADN des cellules tumorales. Leur mécanisme d'action consiste à s'intercaler entre les bases azotées de l'ADN ou former des ponts entre les brins d'ADN. Leur association avec les brins d'ADN va induire une inhibition de la synthèse, créer des dommages importants et provoquer la mort de la cellule [Cheng et Zee-Cheng, 1972].

1.4 Les anthracyclines

Les anthracyclines font partie de la classe des antibiotiques [Sawyer *et al.*, 2010]. Elles ont été découvertes et isolées d'un champignon du genre *streptomyces* dans les années 1960. Suite à l'isolation de ces molécules, il a été possible d'extraire la daunorubicine et la doxorubicine. Les études effectuées ont permis de constater que les molécules possèdent un large spectre et une activité antitumorale puissante. Aujourd'hui encore, les anthracyclines sont grandement utilisées en clinique pour le traitement du cancer et elles sont considérées comme des molécules références. La doxorubicine est utilisée dans le traitement de plusieurs types de cancer, dont les leucémies, les lymphomes et pour des tumeurs solides telles que le cancer du sein, du poumon et de l'ovaire [Andrieu-Abadie, 2004]. Cependant du fait de l'apparition d'une résistance des cellules à la doxorubicine et des effets secondaires indésirables associés, des analogues ont été développés. Parmi les dérivés étudiés se distinguent l'épirubicine et l'idarubicine. Ces deux molécules ont été évaluées afin de déterminer si elles sont aussi, ou même plus efficaces que la doxorubicine, et ce, en n'induisant pas les effets secondaires à long terme généralement observés. Les différentes études utilisant l'épirubicine et l'idarubicine montrent que ces deux analogues peuvent induire les mêmes effets secondaires. Cependant, il est mentionné que la dose cumulative pour l'apparition des symptômes est deux fois plus élevée pour l'épirubicine que pour la doxorubicine [Minotti *et al.*, 2004].

1.4.1 Mécanisme d'action des anthracyclines

Les anthracyclines ayant un large spectre d'action possèdent différents mécanismes antinéoplasiques afin d'induire la mort des cellules cancéreuses. Elles peuvent s'intercaler entre les bases de l'ADN, induire un stress oxydatif et inhiber l'activité de la topoisomérase II. D'autres mécanismes d'action secondaires peuvent être à l'origine de l'action antinéoplasique de la doxorubicine, dont la liaison et l'alkylation de l'ADN et l'induction de dommages directement aux membranes cellulaires, en sont quelques exemples [Gewirtz, 1999; Hershman et Shao, 2009].

Le premier mécanisme d'action de la doxorubicine responsable de son effet cytotoxique résulte de sa capacité à s'intercaler entre les bases azotées de l'ADN. La présence d'un anneau planaire dans la structure des anthracyclines favorise son intercalation. Cette incorporation entre les bases azotées modifie le cadre de lecture lors de la synthèse par les polymérase, ce qui inhibe la synthèse des diverses molécules nécessaires à la survie de la cellule. De plus, le complexe ADN-doxorubicine est plus susceptible d'être clivé et d'activer ainsi une réponse cellulaire liée aux bris simples brins en induisant l'apoptose des cellules. Cette voie est indépendante de l'inhibition de la topoisomérase II par la doxorubicine [Wallace, 2003].

Le deuxième mécanisme d'action de la doxorubicine est sa capacité d'inhiber la topoisomérase II. Cette enzyme est présente dans l'ensemble des cellules pour son rôle clé dans les processus de réplication, de réparation, de transcription et principalement dans la topologie de l'ADN. Le principal rôle de l'enzyme est de relaxer la structure de l'ADN en induisant des bris doubles brins et ainsi rendre accessible les différents sites de l'ADN aux molécules et permettent d'exercer leur rôle [Rao, 2013]. La topoisomérase crée un complexe avec l'ADN pour pouvoir exercer son activité cellulaire, soit d'induire des coupures simples et doubles brins afin de modifier la structure de l'ADN. Le complexe ainsi formé se nomme aussi complexe de clivage. En présence de doxorubicine, les molécules viennent inhiber la topoisomérase en stabilisant le complexe lorsque les

coupures sur les chaînes sont induites, empêchant ainsi la ligation des brins [Chen *et al.*, 2013; Dal Ben *et al.*, 2007].

Le troisième mécanisme est la production d'un stress oxydatif. La doxorubicine est une molécule qui possède une structure quinone qui peut être oxydée par différentes enzymes afin de former une semiquinone radicalaire. Une fois la molécule oxydée, elle peut réagir avec une molécule d'oxygène et ainsi générer des superoxydes et du peroxyde d'oxygène. Les radicaux libres produits agissent sur les structures à proximité. Les principaux dommages causés par le stress oxydatif sont des dommages à l'ADN, aux membranes cellulaires et la peroxydation des lipides. Les dégâts induits sont souvent très importants : la cellule ne peut pas effectuer la réparation et va entrer en apoptose [Yang *et al.*, 2014]. Cependant, des études ont démontré que les dommages induits par le stress oxydatif au niveau des cellules tumorales sont observables seulement lorsque la concentration de doxorubicine est bien supérieure à celle normalement administrée en clinique [Volkova et Russell, 2011]. De plus, l'usage de molécules antioxydantes en même temps que l'administration de doxorubicine n'empêche pas son activité antinéoplasique [Takemura et Fujiwara, 2007].

1.5 Maladies cardiaques

Les maladies cardiovasculaires représentent la deuxième cause de décès et combinées avec le cancer, ces deux maladies représentent environ 59 % des décès chaque année, au Canada [Belanger *et al.*, 2014]. Les maladies cardiovasculaires se décrivent par l'ensemble des dommages qui affecte le muscle cardiaque et les vaisseaux sanguins. Les maladies cardiaques représentent un sous-type des maladies cardiovasculaires où il est possible de retrouver principalement l'infarctus du myocarde et l'insuffisance cardiaque. [Go *et al.*, 2014]. Tout d'abord l'infarctus du myocarde est l'une des principales causes de morbidité et de mortalité chez les patients [Tian *et al.*, 2013]. Ce problème cardiaque peut se développer selon 2 principales voies. Premièrement, l'infarctus du myocarde peut

survenir suite à la rupture de plaques d'athérosclérose qui induit un thrombus dans les artères coronariennes et diminue le flux sanguin. Deuxièmement, l'infarctus du myocarde peut se développer suite à la nécrose des cellules cardiaques qui diminue simultanément l'efficacité de contraction et l'apport sanguin aux cellules [Alpert *et al.*, 2014]. L'insuffisance cardiaque est une maladie qui est caractérisée par l'incapacité du muscle cardiaque à propulser suffisamment de sang lors de la contraction. Souvent, cette maladie est accompagnée d'une diminution de la fraction d'éjection du ventricule gauche [Liquori *et al.*, 2014]. Ces différentes maladies ont plusieurs facteurs qui peuvent influencer leur développement, mais l'administration de certains traitements ou médicaments peut aussi agir comme déclencheur dans le développement d'une maladie cardiaque.

1.6 Cardiotoxicité

L'administration d'agent de chimiothérapie permet de traiter le cancer, mais certains de ces agents sont connus pour être la cause d'effets secondaires importants. Dans le cas de la doxorubicine, ces effets secondaires se traduisent principalement par le développement d'une toxicité cardiaque, mais avec possibilité d'induire des dommages à d'autres organes comme le foie et les reins [Pereira *et al.*, 2011]. Le développement des problèmes cardiaques peut apparaître sous deux formes distinctes, soit une cardiotoxicité aiguë et une cardiotoxicité chronique [Hershman et Shao, 2009; Singal *et al.*, 1987; Singal *et al.*, 2000]. La première forme survient au cours de l'administration de la doxorubicine ou quelques heures après l'arrêt de l'infusion. Les symptômes les plus souvent observés sont la tachycardie, l'arythmie cardiaque et l'hypotension. Les symptômes s'observent principalement par une variation dans le rythme cardiaque. Les deux symptômes peuvent induire une perturbation dans la production de signaux électriques dans le cœur, alors que l'hypotension est due à une diminution de l'apport sanguin dans le cerveau ou dans d'autres organes essentiels à leur bon fonctionnement. Lors d'une cardiotoxicité aiguë les symptômes cliniques sont dits réversibles et peuvent se résorber par eux-mêmes ou par l'administration de traitements qui sont connus pour bien contrôler ces manifestations.

La cardiotoxicité chronique se développe tardivement puisque les manifestations cliniques peuvent apparaître après l'arrêt des traitements de chimiothérapie et même après plusieurs années, suite à la première exposition. Les symptômes se traduisent principalement par un dysfonctionnement du ventricule gauche, causant une incapacité de fournir suffisamment de sang à l'ensemble du corps, et finalement par l'induction d'une insuffisance cardiaque sévère et irréversible [Colombo *et al.*, 2013; Geisberg et Sawyer, 2010]. Comme il est mentionné plus haut, la cardiotoxicité induite par la doxorubicine est dépendante de la dose : 5 % des patients ayant reçu une dose cumulative de 400 mg/m², 26 % avec une dose de 550 mg/m² et 48 % avec une dose de 700 mg/m². Suite aux études déterminant l'incidence d'une cardiotoxicité, le seuil d'administration a été fixé à 500 mg/m² afin de minimiser les risques de développement d'une insuffisance cardiaque [Ky *et al.*, 2013].

1.6.1 Mécanisme de cardiotoxicité de la doxorubicine

Malgré l'utilisation de la doxorubicine, comme référence dans le traitement de plusieurs types de cancer, il est important de comprendre les mécanismes qui induisent le développement d'effets cardiotoxiques. Les anthracyclines possèdent différents mécanismes antinéoplasiques, mais ceux-ci ne semblent pas impliqués dans l'induction des dommages cardiaques. Les mécanismes par lesquels la doxorubicine induit une cardiotoxicité ne sont pas complètement élucidés, mais plusieurs hypothèses ont été énoncées : le stress oxydatif, la dérégulation de l'homéostasie calcique, l'inhibition de la cardiolipine et la production de métabolites.

1.6.1.1 *Stress oxydatif*

La première hypothèse, qui est de plus en plus reconnue, est la production d'un stress oxydatif. Ce mécanisme d'action est aussi présent dans les cellules tumorales, mais semble jouer un rôle plus important dans l'induction de la cardiotoxicité. Le stress oxydatif peut être produit par deux voies différentes, soit en présence d'enzymes capables de réduire la molécule, soit par son association avec des atomes de fer. La première voie induisant le stress oxydatif est une voie enzymatique qui produit des superoxydes, particulièrement des radicaux hydroxyles et du peroxyde d'hydrogène. La structure quinone de la doxorubicine favorise sa réduction par l'enzyme NADH déshydrogénase en une semi-quinone radicalaire. La forme réduite de la doxorubicine peut reformer la molécule initiale en présence d'oxygène. Cette réaction réduit la molécule d'oxygène et forme des radicaux superoxydes [Delemasure *et al.*, 2006]. On note que la réduction de la doxorubicine s'effectue principalement au niveau de la mitochondrie, puisque l'enzyme impliquée dans le processus se retrouve dans la membrane interne de la mitochondrie. La deuxième voie qui induit un stress oxydatif est dépendante des ions ferriques. Par contre, le mécanisme impliqué entre les molécules de doxorubicine et les ions fer n'est pas complètement élucidé. Deux hypothèses ont été énoncées, la première propose une association directe entre la doxorubicine et les ions fer afin de former un complexe organométallique qui peut être réduit et par la suite former des radicaux libres [Xu *et al.*, 2005] ; la deuxième hypothèse est en lien avec les protéines responsables de l'entreposage et de la relâche des ions ferriques. Ce qui est mentionné, c'est que les molécules agissent sur ces protéines pour modifier les concentrations de fer qui se retrouvent dans la cellule et dans les sites d'entreposage et ainsi induire un stress oxydatif [Gammella *et al.*, 2014]. Lors de la production de radicaux, les cellules saines sont capables de neutraliser ces radicaux par la présence d'enzymes antioxydantes. Toutefois, des études ont aussi démontré que la doxorubicine diminue l'expression des gènes qui produisent les enzymes antioxydantes [Hassan *et al.*, 2014].

1.6.1.2 L'homéostasie calcique

Une autre hypothèse pouvant expliquer le développement d'effets cardiotoxiques est le dérèglement de l'homéostasie calcique des cellules. Les changements au niveau de la concentration cellulaire de calcium permettent de générer des espèces réactives de l'oxygène (ROS). Pour ce faire, la doxorubicine a la capacité d'activer directement les canaux calciques et de libérer le calcium du réticulum endoplasmique. L'activation des canaux par la doxorubicine permet d'augmenter leur probabilité de s'ouvrir et de relâcher le calcium dans le milieu [Octavia *et al.*, 2012]. L'ouverture des canaux résulte en un changement de potentiel de la membrane de la mitochondrie, ce qui permet de relâcher le cytochrome c, qui une fois présent dans le cytosol, devient un des nombreux facteurs important pour induire une voie de signalisation conduisant à l'apoptose des cellules [Mazevet *et al.*, 2013].

1.6.1.3 Liaison avec les phospholipides

La troisième hypothèse est la capacité de la doxorubicine à se lier à des phospholipides. Des études ont démontré que la doxorubicine possède une affinité qui est approximativement 80 fois plus élevée pour la cardiolipine que pour les autres phospholipides. La cardiolipine représente 18 % de la constitution de la membrane interne de la mitochondrie favorisant sa fluidité et sa fonction. La présence de la cardiolipine est essentielle pour le bon fonctionnement de la mitochondrie, car elle interagit avec plusieurs protéines pour une activité optimale, principalement au niveau de la chaîne respiratoire et de la phosphorylation oxydative [Paradies *et al.*, 2014]. La doxorubicine en s'associant avec la cardiolipine, interfère avec sa capacité d'interagir avec les autres protéines et modifie ainsi le fonctionnement de la mitochondrie à produire l'énergie [Jung et Reszka, 2001].

1.6.1.4 La production de métabolites

La dernière hypothèse énoncée qui peut expliquer le développement d'une cardiotoxicité est que les métabolites produits sont plus toxiques que la molécule parentale. La doxorubicine est principalement métabolisée dans le cœur pour former un métabolite de l'alcool que l'on nomme la doxorubicinole. La molécule est métabolisée par une enzyme nommée carbonyle réductase. La doxorubicinole ainsi formée devient plus polaire et favorise sa rétention dans les cellules myocardiques. De plus, le métabolite formé semble jouer un rôle plus important que la doxorubicine dans l'homéostasie des ions fer, en dérégulant la disponibilité des ions ferriques et en produisant ainsi un stress oxydatif. [Zucchi et Danesi, 2003].

Les différentes hypothèses énoncées pour décrire les mécanismes par lesquels la doxorubicine induit les dommages cardiaques semblent être étroitement reliées à la mitochondrie. Tout d'abord, la réduction des molécules de doxorubicine s'effectue principalement au niveau de la membrane interne de la mitochondrie. Par la suite, la doxorubicine interagit avec la cardiolipine, en modifiant sa structure et sa fonction, élément essentiel pour le bon fonctionnement de la chaîne respiratoire. Le cœur est la cible principale puisque le volume total représenté par la présence de mitochondries est d'environ 30 %, afin de fournir l'énergie nécessaire pour effectuer ses contractions [Shevchuk *et al.*, 2012]. De plus, la doxorubicine a la capacité de diminuer le niveau d'expression des protéines responsables de piéger les radicaux libres produits, ainsi que de diminuer la quantité d'enzymes antioxydantes [Ludke *et al.*, 2009].

1.6.2 Stratégie de cardioprotection

Le problème du développement d'effets cardiotoxiques, suite à l'administration de doxorubicine, nécessite l'exploration de nouvelles stratégies afin de diminuer le risque de développer des problèmes cardiaques. Étant donné que l'une des principales causes de

dommages cardiaques serait la libération de radicaux libres, les premières approches considérées pour contrer les effets nocifs des anthracyclines ont fait appel à des substances antioxydantes. Les études effectuées sur certains antioxydants, par exemple la vitamine E ou la coenzyme Q, ont démontré des résultats très intéressants *in vitro*. Cependant, les conclusions des études *in vivo* démontrent une activité cardioprotectrice limitée en présence de tous les processus biologiques du corps [Oliveira *et al.*, 2004]. Suite à ces résultats non concluants, il devenait important de trouver de nouvelles substances qui auraient un meilleur potentiel cardioprotecteur, et ce, sans diminuer l'activité antitumorale de la doxorubicine sur les cellules cancéreuses. La première molécule découverte avec un potentiel cardioprotecteur réel et utilisée en clinique est le dexrazoxane. Le dexrazoxane possède une structure caractéristique lui donnant la capacité de chélater des métaux et ainsi empêcher la formation de complexe organométallique [Hasinoff et Herman, 2007]. Comme il a été mentionné plus haut, un des mécanismes de la doxorubicine est de former un complexe avec le fer et de permettre la libération de radicaux libres. L'utilisation du dexrazoxane, dans ce contexte, permettrait de retirer le fer lié à la doxorubicine et d'empêcher la formation d'un stress oxydatif [Wiseman et Spencer, 1998]. Cependant, des études ont démontré que l'utilisation du dexrazoxane lors de chimiothérapie, chez les jeunes enfants, augmente le risque de développer des cancers secondaires et des infections graves [Magnano *et al.*, 2014]. En conséquence, l'utilisation du dexrazoxane comme cardioprotecteur n'est approuvée que dans les cas de cancer du sein à un stade métastatique [Hershman et Shao, 2009]. Étant donné que l'emploi du dexrazoxane est limité à un cas particulier, d'autres solutions doivent être envisagées. Une autre molécule est à l'étude, le carvedilol présentement utilisé en clinique pour le traitement de plusieurs problèmes cardiaques, par exemple pour l'insuffisance cardiaque congestive et pour différents stades d'hypertension et d'infarctus du myocarde. Le carvedilol semble intéressant comme cardioprotecteur, car il va : 1) bloquer de façon non sélective les récepteurs adrénergiques bêta, diminuant ainsi le rythme cardiaque, 2) induire une vasodilatation, permettant ainsi un plus grand apport de sang veineux au cœur [Dulin et Abraham, 2004] 3) avoir une activité antioxydante, liée à sa capacité à chélater le fer libre, limitant ainsi la production de radicaux libres [Arozal *et al.*, 2011]. Malgré ses mécanismes intéressants, de nombreuses

études doivent être effectuées afin de valider son utilisation en lien avec l'administration de doxorubicine.

Le développement d'une cardiotoxicité suite à l'administration d'agent de chimiothérapie est encore un problème important. De plus, les méthodes de surveillance permettent d'observer des changements, mais souvent à un stade tardif. En conséquence la mise en place de nouvelles stratégies de dépistage ou d'imagerie permettant de déceler de façon précoce le développement d'une cardiotoxicité devient nécessaire.

1.7 Tomographie d'émission par positrons

1.7.1 Principes de la tomographie d'émission par positrons

La tomographie d'émission par positrons (TEP) est une modalité d'imagerie qui est grandement utilisée en clinique, notamment dans le domaine de l'oncologie. Cette modalité est couramment utilisée pour effectuer un suivi de traitement, mais aussi pour le diagnostic d'un cancer. La TEP nécessite l'utilisation d'isotopes radioactifs émetteurs de positrons qui sont incorporés dans les molécules d'intérêt et ce, sans modifier ses propriétés biologiques dans plusieurs cas. Les molécules utilisées pour l'imagerie peuvent être radiomarquées avec différents isotopes, par exemple le fluor 18, le carbone 11, l'azote 13 ou le gallium 68, qui possèdent un surplus de charges positives au niveau de leur noyau. Cette surcharge induit une désintégration provoquant ainsi la libération d'un positron. Une fois le positron émis, celui-ci va parcourir une certaine distance dans le tissu, selon ses caractéristiques et ainsi perdre son énergie cinétique. Ensuite, le positron interagit avec un électron du milieu et provoque une réaction d'annihilation conduisant à l'émission de deux photons de 511 kiloélectronvolts (keV), dans des directions opposées d'environ 180°. L'obtention

d'une image TEP repose sur la détection de ces deux photons d'annihilation en coïncidence. La détection des deux photons est rendue possible par la présence d'une série de détecteurs positionnés en forme d'anneau et installés tout autour du sujet. Les deux photons émis en sens opposés doivent être détectés par deux détecteurs indépendants et en coïncidence [de Dreuille *et al.*, 2004].

Outre la résolution intrinsèque de l'imageur TEP, la résolution spatiale est influencée par deux limites physiques. La première est la colinéarité des photons émis lors de la réaction d'annihilation, puisque les photons ne sont pas toujours émis à 180° l'un de l'autre, mais avec une certaine déviation qui résulte de l'énergie cinétique résiduelle des deux particules lors de l'annihilation. La deuxième limite est la portée du positron, c'est-à-dire la distance parcourue dans le milieu avant de s'annihiler avec un électron. Ces deux limites contribuent à détériorer la résolution spatiale des images reconstruites. Malgré ces limites, cette modalité d'imagerie possède une grande sensibilité de détection qui est de l'ordre du picomole. Cet avantage permet d'étudier différents mécanismes sans altérer les processus physiologiques du sujet l'étude [Talbot *et al.*, 2006].

Suite à l'obtention des images par différents algorithmes de reconstruction, diverses corrections doivent être appliquées afin d'obtenir des images quantitatives. La plus importante concerne les coïncidences fortuites qui sont habituellement estimées en cours de mesure et directement soustraites avant la reconstruction. Les corrections pour l'atténuation et le rayonnement diffusé, qui sont très importantes pour l'imagerie TEP clinique, sont peu significatives en imagerie TEP du petit animal et peuvent être négligées si la calibration de l'appareil est effectuée dans des conditions de mesures semblables [Cherry *et al.*, 2003]. Pour avoir une quantification précise lors des analyses pharmacocinétiques avec les rongeurs, d'autres corrections doivent être appliquées pour contrebalancer la résolution spatiale de la TEP. Les principales corrections portent sur la contamination croisée des tissus environnants sur la région d'intérêt et l'effet du volume partiel [Erlandsson *et al.*, 2012; Soret *et al.*, 2007]. La contamination croisée s'explique par le fait que les tissus environnants contribuent à la région d'intérêt à cause de la résolution spatiale limitée et

augmentent la quantité de radioactivité mesurée et vice versa. L'effet du volume partiel fait référence à la taille des régions d'intérêt par rapport à la résolution spatiale : lorsqu'une structure de plus petite taille que 2 fois la résolution de l'image est mesurée, la quantité réelle d'activité dans le tissu d'intérêt est sous-estimée et il faut la corriger par un facteur de recouvrement qui dépend de la taille et de la structure. Les facteurs de recouvrement peuvent être estimés à l'aide de mires avec des structures de dimensions connues. L'application des corrections sur les diverses courbes extraites à partir de l'image est nécessaire pour retrouver les concentrations d'activité réelle présentes dans le tissu d'intérêt [DeGrado *et al.*, 2000]. Cependant, cette dernière correction n'est précise que lorsqu'on peut estimer avec précision la dimension des structures mesurées.

1.7.2 Les radiotraceurs ^{18}F -FDG, ^{11}C -Ac et ^{11}C -AcAc

L'imagerie TEP nécessite l'utilisation de molécules marquées d'un radioisotope émetteur de positrons, afin d'étudier un mécanisme spécifique ou simplement suivre la distribution du traceur à travers l'ensemble de l'organisme. Le traceur le plus important est le 2-désoxy-2- ^{18}F fluoro-D-glucose, communément appelé ^{18}F -FDG. Cette molécule est un analogue de la molécule de glucose où le groupement OH du deuxième carbone est substitué par un fluor 18 radioactif [Gallagher *et al.*, 1977]. Cet analogue est largement employé dans les études cliniques pour des examens oncologiques afin de diagnostiquer le cancer et d'assurer un suivi de l'évolution de la maladie suite aux différents traitements reçus [Hess *et al.*, 2014]. En plus des études oncologiques, le ^{18}F -FDG est utilisé de plus en plus fréquemment pour évaluer la consommation de glucose par divers organes comme le cerveau et le cœur, mais également pour évaluer la viabilité des cellules [Alf *et al.*, 2013; Knuuti *et al.*, 2002].

Les radiotraceurs utilisés en imagerie TEP sont très variés en raison de la variété des radioisotopes disponibles et de la relative facilité à les introduire dans les molécules d'intérêt biologique. Chaque traceur permet de mesurer différents paramètres en fonction

de l'organe à l'étude, comme son métabolisme ou sa fonction. Plusieurs traceurs ont été développés et utilisés en clinique pour évaluer et diagnostiquer des maladies cardiovasculaires. Parmi ces traceurs, on retrouve le rubidium 82, l'ammoniaque marqué avec l'azote 13 et l'eau marquée à l'oxygène 15. Ces trois molécules ont été caractérisées et utilisées principalement pour évaluer la perfusion myocardique chez les patients [Ohira *et al.*, 2013].

Plus récemment, d'autres traceurs ont été développés pour différentes applications, l'un d'entre eux étant le ^{11}C -acétate (^{11}C -Ac) [Grassi *et al.*, 2012]. Ce traceur est particulièrement intéressant puisqu'il permet d'obtenir des indications sur le métabolisme cardiaque [van der Wall *et al.*, 2010]. Des études ont été réalisées afin de caractériser et de valider ce traceur et ainsi constater qu'il est possible d'utiliser le ^{11}C -Ac pour mesurer la consommation d'oxygène et la perfusion myocardique à l'aide de modèles pharmacocinétiques [Timmer *et al.*, 2010]. Un autre avantage du ^{11}C -Ac, c'est qu'il est possible d'obtenir ces deux informations avec une seule injection. En effet, les études ont démontré que la phase de captation du traceur permet de mesurer la perfusion, alors que la phase de clairance est corrélée avec l'indice de la consommation d'oxygène du muscle cardiaque. Cette dernière corrélation est représentée par la formation de métabolite tel que le ^{11}C - CO_2 produit suite à l'entrée de l'acétate dans le cycle de Krebs et à sa métabolisation [Armbrecht *et al.*, 1990]. Par la suite, une autre corrélation a été mise en évidence entre l'absorption initiale et le flux sanguin myocardique [Chan *et al.*, 1991; van den Hoff *et al.*, 2001]. Pourtant, différentes études font état de discussions à propos de l'utilisation de l'acétate comme traceur dans les maladies cardiovasculaires. Il est mentionné que pour déceler une dysfonction cardiaque, il serait nécessaire d'induire un état de stress au cœur. Le stress peut être induit par une activité physique ou par l'administration de molécules induisant un stress pharmacologique, ce qui augmente le rythme cardiaque [Sorensen *et al.*, 2010; van den Heuvel *et al.*, 2000]. De plus, une autre étude où la perfusion et la consommation d'oxygène sont évaluées en condition de stress et à l'état de repos. Les résultats sous condition de stress sont modifiés, alors qu'à l'état de repos, les valeurs restent similaires, peu importe la condition de l'animal [Croteau *et al.*, 2012].

