



HAL
open science

Imagerie quantitative du dépôt d'aérosols dans les voies aériennes par résonance magnétique de l'hélium-3 hyperpolarisé

Matthieu Sarraçanie

► **To cite this version:**

Matthieu Sarraçanie. Imagerie quantitative du dépôt d'aérosols dans les voies aériennes par résonance magnétique de l'hélium-3 hyperpolarisé. Autre [cond-mat.other]. Université Paris Sud - Paris XI, 2011. Français. NNT : 2011PA112108 . tel-00658059

HAL Id: tel-00658059

<https://theses.hal.science/tel-00658059>

Submitted on 9 Jan 2012

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE

présentée pour obtenir le titre de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ PARIS-SUD

Spécialité : Physique

IMAGERIE QUANTITATIVE DU DÉPÔT D'AÉROSOLS DANS LES VOIES AÉRIENNES PAR RÉSONANCE MAGNÉTIQUE DE L'HÉLIUM-3 HYPERPOLARISÉ

Mathieu SARRACANIE

mathieu.sarracanie@u-psud.fr

Soutenue publiquement le 06/07/2011 devant un jury composé de :

<i>Rapporteurs</i>	E. CANET-SOULAS J. FELBLINGER
<i>Examineurs</i>	M. FILOCHE M. HUMBERT A. MARTIN J. SCHITTNY
<i>Directeur de thèse</i>	J. BITTOUN

Résumé

Le paysage des thérapies inhalées connaît de profondes évolutions depuis les deux dernières décennies, avec pour objet la considération nouvelle du poumon comme un site de transfert des agents thérapeutiques vers le compartiment sanguin. Cette approche originale est apparue par la combinaison de développements théoriques et pratiques multiples impliqués dans la mise au point de nombreux médicaments, depuis le traitement de la douleur et du diabète jusqu'à la vaccination et le traitement de certains cancers.

La quantité effective de médicament délivrée par aérosols est pondérée par de nombreux facteurs dont le mode et les conditions d'inhalation, les propriétés physiques des gaz en jeu, la morphologie des voies respiratoires ou encore les propriétés physico-chimiques des particules véhiculées. Les développements en cours ces quatre dernières années ont été conditionnés par des résultats encore mal compris, soulignant les limites des connaissances sur le transport et le dépôt d'aérosols dans le poumon. Ces manques mettent en avant le besoin d'outils performants pour l'évaluation du dépôt de particules dans les voies respiratoires.

Les techniques d'imagerie permettent à la fois l'évaluation spatiale et quantitative du dépôt, avec pour seules références aujourd'hui, les techniques de médecine nucléaire. Outre l'aspect ionisant de ces techniques, elles bénéficient d'une sensibilité de détection encore inégalée. Elles demeurent néanmoins limitées par des résolutions spatiale et temporelle faibles, rendant le plus souvent difficile tant l'interprétation du dépôt que le rôle joué par les principaux mécanismes de clairance dans les voies aériennes. Depuis la fin des années 1990, les techniques de résonance magnétique imagent des noyaux hyperpolarisés (hélium-3 et xenon-129) et établissent de nouveaux standards dans l'exploration de la fonction pulmonaire.

Cette thèse établit, sur la base de l'IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé, une nouvelle modalité d'imagerie pour détecter et quantifier le dépôt d'aérosols dans les voies aériennes.

Dans un premier temps, et dans un contexte où l'imagerie par résonance magnétique ne s'était pas encore penchée sur la problématique des aérosols thérapeutiques, un vaste travail d'investigation a été mené pour évaluer la sensibilité de l'IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé au dépôt d'aérosols marqués à base d'oxyde de fer superparamagnétique. Le second volet de ce travail s'est porté sur la validation de notre méthode d'évaluation, et sur le développement de la quantification du dépôt d'aérosols. Nous avons enfin pu tester la reproductibilité de notre méthode d'évaluation du dépôt *in vivo* chez le rat, grâce à la réalisation d'une plateforme de ventilation et d'administration de gaz et d'aérosols dédiée, SAGAS.

Mots clés : Aérosols, poumons, IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé, imagerie quantitative.

Abstract

Inhalation therapy has broadened its field of application over the last two decades by considering the lung not only as an organ to cure, but also as a portal toward systemic circulation. This new approach is being made possible by the emergence of biotherapeutics and a greater understanding of the absorption properties of the lung. Systemic delivery across the oronasal route was then investigated for a number of indications including migraine, diabetes, pain, and cancer.

However, progress into the market of systemic aerosolized drug delivery has been slowed down to-date by a number of confounding factors including rapid clearance, instability, long-term toxicity, and dosing issues. Final drug distribution in such complex geometries strongly depends on a variety of parameters like the aerosol administration protocol, particle size, density, and physicochemical properties, as well as the airway geometry. Independently of drug formulation and pharmacokinetic considerations, these parameters determine the deposition distribution throughout the lung.

Quantification and spatial localization are primordially needed to better control and optimize drug concentration at specific or less- and nonspecific sites. Nuclear medicine techniques are currently the only available modalities that combine both aerosol quantification and regional localization. They are considered as reference techniques even though they remain limited by their spatial and temporal resolutions as well as by patient exposure to radiations. With regard to lung imaging, hyperpolarized helium-3 MRI has been developed as a powerful tool to quantitatively characterize the parenchyma and the organ function and morphology. The technique is innocuous and provides millimeter and sub-second resolutions with rather high signal to noise ratios.

In this thesis, a new imaging modality was developed on the grounds of hyperpolarized helium-3 MRI to probe and quantify aerosol deposition in the airways.

In the first part of the thesis, I describe the potential of helium-3 MRI to probe aerosol deposition by using superparamagnetic contrast agents. The second part mainly focuses on the validation of this new modality by comparing it to a reference technique, single photon emission computed tomography (SPECT), and computational fluid dynamics. The last part of the manuscript is dedicated to aerosol administration and in vivo measurements in rat lungs. This experiment was possible by designing and building an MR compatible gas administrator and ventilator dedicated to small animals, SAGAS (Small Animal Gas Administration System). Its complete hardware and software description is presented in the same chapter.

Key words : Aerosol deposition, lung, hyperpolarized helium-3 MRI, quantification.

Table des matières

Résumé	i
Abstract	iii
Table des matières	v
Table des figures	ix
Liste des tableaux	xix
Introduction	1
Aérosols et voies aériennes	5
1 Appareil respiratoire	7
1.1 Généralités	7
1.2 Anatomie et fonction	8
1.2.1 Région extrathoracique	8
1.2.2 Régions trachéobronchique et alvéolaire	11
2 Aérosols : théorie et thérapies	15
2.1 Définition	15
2.2 Aérosolthérapie	18
2.2.1 Action locale	18
2.2.1.1 Maladies pulmonaires traitées par les thérapies inhalées .	18
2.2.1.2 Médicaments administrés en aérosols	20
2.2.2 Action systémique	21
2.2.2.1 Le poumon comme organe d'absorption	22
2.2.2.2 Les projets en développement	23
2.2.3 Générateurs d'aérosols	23

2.3	Mécanismes et évaluation du dépôt d'aérosols	26
2.3.1	Mécanismes du dépôt d'aérosols	26
2.3.2	Évaluation du dépôt pulmonaire	28
2.3.2.1	Évaluation de la taille des particules et de la fraction respirable	29
2.3.2.2	Pharmacocinétique et prélèvement bronchoalvéolaire	30
2.3.2.3	Imagerie du dépôt d'aérosols	31
2.3.2.4	Conclusion	36
 Mesure du dépôt d'aérosols par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé		39
3	Résonance magnétique de l'hélium-3 hyperpolarisé	41
3.1	Bases physiques de l'IRM	41
3.1.1	La résonance magnétique nucléaire	42
3.1.1.1	Aimantation à l'équilibre	42
3.1.1.2	Aimantation hors équilibre	44
3.1.1.3	Acquisition du signal RMN	45
3.1.2	Imagerie par résonance magnétique	47
3.1.2.1	Gradients et plan de Fourier	47
3.1.2.2	Séquence d'écho de gradient	48
3.2	Résonance magnétique nucléaire de l'hélium-3 hyperpolarisé	52
3.2.1	Hyperpolarisation de l'hélium-3	53
3.2.1.1	Hélium-3	53
3.2.1.2	Hyperpolarisation par échange de métastabilité	53
3.2.2	Imagerie de l'hélium-3	56
3.2.2.1	Evolution du moment magnétique total	56
3.2.2.2	Perte par angle	56
3.2.2.3	Relaxation longitudinale	56
3.2.2.4	Relaxation transversale	58
4	Sensibilité de l'IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé au dépôt d'aérosols	61
4.1	Marquage des aérosols	61
4.1.1	Propriétés magnétiques des agents de contraste	62
4.1.1.1	Aimantation induite faible	62
4.1.1.2	Aimantation induite forte	63
4.1.2	Choix d'un agent de contraste	64
4.1.2.1	Relaxivité	64
4.1.2.2	Effet sur le signal IRM	64
4.2	Imagerie du dépôt d'oxydes de fer	68
4.2.1	Matériel d'imagerie	68
4.2.1.1	Imageur	68

4.2.1.2	Antenne	69
4.2.2	Bases méthodologiques	69
4.2.2.1	Accord et adaptation de l'antenne	69
4.2.2.2	Calibration angulaire	70
4.2.2.3	Homogénéité spatiale de B_1	72
4.2.3	Étude préliminaire du dépôt de fer	74
4.2.3.1	Approche globale	74
4.2.3.2	Localisation d'une source ponctuelle	76
4.2.3.3	Étude dans l'acinus de Kitaoka	78
4.2.3.4	Effet des aérosols sur les temps de relaxation T_1 et T_2^*	84
4.2.3.5	Preuve de concept sur le petit animal	94

Validation de l'IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé comme outil d'évaluation du dépôt d'aérosols 105

5 Approche multimodale dans les voies aériennes extrathoraciques 107

5.1	IRM de l'hélium-3 et SPECT	107
5.1.1	Méthodes	108
5.1.1.1	Fantôme bouche-trachée	108
5.1.1.2	Protocole de dépôt	109
5.1.1.3	Imagerie	110
5.1.1.4	Quantification absolue du dépôt d'aérosols	111
5.1.2	Résultats	114
5.1.2.1	Imagerie	114
5.1.2.2	Quantification	119
5.1.3	Comparaison entre modalités	122
5.2	IRM de l'hélium-3 et simulations CFD	123
5.2.1	Étude de l'écoulement	123
5.2.1.1	Simulations numériques	123
5.2.1.2	Vélocimétrie 3D par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé	129
5.2.1.3	Résultats et discussion	132
5.2.2	Étude du dépôt de particules	137
5.2.2.1	Simulations numériques	137
5.2.2.2	Comparaison entre mesures et calcul	142
5.3	Conclusion	145

6 Validation expérimentale sur le petit animal 147

6.1	Conception d'une plateforme d'administration de gaz pour le petit animal	147
6.1.1	Contexte	148
6.1.1.1	Administration de gaz hyperpolarisé	148
6.1.1.2	Établissement d'un cahier des charges	151

TABLE DES MATIÈRES

6.1.2	SAGAS : Small Animal Gas Administration System	152
6.1.2.1	Fonctionnement et installation	152
6.1.2.2	Réalisations	160
6.1.2.3	Montage et tests	172
6.1.2.4	Conclusion	173
6.2	Étude <i>in vivo</i> du dépôt d'aérosols dans les voies aériennes du petit animal	175
6.2.1	Méthodes	175
6.2.2	Résultats et discussion	178
6.2.3	Conclusion	183
	Conclusion et perspectives	185
	Liste des publications	189
	Bibliographie	193

Table des figures

1.1.1	Vue schématique de l'appareil respiratoire humain, adaptée de [127].	8
1.2.1	Vue schématique de l'anatomie de la région extrathoracique.	10
1.2.2	Vue schématique des premières générations de l'arbre bronchique en direction du poumon droit.	11
1.2.3	Schéma en coupe des cellules d'une alvéole.	12
1.2.4	Description des régions trachéobronchique et alvéolaire d'après le modèle de Weibel [213]. Schéma repris de Grippi [99].	13
1.2.5	(a) Moulage représentant la transition entre bronchioles terminales et bronchioles respiratoires et (b) Image d'un moulage d'acinus obtenue en microscopie électronique à balayage . On peut observer une bronchiole de transition (tb) conduisant vers les bronchioles respiratoires. La grande flèche indique l'espace laissé par l'artère pulmonaire venant alimenter l'acinus. La petite flèche indique une marque de séparation dans le parenchyme. (c) Image d'un canal alvéolaire, D, entouré d'une densité importante d'alvéoles. Adapté de [214].	13
2.1.1	Distributions particulaire et massique pour un échantillon d'aérosol de $CMD = 3,5 \mu m$ et de $GSD = 1,5$. Selon l'Eq. 2.1.7, $MMAD = 5,73 \mu m$. 17	17
2.1.2	Distributions particulaire et massique cumulées pour un échantillon d'aérosol de $CMD = 3,5 \mu m$, de $MMAD = 5,73 \mu m$, et de $GSD = 1,5$	17
2.3.1	Dépôt par impaction inertielle à un embranchement bronchique.	27
2.3.2	Dépôt par sédimentation le long des parois des voies aériennes.	27
2.3.3	Dépôt par diffusion.	28
2.3.4	Schéma de principe d'un impacteur multi-étages.	30
2.3.5	Imagerie scintigraphique planaire réalisée après administration de salbutamol, un bronchodilatateur, pour deux distributions de taille de particules différentes : a. Distribution de taille des particules comprises entre 5 et 15 μm . b. Distribution de taille des particules comprises entre 30 et 90nm. Extrait de [12].	32
2.3.6	Exemples tirés de la littérature représentant différentes stratégies de détermination des régions d'intérêt pour la quantification du dépôt d'aérosols dans les poumons. Adapté de [3].	33

2.3.7	Images SPECT du dépôt d'aérosols pour des particules de granulométries différentes, « fine » ($\text{MMAD} \leq 2,5 \mu\text{m}$) et « coarse » ($2,5 \mu\text{m} \leq \text{MMAD} \leq 10 \mu\text{m}$). L'information en 3 dimensions (à droite, représentation en coupes transverses) permet de distinguer des différences difficilement visibles sur une image en projection (à gauche), notamment entre les premières générations de bronches et la région distale du poumon. Extrait de [190].	34
2.3.8	Examen TEP réalisé chez un patient asthmatique après inhalation d'un aérosol de ^{18}F -FDG. $\text{MMAD} = 1,5 \mu\text{m}$. Coupes axiale (gauche), frontale (centre) et saggitale (droite) de 6 mm d'épaisseur. Extrait de [67].	35
3.1.1	Le moment magnétique à l'équilibre (a) est basculé d'un angle α dans le plan transversal (b). Il revient ensuite à l'équilibre (c). On observe alors la FID (d) représentée dans le plan complexe. Extrait de [51].	46
3.1.2	Chronogramme d'une séquence écho de gradients (gauche) et trajectoire correspondante dans le plan de Fourier (droite). Adapté de [51].	48
3.1.3	Modes de balayage du plan de Fourier. (a) Acquisition d'un demi-plan de Fourier, (b) acquisition de plusieurs lignes par TR , (c) balayage de tout le plan de Fourier pendant une excitation, (d) balayage en spirale, (e) balayage radial. Extrait de [114].	51
3.2.1	Imagerie par résonance magnétique du poumon. (a) IRM du proton, $P \simeq 5 \cdot 10^{-6}$, (b) IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé (image réalisée au sein du laboraoire), $P = 1 \cdot 10^{-1}$	52
3.2.2	Représentation des niveaux atomiques de l'hélium-3 intervenant dans le pompage optique par échange de métastabilité. Extrait de [2].	54
3.2.3	Diagramme montrant les positions énergétiques des sous-niveaux Zeeman de l'état métastable 2^3S_1 (E_s) et de l'état excité 2^3P (E_p) dans l'hélium-3 dans un champ magnétique de l'ordre du mT. Les sous-niveaux, A_1 à A_6 et B_1 à B_{18} sont classés par ordre croissant d'énergie. Les transitions C_8 et C_9 couplent respectivement les niveaux : $2^3\text{S}_1, F = 1/2 \rightarrow 2^3\text{P}_0, F = 1/2$ et $2^3\text{S}_1, F = 3/2 \rightarrow 2^3\text{P}_0, F = 1/2$. Adapté de [2].	55
3.2.4	Le moment magnétique à l'état hyperpolarisé (a) est basculé d'un angle α dans le plan transversal (b). Il précesse (c) pour atteindre un état moins polarisé (d). Extrait de [51].	57
4.1.1	Effets prédominants des agents de contraste paramagnétiques et superparamagnétiques sur le signal IRM en fonction de leurs concentrations, pour des paramètres de séquence donnés (TE, TR). Adapté de [26].	65
4.1.2	Effet des SPION sur une image de poumons de souris par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé. (A) Souris contrôle sans injection de produit de contraste. (B) Modèle de tumeur humaine de la prostate chez la souris après injection des SPION. Extrait de [22].	66

4.2.1	Imageur Philips Achieva 1,5 T installé au CIERM.	68
4.2.2	Antenne petit animal double-bracelet utilisée pour l'IRM de l'hélium-3 à 1,5 T.	69
4.2.3	Schéma représentant la décroissance de l'aimantation longitudinale à chaque impulsion RF : perte par angle.	71
4.2.4	Carte de distribution des angles de basculement (carte de B_1) pour un fantôme placé dans l'antenne petit animal obtenue sur 64 dynamiques : $FOV = (288 \times 96 \times 96) \text{ mm}^3$, voxel = $(4 \times 4 \times 4) \text{ mm}^3$, TE/TR = 1,73/4 ms, $\alpha = 2^\circ$. (a) Position du fantôme dans l'antenne. (b) Coupe coronale centrale, $\alpha_{moyen} = 1, 5^\circ \pm 0, 17^\circ$. (c) Deux profils d'angles de basculement sélectionnés sur la carte (b) (S/I supérieur, inférieur et D/G droite, gauche). 73	73
4.2.5	Représentation dans l'espace fréquentiel des décalages induits par la présence d'oxyde de fer superparamagnétique. (a) FID sur la seringue Contrôle, remplie d'hélium-3 hyperpolarisé. (b) FID sur la seringue Test, mélange entre aérosols à base d'oxyde de fer et d'hélium-3 hyperpolarisé. (c) FID sur les 2 seringues (Contrôle et Test).	75
4.2.6	Chronogramme de la séquence en écho de gradient à 2 échos entrelacés. Les impulsions RF et de gradient sont identiques pour les deux échos. Seul le délai entre l'impulsion RF et l'application des gradients d'imagerie diffère et permet de caractériser l'évolution libre des spins dans le champ magnétique statique environnant. En IRM de l'hélium-3, le second écho est aussi pondéré par la perte par angle $\cos \alpha$	77
4.2.7	Localisation du dépôt de fer dans un fantôme simple. (A) Schéma du montage expérimental. (B) Image de module et (C) Carte de δB_0	78
4.2.8	Principe de l'algorithme labyrinthe de Kitaoka, expliqué en deux dimensions sur une matrice 3×3 . Le point de départ est situé en bas à gauche. Pour chaque étape, les cellules actives sont indiquées par un carré noir et les directions possibles par des flèches. Lorsque plusieurs directions sont possibles, la direction sélectionnée est indiquée par une flèche plus large. Après l'étape 8, un labyrinthe branché est élaboré. Les intersections sont représentées par des o, les points d'arrivée par des ●. Adapté de [119].	79
4.2.9	Représentation du modèle d'acinus utilisé dans les travaux de Habib <i>et al.</i> (A) Moulage d'un acinus pulmonaire humain [214]. (B) Géométrie branchée d'un modèle d'acinus réalisé selon les algorithmes de Kitaoka [119]. La flèche blanche désigne le point d'entrée dans le modèle. (C) Réalisation du modèle en résine époxy par stéréolithographie [102, 103]. 79	79
4.2.10	Représentation du cube de Kitaoka réalisé pour les expériences de dépôt de fer. (A) Géométrie branchée sur laquelle apparaît la disposition des 6 ouvertures ajoutées. (B) Réalisation du modèle en résine époxy par stéréolithographie.	80

4.2.11	Représentation de la région étudiée (en jaune) dans le cube de Kitaoka pour différentes quantités de fer déposées sur les bouchons 1, 2 et 3. Les quantités déposées sont exprimées en nanogramme (ng) de fer.	81
4.2.12	Cartes d'atténuation du signal mesurées dans la région indiquée Fig. 4.2.11 pour (A) des dépôts de 110, 220 et 1100 ng de fer et (B) des dépôts de 0,58, 0,12 et 0,06 ng de fer.	82
4.2.13	Cartes de variation de B_0 mesurées dans la région indiquée Fig. 4.2.11 pour (A) des dépôts de 110, 220 et 1100 ng de fer et (B) des dépôts de 0,58, 0,12 et 0,06 ng de fer.	82
4.2.14	Illustration de la sensibilité de mesure entre observation de la perte d'amplitude du signal (rouge) et mesure du déphasage des spins (vert). Une perte de 30% du signal est caractérisée par un déphasage de l'ordre de $\pi/2$	83
4.2.15	(A) Images de module et (B) graphique représentant la valeur moyenne normalisée en fonction du temps du signal de l'hélium-3 dans la seringue contenant l'aérosol 1 ainsi que dans la seringue témoin 1. Coupe axiale centrale pour 5 dynamiques séparées de 1 min sur un FOV = $104 \times 54 \times 100$ mm avec voxel = $(2 \times 2 \times 10)$ mm ³ , TE/TR = 3,7/8,8 ms, $\Delta TE = 2$ ms, $\alpha = 2,5^\circ$	87
4.2.16	(A) Images de module et (B) graphique représentant la valeur moyenne normalisée en fonction du temps du signal de l'hélium-3 dans la seringue contenant l'aérosol 2 ainsi que dans la seringue témoin 2. Coupe axiale centrale pour 5 dynamiques séparées de 1 min sur un FOV = $104 \times 54 \times 100$ mm avec voxel = $(2 \times 2 \times 10)$ mm ³ , TE/TR = 3,7/8,8 ms, $\Delta TE = 2$ ms, $\alpha = 2,5^\circ$	88
4.2.17	(A) Images de module et (B) graphique représentant la valeur moyenne normalisée en fonction du temps, pour chaque dynamique, du signal de l'hélium-3 dans la seringue contenant l'aérosol 3 ainsi que dans la seringue témoin 3. Coupe axiale centrale pour 5 dynamiques séparées de 1 min sur un FOV = $104 \times 54 \times 100$ mm avec voxel = $(2 \times 2 \times 10)$ mm ³ , TE/TR = 3,7/8,8 ms, $\Delta TE = 2$ ms, $\alpha = 2,5^\circ$	88
4.2.18	(A) Cartes de durée de vie du signal d'hélium-3, T_2^* , et (B) cartes de variation de B_0 pour l'expérience réalisée avec l'aérosol 1 et la seringue témoin 1. Quatre coupes axiales centrales sur un FOV = $104 \times 54 \times 100$ mm avec voxel = $(2 \times 2 \times 10)$ mm ³ , TE/TR = 3,7/8,8 ms, $\Delta TE = 2$ ms, $\alpha = 2,5^\circ$	89
4.2.19	(A) Cartes de durée de vie du signal d'hélium-3, T_2^* , et (B) cartes de variation de B_0 pour l'expérience réalisée avec l'aérosol 2 et la seringue témoin 2. Quatre coupes axiales centrales sur un FOV = $104 \times 54 \times 100$ mm avec voxel = $(2 \times 2 \times 10)$ mm ³ , TE/TR = 3,7/8,8 ms, $\Delta TE = 2$ ms, $\alpha = 2,5^\circ$	90

4.2.20 (A) Cartes de durée de vie du signal d'hélium-3, T_2^* , et (B) cartes de variation de B_0 pour l'expérience réalisée avec l'aérosol 3 et la seringue témoin 3. Quatre coupes axiales centrales sur un FOV = 104×54×100 mm avec voxel = (2 × 2 × 10) mm ³ , TE/TR = 3,7/8,8 ms, ΔTE = 2 ms, α = 2,5°.	91
4.2.21 Schéma illustrant un rat anesthésié et trachéotomisé disposé sur son lit de maintien avant d'être placé dans l'IRM.	94
4.2.22 Rat placé dans l'antenne IRM et raccordé à un ensemble de connecteurs pour l'administration des fluides (He-3, aérosols) et la surveillance de la pression.	95
4.2.23 (A) Images de module des différentes coupes acquises pour le rat 1 avant administration d'aérosols. (B) reconstruction volumique des poumons à partir des images de module. Séquence d'écho de gradient 3D à 2 échos entrelacés : Matrice 40×40×19, FOV = 80×80×30 mm, TE/TR = 3,9/9,2 ms, ΔTE = 2 ms, α = 2,4°.	96
4.2.24 Cartes de variation du champ magnétique statique B_0 , calculées à partir de l'équation 4.2.8, pour l'ensemble des coupes acquises sur le rat 1 avant administration d'aérosols.	97
4.2.25 Cartes de variation du champ magnétique B_0 , calculées à partir de l'équation 4.2.9, pour l'ensemble des coupes acquises sur le rat 1 après administration de 10 mL d'aérosols.	97
4.2.26 (A) Images de module des différentes coupes acquises pour le rat 2 avant administration d'aérosols. (B) Reconstruction volumique des poumons à partir des images de module. Séquence d'écho de gradient 3D à 2 échos entrelacés : Matrice 40×40×19, FOV = 80×80×30 mm, TE/TR = 3,9/9,2 ms, ΔTE = 2 ms, α = 2,4°.	99
4.2.27 Cartes de variation du champ magnétique statique B_0 , calculées à partir de l'équation 4.2.8, pour l'ensemble des coupes acquises sur le rat 2 avant administration d'aérosols.	99
4.2.28 Cartes de variation du champ magnétique B_0 , calculées à partir de l'équation 4.2.9, pour l'ensemble des coupes acquises sur le rat 2 après administration d'un premier mélange d'aérosols (1 mL aérosols + 9 mL air).	100
4.2.29 Cartes de variation du champ magnétique B_0 , calculées à partir de l'équation 4.2.9, pour l'ensemble des coupes acquises sur le rat 2 après administration d'un second mélange d'aérosols (1 mL aérosols + 9 mL air).	100
4.2.30 Cartes de différence entre les cartes de δB_0 calculées après administration d'un second mélange d'aérosols (Fig. 4.2.29) et les cartes de δB_0 calculées après une première administration d'aérosols (Fig. 4.2.28).	101

TABLE DES FIGURES

5.1.1	(A) Image CT haute résolution présentant les principales régions anatomiques de la région ET. (B) Maillage 3D représentant l'assemblage de la cavité orale (mauve) et de la zone oropharynx-larynx-trachée. (C) Réalisation par stéréolithographie du fantôme bouche-trachée.	108
5.1.2	Schéma du dispositif d'administration des aérosols dans le fantôme bouche-trachée.	109
5.1.3	Graphes représentant la relation entre activité mesurée par le compteur γ (MBq) et signal mesuré par SPECT (nbre de coups).	112
5.1.4	(A) Image SPECT 2D projetée du dépôt d'aérosols dans le fantôme bouche-trachée, superposée à une image CT décrivant les contours du fantôme. Taille de voxel = $2,4 \times 2,4 \times 2,4 \text{ mm}^3$. (B) Image SPECT du dépôt d'aérosols dans le fantôme après dégradation de la matrice d'acquisition (A). Taille de voxel = $4 \times 4 \times 4 \text{ mm}^3$. (C) et (D) Images 2D projetées du dépôt d'aérosols dans des géométries réalistes, d'après les travaux de Grgic <i>et al.</i> [97]	115
5.1.5	Images SPECT du dépôt d'aérosols radiomarqués dans le fantôme bouche-trachée (nombre de coups). Représentation de huit coupes centrales superposées avec les coupes CT du fantôme correspondantes. Les images CT permettent de distinguer les parois du fantôme.	116
5.1.6	Images de module acquises en IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé sur le fantôme bouche-trachée sans dépôt de fer. Représentation des huit coupes centrales disposant du RSB le plus élevé.	117
5.1.7	Cartes de variation du champ magnétique statique B_0 de référence (en ppm) dans le fantôme bouche-trachée. Représentation des huit coupes centrales.	118
5.1.8	Cartes de variation du champ magnétique statique B_0 (en ppm) engendrées par le dépôt de fer dans le fantôme bouche-trachée. Représentation de huit coupes centrales.	118
5.1.9	Cartes d'erreur sur la mesure des variations du champ B_0 (en ppm) obtenue à partir des cartes d'erreur de phase.	118
5.1.10	Quantification du dépôt d'aérosols à partir de l'imagerie SPECT (Fig.5.1.5) dans le fantôme bouche-trachée (en $\mu\text{g}_{\text{Fe}} \cdot \text{voxel}^{-1}$). (A) Projection 2D sur l'ensemble du volume. (B) Représentation pour les huit coupes centrales. Les images sont superposées à l'image CT (pourtour grisé) afin de situer le dépôt dans la géométrie.	119
5.1.11	Cartes de distribution du dépôt de fer sur les parois du fantôme bouche-trachée obtenues après résolution du problème inverse à partir des cartes de variation de champ magnétique statique (Fig. 5.1.8) (en $\mu\text{g}_{\text{Fe}} \cdot \text{voxel}^{-1}$). (A) Projection 2D sur l'ensemble du volume. (B) Représentation pour huit coupes centrales.	120

5.1.12	Cartes de variation du champ magnétique statique B_0 (en ppm) dans une coupe centrale du fantôme. (A) Carte mesurée à partir de l'imagerie IRM. (B) Carte simulée à partir de la distribution en masse du dépôt de fer sur les parois du fantôme, après inversion du problème.	121
5.1.13	Graphe représentant la quantité de voxels comparée (en %) en fonction du coefficient de variation calculé (en %), pour l'ensemble des cartes de variation de B_0 mesurées et simulées.	121
5.2.1	Construction du maillage de calcul surfacique. En blanc, le maillage géométrique surfacique. En rouge, le maillage affiné pour le calcul. Extrait de [184].	127
5.2.2	Coupe réalisée dans le maillage volumique. On distingue l'empilement des couches de prismes à partir du maillage surfacique et les tétraèdres venant remplir le volume. Extrait de [184].	128
5.2.3	Chronogramme de la séquence de vélocimétrie IRM. Lors de l'encodage de vitesse, un gradient bipolaire est successivement appliqué selon les trois directions de l'espace (ici en vert) pour estimer la phase accumulée par rapport à la phase de référence (sans gradient bipolaire).	131
5.2.4	Schéma du montage expérimental de vélocimétrie IRM dans le fantôme bouche-trachée.	132
5.2.5	Cartes de vitesse u^+ (en $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) calculées pour différents débits d'air. (A) $Q = 250 \text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}$. (B) $Q = 500 \text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}$. (C) $Q = 1000 \text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}$. Extrait de [184].	133
5.2.6	Profils de vitesse calculés à différents endroits du modèle pour différents débits d'air. $Q = 250 \text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}$, $Q = 500 \text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}$ et $Q = 1000 \text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}$. Extraits de [184].	134
5.2.7	Cartes de vitesse u_1 , selon l'axe de la trachée, (en $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) mesurées par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé (haut) et calculées par CFD (bas).	135
5.2.8	Cartes de vitesse, u_2 , selon l'axe de la cavité orale, (en $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) mesurées par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé (haut) et calculées par CFD (bas).	135
5.2.9	Cartes de vitesse, u_3 , selon la normale au plan image, (en $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) mesurées par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé (haut) et calculées par CFD (bas).	136
5.2.10	Cartes du module de vitesse du gaz, u^+ (en $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$), mesurés par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé (haut) et calculés par CFD (bas).	136
5.2.11	Distribution non-cumulée de taille des particules utilisée dans le calcul CFD (en bleu) superposée aux distributions non cumulée (en noir) et cumulée (en rouge) mesurées par diffraction laser.	141
5.2.12	Distribution du dépôt de particules obtenue par CFD en projection 2D dans le fantôme bouche-trachée en vue sagittale, superposée à une projection de la géométrie.	142
5.2.13	Cartes de dépôt de fer sur les parois du fantôme bouche-trachée calculées par CFD (en $\mu\text{g}_{\text{FE}}\cdot\text{voxel}^{-1}$). (A) Projection 2D sur l'ensemble du volume. (B) Représentation des huit coupes centrales.	143

TABLE DES FIGURES

5.2.14	Représentation 3D des cartes de dépôt de fer projetées sur la surface du modèle bouche-trachée, (A) à partir de l'activité mesurée en SPECT, (B) à partir des cartes de variation du champ magnétique statique mesurées par IRM, et (C) à partir des simulations CFD du dépôt de particules.	144
6.1.1	Évaluation de la dépolarisation de l'hélium-3 suite au passage du gaz dans la vanne pneumatique amagnétique du ventilateur <i>MRI-1 Ventilator</i> (CWE Inc., États-Unis). Deux FID sont représentées (1) avant et (2) immédiatement après passage du gaz dans la vanne. On note une diminution de l'amplitude du signal d'un facteur 5.	149
6.1.2	Représentation du module d'administration utilisé dans les travaux de Perez de Alejo <i>et al.</i> (A) Photographie du module d'administration et (B) schéma des trois vannes d'administration disposées à l'intérieur du module. Extrait de [50].	150
6.1.3	Schéma de principe de la plateforme d'administration SAGAS. Représentation de l'état par défaut du système.	153
6.1.4	État d'ouverture des vannes du système d'administration lors de la phase d'inspiration.	154
6.1.5	Représentation du processus de vidange pour le sac n°2 (B2, bag 2).	155
6.1.6	Représentation du processus de remplissage pour le sac n°2.	156
6.1.7	Schéma illustrant le remplissage partiel du sac 3.	157
6.1.8	Représentation de l'administration d'une fraction de gaz contenue dans le sac 2, dans le sac 3.	158
6.1.9	Représentation de l'administration dans le sac 3 d'une fraction de gaz contenue dans le sac 4.	158
6.1.10	Schéma d'installation de SAGAS dans l'environnement IRM. (1) Module d'administration. (2) Module de commande. (3) Ordinateur de contrôle.	159
6.1.11	Représentation en coupe du fonctionnement des vannes pneumatiques utilisées. (A) Vanne fermée. (B) Vanne ouverte.	161
6.1.12	(A) Dessin et (B) réalisation en teflon d'un élément du système comportant 3 vannes pneumatiques.	161
6.1.13	Dessins représentant (A) le support de fixation destiné à l'accueil du module d'administration, et (B) le coffret muni de son couvercle destiné à accueillir les sacs B1 à B4. Les vannes (en blanc) sont positionnées sur le couvercle à titre indicatif.	162
6.1.14	Module d'administration de SAGAS après assemblage.	163
6.1.15	Vue intérieure de dessus du module de commande.	164
6.1.16	Vues des faces avant (A) et arrière (B) du module de commande.	165
6.1.17	Exemple illustrant l'état d'ouverture des 23 vannes pneumatiques pour la configuration 0, inspiration (A _{air}) et pour la configuration 1, expiration (A _{atm}).	165
6.1.18	Interface utilisateur du logiciel SAGAS.	166

6.1.19	Édition de séquences avec le logiciel SAGAS.	167
6.1.20	Représentation d'une liste de lecture de séquence de ventilation et d'administration sous SAGAS.	169
6.1.21	Interface de calibration des capteurs de pression. (1) Choix de la valeur de calibration. (2) Définition du nombre de mesures pour une valeur de pression. (3) Choix du capteur à calibrer. (4) Affichage de la droite de calibration.	170
6.1.22	Affichage de la pression pour 6 capteurs dans l'interface SAGAS. Les données affichées ont été simulées pour l'illustration.	171
6.1.23	Installation de SAGAS dans l'environnement IRM.	172
6.1.24	Images de module acquises avec SAGAS en IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé <i>in vivo</i> dans les poumons de rat. Représentation de 6 coupes centrales.	173
6.1.25	Images de module acquises avec le système SAGAS en IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé <i>post-mortem</i> dans les poumons de rat. Représentation de 6 coupes centrales.	173
6.2.1	Installation du dispositif expérimental sur le lit de l'IRM. Un module de chauffage par ventilation d'air chaud (Heater system, SA Instruments, Inc., États-Unis) a été ajouté pour le maintien en température de l'animal.	175
6.2.2	(A) Représentation du générateur d'aérosols Aéroneb® Solo et (B) Distribution cumulée de taille des particules générée par le nébuliseur, mesurée par diffraction laser.	176
6.2.3	Installation du dispositif de nébulisation dans la conduite d'administration, sur le chemin entre SAGAS et l'animal.	177
6.2.4	Images de module acquises sur les 5 rats avant dépôt, (A) avant et après (B) normalisation spatiale. Représentations coronale (1) et axiale (2) pour une coupe centrale prise dans les poumons, sagittale (3) pour une coupe prise dans le poumon droit.	179
6.2.5	Cartes de variations de B_0 (en ppm) présentées en vue coronale pour les 5 rats étudiés. Les cartes représentent un échantillon de 6 coupes prises dans l'ensemble du poumon.	180
6.2.6	Cartes de variations de B_0 (en ppm) présentées en vue axiale pour les 5 rats étudiés. Les cartes représentent un échantillon de 7 coupes balayant l'ensemble des poumons.	181
6.2.7	Cartes de variations de B_0 (en ppm) présentées en vue sagittale pour les 5 rats étudiés. Les cartes représentent un échantillon de 6 coupes prises dans l'ensemble des deux poumons.	181
6.2.8	Graphe présentant l'occurrence (en %) des variations de B_0 , en valeur absolue, pour des valeurs supérieures à 0 (jaune) et à 0,5 ppm (marron) et situées dans quatre régions distinctes du poumon, (A) antérieure, P (postérieure), (H) supérieure et (F) inférieure.	182

TABLE DES FIGURES

6.2.9	Distribution non-cumulée des perturbations de B_0 (en ppm) pour les 5 rats de l'étude.	183
6.2.10	Distribution cumulée des coefficients de variation inter-voxel (en %) pour les 5 rats étudiés.	183

Liste des tableaux

2.1	Exemples de médicaments en cours de développement en 2007 pour administration en thérapies inhalées. Extrait de [46].	24
3.1	Rapport gyromagnétique des noyaux d'hydrogène et d'hélium-3 [87] et leur fréquence de résonance à 1,5 T.	43
4.1	Relaxivités r_1 et r_2 mesurées pour des agents de contraste paramagnétiques [172] et superparamagnétiques [145, 179] à 1,5 T, 37° C.	65
5.1	Mesure d'activité et signal SPECT pour différents prélèvements dans la solution mère de calibration.	111
5.2	Caractéristiques du maillage utilisé pour les calculs menés dans le modèle bouche-trachée. N_c est le nombre de cellules et n_p , le nombre de couches de prismes superposées à partir des surfaces frontières. s est la surface moyenne d'une face, h la hauteur de la première couche de prismes et a est une longueur caractéristique d'une face à la surface frontière.	128

Introduction

La médecine moderne a vu apparaître la dénomination « aérosol » pour la première fois dans le vocable pharmaceutique en 1932 [4]. Il désignait un ensemble de particules élémentaires en suspension dans un fluide, dédié au traitement par inhalation des maladies respiratoires. Cette pratique pourtant millénaire ne s'est véritablement répandue qu'à partir des années 1950, avec l'apparition des premiers inhalateurs portatifs pour le traitement de pathologies obstructives stables, majoritairement l'asthme et les bronchopneumopathies chroniques obstructives (BPCO).

