



# ACADÉMIE NATIONALE DE PHARMACIE

*Fondée le 3 août 1803 sous le nom de Société de Pharmacie de Paris  
Reconnue d'utilité publique le 5 octobre 1877*

## « L'imagerie appliquée aux études chez l'animal de laboratoire »

### *Séance thématique*

**Mercredi 18 mai à 14 h 00**

*Salle des Actes*

*Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques*

*Université Paris Descartes*

*4 avenue de l'Observatoire, 75006 Paris*

14 h 00 **Accueil** par **Henri-Philippe HUSSON**, *Président de l'Académie nationale de Pharmacie*

14 h 10 **Introduction générale :**

**Joël GUILLEMAIN** et **Pr Jean-Roger CLAUDE**, *Membres titulaires de l'Académie nationale de Pharmacie*

S'appuyant sur les stratégies de l'imagerie médicale, et bénéficiant des évolutions technologiques constantes qui conduisent à disposer de détecteurs plus sensibles et plus résolutifs, l'imagerie du petit animal devient aussi performante que celle mise en œuvre chez l'Homme. Ces progrès technologiques signifient que les données issues des études animales peuvent être extrapolées avec plus de certitudes aux effets attendus chez l'Homme, dans une démarche translationnelle.

Chez la souris, des examens par rayon X, IRM, scintigraphie et tomographie par émission de positon, bioluminescence et fluorescence, permettent une résolution jusqu'à 20 µm. L'imagerie moléculaire permet de détecter des récepteurs ou des protéines spécifiques d'une altération, tandis que des systèmes de gènes rapporteurs dédiés à l'imagerie, contribuent à la mise au point de thérapies géniques.

Après un état des lieux des techniques disponibles, les différents exposés illustreront l'intérêt et les limites de l'imagerie dans certains domaines de la pharmacologie, de la pharmacocinétique, de la toxicologie et pour le développement de nouveaux médicaments. Au-delà des retombées scientifiques, l'imagerie contribue par ailleurs à optimiser les modèles animaux dans un souci d'éthique animale.

14 h 20 « **Méthodes actuelles d'investigation en imagerie sur l'animal de laboratoire** »

**Alain LE PAPE**, *CNRS, UPS 44, TAAM-CIPA, Orléans et INSERM U618 Tours*

Depuis le décryptage du génome de la souris en 2002 et la constatation de plus de 90% d'homologie avec les gènes de l'espèce humaine, les modèles murins, et principalement les souris transgéniques modèles de maladies humaines, sont devenues incontournables pour la recherche biomédicale et l'innovation pharmaceutique. Le besoin d'exploration non invasive de ce petit animal en utilisant les mêmes modalités et concepts que l'imagerie médicale a suscité des évolutions technologiques majeures parallèlement à l'essor considérable de l'informatique pour le traitement des images 3D et de la radiologie numérique. Il était en effet indispensable d'atteindre à la fois des résolutions millimétriques ou submillimétriques et une forte sensibilité tout en préservant la dose délivrée à l'organisme pour les modalités d'imagerie mettant en œuvre des rayonnements ionisants. Des scanners à rayons X (TDM), gamma caméras tomographiques (SPECT), Tomographes par Émission de Positons (TEP), IRM et échographes sont désormais exploitables en routine pour effectuer sur une souris de 20g des examens de performances comparatives identiques à ceux

pratiqués chez l'homme. Des imageurs hybrides dits « multimodaux » permettent de confronter des images anatomiques (TDM et IRM) aux explorations fonctionnelles et moléculaires réalisées par SPECT ou TEP.

Parallèlement aux ruptures technologiques apportées aux modalités issues de l'imagerie médicale, un nouveau domaine d'exploration *in vivo* a émergé pour l'exploration du petit animal et connaît un essor considérable. L'imagerie biophotonique avec la bioluminescence et la fluorescence permet d'explorer de manière totalement non invasive et répétitive l'expression de gènes rapporteurs, révolutionnant la démarche expérimentale en infectiologie, cancérologie et thérapie cellulaire. Des stratégies de marquage par un fluorophore d'un agent spécifique d'une fonction (traceur) sont désormais applicables pour un champ très large de problématiques telles que les études de domiciliations cellulaires, de ciblage de foyers pathologiques, de vectorisation d'agents thérapeutiques, d'explorations moléculaires par des bio-marqueurs ...