Un nouveau traceur présentement à l'étude peut aussi être utilisé en imagerie cardiaque pour évaluer différents paramètres cardiovasculaires. Ce nouveau traceur est le ^{11}C -acétoacétate (^{11}C -AcAc), un corps cétonique, très similaire au ^{11}C -Ac. Les informations obtenues avec l'acétate sont la perfusion myocardique ainsi que la consommation d'oxygène par le cœur. L'utilisation du ^{11}C -AcAc permet de donner de l'information supplémentaire sur l'absorption et la clairance des corps cétoniques dans le cœur suite à l'apparition de dommages cardiaques [Croteau *et al.*, 2014]. La principale différence entre l'acétate et l'acétoacétate est la voie métabolique utilisée par la cellule. L'acétate entre directement dans la cellule pour être transformé, dans un premier temps, en acétyl-CoA, pour finalement être métabolisé via le cycle de Krebs pour produire de l'énergie. L'acétoacétate, quant à lui, peut être métabolisé selon deux voies, l'une au niveau de la mitochondrie et l'autre dans le cytoplasme de la cellule. Les deux voies mènent à la formation de l'acétoacétyl-CoA et enfin à la formation de l'acétyl-CoA. Ce qui différencie les deux voies, c'est qu'au niveau de la mitochondrie, l'acétyl-CoA entre dans le cycle de Krebs et produit de l'énergie, alors qu'au niveau du cytoplasme, l'acétyl-CoA entre dans la composition des lipides et du cholestérol [Bentourkia *et al.*, 2009; Naya et Tamaki, 2014].

1.8 Analyse de la fonction cardiaque

L'analyse de la fonction cardiaque est possible grâce à l'acquisition dynamique synchronisée et à la reconstruction des images par plans répartis sur tout le cycle cardiaque. Les principaux paramètres qui peuvent ainsi être évalués sont la fraction d'éjection du ventricule gauche et les volumes ventriculaires. Ces paramètres peuvent être extraits des images obtenues avec le ^{18}F -FDG, le ^{11}C -AcAc et le ^{11}C -Ac, à condition que les images soient synchronisées sur le signal d'ECG. Cependant, l'obtention de ces données avec les traceurs marqués au carbone 11, est plus difficile à acquérir, en raison du court laps de temps de résidence du traceur et de la taille du myocarde dans un modèle de souris [Croteau *et al.*, 2003; Croteau *et al.*, 2012].

1.9 Analyse pharmacocinétique

L'analyse pharmacocinétique est employée afin d'extraire les divers paramètres que l'on veut étudier et comparer dans les modèles utilisés. Le traceur ^{18}F -FDG décrit plus haut permet d'évaluer la consommation de glucose par divers organes. Pour ce qui est du ^{11}C -AcAc, il permet d'évaluer l'absorption ainsi que la clairance du traceur par le muscle cardiaque. Pour pouvoir effectuer ces analyses, il est nécessaire de connaître la concentration du traceur dans les tissus ou organes cibles et dans le sang et cela tout au long de l'acquisition. Ces concentrations sont représentées par des courbes d'activité en fonction du temps pour des régions d'intérêt sur les tissus cibles et le pool sanguin. Cette dernière, que l'on nomme *fonction d'entrée*, peut être extraite de plusieurs façons avec des méthodes invasives ou non invasives. La première façon d'obtenir cette courbe est la méthode de référence, soit la prise d'échantillons sanguins par la voie artérielle. Cette méthode consiste à prélever, à plusieurs reprises et tout au long de l'acquisition, depuis l'injection du traceur jusqu'à la fin de la mesure, des échantillons sanguins artériels, afin d'y déterminer la quantité d'activité présente à chaque instant par mesure dans un compteur gamma. La deuxième méthode consiste à extraire la fonction d'entrée directement à partir de l'image, en traçant une région d'intérêt sur un organe ou une structure représentant le sang. Cette méthode permet d'obtenir les diverses informations de façon non invasive, mais un échantillon sanguin est habituellement nécessaire pour étalonner la concentration d'activité de la courbe sanguine. Les deux méthodes permettent d'obtenir une courbe d'activité et d'effectuer les différentes analyses pharmacocinétiques. Une autre façon d'extraire la fonction d'entrée qui évite les biais introduits par la contamination de tissus adjacents est de combiner la courbe sanguine de différents organes de l'image. Cette technique est utilisée principalement avec le ^{18}F -FDG, puisque celui-ci s'accumule dans le myocarde en fonction du temps et peut contaminer la mesure prise dans le pool sanguin du ventricule. Il est donc intéressant d'utiliser le début de la courbe du ventricule gauche et de corriger la fin de la courbe par celle du foie [Tantawy et Peterson, 2010].

Une fois que la fonction d'entrée est extraite, les analyses à l'aide de modèles pharmacocinétiques peuvent être appliquées sur les organes d'intérêt pour en étudier leur métabolisme. La première fonction métabolique qu'il est possible d'étudier avec le traceur ^{18}F -FDG est le taux de consommation du glucose par le tissu d'intérêt. Cette mesure peut être effectuée simplement par une analyse graphique de type Patlak [Wienhard, 2002]. Ce type d'analyse est adéquat pour des traceurs qui sont dits irréversibles. C'est le cas du ^{18}F -FDG qui ne peut pas être métabolisé en totalité par les différentes voies métaboliques et qui s'accumule dans l'organe capable de l'utiliser sans pouvoir en ressortir. L'analyse graphique de type Patlak se fait lorsque le traceur est à l'équilibre dans l'organe cible, à ce moment, l'analyse devient linéaire. Il est alors possible d'évaluer deux paramètres, soit le taux de transfert du glucose (K_i) et le taux de consommation du glucose par le myocarde ($MMRG$) à l'aide des équations suivantes [Patlak et Blasberg, 1985; Yu *et al.*, 2009].

$$K_i = \frac{K_1 * k_3}{k_2 + k_3} \quad \text{Éq. 1}$$

$$MMRG = \frac{K_1 * k_3}{k_2 + k_3} * \frac{[Glu]}{LC} \quad \text{Éq. 2}$$

L'équation 1 représente la pente de la courbe lors de l'analyse et elle mesure le taux de transfert du glucose vers le muscle cardiaque, soit le K_i . Les variables $K_1 - k_3$ sont des constantes du modèle pharmacocinétique graphique de type Patlak (Figure 1). L'équation 2 représente le MMRG, qui a été normalisé par la concentration de glucose ($[Glu]$) dans le sang et un facteur de correction empirique (« lumped constant ») (LC). Cette constante permet de convertir le taux métabolique du ^{18}F -FDG en taux métabolique du glucose [Graham *et al.*, 2002]. Il est ainsi possible d'adapter la deuxième équation pour mesurer le taux métabolique du glucose en modifiant la constante LC pour divers organes, par exemple le taux de glucose consommé par le cerveau ou le cœur.

L'évaluation de la captation, principalement déterminée par la variable K_1 , et de la clairance du traceur, évalué par la mesure de k_2 , est possible en utilisant le $^{11}\text{C-AcAc}$ et d'un modèle à trois compartiments. Les trois compartiments représentent le sang artériel, le compartiment libre (ou extravasculaire et extracellulaire) et le compartiment métabolisé ou lié à un récepteur. Le modèle s'exprime selon les équations ci-dessous [Bentourkia *et al.*, 2009; Buck *et al.*, 1991; Croteau *et al.*, 2014].

$$C_t(t) = [A_1 \cdot \exp(-(k_2 + k_3) \cdot t) + A_2 \cdot \exp(-k_4 \cdot t)] \otimes C_p(t) + TBV \cdot C_{\text{tot}}(t) \quad \text{Éq. 3}$$

$$\text{Où } A_1 = (K_1 k_2)/(k_2 + k_3)$$

$$A_2 = (K_1 k_3)/(k_2 + k_3)$$

$$C_p(t) = [1 - a \cdot (1 - \exp(-t \cdot \log(2)/m))] \cdot C_{\text{tot}}(t) \quad \text{Éq. 4}$$

C_t , C_{tot} et C_p représentent l'activité présente dans le tissu d'intérêt, le sang total et le plasma respectivement, tandis que $K_1 - k_4$ sont des constantes d'échange entre les trois compartiments du modèle et TBV est le volume de sang présent dans le tissu. Les paramètres a et m représentent les métabolites dans le sang, suite à la production de $^{11}\text{C-CO}_2$.

Les deux types d'analyses pharmacocinétiques utilise le modèle à trois compartiments, cependant dans le cas du $^{18}\text{F-FDG}$ la variable k_4 est égale à zéro puisqu'il ne peut être métabolisé.

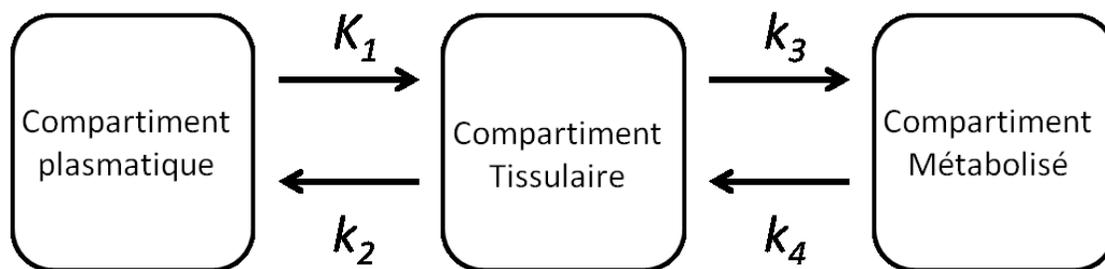


Figure 1 – Schéma représentant les différents compartiments et constante d'échange présent dans les équations des modèles d'analyse pharmacocinétique des traceurs ^{18}F -FDG et ^{11}C -AcAc.

L'expansion de l'imagerie TEP par le développement de nouveaux traceurs ainsi que la mise au point de modèle d'analyse permettent de mieux déceler ou caractériser différents mécanismes. De plus, ces nouveaux modèles permettent d'améliorer les méthodes ainsi que la précision dans le diagnostic d'un cancer ou l'observation d'une pathologie.

2. OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

L'administration d'agents de chimiothérapie est couramment utilisée dans le traitement de plusieurs types de cancer. Cependant, de nombreuses études ont démontré que l'utilisation d'agents de chimiothérapie induit des effets secondaires non désirables, dont des dommages cardiaques [Truong *et al.*, 2014]. Les méthodes actuellement utilisées en clinique ne permettent pas de prédire le développement d'une cardiotoxicité, étant donné que le principal suivi effectué est l'évaluation de la FEVG. L'observation de la diminution de la fraction d'éjection par les techniques conventionnelles fournit un indice souvent trop tardivement de la cardiotoxicité, alors que les dommages sont déjà établis et sont probablement à un état de non-retour. Dans ce contexte, il serait particulièrement utile de découvrir des biomarqueurs permettant de détecter des changements cardiaques précoces par des méthodes non invasives, par exemple via l'imagerie. Puisque des perturbations au niveau métabolique ou physiologique risquent de précéder les changements observés au niveau fonctionnel et structurel, c'est de ce côté que nous proposons d'orienter nos recherches.

Les objectifs de cette étude visent premièrement à mettre au point un modèle de cardiotoxicité induite par l'administration d'un agent de chimiothérapie chez la souris. La mise au point d'une cardiotoxicité chez un modèle de souris permettrait plusieurs avantages dont la possibilité d'implanter différents types de tumeurs humaines ou murines. De plus, la souris permet d'effectuer un suivi simultané des réponses cardiaques et tumorales sous différentes stratégies de traitement.

Le deuxième objectif est de développer et valider un protocole de suivi longitudinal pour l'évaluation précoce du développement de problèmes cardiaques, protocole basé sur l'imagerie TEP. Deux traceurs différents seront utilisés à cette fin : le ^{18}F -FDG et le ^{11}C -AcAc. Ces deux traceurs donnent de l'information sur la fonction ainsi que sur le métabolisme cardiaque. De plus, l'utilisation du ^{11}C -AcAc permettrait de détecter de façon

précoce le développement d'une cardiotoxicité sans avoir recours à un test à l'effort. Les deux traceurs seront analysés à l'aide de modèles pharmacocinétiques afin d'extraire les paramètres physiologiques. Le ^{18}F -FDG, un analogue du glucose, est employé pour mesurer la consommation de glucose par le myocarde et vérifier si l'administration de doxorubicine induit un changement au niveau des substrats énergétiques utilisés par le cœur. De plus, ce traceur est utilisé pour évaluer la fonction cardiaque. Le ^{11}C -AcAc, un corps cétonique, est utilisé pour mesurer l'absorption du traceur (K_1) et de la clairance du radiotracer (k_2) par le cœur. L'hypothèse est que l'utilisation de ces deux traceurs en imagerie pourrait offrir la possibilité de déceler de façon précoce et non-invasive les modifications au niveau métabolique qui précèdent ou interviennent concurremment avec le développement de la cardiotoxicité induite par la doxorubicine.

3. MATÉRIELS ET MÉTHODES

3.1 Culture cellulaire et implantation de tumeurs

Lors des premières étapes du projet, deux lignées cellulaires du cancer du sein murin ont été utilisées pour tester l'activité antinéoplasique de la doxorubicine. Les deux lignées que l'on nomme MC7-L1 et MC4-L2 proviennent d'adénocarcinome mammaire murin [Lanari *et al.*, 2001]. Les deux lignées cellulaires sont maintenues dans le milieu de culture DMEM/F12 (Dulbecco's modified eagle medium : Nutrient mixture F12) supplémenté avec 10 % FBS (sérum fœtal bovin), 2 mM de L-glutamine, 1 U/mL de pénicilline G, 1 µg/mL de streptomycine et 2 µg/mL d'amphotéricine B. Par la suite, les cellules sont placées dans un incubateur, à 37°C avec 5 % de CO₂ pour favoriser la croissance cellulaire.

Les deux lignées cellulaires ont été implantées à des souris Balb/c femelles à raison de 10×10^6 cellules par tumeur, ce qui veut dire que chaque souris possède une tumeur MC7-L1 et une tumeur MC4-L2. Les tumeurs sont positionnées dans le milieu du dos et injectées de façon sous-cutanée dans les souris anesthésiées. La croissance des tumeurs prend environ 4 semaines avant d'atteindre une dimension tumorale adéquate (diamètre $\sim 60 \text{ mm}^3$) pour débiter le suivi des tumeurs par imagerie TEP et procéder par la suite à l'administration de la doxorubicine. La dimension tumorale adéquate de 60 mm^3 permet d'effectuer une analyse de TMRG où l'effet du volume partiel devient négligeable. De plus, les tumeurs sont mesurées toutes les semaines à l'aide d'un pied à coulisse afin de suivre la croissance de la tumeur.

3.2 Préparation des doses de doxorubicine et son administration

La doxorubicine provient de la pharmacie de chimiothérapie du département d'oncologie du CHUS et arrive dans une ampoule qui contient une concentration de 2 mg/mL. L'ensemble des doses ont été calculées afin d'obtenir des concentrations entre 2

et 10 mg/kg et les doses ont été préparées de la même manière. Le calcul des doses à administrer a été standardisé pour une souris femelle de 20 g, et la doxorubicine a été diluée avec une solution de saline. Les doses de doxorubicine ont été administrées via la veine caudale de la souris et cela sous anesthésie. Pour ce faire, les souris soumises à l'expérience ont été anesthésiées respectivement avec un mélange d'isoflurane et d'oxygène à 2 % et 1,5 L/min. Une canule a été positionnée dans la veine caudale et le tout assuré par un retour veineux dans le cathéter afin de ne pas injecter les doses de façon paraveineuse. La seringue de doxorubicine a été positionnée sur une pompe et l'injection a été effectuée, pour les premiers protocoles, à une vitesse de 0,02 mL/min, tandis que pour le dernier protocole, l'injection a été administrée plus lentement, soit à une vitesse de 0,015 mL/min. La diminution de la vitesse d'injection aide à minimiser le phénomène d'extravasation au site d'injection, qui est non souhaitable, car la doxorubicine a tendance à induire une nécrose de la veine et des tissus environnants. Les injections ont été effectuées à une fréquence d'une ou deux fois par semaine, selon le protocole qui a été choisi. Les souris contrôles ont subi le même processus d'administration et elles ont reçu le même volume de la solution saline utilisée pour diluer la doxorubicine.

3.3 Définition des différents protocoles

Différents protocoles de traitements ont été réalisés afin de mettre au point, chez la souris, un modèle de cardiotoxicité induite par l'administration d'un agent de chimiothérapie. Dans la section suivante sont présentées les diverses variantes qui ont été apportées lors de la réalisation des protocoles. De plus, les études #1 à #4 étaient des essais pilotes visant à définir le protocole définitif du projet, ce qui explique les faibles nombres de sujets pour chaque groupe à l'étude.

3.3.1 Protocole #1

Ce protocole a été effectué en se basant sur les paramètres développés dans le modèle de cardiotoxicité induite par agent de chimiothérapie chez le modèle de rat, ce qui était le point de départ [Croteau *et al.*, 2012]. Les souris utilisées dans ce premier protocole ont été au préalable inoculées avec des tumeurs, au niveau des hanches. Les séances d'imagerie ont été effectuées sur un imageur TEP possédant un champ de vue de 4 cm. La séquence d'imagerie débutait par une acquisition dynamique de 20 min 30 s, suite à l'injection de ^{11}C -AcAc, où le cœur était positionné au centre du champ de vue de l'imageur. Par la suite, la souris était déplacée afin d'obtenir les tumeurs au centre du champ de vue et une acquisition dynamique de 30 min 30 s était réalisée suite à l'injection de ^{18}F -FDG. Finalement, la souris était à nouveau déplacée afin de positionner à nouveau le cœur au centre du champ de vue et une acquisition dynamique de 15 min était effectuée. Dans ce protocole, les souris étaient injectées avec différentes doses de 2, 4, 5 ou 7,5 mg/kg afin de vérifier si ces doses induisaient un effet antinéoplasique sur les cellules tumorales et le développement de dommages cardiaques. Les doses étaient administrées de façon hebdomadaire sur une période de 4 semaines pour des doses cumulatives de 8, 16, 20 et 30 mg/kg. Seulement une souris a été administrée avec chacune des doses sélectionnées pour cette étude.

3.3.2 Protocole #2

Suite au premier protocole, un second protocole a été amorcé avec une deuxième cohorte d'animaux. Les tumeurs inoculées sur ces animaux ont été positionnées dans le milieu du dos, cet endroit permettant d'obtenir l'image du cœur et des tumeurs simultanément, dans la même image. Il est possible d'effectuer des analyses pharmacocinétiques. Ces analyses n'étaient pas possibles dans le premier protocole puisque la fonction d'entrée devait être déterminée à partir du ventricule gauche du cœur, et ce pour l'ensemble de la dynamique. Les animaux ont été injectés à raison d'une fois par semaine pour une période de 8 semaines avec une dose hebdomadaire de 7,5 mg/kg afin d'obtenir une dose cumulative de 60 mg/kg. Les souris ($n=4$) ont été imagées avant le début des traitements, afin d'obtenir les valeurs de référence initiales et, par la suite, chaque semaine,

pour observer l'évolution des réponses cardiaques et tumorales, sous traitement de chimiothérapie. La séquence d'imagerie utilisée dans ce protocole ainsi que les protocoles à venir a été décrite en détail dans la section (3.4), Séance d'imagerie TEP.

Protocole #3

Dans ce nouveau protocole, les doses de doxorubicine ont été augmentées de façon importante pour favoriser le développement d'une cardiotoxicité. Les doses utilisées étaient de 10 mg/kg administrées de façon hebdomadaire pour une période de 8 semaines, afin d'obtenir une dose cumulative de 80 mg/kg ($n=6$). De plus, l'inoculation de tumeurs a été laissée de côté afin de se concentrer sur l'imagerie cardiaque suite à l'administration de chimiothérapie.

3.3.4 Protocole #4

Dans ce quatrième protocole, deux doses de doxorubicine ont été testées, afin de savoir si la dose cumulée administrée ou la fréquence d'injection avait un impact sur le développement d'une cardiotoxicité. Tout d'abord, 3 souris ont été traitées avec une dose de 7,5 mg/kg administrée de façon hebdomadaire sur une période de 8 semaines, ce qui donne une dose cumulative de 60 mg/kg. La deuxième dose qui était de 9 mg/kg, a été administrée à 4 souris, une fois toutes les deux semaines, sur une période de 10 semaines, afin d'obtenir une dose cumulative de 45 mg/kg. De plus, les deux groupes de souris ont été suivis sur une période de 72 jours afin d'observer s'il y a développement d'une cardiotoxicité chronique.

3.3.5 Protocole #5

Les souris ($n=4$) ont reçu 10 injections de doxorubicine sur une période de 7 semaines et chacune des doses contenait 4 mg/kg pour une dose cumulative de 40 mg/kg. L'administration des doses de doxorubicine a été effectuée à raison de 2 doses par semaine, avec une pause de deux semaines après les 4 premières doses. Cette posologie a été établie

en fonction d'études précédentes qui montrent le développement d'une cardiotoxicité chronique chez un modèle de souris [Niu *et al.*, 2009; Sun *et al.*, 2001]. De plus, le temps d'injection des doses a été augmenté de 5 minutes à 10 minutes. Étant donné que les dommages cardiaques les plus préoccupants arrivent tardivement, les souris ont été suivies sur une période de 117 jours et des séances d'imagerie ont été effectuées avant le début des traitements et à toutes les semaines après l'arrêt des traitements afin d'observer l'évolution des dommages dans le temps. De plus, des groupes de souris contrôles ($n=7$) ont été inclus. Ces souris ont reçu le même traitement que le groupe de souris traitées, sauf que les injections ont été faites avec une solution de saline. La fonction ainsi que le métabolisme cardiaque de ce groupe ont été évalués en prenant en compte les résultats obtenus lors de la validation de la fonction d'entrée, soit que la veine a été utilisée pour représenter la fonction d'entrée. Ce groupe contrôle permet de confirmer que les changements observés dans les groupes sous traitement à la doxorubicine sont véritablement associés à l'administration de chimiothérapie et non à des défauts acquis avec l'âge.

3.4 Séance d'imagerie TEP

Pour observer l'évolution du développement de la cardiotoxicité, les souris ont été imagées à plusieurs reprises sur une certaine période de temps déterminée. Tout d'abord, les souris ont été anesthésiées avec un mélange d'isoflurane à 2 %, et sous un débit de 1,5 L/min d'oxygène. Par la suite, une canule a été installée dans la veine caudale pour permettre l'injection des radiotraceurs. Afin de quantifier la consommation cardiaque de glucose dans notre modèle d'analyse pharmacocinétique, une goutte de sang a été prélevée sur une des pattes arrière et le taux de glucose dans le sang a été mesuré avec un glucomètre (glucomètre précision Xtra). En plus de la glycémie, la cétonémie, soit la concentration de β -hydroxybutyrate, a été mesurée dans le but de connaître l'état dans lequel l'animal se trouvait au moment de l'imagerie. Des électrodes sous-cutanées ont été positionnées sur les pattes avant et une des pattes arrière afin d'obtenir l'électrocardiogramme (ECG) de la souris et de surveiller son rythme cardiaque. La souris, ainsi instrumentée, a été installée dans le scanner TEP, en positionnant le cœur au milieu du champ de vue, 4 cm (LabPET4) ou 8 cm (Triumph/LabPET8) selon le type de scanner employé, mais tout en ayant le foie et

les tumeurs présents dans le champ de vue de la caméra. La souris a ensuite reçu deux injections successives. Pour l'injection du premier radiotraceur, le ^{11}C -acétoacétate, la préparation consistait en une dose d'environ 30 MBq qui a été diluée avec une solution de saline pour un volume total de 0,1 mL. L'injection a été réalisée à une vitesse de 0,1 mL à 0,2 mL/min et une acquisition dynamique avec enregistrement de l'ECG de 20 minutes 30 secondes a été démarrée afin de pouvoir analyser la fonction ventriculaire gauche et déterminer le K_1 et le k_2 au niveau du muscle cardiaque, soit l'entrée et la clairance du radiotraceur respectivement. Après un temps d'attente de 20 minutes, afin d'abaisser le niveau d'activité résiduelle dans l'animal, une deuxième dose d'environ 10 MBq de ^{18}F -FDG a été préparée dans un volume total de 0,1 mL et a ensuite été injectée. Suivant un protocole analogue à celui employé pour le ^{11}C -AcAc, une deuxième acquisition dynamique TEP de 45 minutes 30 secondes a été réalisée après l'injection du ^{18}F -FDG. Tout au long des deux séances d'imagerie, la température, la respiration et le rythme cardiaque étaient enregistrés.

3.5 Validation de la fonction d'entrée

La fonction d'entrée représente l'activité présente dans le sang en fonction du temps et elle est nécessaire lors des analyses pharmacocinétiques. La manière standard pour confirmer une fonction d'entrée consiste à effectuer des prélèvements sanguins à différents temps, afin de connaître la concentration sanguine du radiotraceur. La validation de la fonction d'entrée a été effectuée avec des souris Balb/c femelles, où la carotide a été canulée, afin d'obtenir du sang artériel. La veine caudale a aussi été canulée pour permettre l'injection du traceur à l'étude. Par la suite, la souris est positionnée dans le scanner, le cœur et les organes susceptibles d'être utilisables comme fonction d'entrée étant placés dans le centre du champ de vue de la caméra. L'injection du traceur a été effectuée de la même façon que pour les études de suivi afin d'obtenir ainsi des mesures comparables, soit un volume de 0,1 mL à une vitesse de 0,2 mL/min. Des prélèvements sanguins ont été effectués aux 5 secondes pour la première minute, par la suite, des prélèvements d'une durée de 10 s sont pratiqués à 1 min 30 s, 2 min, 3 min, 5 min, 10 min, 15 min et 20 min.

3.6 Reconstruction d'images dynamiques

Les images ont été reconstruites à l'aide d'un algorithme MLEM (maximum likelihood expectation maximization) avec une matrice 3D afin de connaître l'activité présente dans un organe, à un temps donné. Les images acquises en mode liste ont été reconstruites avec un découpage temporel de 1×30 s, 12×10 s, 11×30 s et 5×150 s pour le $^{11}\text{C-AcAc}$ et de 1×30 s, 12×15 s, 9×30 s, 5×150 s et 5×300 s pour le $^{18}\text{F-FDG}$. Par la suite, des régions d'intérêt ont été dessinées sur les organes à l'étude, soit sur le myocarde et sur une source de sang artériel (ventricule gauche et le foie ou la veine cave) pour extraire les courbes temps-activité. Pour les images obtenues avec le $^{18}\text{F-FDG}$, les régions d'intérêt sur le myocarde et le foie ont été tracées dans les dernières images de la série temporelle, alors que sur les images obtenues au $^{11}\text{C-AcAc}$, des régions ont été tracées sur le myocarde, le ventricule gauche et la veine cave, lorsque le traceur se retrouve dans l'organe en question. Cette période se situe principalement au début de la série temporelle, soit dans les 10 premières minutes de l'acquisition.