Le paysage des thérapies inhalées, alors essentiellement destinées au traitement du poumon, a cependant connu de profondes évolutions depuis les deux dernières décennies, avec un changement d'objet visant à considérer le poumon non plus comme un site de traitement, mais véritablement comme un site de transfert des agents thérapeutiques vers le compartiment sanguin [95, 186, 96]. Cette approche originale est apparue par la combinaison de développements théoriques et pratiques multiples, dont une meilleure connaissance des propriétés d'absorption du poumon et l'administration de protéines et peptides thérapeutiques impliqués dans la mise au point de nombreux médicaments [46, 159]. Le caractère indolore et non-invasif de cette voie d'administration, la vaste surface d'échange avec le compartiment sanguin associé à une forte vascularisation, la biodisponibilité accrue du tissu pulmonaire comparée à l'absorption gastro-intestinale [188, 166] et enfin la faible épaisseur corrélative de l'épithélium alvéolaire sont des propriétés de choix pour l'administration de médicaments [164, 167]. La voie fut ouverte à des domaines d'application très larges, depuis le traitement de la douleur et du diabète jusqu'à la vaccination et le traitement de certains cancers [49, 191, 199, 46].

Quelle que soit la cible visée dans l'organisme, l'efficacité des traitements est conditionnée par la proportion de principe actif parvenant effectivement à la région à traiter et par la proportion d'effets secondaires associés. La quantité effective de médicament dépend de nombreux facteurs dont le mode et les conditions d'inhalation, les propriétés physiques des gaz en jeu, la morphologie des voies respiratoires ou encore les propriétés physico-chimiques des particules véhiculées. Les voies aériennes sont des structures complexes difficiles à modéliser, tant théoriquement qu'expérimentalement. Les développements en cours ont été conditionnés ces quatre dernières années par des résultats encore mal compris en termes de clairance, de dosage et de toxicité [24, 49]. Ils soulignent

les limites des connaissances sur le transport et le dépôt d'aérosols dans le poumon. Ces manques mettent en avant le besoin d'outils performants pour l'évaluation du dépôt de particules dans les voies respiratoires.

Les techniques d'imagerie s'imposent alors en permettant à la fois l'évaluation spatiale et quantitative du dépôt, avec pour seules références aujourd'hui, les techniques de médecine nucléaire. Passé l'aspect ionisant de ces techniques, elles jouissent d'une forte sensibilité de détection encore inégalée. Cependant, elles demeurent limitées par des résolutions spatiale et temporelle faibles, rendant le plus souvent difficile tant l'interprétation du dépôt dans les différentes générations de bronche, que le rôle joué par les principaux mécanismes de clairance dans les voies aériennes qui redistribuent les particules déposées sur les temps d'acquisition élevés de la technique. Bien que l'imagerie par résonance magnétique (IRM) soit considérée comme un outil de référence dans les domaines du pronostic et du diagnostic médical, elle constitue en ce domaine un terrain pratiquement vierge d'investigation [28].

En utilisant les propriétés quantiques des noyaux atomiques (principalement le noyau d'hydrogène), l'IRM, à l'innocuité éprouvée, ne cesse de démontrer sa richesse depuis la description de l'anatomie jusqu'à l'investigation du fonctionnement des organes. Depuis 1973 [125], au fil des progrès et innovations, l'image est devenue tridimensionnelle, dynamique, fonctionnelle, hautement résolue dans l'espace et le temps, et l'information mesurée s'est diversifiée en balayant un spectre d'indicateurs de plus en plus étendu. La densité de noyaux, les temps de relaxation, la diffusion, la position, la vitesse, mais également les propriétés mécaniques des tissus sont autant de paramètres rendus quantifiables qui attestent aujourd'hui de la polyvalence et de la puissance de cette technique d'imagerie. Récemment, elle s'est également enrichie de nombreux outils pour quantifier les données mesurées, notamment les composés à base de fer [55, 54, 52], et dispose de résolutions spatiale et temporelle supérieures à l'ensemble des techniques de médecine nucléaire.

À la frontière de la physique atomique et de l'imagerie par résonance magnétique, l'imagerie de noyaux hyperpolarisés (hélium-3 et xenon-129) a relevé un nouveau défi, depuis la fin des années 1990, en apportant des outils méthodologiques pour l'exploration de la fonction pulmonaire. Les voies aériennes étant principalement remplies de gaz, l'IRM conventionnelle est limitée dans cette région de l'organisme par la faible densité de noyaux, et par les forts effets de susceptibilité magnétique intervenant à l'interface entre le gaz et le parenchyme pulmonaire. Ainsi, l'IRM des gaz hyperpolarisés a pu établir de nouveaux standards dans l'exploration du poumon sain ou malade [6, 148, 1]. Cette technique fournit des images en trois dimensions de la ventilation des poumons [48], des images dynamiques de la fonction respiratoire [115, 194], mais également des images paramétriques sur les temps de décroissance du signal [72] ou sur la diffusion du gaz [144, 168, 151], permettant ainsi de sonder la structure et la fonction du poumon.

Cette thèse établit, sur la base de l'IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé, une nouvelle modalité d'imagerie pour détecter et quantifier le dépôt d'aérosols dans les voies aériennes. Le présent manuscrit aborde les travaux menés autour de cet objectif commun sous différents axes, théoriques et expérimentaux, depuis l'élaboration de la méthode de détection par IRM jusqu'à la validation de la technique sur fantômes et son application chez le petit animal. Ce manuscrit suit ces développements en trois parties et six chapitres.

Dans un premier temps, nous situons le contexte propre à l'usage des thérapies inhalées. Afin de disposer des éléments anatomiques de base nécessaires à la compréhension des mécanismes de dépôt dans cette géométrie complexe, le premier chapitre décrit brièvement la structure et fonction des voies aériennes humaines. Le second chapitre dresse un état des lieux de la science des aérosols à destination thérapeutique, depuis leurs modes de production jusqu'à leurs différents domaines d'application. Ce chapitre permet également de passer en revue les principaux outils méthodologiques utilisés actuellement pour évaluer le dépôt d'aérosols.

La seconde partie étudie dans quelle mesure l'IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé peut être sensible au dépôt d'aérosols. Le chapitre 3 décrit les fondements physiques de l'IRM associée à l'utilisation des gaz hyperpolarisés et introduit les notations et termes d'usage. Le chapitre 4 décrit les développements méthodologiques et les voies d'investigation considérées qui ont posé les bases de la détection du dépôt d'aérosols par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé. Les premiers résultats sur fantômes et chez le petit animal sont présentés et discutés au travers de l'analyse de différents indicateurs, portant essentiellement sur les temps de relaxation des noyaux atomiques (longitudinal, transverse) ainsi que sur l'information de phase du signal acquis en hélium-3.

La troisième et dernière partie est consacrée à la validation de l'IRM par contraste de phase de l'hélium-3 hyperpolarisé comme outil d'étude pour l'évaluation du dépôt d'aérosols dans les voies aériennes. Nous présentons dans le chapitre 5 une étude quantitative du dépôt d'aérosols par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé et la confrontons à deux modalités théorique et expérimentale d'investigation dans la région extrathoracique. Le chapitre 6 étudie la sensibilité et la reproductibilité *in vivo* de la méthode d'évaluation du dépôt d'aérosols sur le petit animal, décrivant, pour cela, le développement et la réalisation d'une plateforme de ventilation et d'administration de gaz dédiée.

Aérosols et voies aériennes

Chapitre 1

Appareil respiratoire

Les voies aériennes humaines sont organisées en structures complexes. La compréhension des mécanismes de dépôt d'aérosols dans cette géométrie particulière demande une bonne connaissance de son rôle ainsi que de sa topologie. Ce chapitre a pour objectif de donner une vue d'ensemble non exhaustive de l'appareil respiratoire, des différentes structures le composant ainsi que de leurs fonctions.

1.1 Généralités

L'appareil respiratoire humain a pour fonction essentielle la réalisation des échanges gazeux entre le sang de l'organisme et l'air atmosphérique (Fig. 1.1.1). Ces échanges alimentent le sang en dioxygène et permettent l'élimination du dioxyde de carbone. L'air passe par les cavités nasales ou buccale avant de traverser le pharynx puis le larynx. Cet ensemble constitue les voies aériennes extrathoraciques (voies supérieures). L'air parvient ensuite au niveau de la trachée qui se divise en deux bronches souches, pour se subdiviser de nombreuses fois jusqu'à former les bronchioles terminales. Cet ensemble constitue les voies aériennes trachéobronchiques. Enfin, l'air accède aux bronchioles respiratoires. Elles contiennent les alvéoles, siège des échanges gazeux avec les capillaires sanguins irriguant le poumon. Cette région est aussi appelée parenchyme pulmonaire ou région alvéolaire.

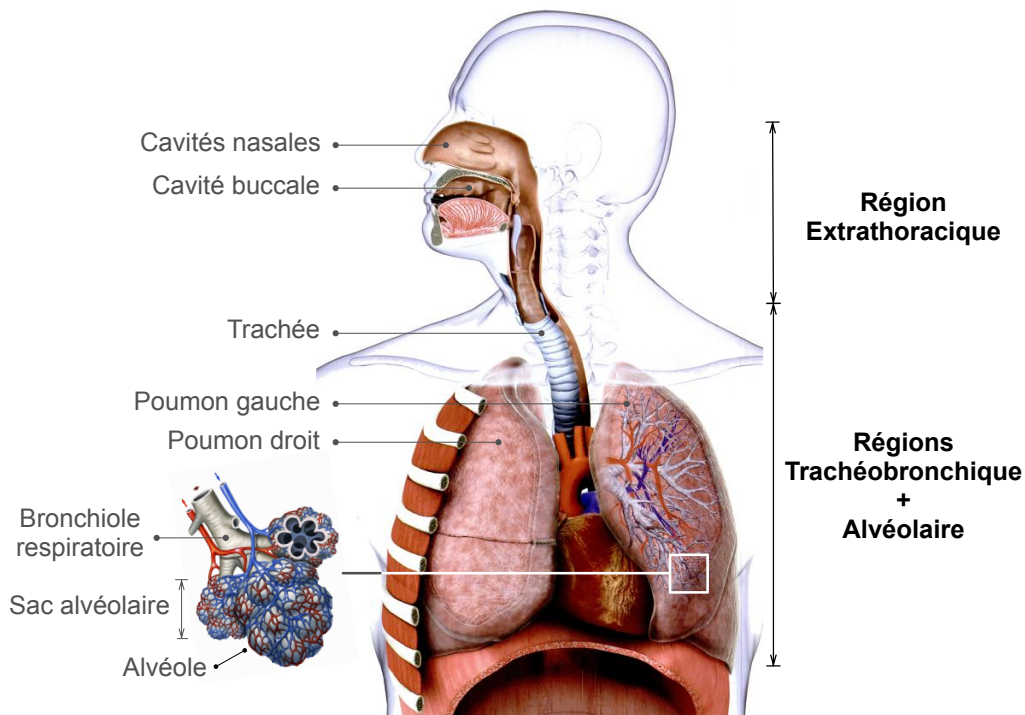


FIGURE 1.1.1 : Vue schématique de l'appareil respiratoire humain, adaptée de [127].

1.2 Anatomie et fonction

1.2.1 Région extrathoracique

La région extrathoracique s'étend de la zone d'inspiration jusqu'à l'entrée de la trachée (Fig. 1.2.1). Elle comprend les cavités nasales (également appelées fosses nasales), la cavité buccale (encore dénommée cavité orale), le pharynx et le larynx.

Les cavités nasales

Prolongées en avant par le nez et en arrière par le pharynx, les cavités nasales sont deux espaces creusés dans l'os maxillaire et remplis d'air, au milieu de la face (Fig. 1.2.1). Elles permettent de réchauffer l'air inhalé jusqu'à la température de 37°C (température corporelle) et d'en assurer la saturation en eau. Elles contiennent également les organes impliqués dans l'olfaction. Sur les côtés latéraux, trois paires de cornets dirigent l'air vers l'épithélium olfactif. Les cornets divisent les voies respiratoires nasales en passages, semblables à des sillons, forçant l'air turbulent à s'écouler autour de la plus grande surface possible de tissu. Elles assurent ainsi un rôle de filtre grâce à une multitude de cellules sécrétrices de mucus, de glandes et de cellules ciliées. Ceci constitue un mécanisme important de défense des poumons contre les agressions extérieures.

La cavité buccale

La cavité buccale est divisée en deux parties, le vestibule et la cavité buccale proprement dite, séparées par l'arcade dentaire (Fig. 1.2.1). La cavité buccale humaine a pour fonctions principales l'alimentation et la communication. Elle constitue également une voie d'entrée, de passage et de conditionnement de l'air (température, saturation en eau) dans l'appareil respiratoire.

Le pharynx

Situé en arrière des cavités nasales et orales, le pharynx est un conduit musculaire et membraneux collabable subdivisé en trois parties (Fig. 1.2.1) :

- le nasopharynx ou rhinopharynx,
- l'oropharynx ou buccopharynx
- le laryngopharynx

Prenant la forme d'un entonnoir ou d'une demi-gouttière appliquée contre le rachis cervical, il est au carrefour des voies respiratoires et digestives. Il intervient également dans les fonctions phonatoire et auditive.

Le larynx

Le larynx est un conduit ostéo-cartilagineux rigide positionné au niveau de la gorge (Fig. 1.2.1). Intermédiaire entre le pharynx et la trachée, il abrite les cordes vocales. Il est impliqué dans la fonction respiratoire, joue également un rôle dans les fonctions de déglutition et de production des sons. Sa fermeture, lorsque l'épiglotte vient se plaquer contre le larynx, protège les voies aériennes inférieure de l'intrusion de corps étrangers.

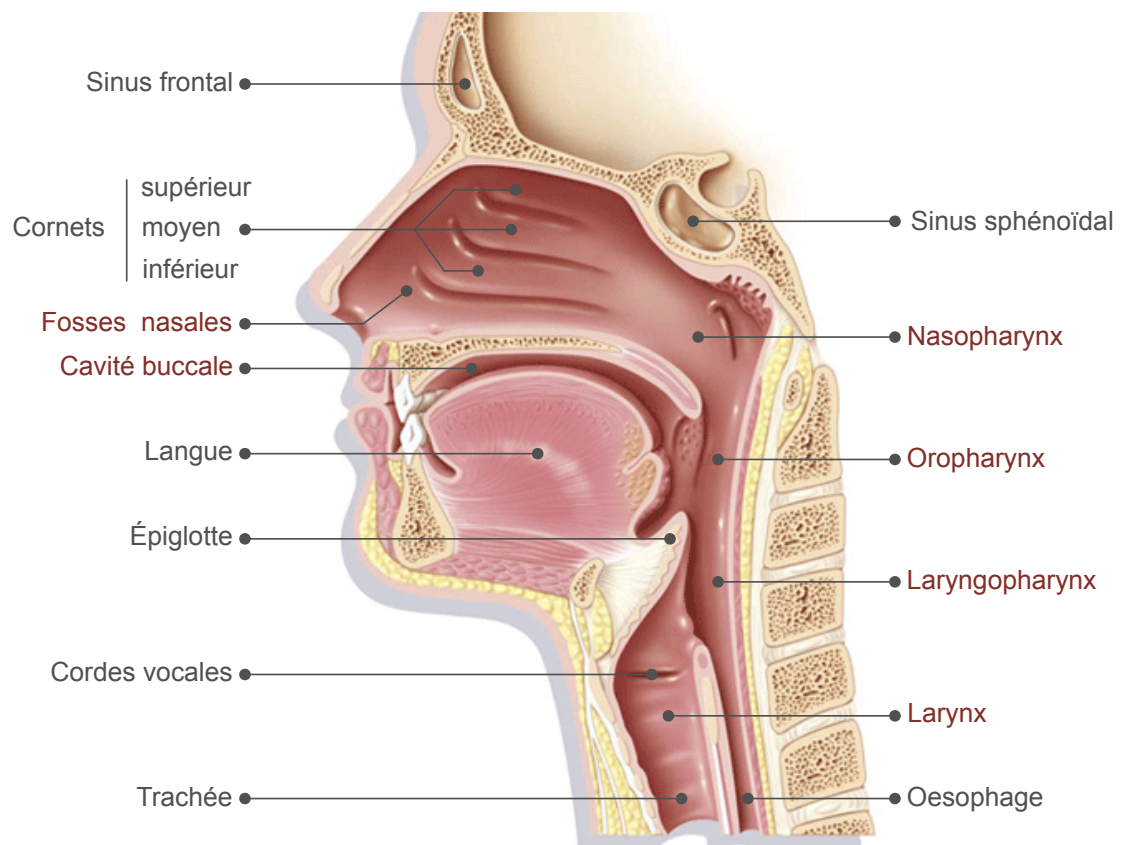


FIGURE 1.2.1 : Vue schématique de l'anatomie de la région extrathoracique.

1.2.2 Régions trachéobronchique et alvéolaire

Permettant l'acheminement de l'air depuis la trachée vers le parenchyme pulmonaire, ces régions ont été décrites par Weibel [213] comme un arbre dichotomique asymétrique composé d'environ 23 générations (Fig. 1.2.4).

La région trachéobronchique

La région trachéobronchique comprend les 14-16 premières générations de bronche. Trachée et bronches sont de structures analogues, composées d'anneaux cartilagineux maintenus en place par une gaine fibreuse. Les anneaux sont unis en chaque extrémité par des fibres musculaires lisses disposées transversalement. La trachée se divise en deux bronches souches principales au niveau de la carène, chacune entrant dans un poumon (gauche ou droit) (Fig. 1.2.2). Le tronc souche droit se divise en trois bronches lobaires correspondant aux trois lobes du poumon droit. La bronche principale gauche se divise en deux bronches lobaires correspondant aux deux lobes du poumon gauche. Les bronches lobaires se divisent ensuite en bronches segmentaires correspondant à la systématisation du parenchyme pulmonaire. Elles donnent naissance aux bronchioles puis aux bronchioles terminales, les plus petites générations de bronches, dépourvues de cartilage et assurant la transition vers la région alvéolaire (Fig. 1.2.5(a)). La région trachéobronchique est une zone où domine la convection gazeuse.

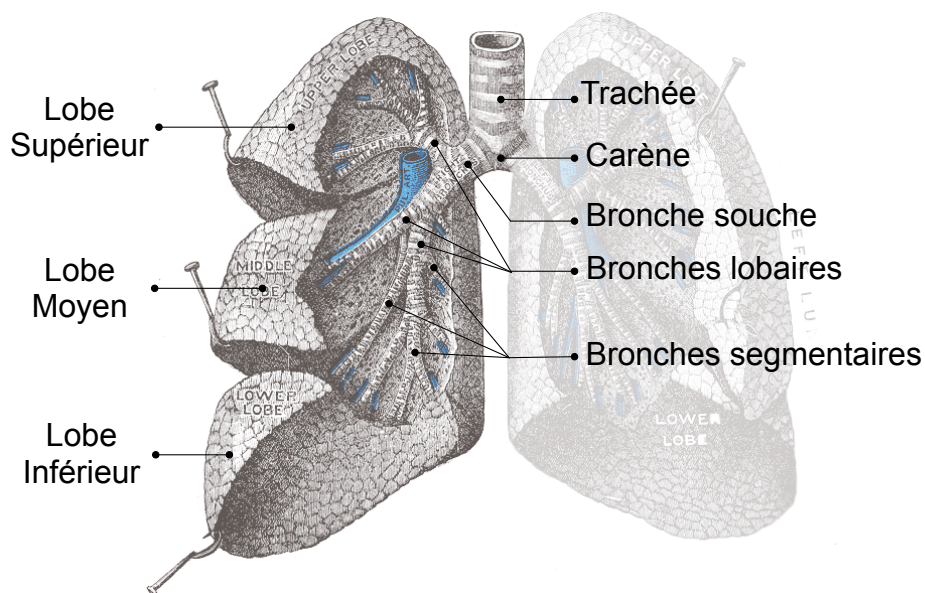


FIGURE 1.2.2 : Vue schématique des premières générations de l'arbre bronchique en direction du poumon droit.

La région alvéolaire

La région alvéolaire (également appelée région acinaire ou distale) rassemble les générations 16 à 23 correspondant à la zone de respiration (Fig. 1.2.4 et 1.2.5(b)). Dans cette région, le nombre d'alvéoles s'ouvrant dans la bronchiole respiratoire est si important qu'il n'y a plus réellement de structure bronchiolaire : on parle alors de canal alvéolaire (Fig. 1.2.5(c)). Chaque canal alvéolaire se divise lui même deux à trois fois. Chaque canal alvéolaire final s'ouvre sur deux ou trois sacs alvéolaires. À ce niveau, le muscle disparaît, l'armature est uniquement constituée de fibres de collagène ou élastiques. Les fibres élastiques permettent aux alvéoles de se gonfler lors de l'inspiration et de se dégonfler lors de l'expiration tandis que les fibres collagènes limitent la distension des murs alvéolaires et, par suite, évitent leur rupture.

Les alvéoles sont des sacs de diamètre environ égal à $200\ \mu\text{m}$, constitués de cellules à la forme fine et allongée, les pneumocytes de type I associés aux pneumocytes de type II (Fig. 1.2.3). Ces derniers assurent la sécrétion d'un surfactant, dont la principale fonction est de réduire la tension superficielle à l'interface air/liquide située en surface des alvéoles. Le surfactant facilite l'expansion des alvéoles à l'inspiration et permet de les maintenir ouvertes pendant la phase d'expiration. Il joue également un rôle dans la perméabilité alvéolaire et dans les mécanismes de défense contre les micro-organismes.

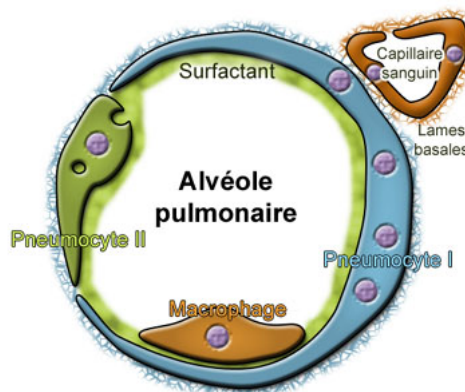


FIGURE 1.2.3 : Schéma en coupe des cellules d'une alvéole.

La structure histologique des alvéoles est adaptée à leur fonction essentielle : l'échange dioxygène/dioxyde de carbone. Ces échanges sont conditionnés par les différences de pression partielle des gaz qui règnent dans les compartiments alvéolaire et sanguin [214].

Les poumons humains comptent environ 300 millions d'alvéoles. La surface d'échange de l'ensemble représente environ $130\ \text{m}^2$ pour $12000\ \text{L}$ d'air filtrés et $6000\ \text{L}$ de sang perfusés par jour.

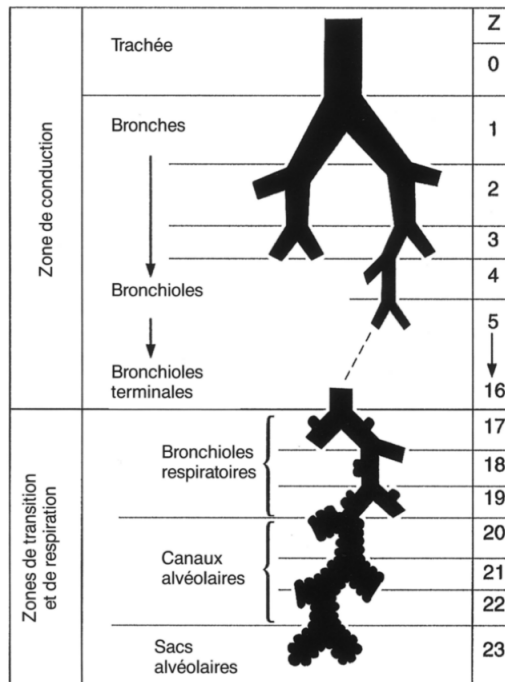


FIGURE 1.2.4 : Description des régions trachéobronchique et alvéolaire d'après le modèle de Weibel [213]. Schéma repris de Grippi [99].

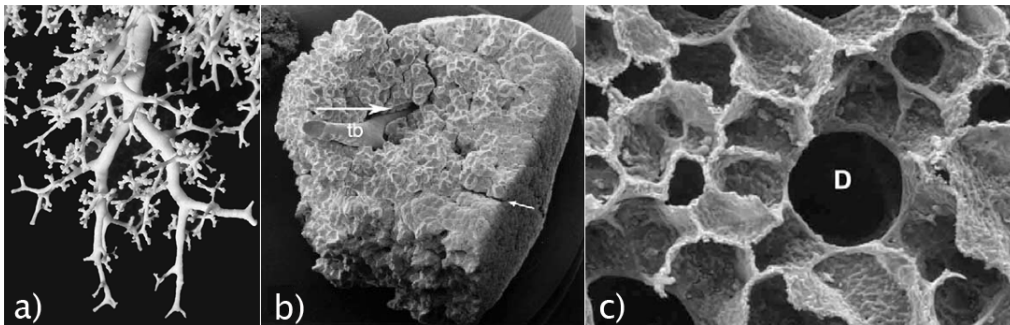


FIGURE 1.2.5 : (a) Moulage représentant la transition entre bronchioles terminales et bronchioles respiratoires et (b) Image d'un moulage d'acinus obtenue en microscopie électronique à balayage . On peut observer une bronchiole de transition (tb) conduisant vers les bronchioles respiratoires. La grande flèche indique l'espace laissé par l'artère pulmonaire venant alimenter l'acinus. La petite flèche indique une marque de séparation dans le parenchyme. (c) Image d'un canal alvéolaire, D, entouré d'une densité importante d'alvéoles. Adapté de [214].

Chapitre 2

Aérosols : théorie et thérapies

Le présent chapitre dresse un état des lieux concernant la science des aérosols à destinée thérapeutique, depuis les modes de production jusqu'au différents domaines d'application de ces derniers. Nous porterons une attention particulière aux méthodes de caractérisation et d'évaluation du dépôt dans les voies aériennes.

2.1 Définition

Un aérosol désigne un ensemble de particules d'une substance donnée en suspension dans un milieu gazeux. Ces particules peuvent être de tailles et de formes diverses, de nature solide (poudre) ou liquide (gouttelettes). Le site de dépôt des aérosols dans les voies respiratoires dépend principalement de leurs propriétés aérodynamiques. Ces propriétés sont déterminées par la taille, la forme et la densité des particules constituant l'aérosol. Ces particules n'étant pas toujours sphériques, il est parfois difficile de définir simplement leurs tailles. On introduit alors la notion de diamètre aérodynamique (AD, Aerodynamic Diameter), correspondant au diamètre d'une sphère ayant la même vitesse de chute que la particule et une masse volumique égale à 1 g/cm^3 .

Caractérisation de la taille des particules

On définit $f(x)$ comme la densité de probabilité particulière qu'une particule d'un aérosol ait pour diamètre x . Le nombre de particules de l'aérosol ayant un diamètre compris entre x et $x + dx$ est alors $N_p f(x) dx$, où N_p est le nombre total de particules dans l'échantillon considéré. N_p étant fini, f peut être mesurée par différentes techniques. Étant donné le nombre important de particules considérées, f peut être définie comme

une fonction analytique continue passant par le nombre fini de points où f est connue. La distribution log-normale est souvent employée à cet effet. Elle est définie par :

$$f(x) = \frac{1}{x\sqrt{2\pi \ln \sigma_g}} \exp \left[\frac{-(\ln x - \ln x_g)^2}{2 (\ln \sigma_g)} \right] \quad (2.1.1)$$

où x_g est le diamètre médian sur le nombre de particules (CMD, Count Median Number) et σ_g est l'écart type géométrique (GSD, Geometric Standard Deviation), c'est-à-dire l'étendue de la distribution de particules autour de cette valeur médiane. Cela revient à écrire :

$$\int_0^{x_g} f(x) dx = 1/2 \quad (2.1.2)$$

$$\ln \sigma_g = \left[\int_0^{\infty} (\ln x - \ln x_g)^2 f(x) dx \right]^{1/2} \quad (2.1.3)$$

On définit enfin la distribution cumulative en nombre qui donne le nombre de particules N ayant un diamètre inférieur à une valeur d :

$$N(d) = \int_0^d N_p f(x) dx \quad (2.1.4)$$

De façon similaire, on peut aussi définir la densité de probabilité massique, f_m , d'un échantillon d'aérosols telle que la masse de particules ayant un diamètre compris entre x et $x + dx$ soit $M_p f_m(x) dx$, où M_p est la masse totale de particules dans l'échantillon considéré. Dans le cas d'une distribution log-normale :

$$f_m(x) = \frac{1}{x\sqrt{2\pi \ln \sigma_g}} \exp \left[\frac{-(\ln x - \ln x_m)^2}{2 (\ln \sigma_g)^2} \right] \quad (2.1.5)$$

où x_m est le diamètre aérodynamique médian sur la masse des particules (MMAD, Mass Median Aerodynamic Diameter), ce qui revient à dire que la moitié de la masse des particules de l'échantillon est composée de particules ayant un diamètre $x \leq x_m$. σ_g est le GSD. On montre dans le cas d'une telle distribution que 16% de la masse totale des particules de l'échantillon est composé de particules ayant un diamètre compris entre 0 et x_m/σ_g et que 84% de la masse totale des particules est composée de particules de diamètres compris entre 0 et $x_m \times \sigma_g$.

Enfin, par analogie avec l' Eq. 2.1.4, la distribution cumulative en masse pour les particules de diamètre inférieur à une valeur d est définie par :

$$M(d) = \int_0^d M_p f_m(x) dx \quad (2.1.6)$$

Dans le cas d'un échantillon contenant des particules sphériques de même masse volumique, si la densité de probabilité particulaire est de type log-normal, alors la densité de probabilité massique est aussi log-normale¹. On peut démontrer qu'elles ont le même GSD et que le MMAD s'exprime en fonction du CMD selon :

$$x_m = x_g \exp \left[3 (\ln \sigma_g)^2 \right] \quad (2.1.7)$$

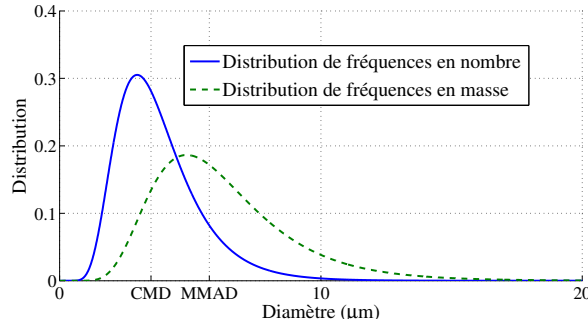


FIGURE 2.1.1 : Distributions particulaire et massique pour un échantillon d'aérosol de $CMD = 3,5 \mu m$ et de $GSD = 1,5$. Selon l'Eq. 2.1.7, $MMAD = 5,73 \mu m$.

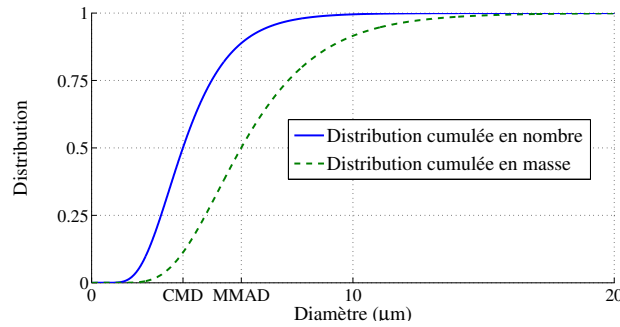


FIGURE 2.1.2 : Distributions particulaire et massique cumulées pour un échantillon d'aérosol de $CMD = 3,5 \mu m$, de $MMAD = 5,73 \mu m$, et de $GSD = 1,5$.

1. On démontre en effet que si $f(x)$ est log-normale, alors $x^k f(x)$ l'est aussi. On applique cette règle dans le cas de particules sphériques, sachant que la masse d'une sphère de diamètre x est proportionnelle à x^3 .