L'ensemble de ces ressources positionne l'imagerie du petit animal au cœur de la recherche translationnelle dans le domaine bio-médical et pour l'innovation pharmaceutique mais par ailleurs, les nouveaux concepts d'imagerie issus de la biophotonique génèrent également un transfert direct vers la clinique.

En effet, le potentiel très important de la fluorescence, essentiellement dans la partie du spectre correspondant au proche infra rouge (680-900nm) pour limiter l'absorption des photons par les tissus, fait actuellement l'objet de développements très actifs pour :

- l'exploration loco-régionale (mammo-fluorescence pour le diagnostic différentiel des micro foyers suspects et du potentiel d'extension des tumeurs du sein) et pour l'exploration minimalement invasive par fluorescence en fibroscopie
- l'imagerie per opératoire permettant en temps réel une visualisation par le chirurgien des foyers tumoraux pour l'optimisation de l'exérèse en chirurgie classique comme en coelio-chirurgie.

Outre la conception des systèmes d'imagerie, ce nouveau domaine d'applications qui est susceptible d'avoir un fort impact et à court terme sur les pratiques médicales, va générer le développement d'une nouvelle classe d'agents de contraste injectables pour cette modalité d'imagerie moléculaire.

#### 14 h 50 « **Imagerie et système nerveux central** »

**Michel BOTTLAENDER, CEA, NeuroSpin Gif-sur-Yvette**

L'imagerie préclinique et notamment l'imagerie moléculaire est particulièrement importante pour l'étude du système nerveux central du fait de l'accès difficile de cet organe aux autres techniques d'explorations. Le modèle animal le plus approprié pour ces études est le primate non humain du fait de sa proximité phylogénétique avec l'homme et de la taille de son cerveau. En effet, les principales techniques utilisées, comme la Tomographie par Emission de Positons (TEP) souffrent d'une résolution spatiale limitée (de l'ordre de quelques millimètres) ce qui impose le recours aux animaux disposant d'un cerveau de taille relativement importante.

Les études de neuro-imagerie moléculaire ont fait preuve de leur intérêt dans des domaines d'application très divers tant en recherche fondamentale qu'en pharmacologie. L'incomparable avantage de ces techniques, basées sur la détection externe, est en effet la possibilité de suivre, *in vivo*, le devenir d'une substance directement dans le cerveau. Il est ainsi possible, après administration d'un médicament à l'animal, de suivre sa pharmacocinétique intracérébrale, d'établir une cartographie régionale de sa distribution et de la quantifier. Mais il est également possible d'identifier la cible de fixation du médicament et de quantifier leur interaction moléculaire. Ces informations sont capitales pour le développement de nouvelles thérapeutiques (détermination de la cible, choix de la posologie .....). Des développements récents permettent d'envisager l'étude des modifications des récepteurs induites par un traitement chronique.

L'utilisation de la neuro-imagerie pré-clinique est également incontournable pour la validation de nouveaux biomarqueurs en vue de leur utilisation en recherche clinique (recherche physiopathologique) ou dans la pratique clinique de routine (aide au diagnostic et au pronostic, suivi de l'efficacité de nouvelles stratégies thérapeutiques). Le parcours du développement de nouveaux biomarqueurs est long et semé d'embûches. La validation chez l'animal est un pré-requis essentiel permettant d'éviter des pièges pouvant conduire à de mauvaises interprétations des résultats. De plus, une bonne appréhension de la cinétique cérébrale du biomarqueur est importante afin de pouvoir proposer des protocoles simples et atraumatiques utilisables en routine clinique.

Malgré certaines limites et difficultés liées aux techniques utilisées, la neuro-imagerie pré-clinique est un outil puissant tant sur le plan de la pharmacologie, des neurosciences et de la neuro psychiatrie clinique.

15 h 20 « **Biodistribution et métabolisme par l'imagerie** »

**Claire COROT**, *Laboratoire Guerbet, Paris*

Les nombreux et rapides développements technologiques actuels rendent l'imagerie *in vivo* utilisable pour des travaux de recherche et développement, que ce soit pour des études pharmacologiques, toxicologiques ou physio-pathologiques. Ces méthodes d'imagerie permettent d'explorer l'évolution d'évènements biologiques et pharmacologiques consécutifs à l'administration de traitements chez l'Homme ou chez l'Animal.