3.7 Reconstruction d'images synchronisées

La reconstruction d'images synchronisées permet de faire une analyse de la fraction d'éjection du ventricule gauche. Les données ont été enregistrées en mode liste en insérant les marqueurs ECG des battements cardiaques tout au long de l'acquisition. Les images ont ensuite été reconstruites avec un algorithme qui permet de séparer en huit images la séquence qui se déroule entre deux battements cardiaques. Cette division permet de reconstituer l'ensemble des stades du battement cardiaque, soit de la diastole à la systole. L'analyse des images synchronisées a été possible avec des images produites au $^{18}\text{F-FDG}$ lorsque celui-ci est à l'équilibre. Les 15 dernières minutes de l'acquisition ont été utilisées pour la reconstruction d'images synchronisées afin d'effectuer l'analyse de la fraction d'éjection ventriculaire gauche. Il n'a pas été possible d'obtenir des images synchronisées adéquates avec le $^{11}\text{C-AcAc}$ en raison de la courte période de passage du traceur dans le myocarde.

3.8 Analyse de la fraction d'éjection du ventricule gauche

L'analyse de la FEVG a été effectuée avec un logiciel clinique, Corridor4Dm (Segami, Canada), selon l'équation ci-dessous.

$$\% FEVG = \frac{V_{diastole} - V_{systole}}{V_{diastole}}$$

où le $V_{diastole}$ représente le volume présent dans le ventricule gauche avant la contraction musculaire, c'est-à-dire lorsque le cœur est complètement rempli de sang. Le volume systolique $V_{systole}$ représente le volume restant dans la cavité ventriculaire gauche suite à la contraction du muscle myocardique. Les images synchronisées ont été importées dans le logiciel, le cœur a été réorienté et les axes ont été positionnés sur les parois cardiaques selon les trois axes, ce qui permet de délimiter les parois du myocarde (Fig 2). Lors de l'analyse, suite à la réorientation et au positionnement, il suffit de s'assurer que les isocontours positionnés par le logiciel sont situés sur la paroi du myocarde et suivent la paroi lors du battement cardiaque.

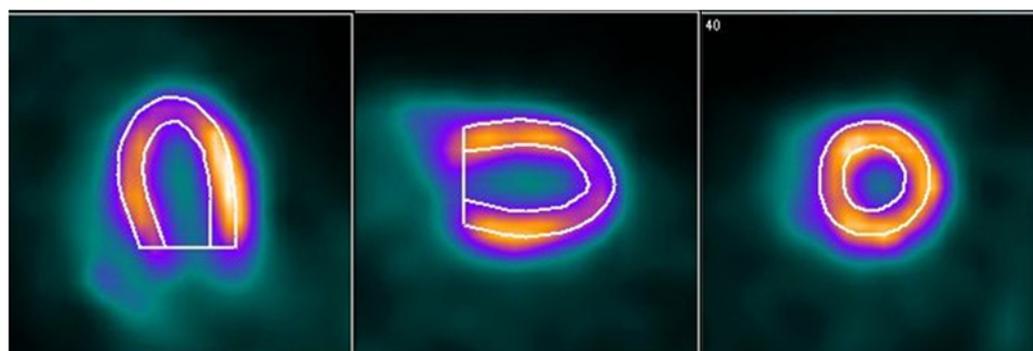


Figure 2 – Analyse de la fraction d'éjection du ventricule gauche d'une souris contrôle, suite à l'injection de ^{18}F -FDG, après réorientation et application des axes pour délimiter les parois cardiaques.

3.9 Modélisation pharmacocinétique

Grâce à l'analyse pharmacocinétique des deux radiotraceurs utilisés durant ce projet de recherche, il a été possible d'extraire différents paramètres. L'utilisation du ^{11}C -AcAc a permis d'évaluer la captation du radiotraceur ainsi que de mesurer la clairance par le cœur. Quant au ^{18}F -FDG, il permet de mesurer le taux de transfert et la consommation de glucose par le cœur. Tout d'abord, les courbes d'activité en fonction du temps des organes d'intérêt doivent être extraites des séries d'images afin d'appliquer les modèles pharmacocinétiques. Pour l'obtention de ces courbes, il est nécessaire de tracer des régions d'intérêt sur les organes à l'étude, et ce pour chacun des deux traceurs utilisés puisque la biodistribution en fonction du temps n'est pas identique dans tous les organes.

L'obtention de la fonction d'entrée avec le ^{11}C -AcAc se fait principalement en traçant une région d'intérêt dans la cavité ventriculaire et sur la veine cave afin de connaître la concentration du traceur présente dans le sang. Une autre région d'intérêt a été tracée sur les parois du myocarde, par la suite, les deux régions sont transposées sur l'ensemble des images de la série dynamique.

L'analyse du taux de consommation de glucose par le muscle cardiaque a été effectuée par une analyse pharmacocinétique graphique de type Patlak. Pour ce faire, des régions d'intérêt ont été tracées sur les organes à l'étude. Une première région a été tracée sur la paroi du myocarde et par la suite, elle a été transférée sur l'ensemble des images de la série dynamique pour connaître l'activité en fonction du temps. L'obtention de la courbe représentant la fonction d'entrée est plus complexe à obtenir dans les images effectuées avec le ^{18}F -FDG. La courbe obtenue à partir de la cavité ventriculaire n'est pas utilisable puisqu'on observe une importante contamination provoquée par l'activité qui s'accumule dans le myocarde. Pour pallier à ce problème, on utilise la cavité ventriculaire pour la première phase où la concentration sanguine du traceur est dominante, et on utilise la courbe d'activité du foie lorsque l'activité sanguine devient inférieure à celle du myocarde pour obtenir la fin de la courbe. Lorsque les deux courbes sont obtenues, elles ont été

analysées à l'aide du modèle pharmacocinétique de type Patlak pour obtenir la pente (K_i), représentant le taux de transfert de glucose vers le myocarde, et le MMRG. La principale différence entre le K_i et la valeur de MMRG est que cette dernière a été normalisée par la valeur de glycémie sanguine de la souris lors de l'acquisition dynamique. En plus du MMRG, il est aussi possible de mesurer le TMRG en utilisant la même méthode d'analyse.

3.10 Correction par la méthode de factorisation de matrice non-négative

Dans le dernier protocole, les courbes obtenues à partir des images effectuées avec le ^{11}C -acétoacétate ont été corrigées par la méthode de factorisation de matrice non-négative. Cette méthode consiste à prendre l'activité présente dans un voxel et à la décomposer en signaux distincts, lesquels représentent le myocarde, le ventricule gauche et le ventricule droit. Cette décomposition permet d'obtenir une approximation des vraies valeurs d'activité pour les parois du myocarde et pour la courbe qui est utilisée comme fonction d'entrée dans les modèles pharmacocinétiques. La méthode de factorisation de matrice non-négative s'exprime selon les équations ci-dessous [Chourasia *et al.*, 2012; Lee et Seung, 1999].

$$V \approx WH$$

$$V_i(t) \approx \sum_{j=1}^K W_{ij} \cdot H_j(t) \quad \text{Éq. 5}$$

où V_i représente l'activité dans un voxel i en fonction du temps, W correspond à la matrice de poids associée à chaque facteur et H est la matrice associée aux facteurs physiologiques. Pour appliquer la méthode, une région d'intérêt a été tracée sur l'ensemble du cœur de la souris. Une fois la région tracée, celle-ci a été décomposée avec la méthode qui permet alors d'obtenir trois images : le myocarde, le ventricule droit et le ventricule gauche. Lorsque les trois images sont obtenues, des régions d'intérêt peuvent être tracées de nouveau, mais cette fois, sur le myocarde et sur le ventricule gauche, afin d'obtenir les courbes isolées d'activité dans le temps, du tissu et de la fonction sanguine d'entrée.

3.11 Préparation des échantillons pour analyses histopathologiques

À la fin de l'étude, les souris ont été euthanasiées par inhalation de CO₂, afin de prélever le cœur et d'y effectuer des analyses histopathologiques pour vérifier la présence de dommages cardiaques par microscopie. Le cœur a été prélevé en faisant très attention de ne pas induire de dommages avec les instruments de chirurgie. Une fois le cœur excisé, il a été rincé dans une solution de saline afin d'y extraire tout le sang contenu dans les ventricules. Par la suite, le cœur a été coupé en deux parties sur le sens de la longueur, tout en s'assurant de voir le ventricule gauche ainsi que le droit sur une même coupe. Finalement, les échantillons ont été mis dans une solution de formol à une concentration de 10 % aux fins de conservation, et cela jusqu'aux différentes étapes qui permettront l'évaluation histologique. Les échantillons cardiaques ont été coupés de façon longitudinale, afin de voir les 4 cavités, et les tissus ont été intégrés dans de la paraffine. Par la suite, des tranches de 4 µm d'épaisseur ont été positionnées sur des lames. Une coloration hématoxyline-éosine-phloxine-safran a été utilisée et les lames ont été examinées par microscopie optique afin de visualiser les structures du tissu cardiaque.

3.12 Analyses statistiques

L'ensemble des résultats obtenus avec les différentes analyses pharmacocinétiques ont été compilés et les statistiques ont été effectuées avec le logiciel GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, San Diego, Ca, USA). Les résultats des protocoles 1 à 5 ont été présentés selon la moyenne ± écart-type. De plus, une régression linéaire a été appliquée sur l'ensemble des valeurs pour chacun des groupes des protocoles 1 à 4. Cette régression a permis de vérifier si la pente obtenue est non nulle. L'analyse statistique du protocole 5 a été réalisée afin de comparer le groupe traité avec le groupe contrôle où un test-*t* Student a été utilisé. L'obtention d'une différence significative entre les groupes et pour les pentes de régression linéaire a été fixée à $p < 0,05$.

4. RÉSULTATS

4.1 Validation de la fonction d'entrée

Les protocoles #1 à #4 ont permis de mettre en évidence certaines tendances ainsi que de mettre en place le modèle de suivi de la réponse cardiaque chez la souris. Par contre, les différentes analyses à partir des images TEP obtenues n'ont pas permis de confirmer la présence du développement d'une cardiotoxicité chez un modèle de souris induite par l'administration d'un agent de chimiothérapie. Une remise en question était nécessaire afin d'émettre diverses hypothèses pour expliquer les difficultés rencontrées lors des analyses. La première hypothèse repose sur le modèle choisi, c'est-à-dire 1) la souris serait résistante au développement d'une cardiotoxicité induite par la chimiothérapie, 2) les doses de doxorubicine ne sont pas suffisantes, ou 3) la cédure d'injections et le temps d'observation n'étaient pas adéquats après l'arrêt des traitements. La deuxième hypothèse repose sur l'analyse et sur la façon de l'effectuer, c'est-à-dire que les courbes extraites à partir de l'image ne permettent pas une reproductibilité et une similitude entre les sujets afin d'étudier les différents paramètres suite à l'application des modèles pharmacocinétiques.

Suite à ce questionnement, une analyse plus approfondie des courbes utilisées lors de l'application des différentes analyses pharmacocinétiques a été effectuée. Les courbes normalement extraites de l'image correspondent à la concentration du traceur en fonction du temps à l'intérieur du ventricule gauche, soit la fonction d'entrée, la courbe de la paroi du muscle cardiaque et dans le cas du ^{18}F -FDG, la courbe d'activité du foie. La Figure 3 représente les courbes extraites à partir d'une acquisition dynamique effectuée avec le ^{11}C -AcAc. On peut remarquer que les deux courbes se superposent, indiquant la présence de contamination croisée entre les deux structures. Normalement, la courbe sanguine devrait montrer un pic représentant le premier passage du radiotraceur et une clairance beaucoup plus rapide et efficace que celle de l'organe.

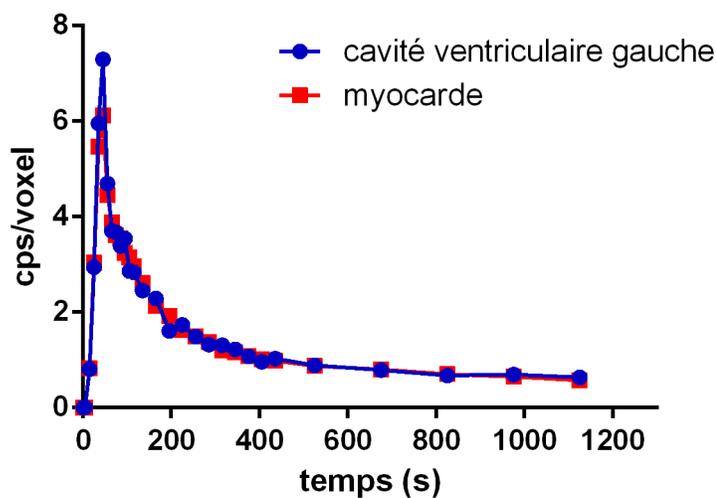


Figure 3 – Courbes d’activité dans le temps de la cavité ventriculaire gauche et de la paroi myocardique extraites d’une série d’images dynamiques effectuées avec du ^{11}C -acétoacétate.

Le phénomène de contamination croisée était également observable entre les courbes sanguines et les parois myocardiques extraites des images obtenues avec une injection de ^{18}F -FDG. Comme le ^{18}F -FDG est un radiotracer ne pouvant être métabolisé par les cellules, celui-ci s’accumule dans l’organe et induit un phénomène aussi important qu’avec le ^{11}C -AcAc. On peut remarquer l’impact que cela produit sur la courbe sanguine à la Figure 4, où l’activité sanguine mesurée augmente tout au long de l’acquisition, alors qu’on s’attend normalement à une disparition rapide du traceur du compartiment sanguin jusqu’à l’équilibre.

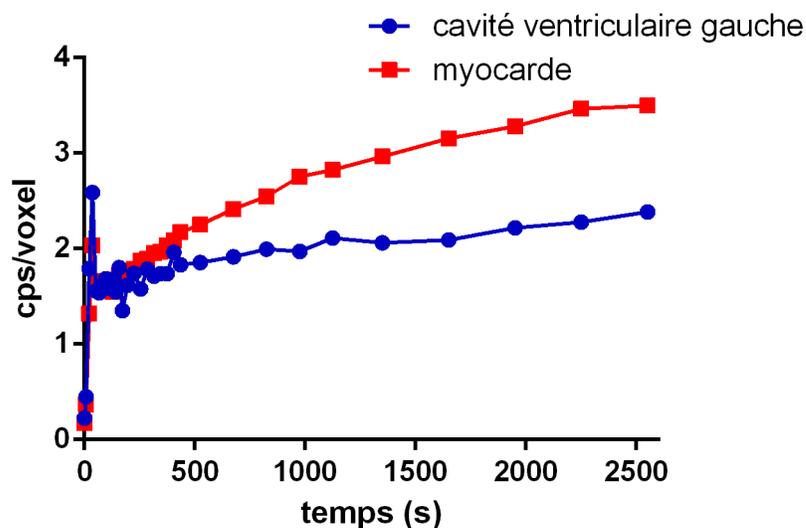


Figure 4 – Courbes d’activité en fonction du temps, de la cavité ventriculaire gauche et de la paroi myocardique extraites des images obtenues avec du ^{18}F -FDG.

Les deux figures précédentes démontrent que la cavité ventriculaire gauche ne peut être utilisée comme fonction d’entrée, puisque les courbes sont fortement influencées par la contamination croisée provenant des tissus environnants, dont notamment le myocarde, et probablement aussi par l’effet de volume partiel, compte tenu des dimensions du ventricule et du myocarde chez la souris. Suite à ces observations, il était important de trouver une meilleure façon d’estimer la fonction d’entrée basée sur un autre organe ou une combinaison d’organes qui serait le reflet de l’activité présente dans le sang. La méthode qui a été employée pour cette validation et qui était considérée comme la méthode de référence était la prise manuelle d’échantillons sanguins au niveau de l’artère carotidienne. Cette méthode consistait à prélever des échantillons sanguins artériels à différents moments, tout au long de l’acquisition dynamique, pour connaître à chaque moment, la concentration d’activité dans le sang. Les temps choisis pour les prises d’échantillons sanguins dépendaient des propriétés cinétiques du traceur utilisé. Les parties importantes à obtenir sont premièrement, la montée rapide de l’activité dans le sang avec l’atteinte du maximum d’activité lors de l’injection du bolus et finalement l’élimination graduelle du

traceur du sang. Suite au comptage des différents échantillons récoltés, il était possible d'interpoler les valeurs obtenues pour que celles-ci correspondent au temps des courbes que l'on peut extraire de la série d'images obtenues. L'analyse de divers organes, dont la veine cave, a permis d'observer que cette structure se comporte de façon similaire à la courbe de prélèvements sanguins. La Figure 5 montre une comparaison entre la courbe obtenue par prélèvements sanguins et la courbe extraite de la veine cave à partir de l'image. On remarque que les deux courbes possèdent des formes similaires, tout comme l'activité maximale retrouvée dans les deux courbes. Le léger décalage temporel correspond au délai associé au prélèvement manuel effectué au niveau de l'artère carotidienne.

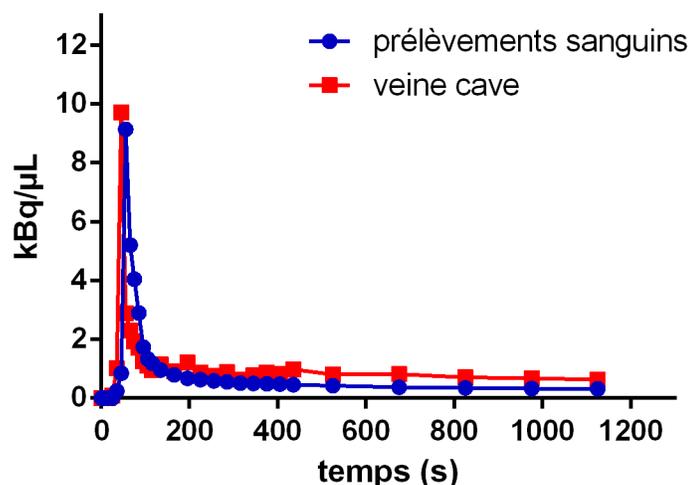


Figure 5 – Graphique représentant une comparaison entre l'interpolation de l'activité mesurée par les prélèvements sanguins manuels et de la courbe de la veine cave dérivée d'une série d'images obtenue après injection de ^{11}C -acétoacétate.

La Figure 6 démontre la comparaison entre les différentes courbes dont il a été possible d'extraire à partir des images obtenues avec le ^{11}C -AcAc et le ^{18}F -FDG. Comme il a été mentionné plus haut, la courbe de sang prise dans le ventricule gauche n'est pas utilisable comme fonction d'entrée puisque l'activité mesurée est fortement influencée par le myocarde, au point même de suivre sa forme dans le cas du ^{11}C -AcAc. On remarque que

la courbe extraite de la veine se distingue clairement de la courbe extraite de la cavité ventriculaire et de la courbe du myocarde, comme on s'y attend de la courbe sanguine. Dans la Figure 6B, l'option d'utiliser la veine cave était définitivement plus appropriée puisque celle-ci n'était pas influencée par des organes environnants qui modifient ainsi la quantité de radioactivité mesurée, comme cela a été observé avec la cavité ventriculaire et les parois du muscle myocardique.

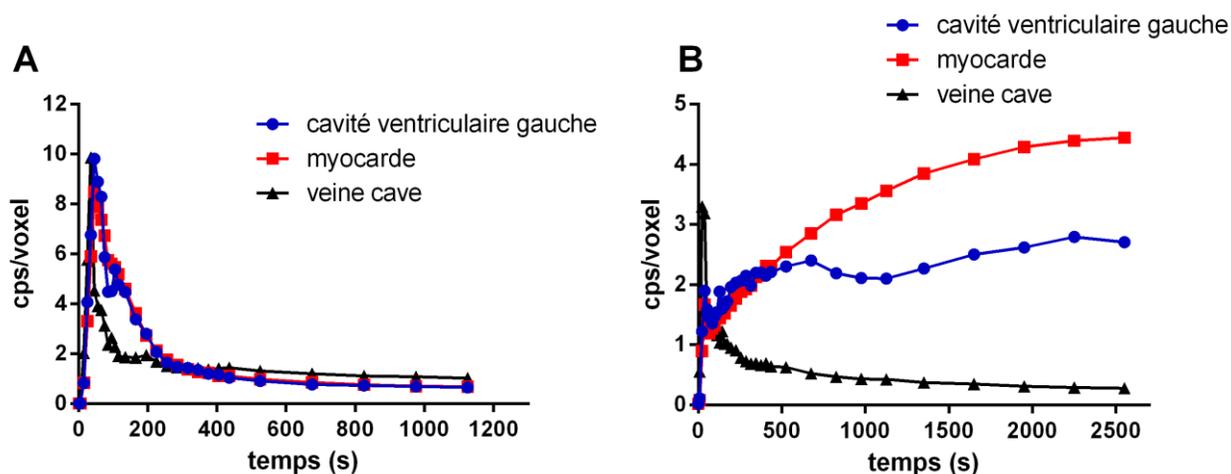


Figure 6 – Graphiques représentant les courbes d'activité, en fonction du temps, extraites de la cavité ventriculaire, de la paroi myocardique et de la veine cave dérivées de l'image pour des études effectuées avec (A) le ^{11}C -AcAc et (B) le ^{18}F -FDG.

L'obtention d'une fonction d'entrée est essentielle lors d'analyses pharmacocinétiques, cependant cette courbe était difficile à obtenir chez la souris. De nombreuses choses restent encore à valider et à confirmer pour avoir une méthode d'extraction qui serait reproductible et robuste. Cependant, l'utilisation de la veine cave devient une option intéressante, mais des valeurs de correction pour le volume partiel doivent tout de même être appliquées.

4.2 Protocole #1

Le premier protocole d'expérimentation visait à mettre au point les paramètres nécessaires au suivi du développement de la cardiotoxicité sous traitement à la doxorubicine, à des doses induisant un effet antinéoplasique. Cette première phase d'expérimentation a permis de développer la méthode d'administration répétée de l'agent de chimiothérapie et le protocole d'imagerie permettant de suivre dans le temps la réponse cardiaque et tumorale. Nous avons ainsi pu mettre au point la technique de canulation de la veine caudale d'une souris à plusieurs reprises afin d'injecter les doses répétées de doxorubicine. Le cathéter était inséré dans la veine caudale et la présence d'un retour veineux permettait de s'assurer que le cathéter était bien positionné dans la veine et que l'injection n'était pas effectuée de façon paraveineuse. La conséquence d'une injection paraveineuse de l'agent de chimiothérapie était le développement de nécrose au site d'injection, rendant impossible la pose d'un cathéter à cet endroit.

Ce premier protocole a aussi permis la mise au point de l'inoculation des cellules tumorales chez le modèle de souris. Cette mise au point consistait à déterminer le nombre de cellules à inoculer pour optimiser le temps de croissance des tumeurs, soit le temps nécessaire pour atteindre une dimension acceptable pour l'imagerie et pour le traitement de chimiothérapie. Suite à l'inoculation, le temps nécessaire pour que les tumeurs atteignent une dimension d'environ 60 mm³ était de 4 semaines. Le protocole a aussi servi à déterminer le site d'inoculation optimal afin d'obtenir le cœur et les tumeurs dans la même image. Finalement, ce premier essai a été utilisé pour développer la séquence d'imagerie et ainsi permettre d'évaluer les réponses cardiaques et tumorales, en fonction du temps. La première séquence d'imagerie utilisée dans ce protocole ne permettait pas d'effectuer des analyses pharmacocinétiques du cœur et des tumeurs avec le ¹⁸F-FDG. La dynamique effectuée sur les tumeurs permettait d'obtenir l'activité en fonction du temps, cependant, comme le cœur n'était pas dans le même plan, la fonction d'entrée ne pouvait être extraite et, en conséquence, les analyses pharmacocinétiques ne pouvaient pas être effectuées. La deuxième dynamique effectuée avec le cœur au centre de l'image, ne permet pas non plus

de réaliser une analyse pharmacocinétique, puisque les courbes de l'activité dans le temps ne contenaient pas l'entrée du traceur dans l'organe cible. Cependant, cette acquisition a permis d'évaluer la fraction d'éjection du ventricule gauche. Suite à ces différentes observations, les tumeurs ont été inoculées dans le milieu du dos pour obtenir les courbes d'activité dans le temps du cœur et des tumeurs pour l'ensemble de la dynamique.

4.3 Protocole #2

Suite aux différentes mises au point apportées avec le premier protocole, avec celui-ci, il a été possible de réaliser un suivi longitudinal des réponses cardiaques et tumorales suite à l'administration de la doxorubicine. La Figure 7 représente l'évolution de la croissance des cellules tumorales dans le temps, sans aucun traitement (Fig. 7A) et avec administration de doxorubicine (Fig. 7B). La Figure 7A montre une courbe de croissance normale des cellules tumorales, courbe qui croît de façon exponentielle, dès la 4^e semaine d'observation. La Figure 7B représente le comportement des cellules tumorales en fonction de l'exposition à la doxorubicine. Celle-ci montre que la taille des cellules demeure stable à un volume d'environ 100 mm³ jusqu'à la 8^e semaine de suivi, alors que les cellules contrôles atteignent une taille d'environ 400 mm³ à la 7^e semaine. Cependant, les cellules qui ont été exposées à la doxorubicine de façon hebdomadaire, pendant plusieurs semaines, montrent une reprise de la croissance de façon exponentielle à partir de la semaine 9, et ce, jusqu'à la fin du suivi.

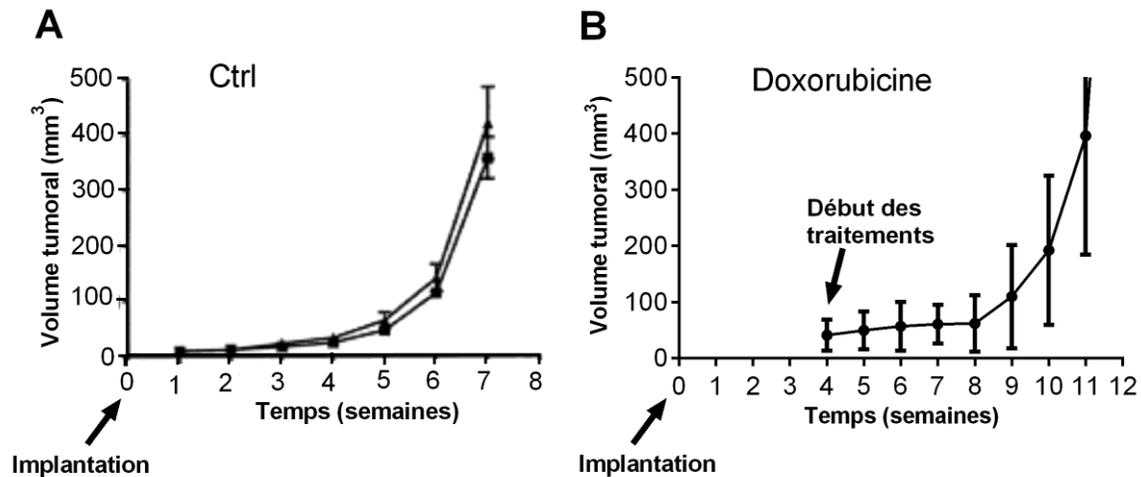


Figure 7 – Courbes de l'évolution de la croissance des cellules MC7-L1 et MC4-L2 dans le temps suite à l'implantation chez un modèle de souris. (A) Sans traitement (Reproduit avec la permission de Elsevier [Aliaga *et al.*, 2004]) et (B) avec traitement hebdomadaire de doxorubicine ($n=4$).