Les distributions particulaire et massique sont tracées sur la Fig. 2.1.1 pour un aérosol de $CMD = 3,5 \mu m$ et de $GSD = 1,5$. Le $MMAD$ est calculé à partir de l'Eq. 2.1.7 et donne $MMAD = 5,73 \mu m$. Les distributions cumulées sont également représentées Fig. 2.1.2. On remarque que 50% de la masse totale est occupée par des particules de diamètre supérieur à $5 \mu m$ alors qu'elles ne correspondent en nombre qu'à 11% du nombre total de particules. Cet aérosol est caractérisé par la distribution des tailles de particules et non par une taille unique de particule. On dit de cet aérosol qu'il est « polydisperse ». Un aérosol « monodisperse » est caractérisé par une taille unique de particules, ce qui est rarement le cas dans la réalité de production des aérosols, ou par un écart type très faible, de l'ordre de $GSD \sim 1$.

2.2 Aérosolthérapie

L'aérosolthérapie désigne l'administration par les voies aériennes de médicaments sous forme d'aérosols. La hiérarchie des voies aériennes donne accès à divers sites d'action (extrathoracique, trachéobronchique, alvéolaire). Si la grande majorité des aérosols est destinée à agir localement dans le traitement de certaines maladies pulmonaires (asthme, BPCO, fibrose, mucoviscidose), les développements se multiplient pour franchir la barrière alvéolocapillaire et permettre l'accès à la circulation systémique. Toutefois, la complexité des mécanismes de dépôt en fonction des propriétés aérodynamiques des aérosols (taille, forme, densité) et de leurs caractéristiques biochimiques (fonctionnalisation, solubilité), rendent leur ciblage difficile à maîtriser.

2.2.1 Action locale

On caractérise par action locale le traitement *in situ* des maladies du poumon par l'administration d'aérosols. L'accès direct aux bronches procuré par ce mode de traitement augmente l'effet et la rapidité d'action des médicaments délivrés, tout en minimisant la dose totale administrée et les effets secondaires potentiels.

2.2.1.1 Maladies pulmonaires traitées par les thérapies inhalées

Asthme

L'asthme est une maladie inflammatoire des bronches que caractérise une obstruction des voies aériennes supérieures et qui provoque une gêne respiratoire à l'expiration. La crise d'asthme est réversible spontanément ou sous l'action d'un traitement médicamenteux. La maladie est définie par trois mécanismes caractéristiques :

- une inflammation des bronches,
- une diminution du diamètre des bronches (bronchoconstriction),

- une hyper-activité bronchique qui se traduit par une production importante de mucus.

L'asthme est une des maladies chroniques les plus répandues dans les pays développés [20, 74].

BPCO

La Broncho-Pneumopathie Chronique Obstructive (BPCO) est un groupe de maladies chroniques systémiques d'origine respiratoire et atteignant les bronches. Au niveau respiratoire, la BPCO est caractérisée par une obstruction lente et progressive des voies aériennes et des poumons. Elle est associée à une distension permanente des alvéoles pulmonaires avec destruction des parois alvéolaires. La BPCO est caractérisée par la diminution non complètement réversible des débits expiratoires [59]. Il s'agit principalement de la bronchite chronique et de l'emphysème. La BPCO atteint les adultes de plus de 40 ans et sa fréquence augmente avec l'âge. La BPCO est la cinquième cause de mortalité dans le monde. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) prévoit qu'en 2020, cette affection sera la troisième cause de mortalité par maladie dans le monde.

Fibrose pulmonaire

Le terme fibrose désigne les maladies où les tissus cicatriciels remplacent les tissus sains. La fibrose pulmonaire est une maladie chronique qui fait suite à une inflammation des poumons. Elle se caractérise par la formation de cicatrices fibreuses. La maladie connaît des formes bénignes et d'autres plus invalidantes. La fibrose interstitielle touche 5 millions de personnes dans le monde. Vingt milliers en meurent par an [21, 140].

Mucoviscidose

La mucoviscidose est une maladie génétique affectant de nombreux organes. Elle est liée à des mutations entraînant une altération de la protéine CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator), canal ionique dont la fonction est de réguler le transport du chlore à travers les membranes cellulaires. Son dysfonctionnement provoque une augmentation de la viscosité du mucus et son accumulation dans les voies respiratoires et digestives. La maladie touche de nombreux organes mais les atteintes respiratoires sont prédominantes et représentent l'essentiel de la morbidité. Dans la population caucasienne, la mucoviscidose est la plus fréquente des maladies génétiques héréditaires graves. Elle touche environ un enfant sur 2 500 naissances en Europe et en Amérique du Nord. La fréquence des hétérozygotes, porteurs sains de la maladie, y est d'environ 1/252, soit 4% de la population générale occidentale [94].

2.2.1.2 Médicaments administrés en aérosols

Les médicaments destinés au traitement local des poumons ont fait l'objet d'une description exhaustive dans les travaux de Vecellio *et al.* [159]. Nous résumons ici les rôle et indication des principaux agents thérapeutiques actuellement utilisés.

Bronchodilatateurs

Un bronchodilatateur est un médicament destiné à traiter ou à prévenir la bronchoconstriction. Les bronchodilatateurs augmentent le calibre des bronches en relâchant les fibres musculaires lisses bronchiques. Les β 2-adrénergiques et les anticholinergiques sont les deux classes de médicaments bronchodilatateurs utilisés en aérosol. Les deux principales indications sont l'asthme et la BPCO. L'administration par inhalation est préférée dans la très grande majorité des cas pour son effet ciblé et la minimisation des effets secondaires systémiques. En effet, une quantité très faible est absorbée à partir des voies aériennes et du tractus digestif, ce qui limite tous les effets systémiques généraux. La voie veineuse est utilisée en cas d'urgence lorsque les inhalations ne sont plus efficaces.

Corticoïdes

L'asthme étant reconnu comme une maladie inflammatoire, une large place a été faite aux corticoïdes, aussi bien dans le traitement des crises aiguës qu'en traitement de fond. Les corticoïdes inhalés présentent l'avantage d'agir spécifiquement sur l'inflammation bronchique. En dehors des asthmes légers, les corticoïdes administrés en aérosols-doseurs sont recommandés à tous les stades de l'asthme. Administrés en nébulisation, ils sont réservés au traitement de l'asthme sévère, uniquement chez l'enfant, en particulier le nourrisson incapable d'utiliser les autres modes d'administration par voie inhalée. Dans la BPCO, la corticothérapie inhalée a une place encore mal définie. Actuellement, il n'y a aucun argument pour la recommander systématiquement.

Antidégranulants

Le cromoglycate de sodium a été largement utilisé dans le traitement préventif de l'asthme, notamment chez les enfants et les jeunes adultes traités pour asthme allergique. Le cromoglycate de sodium est caractérisé par son excellente tolérance. Il se présente sous forme de capsules pour inhalation, de poudre pour aérosol et sous la forme de solution pour inhalation en nébulisation. Le nedocromil inhibe la libération ou la synthèse des médiateurs pro-inflammatoires. Il se présente sous la forme d'aérosol-doseurs. Ses indications sont les asthmes légers à modérés. Ce médicament ne remplace pas les corticoïdes inhalés dans le traitement de l'asthme mais il permet dans certains cas de mieux contrôler les symptômes. Ces produits, pour certain en arrêt de commercialisation, sont en pratique de plus en plus remplacés par les corticoïdes inhalés.

Anti-infectieux

La voie aérosol permet l'administration des antibiotiques directement au site de l'infection tout en limitant la toxicité systémique. Elle est principalement indiquée chez les patients atteints de mucoviscidose et chez les sujets porteurs de broncheectasies. Les antibiotiques utilisés sont les aminosides (principalement gentamicine, tobramycine et amikacine), la colistine, et les bêtalactamines. Dans le cas de la mucoviscidose, l'efficacité des aérosols d'antibiotiques est mesurée tant sur le plan de la diminution du nombre d'hospitalisations que sur celui de l'amélioration de la fonction respiratoire, dès lors qu'ils sont administrés en traitement d'entretien [159]. La pentamidine en aérosol constitue le traitement de deuxième ligne, en cas d'échec ou d'intolérance du traitement par triméthoprime-sulfaméthoxazole, pour la prévention primaire ou secondaire des pneumocystoses².

Mucolytiques

À ce jour, la désoxyribonucléase recombinante humaine (rhDNase) (Pulmozyme®, Roche, France) est le seul produit de cette catégorie qui dispose d'une autorisation de mise sur le marché (AMM) pour la nébulisation. Les autres composés tels que le MESNA³ ou l'acétylcystéine sont utilisés en instillation trachéale. L'acétylsystéine en aérosols fait l'objet d'une autorisation nationale en Suisse (Solmucol Aérosol®, IBSA, Suisse). La rhDNase est exclusivement indiquée chez les personnes atteintes de mucoviscidose. Elle améliore la fonction respiratoire et les symptômes dus à l'atteinte des voies aériennes tels que la dyspnée, la toux et la congestion. Les études menées ont permis de préciser l'influence de la fonction pulmonaire sur le dépôt de la rhDNase. Le dépôt pulmonaire des aérosols de rhDNase est inversement corrélé au volume expiratoire maximal seconde⁴ (VEMS).

2.2.2 Action systémique

L'utilisation des voies aériennes comme porte d'entrée vers la circulation systémique constitue une alternative de choix à l'administration de médicaments par voies orale ou intraveineuse. De nombreux projets sont en cours de développement, couvrant des domaines d'application très larges depuis le traitement de la douleur, du diabète, jusqu'au traitement de certains cancers.

2. La pneumocystose est une infection opportuniste due à un micro-organisme, *Pneumocystis jiroveci*. L'infestation est très courante dans la population générale, de l'ordre de 70%, mais ne conduit à une maladie pulmonaire que lorsque le taux de lymphocytes T CD4+ circulants est inférieur à 200/mm³. Les deux types de patients concernés sont les greffés sous immunosuppresseurs et les patients séropositifs VIH au stade SIDA.

3. MESNA est un acronyme pour 2-MercaptoEthane Sulfonate sodium(NA)

4. Volume d'air expiré en une seconde au cours d'une expiration forcée effectuée après une inspiration maximale.

2.2.2.1 Le poumon comme organe d'absorption

L'architecture du poumon repose sur des structures et des régions bien différenciées. En particulier, la région alvéolaire se distingue des voies aériennes supérieures comme étant une zone d'échanges optimale vers le compartiment sanguin. Disposant d'une surface totale supérieure à 100 m^2 contre quelques m^2 dans les régions convectives, d'un volume généralement compris entre 2,5 et 3 L contre 150 mL dans l'ensemble des générations de bronches, d'un épithélium dont l'épaisseur est réduite à $0,2\ \mu\text{m}$ contre 50 à $60\ \mu\text{m}$ en moyenne dans l'arbre trachéobronchique, elle offre des conditions relativement bien adaptées au transport de médicaments vers la circulation systémique.

Les aérosols bénéficient en outre des taux d'absorption les plus élevés derrière l'administration par voie intraveineuse [166], et leurs biodisponibilités⁵ sont sensiblement plus élevées que celles des médicaments empruntant la voie digestive. Cela s'explique tant par la faible activité métabolique régnant dans le poumon que par une quantité réduite de transporteurs exprimés en surface des membranes cellulaires, susceptibles d'expulser et d'éliminer les agents déposés [124]. Les voies d'absorption dans le poumon varient en fonction de la nature des médicaments mais aussi en fonction de leurs sites de dépôt. Elles incluent des mécanismes de transport actifs et passifs, comme les transports paracellulaire et trans-cellulaire, la formation de pores, le transport de vésicules, ou encore le drainage lymphatique [117, 86, 100, 118].

Types de médicaments

L'absorption systémique au moyen des thérapies inhalées touche une grande variété de molécules, notamment les peptides et les protéines [164]. L'épithélium alvéolaire est hautement perméable à l'eau, aux gaz et aux substances lipophiles, et de façon plus limitée vis-à-vis des composés hydrophiles [187]. Les molécules lipophiles (hydrophobes) traversent ainsi rapidement l'épithélium par diffusion passive alors que les molécules hydrophiles ne franchissent l'épithélium que par transport cellulaire actif (endocytose-exocytose). Par conséquent, les molécules lipophiles sont absorbées dans des intervalles de temps très courts [164], quelques secondes à quelques minutes, alors que les molécules hydrophiles ont des temps d'absorption sensiblement plus longs [166].

Obstacles au transport

Les cellules alvéolaires peuvent aussi représenter une barrière au transport de médicaments [193, 135]. Les alvéoles contiennent des macrophages qui éliminent les contaminants organiques et inorganiques ayant échappé au filtre des voies aériennes supérieures. Les macrophages peuvent éliminer les agents déposés en les transportant vers l'escalier

5. La biodisponibilité est la proportion d'une substance qui va effectivement agir dans l'organisme par rapport à la quantité absorbée.

muco-ciliaire, vers le circuit lymphatique, ou par dégradation enzymatique [161]. L'action de ces enzymes dépend de la nature des agents thérapeutiques, les petits peptides étant rapidement hydrolysés tandis que la majorité des autres molécules ne sont pas métabolisées. Pour comparaison néanmoins, les quantité et variété d'enzymes pouvant métaboliser les particules déposées sont significativement moins importantes dans le système pulmonaire que dans l'appareil digestif [220].

2.2.2.2 Les projets en développement

Les médicaments candidats aux thérapies inhalées sont nombreux et touchent une grande diversité d'applications (Tab. 2.1). Les peptides et protéines semblent de plus en plus efficaces [167, 213, 117, 86, 100, 118, 96, 158, 195, 169, 215, 75, 193, 187, 135, 161, 220, 182, 165] et bénéficient de biodisponibilités dépassant celles offertes par les administrations transdermique ou orale (absorption *via* l'appareil gastro-intestinal). Parmi les protéines en cours de développement, on trouve la calcitonine, l'hormone de croissance, les immunoglobulines ou encore les facteurs de croissance hématopoïétiques (G-CSF). Les avantages de la voie inhalée pour ces macromolécules ont récemment fait l'objet d'un important travail de synthèse [166, 164, 167, 49, 191, 199]. Les études réalisées montrent que leurs taux d'absorption sont intrinsèquement liés à leurs poids moléculaire [121, 167].

Pourtant, malgré le fort potentiel présenté par les thérapies inhalées, la progression des mises sur le marché a été fortement ralentie ces dernières années par certains résultats encore mal compris : clairance rapide, problèmes d'instabilité [24], risques immunogènes [24], toxicité à long terme, problèmes de dosages [49]. À titre d'exemple, la mise sur le marché en 2006 de l'insuline inhalée (Exubera®) par les laboratoires Pfizer fut rapidement suivie par son retrait en 2007. Quelques 6 cas de cancer ont été recensés sur les 4740 patients qui ont utilisé Exubera en phase d'essai clinique, contre 1 seul cas pour les 4292 patients ayant utilisé un placebo. Si les risques de déclaration du cancer sont encore difficiles à établir, des problèmes de dosage, de maîtrise de la rapidité d'action de l'insuline et le mode d'utilisation compliqué des générateurs d'aérosols ont entraîné le retrait de ce médicament en thérapies inhalées. En 2011 toutefois, la compagnie irlandaise Aerogen annonce un partenariat avec la compagnie californienne Dance Pharmaceuticals pour le développement d'une nouvelle génération d'insuline inhalée [42].

2.2.3 Générateurs d'aérosols

Aérosols-doseurs avec gaz propulseur

Les aérosols-doseurs fonctionnent sur le principe de l'atomisation. Le médicament est contenu dans un flacon avec un gaz propulseur. Un système de valve doseuse se remplit

Médicaments	Indication	Phase clinique
<i>Petites molécules</i>		
Additifs à base d'acide nitrique	Hypertension pulmonaire	Phase II
Amikacine	Pneumonie	Phase II
Amphotéricine	Infection pulmonaire fongique	Phase III
Apomorphine	Dysfonction érectile	Phase IIa
Epinéphrine	Anaphylaxie	Phase I
Fentanyl	Traitement de la douleur	Phase IIb
Iloprost	Transplantation cardiaque	Phase III
Nitroglycérine	Hypertension pulmonaire	Phase II
Prochlorpérazine	Migraine	Phase II
Ribavirine	Infection virale	Autorisé*
Sumatriptan	Migraine	Préclinique
THC (Dronabinol)	Sclérose en plaques, migraine, cancer, VIH	Phase II
Treprostnil	Hypertension pulmonaire	Phase II
<i>Protéines et peptides</i>		
Analogues à LH-RH	Endométriose, cancer de la prostate	Préclinique
Calcitonine	Ostéoporose	Préclinique
Cetrorelix	LH-RH antagoniste	Préclinique
Cyclosporine	Immunosuppresseur	Phase 0
Érythropoïétine	Anémie	Préclinique
Facteur de coagulation	Hémophilie	Préclinique
Héparine	Prévention de la thrombose	Préclinique
Hormone de stimulation folliculaire	Traitement de la fertilité	Préclinique
Hormone parathyroïde	Ostéoporose	Préclinique
Immunoglobulines	Modulation de la réponse immunitaire	Préclinique
Immunomodulateur (Sargramostim)	Cancer métastatique, Sarcome	Phase II
Insuline	Diabète	Autorisé**
Interféron-bêta	Sclérose en plaques	Préclinique
Analogues au Glucagon (GLP-1)	Diabète	Phase I

*Seulement pour les jeunes enfants souffrant d'un virus respiratoire syncytial

**Ce médicament a été retiré du marché en 2007. De nouveaux développements sont en cours pour une mise sur le marché prochaine [42].

TABLE 2.1 : Exemples de médicaments en cours de développement en 2007 pour administration en thérapies inhalées. Extrait de [46].

de médicament et le déclenchement de la valve permet au gaz contenu dans le flacon de propulser le médicament sous forme de gouttelettes. L'avantage des aérosol-doseurs réside dans le fait que la totalité de la dose contenue dans la valve doseuse est disponible pour le patient. Cette dose sous forme de gouttelettes arrivant très rapidement dans la bouche du patient ($30 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$) est majoritairement constituée de grosses particules supérieures à $10 \mu\text{m}$. Une grande partie de l'aérosol est arrêtée par impaction dans les voies aériennes supérieures. La bonne utilisation des aérosols-doseurs permet néanmoins d'optimiser la pénétration de l'aérosol dans l'arbre bronchique.

Inhalateurs de poudre

Le médicament sous forme de poudre est contenu dans des gélules ou dans un réservoir. Après armement de l'inhalateur, le médicament est aspiré par le flux d'air induit par l'inspiration du patient. Pour obtenir une bonne efficacité du système, des débits inspiratoires de pointe compris entre $30 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ et $120 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ sont nécessaires. Cette forte inspiration a pour effet de désagréger la poudre et de lui assurer une bonne dispersion. Dans certains cas, ces systèmes disposent d'une fonction de sélection de particules, assurant aux patients l'inhalation des particules les plus fines. Ces systèmes génèrent des aérosols variables en fonction des débits inspiratoires. Du fait des variations des débits de pointe des patients, les quantités d'aérosol et les tailles des particules inhalées sont moins constantes qu'avec un aérosol à gaz propulseur.

Nébuliseurs pneumatiques

Les nébuliseurs pneumatiques fonctionnent au moyen d'une source d'air comprimé, le plus généralement issu d'un compresseur ou d'une prise d'air murale. L'air introduit dans le nébuliseur atomise la solution médicamenteuse contenue dans le réservoir du nébuliseur, et les gouttelettes générées sont éclatées sur un déflecteur, puis sélectionnées. Les plus grosses sont arrêtées par impaction sur les parois pour être recyclées sous forme de solution, et les plus petites sont administrées au patient. Le débit d'air introduit dans le nébuliseur détermine le diamètre aérodynamique médian en masse (MMAD) de l'aérosol et la quantité d'aérosol générée. Il est donc essentiel d'utiliser le bon débit d'air avec le bon nébuliseur. Un compresseur non adapté peut augmenter ou diminuer le MMAD de l'aérosol d'un facteur 2, modifiant ainsi la distribution spatiale de dépôt de l'aérosol dans les voies aériennes. Les nébuliseurs pneumatiques sont adaptés pour nébuliser toutes sortes de médicaments (solutions, suspensions, huiles) en grande quantité. Leurs principaux inconvénients sont liés au temps de nébulisation, au bruit qu'ils peuvent générer lorsqu'ils sont en fonctionnement, et à l'encombrement que représentent certains compresseurs.

Nébuliseurs ultrasoniques

Le principe de fonctionnement des nébuliseurs ultrasoniques repose sur la vibration à haute fréquence d'un cristal piézoélectrique. Le médicament, dilué en solution aqueuse, est contenu dans un réservoir. La vibration du cristal, de l'ordre du mégahertz, crée un phénomène de cavitation qui induit la génération de gouttelettes à partir de la solution médicamenteuse. L'aérosol est ensuite administré au patient par une ventilation continue, ou stocké dans la chambre du nébuliseur avant d'être inhalé. Deux sortes de nébuliseurs ultrasoniques sont commercialisées, avec et sans interface d'eau. Les nébuliseurs sans interface d'eau présentent l'inconvénient d'être difficiles d'entretien et de chauffer, ce qui peut poser problème pour des médicaments thermosensibles. Les nébuliseurs à interface d'eau comportent des réservoirs jetables qui garantissent une bonne hygiène de l'aérosolthérapie. L'eau située entre le cristal et le médicament limite par ailleurs la hausse de température. La variation de la fréquence de vibration influe directement sur la taille des particules. Les nébuliseurs ultrasoniques sont silencieux et capables d'aérosoliser rapidement de grandes quantités de médicament. Ils ne nébulisent pas les huiles et les suspensions. Leurs principaux inconvénients sont liés à l'encombrement de certains modèles, à une relative fragilité et aux élévations de température constatées en particulier pour les nébuliseurs sans interface d'eau.

2.3 Mécanismes et évaluation du dépôt d'aérosols

2.3.1 Mécanismes du dépôt d'aérosols

Le dépôt des aérosols dans les voies pulmonaires intervient selon 3 principaux mécanismes [141] :

- impaction inertielle,
- sédimentation,
- diffusion brownienne.

Impaction inertielle

À l'approche d'un obstacle, d'une courbe ou encore d'une constriction, les forces d'inertie subies par une particule en mouvement dans un fluide peuvent lui faire quitter les lignes de courant de l'écoulement et frapper la surface placée dans sa trajectoire (Fig. 2.3.1). Ce phénomène d'impaction est prépondérant dans les voies extrathoraciques ainsi que dans les premières générations de l'arbre bronchique.

La probabilité d'impaction dépend principalement de la vitesse du fluide et de la masse de la particule. Le nombre de Stokes (Stk), nombre sans dimension (Eq. 2.3.1), peut être utilisé pour déterminer le comportement d'une particule dans un fluide face à un obstacle. Il représente le rapport entre l'énergie cinétique de la particule et l'énergie dissipée par

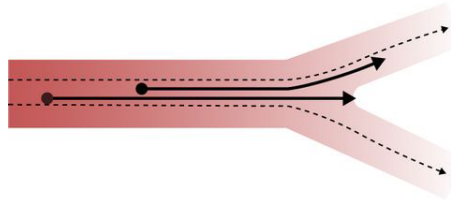


FIGURE 2.3.1 : Dépôt par impaction inertielle à un embranchement bronchique.

frottement avec le fluide et permet notamment de déterminer si la particule va contourner l'obstacle en suivant le mouvement du fluide ou si elle va percuter l'obstacle.

On définit le nombre de Stokes de la manière suivante :

$$Stk = \frac{\rho_g d_p^2 v}{18\mu_g L}, \quad (2.3.1)$$

avec :

ρ_g : masse volumique du fluide

d_p : taille de la particule

v : vitesse du fluide

μ_g : viscosité dynamique du fluide

L : longueur caractéristique

Sédimentation

La vitesse des particules en mouvement dans l'arbre bronchique décroît de façon importante de génération en génération. Le débit du fluide étant constant, cette réduction de la vitesse des particules est la conséquence de l'augmentation de la section transverse totale lors de leur progression vers la région distale. L'attraction gravitationnelle et la résistance de l'air finissent par annuler la flottabilité des particules (leur tendance à demeurer en suspension dans l'air) jusqu'à entraîner leur dépôt (Fig. 2.3.2). Ce phénomène est prépondérant depuis les générations intermédiaires jusqu'aux dernières générations de bronche et touche essentiellement les particules dont le diamètre aérodynamique est supérieur à $0,5 \mu\text{m}$.

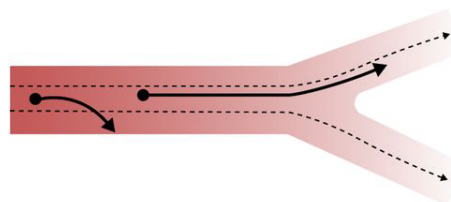


FIGURE 2.3.2 : Dépôt par sédimentation le long des parois des voies aériennes.

Diffusion brownienne

Le phénomène de diffusion brownienne traduit le déplacement aléatoire de petites particules (généralement $\leq 0,5\mu\text{m}$) constamment soumises à des chocs avec les molécules du fluide environnant (Fig. 2.3.3). Einstein a formalisé la diffusion brownienne en déterminant la moyenne quadratique du déplacement total de ces particules $\langle X_{diff}^2 \rangle$ en fonction du temps t :

$$\langle X_{diff}^2(t) \rangle = 2dD_g t, \quad (2.3.2)$$

avec :

d : dimension du mouvement,

D_g : coefficient de diffusion des particules.

Le coefficient de diffusion des particules dans un gaz est donné par :

$$D_g = \frac{k_B T}{3\pi\mu_g d_p} \quad (2.3.3)$$

avec :

k_B : constante de Boltzmann ($k_B = 1,38 \times 10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$)

T : température

μ_g : viscosité dynamique.

Dans l'air, pour des petites particules ($d_p = 1\mu\text{m}$), à la température corporelle ($T = 310\text{ K}$), et pour une durée courte d'inhalation ($t = 2\text{ s}$), on calcule $D_g = 2,5 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ et la distance totale parcourue due à la diffusion $X_{diff} \approx 1,2 \times 10^{-5} \text{ m}$. La diffusion devient le mécanisme prédominant du dépôt d'aérosols dans les générations de bronches les plus profondes et dans les alvéoles.

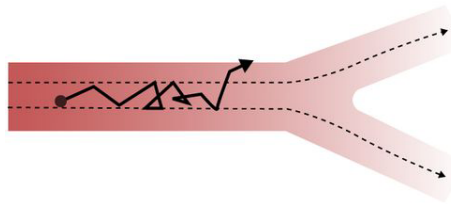


FIGURE 2.3.3 : Dépôt par diffusion.

2.3.2 Évaluation du dépôt pulmonaire

L'efficacité d'un aérosol thérapeutique est hautement liée au contrôle de son dépôt dans une région choisie du poumon. Pour le développement d'un aérosol donné, l'évaluation du dépôt pulmonaire est donc incontournable et fait l'objet d'approches diverses.

L'évaluation de la taille des particules et de la fraction respirable répondent aux critères des autorités de santé et permettent une première estimation de la répartition du dépôt dans l'arbre pulmonaire.

La pharmacocinétique et le lavage bronchoalvéolaire permettent la quantification des éléments chimiques déposés dans le poumon ainsi que de ceux entrés dans le compartiment systémique.

Les techniques d'imagerie viennent compléter les approches précédentes en fournissant une information à la fois quantitative et spatiale de la répartition du dépôt.

2.3.2.1 Évaluation de la taille des particules et de la fraction respirable

La taille des particules émises par un dispositif d'inhalation est évaluée selon des techniques et des critères de qualités définis par la Pharmacopée Européenne et selon les recommandations de l'Agence Européenne du Médicament (EMA) [44] ou de la Food and Drug Administration (FDA) [29]. Ces techniques permettent de mesurer de façon standardisée la dose délivrée, la fraction respirable, le diamètre aérodynamique médian en masse (MMAD) et l'écart type géométrique (GSD). La fraction respirable correspond à des tailles de particules inférieures à $5\ \mu\text{m}$, les particules de taille supérieure se déposant en majorité par impaction dans l'oropharynx.

L'une de ces techniques est basée sur le fractionnement et la collecte des particules sur des impacteurs à multi-étages (Fig. 2.3.4) permettant une modélisation approximative de l'arbre bronchique. Le principe de fonctionnement de ces impacteurs est de faire passer un flux d'air véhiculant le nuage de particules émis par le dispositif d'inhalation au travers de tamis superposés (plateaux d'impaction). Ceux-ci sont constitués de plaques percées d'orifices de diamètres décroissants à chaque étage de l'impacteur. Ces impacteurs permettent un échantillonnage sélectif selon la taille et la densité des particules aérosolisées. L'évaluation du dépôt pulmonaire sur ces impacteurs a pour objectif essentiel de répondre aux exigences réglementaires des autorités de santé mais ne représentent qu'une estimation, le plus souvent une surestimation, du dépôt pulmonaire [18, 156].

Une autre approche expérimentale consiste à mesurer la taille des particules par diffraction laser. Lorsqu'un faisceau laser éclaire une particule, celle-ci diffracte la lumière et les franges de diffraction résultantes peuvent être mesurées. La taille des particules influence directement sur l'intensité du rayonnement diffracté et sur l'angle de diffraction. Plus une particule est petite et plus l'angle de diffraction est important. La diffraction laser permet la mesure de tailles de particules comprises entre $0,05$ et $900\ \mu\text{m}$, ce qui la rend particulièrement adaptée à la caractérisation des aérosols.

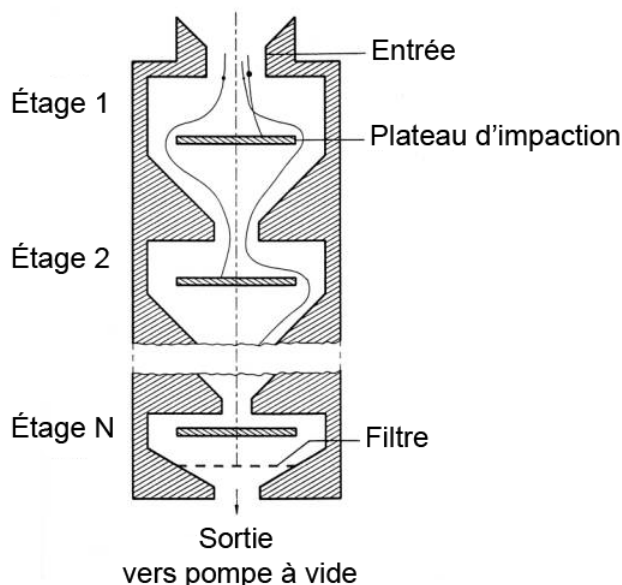


FIGURE 2.3.4 : Schéma de principe d'un impacteur multi-étages.

2.3.2.2 Pharmacocinétique et prélèvement bronchoalvéolaire

Pharmacocinétique

La pharmacocinétique appliquée à l'estimation du dépôt pulmonaire détermine la quantité totale de médicament atteignant la circulation systémique [93, 62]. Elle repose sur l'analyse de prélèvements sanguin ou urinaire au moyen de méthodes sensibles et spécifiques (notamment la spectrométrie de masse) indispensables à la détection des faibles concentrations circulantes des médicaments inhalés.

Toutefois, l'analyse pharmacocinétique n'est le reflet du dépôt pulmonaire que si les concentrations sanguines mesurées sont issues du transfert des médicaments au travers du poumon. Un médicament inhalé est absorbé au niveau du tractus respiratoire mais il peut l'être également par le tractus digestif après déglutition de la fraction déposée dans l'oropharynx, ou drainage par la clairance muco-ciliaire bronchique. Pour remédier à ce biais, l'absorption intestinale peut être bloquée par l'administration préalable de charbon activé [204]. Dans le cas de certains médicaments, l'absorption systémique est beaucoup plus rapide par la voie pulmonaire que par la voie digestive [76], et dès lors, une mesure effectuée dans la première demi-heure suivant le début de l'inhalation suffit à considérer que cette mesure est directement proportionnelle à l'absorption au niveau des voies aériennes [111, 131, 201, 200].

Il est important de noter que l'analyse pharmacocinétique évalue la fraction du médicament effectivement transportée dans le compartiment sanguin et non la fraction

déposée après inhalation, information qui peut être obtenue grâce aux méthodes d'imagerie disponibles en médecine nucléaire [19]. Les écarts mesurés, de l'ordre de 20% en général, peuvent atteindre des proportions encore plus importantes [19].

Aussi, malgré la haute sensibilité des techniques de mesure, les études menées recourent parfois à des doses supérieures aux doses recommandées pour assurer l'obtention de profils pharmacocinétiques de qualité [63].

Prélèvement bronchoalvéolaire

Les aérosols destinés à une action locale peuvent faire l'objet de mesures au sein même de l'environnement pulmonaire, complétées ensuite par une mesure de la concentration plasmatique.

La quantification du dépôt pulmonaire est alors effectuée par lavage bronchoalvéolaire (BAL). Celui-ci est réalisé sous anesthésie locale, par l'introduction d'un bronchoscope dans le lobe moyen droit ou dans le lobe supérieur gauche des volontaires. Une solution saline est déposée dans la génération de bronche la plus lointaine et possiblement accessible, puis recollectée [130] dans le but de l'analyser. Cette technique permet d'extraire les cellules, les protéines solubles, les lipides et autres composés chimiques constituant l'épithélium pulmonaire.

2.3.2.3 Imagerie du dépôt d'aérosols

Les techniques d'imagerie sont les seuls outils capables de donner une représentation spatiale et quantitative de la distribution du dépôt de médicaments dans les voies aériennes. Les méthodes de détection en médecine nucléaire font actuellement office de référence.

Méthodes de détection en médecine nucléaire

Scintigraphie planaire

La scintigraphie planaire est la méthode d'imagerie la plus largement répandue pour l'évaluation des thérapies inhalées [149, 157]. Les préparations thérapeutiques sont marquées avec un radioisotope, généralement le ^{99m}Tc , puis administrées en inhalation chez un volontaire. Les désintégrations successives du radioisotope entraînent l'émission de rayonnements γ détectés au moyen d'une gamma caméra. Celle-ci dispose de collimateurs sélectionnant les photons γ frappant ses détecteurs orthogonalement à leur surface. Connaissant la position d'impact des photons γ sur les détecteurs, il est possible de reconstruire une image de projection en 2 dimensions de la distribution de la radioactivité dans le thorax du volontaire imagé (Fig. 2.3.5). Des facteurs de correction sont appliqués à la quantité de rayonnement mesurée en fonction des données de calibration de la caméra, du temps d'acquisition et de l'atténuation par les tissus biologiques [175].

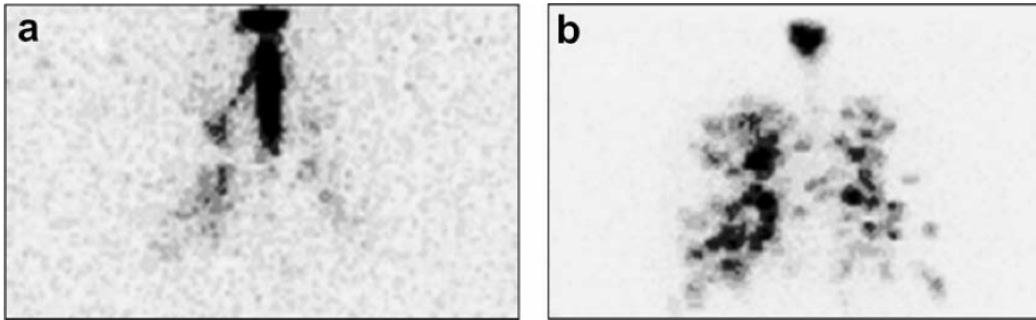


FIGURE 2.3.5 : Imagerie scintigraphique planaire réalisée après administration de salbutamol, un bronchodilatateur, pour deux distributions de taille de particules différentes : a. Distribution de taille des particules comprises entre 5 et 15 μm . b. Distribution de taille des particules comprises entre 30 et 90nm. Extrait de [12].