Plusieurs techniques d'imagerie telles que l'IRM (Imagerie par Résonance Magnétique), la médecine nucléaire (TEP, SPECT), l'imagerie optique, l'imagerie ultrasonore (US) et l'imagerie rayons-X dont le scanner (CT) sont disponibles pour l'imagerie expérimentale avec des performances technologiques équivalentes voire supérieures à celles des équipements cliniques. De l'imagerie anatomique que permettent les techniques « traditionnelles » Rayons X, IRM, US, l'imagerie actuelle évolue vers une imagerie fonctionnelle moléculaire et cellulaire, qui rend compte, au delà de modifications morphologiques, de l'état physio-pathologique d'un organe ou un système. Du fait de leurs spécificités, chacune de ces techniques a sa place car trois paramètres essentiels doivent être pris en compte pour décrire leurs performances : la sensibilité, la résolution temporelle et la résolution spatiale. Alors que la médecine nucléaire présente la sensibilité la plus importante, son utilisation est limitée par une faible résolution spatiale et temporelle, L'IRM présente le plus de potentialités, malgré une sensibilité inférieure. L'apparition de machines hybrides comme le TEP-CT et plus récemment l'IRM-TEP permettent de combiner la visualisation d'une information moléculaire à l'imagerie anatomique ou fonctionnelle.

Les méthodes d'imagerie non invasives sont intéressantes pour suivre *in vivo* l'évolution dans le temps (études longitudinales) de différents évènements biologiques (ischémie, inflammation, angiogenèse, métabolisme de facteurs endogènes, hétérogénéité tissulaire,...). Des agents de contraste sont utilisables pour chacune des modalités d'imagerie, et se caractérisent notamment par leur capacité à marquer les espaces vasculaires et interstitiels, ou des évènements moléculaires ou cellulaires spécifiques de pathologies.

D'un point de vue pharmacodynamique, le radiomarquage d'une nouvelle molécule permet de visualiser *in vivo* sa biodistribution et de quantifier sa fixation sur la cible d'intérêt ainsi que son « wash out ». L'identification de la fixation non spécifique est également observable. Ces approches sont utilisées pour définir la dose pharmacologique utile en fonction de la saturation de la cible d'intérêt, ce qui permet d'éviter les études de choix de doses en cancérologie selon l'apparition des effets toxicologiques souvent sans lien direct avec l'effet pharmacodynamique recherché.

Les méthodes d'imagerie *in vivo* présentent des applications cliniques très diversifiées, à la fois pour la mise au point de nouvelles molécules à visée thérapeutique (pharmacodynamie, pharmacocinétique, biodistribution, métabolisme) et pour la visualisation d'évènements biologiques endogènes tels que les réponses tissulaires à l'ischémie, à un processus tumoral, inflammatoire ou dégénératif. L'innovation technologique actuelle dans le domaine de l'imagerie accompagne l'évolution thérapeutique vers la médecine personnalisée et est un élément essentiel de la médecine dite « translationnelle ».

15 h 50 « **Contribution de l'imagerie aux études de reproduction et de développement chez le rat et le lapin** »

**Paul BARROW** (RICERCA Biosciences, Lyon), **Stéphanie LERONDEL**, **Guillaume REVEILLON**, **Alain LE PAPE** (CNRS TAAM UPS44, Centre d'Imagerie du Petit Animal CIPA, Orléans).

Des évolutions technologiques majeures permettent désormais d'exploiter les modalités de l'imagerie médicale chez le rongeur avec des performances comparables à celles des examens réalisés chez l'homme. Ces modalités d'imagerie *in vivo* 2D et 3D constituent une ressource stratégique pour la recherche biomédicale et l'innovation pharmaceutique.

Ces avancées spectaculaires dans le domaine de l'imagerie *in vivo* permettent de repousser les limites toujours plus loin en offrant la possibilité d'explorer maintenant des fœtus d'animaux, notamment dans le cadre des études de toxicité embryofœtale.