L'obtention des images dynamiques avec le ^{18}F -FDG, a permis d'effectuer des analyses pharmacocinétiques graphiques de type Patlak. Les courbes de la Figure 8 représentent le taux de consommation du glucose par les cellules tumorales (TMRG) en fonction du temps et de la croissance cellulaire. Les valeurs de TMRG semblent montrer une tendance à la diminution, sans toutefois que cela soit significatif. L'activité glycolytique dans les premières semaines et les valeurs de TMRG demeurent similaires pour le reste des semaines de traitements, et ce pour les deux lignées cellulaires à l'étude. L'activité glycolytique moyenne obtenue au départ pour les deux lignées cellulaires était de $9,2 \pm 3,5 \mu\text{Mole}/100 \text{ g}/\text{min}$ ($n=15$). À la fin du suivi, les cellules MC7-L1 atteignaient une activité glycolytique moyenne de $6,9 \pm 1,5 \mu\text{Mole}/100 \text{ g}/\text{min}$ ($n=2$), alors que l'activité des cellules MC4-L2, était de $5,1 \pm 3,9 \mu\text{Mole}/100 \text{ g}/\text{min}$ ($n=3$). De plus, lorsqu'une régression linéaire est appliquée sur les valeurs des deux lignées cellulaires, on observe que les pentes ne sont pas significativement différentes de zéro (Fig 8B). L'obtention de la pente des cellules MC7-L1 montre une légère tendance à la diminution de la consommation de

glucose sur l'ensemble du suivi ($p=0,6006$), alors que la pente des cellules MC4-L2 démontre une tendance à la baisse qui est un peu plus importante ($p=0,0842$). Cependant, ces premiers résultats démontrant la réponse tumorale au traitement ne permettent pas de tirer des conclusions fermes puisque les résultats obtenus ne sont pas significatifs et ne permettent pas de confirmer que les cellules ont subi des dommages suite à l'administration de la doxorubicine. La réduction importante du nombre de sujets en cours de suivi, due à des décès prématurés ou à l'atteinte de points limites, empêche de conclure quoi que ce soit sur l'efficacité du traitement.

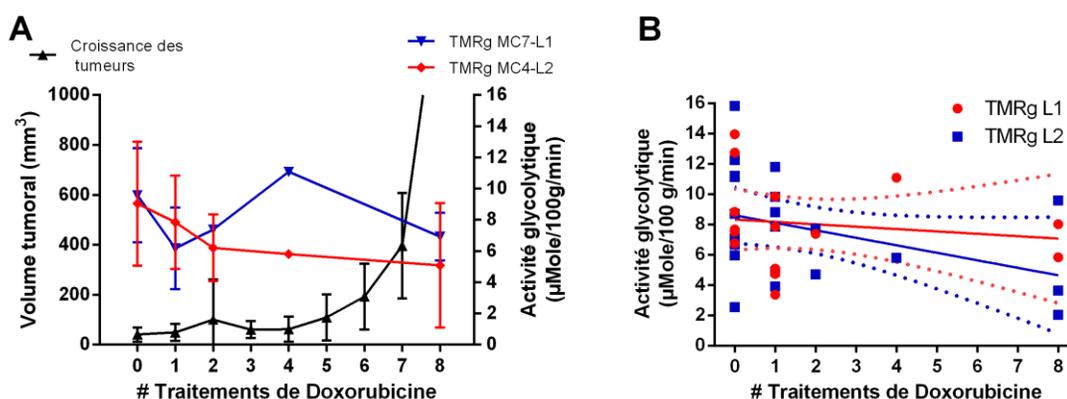


Figure 8 - Mesure (A) du taux de consommation de glucose par les cellules tumorales (TMRG) comparée à leur croissance cellulaire et (B) la pente de la régression linéaire du TMRG des deux lignées cellulaires en fonction des traitements reçus.

Pour ce qui était des effets du traitement au niveau cardiaque, les résultats sur les paramètres métaboliques sont résumés à la Figure 9. L'analyse de la captation du ¹⁸F-FDG montre que les valeurs de MMRG passent d'environ $75,6 \pm 30,5$ μMole/100 g/min ($n=9$) à $24,3 \pm 15,3$ μMole/100 g/min ($n=3$) après 8 semaines de traitement à la doxorubicine, ce qui représente une dose cumulative de 60 mg/kg (Figure 9A). L'application d'une régression linéaire sur l'ensemble des valeurs de MMRG, montre que la pente diminue de façon significative avec un $p=0,0027$ (Figure 3D). La captation myocardique (K_1), basée sur l'analyse de l'entrée du ¹¹C-AcAc, a diminué également dans le temps, et l'importance

de cette diminution était en fonction des doses cumulatives de doxorubicine reçues. Ainsi, avant le début des traitements, le K_1 mesuré était de $2,9 \pm 1,3 \text{ min}^{-1}$ ($n=4$) et celui-ci tend à diminuer jusqu'à des valeurs de $1,4 \pm 0,8 \text{ min}^{-1}$ ($n=2$) après 4 semaines où la dose cumulative était de 30 mg/kg. En ce qui concerne la clairance du traceur par le cœur (k_2), suite à l'injection de doses de doxorubicine, les valeurs initiales moyennes étaient de $1,2 \pm 0,6 \text{ min}^{-1}$ ($n=4$) et de $0,6 \pm 0,4 \text{ min}^{-1}$ ($n=2$) après 4 semaines. L'évaluation de l'ensemble des valeurs obtenues par l'application d'une régression linéaire, permet d'observer que la pente des deux paramètres analysés n'était pas significativement différente de zéro, mais il est tout de même possible d'observer une tendance à la baisse du paramètre K_1 , la captation myocardique, ($p=0,0787$) et du paramètre k_2 , la clairance du traceur, ($p=0,1266$) (Fig. 9B et C). Malgré une tendance à la baisse des mesures de K_1 et de l'activité métabolique, l'ensemble des résultats obtenus ne sont pas significatifs, sauf pour la consommation de glucose par le myocarde.

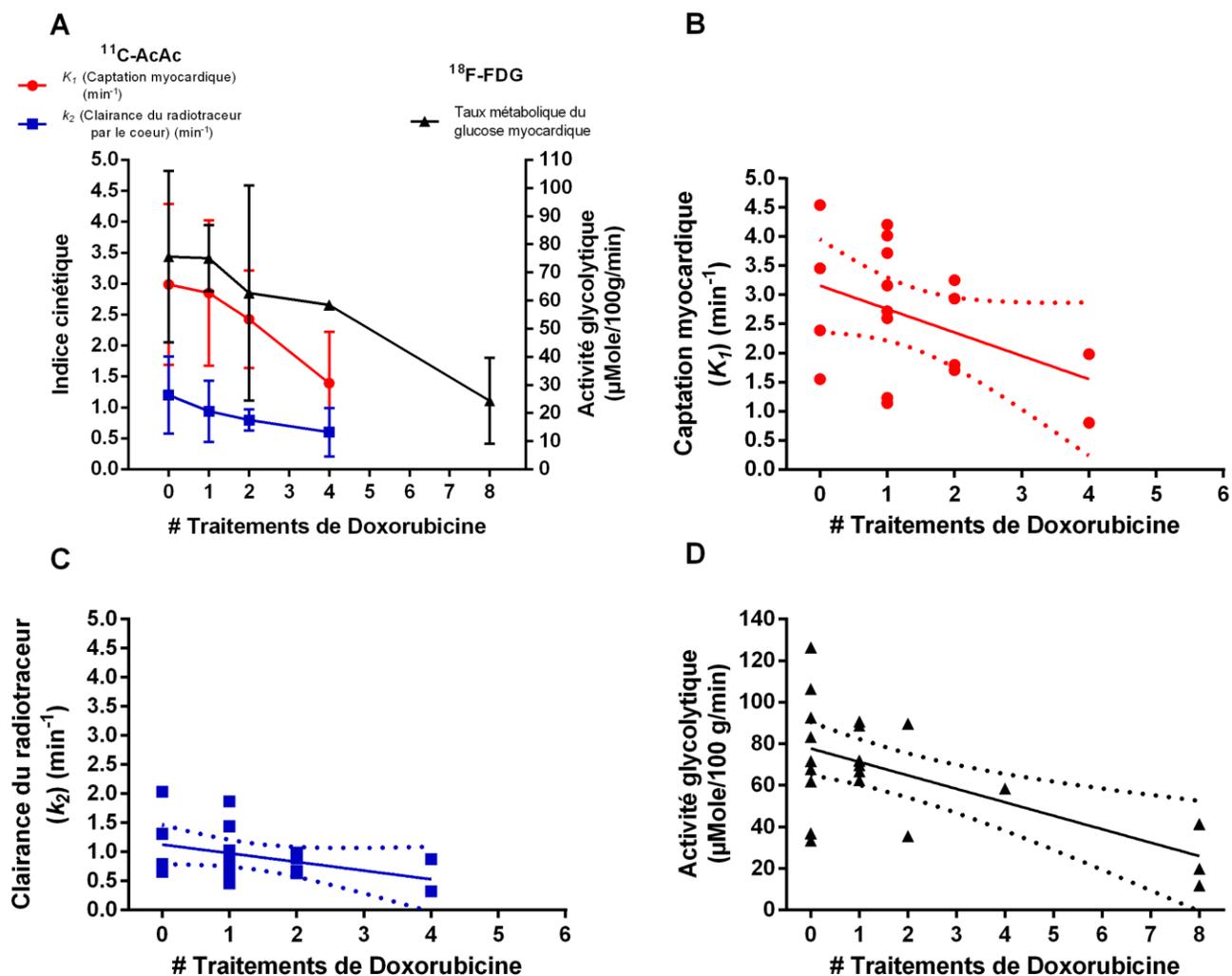


Figure 9 – Évaluation du métabolisme cardiaque et l’application d’une régression linéaire en mesurant (A et D) le taux métabolique du glucose par le cœur (MMRG), (A et B) la captation (K_1) et (A et C) la clairance myocardique du traceur (k_2) en fonction des traitements reçus ($n=4$).

À la Figure 10, on observe une légère tendance à la diminution de la FEVG d’environ 8 %, les valeurs de départ passant de $79,4 \pm 4,6$ % ($n=5$) à $72,3 \pm 7,3$ % ($n=3$) à la fin du suivi. L’analyse de la pente par régression linéaire montre une légère tendance à la diminution de la FEVG par contre, celle-ci est non significative ($p=0,2870$). La mesure des volumes ventriculaires permet aussi de percevoir certaines tendances. Dans les deux cas, soit en fin de systole et en fin de diastole, on observait une légère tendance une

augmentation. Dans le cas de la diastole, les volumes débutaient à $21,6 \pm 2,1 \mu\text{L}$ ($n=5$) et augmentaient à $26,3 \pm 7,6 \mu\text{L}$ ($n=3$). Pour la systole, les volumes résiduels étaient de $4,6 \pm 1,1 \mu\text{L}$ ($n=5$) au début de l'étude, alors qu'à la fin du suivi, le volume résiduel dans la cavité ventriculaire, était de $7,0 \pm 2,6 \mu\text{L}$ ($n=3$). La régression linéaire sur l'ensemble des valeurs en fonction du temps ne révèle aucune augmentation significative ($p=0,2051$ et $p=0,1628$ pour le volume diastolique et systolique respectivement), malgré qu'une légère tendance à la hausse soit perceptible.

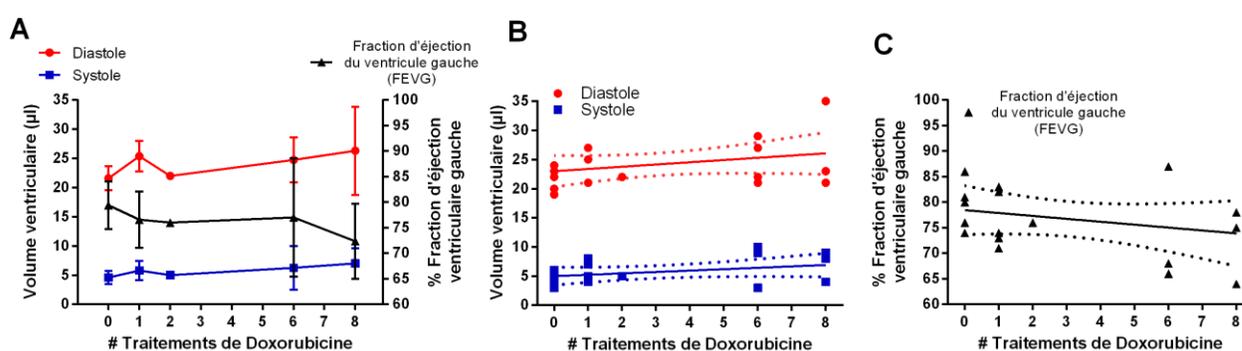


Figure 10 – Évaluation de la fonction cardiaque, en mesurant (A) la fraction d'éjection du ventricule gauche et les volumes ventriculaires en fin de diastole et en fin de systole, et (B et C) analyse de la pente en fonction du temps par régression linéaire.

Dans ce deuxième protocole, il a été possible d'observer certaines tendances dans les différents paramètres à l'étude que ce soit au niveau du métabolisme tumoral et myocardique ou au niveau de la fonction cardiaque. Cependant, comme les résultats obtenus ne sont pas statistiquement significatifs à cause du faible nombre de sujets par cohorte, ces résultats préliminaires démontrent la faisabilité d'effectuer un suivi longitudinal de la réponse tumorale en même temps que la réponse cardiaque durant l'administration de doxorubicine.

4.4 Protocole #3

Le protocole de traitement précédent a permis d'observer certaines tendances dans les paramètres à l'étude, soit au niveau du métabolisme cardiaque ainsi qu'au niveau de la fonction cardiaque. Cependant, les changements étaient superficiels et ne permettaient pas de confirmer que les traitements de chimiothérapie aient induit les effets désirés au niveau des cellules cancéreuses ainsi qu'au niveau des cellules cardiaques. Suite à ces observations, des modifications au protocole ont été apportées, principalement au niveau de la dose. Celle-ci a été augmentée de façon importante afin d'assurer le maximum de dommages induits par les doses de doxorubicine sur les cardiomyocytes.

L'évaluation du suivi des réponses cardiaques et tumorales dans ce modèle n'a pu être réalisée puisque des problèmes physiques plus importants sont apparus chez les souris, suite aux premières injections des doses de doxorubicine. Tout d'abord, il a été possible d'observer, dès la troisième injection, la présence importante de nécrose au site d'injection. Malgré la présence de nécrose, il était encore possible d'administrer les doses subséquentes de doxorubicine. Cependant, suite au cinquième traitement, les souris ont commencé à développer des problèmes physiques importants se traduisant par une perte de mobilité et une perte importante de leur poids corporel. Les souris avaient beaucoup de difficulté à se mouvoir, puisque leurs pattes arrière étaient continuellement en extension et ne pouvaient plus supporter leur poids afin de se nourrir. Suite à l'observation de cet inconfort, les traitements ont été arrêtés et les souris euthanasiées, étant donné que les doses injectées semblaient induire des dommages plus importants que les dommages cardiaques susceptibles d'être induits lors de l'administration de l'agent de chimiothérapie.

4.5 Protocole #4

Suite aux observations des différents protocoles précédents, plusieurs paramètres ont été modifiés dans ce quatrième protocole. La première modification effectuée était en lien avec les doses de doxorubicine administrées et la deuxième modification reposait sur l'horaire d'administration des différentes doses de doxorubicine.

La première analyse possible avec les images dynamiques synchronisées sur l'ECG, suite à une injection de ^{18}F -FDG, a permis d'évaluer la fonction cardiaque, par la mesure des volumes ventriculaires et la FEVG. La Figure 11 illustre les volumes en fin de diastole (A et B) et les volumes en fin de systole (C et D), avant le début des traitements de chimiothérapie, pendant les traitements, ainsi qu'après l'arrêt des injections. Les volumes mesurés en fin de diastole étaient sensiblement similaires tout au long du suivi. On observait, pour les souris traitées avec les deux doses, soit de 7,5 et 9 mg/kg, que les valeurs obtenues étaient de $23,3 \pm 3,8 \mu\text{L}$ ($n=6$) et qu'à la fin du suivi, les valeurs obtenues étaient de $26,5 \pm 2,1 \mu\text{L}$ ($n=2$) pour les souris traitées avec des doses de 7,5 mg/kg. Pour ce qui était du groupe de souris traitées avec des doses de 9 mg/kg, les valeurs à la fin du suivi, étaient de $21,0 \pm 1,4 \mu\text{L}$ ($n=2$). L'analyse des volumes, en fin de systole et par rapport au point initial, montre une tendance à la hausse des volumes mesurés dans la cavité ventriculaire, et ce, principalement pour le groupe traité avec des doses de 7,5 mg/kg. Les deux groupes débutent avec un volume de $2,6 \pm 2,1 \mu\text{L}$ ($n=7$) dans le ventricule gauche et augmente à $10,0 \mu\text{L} \pm 0,0 \mu\text{L}$ ($n=2$) et $4,5 \pm 2,1 \mu\text{L}$ ($n=2$) pour le groupe traité avec des doses de 7,5 mg/kg et 9 mg/kg, respectivement. Une autre analyse a été réalisée pour voir l'évolution de l'ensemble des données obtenues en fonction du temps par l'obtention de la pente, suite à une régression linéaire, afin de tester si les pentes obtenues sont non nulles. En ce qui concerne les volumes diastoliques il est possible d'observer une diminution significative ($p=0,0247$) lorsque les souris sont traitées avec des doses de 9 mg/kg, alors qu'aucune tendance n'est observable lorsque les souris sont traitées avec des doses de 7,5 mg/kg ($p=0,8314$). Pour ce qui est des volumes systoliques, l'analyse de la pente par une régression linéaire permet d'observer une augmentation des volumes pour les souris ayant reçu des doses de 7,5 mg/kg. On obtient une différence significative dans la pente pour les animaux qui ont été traités avec une dose de 7,5 mg/kg ($p=0,0089$) et demeure non significative pour la dose de 9 mg/kg ($p=0,4678$).

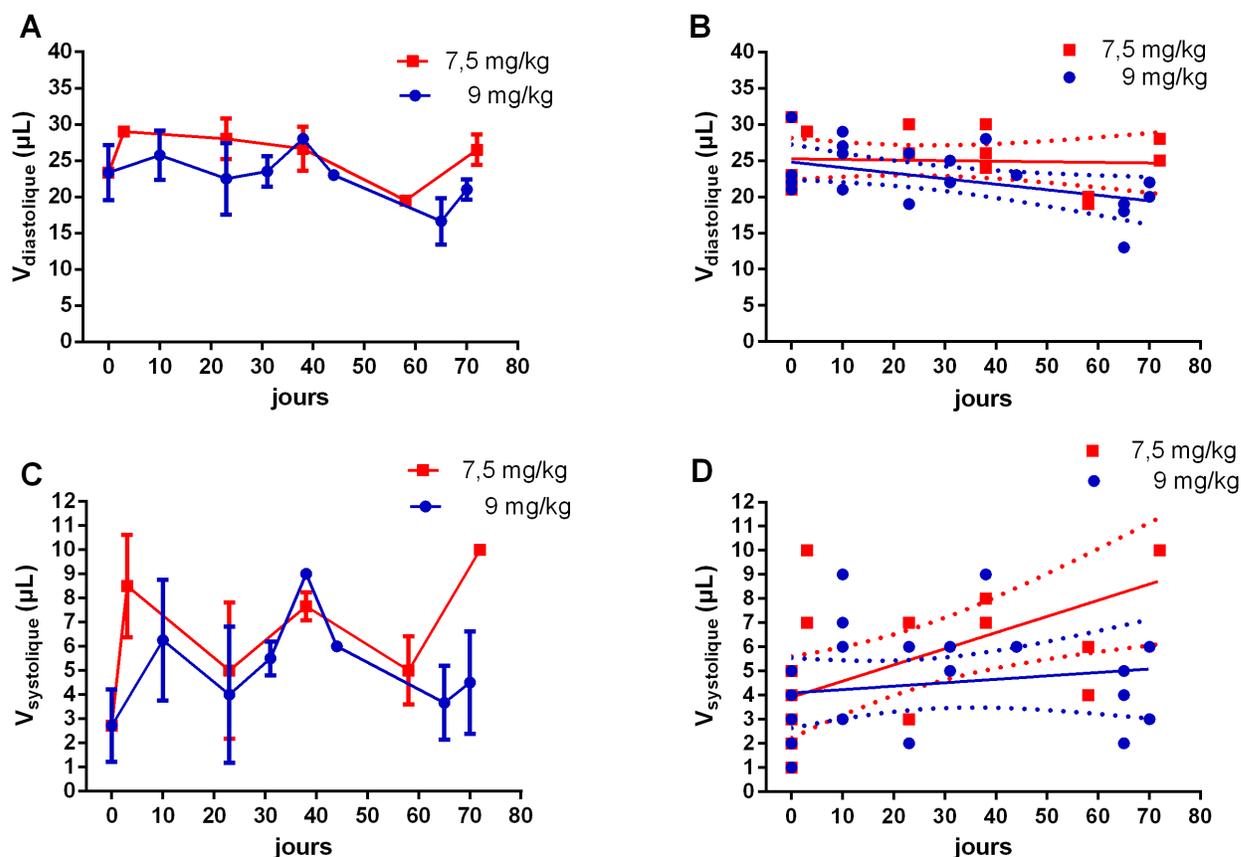


Figure 11 – Graphique des volumes ventriculaires (A et B) en fin de diastole, (C et D) en fin de systole et les pentes de régression linéaire sur (B) les volumes diastoliques et (D) les volumes systoliques pour les deux groupes de souris traitées avec des doses de 7,5 ($n=4$) et 9 mg/kg ($n=3$).

L'analyse des volumes ventriculaires à l'intérieur du cycle cardiaque permet ainsi de mesurer la fraction d'éjection du ventricule gauche. La Figure 12 montre la FEVG des deux groupes traités avec différentes doses de doxorubicine en fonction du temps. Les souris traitées avec des doses de 7,5 mg/kg commençaient avec une valeur de $89,0 \pm 7,5 \%$ ($n=3$) et diminuaient jusqu'à $62,5 \pm 2,1 \%$ ($n=3$), ce qui représente une diminution d'environ 26 % après 70 jours de suivi. Les valeurs de FEVG, pour les souris traitées avec des doses de 9 mg/kg, montraient une tendance similaire, bien que réduite, les valeurs initiales étaient de $88,5 \pm 6,6 \%$ ($n=4$) et diminuaient à $79,0 \pm 5,6 \%$ ($n=2$), ce qui représente une diminution d'environ 10 % de la FEVG, à la fin du suivi. Il est possible

d'observer la même tendance lorsque l'ensemble des valeurs est pris en compte pour l'analyse à l'aide d'une régression linéaire. La pente obtenue montre une tendance à la diminution significative pour les souris traitées avec des doses de doxorubicine équivalentes à 7,5 mg/kg ($p=0,0053$). Pour ce qui est des souris traitées avec des doses de 9 mg/kg il est aussi possible d'observer une tendance à la baisse cependant, cette diminution n'est pas significative ($p=0,2071$).

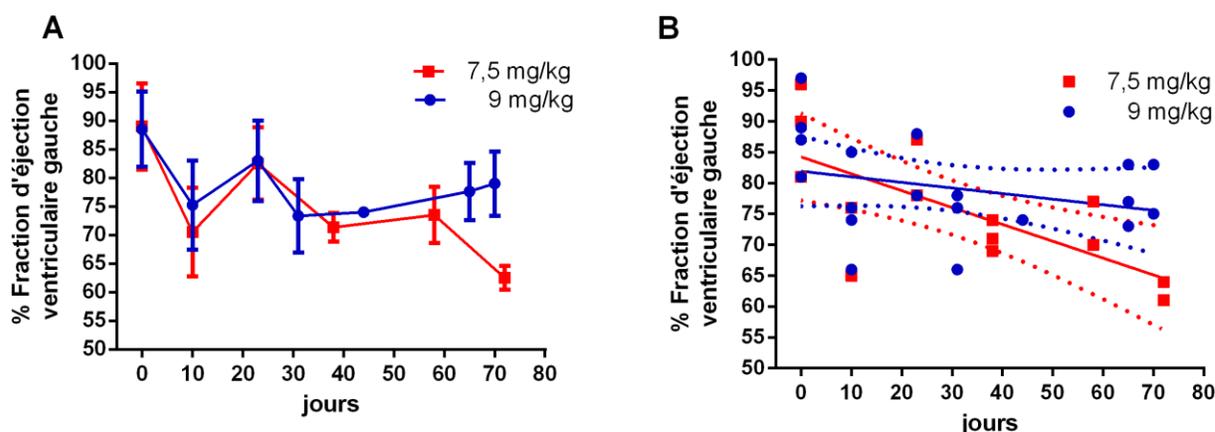


Figure 12 – Graphique de l'évaluation de (A) la fraction d'éjection du ventricule gauche et (B) les pentes obtenues suite à une régression linéaire pour le groupe de souris traitées avec des doses de 7,5 mg/kg ($n=4$) et le groupe de souris traitées avec des doses de 9 mg/kg ($n=3$).