Dans la majorité des cas, le radioisotope n'est pas fixé au principe actif mais incorporé dans la préparation thérapeutique [203, 190]. Dans le cas d'une préparation pour nébulisation, une faible quantité de radioélément est mélangée à la solution à nébuliser [192, 38]. Dans le cas des poudres (MDI, DPI), le marquage est réalisé par adsorption du radioélément à la surface des particules [155]. Il faut s'assurer alors que le radiomarquage est homogène et qu'il ne modifie pas la distribution de taille des particules.

Les images sont analysées en définissant des régions d'intérêt comme correspondant aux régions trachéobronchique et alvéolaire. Le choix du nombre [66, 173, 65, 209, 3], de la taille et de la forme de ces régions d'intérêt n'est pas standardisée et peut varier de façon importante [3], rendant les comparaisons difficiles entre les différentes études menées.

Le principal inconvénient de cette technique réside dans le caractère bidimensionnel des images, rendant difficile la discrimination spatiale du dépôt. Les contours du poumon sont parfois difficiles à délimiter et le niveau de détails des images est restreint par la faible résolution spatiale dans le plan, autour de 10-15 mm [190]. La nature ionisante de cette méthode d'imagerie doit également être prise en considération.

Tomographie d'émission monophotonique (TEMP)

La tomographie d'émission monophotonique (communément appelée SPECT, Single Photon Emission Computed Tomography) repose également sur la détection du rayonnement γ émis par un radioisotope. En revanche, la gamma camera tourne autour du patient durant l'acquisition et permet, après reconstruction au moyen d'algorithmes de rétroprojection, d'obtenir une représentation tridimensionnelle du dépôt d'aérosols dans les voies aériennes (Fig. 2.3.7).

Comparée à la scintigraphie, la SPECT permet une visualisation qualitativement plus

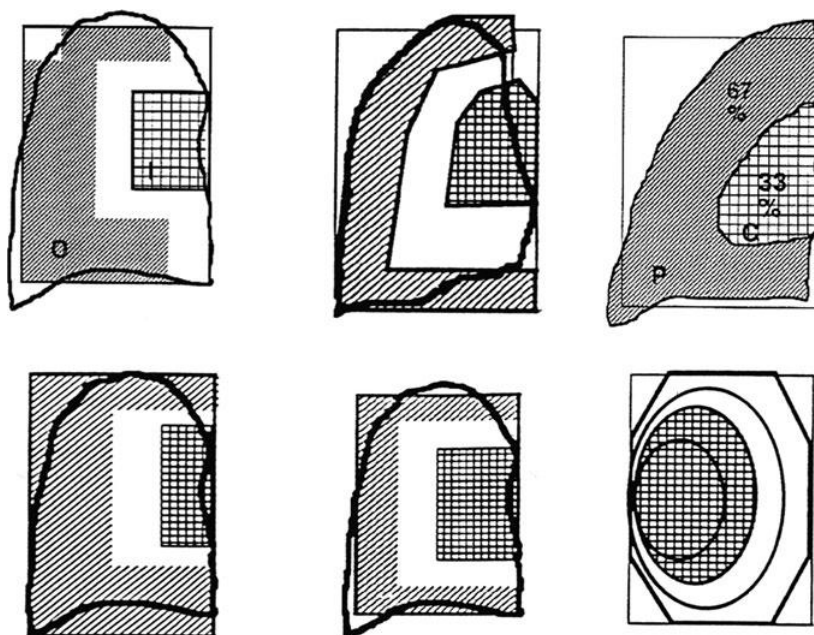


FIGURE 2.3.6 : Exemples tirés de la littérature représentant différentes stratégies de détermination des régions d'intérêt pour la quantification du dépôt d'aérosols dans les poumons. Adapté de [3].

grande de la distribution du dépôt d'aérosols, autorisant l'analyse de volumes d'intérêt dans toutes les directions de l'espace [83]. La résolution spatiale est équivalente à celle de la scintigraphie, autour de 5-15 mm. La SPECT, lorsqu'elle est couplée à un scanner X (CT, Computed Tomography) bénéficie d'une identification optimale des structures anatomiques, notamment des contours des poumons et des voies aériennes extrathoraciques.

Les données acquises en SPECT couplées à l'utilisation de modèles morphométriques des voies aériennes ont permis de calculer une estimation du dépôt par génération de bronche [83, 82, 174]. Ce type de calcul tente de pallier la faible résolution spatiale de la méthode mais reste encore difficile à valider. Il nécessite par ailleurs une inversion du problème difficile à implémenter pour définir, pour chaque génération de bronche, la répartition du dépôt surfacique en fonction d'une quantité d'activité connue [85, 84].

Cette méthode offre la possibilité d'une meilleure discrimination régionale du dépôt d'aérosols [171] mais souffre pourtant d'un certain nombre de limitations [30]. Elle demande en particulier des temps d'acquisition plus longs (15-30 min) pendant lesquels la distribution du radioaérosol dans le poumon est susceptible de varier, du fait de la clairance muco-ciliaire où de son passage dans la circulation systémique. Ce temps d'acquisition peut être réduit en utilisant des équipements disposant de 2 ou 3 têtes de détection. Cette technique d'imagerie nécessite des quantités de radioéléments plus élevées que pour une scintigraphie conventionnelle et peut être couplée à une imagerie

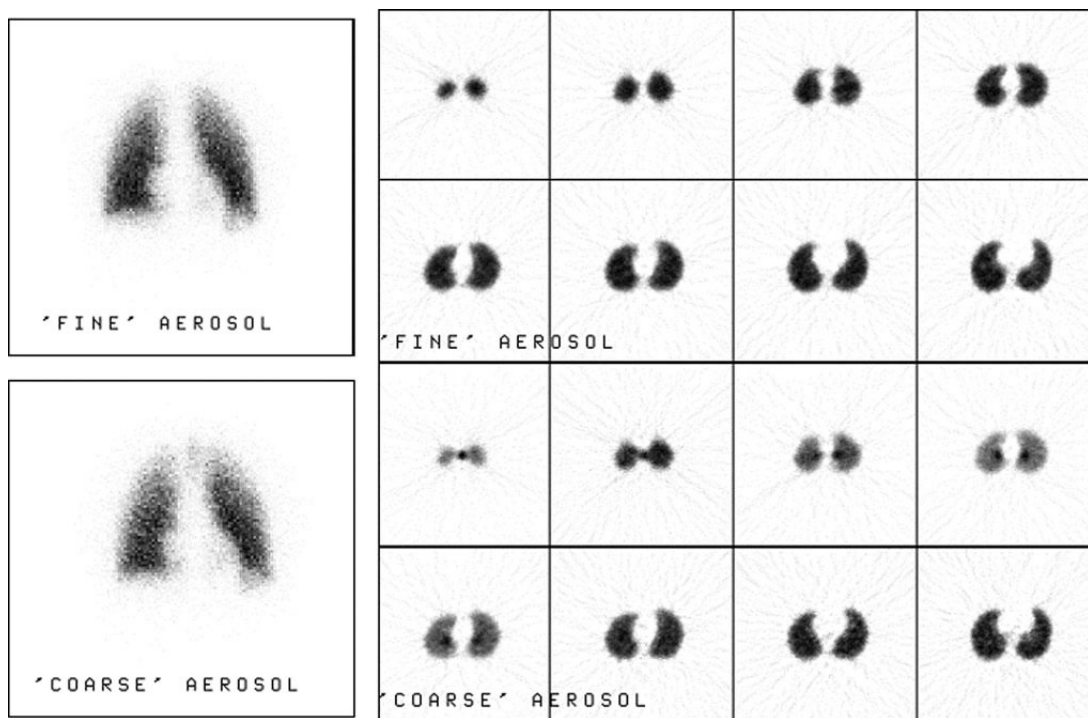


FIGURE 2.3.7 : Images SPECT du dépôt d'aérosols pour des particules de granulométries différentes, « fine » ($MMAD \leq 2,5 \mu m$) et « coarse » ($2,5 \mu m \leq MMAD \leq 10 \mu m$). L'information en 3 dimensions (à droite, représentation en coupes transverses) permet de distinguer des différences difficilement visibles sur une image en projection (à gauche), notamment entre les premières générations de bronches et la région distale du poumon. Extrait de [190].

CT, également source de rayonnements ionisants, ce qui peut être limitant sur le plans éthique et règlementaire, surtout lors d'études menées chez l'enfant [78].

Tomographie par émission de positons (TEP)

L'imagerie tomographique par émission de positons (TEP) requiert le marquage des préparations thérapeutiques au moyen de radioisotopes émetteurs β^+ (positons) avant d'être administrées par inhalation. Les positons émis s'annihilent avec les électrons rencontrés sur leur passage et libèrent simultanément 2 photons γ de haute énergie (511 keV) séparés d'un angle de 180° . La caméra TEP dispose d'une couronne de détecteurs mesurant les paires de photons émises dans des fenêtres de coïncidence spatiale et temporelle, autorisant ainsi le traitement tomographique des données. L'utilisation d'algorithmes de reconstruction permet la représentation en trois dimensions de la distribution d'activité chez le volontaire imagé (Fig. 2.3.8).

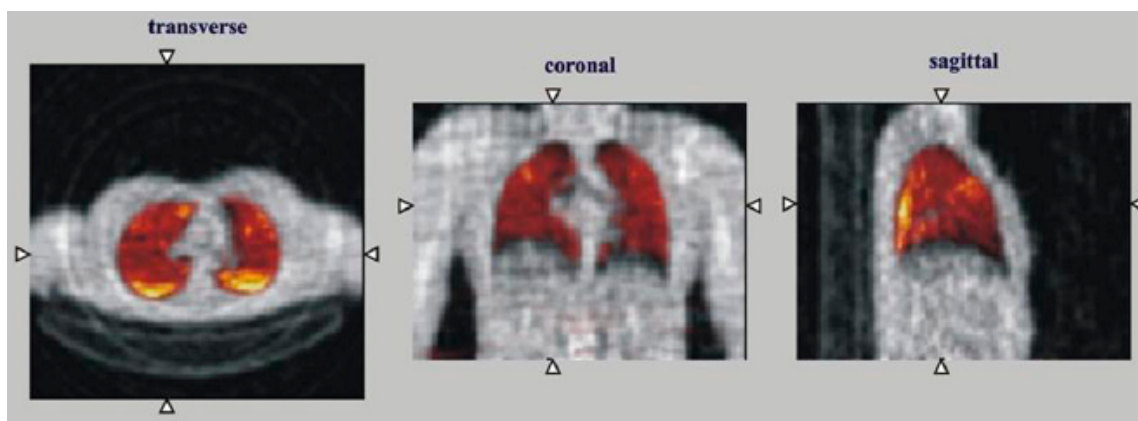


FIGURE 2.3.8 : Examen TEP réalisé chez un patient asthmatique après inhalation d'un aérosol de ^{18}F -FDG. MMAD = $1,5 \mu\text{m}$. Coupes axiale (gauche), frontale (centre) et sagittale (droite) de 6 mm d'épaisseur. Extrait de [67].

La TEP réalise l'imagerie d'isotopes organiques parmi les plus fondamentaux, tels que le carbone (^{11}C), l'oxygène (^{15}O) ou encore le fluor (^{18}F). Ces atomes peuvent être directement substitués à ceux composant les molécules d'intérêt thérapeutique [126, 128], garantissant un marquage idéal et autorisant un suivi fonctionnel. En effet, ce type de marquage autorise l'évaluation de la biodistribution ou encore la mise en place *in vivo* d'études pharmacocinétiques. Toutefois, la gamme de radioéléments disponibles est limitée et les conditions d'imagerie ne sont pas toujours pratiques, ceux-ci disposant de demi-vie très différentes, variant de quelques minutes (2 min pour ^{15}O , 20 min pour le ^{11}C) à quelques heures (environ 2 h pour le ^{18}F). L'imagerie du ^{18}F -FDG (^{18}F -Fluorodeoxyglucose), sans marquage d'une molécule thérapeutique particulière, est uti-

lisée pour déterminer la distribution des aérosols pulmonaires selon différentes gammes de tailles de particules [162].

Cette méthode, comme la SPECT, autorise une discrimination régionale en 3 dimensions du dépôt d'aérosols [67]. La résolution spatiale est sensiblement meilleure que celle obtenue en SPECT et en scintigraphie, entre 4 et 6 mm, pour des temps d'acquisition compris entre 10 et 20 min selon les caractéristiques des imageurs [67].

Du point de vue logistique, la mise en place des examens TEP est lourde et coûteuse. Les services hospitaliers de tomographie par émission de positons sont souvent monopolisés par leur activité clinique [190]. Les sites de production des radionucléides, au moyen de cyclotrons, sont des entités complexes qui doivent être situées à proximité géographique des lieux d'examen. La radiochimie du marquage des molécules thérapeutiques pour la TEP est une discipline spécifique qui requiert un personnel qualifié.

2.3.2.4 Conclusion

Les voies aériennes humaines ne constituent plus uniquement une destination de traitement mais véritablement un moyen de transport du médicament vers la circulation systémique [164, 46]. Si la perspective du choix entre administration locale et administration systémique des médicaments fait l'objet de nombreux développements [167, 213, 117, 86, 100, 118, 96, 158, 195, 169, 215, 75, 193, 187, 135, 161, 220, 182, 165], elle pose surtout la question de la maîtrise des sites de distribution des aérosols. Une meilleure compréhension et, par conséquent, une meilleure maîtrise du ciblage du dépôt demandent de disposer d'outils d'évaluation adaptés à cette problématique, capables d'apporter une information quantitative et régionale sur le dépôt pulmonaire.

La pharmacocinétique renseigne sur la fraction totale de médicament entrée dans le compartiment systémique mais ne donne pas d'indication sur la fraction déposée dans le poumon [19]. Par ailleurs cette approche ne donne aucune information quant à la répartition régionale du dépôt d'aérosols.

La caractérisation des aérosols donne une mesure de la distribution de taille des particules à partir de laquelle on estime la répartition du dépôt pulmonaire (région extrathoracique, trachéobronchique, alvéolaire). Pour un type d'aérosol et un protocole d'inhalation donnés, cette approche répond aux critères de qualité définis par les autorités de santé mais ne constitue pas une mesure régionale et quantitative fiable du dépôt pulmonaire [18, 156].

L'imagerie du dépôt d'aérosols permet d'obtenir une information à la fois régionale et quantitative. Les techniques de référence utilisent les méthodes de détection de la médecine nucléaire (Scintigraphie, SPECT, TEP) pour leur sensibilité et leur spécificité. Ces techniques font cependant l'objet d'un certain nombre de limitations, induites notamment par l'exposition des patients à des rayonnements ionisants, par le manque de standardisation des pratiques d'évaluation du dépôt [66, 173, 65, 209, 3] ou encore

par l'influence du radiomarquage sur les propriétés physiques des aérosols inhalés [17]. À cela s'ajoute des temps d'acquisition généralement longs (entre 5 et 30 min selon les techniques) et une résolution spatiale limitée (de 5 à 15 mm) qui restreignent les possibilités d'utilisation et d'interprétation des images réalisées.

L'émergence de nouvelles techniques contribuent à faire tomber ces limitations. L'imagerie par résonance magnétique (IRM) associée à l'utilisation de nanoparticules d'oxyde de fer ouvre de nouvelles perspectives dans l'investigation du dépôt pulmonaire [139, 218]. La résonance magnétique nucléaire appliquée à l'imagerie de l'hélium-3 hyperpolarisé établit également de nouveaux standards dans l'exploration du poumon sain ou malade [6, 148, 1]. Cette technique fournit des images en trois dimensions de la ventilation des poumons [48], des images dynamiques de la fonction respiratoire [115, 194], mais également des images paramétriques sur les temps de décroissance du signal [72] ou sur la diffusion du gaz [144, 168, 151], permettant ainsi de sonder la structure et la fonction du poumon. L'imagerie par résonance magnétique de l'hélium-3 hyperpolarisé rivalise avec les outils de visualisation actuels en autorisant à la fois une résolution spatiale voisine de celle de la scanographie par rayons X (de l'ordre du millimètre), supérieure à celle des techniques de médecine nucléaire, et une résolution temporelle supérieure à l'ensemble de ces techniques d'imagerie. Ce travail de thèse s'est porté sur le développement de l'imagerie de l'hélium-3 pour la cartographie et la quantification du dépôt d'aérosols dans les voies aériennes.

Mesure du dépôt d'aérosols par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé

Chapitre 3

Résonance magnétique de l'hélium-3 hyperpolarisé

La compréhension des mécanismes du dépôt pulmonaire constitue un enjeu majeur de la science des aérosols, depuis les problématiques environnementales jusqu'à la démocratisation des thérapies inhalées pour des applications de plus en plus innovantes (administration systémique). Ce travail de thèse s'est porté sur le développement de l'IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé pour l'évaluation du dépôt d'aérosols dans les voies aériennes. Le présent chapitre décrit les fondements théoriques et pratiques de la technique.

3.1 Bases physiques de l'IRM

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) repose sur le phénomène de résonance magnétique nucléaire (RMN) décrit en 1946 par Bloch [15] et Purcell [177]. Ce phénomène est principalement exploité comme outil d'étude spectroscopique de la matière (spectroscopie RMN) dans des disciplines aussi diverses que la physique, la chimie (chimie organique, chimie inorganique, science des matériaux) ou encore la biochimie (structures moléculaires). Il permet l'observation des propriétés quantiques magnétiques des noyaux atomiques dans les phases gaz, liquide ou solide.

La première image, en deux dimensions, fut réalisée en 1973 grâce à l'introduction du codage spatial au moyen d'un gradient de champ magnétique (gradient de lecture), en s'inspirant des méthodes de reconstruction d'images utilisées en tomodensitométrie [125]. L'introduction de gradients de champ magnétique supplémentaires dans les autres dimensions de l'espace instituèrent par la suite les fondements de cette technique d'imagerie. Le codage de phase [122] et la sélection de coupe [138] permirent en effet la

réalisation d'images en trois dimensions et introduisirent également l'utilisation de la transformée de Fourier (TF) pour l'analyse du codage du signal [122].

Cette technique d'imagerie est aujourd'hui largement répandue en routine clinique et en recherche biomédicale. Elle permet l'obtention d'images hautement résolues dans les domaines spatial et temporel, autorisant l'investigation de l'anatomie et de la fonction des organes sains ou malades. Les développements et les performances de l'IRM ne cessent de progresser et permettent l'exploration de thématiques de plus en plus diversifiées, comme l'analyse de l'activité cérébrale (IRM fonctionnelle), le suivi des fibres composant la substance blanche cérébrale (IRM de diffusion), l'étude des flux (imagerie en contraste de phase), l'étude de la dynamique pulmonaire (IRM des gaz hyperpolarisés), jusqu'à l'exploration de la matière à l'échelle nanométrique (microscopie à force de résonance magnétique) [57].

3.1.1 La résonance magnétique nucléaire

La mesure du signal RMN repose sur l'aimantation d'une population de noyaux atomiques. Lorsqu'ils sont soumis à un rayonnement électromagnétique, les noyaux peuvent absorber l'énergie du rayonnement, puis la retransmettre lors de mécanismes de relaxation (longitudinale, transversale). L'énergie mise en jeu lors de ce phénomène correspond à une fréquence très précise, la fréquence de résonance (fréquence de Larmor), dépendant du rapport gyromagnétique du noyau et du champ magnétique.

3.1.1.1 Aimantation à l'équilibre

Un noyau atomique est caractérisé en particulier par son moment cinétique de spin \vec{I} auquel est associé le moment magnétique $\mu = \gamma \vec{I}$ (γ est le rapport gyromagnétique du noyau) [25]. Pour un spin demi-entier, tels que le possèdent les noyaux de l'hydrogène et de l'hélium-3, le nombre quantique de spin I_z ne prend que deux valeurs demi-entières : $\pm I_z \hbar$ (avec $\hbar = h/2\pi$, et $h \simeq 6,62 \cdot 10^{-34}$ J·s, constante de Planck). L'application d'un champ magnétique d'amplitude B_0 lève la dégénérescence entre les deux états quantiques de spin. Ils sont alors distants en énergie de $\Delta E = hf_0$, où f_0 est la fréquence de transition ou encore la fréquence de résonance :

$$f_0 = -\frac{\gamma}{2\pi} B_0 \quad (3.1.1)$$

On parle également de pulsation de Larmor $\omega_0 = 2\pi f_0 = -\gamma B_0$.

Les fréquences de résonance diffèrent en fonction des noyaux et, aux intensités des champs magnétiques des imageurs, se situent dans la gamme des radiofréquences (RF). Les fréquences de Larmor correspondant aux noyaux qui ont été utilisés dans cette thèse sont données dans le Tableau 3.1 pour un champ magnétique de 1,5 T.

Noyau	γ (rad·T ⁻¹ ·s ⁻¹)	$ f_0 $ à 1,5 T (MHz)
¹ H	$2,675 \cdot 10^8$	63,87
³ He	$-2,038 \cdot 10^8$	48,65

TABLE 3.1 : Rapport gyromagnétique des noyaux d'hydrogène et d'hélium-3 [87] et leur fréquence de résonance à 1,5 T.

Du fait de son abondance dans les tissus, le principal noyau étudié en RMN est l'hydrogène ¹H, mais d'autres noyaux d'intérêt biologique comme le fluor ¹⁹F, le phosphore ³¹P, ou encore le sodium ²³Na peuvent également être considérés. L'hélium-3 et le xénon-129, des isotopes stables, à l'état gazeux dans les conditions ambiantes de température et de pression, sont particulièrement appropriés à l'imagerie des voies aériennes.

Nous utiliserons dans la suite du manuscrit le terme *spin* pour décrire un noyau de spin \vec{I} . Nous décrirons ainsi un ensemble de noyaux par un ensemble de spins. Lorsque l'on considère un ensemble N_s de spins $1/2$ dans un champ magnétique \vec{B}_0 , les deux états d'énergie possible $\pm 1/2\hbar$ caractérisent des populations de spins parallèles ($+1/2$) n_\uparrow et antiparallèles ($-1/2$) n_\downarrow avec le champ magnétique. La différence relative de ces populations définit la polarisation nucléaire P :

$$P = \frac{n_\uparrow - n_\downarrow}{N_s}, \quad (3.1.2)$$

où $N_s = n_\uparrow + n_\downarrow$. A l'équilibre thermique, les populations parallèle et antiparallèle suivent la loi de Boltzmann et la polarisation peut être donnée par :

$$P \simeq \frac{\gamma\hbar B_0}{2k_b T} \quad (3.1.3)$$

avec :

k_b : la constante de Boltzmann

T : la température

L'équation 3.1.3 indique que la polarisation peut être augmentée soit en diminuant la température de l'échantillon, ce qui n'est pas envisageable *in vivo*, soit en augmentant l'intensité du champ magnétique, ce qui est réalisé en pratique dans la limite des technologies disponibles et en définitive des règles de sécurité physiologique *in vivo*. Typiquement, la polarisation de l'hydrogène dans le champ magnétique 1,5 T d'un imageur clinique est de l'ordre de $5 \cdot 10^{-6}$.

La polarisation nucléaire se traduit par une aimantation macroscopique m_0 , résultant des moments magnétiques élémentaires, colinéaire au champ magnétique \vec{B}_0 . L'aimantation est la grandeur physique observée par RMN. En notant $n_s = N_s/V$ la densité de noyaux dans le volume V , elle peut s'écrire sous la forme :

$$m_0 = \frac{\gamma \hbar}{2} n_s P \quad (3.1.4)$$

La mesure étant effectuée de fait sur un ensemble de spins contenus dans le volume V ; on notera $M_0 = m_0 V$ le moment magnétique total résultant.

D'une manière générale, la RMN repose sur la polarisation existante dans un champ magnétique à l'équilibre thermique (équilibre de Boltzmann), mais elle a parfois recours à des polarisations hors équilibre obtenues par manipulation radiofréquence ou encore des techniques d'hyperpolarisation (comme par exemple dans le cas de l'hélium-3 et du xénon-129) qui préparent les noyaux dans un état de polarisation beaucoup plus élevée, entraînant ainsi une augmentation importante du signal RMN. L'hyperpolarisation consiste en effet à produire une polarisation supérieure à celle obtenue à l'équilibre thermique. Pour les noyaux hyperpolarisés, la polarisation correspond donc à un état hors équilibre thermique, indépendante de la température et du champ magnétique. Elle peut atteindre des valeurs proches de 1 et conduire à une augmentation de plus de six ordres de grandeur du signal RMN.

3.1.1.2 Aimantation hors équilibre

Le moment magnétique total \vec{M} résultant d'un ensemble de spins soumis à un champ magnétique \vec{B}_0 a un mouvement décrit par l'équation introduite par Bloch [15]. Dans le repère orthonormé $(O, \vec{X}, \vec{Y}, \vec{Z})$, nous avons :

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma \vec{M} \wedge \vec{B} + \frac{M_0 - M_z}{T_1} \vec{Z} - \frac{M_x \vec{X} - M_y \vec{Y}}{T_2} \quad (3.1.5)$$

Par convention, la composante statique du champ magnétique est orientée selon l'axe \vec{Z} . T_1 est le temps de relaxation de l'aimantation longitudinale (colinéaire à \vec{Z}) et T_2 est le temps de relaxation de l'aimantation transversale (normale à \vec{Z}). M_x , M_y , M_z désignent les composantes de \vec{M} dans le repère $(O, \vec{X}, \vec{Y}, \vec{Z})$.

La détection du signal RMN est réalisée en perturbant le moment magnétique à l'équilibre $\vec{M} = M_0 \vec{Z}$ (Fig. 3.1.1.a), puis en mesurant son retour à l'équilibre (Fig. 3.1.1.c). En appliquant un champ radiofréquence $\vec{B}_1 = B_1 \cos(\omega_0 t) \vec{X} - B_1 \sin(\omega_0 t) \vec{Y}$ à la fréquence de Larmor, normal au champ statique $\vec{B}_0 = B_0 \vec{Z}$, le moment magnétique est mis hors équilibre. Si \vec{B}_1 est appliqué pendant une durée τ , le moment magnétique bascule de l'angle de nutation α (Fig. 3.1.1.b) :

$$\alpha = \gamma B_1 \tau \quad (3.1.6)$$

Le moment magnétique retourne dès lors à sa position d'équilibre dans un mouvement de précession autour de B_0 (Fig. 3.1.1.c) à la fréquence de Larmor. Le mouvement est complexe et caractérisé par un temps de relaxation longitudinal T_1 et transversal T_2 .

Ainsi, après un basculement de 90° , le mouvement du moment magnétique est donné par :

$$M_z = M_0 \left[1 - \exp\left(-\frac{t}{T_1}\right) \right] \quad (3.1.7)$$

$$M_t = M_0 \left[\exp\left(-\frac{t}{T_2} + i\omega_0 t\right) \right] \quad (3.1.8)$$

Dans cette expression, $M_t = M_x + iM_y$ décrit les composantes du moment magnétique dans le plan transversal en notation complexe.

3.1.1.3 Acquisition du signal RMN

Le mouvement de précession du moment magnétique est celui d'un dipôle magnétique. Le champ magnétique de ce dipôle oscillant, proportionnel à la composante transversale M_t , est détecté par un circuit résonant, appelé bobine ou antenne radiofréquence. La force électromotrice induite dans la bobine par le flux magnétique du dipôle est mesurée au cours du temps : c'est le signal de précession libre amorti (FID, free induction decay). En notation complexe, il est de la forme :

$$S(t) \propto \omega_0 M_0 \sin(\alpha) \exp\left(-\frac{t}{T_2} + i\omega_0 t\right) \quad (3.1.9)$$

Une antenne radiofréquence est un circuit RLC (résistance, inductance, capacité) accordé à la fréquence de Larmor, capable de convertir le champ RF créé par les dipôles magnétiques en une différence de potentiel qui est ensuite amplifiée puis échantillonnée. Elle est caractérisée par un facteur de qualité $Q_c = \omega_0 L_c / R_c$ où L_c et R_c sont respectivement l'inductance et la résistance du système. En pratique, Q_c est mesuré comme étant la bande passante à -3 dB : $\Delta\omega_0 = \omega_0 / Q_c$.

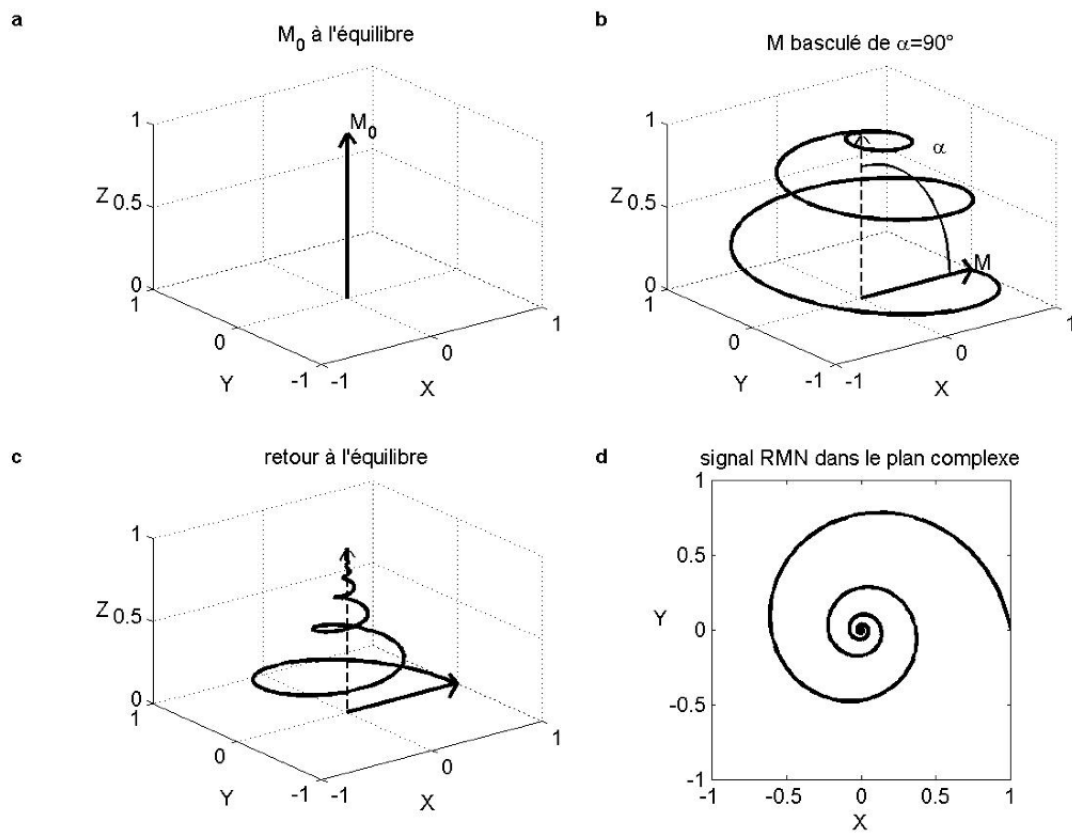


FIGURE 3.1.1 : Le moment magnétique à l'équilibre (a) est basculé d'un angle α dans le plan transversal (b). Il revient ensuite à l'équilibre (c). On observe alors la FID (d) représentée dans le plan complexe. Extrait de [51].

3.1.2 Imagerie par résonance magnétique

Dans un champ magnétique homogène, le signal RMN provient de l'ensemble des spins de l'échantillon. La notion d'imagerie traduit invariablement la nécessité de coder spatialement le signal afin d'obtenir une représentation de l'échantillon dans l'espace. En IRM, le codage est réalisé en faisant varier spatialement l'intensité du champ magnétique statique par l'intermédiaire de gradients de champ magnétique constants. La fréquence de résonance des spins, intrinsèquement liée à la valeur du champ magnétique, est alors dépendante de leur position. L'ensemble des fréquences spatiales est regroupé dans le plan de Fourier, autrement appelé espace des k , à partir duquel l'image est reconstruite.

3.1.2.1 Gradients et plan de Fourier

Le gradient de la composante longitudinale du champ magnétique utilisé en IRM pour la localisation du signal est noté $\vec{G} = \overrightarrow{grad}B_z$. Ce gradient, appliqué selon une direction de l'espace impose une variation de la composante longitudinale du champ magnétique $\vec{B} = B_z\vec{Z}$. A la position \vec{r} on a :

$$B_z = B_0 + \vec{G} \cdot \vec{r} \quad (3.1.10)$$

Cette variation spatiale de l'intensité du champ magnétique se traduit par une variation de la fréquence de résonance des spins (Eq. 3.1.1). Une fréquence de résonance différente est alors affectée à chaque position \vec{r} .

L'espace des k est caractérisé au temps t par le vecteur \vec{k} [134] :

$$\vec{k}(t) = \gamma \int_0^t \vec{G}(\tau) d\tau \quad (3.1.11)$$

pour lequel l'origine des temps coïncide avec l'impulsion RF basculant l'aimantation.

Pour une distribution d'aimantation dépendant de la position $m(\vec{r})$, en négligeant les effets de relaxation et avec une sensibilité uniforme dans l'espace, le signal observé est de la forme :

$$S(\vec{k}) \propto \sin(\alpha) \int_0^V m(\vec{r}) \exp(i\vec{k} \cdot \vec{r}) dv \quad (3.1.12)$$

Dans cette expression le signal est exprimé dans le repère tournant. Cette relation résume tout le principe de la localisation en IRM. Cette somme sur tout le volume V de l'aimantation est la transformée de Fourier (TF) de la distribution spatiale d'aimantation. En possédant suffisamment d'informations sur la valeur de S en diverses positions de l'espace des k , on peut calculer la distribution spatiale de l'aimantation $m(\vec{r})$ par simple transformée de Fourier inverse.

Dans la pratique cette information est acquise en faisant varier les gradients (Eq. 3.1.11). Trois grands principes d'application des gradients sont utilisés : la sélection de coupe, le gradient de lecture et le codage de phase. Nous décrivons l'application de ces gradients en prenant l'exemple d'une séquence d'imagerie en écho de gradient.

3.1.2.2 Séquence d'écho de gradient

Une séquence d'imagerie décrit l'évolution temporelle des impulsions radiofréquences nécessaires au basculement de l'aimantation dans le plan transversal et à la manipulation des spins, ainsi que l'application des gradients permettant le codage spatial ou les pondérations recherchées dans le signal. Elle est communément représentée par un chronogramme (Fig. 3.1.2).

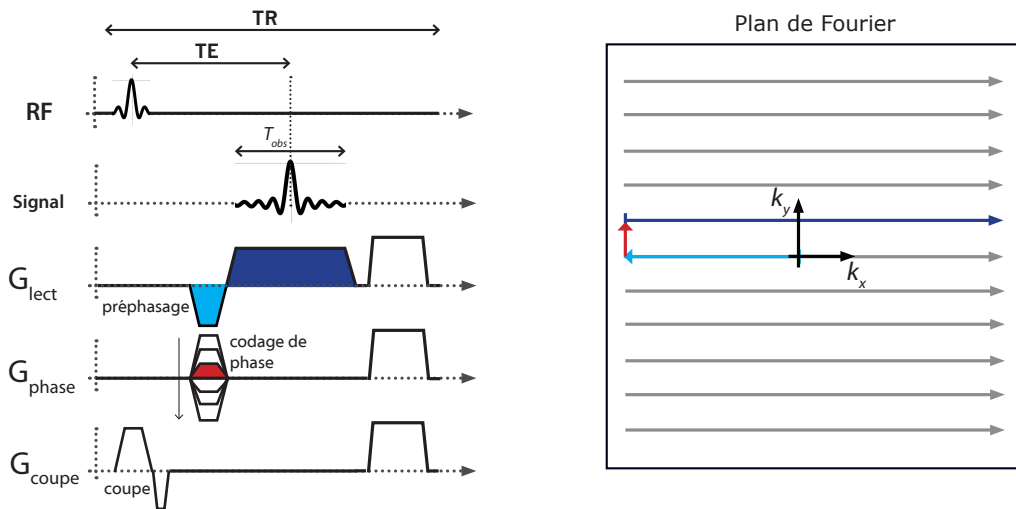


FIGURE 3.1.2 : Chronogramme d'une séquence écho de gradients (gauche) et trajectoire correspondante dans le plan de Fourier (droite). Adapté de [51].