Au cours de ce type d'étude, le médicament candidat est administré à des animaux gestants pendant la phase d'organogénèse. Lors de l'administration répétée du médicament à des femelles gestantes, des anomalies osseuses, viscérales et tissulaires des fœtus sont susceptibles d'être induites avec des fréquences faibles qui nécessitent de mettre en œuvre des effectifs de l'ordre de 600 fœtus de rats et 300 de lapins pour obtenir un seuil de sensibilité suffisant. Avant la mise bas, les fœtus sont récupérés pour être étudiés par la méthode de coloration au rouge alizarine, colorant du calcium, puis transparisation des spécimen selon un processus de dégradation long et fastidieux qui requiert entre 1 semaine et 1 mois de travail.

Dans ce contexte, nous avons évalué le potentiel de l'imagerie par TomoDensitométrie X (TDM X ou scanner X) dans le cadre des études précliniques de sécurité des médicaments. Pour que cette substitution soit envisageable, la modalité scanner X doit aboutir au final à la même sensibilité de détection que le test de référence de coloration par l'alizarine.

Différents tomodensitomètres ont été testés sur des fœtus de rats et de lapins et plusieurs points limitants ont été identifiés, principalement au niveau des os du crâne pour les fœtus de rats.

Une autre restriction est liée à l'analyse des images, relativement lente pour l'instant, qui nécessite par ailleurs des seuillages d'images et des conditions de reconstruction différents en fonction de l'épaisseur des os à visualiser. Il est donc évident que seul un personnel entraîné à la recherche d'anomalies osseuses et au traitement d'images pourra gérer ce type de projet.

Les résultats obtenus nous semblent malgré tout encourageants et pourraient représenter une alternative à la méthode traditionnelle de coloration par le rouge alizarine qui présenterait l'avantage, par rapport aux protocoles actuels, de pouvoir réaliser la recherche d'anomalies osseuses sur l'ensemble des fœtus, ceux-ci restant exploitables pour la recherche d'anomalies viscérales. Toutefois, il faudra s'assurer que les rares situations non visualisées au scanner ne soient pas une limitation majeure dans la prédiction du risque toxique du médicament. Il faudra également développer des outils de traitement spécifiques de ces images permettant l'analyse rapide par des experts pathologistes

16 h 20 « *Imagerie non invasive du petit animal pour l'étude d'anticancéreux* »

**Erwan JOUANOT**, *Sanofi-Aventis, Paris- Oncology / Biomarker & Molecular Imaging, Vitry-Sur-Seine*

La science, la médecine, l'industrie ne peuvent pas actuellement se passer de l'expérimentation chez l'animal. Les petits mammifères, notamment le rat et la souris, jouent aujourd'hui un rôle très important dans la recherche biomédicale. Ils se sont imposés comme des modèles fondamentaux dans la recherche moléculaire, toxicologique et pharmacologique. Cependant l'évaluation des modifications physiologiques et génotypiques des petits animaux reste limitée. Pendant longtemps, cette évaluation a été réalisée principalement par la dissection de l'animal, puis par l'examen des tissus sous microscope. Plus récemment, de nombreuses technologies se sont développées en imagerie du petit animal permettant l'étude *in vivo* de nombreux phénomènes biologiques impliqués dans le cancer. Les modalités non intrusives les plus prometteuses sont la tomographie par émission de positons, la SPECT, l'imagerie de bioluminescence et de fluorescence, l'imagerie par rayons X, l'imagerie ultrasonore, et enfin l'imagerie par résonance magnétique. Ces dispositifs d'imagerie non invasifs sont adaptés au dépistage global des modifications du phénotype en réponse à un traitement pharmaceutique (biomarqueurs d'efficacité) ou du développement d'un état pathologique (outils de diagnostic précoce). Ils permettent aussi de suivre la distribution corporelle d'un composé si celui-ci est marqué (marquage radioactif ou fluorescent). Ces études seront, le cas échéant, un support important à la conception des études cliniques chez les patients.

16 h 50 **Conclusion et perspectives :**

**Professeur Jean Roger-CLAUDE**, *Membre titulaire de l'Académie nationale de Pharmacie*

17 h 00 **Clôture** par **Henri-Philippe HUSSON**, *Président de l'Académie nationale de Pharmacie*