L'analyse pharmacocinétique des courbes extraites des images dynamiques obtenues avec une injection de ^{18}F -FDG a permis de quantifier le MMRG (Fig. 13A et C) ainsi que le K_i (Fig. 7B et D). Les valeurs de MMRG mesurées pour le groupe de souris traitées avec des doses 9 mg/kg diminuent, passant de $140 \pm 92 \mu\text{Mole}/100 \text{ g}/\text{min}$ ($n=4$) initialement à $83 \pm 65 \mu\text{Mole}/100\text{g}/\text{min}$ ($n=2$). Pour ce qui est du groupe de souris traitées à plusieurs reprises avec des doses de 7,5 mg/kg, l'activité glycolytique reste sensiblement stable durant l'étude, passant de $86 \mu\text{Mole}/100 \text{ g}/\text{min}$ ($n=1$) à $81 \pm 20 \mu\text{Mole}/100 \text{ g}/\text{min}$ ($n=2$). L'analyse des données, suite à l'application d'une régression linéaire sur l'ensemble des données, démontre la même tendance, soit aucune différence pour les souris ayant

reçu une dose de 7,5 mg/kg à plusieurs reprises ($p=0,4210$). La pente obtenue par le groupe traité avec des doses de 9 mg/kg montre une tendance à la diminution, mais comme l'autre groupe, celle-ci n'était pas significativement différente ($p=0,2254$). Comme pour l'activité glycolytique, les valeurs de K_i mesurées ne permettent pas d'observer une différence significative entre la valeur mesurée avant le début des traitements et les points pris à différents moments durant le suivi de la réponse cardiaque. Dans la Figure 13B, on observe que les valeurs mesurées pour le groupe de souris traitées avec des doses de 7,5 mg/kg débutaient à $0,10 \text{ min}^{-1}$ ($n=1$) et à la fin du suivi, la valeur était de $0,12 \pm 0,01 \text{ min}^{-1}$ ($n=2$). Pour ce qui est du deuxième groupe, la valeur de transfert du glucose était de $0,14 \pm 0,06 \text{ min}^{-1}$ ($n=4$) avant le début du traitement et de $0,09 \pm 0,05 \text{ min}^{-1}$ ($n=2$), à la fin de l'étude. L'absence de différence était aussi observable suite à l'obtention des pentes moyennes de l'ensemble des valeurs en fonction du temps, pour les deux groupes évalués. La pente de régression linéaire pour le groupe de souris traitées avec des doses de 9 mg/kg, reste stable tout au long du suivi ($p=0,9496$). Pour ce qui était du groupe de souris traitées avec des doses de 7,5 mg/kg, on observait une petite tendance à la baisse, sans toutefois observer une différence significative ($p=0,5460$).

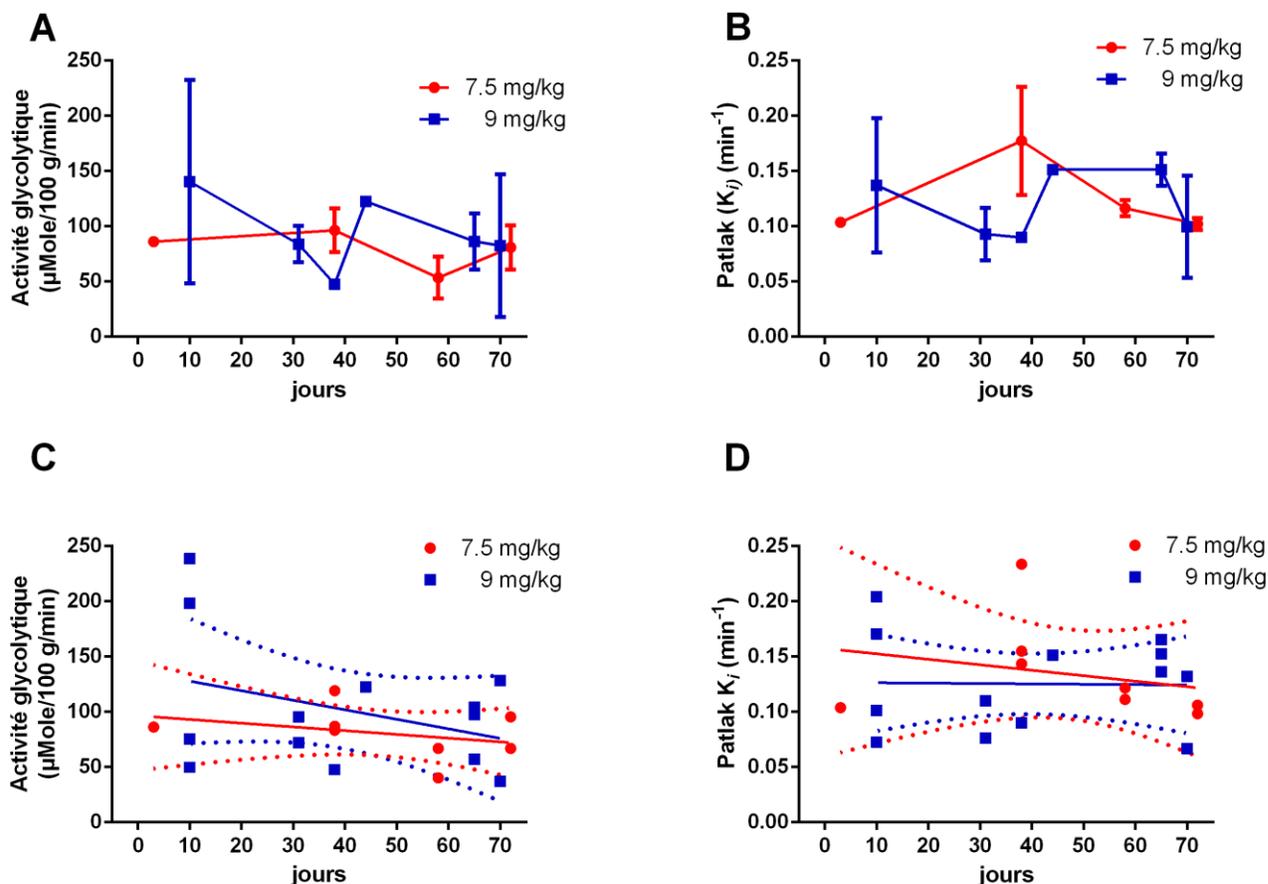


Figure 13 – Évaluation (A) du taux de consommation du glucose par le cœur (MMRG), (B) du taux de transfert du glucose dans le cœur (K_i), (C) de la régression linéaire du MMRG et (D) de la régression du K_i pour les deux groupes de souris traitées avec des doses de 7,5 mg/kg ($n=4$) ou des doses de 9 mg/kg ($n=3$).

En plus de la consommation de glucose, une étude pharmacocinétique qui permet de donner des informations supplémentaires sur le métabolisme cardiaque a été effectuée avec le ¹¹C-AcAc. Cette analyse a permis d'évaluer la captation myocardique en fonction du temps et des doses de doxorubicine reçues. En ce qui concerne le groupe traité avec des doses de 7,5 mg/kg, on observe que la valeur de départ était de $3,2 \pm 0,5 \text{ min}^{-1}$ ($n=2$) et était restée stable jusqu'à 40 jours. Au-delà de la 40^e journée, on constate que le taux de captation du traceur par le cœur se traduit par une valeur de $2,6 \pm 0,6 \text{ min}^{-1}$ ($n=2$). Pour ce qui était du groupe traité avec des doses équivalentes à 9 mg/kg de doxorubicine, on

distinguaient une diminution du paramètre K_1 dès les premiers traitements, tout en continuant à chuter légèrement, et cela jusqu'à la fin du suivi. Le paramètre K_1 initial chez ce groupe, était égal à $3,3 \pm 1,4 \text{ min}^{-1}$ ($n=3$), après un suivi de 68 jours, la valeur atteint $2,1 \pm 0,1 \text{ min}^{-1}$ ($n=2$). L'analyse par l'application d'une régression linéaire permet d'observer différentes tendances qui sont similaires à l'analyse pharmacocinétique à trois compartiments. Dans la Figure 14B, il est possible d'observer une tendance à la diminution des valeurs, cependant les pentes obtenues ne sont pas significativement différentes. Pour le groupe de souris traitées avec des doses de 7,5 mg/kg $p=0,3013$, alors qu'avec des doses de 9 mg/kg $p=0,1766$.

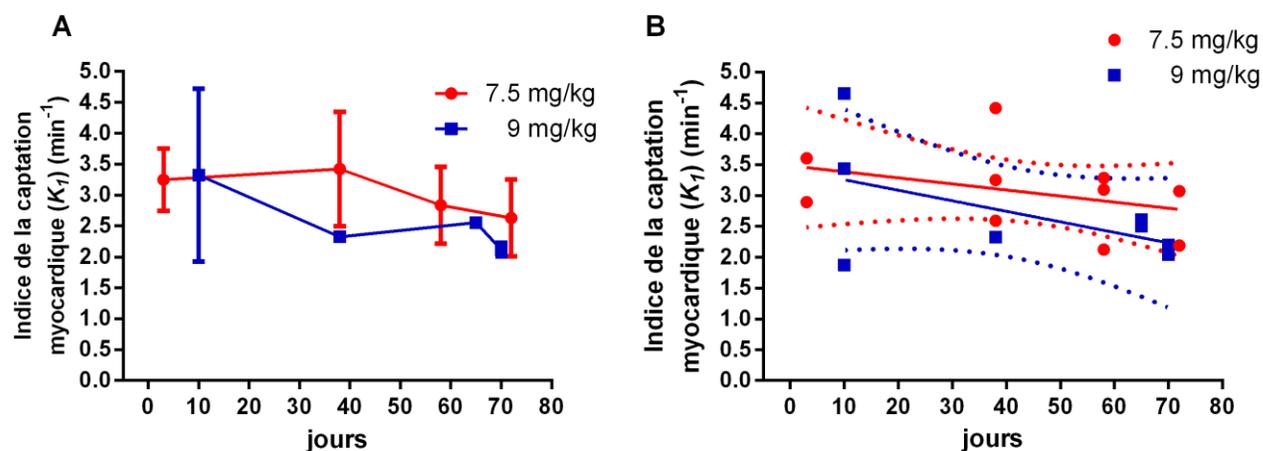


Figure 14 – Analyse pharmacocinétique (A) à trois compartiments et (B) une régression linéaire pour mesurer le taux de captation myocardique des souris traitées avec des doses de 7,5 mg/kg ($n=4$) ou avec des doses de 9 mg/kg ($n=3$).

4.6 Protocole #5

4.6.1 Mesure de la FEVG

Dans ce dernier protocole, le premier paramètre qui a été évalué concernait les volumes ventriculaires ainsi que la FEVG. La Figure 13 démontre l'évolution des volumes ventriculaires à travers le temps, en fonction des traitements reçus. Les souris ont reçu des doses de 4 mg/kg pour une dose cumulative de 40 mg/kg sur une période de 7 semaines. Dans la Figure 15A, soit les volumes en fin de diastole, on observe une tendance à la hausse significativement différente des souris contrôles pour le groupe sous traitement vers la fin du suivi. Les deux groupes débutaient avec un volume diastolique de $26,4 \pm 3,7 \mu\text{L}$ ($n=7$), les souris contrôles vont conserver des volumes similaires tout au long de l'étude pour terminer avec des valeurs de $26,3 \pm 3,8 \mu\text{L}$ ($n=7$). Pour ce qui était des souris traitées avec de la doxorubicine, le volume atteignait une valeur de $33,3 \pm 2,5 \mu\text{L}$ ($n=3$) ($p=0,002$) après 117 jours de suivi. Pour l'analyse des volumes en fin de systole, la différence était encore plus importante (Figure 15B). La mesure de départ pour les deux groupes était similaire soit de $4,7 \pm 2,1 \mu\text{L}$ ($n=7$) et allait demeurer stable tout au long du suivi longitudinal pour les souris contrôles qui terminaient le suivi avec une valeur de $5,9 \pm 2,1 \mu\text{L}$ ($n=7$). Pour les souris ayant reçu des doses de doxorubicine, une tendance à l'augmentation était observable dès le 60^e jour ($p=0,455$), et continuera à monter jusqu'à la fin pour devenir significativement différente au jour 75 ($p=0,002$). À la fin du suivi, suite à la contraction musculaire, la cavité ventriculaire contenait un volume de $17,0 \pm 1,7 \mu\text{L}$ ($n=3$) ($p=<0,0001$).

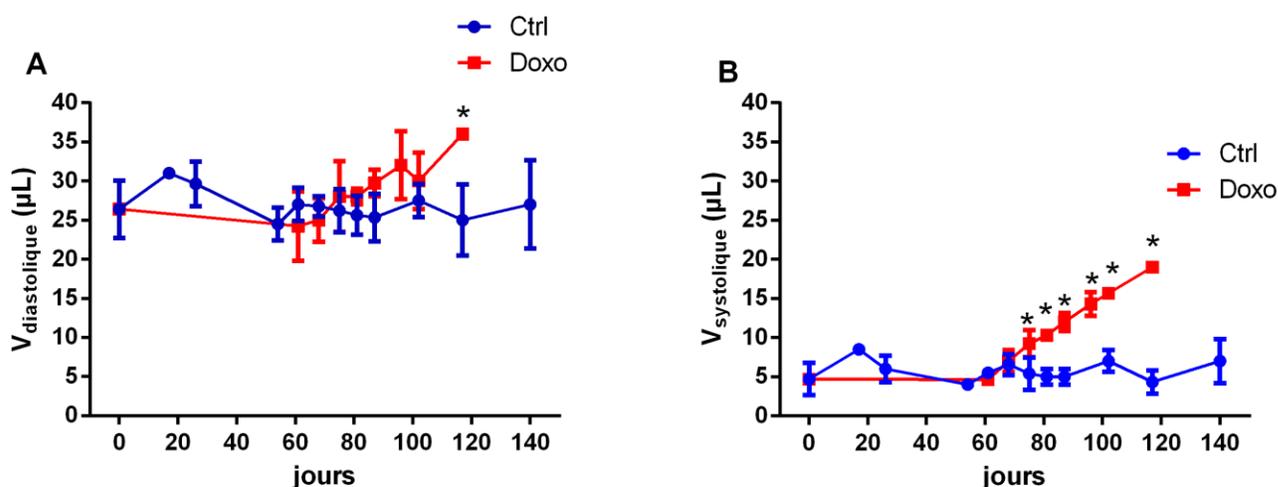


Figure 15 – Évaluation des volumes ventriculaires (A) en fin de diastole et (B) en fin de systole, pour le groupe ctrl ($n=7$) et le groupe traité ($n=4$) à partir des images synchronisées sur l’ECG d’une acquisition au ^{18}F -FDG.

Les volumes ventriculaires donnent de l’information sur la fonction cardiaque puisqu’il est possible d’évaluer l’efficacité des contractions que le cœur effectue à chaque battement. La Figure 16 montre la différence d’efficacité entre le groupe contrôle et le groupe traité avec une dose cumulative de 40 mg/kg de doxorubicine. Étant donné que les volumes ventriculaires des souris contrôles n’ont pas beaucoup fluctué durant l’étude, il est normal d’observer environ les mêmes valeurs, $82,4 \pm 6,2\%$ ($n=7$). Cependant, le groupe traité n’aura pas la même tendance, celui-ci va obtenir des valeurs similaires au groupe contrôle pour les 61 premiers jours ($p=0,948$). Par la suite, on observe une diminution constante de la FEVG, et cela jusqu’à la fin pour atteindre alors des valeurs $49,3 \pm 2,5\%$ ($n=3$) ($p<0,0001$). La perte de la fonction contractile du muscle cardiaque était d’environ 30 %, et cette diminution est le reflet de la modification des volumes ventriculaires dans les stades de diastole et de systole.

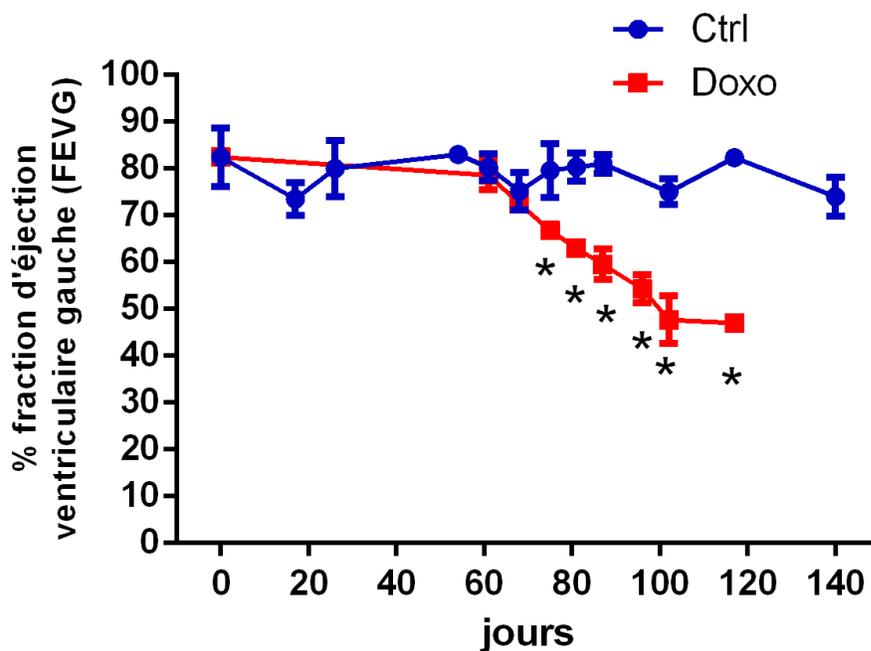


Figure 16 – Évaluation de la fraction d'éjection du ventricule gauche (FEVG) des souris contrôles ($n=7$) et des souris traitées à la doxorubicine ($n=4$), tout au long du suivi.

4.6.2 Analyses pharmacocinétiques

Les images dynamiques effectuées au ^{18}F -FDG ont permis d'évaluer la fonction cardiaque, mais elles permettent aussi de mesurer le métabolisme du cœur. Ces images ont été analysées pour connaître l'évolution de la consommation de glucose par le cœur. Le taux de transfert du glucose, K_i , a été mesuré dans les deux groupes de souris (Figure 17). Le groupe contrôle ayant reçu des doses de salines a montré des valeurs constantes pour les valeurs de K_i tout au long des 140 jours de suivi, se traduisant par une valeur de $0,10 \pm 0,02 \text{ min}^{-1}$ ($n=5$). Pour le groupe traité avec une dose cumulative de 40 mg/kg de doxorubicine, on observe une similitude dans les premiers jours de suivi, soit de $0,09 \pm 0,02 \text{ min}^{-1}$ ($n=3$), mais à partir du 75^e jour et jusqu'à la fin, une augmentation du taux de transfert du glucose a été décelée. Après 102 jours de suivi, on observe que la valeur de K_i a atteint une valeur de $0,20 \pm 0,04 \text{ min}^{-1}$ ($n=3$) ($p < 0,0001$), soit le double des

souris en condition normale. De plus, la modification du taux de transfert du glucose arrive au même moment que le changement dans la fraction d'éjection du ventricule gauche, soit au 75^e jour de suivi.

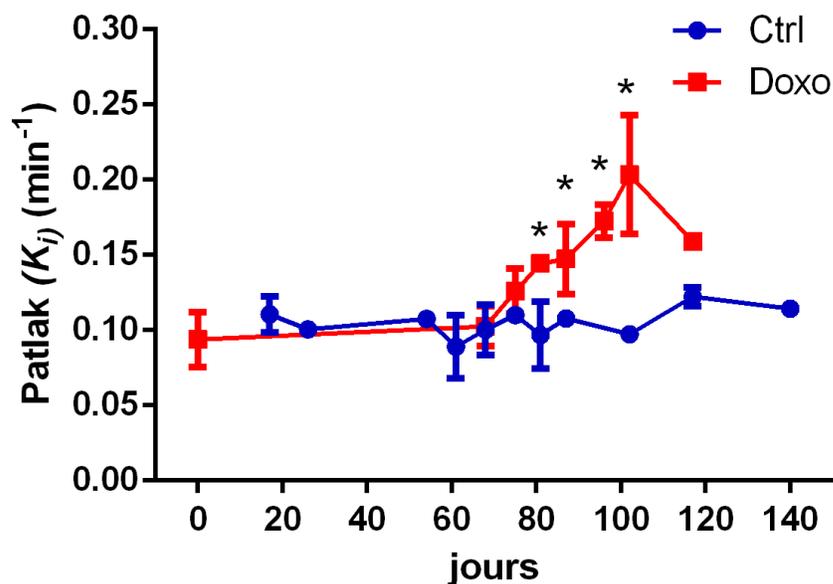


Figure 17 – Évaluation du taux de transfert du glucose dans le cœur (K_i) par analyse Patlak, pour le groupe de souris ctrl ($n=7$) et le groupe de souris traitées ($n=4$) tout au long du suivi.

L'évaluation du taux de transfert a permis de mettre en évidence un changement dans le métabolisme cardiaque, suite à l'administration d'un agent de chimiothérapie. L'analyse graphique de type Patlak, réalisée en appliquant les corrections pour obtenir la consommation de glucose par le cœur (MMRG), n'a pas permis de constater la même tendance. La Figure 18A, représente les valeurs de MMRG mesurées pour les souris contrôles ainsi que les souris traitées à la doxorubicine. La courbe représentant les souris contrôles semble démontrer une certaine consistance tout au long du suivi, alors que la courbe pour les souris traitées démontre une grande variabilité dans les valeurs de MMRG obtenues. L'ensemble des valeurs de MMRG vont se situer autour d'une valeur de $75 \mu\text{Mole}/100 \text{ g}/\text{min}$ pour les souris contrôles, alors que pour l'autre groupe, les valeurs variaient entre 60 et $130 \mu\text{Mole}/100 \text{ g}/\text{min}$. Suite à l'observation de cette grande variabilité,

les valeurs de glycémie ont été analysées, puisque le MMRG nécessite une correction par la glycémie de l'animal, au moment du scan. La Figure 18B, démontre des valeurs similaires au MMRG, c'est-à-dire que les glycémies obtenues pour les souris contrôles étaient de l'ordre de 7 mmol/L, tandis que les valeurs obtenues pour le groupe traité varient entre 4 et 10 mmol/L. Cette grande variation empêche de conclure quoi que ce soit sur l'activité glycolytique du cœur en fonction du temps et des traitements reçus. L'analyse seule de ce paramètre n'aurait pas permis de mettre en évidence le changement de captation du glucose dû à l'administration de doxorubicine.

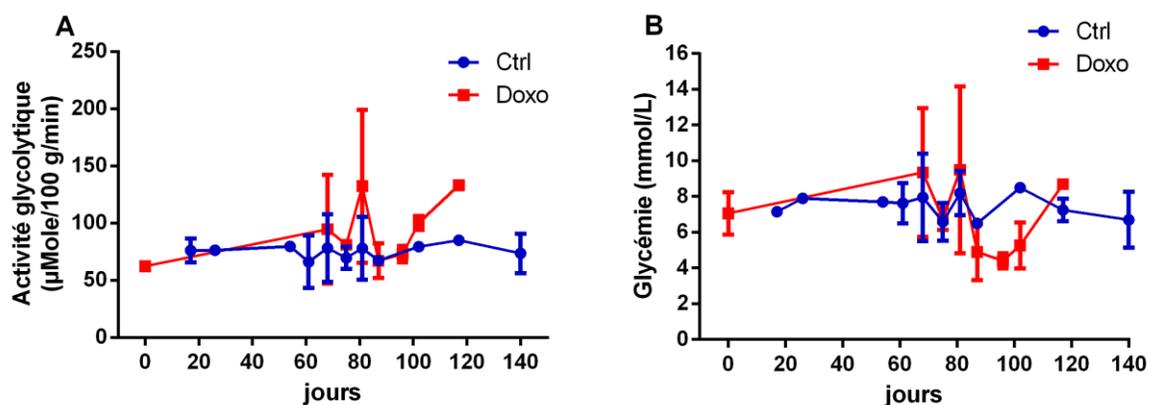


Figure 18 – Évaluation des valeurs (A) du taux de consommation du glucose par le cœur (MMRG) et (B) de la glycémie mesurée avant l'acquisition des images dynamiques effectuées au ^{18}F -FDG durant le suivi, pour les deux groupes de souris.

Le métabolisme cardiaque peut être évalué également à l'aide des images effectuées au ^{11}C -AcAc. Différentes méthodes ont été utilisées afin d'évaluer le métabolisme des corps cétoniques suite à l'administration d'agent de chimiothérapie. La première analyse effectuée permet de mesurer la clairance du traceur par le myocarde (K_{mono}). Pour réaliser cette analyse, la courbe d'activité dans le temps du myocarde a été extraite et une fonction monoexponentielle a été appliquée sur la partie descendante de la courbe. La Figure 19 montre les mesures de clairance du ^{11}C -AcAc pour les deux groupes d'animaux. Il a été

possible d'observer que les valeurs tendent à rester sensiblement stables tout au long de l'étude de suivi. Les deux groupes obtiennent des valeurs qui se rapprochent de $0,5 \text{ min}^{-1}$, avec quelques variations, mais sans toutefois démontrer une différence significative des mesures.

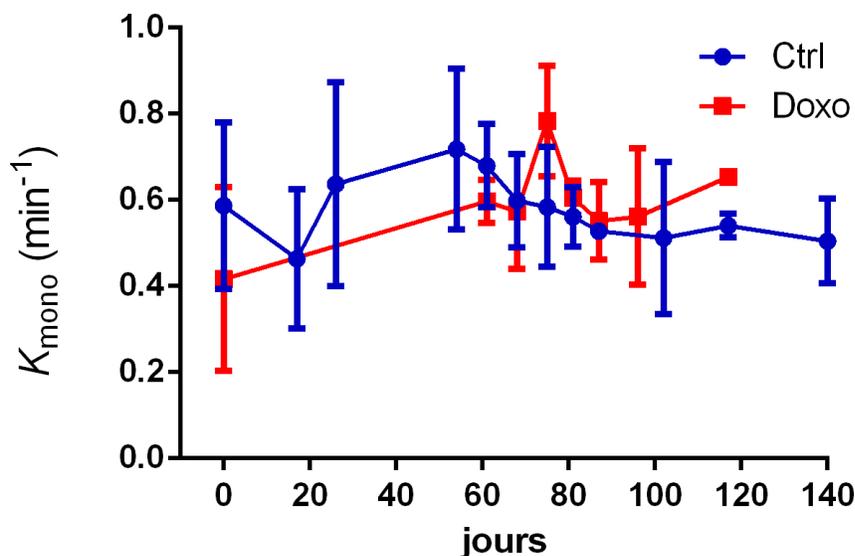


Figure 19 – Analyse de la clairance du ^{11}C -AcAc par le muscle cardiaque tout au long du suivi pour les groupes de souris contrôles ($n=7$) et traitées ($n=4$) avec de la doxorubicine, par l'application d'une monoexponentielle.

Un autre type d'analyse pharmacocinétique, soit une modélisation à trois compartiments, a été réalisé à partir des images, afin d'obtenir des valeurs de la captation (K_1) et de la clairance du radiotracer par le cœur (k_2). Cependant, avant de réaliser cette analyse, les courbes nécessaires à l'analyse ont été corrigées par la méthode de factorisation de matrice non-négative qui sépare le signal de chaque voxel en trois structures. Les résultats de la pharmacocinétique obtenus à partir de cette méthode sont illustrés dans la Figure 20. Il est possible d'observer une diminution des paramètres chez les animaux qui ont reçu une dose cumulative de 40 mg/kg par rapport aux souris du groupe contrôle. Cette diminution a été observable dès la première séance d'imagerie, après l'arrêt des traitements

de doxorubicine au jour 61. On obtient des valeurs de K_1 de $3,4 \pm 0,2 \text{ min}^{-1}$ ($n=5$) pour le groupe contrôle ainsi que pour les souris traitées avant le début des traitements. À la fin du suivi, les souris ayant reçu des traitements de doxorubicine expriment une valeur de K_1 plus basse, $2,3 \pm 0,3 \text{ min}^{-1}$ ($n=4$) ($p=0,004$). Les valeurs de captation myocardique mesurées commencent à devenir significativement différentes dès le 61^e jour ($p=0,0004$), et ce, jusqu'à la fin du suivi. L'évaluation de l'indice de la clairance par le cœur (k_2) a aussi montré une diminution des valeurs, le groupe de souris contrôles maintenant des valeurs de $1,4 \pm 0,2 \text{ min}^{-1}$. Les souris traitées ont un k_2 de $0,8 \pm 0,1 \text{ min}^{-1}$ ($n=3$) ($p<0,0001$) à la fin du suivi, mais cet indice devient différent du groupe contrôle à partir de la 81^e journée de suivi.