On notera la différence entre le repère de l'imageur, qui définit chacun des 3 axes « physiques » de gradient, et la représentation des axes dans une séquence qui peuvent être appliqués dans n'importe quelle direction. Par convention, l'axe de lecture est en général noté x, l'axe de codage de phase, y, et l'axe de sélection de coupe, z.

Sélection de coupe

Le basculement sélectif de l'aimantation dans une coupe est réalisé par la combinaison d'un gradient et d'une impulsion RF. La forme utilisée le plus communément est un sinus cardinal apodisé. La bande passante de l'impulsion correspond à l'épaisseur choisie [101]. On notera α l'angle de basculement et Δz l'épaisseur de coupe.

Pour une bande d'émission BW , l'amplitude du gradient dépend de l'épaisseur de la coupe souhaitée :

$$G_{coupe} = \frac{2\pi BW}{\gamma \Delta z} \quad (3.1.13)$$

La remise en phase des aimantations est ensuite réalisée par un gradient de refocalisation. Le profil de coupe n'est généralement pas parfaitement rectangulaire car la durée de l'impulsion RF est nécessairement finie dans le temps. De plus, le profil de l'aimantation transversale basculée correspond au sinus de l'angle de basculement, ce qui induit une modification non-linéaire du profil de coupe. En pratique, pour des petits angles de basculement ($\alpha < 30^\circ$), l'approximation linéaire de la fonction sinus suffit pour décrire correctement le profil de coupe qui correspond alors à la forme de la bande d'émission [101].

Gradient de lecture

L'acquisition du signal est réalisée pendant l'application du gradient de lecture. On le considère constant, d'amplitude G_{lect} . On note FOV (Field Of View) le champ de vue spatial, FOV_x , FOV_y , FOV_z , selon les trois directions d'application des gradients. Le signal ainsi codé s'étend sur une bande passante limitée et l'amplitude du gradient est déterminée par la fréquence d'échantillonnage f_e :

$$G_{lect} = \frac{2\pi}{\gamma FOV_x} f_e \quad (3.1.14)$$

Le signal est échantillonné pendant le temps d'observation T_{obs} avec le temps d'échantillonnage $t_e = 1/f_e$. Ainsi, le nombre d'échantillons N_x acquis lors de la lecture donne la taille selon la direction du gradient de lecture du plus petit élément de volume ou « voxel » accessible FOV_x/N_x . Lorsque l'aire du gradient de lecture parcourue est nulle ($k = 0$) (Eq. 3.1.11), il se produit un écho de gradient. Le temps d'écho séparant le centre de l'impulsion RF et l'écho de gradient est noté TE .

Codage de phase

L'image bidimensionnelle est obtenue grâce au codage de phase. Dans la direction perpendiculaire à la sélection de coupe et à la lecture, celui-ci confère aux spins un décalage de phase dépendant de la position de ces derniers et causé par l'application transitoire d'un gradient de champ. Le gradient de codage de phase est incrémenté N_y fois, avec différentes valeurs espacées de $2\pi/FOV_y$. Chaque pas de codage est répété après TR , le temps de répétition de la séquence. Le temps d'acquisition total d'une image 2D est donné par $T_{acq} = N_y TR$.

Acquisition du plan de Fourier

Le plan de Fourier peut être échantillonné de manière cartésienne, c'est-à-dire selon une grille orthogonale. La transformée de Fourier discrète (TF) du signal échantillonné est ensuite effectuée pour obtenir l'image.

La vitesse et la trajectoire de balayage de l'espace des k peut cependant être modifiée dans le but de réduire le temps d'acquisition (imagerie rapide et ultra rapide) 3.1.3 :

- Acquisition partielle du plan de Fourier,
- Acquisition simultanée de plusieurs lignes de l'espace k ,
- Acquisition de l'intégralité du plan de Fourier pendant une seule excitation RF,
- Balayage en spirale(s)
- Balayage radial

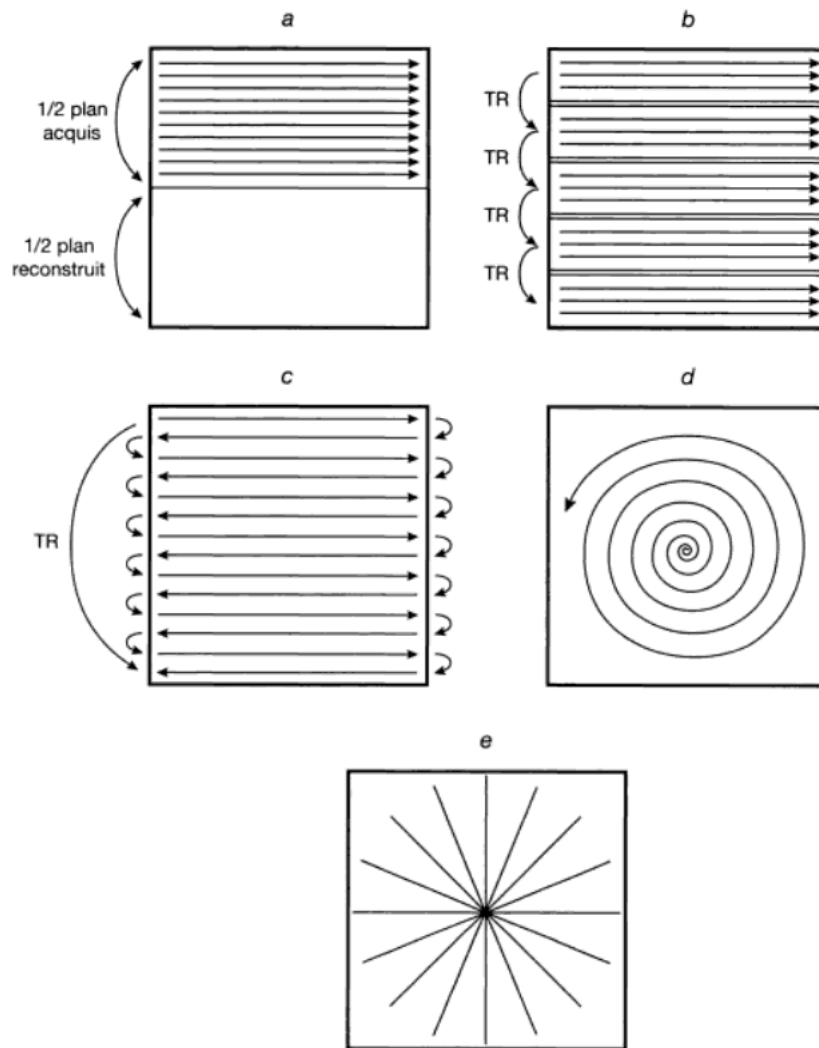


FIGURE 3.1.3 : Modes de balayage du plan de Fourier. (a) Acquisition d'un demi-plan de Fourier, (b) acquisition de plusieurs lignes par TR , (c) balayage de tout le plan de Fourier pendant une excitation, (d) balayage en spirale, (e) balayage radial. Extrait de [114].

3.2 Résonance magnétique nucléaire de l'hélium-3 hyperpolarisé

À l'équilibre de Boltzmann, à la température corporelle et dans un champ magnétique de 1,5 T, la polarisation nucléaire des noyaux d'hydrogène $P \simeq 5 \cdot 10^{-6}$, soit 5 ppm. Dans l'organisme, cette très faible polarisation est compensée par l'abondance des noyaux, permettant de faire l'imagerie de la grande majorité des tissus organiques. Le poumon, rempli de gaz à 90%, fait toutefois exception à la règle car la faible densité de protons qui y règne ne permet pas de faire l'imagerie des voies aériennes. En effet, par comparaison avec l'état liquide, il y a dans un gaz une perte en densité de noyaux d'un facteur proche de $2,5 \cdot 10^3$. Par ailleurs, la différence de susceptibilité à l'interface entre le gaz et le tissu se traduit, dans le champ magnétique de l'imageur, par des gradients de champ magnétique locaux importants et des durées de vie du signal de RMN très courtes. L'IRM conventionnelle ne parvient donc que difficilement à imager les tissus entourant l'organe (Fig. 3.2.1.a).

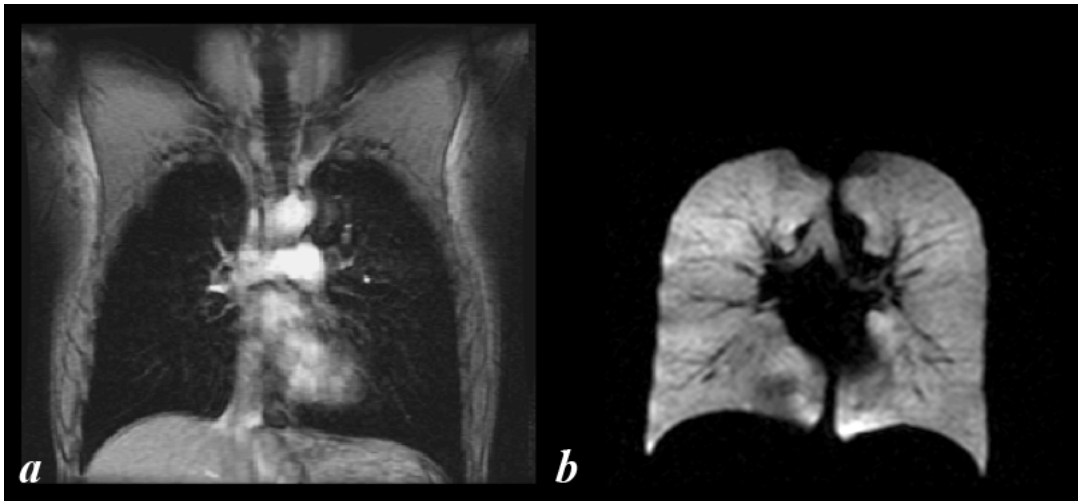


FIGURE 3.2.1 : Imagerie par résonance magnétique du poumon. (a) IRM du proton, $P \simeq 5 \cdot 10^{-6}$, (b) IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé (image réalisée au sein du laboratoire), $P = 1 \cdot 10^{-1}$.

Une voie originale, à la frontière de la physique atomique et des techniques de résonance magnétique, a cependant été ouverte en 1996 [9] par quelques équipes de recherche, aux États-Unis [136], en Allemagne [73] et en France [48], avec la publication des premières images de poumons humains par résonance magnétique de l'hélium-3 hyperpolarisé. De tels résultats reposent sur le rapport de cinq ordres de grandeur entre la polarisation hors d'équilibre du gaz d'hélium-3, obtenue par pompage optique, et les polarisations thermiques obtenues dans les aimants traditionnels d'imagerie par résonance

magnétique. Ce facteur permet ainsi de compenser la faible densité atomique des gaz dont on peut alors obtenir une image.

Cette technique fournit des images en trois dimensions (Fig 3.2.1.b) de la ventilation des poumons [48] mais aussi des images dynamiques de la fonction respiratoire [115, 194], ou encore des images paramétriques sur les temps de décroissance du signal [72] ou la diffusion du gaz [144, 168, 151] afin de sonder la structure ou la fonction du poumon.

3.2.1 Hyperpolarisation de l'hélium-3

3.2.1.1 Hélium-3

L'hélium-3 est un isotope stable de l'hélium. Son noyau étant constitué de deux protons et d'un neutron, il présente un spin nucléaire $1/2$. Sa masse molaire est de $3,016 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. Sa viscosité dynamique est de $17 \mu\text{Pa}\cdot\text{s}$ à 293 K [202]. Son coefficient d'auto diffusion est de l'ordre de $2\cdot 10^{-4} \text{ m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ [202] et d'inter diffusion dans l'azote de $0,8\cdot 10^{-4} \text{ m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ à 1 atm et 293 K [13]. L'hélium est très peu soluble dans l'eau (pression partielle de gaz à 1 atm de $7\cdot 10^{-6}$ à 308 K [129]). Il ne passe donc pas dans le sang mais reste confiné dans les espaces aériens lors d'une inspiration.

3.2.1.2 Hyperpolarisation par échange de métastabilité

L'hélium-3 polarisé hors équilibre de Boltzmann est utilisé dans divers domaines de la physique [10]. La méthode appliquée dans ce travail utilise les collisions dites d'échange de métastabilité entre les atomes d'hélium-3 dans l'état métastable 2^3S_1 et dans l'état fondamental 1^1S_0 [212, 189, 39]. Une autre méthode de polarisation, par échange de spins [104], est également assez largement répandue car sa mise en œuvre est plus aisée. Toutefois celle-ci demeure contraignante avec des processus de polarisation pouvant atteindre plusieurs dizaines d'heures.

Le principe de la méthode d'échange de métastabilité (Fig. 3.2.2) peut être résumé en trois grandes étapes :

1. Une décharge RF crée une grande variété de niveaux excités dans l'hélium-3. Leur désexcitation (cascade radiative) conduit au peuplement de l'état métastable 2^3S_1 .
2. Les atomes dans l'état métastable sont orientés électroniquement par pompage optique en utilisant la transition 2^3S_1 - 2^3P à $\lambda = 1083 \text{ nm}$. Grâce au couplage électro-nucléaire (couplage hyperfin), la polarisation est transférée aux noyaux des atomes métastables.
3. Lors d'une collision d'échange de métastabilité, un atome dans l'état fondamental $\text{He}(1^1\text{S}_0)$ et un atome métastable polarisé nucléairement $\text{He}_\uparrow(2^3\text{S}_1)$ échangent leur état d'excitation électronique [69, 70]. L'atome He dans son état fondamental se trouve alors polarisé nucléairement.

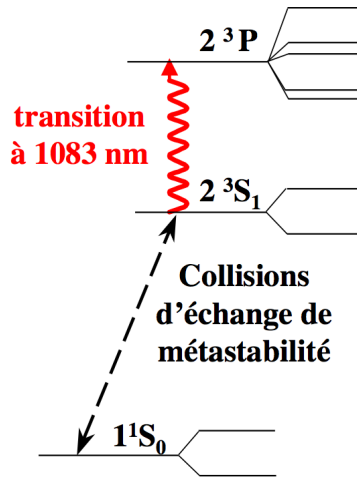


FIGURE 3.2.2 : Représentation des niveaux atomiques de l'hélium-3 intervenant dans le pompage optique par échange de métastabilité. Extrait de [2].

La structure des niveaux impliqués dans la transition atomique $2^3S_1-2^3P$ est illustrée dans la figure 3.2.3. L'état métastable 2^3S_1 comporte deux niveaux hyperfins $F = 3/2$ et $F = 1/2$ séparés de 6,74 GHz dans un champ magnétique de l'ordre du mT, soit six sous-niveaux Zeeman notés A_i ($i = 1, \dots, 6$) par ordre croissant d'énergie. Le niveau 2^3P a cinq sous-niveaux hyperfins (deux niveaux $F = 1/2$, deux niveaux $F = 3/2$ et un niveau $F = 5/2$), soit dix-huit sous-niveaux Zeeman notés B_j ($j = 1, \dots, 18$) par ordre croissant d'énergie.

Habituellement, le pompage optique par échange de métastabilité de l'hélium-3 est effectué à température ambiante dans un champ magnétique statique de l'ordre du mT. Les meilleures performances du pompage optique en termes de polarisation nucléaire stationnaire et taux de production de l'aimantation sont obtenues en excitant la transition C_8 ($2^3S_1, F = 1/2 \rightarrow 2^3P_0, F = 1/2$) ou la transition C_9 ($2^3S_1, F = 3/2 \rightarrow 2^3P_0, F = 1/2$). Le choix de la raie excitée est effectué selon la pression du gaz [153, 92] : pour un gaz de pression inférieure à 1 mbar, le laser pompe est accordé sur la transition C_8 alors qu'il est accordé sur la transition C_9 pour des pressions de l'ordre de 1 mbar. Des polarisations nucléaires de l'ordre de 80 à 90 % [14, 153] sont atteintes à des pressions de l'ordre du mbar grâce au développement de laser dédiés au pompage optique [47, 37, 91, 207]. Les taux de production de l'aimantation par unité de temps dépendent fortement de l'intensité laser incidente ainsi que de l'intensité de la décharge excitatrice [92, 43, 217].

L'hyperpolarisation par échange de métastabilité est choisie en raison de son efficacité en termes à la fois de polarisation et de temps de production de l'aimantation. Elle présente aussi l'avantage de ne pas faire intervenir dans le processus d'autres espèces atomiques comme le rubidium pour l'échange de spin.

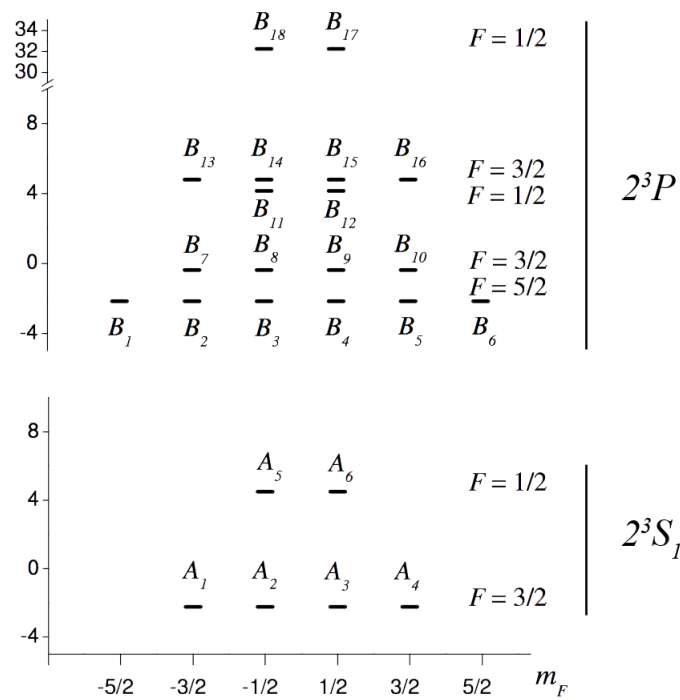


FIGURE 3.2.3 : Diagramme montrant les positions énergétiques des sous-niveaux Zeeman de l'état métastable 2^3S_1 (E_s) et de l'état excité 2^3P (E_p) dans l'hélium-3 dans un champ magnétique de l'ordre du mT. Les sous-niveaux, A_1 à A_6 et B_1 à B_{18} sont classés par ordre croissant d'énergie. Les transitions C_8 et C_9 couplent respectivement les niveaux : $2^3S_1, F = 1/2 \rightarrow 2^3P_0, F = 1/2$ et $2^3S_1, F = 3/2 \rightarrow 2^3P_0, F = 1/2$. Adapté de [2].

3.2.2 Imagerie de l'hélium-3

3.2.2.1 Evolution du moment magnétique total

L'état hyperpolarisé est un état hors équilibre. Par conséquent, après une excitation RF, à l'inverse d'un système initialement à l'équilibre comme, plus haut, l'hydrogène, le retour du moment magnétique total à l'équilibre thermique conduit à une perte de moment magnétique total et ainsi une diminution de la polarisation du gaz. Dans le cas des gaz hyperpolarisés l'équation d'évolution du moment magnétique total est exprimée en modifiant dans l'équation de Bloch (Eq. 3.1.5) le retour à l'équilibre qui n'est plus le moment magnétique total initial M_0 mais le moment magnétique total à l'équilibre négligeable devant M_0 et que nous pouvons prendre nul :

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma\vec{M} \wedge \vec{B} - \frac{M_z}{T_1}\vec{Z} - \frac{M_x\vec{X} - M_y\vec{Y}}{T_2} \quad (3.2.1)$$

La relaxation de l'aimantation longitudinale est alors caractérisée par une décroissance exponentielle, et non plus une croissance exponentielle, de temps caractéristique T_1 qui correspond à un retour à l'équilibre thermique où l'aimantation est considérée comme nulle.

3.2.2.2 Perte par angle

Par construction, l'aimantation obtenue grâce à l'hyperpolarisation est non renouvelable. En partant d'un système dans un état initial hyperpolarisé, le basculement d'un angle α réduit le moment magnétique total disponible d'un facteur $\cos(\alpha)$. Ce phénomène de dépolarisation RF est schématisé sur la Figure 3.2.4.

En imagerie, la perte par angle induit un filtrage supplémentaire du plan de Fourier dans des séquences multi-coups à angle de basculement constant [223]. Des stratégies d'optimisation de l'ordre d'acquisition des lignes ont été proposées pour l'imagerie par écho de gradient. L'utilisation d'angles de basculement variables a également été proposée afin d'augmenter le rapport signal/bruit (RSB) et/ou d'égaliser l'intensité du signal mesurée lors de chaque excitation.

3.2.2.3 Relaxation longitudinale

On distingue différentes sources de relaxation de l'aimantation longitudinale. Le phénomène de relaxation aux parois est principalement dû à l'état de surface du contenant et, plus particulièrement, à la présence d'impuretés sur les parois (phénomène complexe impliquant la relaxation par adsorption, le paramagnétisme résiduel de la paroi et la diffusion du gaz dans les parois). Des traitements de surface permettent d'allonger le temps de relaxation T_1^{wall} du gaz dans des cellules de verre, de quelques dizaines à quelques centaines d'heures [108]. Au contact des tissus biologiques, ce temps est réduit à quelques minutes [60].

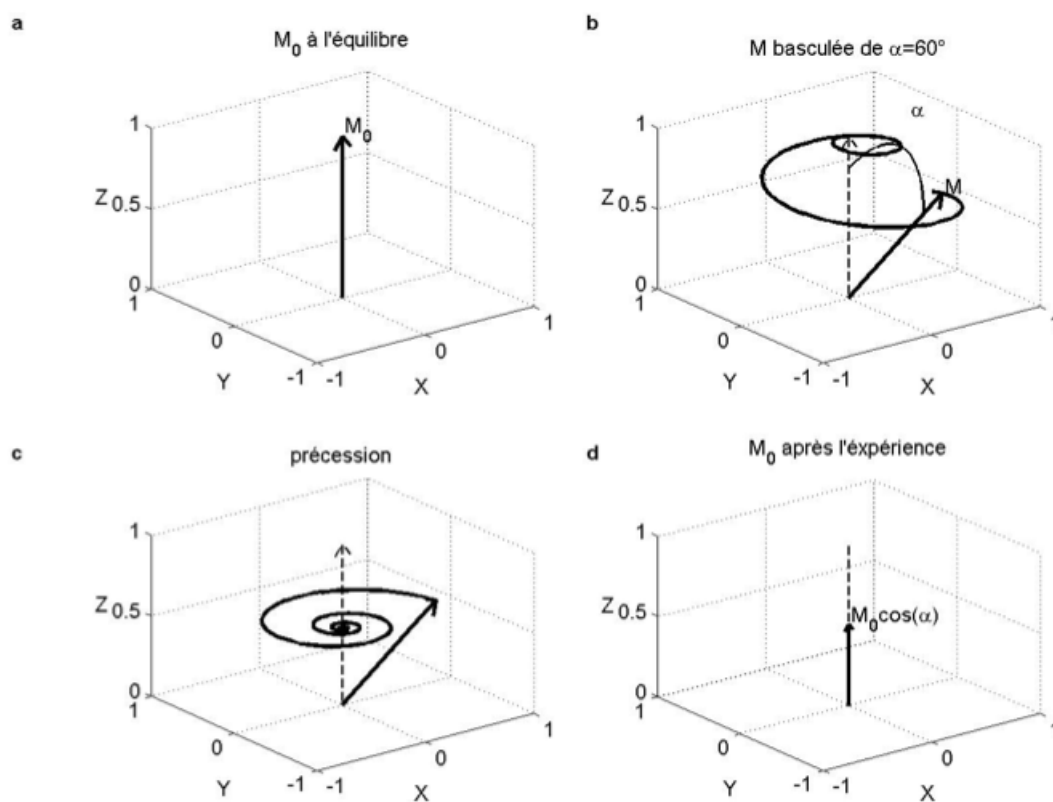


FIGURE 3.2.4 : Le moment magnétique à l'état hyperpolarisé (a) est basculé d'un angle α dans le plan transversal (b). Il précesse (c) pour atteindre un état moins polarisé (d). Extrait de [51].

Un deuxième phénomène est lié à la diffusion dans un champ magnétique inhomogène [108] et caractérisé par le temps T_1^{gr} :

$$\frac{1}{T_1^{gr}} = \kappa \left(\frac{d\bar{B}_t}{dr} \frac{1}{B} \right)^2 \frac{1}{P_0} \quad (3.2.2)$$

avec

P_0 : valeur de la pression

κ : constante dépendante de la géométrie du contenant

B : intensité du champ magnétique principal

$\frac{d\bar{B}_t}{dr}$: inhomogénéité du champ magnétique

Placé au centre de l'imageur, à pression atmosphérique, ces effets sont limités et considérés comme négligeables (T_1^{gr} de l'ordre de quelques heures). À faible pression, dans le champ de fuite de l'imageur, ou encore en présence des gradients de codage spatial, ce phénomène de relaxation peut être relativement important.

La relaxation, caractérisée par T_1^{dd} due à l'interaction dipolaire entre atomes d'hélium-3 [154] est en pratique négligeable (T_1^{dd} de l'ordre de 800 heures).

Enfin, l'effet prépondérant *in vivo* est celui de l'oxygène, fortement paramagnétique. Cet effet dépend de la température et de la pression d'après la loi phénoménologique proposée par [181] :

$$T_1^{O_2} = k \frac{T^{1,42}}{P_{O_2}} \quad (3.2.3)$$

avec

T : température

P_{O_2} : pression partielle en oxygène

$k = 7,48 \cdot 10^{-4} \text{ s} \cdot \text{K}^{-1,42} \cdot \text{atm}$ (une constante)

Le temps T_1 regroupe ces différentes sources de relaxation qui ont alors des poids différents lors de la production, du transport ou de l'acquisition IRM :

$$\frac{1}{T_1} = \frac{1}{T_1^{wall}} + \frac{1}{T_1^{gr}} + \frac{1}{T_1^{dd}} + \frac{1}{T_1^{O_2}} \quad (3.2.4)$$

En résumé, dans le champ magnétique de l'imageur, la durée de vie de l'aimantation dans les poumons *in vivo* est limitée à une quinzaine de secondes, majoritairement déterminée par l'effet paramagnétique de l'oxygène moléculaire.

3.2.2.4 Relaxation transversale

La relaxation transversale (3.2.2.1) est fortement influencée par les imperfections du champ magnétique, que celles-ci soient globales et associées aux inhomogénéités du

champ magnétique statique de l'imageur ou qu'elles soient locales et associées aux gradients de champ résultants des différences de susceptibilité entre le gaz et le parenchyme pulmonaire. Pour un gaz hyperpolarisé dans un champ parfaitement homogène, T_2^0 est égal à T_1 . Dans la pratique, différentes valeurs de T_2^* entre 5 et 30 ms ont été observées à 1,5 T dans les poumons. Ces valeurs, observées *in vivo* chez le petit animal et chez l'humain par différents auteurs dépendent du degré d'inflation pulmonaire, de la technique de mesure, de la méthode de reconstruction et du volume caractéristique, c'est-à-dire du voxel, dans lequel ce temps est observé [16, 34, 211, 183, 61].

Chapitre 4

Sensibilité de l'IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé au dépôt d'aérosols

L'évaluation du dépôt d'aérosols dans les voies aériennes doit répondre à deux critères fondamentaux, la sensibilité et la spécificité de la méthode de détection, qui constituent par ailleurs les atouts majeurs des techniques d'imagerie aujourd'hui utilisées en médecine nucléaire (techniques de référence). Les développements conduits au cours de cette thèse ont eu pour objectif d'allier les performances de l'IRM en termes de résolutions spatiale et temporelle à une technique originale de mesure pour répondre à ces critères d'exigence. Nous décrivons dans ce chapitre les développements méthodologiques et les voies d'investigations considérées qui ont posé les bases de la détection du dépôt d'aérosols par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé.

4.1 Marquage des aérosols

En IRM, le signal recueilli à la fréquence de Larmor d'un noyau atomique donné lui est spécifique. L'IRM de l'hélium-3 permet donc d'observer des atomes d'hélium-3 dans les voies aériennes mais ne permet pas d'imager un aérosol donné.

En revanche, pour chaque élément de volume de l'image (appelé voxel), le signal IRM est par définition proportionnel à la densité d'aimantation dans le voxel pondérée par la séquence d'impulsions RF et d'impulsions de gradients selon les temps de relaxation longitudinal et transversal propres des atomes dans le poumon (T_1 , T_2). Cette pondération particulière est à la source du contraste que l'on observe en IRM.

En IRM, l'utilisation d'agents de contraste vise à améliorer la spécificité de la technique en modifiant les vitesses de relaxation longitudinale et transversale des spins, permettant ainsi de mettre en évidence certains tissus ou phénomènes physiologiques grâce à un contraste accru des images réalisées. L'agent de contraste ne produit pas lui-même de signal : il agit à la manière d'un catalyseur de relaxation pour les noyaux avoisinants. Le marquage des aérosols au moyen d'un agent de contraste est le point de départ des développements qui ont été mis en place dans cette thèse afin d'évaluer le dépôt pulmonaire.

4.1.1 Propriétés magnétiques des agents de contraste

L'effet observé des agents de contraste repose sur leurs propriétés magnétiques. La plupart des corps acquièrent une aimantation (aimantation induite) lorsqu'ils sont soumis à un champ magnétique externe (Eq.3.1.4). Le magnétisme induit se manifeste sous deux principales formes :

- L'aimantation induite faible, qui concerne les corps diamagnétiques et paramagnétiques.
- L'aimantation induite forte avec une modification importante du champ magnétique dans lequel est placé le corps, qui concerne les agents ferromagnétiques et superparamagnétiques.

4.1.1.1 Aimantation induite faible

Diamagnétisme

Le diamagnétisme est présent chez les molécules dont les électrons sont tous appariés. La matière diamagnétique soumise à un champ magnétique externe réagit faiblement en créant un champ magnétique contraire. Les matériaux diamagnétiques sont très légèrement repoussés par un champ magnétique, mais on considère souvent qu'ils n'ont pas de propriétés magnétiques particulières, l'effet étant très faible. Les agents diamagnétiques ne sont pas utilisés comme agents de contraste car leurs effets sur les temps de relaxation T_1 et T_2 sont trop faibles.

Paramagnétisme

Le paramagnétisme désigne le comportement de molécules qui ne possèdent pas d'aimantation spontanée mais qui, sous l'effet d'un champ magnétique extérieur, acquièrent une aimantation dirigée dans le même sens que ce champ d'excitation. Un matériau paramagnétique possède une susceptibilité magnétique de valeur positive (contrairement aux matériaux diamagnétiques), en général assez faible.

Le paramagnétisme est présent chez les molécules possédant un moment magnétique électronique non nul, résultant de la présence d'électrons non appariés. Plusieurs ions

métalliques possèdent cette caractéristique. Plus le nombre d'électrons non appariés est important, plus le moment magnétique électronique est important et plus les propriétés magnétiques sont grandes. Les éléments classés dans les métaux transitionnels (Mn^{3+} , Fe^{2+} , Fe^{3+}) et les métaux de la classe des lanthanides (Gd^{3+}) ont un grand nombre d'électrons non appariés et sont donc d'efficaces agents de contraste.

L'ion Gadolinium (Gd^{3+}), avec 7 électrons non appariés, possède le moment magnétique électronique le plus important, ce qui explique son utilisation largement répandue en IRM. Le gadolinium libre étant très toxique, il est incorporé dans un complexe stable (chélate) qui permet de maintenir ses propriétés paramagnétiques tout en réduisant la toxicité. Les chélates sont de type linéaire ou cyclique, inertes et stables dans l'organisme. La première démonstration des complexes de gadolinium comme agent de contraste IRM était la mise en évidence de la rupture de la barrière hémato-encéphalique. Ils sont maintenant utilisés en prise de contraste dynamique dans le diagnostic des tumeurs cérébrales, des tumeurs de la moelle épinière, des os, des parties molles, du foie.

4.1.1.2 Aimantation induite forte

Ferromagnétisme

Le ferromagnétisme désigne la propriété qu'ont certains corps de s'aimanter très fortement sous l'effet d'un champ magnétique extérieur et, pour certains (ferromagnétiques durs), de garder une aimantation importante même après la disparition du champ extérieur. Les substances ferromagnétiques sont des solides cristallins dont les moments magnétiques électroniques s'orientent parallèlement les uns par rapport aux autres (Fe, Co, Ni). Sous l'action d'un champ magnétique, les domaines cristallins tendent à s'orienter dans le même sens, ce qui renforce le champ magnétique existant.

Superparamagnétisme

Le superparamagnétisme est un comportement des matériaux ferromagnétiques qui apparaît lorsqu'ils sont sous la forme de petits grains ou de nanoparticules. En l'absence de champ magnétique appliqué, les différents domaines magnétiques peuvent s'orienter aléatoirement sous l'influence de l'agitation thermique, contrairement au ferromagnétisme où ceux-ci restent orientés selon une même direction dans le réseau cristallin. Dans cet état, un champ extérieur peut aimanter les grains, comme dans un matériau paramagnétique. La susceptibilité magnétique de molécules superparamagnétiques est beaucoup plus grande que celle des matériaux paramagnétiques.

Les agents de contraste superparamagnétiques utilisés en IRM sont généralement composés d'un cœur de nanocristaux d'oxyde de fer (Fe_2O_3 , et Fe_3O_4) entouré d'une coque en carboxydextran (polysaccharide). Ils sont généralement mieux connus sous l'appellation SPIO (SuperParamagnetic Iron Oxides), USPIO (Ultrasmall SPIO) et SPION

(SPIO Nanoparticles). Les agents de contraste superparamagnétiques sont surtout utilisés comme marqueurs de l'activité macrophagique dans le suivi des métastases hépatiques, ganglionnaires, ou dans le cadre d'études de certaines maladies inflammatoires. Les effets sur le signal IRM sont tels qu'ils ont permis de démontrer la faisabilité de détection de cellules uniques [88, 197]. Un travail de revue par Corot. *et al* [41] dresse le bilan des avancées réalisées dans ce domaine.

4.1.2 Choix d'un agent de contraste

Les agents de contraste couramment utilisés en IRM sont paramagnétiques ou superparamagnétiques. Les propriétés magnétiques ont une influence plus ou moins marquée sur les mécanismes de relaxation des noyaux environnants, principalement caractérisée par la notion de relaxivité.

4.1.2.1 Relaxivité

La relaxivité désigne la capacité des agents de contraste à raccourcir les temps de relaxation transversal et longitudinal des noyaux pour une température et un champ magnétique donnés. Elle est définie comme l'accroissement de la vitesse de relaxation des atomes d'hydrogène normalisée par la quantité d'agent de contraste utilisée (Eq. 4.1.1).

En présence d'un agent de contraste, les temps de relaxation observés T_i^{Obs} (longitudinal : $i = 1$, transversal : $i = 2$) résultent des propriétés intrinsèques des tissus (contribution diamagnétique : T_i^{Dia}) et de l'interaction avec l'agent de contraste (contribution T_i^{AC}). Ils s'expriment sous la forme :

$$\frac{1}{T_i^{Obs}} = \frac{1}{T_i^{Dia}} + \frac{1}{T_i^{AC}} \quad (4.1.1)$$

avec $\frac{1}{T_i^{AC}} = r_i [AC]$, relaxivité de l'agent de contraste (en $s^{-1}mM^{-1}$)

L'efficacité des agents de contraste sur les vitesses de relaxation varie dans une certaine mesure proportionnellement à leur concentration. Le tableau 4.1 donne quelques exemples de relaxivités mesurées sur l'hydrogène pour des agents de contraste paramagnétiques à base de gadolinium et superparamagnétiques à base d'oxyde de fer, à 1,5 T et 37° C. Les relaxivités mesurées pour les agents de contraste superparamagnétiques sont généralement bien supérieures à celles des agents de contraste paramagnétiques.

4.1.2.2 Effet sur le signal IRM

Les agents paramagnétiques induisent un effet T_1 prédominant pour de faibles doses (doses usuelles) alors que les agents superparamagnétiques induisent un effet T_2^* , l'effet

Agent de contraste	r_1 ($s^{-1}mM^{-1}$)	r_2 ($s^{-1}mM^{-1}$)
<i>paramagnétique</i>		
Gd-DTPA	3,9	5,3
Gd-BOPTA	8,1	18,7
<i>superparamagnétique</i>		
Ferumoxtran-10 AMI-227	9,9	65
Ferucarbotran SHU-555A	9,7	189

TABLE 4.1 : Relaxivités r_1 et r_2 mesurées pour des agents de contraste paramagnétiques [172] et superparamagnétiques [145, 179] à 1,5 T, 37° C.

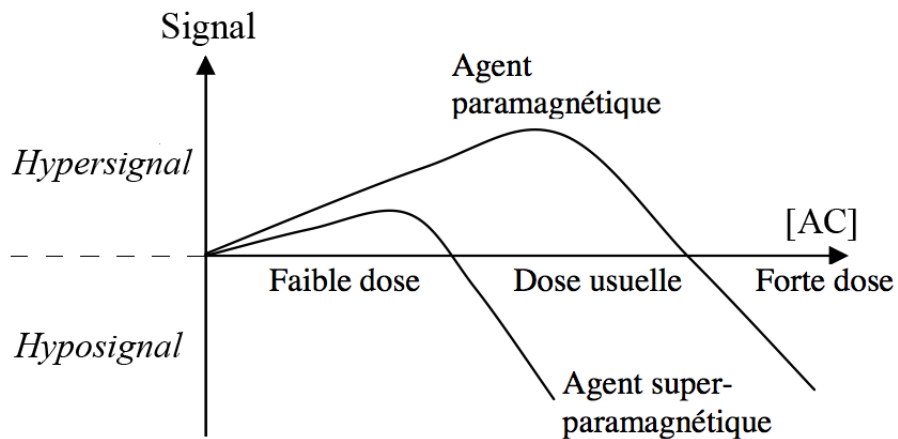


FIGURE 4.1.1 : Effets prédominants des agents de contraste paramagnétiques et superparamagnétiques sur le signal IRM en fonction de leurs concentrations, pour des paramètres de séquence donnés (TE, TR). Adapté de [26].

T_1 n'étant visible qu'à très faible dose (Fig. 4.1.1). L'effet T_2^* des agents paramagnétiques n'intervient que si leur concentration est très élevée ou si le TE est long.

Les différences de susceptibilité magnétique entre les composés superparamagnétiques et leur environnement proche expliquent la prédominance de l'effet T_2^* . Leur présence induit des inhomogénéités locales de champ magnétique qui se traduisent par un déphasage additionnel des spins et une atténuation corrélative de signal localisée. Cette perte de signal provoque un obscurcissement sur l'image, accentuant le contraste dans les zones de présence de l'agent de contraste (hyposignal) (Fig. 4.1.2).

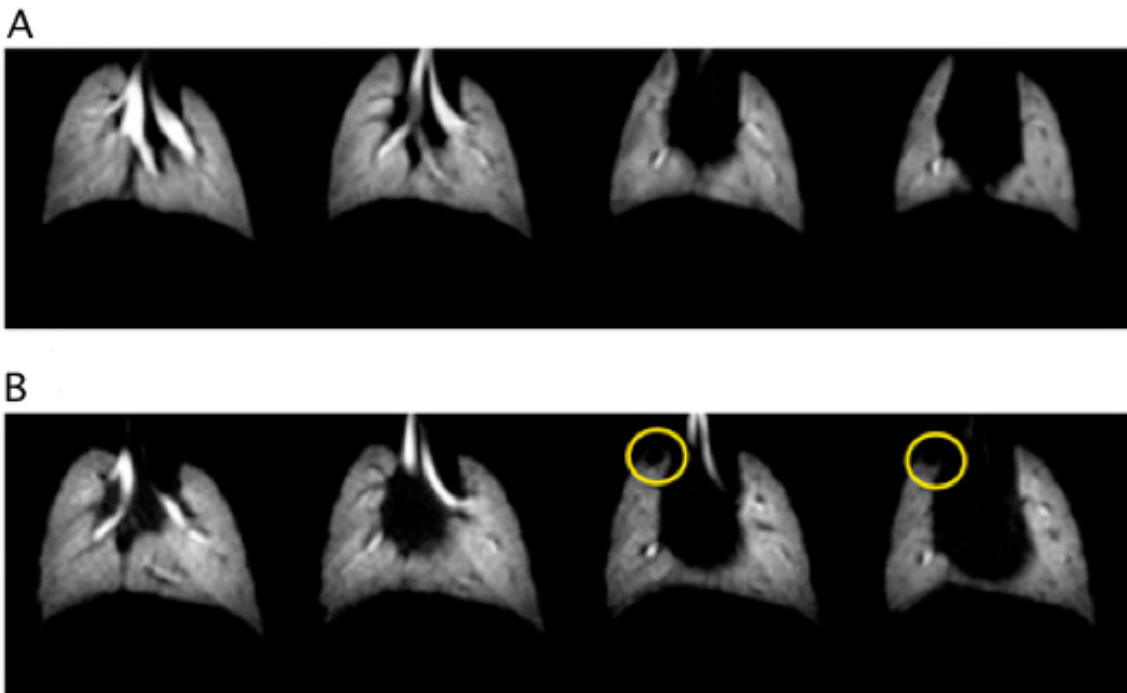


FIGURE 4.1.2 : Effet des SPION sur une image de poumons de souris par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé. (A) Souris contrôle sans injection de produit de contraste. (B) Modèle de tumeur humaine de la prostate chez la souris après injection des SPION. Extrait de [22].

Les agents de contraste superparamagnétiques présentent des avantages certains sur les agents de contraste paramagnétiques pour l'évaluation du dépôt d'aérosols par leur relaxivité élevée. L'effet T_2^* engendré offre une sensibilité et une spécificité accrue pour leur détection par IRM. Ils ont notamment montré leur efficacité dans une étude récente comme agent de contraste de l'hélium-3 hyperpolarisé pour la détection de métastases pulmonaires, *in vivo*, chez la souris [22] (Fig. 4.1.2). Dans cette étude, l'agent de contraste utilisé comme marqueur de l'hormone de libération de la lutéinostimuline (LHRH) est injecté dans le péritoine de l'animal, puis drainé vers les noeuds lymphatiques situés à

proximité du poumon. Lors de l'imagerie des poumons par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé, la perte de signal engendrée par la présence d'oxydes de fer superparamagnétiques révèle alors clairement la localisation des métastases pulmonaires.

Notre choix s'est porté sur le marquage des aérosols au moyen d'agents de contraste superparamagnétiques, le Ferumoxtran (Sinerem®, Guerbet, France) d'abord utilisé dans le cadre d'études préliminaires, puis le Ferucarbotran (Cliavist®, Bayer Schering Pharma, Germany) utilisé pour l'ensemble des autres expériences menées dans le cadre de cette thèse. Leurs propriétés relaxométriques sont indiquées dans le tableau 4.1.

4.2 Imagerie du dépôt d'oxydes de fer

L'utilisation originale des agents de contraste à base d'oxydes de fer comme marqueurs IRM des thérapies inhalées constitue aujourd'hui un terrain pratiquement vierge d'investigations [28]. Les agents de contraste superparamagnétiques sont couramment utilisés en IRM conventionnelle, en pratique clinique tout comme dans la recherche biomédicale, et leur efficacité en fonction de leur composition, de leur concentration, ou encore de leur mode d'absorption dans l'organisme est relativement bien connue [41]. Elle pose en revanche nombre d'interrogations lorsqu'elle associe une administration sous forme d'aérosols par voie inhalée à l'imagerie d'un gaz hyperpolarisé dont la diffusion est de 5 ordres de grandeur plus élevée que pour l'hydrogène des tissus organiques. La sensibilité atteignable et les stratégies d'acquisition sont remises ici en question. Nous décrivons ici les matériels et méthodes mis en place pour répondre à ces interrogations.

4.2.1 Matériel d'imagerie

4.2.1.1 Imageur

Les expériences effectuées au cours de cette thèse ont été principalement menées au CIERM (Centre Inter Etablissement de Résonance Magnétique), anciennement situé au Centre Hospitalier Universitaire de Bicêtre, sur un appareil clinique de 1,5 T (Achieva®, Philips Medical Systems, Pays-Bas). Cet imageur est équipé d'un aimant horizontal cylindrique supraconducteur possédant une homogénéité de 0,07 ppm sur une zone sphérique centrale de 30 cm de diamètre (Fig. 4.2.1).



FIGURE 4.2.1 : Imageur Philips Achieva 1,5 T installé au CIERM.

Lors des expériences, l'imageur était raccordé à un T/R switch développé et fabriqué au sein de l'unité, assurant la commutation entre émission et réception du signal RF

pour une même antenne, autorisant ainsi l'acquisition du signal RMN de l'hélium-3 sur un imageur clinique.

4.2.1.2 Antenne

Les expériences (*in vitro* et *in vivo*) ont été réalisées avec une antenne dédiée au petit animal de type Helmholtz, fabriquée au sein du laboratoire, dont la conception est basée sur le principe des lignes de transmission (Fig. 4.2.2) [196]. Cette antenne, de diamètre interne $D_{in} = 8$ cm, possède deux bracelets circulaires de 10 cm de diamètre, espacés de 6 cm. Son facteur de qualité est de 600 à vide et 340 lorsqu'elle est chargée par un petit animal (rat). Le signal capté par l'antenne est récupéré par couplage inductif avec un troisième bracelet résonateur circulaire de plus faible facteur de qualité (coupleur). L'accord fin en fréquence de l'antenne est effectué en changeant légèrement la distance entre les deux bracelets principaux. L'adaptation est optimisée de la même façon par la variation géométrique du couplage inductif en déplaçant le troisième bracelet. L'antenne est positionnée dans l'aimant de telle sorte que le champ radiofréquence \vec{B}_1 coaxial soit perpendiculaire au champ \vec{B}_0 .

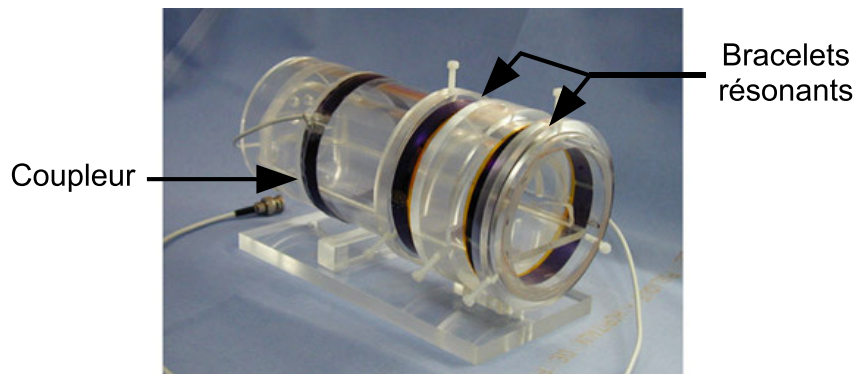


FIGURE 4.2.2 : Antenne petit animal double-bracelet utilisée pour l'IRM de l'hélium-3 à 1,5 T.

4.2.2 Bases méthodologiques

4.2.2.1 Accord et adaptation de l'antenne

Les imperfections ou variations du champ magnétique principal B_0 , le positionnement de l'antenne dans le champ et le déplacement par inadvertance des bracelets résonants peuvent être à l'origine de décalages entre la fréquence de résonance de l'antenne, celle de l'échantillon étudié et la fréquence d'émission RF. L'accord en fréquence de l'antenne est réalisé avant chaque expérience en ajustant l'espacement des bracelets résonants sur un spectre de réflexion de l'antenne. Puis la fréquence de l'émission RF est plus finement

réglée par l'acquisition de FID sur une cellule scellée cylindrique en verre contenant de l'hélium-3 à basse pression (2,67 ou 20 mbar) préalablement hyperpolarisé à 50 ou 70%. L'acquisition est alors réalisée sur une bande passante relativement étroite (1 kHz) qui peut être élargie en cas de désaccord important.

L'adaptation de l'antenne est également sujette à des variations lorsque celle-ci est chargée (fantôme, petit animal) ou lorsque l'anneau de couplage est déplacé. Avant chaque expérience, l'adaptation de l'antenne est vérifiée et si besoin ajustée.

Les opérations de réglage et d'optimisation de l'accord en fréquence et de l'adaptation de l'antenne sont réalisées au moyen d'un pont de réflectométrie (interne à l'IRM ou ajouté en externe). Il permet de calculer la puissance dissipée en mesurant les puissances transmises et réfléchiées par l'antenne :

$$P_{dissipée} = P_D - P_R = \left(\frac{U_D^2 - U_R^2}{R} \right) \times 10^{-\frac{G}{10}} = \left(\frac{\left(\frac{U_{Dcc}}{2} \right)^2 - \left(\frac{U_{Rcc}}{2} \right)^2}{R} \right) \times 10^{-\frac{G}{10}} \quad (4.2.1)$$

avec

P_D : puissance instantanée transmise

P_R : puissance réfléchiée

U_{Dcc} et U_{Rcc} : tensions crête-crête

U_D et U_R : tensions maximales mesurées sur le pont

R : résistance de charge (50 Ω)

G : atténuation du pont

4.2.2.2 Calibration angulaire

En IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé, la perte par angle décrit le raccourcissement de l'aimantation longitudinale provoqué par les excitations RF (Fig. 4.2.3). Puisque l'aimantation initiale M_0 n'est pas renouvelée, les séquences d'imagerie déterminent un compromis d'utilisation de la réserve d'aimantation disponible, entre nombre d'excitations et valeur de l'angle appliquée lors de chaque excitation. Typiquement, l'angle optimal, α_{Opt} , sera choisi en fonction du nombre d'impulsions RF, N_{RF} , appliquées pendant la séquence de telle sorte que l'aimantation résiduelle soit $M_0 e^{-1}$ à la fin de l'acquisition des données :

$$\alpha_{Opt} = \arccos(\exp(-1/N_{RF})) \quad (4.2.2)$$

Ainsi il est primordial de s'assurer de la bonne réalisation de l'angle paramétré lors des séquences réalisées. L'absence de régénération de l'aimantation longitudinale rendant inutilisables les séquences de calibration d'angle habituellement utilisées pour l'hydrogène, d'autres types de séquences sont utilisées.

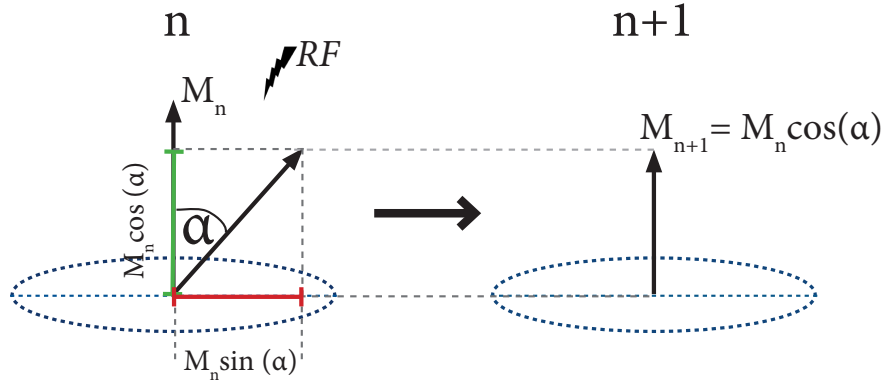


FIGURE 4.2.3 : Schéma représentant la décroissance de l'aimantation longitudinale à chaque impulsion RF : perte par angle.

La séquence type utilisée pour calibrer l'angle de basculement sur du gaz hyperpolarisé est une séquence rapide constituée d'une série de FID consécutives de forme rectangulaire, répétées avec le même angle α . Après le premier basculement de l'aimantation (Fig. 4.2.3), le maximum du signal, S_0 , c'est-à-dire l'amplitude de la FID à l'origine, vaut :

$$S_0 = M_0 \sin \alpha \quad (4.2.3)$$

Dans l'hypothèse, vérifiée ici, d'un temps total d'acquisition court devant T_1 , lors du n -ième basculement, le maximum du signal obtenu S_n peut s'écrire :

$$S_n = S_0 \cos^n(\alpha) \quad (4.2.4)$$

Lorsqu'on ajuste la courbe des maxima du signal en fonction du nombre d'excitation RF, on obtient une exponentielle décroissante : $\exp(-n/T)$, où T est le temps caractéristique, en unité de TR, de la perte par angle.

En faisant le rapport de deux points consécutifs de la courbe, on peut en déduire l'angle de basculement effectif α :

$$\frac{S_n}{S_{n-1}} = \cos \alpha = \exp(-1/T) \quad (4.2.5)$$

$$\text{soit } \alpha = \arccos[\exp(-1/T)], \quad (4.2.6)$$

où T est déterminé par l'ajustement des maxima du signal à une exponentielle décroissante. Un algorithme développé sur Matlab par Emmanuel Durand réalisait cette opération, au cours de nos expériences, pour calibrer l'angle effectif à l'angle implémenté dans la séquence.

4.2.2.3 Homogénéité spatiale de B_1

La mesure de l'homogénéité de distribution du champ B_1 permet de dresser la carte de perte par angle et, réciproquement, de sensibilité de l'antenne sur un champ de vue donné. Pour mesurer l'homogénéité de B_1 de l'antenne petit animal utilisée au cours de nos expériences, un sac cylindrique aux dimensions de l'antenne a été rempli d'hélium-3 hyperpolarisé (T_1 estimé à une dizaine de minutes), puis glissé dans l'antenne petit animal (Fig. 4.2.4.a). Une séquence 3D en écho de gradient a ensuite été appliquée avec plusieurs dynamiques consécutives. Les paramètres de séquence utilisés sont les suivants : $FOV = (288 \times 96 \times 96) \text{ mm}^3$, $\text{voxel} = (4 \times 4 \times 4) \text{ mm}^3$, $TE/TR = 1,73/4 \text{ ms}$, $\alpha = 2^\circ$, nombre de dynamiques = 64. La perte par T_1 est considérée comme négligeable car le temps d'acquisition total (30 s) est faible comparé à T_1 dans le sac (estimé à plus de 10 min). Ainsi, on obtient des images pour lesquelles l'atténuation, d'une image à l'autre, n'est due qu'à la perte par basculements RF. En appliquant l'analyse menée pour la calibration de l'angle ci-dessus en chaque voxel de la matrice sur l'ensemble des dynamiques ici, il est aisé de déterminer sur l'ensemble du champ de vue la carte des angles de basculement (Fig. 4.2.4.b).

Sur l'exemple considéré (Fig. 4.2.4.b et c), nous remarquons la relative homogénéité des angles de basculement sur l'ensemble du FOV avec $\alpha_{moyen} = 1,5^\circ \pm 0,17^\circ$. Sur la coupe centrale, l'écart-type n'est que de 11%. L'essentiel de l'écart provient de la légère dérive qui apparaît à mesure que l'on s'éloigne des bracelets résonants (sources d'excitation RF). Par ailleurs, l'angle effectivement mesuré est en moyenne 25 % plus faible que l'angle paramétré initialement. Pour un angle machine donné, nous avons fixé la valeur de la puissance envoyée dans l'antenne afin de ne jouer que sur la durée de l'impulsion RF. Cette solution garantit une bonne correspondance et une bonne linéarité entre angle paramétré et angle mesuré. Toutefois, pour de petits angles de basculement ($\alpha \leq 5^\circ$), c'est-à-dire des durées d'impulsion courtes ($\tau \leq 32 \mu\text{s}$) l'émission RF de l'imageur atteint difficilement la puissance de consigne, ce qui se traduit par une surestimation de l'angle effectivement réalisé.

La carte 3D de distribution des angles ainsi obtenue permet de corriger, sur les images acquises par la suite, de la perte par angle régionale et de fait de la sensibilité relative de l'antenne. Ce dernier point est critique en relaxométrie de l'hélium-3 hyperpolarisé pour laquelle l'atténuation du signal constitue la base de la mesure.

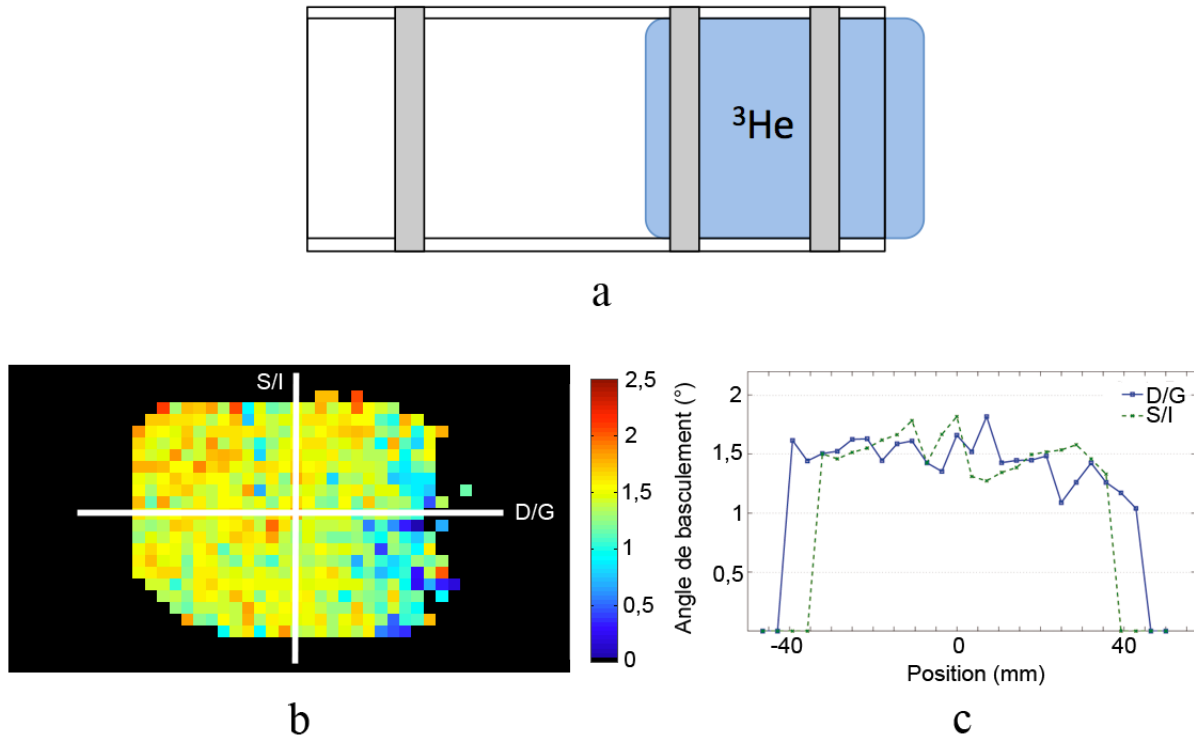


FIGURE 4.2.4 : Carte de distribution des angles de basculement (carte de B_1) pour un fantôme placé dans l'antenne petit animal obtenue sur 64 dynamiques : $FOV = (288 \times 96 \times 96) \text{ mm}^3$, $\text{voxel} = (4 \times 4 \times 4) \text{ mm}^3$, $\text{TE/TR} = 1,73/4 \text{ ms}$, $\alpha = 2^\circ$. (a) Position du fantôme dans l'antenne. (b) Coupe coronale centrale, $\alpha_{\text{moyen}} = 1,5^\circ \pm 0,17^\circ$. (c) Deux profils d'angles de basculement sélectionnés sur la carte (b) (S/I supérieur, inférieur et D/G droite, gauche).

4.2.3 Étude préliminaire du dépôt de fer

Au commencement de ce travail de thèse, nous ne disposions pas d'éléments de la littérature attestant de l'effet de particules d'oxyde de fer sur le signal de l'hélium-3 hyperpolarisé. Nous souhaitions donc savoir, dans un premier temps, si nous étions dans la capacité de mesurer l'effet de ces particules en IRM de l'hélium-3. Nous avons exploré plusieurs voies d'investigation, afin d'abord d'analyser l'effet des oxydes de fer superparamagnétiques sur le signal, puis de déterminer les indicateurs qui pourraient nous permettre d'obtenir une quantification absolue du dépôt. Dans la suite du manuscrit, nous utiliserons régulièrement la terminologie « fer » pour désigner les agents de contraste superparamagnétiques que nous avons utilisés.

4.2.3.1 Approche globale

En IRM de l'hydrogène, la différence de susceptibilité magnétique entre les agents de contraste superparamagnétiques et les atomes environnants induit des modifications locales du champ magnétique statique, qui ont pour effet de décaler la fréquence de résonance des spins. Nous nous sommes employés à mesurer ce même phénomène en IRM de l'hélium-3, en réalisant des séries de FID puis en calculant la transformée de Fourier du signal de précession libre amortie en présence ou non d'oxydes de fer.

Méthodes

Nous avons prélevé 5 mL d'azote dans une seringue de 20 mL (BD Plastipak 20 mL, BD Medical, États-Unis), que nous avons complétée d'hélium-3 hyperpolarisé (seringue Contrôle). Nous avons placé la seringue contrôle au centre de l'antenne petit animal, dans l'imageur, pour l'acquisition d'une série de FID (Fig. 4.2.5.a).

Nous avons préparé une solution nébulisable essentiellement composée de sérum physiologique (0,9 % NaCl), marquée avec un agent de contraste superparamagnétique (Sinerem®, Guerbet, France) pour atteindre une concentration en fer (arbitrairement fixée) de $0,22 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Nous avons nébulisé la solution dans une chambre uniquement remplie d'azote, pour éviter toute présence d'oxygène paramagnétique, au moyen d'un générateur d'aérosols ultrasonique (35-B, Devilbiss, Washington DC, USA). Nous avons ensuite prélevé 5 mL de nébulisat dans une seringue (seringue Test) de 20 mL. Nous avons complété le volume restant avec de l'hélium-3 hyperpolarisé puis remplacé la seringue Contrôle dans l'imageur par la seringue Test. Nous avons acquis une nouvelle série de FID (Fig. 4.2.5.b).

Enfin, les deux seringues (Contrôle et Test) ont été placées ensemble dans l'antenne pour l'acquisition d'une dernière série de FID (Fig. 4.2.5.c).

L'imageur était utilisé en mode spectroscopique, avec les paramètres suivants : séquence en écho de gradients, matrice 800×20 dynamiques, $\text{FOV} = 400 \times 40 \times 320 \text{ mm}^3$, $\text{TE/TR} = 2,4/11 \text{ ms}$, $\alpha = 10^\circ$, $\text{Bw/pix} = 73 \text{ Hz}$. Nous avons utilisé une séquence à TE

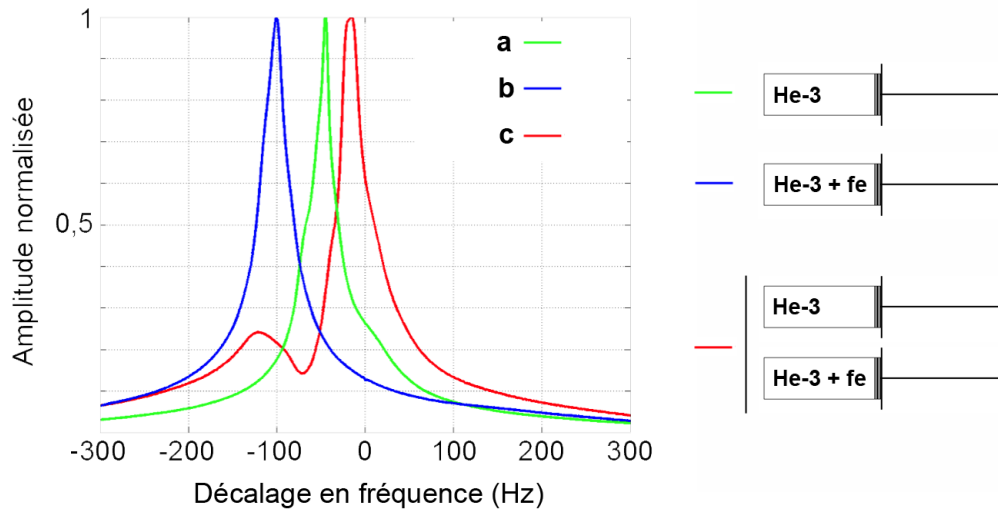


FIGURE 4.2.5 : Représentation dans l'espace fréquentiel des décalages induits par la présence d'oxyde de fer superparamagnétique. (a) FID sur la seringue Contrôle, remplie d'hélium-3 hyperpolarisé. (b) FID sur la seringue Test, mélange entre aérosols à base d'oxyde de fer et d'hélium-3 hyperpolarisé. (c) FID sur les 2 seringues (Contrôle et Test).

court afin de suivre au mieux la décroissance du signal en T_2^* , et de garder un RSB élevé. Après application d'une transformée de Fourier sur les signaux mesurés, nous obtenons les spectres en fréquence propres à chaque situation.

Résultats et discussion

Les résultats sont présentés sur la Figure 4.2.5. Cette approche est intéressante car elle permet de saisir concrètement l'effet de la présence d'un agent de contraste superparamagnétique sur l'hélium-3 hyperpolarisé. On remarque d'abord le décalage en fréquence de 60 Hz du signal de la seringue Test avec celui de la seringue Contrôle (Fig. 4.2.5.a et b). On observe également que l'amplitude du pic provenant de la seringue Test est plus faible que celui de la seringue contrôle (Fig. 4.2.5.c). Cette atténuation résulte du raccourcissement de la durée de vie du signal de l'hélium-3, T_2^* , en présence de l'agent de contraste superparamagnétique. Nous notons un décalage de 100 Hz des pics pour la seringue Contrôle accompagnée de la seringue Test. Cet écart avec le premier décalage constaté de 60 Hz peut être attribué à une position différente de la seringue Contrôle dans le champ magnétique principal, ou encore à des effets de couplage avec la seringue contenant l'agent de contraste placée à proximité.

Cette première expérience est encourageante car elle nous permet d'attester des effets des agents de contraste superparamagnétiques formulés en aérosols sur le signal de

l'hélium-3. Si cette première approche nous donne un aperçu de la sensibilité de notre outil de mesure, elle reste toutefois limitée dans la mesure ou elle ne donne pas d'information régionale ni de quantification absolue du dépôt.

Dans la suite de cette étude, nous avons porté nos efforts sur la localisation spatiale du dépôt, la caractérisation des effets du fer en différentes proportions sur les temps de relaxation T_1 et T_2^* , et sur la compréhension de mécanismes plus fondamentaux comme le rôle joué par la diffusion du gaz dans l'environnement proche d'une source ponctuelle de fer déposé.

4.2.3.2 Localisation d'une source ponctuelle

Nous avons évalué ici la possibilité de détecter un dépôt ponctuel d'oxyde de fer superparamagnétique dans une géométrie simple. Nous avons observé l'effet provoqué par la forte relaxivité de l'agent de contraste sur le signal de l'hélium-3 (amplitude et phase), à l'endroit du dépôt.

Méthodes

Nous avons réalisé un montage comprenant une seringue de 40 mL (BD Plastipak 40 mL, BD Medical, États-Unis), à laquelle était connecté un ensemble de raccords menant à un robinet 3-voies (Fig. 4.2.7.A). Un dépôt d'agent de contraste (Sinerem®, Guerbet, France) de 10 μ L pour une concentration en fer de 0,22 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ a été disposé sur un bouchon alternativement connecté puis déconnecté au robinet 3-voies. Pour chaque étape, le montage initialement vidé puis nettoyé à l'azote était rempli d'hélium-3 hyperpolarisé (polarisé à 10% sur site), mis à la pression atmosphérique, puis hermétiquement fermé avant de lancer la séquence d'imagerie.

Pour cette expérience, nous avons utilisé une séquence 2D d'écho de gradient à 2 échos entrelacés qui permet de calculer une carte de variation du champ magnétique statique B_0 (δB_0). Le chronogramme de la séquence est donné sur la figure 4.2.6. Cette séquence entrelace l'acquisition de la même ligne du plan de Fourier pour 2 temps d'écho différents (TE_1 et TE_2), avec une excitation RF pour chaque écho. Les deux images ainsi formées sont pondérées l'une par rapport à l'autre en fonction du déphasage des spins (pondération T_2^*) qui s'est produit dans l'intervalle de temps $\Delta TE = TE_2 - TE_1$:

$$\Delta\Phi = \gamma \times \int_0^{\Delta TE} \delta B_0 \cdot dt \quad (4.2.7)$$

Il est dès lors possible de calculer la carte de variation du champ magnétique statique selon :

$$\delta B_0 = \frac{\Delta\Phi}{\gamma \cdot \Delta TE} \quad (4.2.8)$$

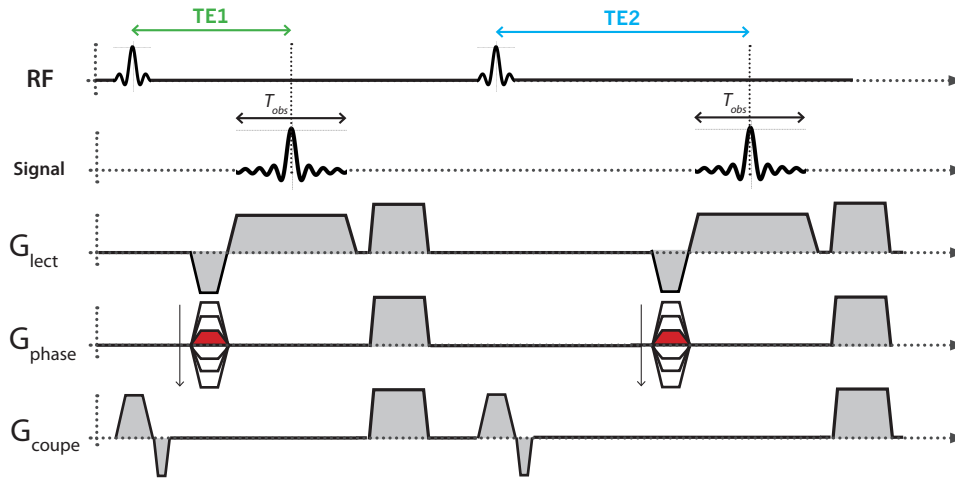


FIGURE 4.2.6 : Chronogramme de la séquence en écho de gradient à 2 échos entrelacés. Les impulsions RF et de gradient sont identiques pour les deux échos. Seul le délai entre l'impulsion RF et l'application des gradients d'imagerie diffère et permet de caractériser l'évolution libre des spins dans le champ magnétique statique environnant. En IRM de l'hélium-3, le second écho est aussi pondéré par la perte par angle α .

Les paramètres de la séquence utilisée sont les suivants : matrice 76×76 , FOV = $76 \times 76 \times 120$ mm, TE/TR = 3,6/8,5 ms, $\Delta TE = 2$ ms, $\alpha = 4,5^\circ$.

Résultats et discussion

L'image de module correspondant au temps d'écho TE₁ ainsi que la carte de variation du champ magnétique B_0 sont respectivement présentés sur la fig. 4.2.7.B et 4.2.7.C. Sur ces deux représentations, nous pouvons clairement distinguer l'effet du dépôt de fer qui se traduit par une modification locale du champ magnétique et une perte de signal associée (flèches).

La quantité d'oxydes de fer déposée est suffisamment importante pour « éteindre » complètement le signal de l'hélium-3. Elle est en revanche trop importante pour donner une information sur la dynamique de l'effet du dépôt, à la fois sur l'image de module et sur la carte de B_0 .