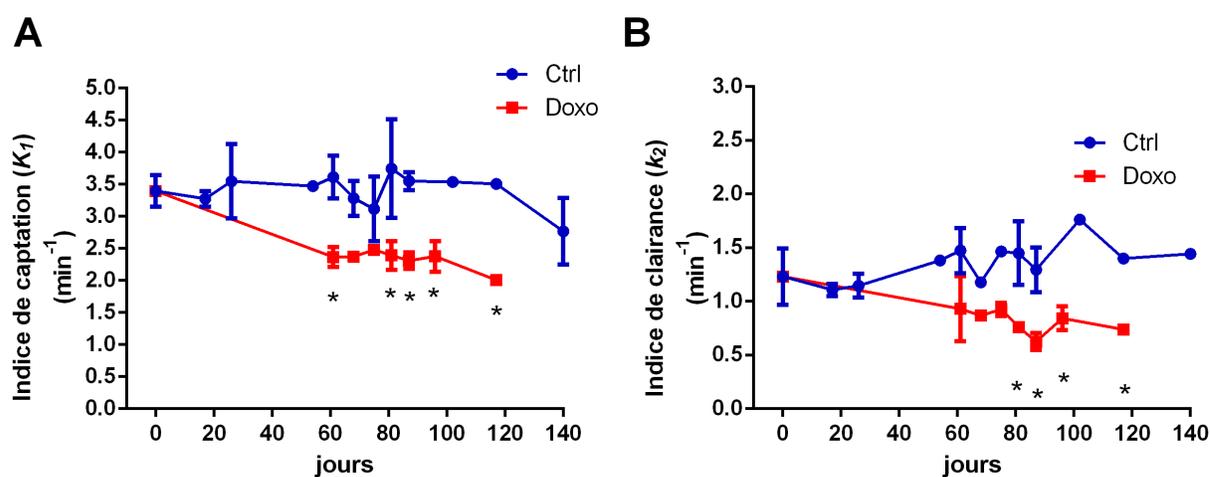


Figure 20 – Analyse pharmacocinétique de (A) la captation myocardique (K_1) et de (B) la clairance du radiotraceur par le myocarde (k_2) des groupes de souris contrôles ($n=7$) et traitées ($n=4$) avec de la doxorubicine tout au long du suivi.

4.6.3 Analyses histologiques

À la fin du suivi, le cœur de chaque souris a été prélevé, pour effectuer des analyses histopathologiques afin de corrélérer les changements de différents paramètres et la présence de dommages. La Figure 21 montre les différentes observations faites suite à l'analyse des souris contrôles et traitées avec la doxorubicine. Les figures A et B montrent deux coupes histologiques de souris ayant reçu des doses de salines. On observe dans le tissu que les cellules montrent une organisation tissulaire normale sans la présence de cellules anormales ou de défauts structurels. Pour ce qui est des images C et D, ces coupes histologiques représentent des images de cœurs qui ont été traités avec des doses de doxorubicine à plusieurs reprises. Les encadrés noirs présents dans les images C et D montrent une anomalie au niveau de la structure des cellules myocardiques, principalement par l'observation de fibrose. La présence de fibrose dans la Figure 21C est plus discrète et se retrouve au travers des cellules cardiaques. La présence de fibrose dans la Figure 21D est un peu plus importante, puisqu'il était possible d'observer des défauts au niveau structurel du myocarde. On remarque une première zone de fibrose, à l'extrémité du tissu, marqué par une légère invagination, de plus, une deuxième zone de fibrose était observable au centre du tissu.

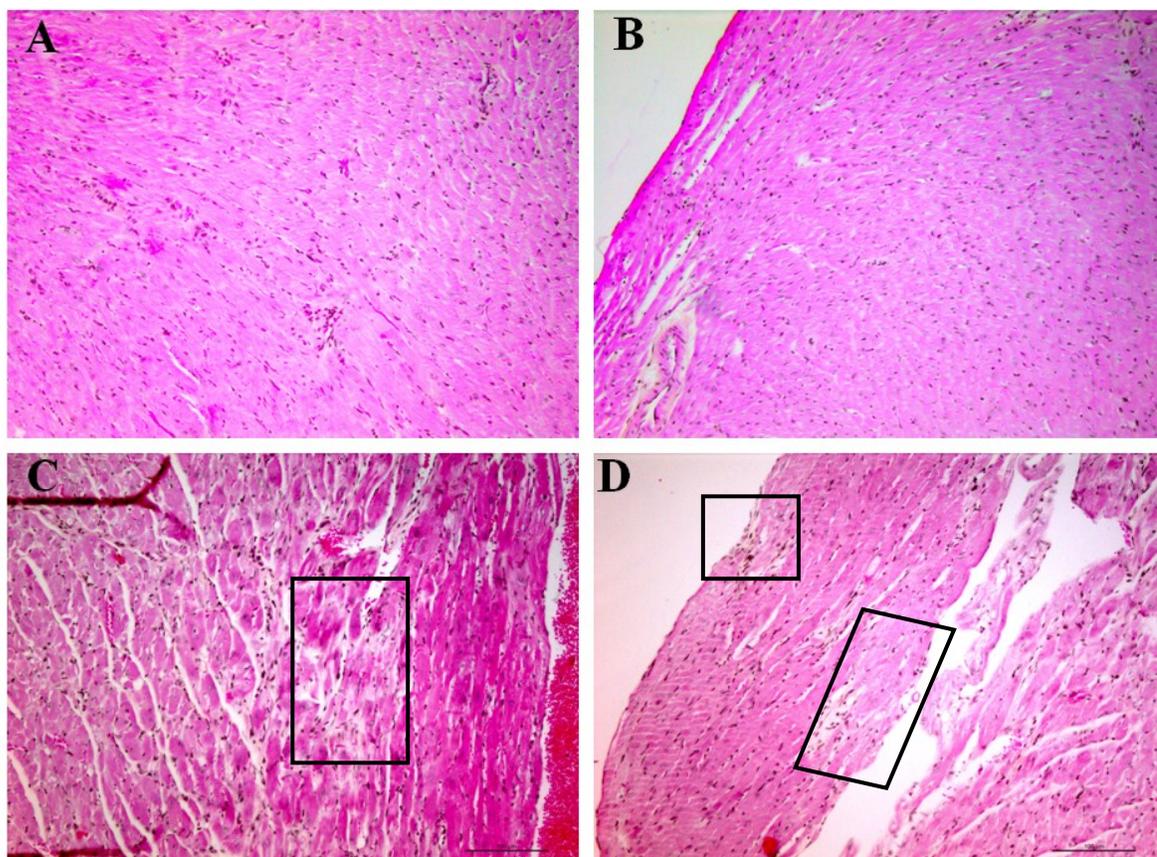


Figure 21 – Images des analyses histopathologiques des échantillons cardiaques des souris suite au suivi de traitement avec (A et B) de la saline et (C et D) de la doxorubicine.

Les observations histopathologiques effectuées sur les différents échantillons cardiaques ont révélé un cœur qui contenait plusieurs types de dommages. L'ensemble des dommages observés sont représentés à la Figure 22. Dans la première image (A), on observe la présence d'un thrombus dans l'oreillette (flèche). De plus, il a été possible d'observer dans l'encadré la présence de fibrose qui s'étendait à la paroi de l'oreillette. La Figure 22B) montre la même image que A), mais avec un grossissement plus faible. Dans cette image, il a été possible d'observer l'oreillette en entier par sa forme triangulaire. Aussi, le faible grossissement permet de constater la présence d'un thrombus de taille importante dans la cavité de l'oreillette (représenté par les deux flèches). Finalement, la dernière image (C) a montré une importante minéralisation des cellules qui sont à l'extrémité du tissu cardiaque.

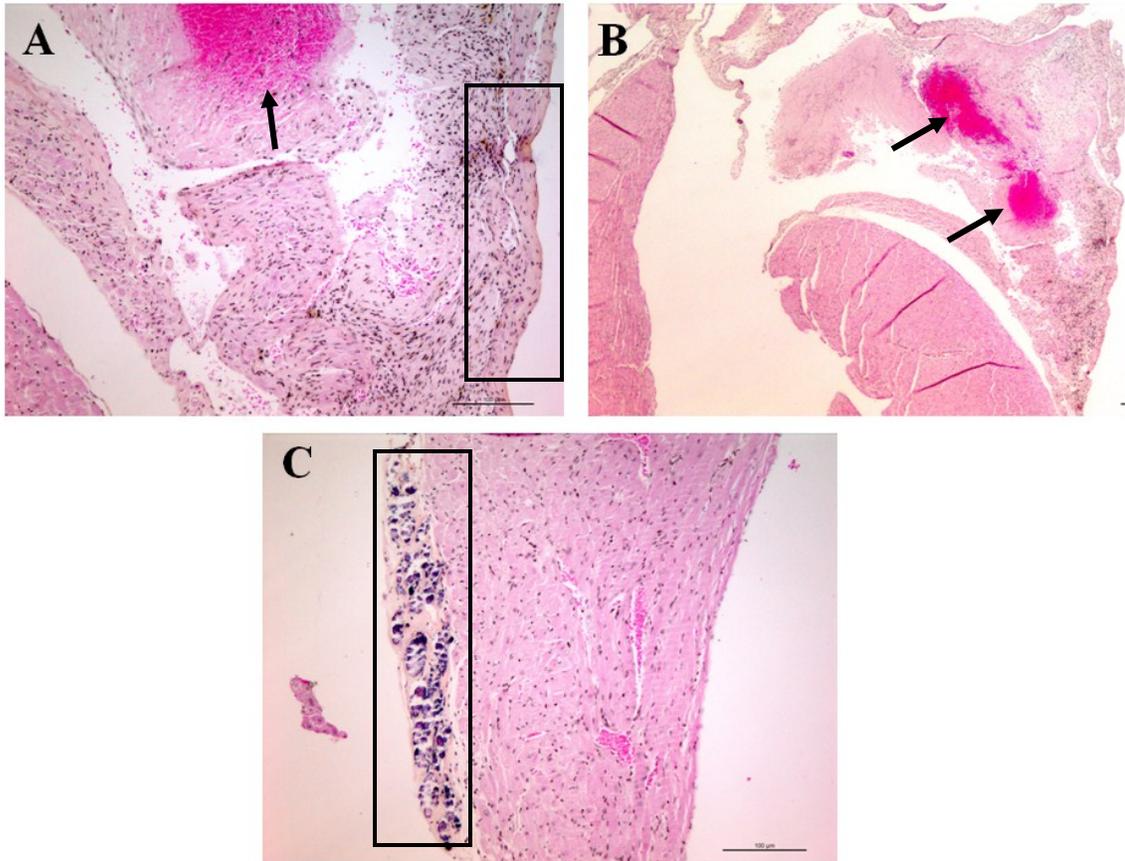


Figure 22 – Image de coupes histologiques d’un cœur traité avec des doses de doxorubicine, à plusieurs reprises, (A) présence de fibrose dans l’encadré, (A et B) présence d’un thrombus représenté par les flèches et (C) Présence de minéralisation dans l’encadré.

Les différentes analyses histopathologiques ont été effectuées afin de confirmer si l’administration de doxorubicine a induit les différents changements normalement observés lors du développement d’une cardiotoxicité. De plus, l’analyse des différents paramètres a permis de mettre en évidence de nombreux changements, que ce soit au niveau de la fonction ou au niveau du métabolisme cardiaque.

5. DISCUSSION

Le développement d'une cardiotoxicité suite à l'administration d'agent de chimiothérapie, reste encore un problème important, puisque les traitements de chimiothérapie sont efficaces au niveau de la guérison, mais les problèmes cardiovasculaires secondaires sont difficilement prévisibles et peuvent souvent entraver la poursuite du traitement. En clinique, la biopsie endomyocardique (BEM) est la méthode de référence utilisée pour vérifier s'il y a présence d'une cardiomyopathie. De plus, elle permet de dire la sévérité des dommages présents. Cette technique ne peut être utilisée de façon routinière à cause de sa nature très invasive, puisque la BEM consiste à prélever un petit échantillon dans le ventricule droit en passant par la veine jugulaire interne [Tan et Scherrer-Crosbie, 2014]. Par contre, d'autres techniques non invasives sont utilisées en clinique afin d'évaluer le développement d'une cardiotoxicité. Le principal paramètre surveillé avec ces techniques alternatives est l'évaluation de la diminution de la FEVG. L'obtention des mesures de FEVG peut se faire avec différentes techniques, l'échographie en 2D ou 3D, la ventriculographie isotopique ou par la résonance magnétique cardiaque. Cependant, comme il a déjà été mentionné, même si la diminution de la FEVG représente l'un des premiers symptômes observables, des dommages cardiaques importants sont déjà survenus [Petit, 2004]. Alors, il serait intéressant de trouver avec les différentes modalités d'imagerie, des biomarqueurs précoces qui pourraient être utilisés en test de routine pour surveiller le développement d'une cardiotoxicité lors de l'administration d'agent de chimiothérapie.

5.1 Validation de la fonction d'entrée

Dans les divers protocoles réalisés au cours de ce projet, l'analyse des différents paramètres mesurés suite à l'administration des deux traceurs a été possible avec l'application de modèles pharmacocinétiques. Cependant, les modèles d'analyse nécessitent l'extraction de plusieurs courbes d'activité en fonction du temps de différents organes à

l'étude. Parmi ces courbes, il y en a une qui est nécessaire et essentielle pour la réalisation des analyses pharmacocinétiques, il s'agit de la fonction d'entrée. Cette courbe représente la quantité d'activité présente dans le sang à chaque moment de la dynamique. La fonction d'entrée est une courbe importante, mais souvent difficile à acquérir sans avoir effectué les validations au préalable par des méthodes de référence. Jusqu'à présent, les techniques d'obtention de cette courbe ne sont pas robustes et sont plus au moins représentatives de la réalité. Les hypothèses présentées par différents groupes énoncent la meilleure façon d'obtenir une fonction d'entrée pour les études cardiaques à partir de l'image. Il apparaît que la courbe extraite de la cavité ventriculaire est difficilement utilisable en raison de la présence d'effets de volume partiel et de la contamination par le muscle myocardique. Les premières hypothèses consistaient à faire une combinaison entre les courbes d'activité de la cavité ventriculaire gauche et du foie [Kim *et al.*, 2006; Laforest *et al.*, 2005; Tantawy et Peterson, 2010]. Pour ce faire, on utilise le pic d'activité initial en traçant une région d'intérêt dans le ventricule gauche et par la suite, on utilise la courbe du foie lorsque celle-ci est descendante. Cependant, cette méthode nécessite la prise d'un petit échantillon sanguin à la fin de l'acquisition afin de corriger la fin de la courbe du foie obtenue à partir de l'image. Après ces observations, d'autres équipes ont tenté de trouver différentes méthodes qui ne nécessitent pas la prise d'échantillon sanguin. L'analyse de différents organes ou structures a permis de mettre en évidence la veine cave qui semble une structure anatomique prometteuse pour représenter la courbe de la fonction d'entrée [Thorn *et al.*, 2013]. De plus, au cours de ce projet de recherche, des expériences ont été effectuées afin de valider la fonction d'entrée, expériences qui démontrent d'ailleurs que la veine cave est une option intéressante et qu'elle devrait être exploitée. L'avantage d'utiliser la veine cave, c'est qu'elle peut être extraite directement de l'image et aucune prise d'échantillon sanguin n'est nécessaire pour corriger la forme de la courbe.

5.2 Développement d'un modèle de cardiotoxicité chez la souris

Le premier objectif de ce projet était de mettre au point un modèle de cardiotoxicité chez la souris, induite par l'administration de chimiothérapie. L'utilisation du modèle de souris a été choisie puisqu'il offre plusieurs avantages, dont la possibilité d'implanter différents types de tumeurs humaines ou murines. De plus, la taille du modèle de la souris permet d'effectuer un suivi des réponses cardiaques et tumorales en imagerie TEP de façon simultanée. Le développement d'un modèle de cardiotoxicité chez la souris par l'administration de la doxorubicine a été effectué suite aux observations et aux résultats obtenus dans les études de cardiotoxicité chez le rat [Croteau *et al.*, 2014]. Tout d'abord, des groupes de souris ont été utilisés avec différentes doses de doxorubicine administrées à plusieurs reprises de façon intraveineuse afin de représenter la réalité en clinique. De plus, les souris étaient inoculées, préalablement, avec des cellules cancéreuses d'adénocarcinomes mammaires murins. Ce premier protocole a permis de valider la possibilité d'injecter à plusieurs reprises des doses de doxorubicine au niveau de la veine caudale d'une souris. De plus, avec ce protocole, il a été possible d'améliorer l'implantation des cellules tumorales. Au départ, les tumeurs étaient implantées au niveau des hanches, mais lors des séances d'imagerie, il n'était pas possible d'obtenir les tumeurs et le cœur dans la même image avec un scanner à champ axial réduit comme le LabPET4 (3,7 cm axial). Les organes d'intérêt n'étant pas dans le même champ de vue au même moment, il était impossible d'effectuer des analyses pharmacocinétiques, puisque l'extraction des courbes d'activité en fonction du temps ne pouvait être obtenue pour l'ensemble des organes cibles. Par la suite, les cellules tumorales ont été inoculées dans le milieu du dos de la souris, soit entre le cœur et le foie. L'endroit choisi permettait de limiter la contamination de la courbe d'activité des tumeurs par les organes environnants et de pouvoir ainsi effectuer les diverses analyses pharmacocinétiques sur les deux organes à l'étude, soit le cœur et les tumeurs.

Le deuxième essai a permis de démontrer la faisabilité d'effectuer un suivi longitudinal en imagerie TEP chez des souris traitées pour évaluer le développement d'une cardiotoxicité. De plus, le protocole établi a permis de réaliser un suivi de la réponse tumorale ainsi que de la réponse cardiaque, suite à l'administration de chimiothérapie. Durant le suivi, quelques tendances ont été observées au niveau de la fonction cardiaque ainsi qu'au niveau de la captation des différents radiotraceurs par le cœur et les tumeurs. Au niveau de la réponse des tumeurs, l'un des aspects mesurés était l'évolution de la taille des tumeurs pendant le traitement. On a remarqué que l'administration de doxorubicine a permis de contrôler la croissance cellulaire sur une certaine période. Cependant, à la fin du suivi, les tumeurs ont recommencé à croître de façon exponentielle. Cette reprise de croissance peut être expliquée par deux hypothèses. La première hypothèse est en lien avec la dose administrée qui n'était peut-être pas adéquate pour éliminer l'ensemble des cellules tumorales inoculées et celles-ci ont repris le dessus. La deuxième possibilité qui peut expliquer la reprise de la croissance cellulaire, était le développement d'une résistance des cellules tumorales suite à l'exposition aux agents de chimiothérapie. Le développement de cette résistance peut être dû à l'expression de pompe à efflux au niveau des cellules tumorales [Booser et Hortobagyi, 1994]. Ces pompes agissent de façon à prendre les molécules qui entrent dans la cellule et de les relâcher dans le milieu extracellulaire, et ainsi empêcher son effet antinéoplasique. Ces pompes se trouvent principalement au niveau de la membrane cellulaire et la doxorubicine est connue pour être un substrat de ces pompes. La présence de ces pompes peut sans doute expliquer la reprise de la croissance des cellules tumorales à partir de la 10^e semaine (Fig. 7B) [Pusztai *et al.*, 2005; Sikic *et al.*, 1997]. De plus, la réponse tumorale a aussi été évaluée en mesurant l'activité glycolytique. Au cours du suivi longitudinal, on observe une tendance à la baisse pour les deux lignées cellulaires, mais qui était plus importante pour les cellules MC4-L2. La tendance à la baisse des cellules tumorales peut être le reflet du contrôle de la croissance cellulaire par l'administration des doses de doxorubicine. À la fin du suivi, les valeurs de TMRG peuvent être influencées par la présence de nécrose au centre de la tumeur. Au moment de l'obtention des régions d'intérêt, il se peut qu'une partie de la région nécrosée ait été incluse modifiant à la baisse l'activité glycolytique des cellules.

Parallèlement, la réponse cardiaque a été observée par l'évaluation de la fonction et du métabolisme cardiaque. Dans cet essai, une tendance à la diminution de la LVEF d'environ 9 % a été mesurée. De plus, l'analyse des volumes ventriculaires, par l'application d'une régression linéaire, ne permet pas d'observer une quelconque tendance tout au long du suivi. D'un autre côté, l'étude du métabolisme cardiaque a aussi permis de percevoir certaines tendances pour l'évaluation du taux de consommation de glucose, de la captation ainsi que de la clairance du radiotracer par le myocarde. Les pentes de régression linéaire pour l'ensemble de ces paramètres permettent de voir une diminution significative du MMRG ainsi qu'une tendance à la diminution de la captation myocardique de l'acétoacétate sans toutefois être significativement différente. De plus, l'évaluation de la clairance de l'acétoacétate n'a pas permis de montrer de différence. Cependant, aucun groupe contrôle n'a été effectué afin de comparer si ces tendances sont l'objet du développement d'une cardiotoxicité ou simplement des variations normales de l'espèce dans le temps.

Le troisième protocole a été effectué suite aux résultats qui avaient été obtenus précédemment, soit par l'observation de différentes tendances lors de l'analyse des divers paramètres, sans toutefois être significatives, ainsi que par la reprise de la croissance des cellules tumorales. Suite à l'obtention de ces résultats, des modifications au protocole ont été apportées. Tout d'abord, les doses de doxorubicine ont été augmentées de façon importante afin d'induire une cardiomyopathie plus sévère. Cependant, au cours du suivi longitudinal, l'administration de chimiothérapie a dû être interrompue en raison du développement d'autres problèmes plus flagrants et nuisibles. Au niveau de la veine caudale, dès les premiers traitements, il y a eu apparition de nécrose autour du site d'injection. La présence de nécrose était probablement le résultat d'une extravasation lors de l'administration de la doxorubicine dans les petites veines caudales de la souris. L'extravasation de la substance dans la queue était peut-être due au fait que l'injection ne s'était pas toujours faite de façon intraveineuse, mais légèrement paraveineuse. La sévérité du développement de nécrose, suite à l'injection de doxorubicine, peut aussi s'expliquer par une dose qui n'a pas été suffisamment diluée avec la solution de saline et la quantité de

volume injecté de façon paraveineuse. Ces deux paramètres sont responsables en grande partie du développement d'une nécrose ou d'ulcération au niveau des cellules de la queue, principalement au niveau du site d'injection. [Reeves, 2007; Roe, 2011]. Après le sixième traitement, les souris ont commencé à développer des symptômes physiques importants. Les principaux symptômes observés se traduisaient par une difficulté à utiliser leurs pattes arrière lors des déplacements. De plus, leurs pattes arrière étaient continuellement en extension lors de leurs déplacements. À la suite de ces observations, les traitements ont été interrompus et les souris ont été euthanasiées.

Le quatrième essai a été réalisé afin de savoir si la dose ou la cédure d'administration avait un impact sur le développement de problèmes cardiaques induit par l'administration de chimiothérapie. L'analyse des images effectuée, avec le ^{18}F -FDG et le ^{11}C -AcAc, a permis de mettre en évidence quelques modifications des paramètres étudiés dans les groupes traités avec des doses de 7,5 et 9 mg/kg pour des doses cumulatives de 60 et 45 mg/kg respectivement. Premièrement, l'analyse des volumes ventriculaires et de la FEVG démontre quelques modifications vers la fin du suivi, et ce, même par l'application d'une régression linéaire. L'obtention des volumes en fin de diastoles montre une petite tendance à la baisse pour le groupe traité avec une dose cumulative de 45 mg/kg, alors que pour le groupe traité avec une dose cumulative de 60 mg/kg les valeurs restent stables tout au long du suivi longitudinal. Pour ce qui est des valeurs de volumes en fin de systole, on observe une tendance à la hausse pour les deux groupes, mais qui est plus prononcée pour le groupe traité avec les doses de 7,5 mg/kg, même que la pente de régression linéaire était significativement différente. L'évaluation de la fraction d'éjection du ventricule gauche démontre une légère baisse pour les deux groupes durant le suivi, cependant la tendance à la baisse était un peu plus perceptible et importante pour le groupe ayant reçu des doses de 7,5 mg/kg de façon hebdomadaire. De plus, l'analyse de la régression linéaire montre une tendance à la diminution de la pente pour les deux groupes qui était non significative pour les souris ayant reçu des doses de 9 mg/kg et significative pour les souris ayant reçu des doses de 7,5 mg/kg. Cette diminution était le reflet de l'augmentation observée dans l'évaluation des volumes en fin de systole.

L'analyse des images dynamiques obtenues suite à l'injection de ^{18}F -FDG, qui représente la mesure de MMRG, ne montre pas de différence pour les deux groupes, même que les valeurs obtenues tout au long du suivi semblent rester stables et équivalentes à la valeur de départ. Cependant, l'analyse de la pente montre une tendance à la baisse pour les deux groupes, sans toutefois être significativement différente. Il est possible d'observer le même phénomène avec l'évaluation du taux de transfert du glucose (K_i) où d'importantes variations sont présentes dans les deux groupes de souris traitées. L'application d'une pente sur l'ensemble des données pour les deux groupes ne montre aucune tendance, même que la pente reste stable pour le groupe de souris traitées avec des doses de 9 mg/kg bi-hebdomadaires. Quant au groupe traité avec des doses de 7,5 mg/kg hebdomadaires, on observe une légère tendance à la baisse. Le calcul des valeurs de captation (K_1), à l'aide des images effectuées au ^{11}C -AcAc, démontre une légère tendance à la baisse pour les deux groupes sans être significativement différents. L'application d'une régression linéaire sur ces valeurs conduit à la même conclusion soit une tendance à la baisse pour les deux groupes, mais qui était un peu plus prononcée pour les souris ayant reçu des doses de doxorubicine équivalentes de 9 mg/kg. En terminant, ce protocole a permis de mettre en évidence certaines tendances principalement au niveau de la fonction cardiaque, toutefois le développement d'une cardiotoxicité, dans ce modèle, reste à confirmer. La différence entre les doses et l'étalement n'ont pas permis de mettre en évidence le développement d'une cardiotoxicité. De plus, des études histopathologiques auraient permis de confirmer la présence de dommages cardiaques représentant les symptômes du développement d'une cardiotoxicité. Cependant, la dose cumulative et le temps de suivi semblent être plus importants que la fréquence, puisque l'évaluation de la fonction cardiaque diminue de façon significative suite à un traitement cumulatif de 60 mg/kg de doxorubicine. C'est pourquoi le temps de suivi dans le protocole #5 a été augmenté de façon importante.

Dans le dernier protocole de traitement avec la doxorubicine (Protocole #5), un dosage réduit à 10 injections de 4 mg/kg sur une période de 7 semaines, pour une dose cumulative de 40 mg/kg a été utilisé. Il a été possible de mettre en évidence plusieurs modifications dans les paramètres mesurés. De plus, un groupe contrôle a été ajouté afin de

confirmer que les changements étaient bien associés à l'injection de la doxorubicine et non au stress des études d'imagerie ou au vieillissement normal des souris. Tout d'abord, une différence significative a été observée au niveau de la fraction d'éjection du ventricule gauche, résultant d'une variation des volumes ventriculaires en fin de diastole et en fin de systole. Au niveau de la FEVG, on observe des valeurs stables et comparables aux souris contrôles dans les premières semaines de suivi, mais une diminution significative s'est installée à partir de la 75^e journée et continuera à s'accroître jusqu'à la fin de l'étude. De plus, à la fin du suivi longitudinal, la FEVG a diminué d'environ 35 % par rapport à la valeur mesurée initialement. Le changement du volume systolique réagit de façon similaire à la FEVG, c'est-à-dire que l'augmentation significative des volumes sanguins présents dans le ventricule gauche arrive aussi au 75^e jour de suivi. L'obtention des volumes, lors de la diastole, montre une tendance à l'augmentation en même temps que le changement dans les deux autres paramètres, mais la différence devient significative seulement à la fin du suivi. Le changement des volumes ventriculaires était probablement dû au fait que la contraction musculaire du cœur devient plus difficile à cause de la présence de dommages aux cardiomyocytes. Ces dommages induisent un remodelage du cœur et cela se fait par le développement d'une fibrose qui induit une dysfonction systolique et diastolique et finalement diminue l'efficacité de contraction [Cokkinos et Pantos, 2011].

En plus des changements observés au niveau de la fonction cardiaque, des changements du métabolisme cardiaque ont pu être observés. La première analyse effectuée avec le ¹⁸F-FDG a permis d'évaluer le taux de transfert du glucose (K_i), par l'analyse graphique de type Patlak, mais cela sans appliquer les corrections pour la glycémie et la LC. Le groupe traité avec les doses de doxorubicine a montré une augmentation du K_i par le cœur. Cependant, le changement de la captation du glucose arrive au même moment que l'observation de la diminution de la fraction d'éjection du ventricule gauche. L'évaluation du MMRG, quant à lui, n'a pas permis de mettre en évidence le changement de substrat que subit le cœur suite à la formation de dommages cardiaques. Cette absence de résultats est peut-être due à la grande variation des valeurs de glycémie mesurée chez les sujets traités afin de normaliser les courbes et d'obtenir les données de MMRG. Le changement au

niveau du transfert du glucose vers le cœur a été observé et expliqué chez un modèle de rat par une cardiomyopathie chronique [Carvalho *et al.*, 2010]. Le cœur va utiliser préférentiellement les acides gras comme substrat afin de produire l'énergie nécessaire à sa fonction [Gropler, 2013]. De plus, l'administration de doxorubicine induit des changements au niveau de l'expression de certains gènes. La première modification observée est une diminution de l'expression des gènes jouant un rôle dans l'oxydation des acides gras. Cette diminution a pour conséquence une augmentation de l'expression des gènes impliqués dans le processus de la glycolyse [Carvalho *et al.*, 2010].

Le métabolisme cardiaque a été mesuré d'une autre façon, soit en utilisant du ^{11}C -AcAc. Ce traceur a été utilisé pour mesurer la captation et la clairance du traceur par le muscle cardiaque. Le premier paramètre analysé avec ce traceur chez les deux groupes était la clairance de l'acétoacétate par le myocarde. L'application d'une monoexponentielle sur les différentes valeurs obtenues n'ont pas permis de mettre en évidence certaines tendances, même que les valeurs obtenues restent stables tout au long du suivi longitudinal. Subséquemment, l'analyse des paramètres K_1 et k_2 a été réalisée suite à l'application de correction, soit la méthode de factorisation de matrice non-négative. Celle-ci a permis d'obtenir une courbe d'entrée plus proche de la réalité et qui était comparable aux courbes obtenues par la prise manuelle d'échantillons sanguins. L'obtention de ces valeurs a permis de déceler une différence significative dès les premières séances d'imagerie, différence mise en évidence par l'observation d'une diminution des valeurs de K_1 et k_2 propre à l'acétoacétate. Finalement, les analyses histopathologiques ont permis de confirmer que les changements observés en imagerie TEP sont le reflet de dommages cardiaques induits par l'administration de doxorubicine. Les coupes histologiques du tissu cardiaque démontrent la présence de fibroses, de thrombus ainsi que la présence d'une minéralisation au niveau de la paroi cardiaque.

Dans ce dernier protocole, il a été possible de mettre au point un modèle de cardiotoxicité suite à l'administration de doxorubicine chez la souris. L'utilisation des différents traceurs a permis de mettre en évidence des modifications au niveau fonctionnel et métabolique du cœur. Cependant, le changement de captation observé avec le ^{18}F -FDG arrive au même moment que la chute de la FEVG. Comme il a été mentionné plus haut, la chute de la FEVG survient lorsque l'insuffisance cardiaque est en place et à un état de non-retour. Donc, l'utilisation du taux de transfert du glucose n'apparaît pas être un bon marqueur pour prédire le développement d'une cardiotoxicité. Toutefois, l'utilisation du ^{11}C -AcAc semble plus prometteuse puisque, dès la reprise de l'imagerie à la fin des traitements, on observe une diminution significative de la captation et de la clairance du ^{11}C -AcAc par le muscle myocardique. Toutefois, ces résultats préliminaires, quoique prometteurs, nécessitent d'être confirmés par des études supplémentaires et plus complètes.

CONCLUSION

L'utilisation des différentes modalités d'imagerie, dont la tomographie d'émission par positrons, une technique non invasive, devient de plus en plus présente en oncologie pour détecter et suivre l'évolution des cancers. Le développement de nouveaux traceurs permettrait de mettre en évidence des mécanismes au niveau métabolique ou fonctionnel de différents organes à l'étude. Au cours du présent projet de recherche, l'imagerie TEP a été utilisée pour vérifier s'il était possible de suivre le développement d'une cardiotoxicité en cours de traitement de chimiothérapie aux anthracyclines et d'évaluer certains paramètres qui permettraient de déceler précocement le développement de problèmes cardiaques.

Tout d'abord, des études ont été effectuées afin d'obtenir une bonne fonction d'entrée dans le modèle murin. Les prélèvements sanguins manuels avec le ^{11}C -AcAc ont permis de constater que l'utilisation du ventricule gauche comme fonction d'entrée n'était pas adéquate étant donné que la courbe extraite de cette structure montre la présence d'effet de volume partiel ainsi que la présence de contamination par les structures environnantes, principalement le myocarde. La comparaison entre la courbe de prélèvements sanguins et la courbe extraite de la veine cave a démontré que cette dernière serait une bien meilleure option. Ces études montrent un avancement important sur la possibilité d'effectuer un suivi des paramètres métaboliques en imagerie TEP chez un modèle de souris, et sur la possibilité de vérifier si différents paramètres sont affectés par les différents traitements qui lui sont administrés.

Par la suite, un modèle de cardiotoxicité chez la souris a été mis au point, avec l'inoculation de cellules tumorales d'adénocarcinome mammaire murin. Ce modèle a été utilisé pour effectuer un suivi des réponses tumorales et cardiaques à la suite de l'administration d'un agent de chimiothérapie. Plusieurs protocoles de traitement ont d'abord été testés avec des modifications des doses administrées et de l'horaire d'administration. Ces premiers essais ont permis de démontrer la possibilité de mesurer le

métabolisme cardiaque et celui des tumeurs, ainsi que d'évaluer la fonction cardiaque, lors d'un suivi longitudinal. L'analyse des différents protocoles a permis de mesurer des modifications au niveau de la consommation de glucose par les tumeurs et le cœur, de même qu'une altération de la fonction cardiaque. Elle a aussi permis d'observer certains changements des paramètres métaboliques à l'étude, mais sans pouvoir confirmer le développement d'une cardiotoxicité induite par l'agent de chimiothérapie. Le dernier protocole réalisé a permis de comparer les différents changements observés chez un groupe de souris traitées avec un groupe de souris contrôles. Ceci a permis de conclure que les dommages perçus sont le résultat de l'administration de la doxorubicine et non la conséquence des procédures d'imagerie ou du vieillissement normal des souris. De plus, à la fin du suivi par imagerie, les souris ont été euthanasiées afin de confirmer par analyses histopathologiques si le tissu cardiaque indiquait la présence de dommages qui auraient pu refléter ce qui avait été observé en imagerie TEP. L'utilisation du ^{18}F -FDG est intéressante pour évaluer la fonction cardiaque, soit les volumes ventriculaires et la FEVG, ainsi que pour mesurer le métabolisme myocardique du glucose. Cependant, nos résultats montrent que les modifications qu'il a été possible d'observer avec ce traceur arrivent aussi tardivement que les altérations de la fonction ventriculaire dans le développement d'une insuffisance cardiaque, donc souvent lorsque le cœur a déjà subi des dommages irréversibles. Le deuxième traceur utilisé dans cette étude semble prometteur et intéressant pour déceler les signes avant-coureurs du développement de la cardiotoxicité. L'analyse de la captation (K_1) et de la clairance (k_2), avec une nouvelle méthode de correction pour les effets de contamination croisée, permet de déceler une diminution des deux paramètres, dès la reprise de l'imagerie, après l'arrêt des traitements. Une étude effectuée chez des patients ayant subi des traitements de doxorubicine et soumis à une séance d'imagerie au repos avec le ^{11}C -Ac n'a pas permis d'observer des changements dans les paramètres mesurés, dont la perfusion et la consommation d'oxygène [Nony *et al.*, 2000]. Donc, l'utilisation du ^{11}C -AcAc semble plus intéressant, car il permettrait de mettre en évidence une insuffisance cardiaque sans avoir recours à un test à l'effort [Croteau *et al.*, 2014].

PERSPECTIVES D'AVENIR

Les travaux réalisés au cours de ce projet de recherche ont démontré qu'il était possible d'évaluer, par imagerie TEP, des changements cardiaques au niveau fonctionnel et métabolique chez la souris. Plusieurs autres avenues restent à explorer afin de mieux comprendre et déceler la cardiotoxicité, et par la suite trouver de nouvelles stratégies de traitement qui préservent la fonction cardiaque.

Tout d'abord, une mesure plus exacte de la fonction d'entrée chez un modèle de souris offrirait la possibilité d'effectuer des analyses plus robustes et reproductibles, possiblement plus sensibles pour les paramètres métaboliques du cœur. Il serait important d'estimer les facteurs de corrections pour l'effet de volume partiel et pour l'impact de la contamination par les tissus environnants pour les différentes courbes, incluant notamment la fonction d'entrée mesurée à partir de la veine cave sur l'image. De plus, la fonction d'entrée obtenue à partir de certains traceurs nécessite une correction pour la formation de métabolites, comme dans le cas de l'acétoacétate, un substrat du muscle cardiaque qui est métabolisé principalement en CO₂. Il serait ainsi profitable pour l'exactitude de la mesure de la clairance du ¹¹C-AcAc de connaître la concentration de ¹¹C-CO₂ produit, afin de séparer l'activité réelle émise par le ¹¹C-AcAc présent dans le sang de celle émise par les molécules de ¹¹C-CO₂.

Les essais réalisés dans le cadre de cette étude ont aussi permis d'évaluer divers paramètres cardiaques et tumoraux et de les voir évoluer tout au long du suivi. Les principales modifications observées avec le ¹⁸F-FDG, que ce soit au niveau fonctionnel ou métabolique, arrivent tardivement, sensiblement au même moment que les altérations de la fonction ventriculaire mises en évidence par la fraction d'éjection, lorsque le cœur a déjà atteint un point de non-retour. L'utilisation du ¹¹C-AcAc permettrait d'observer des modifications dans le métabolisme plus hâtivement, et ce, sans la nécessité d'induire un stress cardiaque comme avec le ¹¹C-Ac pour mettre en évidence l'insuffisance cardiaque.

Par contre, il serait important de reprendre l'expérience, mais en débutant l'imagerie plus tôt, soit durant les traitements. Ceci permettrait de vérifier à partir de quel moment exactement les altérations de l'entrée et la clairance du radiotraceur par le cœur deviennent perceptibles suite à l'administration de la doxorubicine, soit dès les premiers traitements ou seulement après l'arrêt des traitements. De plus, il serait pertinent de tester d'autres traceurs métaboliques, afin de vérifier si les paramètres obtenus avec ces traceurs permettraient de déceler de façon plus précoce le développement d'une cardiotoxicité. Par exemple, des traceurs pour le métabolisme des acides gras, le palmitate ou l'acide fluoro-thia-heptadécanoïde (FTHA) donneraient peut-être la possibilité de mettre en évidence des changements métaboliques précoces puisque des études ont démontré que la doxorubicine induit des dommages de façon préférentielle à la mitochondrie en modifiant sa structure et son fonctionnement. Les dommages induits à la membrane de la mitochondrie vont affecter les transporteurs membranaires des acides gras à longue chaîne. Les dommages causés aux transporteurs membranaires empêchent ceux-ci d'exercer leur rôle, ce qui induit une inhibition de la bêta-oxydation des acides gras [Carvalho *et al.*, 2014].

De plus, il serait nécessaire de reproduire le modèle de cardiotoxicité induit à la suite d'administration de chimiothérapie sur un modèle de souris portant des cellules tumorales. Ceci offrirait l'occasion de vérifier si le protocole de traitement est efficace au niveau des cellules cancéreuses, tout en monitorant le développement de dommages cardiaques. Un tel modèle adapté pour l'imagerie permettra d'effectuer le suivi des réponses tumorales et cardiaques sous différents traitements de chimiothérapie. Par contre, il serait aussi intéressant de tester la même posologie de doxorubicine, mais en administrant les doses une fois par semaine, sur une période de 10 semaines, au lieu de 2 fois par semaines sur 7 semaines. Cette comparaison permettrait de voir si la fréquence a une influence sur le développement de la cardiotoxicité.

Finalement, il serait intéressant d'utiliser le modèle développé chez la souris pour évaluer le potentiel de certaines molécules cardioprotectrices dans le cadre de nouvelles stratégies de traitements. L'un des avantages distinctifs de ce modèle, c'est qu'il serait possible de mesurer l'efficacité d'agents cardioprotecteurs à contrecarrer les mécanismes d'induction des dommages cardiaques tout en s'assurant qu'il n'interfère pas avec l'activité antinéoplasique de l'agent de chimiothérapie. Le modèle de souris portant des cellules tumorales permettrait d'effectuer une étude conjointe suite à l'administration d'agent de chimiothérapie et de molécules cardioprotectrices.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier, en premier lieu mes deux directeurs de recherche, le Pr Roger Lecomte et le Dr Éric Turcotte pour m'avoir fait confiance et pour leur soutien tout au long de la réalisation de mon projet de recherche.

Je tiens à remercier les gens qui ont travaillé de près ou de loin sur mon projet de recherche et plus particulièrement, Etienne Croteau, Véronique Dumulon-Perreault, Otman Sarrhini, Marie Blanchette et Éric Lavallée.

Je tiens également à remercier le personnel du Centre d'imagerie moléculaire de Sherbrooke, particulièrement Sébastien Tremblay et Serge Phoenix.

Je tiens à remercier le Pr Marie-Odile Benoit-Biancamano pour ses analyses histopathologiques et son aide dans l'interprétation des différentes coupes histologiques.

Je tiens aussi à remercier Barbara-Ann St-Louis et Christian-Alexandre Castellano pour leur apport significatif à ce mémoire.

Finalement, je voudrais remercier les membres de ma famille pour m'avoir soutenue et encouragée à me dépasser tout au long de cette aventure.

LISTE DES RÉFÉRENCES

- Alf, M. F., Wyss, M. T., Buck, A., Weber, B., Schibli, R. et Kramer, S. D. (2013). Quantification of brain glucose metabolism by ¹⁸F-FDG PET with real-time arterial and image-derived input function in mice. *Journal of Nuclear Medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, volume 54, numéro 1, p. 132-138.
- Aliaga, A., Rousseau, J. A., Ouellette, R., Cadorette, J., van Lier, J. E., Lecomte, R. et Benard, F. (2004). Breast cancer models to study the expression of estrogen receptors with small animal PET imaging. *Nuclear Medicine and Biology*, volume 31, numéro 6, p. 761-770.
- Alpert, J. S., Thygesen, K. A., White, H. D. et Jaffe, A. S. (2014). Diagnostic and therapeutic implications of type 2 myocardial infarction: review and commentary. *The American Journal of Medicine*, volume 127, numéro 2, p. 105-108.
- Andrieu-Abadie, N. (2004). [Cardiotoxicity of anthracyclines: mechanisms and pharmacologic targets for prevention]. *Thérapie*, volume 59, numéro 1, p. 121-126.
- Armbrecht, J. J., Buxton, D. B. et Schelbert, H. R. (1990). Validation of [¹¹C]acetate as a tracer for noninvasive assessment of oxidative metabolism with positron emission tomography in normal, ischemic, postischemic, and hyperemic canine myocardium. *Circulation*, volume 81, numéro 5, p. 1594-1605.
- Arozal, W., Sari, F. R., Watanabe, K., Arumugam, S., Veeraveedu, P. T., Ma, M., Thandavarayan, R. A., Sukumaran, V., Lakshmanan, A. P., Kobayashi, Y., Mito, S., Soetikno, V. et Suzuki, K. (2011). Carvedilol-Afforded Protection against Daunorubicin-Induced Cardiomyopathic Rats In Vivo: Effects on Cardiac Fibrosis and Hypertrophy. *ISRN Pharmacology*, volume 2011, p. 430549.
- Belanger, M., Poirier, M., Jbilou, J. et Scarborough, P. (2014). Modelling the impact of compliance with dietary recommendations on cancer and cardiovascular disease mortality in Canada. *Public Health*, volume 128, numéro 3, p. 222-230.
- Bentourkia, M., Tremblay, S., Pifferi, F., Rousseau, J., Lecomte, R. et Cunnane, S. (2009). PET study of ¹¹C-acetoacetate kinetics in rat brain during dietary treatments affecting ketosis. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, volume 296, numéro 4, p. E796-801.
- Bogenrieder, T. et Herlyn, M. (2003). Axis of evil: molecular mechanisms of cancer metastasis. *Oncogene*, volume 22, numéro 42, p. 6524-6536.
- Booser, D. J. et Hortobagyi, G. N. (1994). Anthracycline antibiotics in cancer therapy. Focus on drug resistance. *Drugs*, volume 47, numéro 2, p. 223-258.

- Bordin, D. L., Lima, M., Lenz, G., Saffi, J., Meira, L. B., Mesange, P., Soares, D. G., Larsen, A. K., Escargueil, A. E. et Henriques, J. A. (2013). DNA alkylation damage and autophagy induction. *Mutation Research*, volume 753, numéro 2, p. 91-99.
- Buck, A., Wolpers, H. G., Hutchins, G. D., Savas, V., Mangner, T. J., Nguyen, N. et Schwaiger, M. (1991). Effect of carbon-11-acetate recirculation on estimates of myocardial oxygen consumption by PET. *Journal of Nuclear Medicine*, volume 32, numéro 10, p. 1950-1957.
- Carvalho, F. S., Burgeiro, A., Garcia, R., Moreno, A. J., Carvalho, R. A. et Oliveira, P. J. (2014). Doxorubicin-induced cardiotoxicity: from bioenergetic failure and cell death to cardiomyopathy. *Medicinal Research Reviews*, volume 34, numéro 1, p. 106-135.
- Carvalho, R. A., Sousa, R. P., Cadete, V. J., Lopaschuk, G. D., Palmeira, C. M., Bjork, J. A. et Wallace, K. B. (2010). Metabolic remodeling associated with subchronic doxorubicin cardiomyopathy. *Toxicology*, volume 270, numéro 2-3, p. 92-98.
- Chan, S. Y., Brunken, R. C., Phelps, M. E. et Schelbert, H. R. (1991). Use of the metabolic tracer carbon-11-acetate for evaluation of regional myocardial perfusion. *Journal of Nuclear Medicine*, volume 32, numéro 4, p. 665-672.
- Cheetham, P. et Petrylak, D. P. (2013). Tubulin-targeted agents including docetaxel and cabazitaxel. *Cancer Journal*, volume 19, numéro 1, p. 59-65.
- Chen, S. H., Chan, N. L. et Hsieh, T. S. (2013). New mechanistic and functional insights into DNA topoisomerases. *Annual Review of Biochemistry*, volume 82, p. 139-170.
- Cheng, C. C. et Zee-Cheng, K. Y. (1972). Some antineoplastic antibiotics. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, volume 61, numéro 4, p. 485-501.
- Cherry, S. R., Sorenson, J. A. et Phelps, M. E. (2003). *Physics in nuclear medicine*, 3ième édition. Édité par Saunders A., Philadelphia, Pennsylvanie,
- Chourasia, V. S., Tiwari, A. K., Gangopadhyay, R. et Akant, K. A. (2012). Foetal phonocardiographic signal denoising based on non-negative matrix factorization. *Journal of Medical Engineering & Technology*, volume 36, numéro 1, p. 57-66.
- Cokkinos, D. V. et Pantos, C. (2011). Myocardial remodeling, an overview. *Heart Failure Reviews*, volume 16, numéro 1, p. 1-4.
- Colombo, A., Cipolla, C., Beggiato, M. et Cardinale, D. (2013). Cardiac toxicity of anticancer agents. *Current Cardiology Reports*, volume 15, numéro 5, p. 362.
- Croteau, E., Benard, F., Cadorette, J., Gauthier, M. E., Aliaga, A., Bentourkia, M. et Lecomte, R. (2003). Quantitative gated PET for the assessment of left ventricular

- function in small animals. *Journal of Nuclear Medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, volume 44, numéro 10, p. 1655-1661.
- Croteau, E., Gascon, S., Bentourkia, M., Langlois, R., Rousseau, J. A., Lecomte, R. et Benard, F. (2012). [11C]Acetate rest-stress protocol to assess myocardial perfusion and oxygen consumption reserve in a model of congestive heart failure in rats. *Nuclear Medicine & Biology*, volume 39, numéro 2, p. 287-294.
- Croteau, E., Tremblay, S., Gascon, S., Dumulon-Perreault, V., Labbe, S. M., Rousseau, J. A., Cunnane, S. C., Carpentier, A. C., Benard, F. et Lecomte, R. (2014). (11)C]-Acetoacetate PET imaging: a potential early marker for cardiac heart failure. *Nuclear Medicine and Biology*, volume 41, numéro 10, p. 863-870.
- Dal Ben, D., Palumbo, M., Zagotto, G., Capranico, G. et Moro, S. (2007). DNA topoisomerase II structures and anthracycline activity: insights into ternary complex formation. *Current Pharmaceutical Design*, volume 13, numéro 27, p. 2766-2780.
- de Dreuille, O., Maszelin, P., Foehrenbach, H., Bonardel, G. et Gaillard, J. -. (2004). Principe et technique de la tomographie par émission de positons (TEP). *EMC - Radiologie*, volume 1, numéro 1, p. 2-35.
- DeGrado, T. R., Bergmann, S. R., Ng, C. K. et Raffel, D. M. (2000). Tracer kinetic modeling in nuclear cardiology. *Journal of Nuclear Cardiology*, volume 7, numéro 6, p. 686-700.
- Delemasure, S., Vergely, C., Zeller, M., Cottin, Y. et Rochette, L. (2006). [Preventing the cardiotoxic effects of anthracyclins. From basic concepts to clinical data]. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, volume 55, numéro 2, p. 104-112.
- Dulin, B. et Abraham, W. T. (2004). Pharmacology of carvedilol. *American Journal of Cardiology*, volume 93, numéro 9A, p. 3B-6B.
- Erlandsson, K., Buvat, I., Pretorius, P. H., Thomas, B. A. et Hutton, B. F. (2012). A review of partial volume correction techniques for emission tomography and their applications in neurology, cardiology and oncology. *Physics in Medicine & Biology*, volume 57, numéro 21, p. R119-59.
- Gallagher, B. M., Ansari, A., Atkins, H., Casella, V., Christman, D. R., Fowler, J. S., Ido, T., MacGregor, R. R., Som, P., Wan, C. N., Wolf, A. P., Kuhl, D. E. et Reivich, M. (1977). Radiopharmaceuticals XXVII. 18F-labeled 2-deoxy-2-fluoro-d-glucose as a radiopharmaceutical for measuring regional myocardial glucose metabolism in vivo: tissue distribution and imaging studies in animals. *Journal of Nuclear Medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine*, volume 18, numéro 10, p. 990-996.

- Gammella, E., Maccarinelli, F., Buratti, P., Recalcati, S. et Cairo, G. (2014). The role of iron in anthracycline cardiotoxicity. *Frontiers in Pharmacology*, volume 5, p. 25.
- Geisberg, C. A. et Sawyer, D. B. (2010). Mechanisms of anthracycline cardiotoxicity and strategies to decrease cardiac damage. *Current Hypertension Reports*, volume 12, numéro 6, p. 404-410.
- Gewirtz, D. A. (1999). A critical evaluation of the mechanisms of action proposed for the antitumor effects of the anthracycline antibiotics adriamycin and daunorubicin. *Biochemical Pharmacology*, volume 57, numéro 7, p. 727-741.
- Go, A. S., Mozaffarian, D., Roger, V. L., Benjamin, E. J., Berry, J. D., Blaha, M. J., Dai, S., Ford, E. S., Fox, C. S., Franco, S., Fullerton, H. J., Gillespie, C., Hailpern, S. M., Heit, J. A., Howard, V. J., Huffman, M. D., Judd, S. E., Kissela, B. M., Kittner, S. J., Lackland, D. T., Lichtman, J. H., Lisabeth, L. D., Mackey, R. H., Magid, D. J., Marcus, G. M., Marelli, A., Matchar, D. B., McGuire, D. K., Mohler, E. R., 3rd, Moy, C. S., Mussolino, M. E., Neumar, R. W., Nichol, G., Pandey, D. K., Paynter, N. P., Reeves, M. J., Sorlie, P. D., Stein, J., Towfighi, A., Turan, T. N., Virani, S. S., Wong, N. D., Woo, D., Turner, M. B. et American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee (2014). Heart disease and stroke statistics--2014 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*, volume 129, numéro 3, p. e28-e292.
- Graham, M. M., Muzi, M., Spence, A. M., O'Sullivan, F., Lewellen, T. K., Link, J. M. et Krohn, K. A. (2002). The FDG lumped constant in normal human brain. *Journal of Nuclear Medicine*, volume 43, numéro 9, p. 1157-1166.
- Grassi, I., Nanni, C., Allegri, V., Morigi, J. J., Montini, G. C., Castellucci, P. et Fanti, S. (2012). The clinical use of PET with (11)C-acetate. *American Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, volume 2, numéro 1, p. 33-47.
- Gropler, R. J. (2013). Recent advances in metabolic imaging. *Journal of Nuclear Cardiology : official publication of the American Society of Nuclear Cardiology*, volume 20, numéro 6, p. 1147-1172.
- Hasinoff, B. B. et Herman, E. H. (2007). Dexrazoxane: how it works in cardiac and tumor cells. Is it a prodrug or is it a drug? *Cardiovascular Toxicology*, volume 7, numéro 2, p. 140-144.
- Hassan, M. H., El-Beshbishy, H. A., Aly, H., Attia, S. M., Bahashwan, S. A. et Ghobara, M. M. (2014). Modulatory effects of meloxicam on cardiotoxicity and antitumor activity of doxorubicin in mice. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, volume 74, numéro 3, p. 559-569.