Nous avons représenté ici les images reconstruites par l'IRM. Ces images font l'objet de plusieurs traitements automatisés (filtrage, correction de phase, interpolation, seuillage) qui demeurent opaques à l'utilisateur. Pour remédier à cela, nous nous sommes par la suite placés en amont du processus de traitement des données par le reconstituteur Philips et avons réalisé le post-traitement des images à partir de l'exportation des données brutes (raw data). Ces données brutes ont en réalité déjà subi des phases de base de correction des imperfections de l'imageur : correction de l'offset continu, correction du

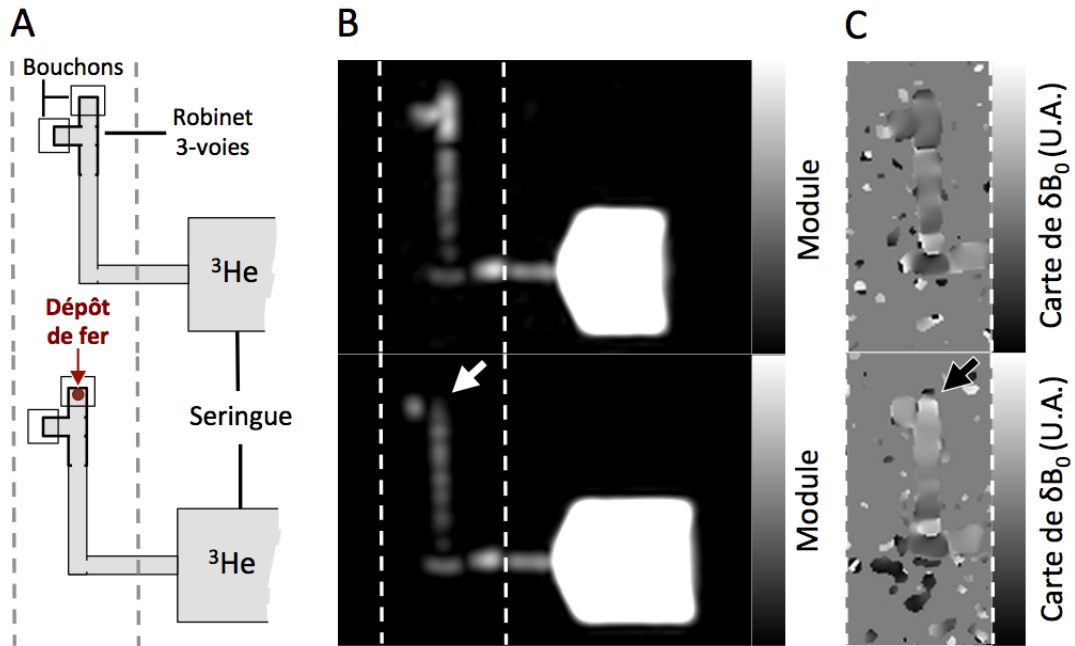


FIGURE 4.2.7 : Localisation du dépôt de fer dans un fantôme simple. (A) Schéma du montage expérimental. (B) Image de module et (C) Carte de δB_0 .

profil d'amplification et correction de phase aléatoire.

4.2.3.3 Étude dans l'acinus de Kitaoka

Les algorithmes de Kitaoka [119] permettent de modéliser l'acinus pulmonaire comme une structure labyrinthique branchée où l'on ne franchit qu'une seule fois chaque point de passage (Fig. 4.2.8).

Les travaux récents de Habib *et al.* [102, 103] se sont inspirés des algorithmes de Kitaoka pour construire un modèle physique de l'acinus pulmonaire afin d'étudier l'atténuation du signal RMN causée par la diffusion du gaz (Fig. 4.2.9).

Cette étude a permis de valider par l'expérience les simulations numériques décrivant l'atténuation du signal RMN pour différents régimes de diffusion dans l'acinus pulmonaire.

Nous avons adapté ce modèle pour étudier l'effet de sources ponctuelles, à l'image de dépôts localisés dans l'acinus, sur le signal de l'hélium-3 hyperpolarisé. Nous avons volontairement utilisé des gammes de concentration très différentes pour mesurer la sensibilité de l'IRM à l'effet des oxydes de fer superparamagnétiques.

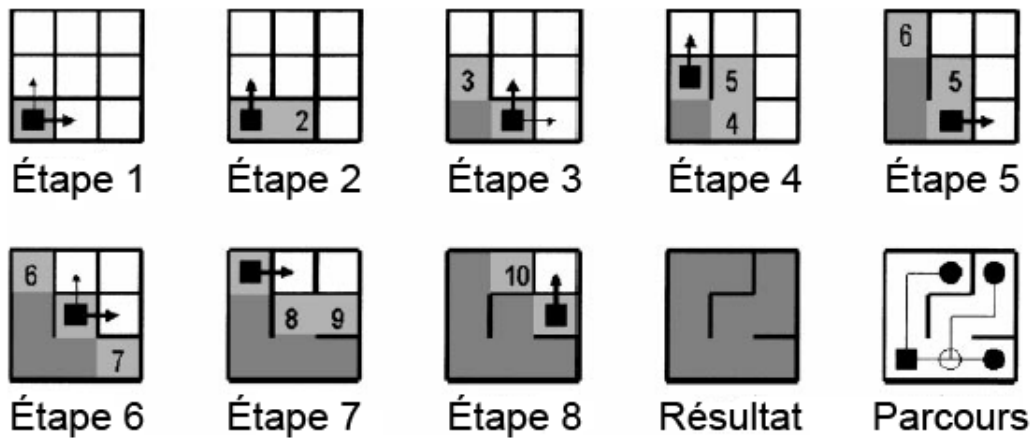


FIGURE 4.2.8 : Principe de l'algorithme labyrinthe de Kitaoka, expliqué en deux dimensions sur une matrice 3×3 . Le point de départ est situé en bas à gauche. Pour chaque étape, les cellules actives sont indiquées par un carré noir et les directions possibles par des flèches. Lorsque plusieurs directions sont possibles, la direction sélectionnée est indiquée par une flèche plus large. Après l'étape 8, un labyrinthe branché est élaboré. Les intersections sont représentées par des \circ , les points d'arrivée par des \bullet . Adapté de [119].

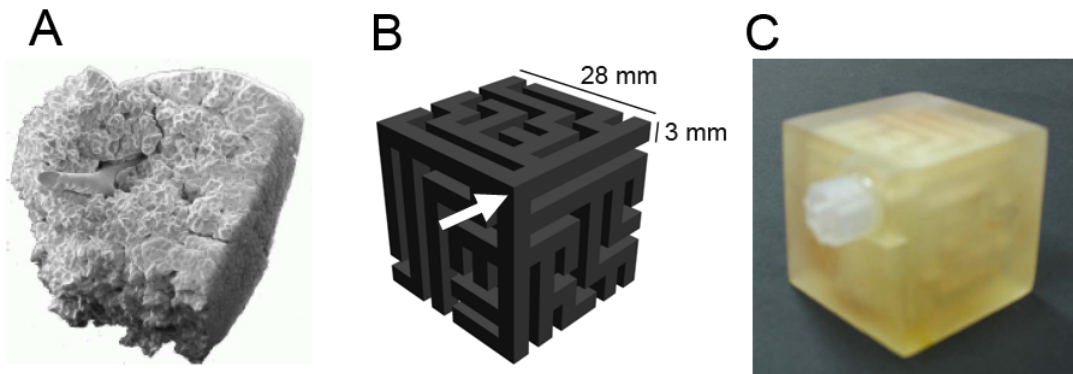


FIGURE 4.2.9 : Représentation du modèle d'acinus utilisé dans les travaux de Habib *et al.* (A) Moulage d'un acinus pulmonaire humain [214]. (B) Géométrie branchée d'un modèle d'acinus réalisé selon les algorithmes de Kitaoka [119]. La flèche blanche désigne le point d'entrée dans le modèle. (C) Réalisation du modèle en résine époxy par stéréolithographie [102, 103].

Méthodes

Nous avons fait réaliser par stéréolithographie un cube selon la topologie décrite pour un acinus pulmonaire sain dans les travaux de Habib *et al.* [103]. Nous avons placé 6 ouvertures à l'extrémité de certains parcours du labyrinthe (Fig. 4.2.10), refermées ensuite avec des bouchons Luer-lock®. Le montage a été placé dans l'IRM, puis le cube a été nettoyé à plusieurs reprises par des épisodes successifs de remplissage à l'azote puis de mise sous vide. L'hélium-3 hyperpolarisé a été injecté dans le cube sous vide puis une première série d'images a été acquise.

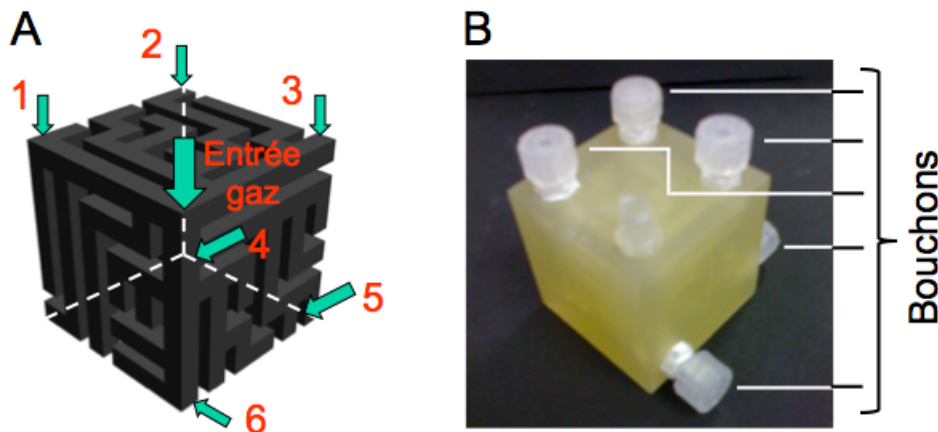


FIGURE 4.2.10 : Représentation du cube de Kitaoka réalisé pour les expériences de dépôt de fer. (A) Géométrie branchée sur laquelle apparaît la disposition des 6 ouvertures ajoutées. (B) Réalisation du modèle en résine époxy par stéréolithographie.

Nous avons ensuite déposé différentes quantités de fer (Sinerem®, Guerbet, France) sur des bouchons neutres que nous avons disposés au niveau des ouvertures réalisées. L'intérieur du cube a fait l'objet de plusieurs nettoyages (azote, vide) avant l'acquisition de nouvelles images.

Nous avons utilisé une séquence d'écho de gradients 3D à 2 échos entrelacés, comme décrite dans l'expérience précédente, avec les paramètres suivants : matrice $56 \times 28 \times 31$, FOV = $112 \times 56 \times 62$ mm, TE/TR = 3,8/9,1 ms, $\Delta TE = 2$ ms, $\alpha = 3,12^\circ$.

Le RSB des images a été calculé en faisant le rapport du module du signal sur l'écart type du bruit mesuré sur la partie réelle de celui-ci. Nous avons calculé les cartes de variation du champ magnétique statique en présence et en l'absence de fer avec pour objectif de ne garder que la contribution du fer. Pour ce faire, nous avons légèrement modifié l'équation 4.2.8 en réalisant au préalable la soustraction des cartes de phase pour un même temps d'écho, mais correspondant aux deux conditions expérimentales différentes en présence et en l'absence des dépôts de fer. La contribution au champ magnétique des dépôts de fer peut s'écrire directement sous la forme :

$$\delta B_{0fer} = \frac{\Phi^{TE_i}_{fer} - \Phi^{TE_i}_{référence}}{\gamma \cdot TE_i}, \text{ où } i = 1, 2 \quad (4.2.9)$$

Ainsi, la carte de variation de champ dérivée de la soustraction de ces cartes de phase permet de ne garder que les effets induits par le dépôt de fer sur le champ magnétique statique. Pour que cette opération soit possible, il est primordial que les cartes soustraites, correspondant à des conditions d'expérience différentes, soient spatialement normalisées. En effet, la modification non prise en compte de la position du fantôme lors des acquisitions successives aurait pour conséquence un calcul de la carte de δB_0 erroné.

Résultats

Les résultats présentés sont donnés au niveau des bouchons 1, 2 et 3 (Fig. 4.2.11). Les bouchons 4 et 5 ne sont pas représentés car les dépôts trop importants qui ont été réalisés ont entraîné une perte totale de signal. Le bouchon 6 n'est pas représenté car des défauts de fabrication du fantôme (problème d'occlusion avec la résine époxy) ont bloqué l'accès du gaz à l'extrémité attenante.

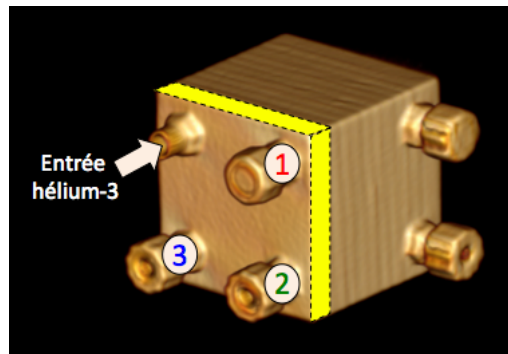


FIGURE 4.2.11 : Représentation de la région étudiée (en jaune) dans le cube de Kitaoka pour différentes quantités de fer déposées sur les bouchons 1, 2 et 3. Les quantités déposées sont exprimées en nanogramme (ng) de fer.

Le RSB maximum a été évalué à 35 pour la série d'images sans dépôt. Il tombe respectivement à 8,6 et 11 pour les images correspondant aux deux séries de dépôts réalisées. Pour mesurer l'effet T_2^* induit par la présence des dépôts d'oxyde de fer, nous avons d'abord envisagé de réaliser la cartographie de T_2^* du signal de l'hélium-3 dans le fantôme. Toutefois, le RSB faible des images avec dépôts de fer, associé à l'acquisition de seulement 2 échos entrelacés, sont des facteurs limitants pour ce type de traitement.

Il est également compliqué de comparer directement les images de module pour des expériences d'imagerie de l'hélium-3 réalisées séparément. En effet, la quantité d'aimantation administrée pour chaque expérience est susceptible de varier, notamment quand le gaz hyperpolarisé est issu de sessions de polarisation différentes, ou simplement par

effet T_1 dans l'intervalle de temps qui sépare deux expériences. Ainsi, nous avons finalement calculé l'atténuation provoquée par les dépôts d'oxyde de fer en normalisant le signal par rapport au maximum mesuré à chaque acquisition. Nous avons ensuite calculé le rapport des matrices de module à TE_1 entre les expériences comportant des dépôts de fer et l'expérience de référence sans dépôt.

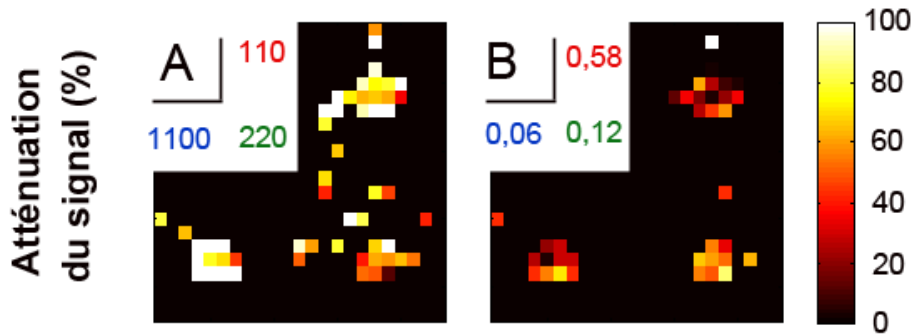


FIGURE 4.2.12 : Cartes d'atténuation du signal mesurées dans la région indiquée Fig. 4.2.11 pour (A) des dépôts de 110, 220 et 1100 ng de fer et (B) des dépôts de 0,58, 0,12 et 0,06 ng de fer.

Les résultats présentés Fig. 4.2.12 montrent une atténuation plus importante (entre 50 et 100%) du signal pour des quantités déposées estimées entre 110 et 1100 ng de fer (Fig. 4.2.12.A). En revanche, si l'atténuation est moins importante sur la figure 4.2.12.B (entre 10 et 55%), elle n'évolue clairement pas de manière linéaire avec la quantité de fer déposée.

L'information de phase, traduite par la carte de variation de B_0 présentée Fig. 4.2.13.A montrent des variations importantes, jusqu'à 3 ppm, induites par la présence de forts dépôts. La carte présentée Fig. 4.2.13.B montre des variations très faibles autour de 0, relatives à des dépôts beaucoup moins conséquents sur les bouchons 1, 2 et 3.

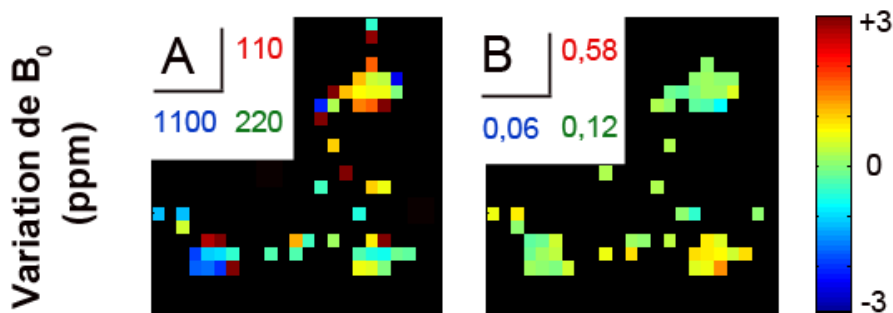


FIGURE 4.2.13 : Cartes de variation de B_0 mesurées dans la région indiquée Fig. 4.2.11 pour (A) des dépôts de 110, 220 et 1100 ng de fer et (B) des dépôts de 0,58, 0,12 et 0,06 ng de fer.

Discussion

La non linéarité de l'atténuation mesurée en fonction de la quantité de fer déposée (Fig. 4.2.12) peut s'expliquer de différentes manières. D'abord, pour considérer que l'effet de la quantité de fer agisse linéairement sur le champ magnétique statique, il faudrait véritablement que le dépôt soit une source ponctuelle dont la pondération en masse seule varierait au cours des expériences. Or, pour chaque expérience, le dépôt est effectué manuellement sur les bouchons tests au moyen d'une micropipette, entraînant des étalements du fer qui ne sont pas parfaitement ponctuels.

Ensuite, nous ne nous sommes pas assurés de maintenir une valeur de pression du gaz constante à l'intérieur du cube pour chacune des expériences menées. Or la diffusion de l'hélium-3 étant fortement influencée par la valeur de pression, celle-ci a pu jouer un rôle dans l'atténuation du signal observée.

Enfin, il est important de rappeler que l'effet escompté des agents superparamagnétiques sur le module des images repose sur une perte du signal de l'hélium-3 (raccourcissement du T_2^*). Ainsi, si l'on garde comme indicateur l'information de module, le processus de traitement des données vise à quantifier un phénomène qui amène le signal à diminuer de façon importante jusqu'à tomber dans le bruit, ou à un niveau d'intensité proche du bruit. La mesure qui peut en être faite, utilisée pour des calculs divers (atténuation, T_2^*), est par conséquent sujette à un facteur d'imprécision beaucoup plus important à mesure que le RSB est dégradé. Pour pallier ce phénomène, il pourrait être intéressant de multiplier le nombre d'échos entrelacés pour améliorer la dynamique de mesure, tout en s'assurant de rester dans un régime où le RSB reste élevé. Ce fut un des objets de recherche du travail de thèse de Kyle Hill [109, 110].

La mesure du déphasage des spins induit par la présence des dépôts d'oxyde de fer est une alternative qui permet de disposer d'une dynamique de mesure bien meilleure que celle offerte par l'étude du module (Fig. 4.2.14).

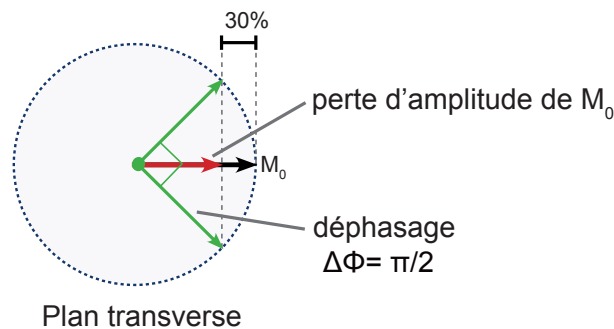


FIGURE 4.2.14 : Illustration de la sensibilité de mesure entre observation de la perte d'amplitude du signal (rouge) et mesure du déphasage des spins (vert). Une perte de 30% du signal est caractérisée par un déphasage de l'ordre de $\pi/2$.

En effet, l'amplitude de M_0 varie proportionnellement au sinus de l'angle de déphasage. À titre d'exemple, une perte d'amplitude de 30% du signal est caractérisée par un angle de déphasage de $\pi/2$ qui autorise une plus grande dynamique de mesure. C'est par ailleurs l'information que nous avons utilisée lors de l'analyse des variations de B_0 . Dans le cas présenté Fig. 4.2.13.B, la très faible variation de B_0 nous laisse penser que la sensibilité de mesure n'est pas optimale. En effet il est possible d'ajuster la sensibilité de la mesure de phase en modifiant le temps d'observation TE, en étendant par exemple la mesure à une amplitude de déphasage plus importante pour des quantités d'agent de contraste moins importantes dans la limite du RSB.

Les résultats de cette expérience laissent apparaître un bilan positif, notamment avec l'utilisation de l'information de phase (carte de δB_0) comme indicateur du dépôt de fer, et une première estimation de la sensibilité de la méthode de détection pour différentes quantités d'agent de contraste. Ils posent la nécessaire optimisation des conditions expérimentales et des paramètres de séquence. En particulier, la mesure à pression constante et l'ajustement du temps d'écho semblent des éléments essentiels à une interprétation pertinente des images réalisées.

4.2.3.4 Effet des aérosols sur les temps de relaxation T_1 et T_2^*

L'objet de cette étude était d'explorer d'autres indicateurs de la présence des aérosols sur le signal de l'hélium-3 dans un fantôme simple. Plus précisément, nous ne nous sommes plus placés dans le cadre d'une source ponctuelle de dépôt de fer, mais nous avons mesuré conjointement le T_1 et le T_2^* de l'hélium-3 en présence d'aérosols pour des concentrations différentes de fer. Pour chaque expérience réalisée, nous avons comparé la mesure à un fantôme témoin dans lequel il n'y avait pas d'aérosols.

Méthodes

Mode opératoire

Dans un premier temps, nous avons réalisé l'expérience pour un aérosol ne comportant pas d'agent de contraste superparamagnétique. Nous avons nébulisé une solution composée de sérum physiologique (0,9% NaCl) dans un environnement azoté afin d'éviter toute présence d'oxygène, puis nous avons prélevé 15 mL de nébulisat dans une seringue (aérosol 1). La seringue a ensuite été complétée par 15 mL d'hélium-3 hyperpolarisé. Une autre seringue (témoin 1) a été remplie de 15 mL d'azote, puis complétée par 15 mL d'hélium-3 hyperpolarisé.

Nous avons ensuite préparé une autre solution, également composée de sérum physiologique, à laquelle nous avons incorporé un agent de contraste superparamagnétique (Cliavist®, Bayer Schering Pharma, Allemagne). Le marquage a été réalisé pour une concentration en fer dans la solution atteignant $[Fe] = 0,53 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Nous avons nébulisé la solution dans un environnement azoté, puis nous avons prélevé 15 mL de nébulisat

dans une seringue (aérosol 2). La seringue a ensuite été complétée par 15 mL d'hélium-3 hyperpolarisé. Une seringue témoin (témoin 2) a été remplie de 15 mL d'azote, puis complétée par 15 mL d'hélium-3 hyperpolarisé.

Nous avons enfin préparé une solution pour laquelle nous avons doublé la concentration en fer et ainsi atteint $[Fe] = 1,06 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Nous avons nébulisé cette solution dans une atmosphère azotée, puis nous avons prélevé 20 mL de nébulisat dans une seringue (aérosol 3). La seringue a ensuite été complétée par 20 mL d'hélium-3 hyperpolarisé. Une seringue témoin (témoin 3) a été remplie de 20 mL d'azote, puis complétée par 20 mL d'hélium-3 hyperpolarisé.

Nous avons utilisé une séquence d'écho de gradients 3D à 2 échos entrelacés avec les paramètres suivants : matrice $52 \times 27 \times 10$, FOV = $104 \times 54 \times 100$ mm, TE/TR = 3,7/8,8 ms, $\Delta TE = 2$ ms, $\alpha = 2,5^\circ$. Pour chacune des séquences, le T_1 a été mesuré par l'acquisition de 5 dynamiques avec un intervalle de temps de 1 min.

Détermination de T_1

En IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé, la perte d'aimantation longitudinale est la conséquence des phénomènes de relaxation des noyaux d'hélium-3 hyperpolarisé dans un environnement donné, à laquelle s'ajoute les pertes par angle induites par la séquence d'imagerie. La calibration angulaire permet d'avoir une bonne estimation de l'angle de basculement effectué et il devient alors possible de corriger le signal mesuré de la perte par angle :

$$S_{corr}^{n_{RF}} = \frac{S_{mes}}{\cos^{n_{RF}-1}(\alpha)} \quad (4.2.10)$$

avec :

n_{RF} : nombre d'excitations RF

α : valeur de l'angle de basculement

Ainsi nous pouvons considérer la décroissance de l'aimantation longitudinale dans le temps comme suivant une loi exponentielle décroissante selon :

$$S_{corr} = S_{corr}^1 \exp\left(-\frac{t}{T_1}\right) \quad (4.2.11)$$

L'ajustement exponentiel de la fonction 4.2.11 permet de déterminer la constante de temps T_1 . Pour chacune des expériences réalisées, la valeur moyenne et l'écart type propres aux T_1 mesurés ont été calculés.

Détermination de T_2^*

Le signal mesuré au temps d'écho TE_1 peut s'exprimer sous la forme :

$$S_{TE_1} = S_0 \exp\left(-\frac{TE_1}{T_2^*}\right) \quad (4.2.12)$$

L'entrelacement des échos, pour les séquences que nous avons utilisées, permet d'exprimer le signal au temps d'écho TE_2 sous la forme :

$$S_{TE_2} = S_0 \cos(\alpha) \exp\left(-\frac{TE_2}{T_2^*}\right) \quad (4.2.13)$$

Ainsi, le rapport $\frac{S_{TE_1}}{S_{TE_2}}$ permet d'isoler le terme T_2^* qui peut alors s'exprimer sous la forme :

$$T_2^* = \frac{TE_2 - TE_1}{\ln\left(\frac{S_{TE_1}}{S_{TE_2} \cos(\alpha)}\right)} \quad (4.2.14)$$

À partir de la première dynamique des images acquises, nous avons appliqué le calcul donné Eq. 4.2.14 dans le but d'avoir une estimation du T_2^* moyen de l'hélium-3, pour l'ensemble des coupes où le signal des seringues était mesuré, et pour les différentes compositions d'aérosol étudiées.

Cartes de variation de B_0

Nous avons également calculé les cartes de variation de B_0 afin de pouvoir comparer la sensibilité de mesure donnée par la cartographie du T_2^* obtenue à partir de l'atténuation de l'amplitude du signal et la cartographie du champ magnétique statique obtenue à partir de la phase du signal. Pour chaque expérience, nous nous sommes servis de la seringue témoin comme image de référence, et nous avons procédé comme décrit Eq. 4.2.9. Il nous a été ainsi possible de dresser une carte des perturbations du champ magnétique statique induites par la présence des aérosols marqués.

Résultats

Mesure de T_1

Après ajustement des courbes présentées Fig. 4.2.15, nous avons calculé un T_1 moyen de 1 min 40 s \pm 0, 60 s pour la seringue contenant l'aérosol 1 (sans fer) et 1 min 42 s \pm 0, 34 s pour la seringue témoin 1.

Pour l'expérience suivante, nous avons mesuré un T_1 de 1 min 50 s \pm 0, 65 s dans la seringue contenant l'aérosol 2, contre 1 min 55 s \pm 0, 88 s dans la seringue témoin 2 (Fig. 4.2.16). Nous remarquons une légère atténuation du T_1 pour la seringue contenant l'aérosol marqué, atteignant un écart de 5% avec celui mesuré pour la seringue témoin.

Pour la dernière expérience, nous avons mesuré un T_1 de $3 \text{ min } 2 \text{ s} \pm 0,8 \text{ s}$ dans la seringue contenant l'aérosol 3, contre $4 \text{ min } 24 \text{ s} \pm 3,7 \text{ s}$ dans la seringue témoin 3 (Fig. 4.2.17), soit une différence de près de 25%. On note ici une décroissance sensible du T_1 , pour la seringue contenant l'aérosol 3.

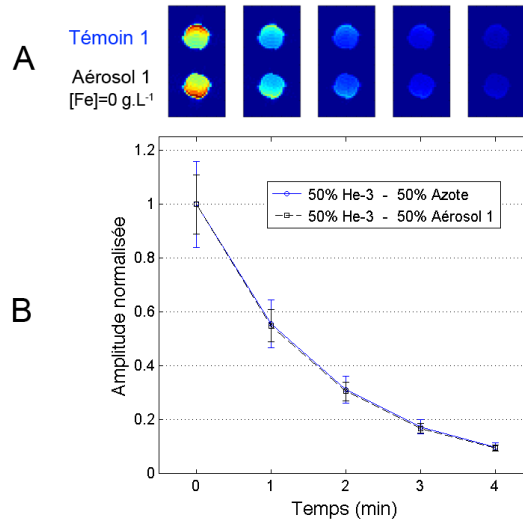


FIGURE 4.2.15 : (A) Images de module et (B) graphique représentant la valeur moyenne normalisée en fonction du temps du signal de l'hélium-3 dans la seringue contenant l'aérosol 1 ainsi que dans la seringue témoin 1. Coupe axiale centrale pour 5 dynamiques séparées de 1 min sur un FOV = $104 \times 54 \times 100 \text{ mm}$ avec voxel = $(2 \times 2 \times 10) \text{ mm}^3$, TE/TR = 3,7/8,8 ms, $\Delta TE = 2 \text{ ms}$, $\alpha = 2,5^\circ$.

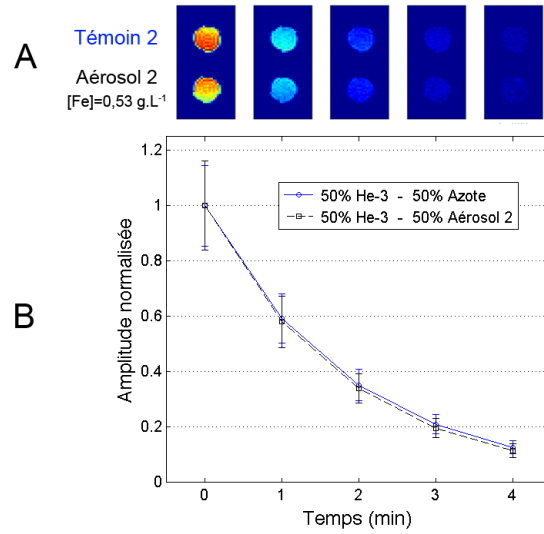


FIGURE 4.2.16 : (A) Images de module et (B) graphique représentant la valeur moyenne normalisée en fonction du temps du signal de l'hélium-3 dans la seringue contenant l'aérosol 2 ainsi que dans la seringue témoin 2. Coupe axiale centrale pour 5 dynamiques séparées de 1 min sur un FOV = 104×54×100 mm avec voxel = (2 × 2 × 10) mm³, TE/TR = 3,7/8,8 ms, $\Delta TE = 2$ ms, $\alpha = 2,5^\circ$.

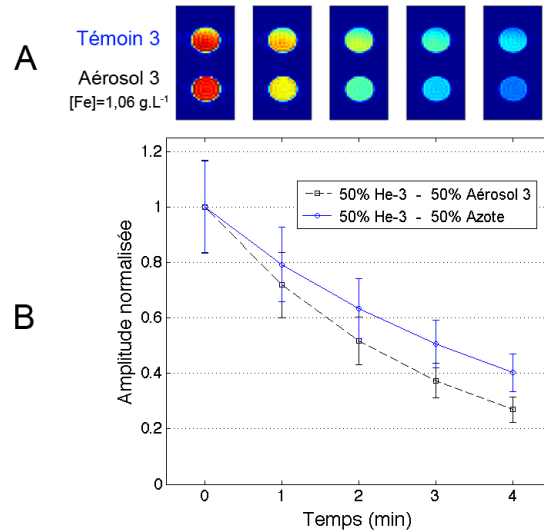


FIGURE 4.2.17 : (A) Images de module et (B) graphique représentant la valeur moyenne normalisée en fonction du temps, pour chaque dynamique, du signal de l'hélium-3 dans la seringue contenant l'aérosol 3 ainsi que dans la seringue témoin 3. Coupe axiale centrale pour 5 dynamiques séparées de 1 min sur un FOV = 104×54×100 mm avec voxel = (2 × 2 × 10) mm³, TE/TR = 3,7/8,8 ms, $\Delta TE = 2$ ms, $\alpha = 2,5^\circ$.

Mesure de T_2^* et cartes de variation de B_0

Nous avons mesuré une durée de vie moyenne du signal, T_2^* , de $3,4 \pm 0,2$ ms pour la seringue comprenant l'aérosol 1 (sans fer), qu'il faut comparer à un T_2^* moyen de $3,9 \pm 0,8$ ms mesuré sur la seringue témoin 1. La figure 4.2.18.A présente les cartes de T_2^* réalisées pour cette expérience au-dessus des cartes de variation de champ magnétique statique B_0 présentées Fig. 4.2.18.B. Les cartes de T_2^* sont relativement homogènes sur l'ensemble des coupes. Les cartes de δB_0 sont également homogènes, sans perturbation notable du champ magnétique statique.

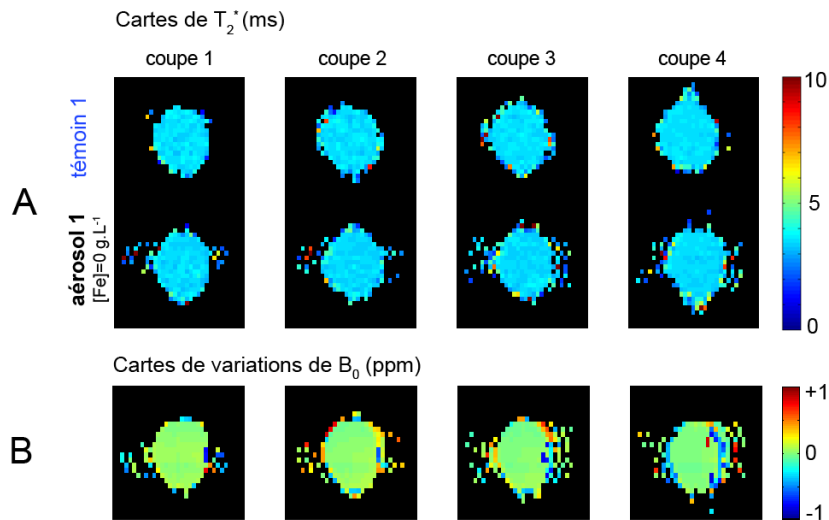


FIGURE 4.2.18 : (A) Cartes de durée de vie du signal d'hélium-3, T_2^* , et (B) cartes de variation de B_0 pour l'expérience réalisée avec l'aérosol 1 et la seringue témoin 1. Quatre coupes axiales centrales sur un FOV = $104 \times 54 \times 100$ mm avec voxel = $(2 \times 2 \times 10)$ mm³, TE/TR = 3,7/8,8 ms, $\Delta TE = 2$ ms, $\alpha = 2,5^\circ$.

L'expérience réalisée avec l'aérosol 2 révèle des durées de vie du signal assez proches de celles mesurées pour l'expérience précédente, avec une mesure moyenne de $3,8 \pm 0,5$ ms dans la seringue témoin 2, et $3,7 \pm 0,7$ ms dans la seringue contenant l'aérosol 2. La figure 4.2.19.A ne montre pas de différence entre les cartes de T_2^* mesurées pour les deux seringues. Celles-ci sont relativement homogènes - avec un écart-type inférieur à 15% - malgré la présence de particules superparamagétiques. On note en revanche que les cartes de δB_0 (Fig. 4.2.19.B) ne sont pas homogènes, avec des perturbations du champ magnétique statique qui peuvent s'élever jusqu'à 0,5 ppm.