- Hatse, S., De Clercq, E. et Balzarini, J. (1999). Role of antimetabolites of purine and pyrimidine nucleotide metabolism in tumor cell differentiation. *Biochemical Pharmacology*, volume 58, numéro 4, p. 539-555.
- Hershman, D. L. et Shao, T. (2009). Anthracycline cardiotoxicity after breast cancer treatment. *Oncology (Williston Park)*, volume 23, numéro 3, p. 227-234.
- Hess, S., Blomberg, B. A., Zhu, H. J., Hoiland-Carlsen, P. F. et Alavi, A. (2014). The pivotal role of FDG-PET/CT in modern medicine. *Academic Radiology*, volume 21, numéro 2, p. 232-249.
- Hickey, R., Vouche, M., Sze, D. Y., Hohlastos, E., Collins, J., Schirmang, T., Memon, K., Ryu, R. K., Sato, K., Chen, R., Gupta, R., Resnick, S., Carr, J., Chrisman, H. B., Nemcek, A. A., Jr, Vogelzang, R. L., Lewandowski, R. J. et Salem, R. (2013). Cancer concepts and principles: primer for the interventional oncologist-part II. *Journal of Vascular & Interventional Radiology*, volume 24, numéro 8, p. 1167-1188.
- Jung, K. et Reszka, R. (2001). Mitochondria as subcellular targets for clinically useful anthracyclines. *Advanced Drug Delivery Reviews*, volume 49, numéro 1-2, p. 87-105.
- Kim, J., Herrero, P., Sharp, T., Laforest, R., Rowland, D. J., Tai, Y. C., Lewis, J. S. et Welch, M. J. (2006). Minimally invasive method of determining blood input function from PET images in rodents. *Journal of Nuclear Medicine*, volume 47, numéro 2, p. 330-336.
- Kirithi Koushik, A. S., Harish, K. et Avinash, H. U. (2013). Principles of radiation oncology: a beams eye view for a surgeon. *Indian Journal of Surgical Oncology*, volume 4, numéro 3, p. 255-262.
- Knuuti, J., Schelbert, H. R. et Bax, J. J. (2002). The need for standardisation of cardiac FDG PET imaging in the evaluation of myocardial viability in patients with chronic ischaemic left ventricular dysfunction. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, volume 29, numéro 9, p. 1257-1266.
- Ky, B., Vejpongsa, P., Yeh, E. T., Force, T. et Moslehi, J. J. (2013). Emerging paradigms in cardiomyopathies associated with cancer therapies. *Circulation Research*, volume 113, numéro 6, p. 754-764.
- Laforest, R., Sharp, T. L., Engelbach, J. A., Fetting, N. M., Herrero, P., Kim, J., Lewis, J. S., Rowland, D. J., Tai, Y. C. et Welch, M. J. (2005). Measurement of input functions in rodents: challenges and solutions. *Nuclear Medicine & Biology*, volume 32, numéro 7, p. 679-685.

- Lanari, C., Luthy, I., Lamb, C. A., Fabris, V., Pagano, E., Helguero, L. A., Sanjuan, N., Merani, S. et Molinolo, A. A. (2001). Five novel hormone-responsive cell lines derived from murine mammary ductal carcinomas: in vivo and in vitro effects of estrogens and progestins. *Cancer Research*, volume 61, numéro 1, p. 293-302.
- Lee, D. D. et Seung, H. S. (1999). Learning the parts of objects by non-negative matrix factorization. *Nature*, volume 401, numéro 6755, p. 788-791.
- Liquori, M. E., Christenson, R. H., Collinson, P. O. et Defilippi, C. R. (2014). Cardiac biomarkers in heart failure. *Clinical Biochemistry*, volume 47, numéro 6, p. 327-337.
- Ludke, A. R., Al-Shudiefat, A. A., Dhingra, S., Jassal, D. S. et Singal, P. K. (2009). A concise description of cardioprotective strategies in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Canadian Journal of Physiology & Pharmacology*, volume 87, numéro 10, p. 756-763.
- Magnano, L. C., Martinez Cibrian, N., Andrade Gonzalez, X. et Bosch, X. (2014). Cardiac complications of chemotherapy: role of prevention. *Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine*, volume 16, numéro 6, p. 312.
- Marzo, I. et Naval, J. (2013). Antimitotic drugs in cancer chemotherapy: promises and pitfalls. *Biochemical Pharmacology*, volume 86, numéro 6, p. 703-710.
- Mazevet, M., Moulin, M., Llach-Martinez, A., Chargari, C., Deutsch, E., Gomez, A. M. et Morel, E. (2013). Complications of chemotherapy, a basic science update. *Presse Medicale (Paris, France : 1983)*, volume 42, numéro 9 Pt 2, p. e352-61.
- Minotti, G., Menna, P., Salvatorelli, E., Cairo, G. et Gianni, L. (2004). Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacological Reviews*, volume 56, numéro 2, p. 185-229.
- Naya, M. et Tamaki, N. (2014). Imaging of Myocardial Oxidative Metabolism in Heart Failure. *Current Cardiovascular Imaging Reports*, volume 7, p. 9244.
- Niu, J., Azfer, A., Wang, K., Wang, X. et Kolattukudy, P. E. (2009). Cardiac-targeted expression of soluble fas attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity in mice. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, volume 328, numéro 3, p. 740-748.
- Nony, P., Guastalla, J. P., Rebattu, P., Landais, P., Lievre, M., Bontemps, L., Itti, R., Beaune, J., Andre-Fouet, X. et Janier, M. (2000). In vivo measurement of myocardial oxidative metabolism and blood flow does not show changes in cancer patients undergoing doxorubicin therapy. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, volume 45, numéro 5, p. 375-380.

- Octavia, Y., Tocchetti, C. G., Gabrielson, K. L., Janssens, S., Crijns, H. J. et Moens, A. L. (2012). Doxorubicin-induced cardiomyopathy: from molecular mechanisms to therapeutic strategies. *Journal of Molecular & Cellular Cardiology*, volume 52, numéro 6, p. 1213-1225.
- Ohira, H., Mc Ardle, B., Cocker, M. S., deKemp, R. A., Dasilva, J. N. et Beanlands, R. S. (2013). Current and future clinical applications of cardiac positron emission tomography. *Circulation Journal*, volume 77, numéro 4, p. 836-848.
- Oliveira, P. J., Bjork, J. A., Santos, M. S., Leino, R. L., Froberg, M. K., Moreno, A. J. et Wallace, K. B. (2004). Carvedilol-mediated antioxidant protection against doxorubicin-induced cardiac mitochondrial toxicity. *Toxicology & Applied Pharmacology*, volume 200, numéro 2, p. 159-168.
- Paradies, G., Paradies, V., De Benedictis, V., Ruggiero, F. M. et Petrosillo, G. (2014). Functional role of cardiolipin in mitochondrial bioenergetics. *Biochimica et biophysica acta*, volume 1837, numéro 4, p. 408-417.
- Patlak, C. S. et Blasberg, R. G. (1985). Graphical evaluation of blood-to-brain transfer constants from multiple-time uptake data. Generalizations. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, volume 5, numéro 4, p. 584-590.
- Pereira, G. C., Silva, A. M., Diogo, C. V., Carvalho, F. S., Monteiro, P. et Oliveira, P. J. (2011). Drug-induced cardiac mitochondrial toxicity and protection: from doxorubicin to carvedilol. *Current Pharmaceutical Design*, volume 17, numéro 20, p. 2113-2129.
- Petit, T. (2004). [Anthracycline-induced cardiotoxicity]. *Bulletin du Cancer*, volume 91, numéro Suppl 3, p. 159-165.
- Pusztai, L., Wagner, P., Ibrahim, N., Rivera, E., Theriault, R., Booser, D., Symmans, F. W., Wong, F., Blumenschein, G., Fleming, D. R., Rouzier, R., Boniface, G. et Hortobagyi, G. N. (2005). Phase II study of tariquidar, a selective P-glycoprotein inhibitor, in patients with chemotherapy-resistant, advanced breast carcinoma. *Cancer*, volume 104, numéro 4, p. 682-691.
- Rao, V. A. (2013). Iron chelators with topoisomerase-inhibitory activity and their anticancer applications. *Antioxidants & Redox Signaling*, volume 18, numéro 8, p. 930-955.
- Reeves, D. (2007). Management of anthracycline extravasation injuries. *Annals of Pharmacotherapy*, volume 41, numéro 7, p. 1238-1242.
- Robak, P. et Robak, T. (2013). Older and new purine nucleoside analogs for patients with acute leukemias. *Cancer Treatment Reviews*, volume 39, numéro 8, p. 851-861.

- Roe, H. (2011). Anthracycline extravasations: prevention and management. *British Journal of Nursing (Mark Allen Publishing)*, volume 20, numéro 17, p. S16, S18-22.
- Sawyer, D. B., Peng, X., Chen, B., Pentassuglia, L. et Lim, C. C. (2010). Mechanisms of anthracycline cardiac injury: can we identify strategies for cardioprotection? *Progress in Cardiovascular Diseases*, volume 53, numéro 2, p. 105-113.
- Shevchuk, O. O., Posokhova, E. A., Sakhno, L. A. et Nikolaev, V. G. (2012). Theoretical ground for adsorptive therapy of anthracyclines cardiotoxicity. *Experimental Oncology*, volume 34, numéro 4, p. 314-322.
- Siegel, R., Ma, J., Zou, Z. et Jemal, A. (2014). Cancer statistics, 2014. *CA: a Cancer Journal for Clinicians*, volume 64, numéro 1, p. 9-29.
- Sikic, B. I., Fisher, G. A., Lum, B. L., Halsey, J., Beketic-Oreskovic, L. et Chen, G. (1997). Modulation and prevention of multidrug resistance by inhibitors of P-glycoprotein. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, volume 40 Suppl, p. S13-9.
- Singal, P. K., Deally, C. M. et Weinberg, L. E. (1987). Subcellular effects of adriamycin in the heart: a concise review. *Journal of Molecular & Cellular Cardiology*, volume 19, numéro 8, p. 817-828.
- Singal, P. K., Li, T., Kumar, D., Danelisen, I. et Iliskovic, N. (2000). Adriamycin-induced heart failure: mechanism and modulation. *Molecular & Cellular Biochemistry*, volume 207, numéro 1-2, p. 77-86.
- Sorensen, J., Valind, S. et Andersson, L. G. (2010). Simultaneous quantification of myocardial perfusion, oxidative metabolism, cardiac efficiency and pump function at rest and during supine bicycle exercise using 1-11C-acetate PET--a pilot study. *Clinical Physiology & Functional Imaging*, volume 30, numéro 4, p. 279-284.
- Soret, M., Bacharach, S. L. et Buvat, I. (2007). Partial-volume effect in PET tumor imaging. *Journal of Nuclear Medicine*, volume 48, numéro 6, p. 932-945.
- Sun, X., Zhou, Z. et Kang, Y. J. (2001). Attenuation of doxorubicin chronic toxicity in metallothionein-overexpressing transgenic mouse heart. *Cancer Research*, volume 61, numéro 8, p. 3382-3387.
- Tacar, O., Sriamornsak, P. et Dass, C. R. (2013). Doxorubicin: an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems. *Journal of Pharmacy & Pharmacology*, volume 65, numéro 2, p. 157-170.
- Takemura, G. et Fujiwara, H. (2007). Doxorubicin-induced cardiomyopathy from the cardiotoxic mechanisms to management. *Progress in Cardiovascular Diseases*, volume 49, numéro 5, p. 330-352.

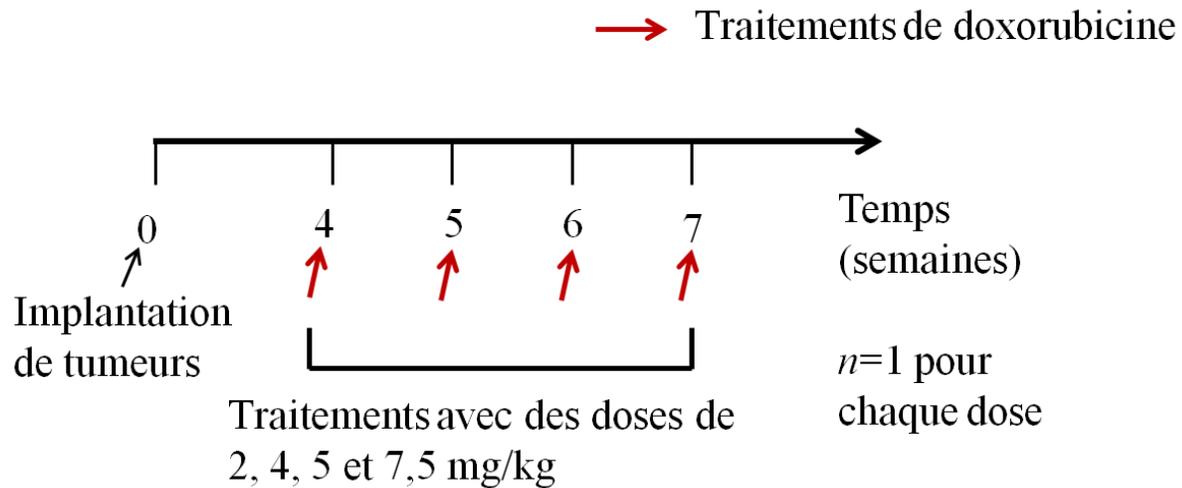
- Talbot, J. N., Petegnief, Y., de Beco, V., Nataf, V. et Balard, M. (2006). Basics of PET and PET/CT imaging: instrumentation and radiopharmaceuticals for clinical diagnosis. *Presse Medicale (Paris, France : 1983)*, volume 35, numéro 9 Pt 2, p. 1331-1337.
- Tan, T. C. et Scherrer-Crosbie, M. (2014). Cardiac complications of chemotherapy: role of imaging. *Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine*, volume 16, numéro 4, p. 296.
- Tanaka, K., Toiyama, Y., Okugawa, Y., Okigami, M., Inoue, Y., Uchida, K., Araki, T., Mohri, Y., Mizoguchi, A. et Kusunoki, M. (2014). In vivo optical imaging of cancer metastasis using multiphoton microscopy: a short review. *American Journal of Translational Research*, volume 6, numéro 3, p. 179-187.
- Tantawy, M. N. et Peterson, T. E. (2010). Simplified [18F]FDG image-derived input function using the left ventricle, liver, and one venous blood sample. *Molecular Imaging*, volume 9, numéro 2, p. 76-86.
- Thorn, S. L., deKemp, R. A., Dumouchel, T., Klein, R., Renaud, J. M., Wells, R. G., Gollob, M. H., Beanlands, R. S. et DaSilva, J. N. (2013). Repeatable noninvasive measurement of mouse myocardial glucose uptake with 18F-FDG: evaluation of tracer kinetics in a type 1 diabetes model. *Journal of Nuclear Medicine*, volume 54, numéro 9, p. 1637-1644.
- Tian, X. F., Cui, M. X., Yang, S. W., Zhou, Y. J. et Hu, D. Y. (2013). Cell death, dysglycemia and myocardial infarction. *Biomedical Reports*, volume 1, numéro 3, p. 341-346.
- Timmer, S. A., Lubberink, M., Germans, T., Gotte, M. J., ten Berg, J. M., ten Cate, F. J., van Rossum, A. C., Lammertsma, A. A. et Knaapen, P. (2010). Potential of [11C]acetate for measuring myocardial blood flow: Studies in normal subjects and patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of Nuclear Cardiology : official publication of the American Society of Nuclear Cardiology*, volume 17, numéro 2, p. 264-275.
- Truong, J., Yan, A. T., Cramarossa, G. et Chan, K. K. (2014). Chemotherapy-Induced Cardiotoxicity: Detection, Prevention, and Management. *The Canadian Journal of Cardiology*, volume 30, numéro 8, p. 869-878.
- van den Heuvel, A. F., van Veldhuisen, D. J., van der Wall, E. E., Blanksma, P. K., Siebelink, H. M., Vaalburg, W. M., van Gilst, W. H. et Crijns, H. J. (2000). Regional myocardial blood flow reserve impairment and metabolic changes suggesting myocardial ischemia in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*, volume 35, numéro 1, p. 19-28.
- van den Hoff, J., Burchert, W., Borner, A. R., Fricke, H., Kuhnel, G., Meyer, G. J., Otto, D., Weckesser, E., Wolpers, H. G. et Knapp, W. H. (2001). 1-(11)C]Acetate as a

- quantitative perfusion tracer in myocardial PET. *Journal of Nuclear Medicine : Official Publication, Society of Nuclear Medicine*, volume 42, numéro 8, p. 1174-1182.
- van der Wall, E. E., Schalij, M. J., van der Laarse, A. et Bax, J. J. (2010). Cardiac resynchronization therapy; the importance of evaluating cardiac metabolism. *The International Journal of Cardiovascular Imaging*, volume 26, numéro 3, p. 293-297.
- Volkova, M. et Russell, R.,3rd (2011). Anthracycline cardiotoxicity: prevalence, pathogenesis and treatment. *Current Cardiology Reviews*, volume 7, numéro 4, p. 214-220.
- Wallace, K. B. (2003). Doxorubicin-induced cardiac mitochondrionopathy. *Pharmacology & Toxicology*, volume 93, numéro 3, p. 105-115.
- Wienhard, K. (2002). Measurement of glucose consumption using [(18)F]fluorodeoxyglucose. *Methods (San Diego, Calif.)*, volume 27, numéro 3, p. 218-225.
- Wiseman, L. R. et Spencer, C. M. (1998). Dexrazoxane. A review of its use as a cardioprotective agent in patients receiving anthracycline-based chemotherapy. *Drugs*, volume 56, numéro 3, p. 385-403.
- Xu, X., Persson, H. L. et Richardson, D. R. (2005). Molecular pharmacology of the interaction of anthracyclines with iron. *Molecular Pharmacology*, volume 68, numéro 2, p. 261-271.
- Yang, F., Teves, S. S., Kemp, C. J. et Henikoff, S. (2014). Doxorubicin, DNA torsion, and chromatin dynamics. *Biochimica et Biophysica Acta*, volume 1845, numéro 1, p. 84-89.
- Yu, A. S., Lin, H. D., Huang, S. C., Phelps, M. E. et Wu, H. M. (2009). Quantification of cerebral glucose metabolic rate in mice using 18F-FDG and small-animal PET. *Journal of Nuclear Medicine*, volume 50, numéro 6, p. 966-973.
- Zucchi, R. et Danesi, R. (2003). Cardiac toxicity of antineoplastic anthracyclines. *Current Medicinal Chemistry - Anti-Cancer Agents*, volume 3, numéro 2, p. 151-171.

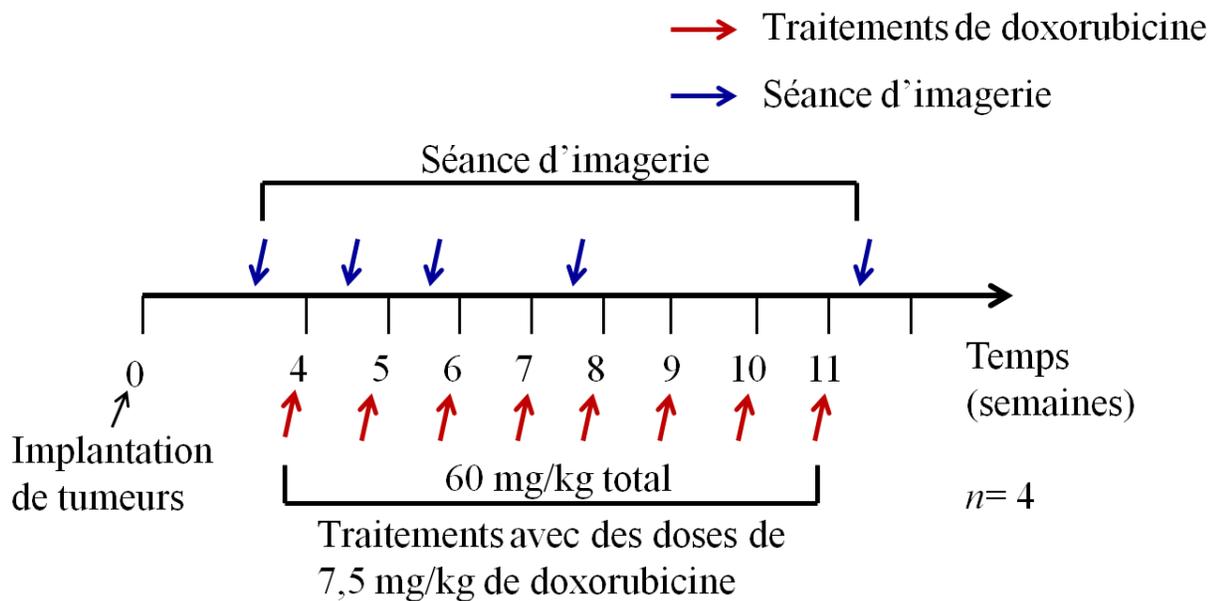
ANNEXE

10.1 Illustration des différents protocoles de traitement utilisés

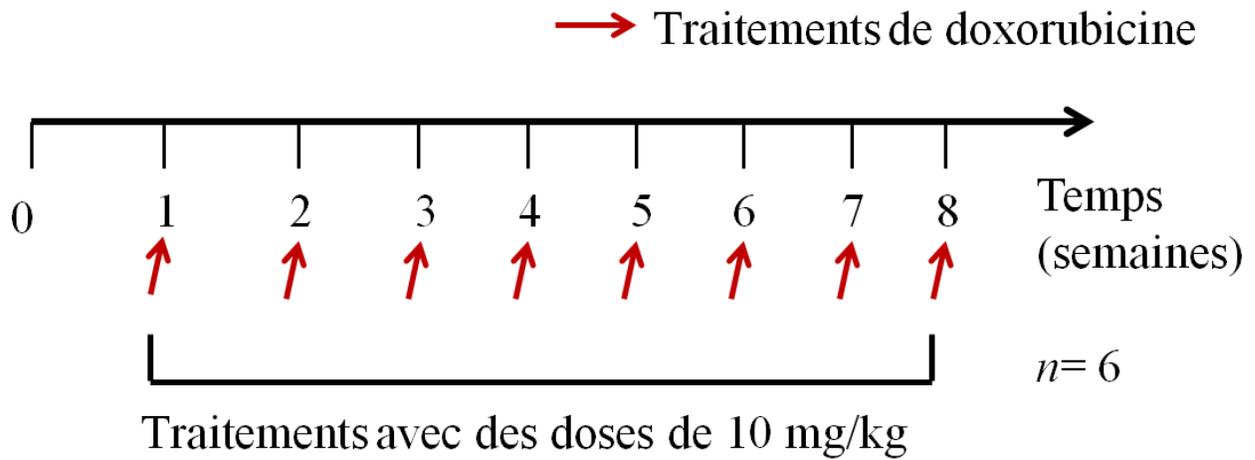
10.1.1 Protocole #1



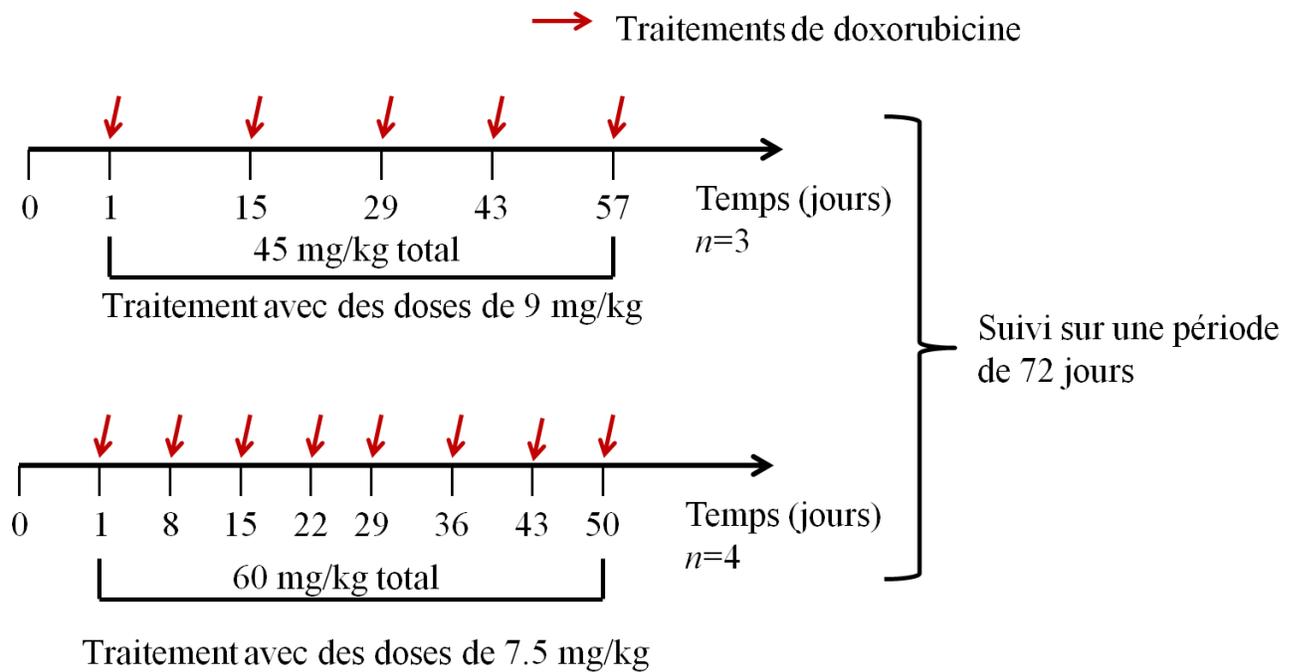
10.1.2 Protocole #2



10.1.3 Protocole #3



10.1.4 Protocole #4



10.1.5 Protocole #5