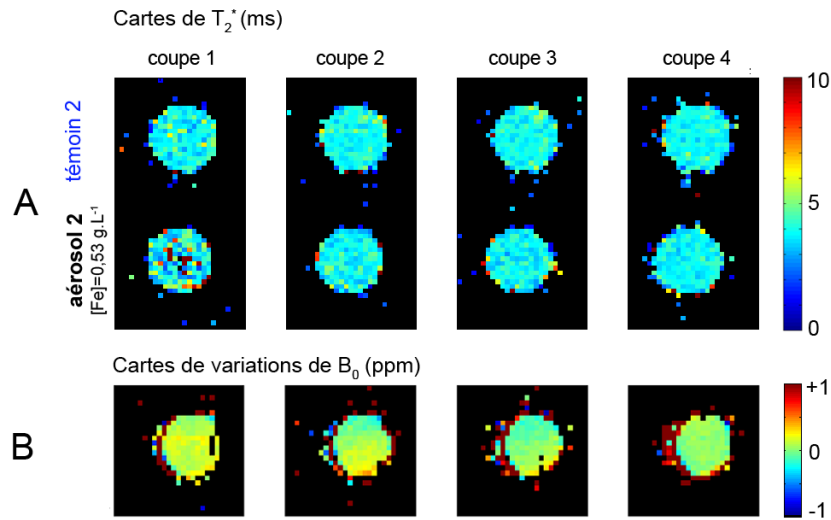


FIGURE 4.2.19 : (A) Cartes de durée de vie du signal d'hélium-3, T_2^* , et (B) cartes de variation de B_0 pour l'expérience réalisée avec l'aérosol 2 et la seringue témoin 2. Quatre coupes axiales centrales sur un FOV = $104 \times 54 \times 100$ mm avec voxel = $(2 \times 2 \times 10)$ mm³, TE/TR = 3,7/8,8 ms, $\Delta TE = 2$ ms, $\alpha = 2,5^\circ$.

Les mesures de durée de vie du signal d'hélium-3, T_2^* , relevées pour la seringue contenant l'aérosol 3 montrent clairement des différences avec celles relevées pour la seringue témoin 3 (Fig. 4.2.20.A). On note une valeur moyenne de $6,1 \pm 0,4$ ms pour celle contenant l'aérosol contre $8,8 \pm 0,7$ ms dans la seringue témoin, soit un écart de 31%. La valeur de T_2^* mesurée pour chacune des seringues est homogène sur l'ensemble des coupes imagées. Les valeurs de T_2^* mesurées ici diffèrent de celles mesurées pour les deux expériences précédentes car le volume de remplissage en gaz des seringues était également différent, avec pour conséquence un rapport surface/volume inférieur prolongeant sensiblement la durée de vie du signal. Les cartes de δB_0 présentent des variations notables (Fig. 4.2.20.B), jusqu'à 1 ppm, avec une distribution des inhomogénéités qui peut varier spatialement selon les coupes.

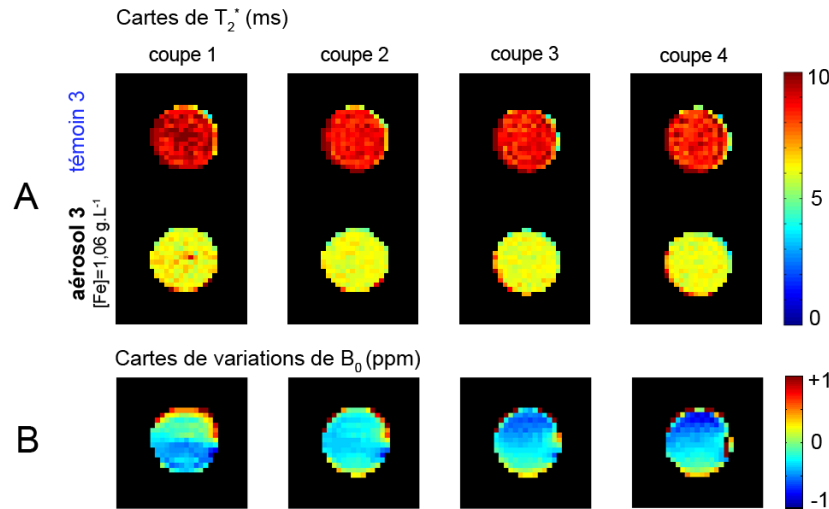


FIGURE 4.2.20 : (A) Cartes de durée de vie du signal d'hélium-3, T_2^* , et (B) cartes de variation de B_0 pour l'expérience réalisée avec l'aérosol 3 et la seringue témoin 3. Quatre coupes axiales centrales sur un FOV = $104 \times 54 \times 100$ mm avec voxel = $(2 \times 2 \times 10)$ mm³, TE/TR = 3,7/8,8 ms, $\Delta TE = 2$ ms, $\alpha = 2,5^\circ$.

Discussion

Mesure de T_1

Les mesures de T_1 nous permettent de remarquer que les gouttelettes d'aérosols en l'absence de fer (Fig. 4.2.15) n'ont quasiment aucun effet sur la relaxivité des atomes d'hélium-3. Nous remarquons une très légère baisse de T_1 avec l'aérosol 2 et une diminution beaucoup plus marquée avec l'aérosol 3, pour lequel la concentration en fer dans la solution nébulisée a été doublée. Une fois de plus, l'effet mesuré des aérosols marqués sur le signal ne varie pas de façon linéaire. Les variabilités dans le mode opératoire (prélèvement des aérosols, pression à l'intérieur des seringues), ou tout simplement la non linéarité des effets provoqués par l'agencement particulier d'une multitude de dipôles magnétiques sur les noyaux d'hélium-3, peuvent expliquer ce phénomène.

Nous notons également une différence non négligeable pour les valeurs de T_1 mesurées dans l'expérience avec l'aérosol 3 ($\approx 3-4$ min), et celles mesurées dans les 2 précédentes expériences (< 2 min). Ce phénomène peut s'expliquer par un rapport surface/volume qui décroît à mesure que le volume de remplissage des seringues est augmenté. Ainsi, les noyaux d'hélium-3 sont moins affectés par les phénomènes de relaxation aux parois, ce qui a pour effet d'allonger le T_1 .

Les variations observées, notamment avec l'aérosol 3, sont un bon indicateur des quantités de fer nécessaires à une bonne sensibilité de mesure par IRM. La mesure de T_1 est donc un indicateur qui permet de mesurer l'effet des aérosols marqués sur le signal de

l'hélium-3.

En revanche, ce mode opératoire est rendu possible *in vitro* mais apparaît peu réalisable *in vivo*. L'effet des aérosols marqués (pour les gammes de concentrations testées) reste faible, et celui-ci serait par ailleurs mis en concurrence avec différents mécanismes de relaxation longitudinale pour les spins nucléaires d'hélium-3 telle que l'oxygène paramagnétique et les gradients de champ magnétique induits par les différences de susceptibilités aux interfaces air-tissu à l'intérieur du poumon. Ces deux mécanismes de relaxation domineraient *in vivo* l'évolution du moment magnétique total de l'hélium-3 hyperpolarisé. Pour l'expérience réalisée ici, nous nous sommes placés dans des conditions presque optimales, où nous avons pu limiter les mécanismes de relaxations autres que ceux associés aux aérosols et aux parois des seringues. Toutefois, nous n'avons pas pu limiter la diffusion presque libre des atomes d'hélium-3 et les cartes de T_1 ne donnent pas ici une mesure régionale dans chaque voxel, mais seulement une mesure globale moyennée dans la seringue par diffusion sur une échelle de temps inter-dynamique (1 min). La distance parcourue par les atomes d'hélium-3, alors de 168 mm, couvre l'ensemble de la seringue. Ce dernier point explique l'homogénéité des cartes obtenues.

Mesure de T_2^*

Les mesures de T_2^* ne font pas apparaître d'effet particulier des aérosols lorsque ceux-ci ne contiennent pas de fer (Fig. 4.2.18). Les cartes de variation de B_0 confirment ce constat, avec des valeurs essentiellement nulles ou proches de 0. De façon similaire à ce qui a pu être mesuré lors de l'investigation du T_1 , le T_2^* de l'hélium-3 en présence de l'aérosol 2, contenant pourtant du fer, ne diffère pas de celui mesuré pour la seringue témoin 2. Les cartes de variation de B_0 semblent en revanche indiquer des hétérogénéités que la mesure de T_2^* ne permet pas d'apprécier (Fig. 4.2.19). Ce constat est amplifié pour la seringue contenant l'aérosol 3 (Fig. 4.2.20). Bien que les cartes de T_2^* montrent une baisse significative de l'ordre de 30%, celle-ci est relativement homogène sur l'ensemble des coupes représentées. Or les cartes de variation de B_0 montrent des perturbations qui ne sont pas homogènes spatialement, qui pourraient être un indicateur de la répartition des particules de fer nébulisées dans les seringues imagées. Nous pouvons constater que ces inhomogénéités varient d'une coupe à l'autre.

Nous pouvons donc dire que la mesure du T_2^* est sensible à la présence des aérosols marqués, et que nous parvenons à mesurer leurs effets dans les gammes de concentrations de fer testées. Cet indicateur est toutefois dépassé par l'établissement des cartes de variation du champ magnétique statique qui, par leur plus grande sensibilité, autorisent une véritable discrimination spatiale de la distribution des aérosols dans les fantômes (Fig. 4.2.14). L'information délivrée par la phase, à l'origine du calcul des cartes de variation de B_0 , apparaît être l'outil de choix pour évaluer la présence d'aérosols marqués avec des oxydes de fer superparamagnétiques. L'effet de la diffusion ne joue plus ici sur la même échelle de temps inter-dynamique mais sur une échelle de temps, bien plus

réduite, donnée par le temps d'écho ($TE_1=3,7$ ms, $TE_2=5,7$ ms). La distance parcourue par les atomes d'hélium-3, alors comprise entre 1,3 et 1,6 mm, est bien inférieure à la taille du voxel, $(2 \times 2 \times 10)$ mm³.

4.2.3.5 Preuve de concept sur le petit animal

Les expériences menées précédemment font émerger l'information portée par la phase du signal d'hélium-3, au travers du calcul des variations de B_0 , comme indicateur privilégié du dépôt d'aérosols superparamagnétiques. Nous avons testé cette méthode d'évaluation *in vivo* sur le petit animal, pour différentes administrations d'aérosols.

Méthodes

Deux rats mâles Sprague-Dawley ont été anesthésiés avec un mélange kétamine-xylozine, puis trachéotomisés afin d'insérer dans la trachée une canule pour l'administration de gaz et d'aérosols (Fig. 4.2.21). Une solution de sérum physiologique a été marquée avec un agent de contraste superparamagnétique (Sinerem®, Guerbet, France), jusqu'à obtenir une concentration en fer $[Fe]$ de $0,22 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Cette solution a ensuite été nébulisée avec un nébuliseur ultrasonique (35-B, Devilbiss, États-Unis).

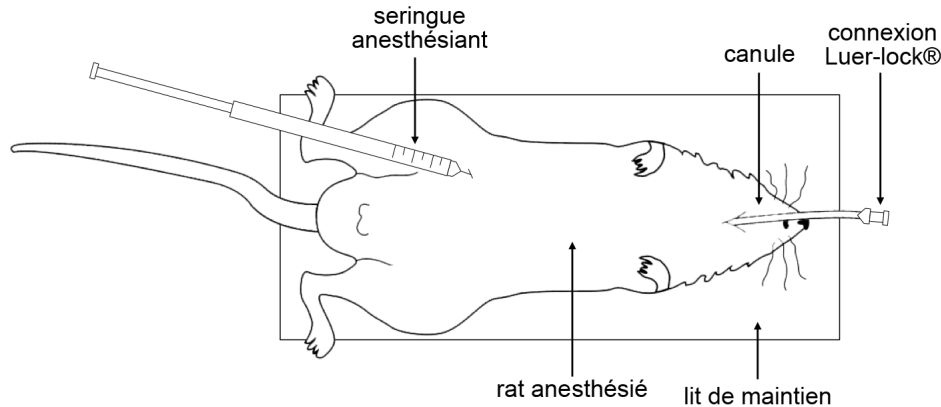


FIGURE 4.2.21 : Schéma illustrant un rat anesthésié et trachéotomisé disposé sur son lit de maintien avant d'être placé dans l'IRM.

Le rat n°1 a été placé dans l'IRM et raccordé à un ensemble de tubulures dont l'une était connectée à un capteur de pression (Fig. 4.2.22). Nous lui avons administré manuellement un premier bolus d'hélium-3 hyperpolarisé à partir d'une seringue de 20 mL, jusqu'à atteindre une pression de 28 mbar, pour l'amener à la capacité pulmonaire totale. Une fois le bolus administré, le rat a été placé en apnée puis une première série d'images a été réalisée. Nous avons ensuite prélevé 10 mL d'aérosol que nous lui avons administré *via* la canule, puis nous lui avons imposé une apnée de 10 s. Cette apnée avait pour but de laisser à l'aérosol un temps minimal pour se déposer à l'intérieur des poumons de l'animal. Une fois l'apnée terminée, nous avons patienté quelques secondes puis nous lui avons administré un second bolus d'hélium-3 hyperpolarisé ($P=22 \text{ mbar}$). Enfin, une seconde séquence d'imagerie a été lancée après une nouvelle mise en apnée de l'animal.

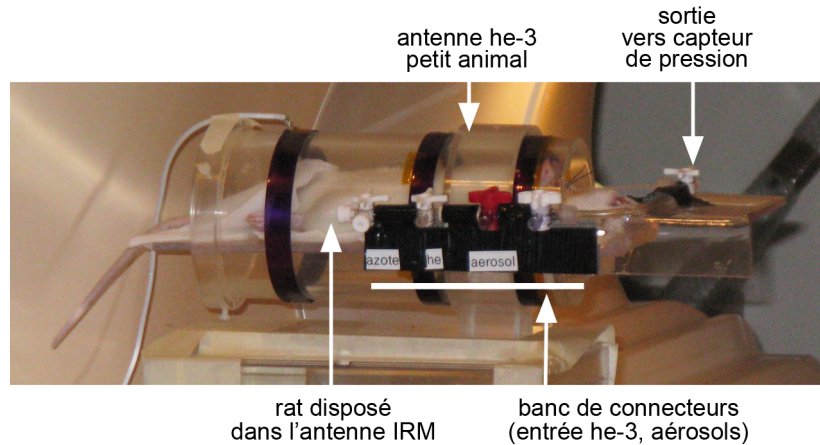


FIGURE 4.2.22 : Rat placé dans l'antenne IRM et raccordé à un ensemble de connecteurs pour l'administration des fluides (He-3, aérosols) et la surveillance de la pression.

Le rat n°2 a été placé dans l'IRM et raccordé au même ensemble de tubulures que pour le rat n°1. Une première série d'images a été réalisée après administration d'un bolus d'hélium-3 hyperpolarisé ($P=28$ mbar). Nous avons ensuite prélevé 1 mL d'aérosol que nous avons mélangé à 9 mL d'air. Le mélange a été administré au rat *via* la canule, puis l'animal a été maintenu durant 15 s en apnée. Une seconde administration d'hélium-3 a été réalisée ($P=30$ mbar) et suivie d'une séquence d'imagerie. Nous avons à nouveau réalisé un mélange comprenant 1 mL d'aérosol complété de 9 mL d'air que nous avons administré à l'animal. Une dernière séquence d'imagerie a été réalisée après administration d'un dernier bolus d'hélium-3 hyperpolarisé ($P=27$ mbar).

Nous avons utilisé une séquence d'écho de gradients 3D à 2 échos entrelacés avec les paramètres suivants : matrice $40 \times 40 \times 19$, FOV = $80 \times 80 \times 30$ mm, TE/TR = 3,9/9,2 ms, $\Delta TE = 2$ ms, $\alpha = 2,4^\circ$.

Le RSB des images a été calculé en faisant le rapport du module du signal sur l'écart type du bruit mesuré sur la partie réelle de celui-ci. Les cartes de variation de B_0 de référence (sans dépôt) ont été calculées à partir des 2 échos correspondant à l'image réalisée sans administration préalable d'aérosols, selon l'équation 4.2.8. Un algorithme de dépliement de phase, $\mathbb{Z}\pi M$ [64], a été appliqué sur ces jeux de données. Les cartes de variation de B_0 après administration des aérosols ont été calculées selon l'équation 4.2.9, à TE₁, et ont ainsi permis de ne garder que la contribution du fer sur la perturbation du champ magnétique statique. Ces données n'ont pas requis l'utilisation d'algorithmes de dépliement de phase. Pour le rat n°2, la soustraction des cartes de δB_0 calculées après chaque administration d'aérosols a été également calculée.

Résultats

Rat 1

Le RSB maximum sur les images avant dépôt est estimé à 37. Il tombe à 32 sur les images acquises après administration de l'aérosol. Les images de module acquises avant administration des aérosols sont présentées Fig. 4.2.23 pour le temps d'écho TE_1 . La résolution spatiale isotrope de 2 mm des images nous permet de distinguer assez bien la trachée et les deux bronches principales.

L'erreur moyenne sur la mesure de phase avant administration d'aérosols vaut $0,051 \pm 0,033$ rad. Les cartes de variation de B_0 attenantes sont présentées Fig. 4.2.24. L'erreur moyenne sur la mesure des variations de B_0 vaut $0,05 \pm 0,02$ ppm. Les cartes sont relativement homogènes et présentent des valeurs majoritairement nulles ou proches de 0 sur l'ensemble des coupes présentées. On remarque toutefois certaines régions où ces valeurs, bien qu'homogènes, sont supérieures à 0 et se distinguent nettement de la ligne de base.

L'erreur moyenne sur la mesure de phase après administration de 10 mL d'aérosols vaut $0,054 \pm 0,035$ rad. Les cartes de variation de B_0 attenantes sont présentées Fig. 4.2.25. L'erreur moyenne sur les cartes de variation de B_0 vaut $0,05 \pm 0,03$ ppm. Des perturbations notables du champ magnétique statique apparaissent sur l'ensemble du volume, particulièrement élevées au niveau de la trachée, des deux bronches principales, dans les parties inférieures du poumon ou encore aux limites du volume, pouvant atteindre jusqu'à 2 ppm.

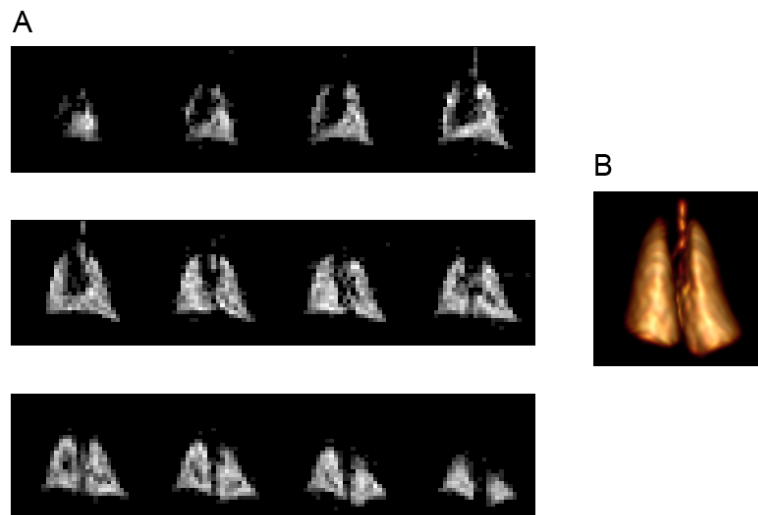


FIGURE 4.2.23 : (A) Images de module des différentes coupes acquises pour le rat 1 avant administration d'aérosols. (B) reconstruction volumique des poumons à partir des images de module. Séquence d'écho de gradient 3D à 2 échos entrelacés : Matrice $40 \times 40 \times 19$, FOV = $80 \times 80 \times 30$ mm, TE/TR = 3,9/9,2 ms, $\Delta TE = 2$ ms, $\alpha = 2,4^\circ$.

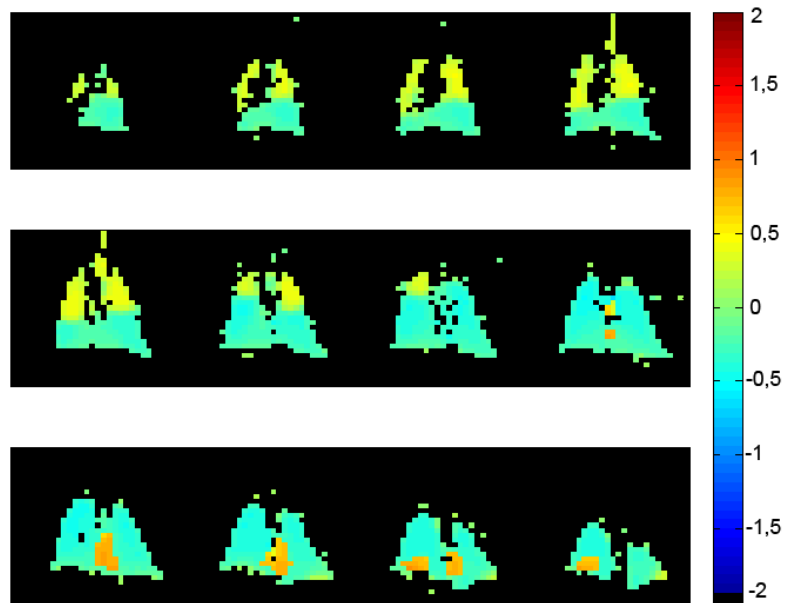


FIGURE 4.2.24 : Cartes de variation du champ magnétique statique B_0 , calculées à partir de l'équation 4.2.8, pour l'ensemble des coupes acquises sur le rat 1 avant administration d'aérosols.

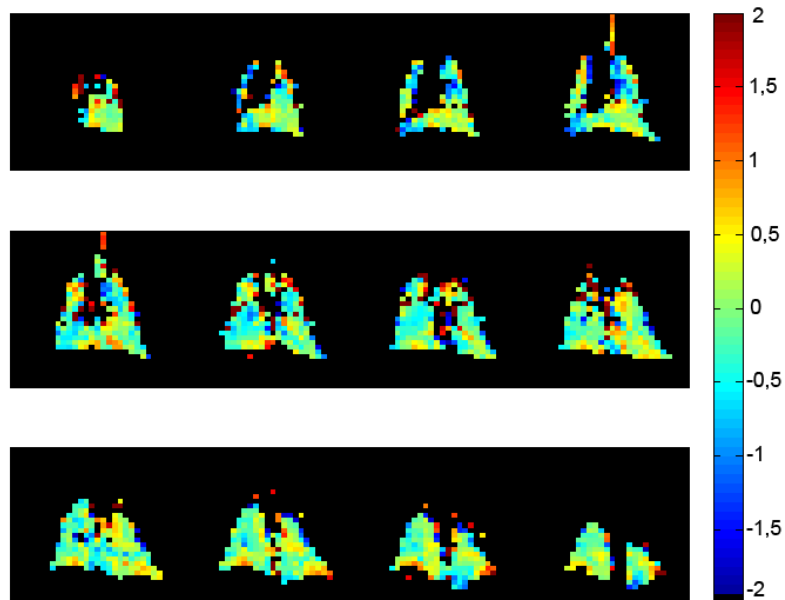


FIGURE 4.2.25 : Cartes de variation du champ magnétique B_0 , calculées à partir de l'équation 4.2.9, pour l'ensemble des coupes acquises sur le rat 1 après administration de 10 mL d'aérosols.

Rat 2

Le RSB maximum sur les images avant dépôt est estimé à 107. Il tombe à 21 sur les images acquises après la première administration d'aérosols. Les images de modules acquises à TE_1 avant administration des aérosols sont présentées Fig. 4.2.26. La résolution spatiale isotrope de 2 mm des images nous permet encore de différencier clairement la trachée et les premières générations de bronches.

L'erreur moyenne sur la mesure de phase avant administration d'aérosols vaut $0,044 \pm 0,01$ rad. Les cartes de variation du champ magnétique B_0 de référence sont présentées Fig. 4.2.27. L'erreur moyenne sur la mesure vaut $0,04 \pm 0,03$ ppm. Les perturbations sur le champ magnétique statique sont relativement homogènes et présentent des valeurs majoritairement proches de 0 sur l'ensemble des coupes présentées. Comme pour le rat n°1, on remarque des zones d'homogénéité de valeur moyenne supérieure à 0.

L'erreur moyenne sur la mesure de phase après administration d'un premier mélange d'aérosols vaut $0,11 \pm 0,03$ rad. Les cartes de variation de B_0 correspondantes sont présentées Fig. 4.2.28. L'erreur moyenne sur la mesure des perturbations de B_0 vaut $0,07 \pm 0,03$ ppm. L'échelle de représentation a été ajustée entre -1 et 1 ppm afin de mieux observer la dynamique des perturbations sur le champ B_0 . On remarque des perturbations sur l'ensemble du volume, particulièrement importantes dans la trachée, aux limites du volume et au niveau des premières générations de bronches (Fig. 4.2.26).

Après administration d'un second mélange d'aérosols, le RSB maximum sur les images atteint 17. L'erreur moyenne sur la mesure de phase vaut $0,084 \pm 0,03$ rad, et l'erreur mesurée sur les cartes de variation de B_0 vaut en moyenne $0,05 \pm 0,025$ ppm. Les perturbations de B_0 deviennent plus intenses au niveau de certaines régions, notamment au niveau des bronches principales (Fig. 4.2.29). Ces changements, parfois légers et difficiles à percevoir, sont mis en relief par la différence des cartes de δB_0 entre la première et la seconde administration d'aérosols (Fig. 4.2.30). Celle-ci montre particulièrement clairement les endroits où le dépôt d'aérosol s'est accumulé lors de la seconde administration.

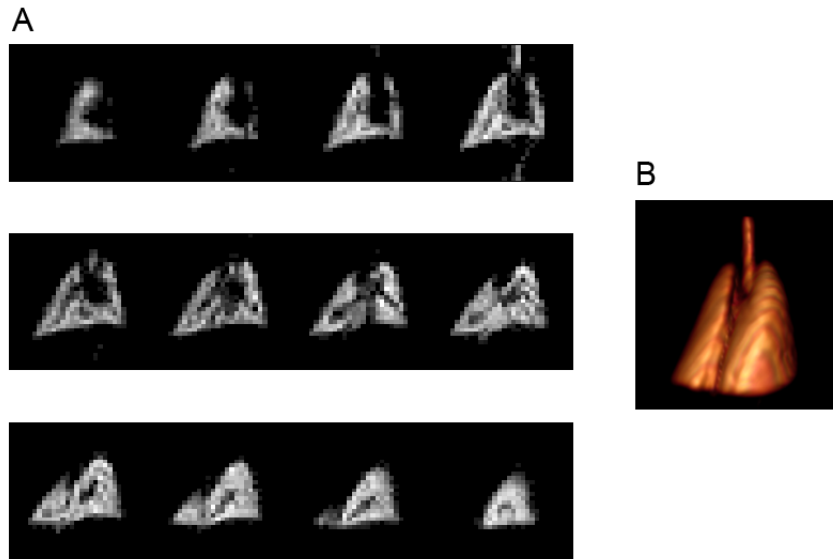


FIGURE 4.2.26 : (A) Images de module des différentes coupes acquises pour le rat 2 avant administration d'aérosols. (B) Reconstruction volumique des poumons à partir des images de module. Séquence d'écho de gradient 3D à 2 échos entrelacés : Matrice $40 \times 40 \times 19$, FOV = $80 \times 80 \times 30$ mm, TE/TR = 3,9/9,2 ms, $\Delta TE = 2$ ms, $\alpha = 2,4^\circ$.

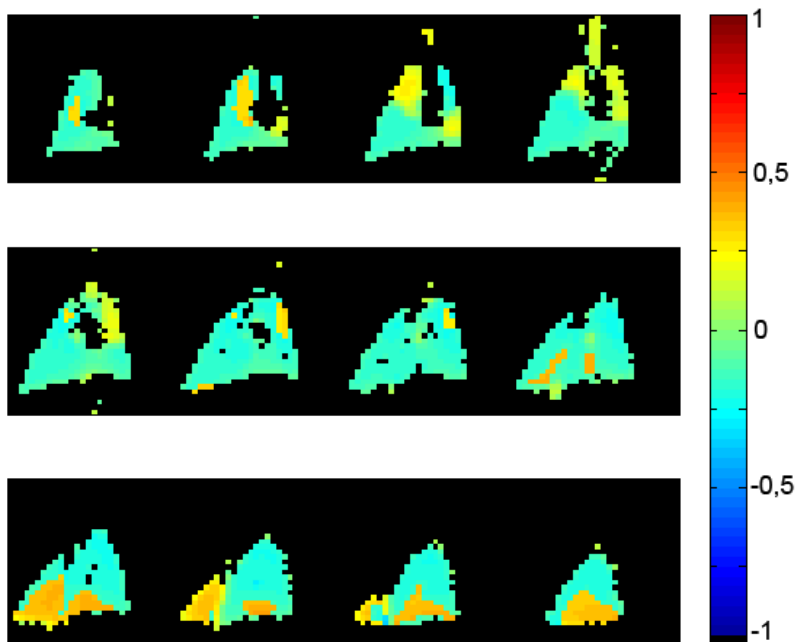


FIGURE 4.2.27 : Cartes de variation du champ magnétique statique B_0 , calculées à partir de l'équation 4.2.8, pour l'ensemble des coupes acquises sur le rat 2 avant administration d'aérosols.

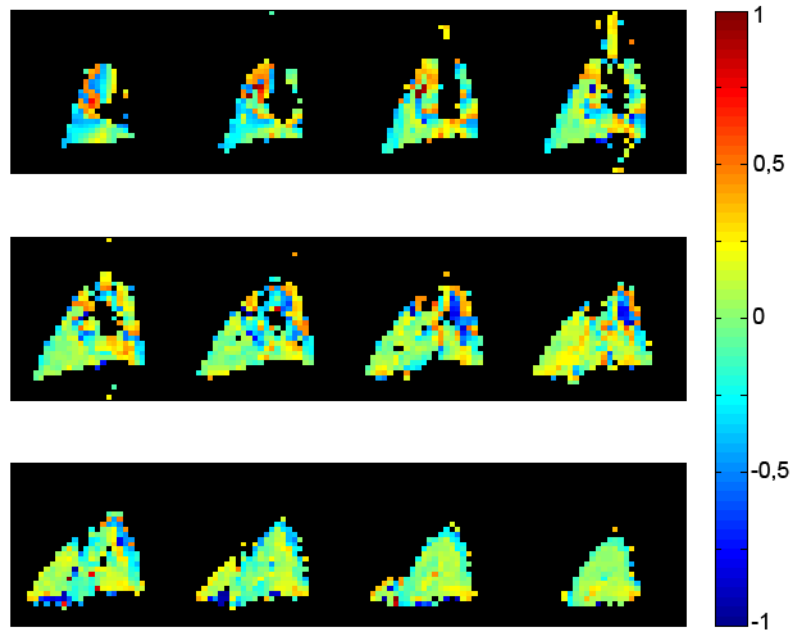


FIGURE 4.2.28 : Cartes de variation du champ magnétique B_0 , calculées à partir de l'équation 4.2.9, pour l'ensemble des coupes acquises sur le rat 2 après administration d'un premier mélange d'aérosols (1 mL aérosols + 9 mL air).

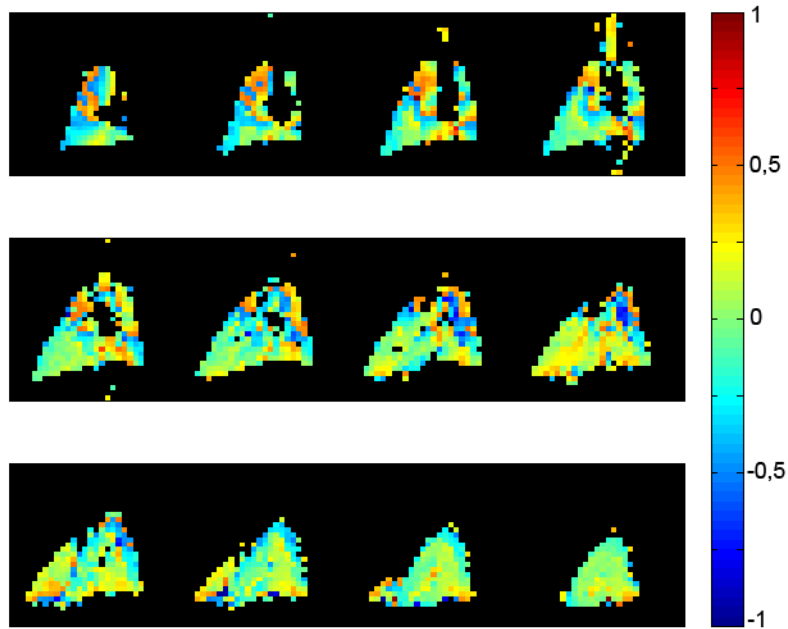


FIGURE 4.2.29 : Cartes de variation du champ magnétique B_0 , calculées à partir de l'équation 4.2.9, pour l'ensemble des coupes acquises sur le rat 2 après administration d'un second mélange d'aérosols (1 mL aérosols + 9 mL air).

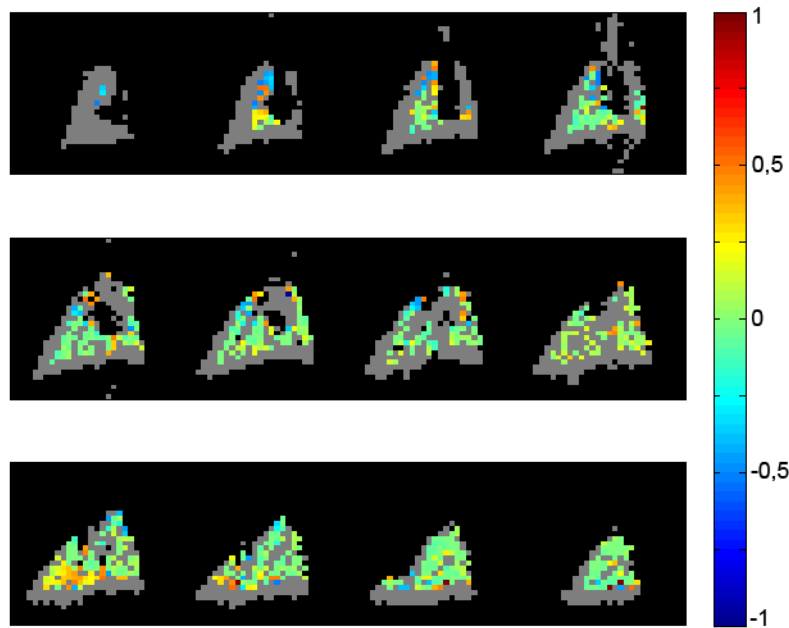


FIGURE 4.2.30 : Cartes de différence entre les cartes de δB_0 calculées après administration d'un second mélange d'aérosols (Fig. 4.2.29) et les cartes de δB_0 calculées après une première administration d'aérosols (Fig. 4.2.28).

Discussion

La cartographie des variations du champ magnétique B_0 donne la mesure locale du champ magnétique statique généré par les dépôts d'aérosols marqués en fer et administrés par voie inhalée *in vivo* dans les poumons de rat. Nous voyons clairement que pour les deux rats testés, les cartes calculées post-administration se distinguent des cartes de référence par la présence de perturbations régionalisées, témoins de la présence de nanoparticules de fer. Les perturbations observées au niveau des premières générations de bronches soulignent en l'occurrence l'importance du phénomène de dépôt par impaction. Cette série d'expériences nous a permis d'identifier les optimisations qui pourraient être faites et nous a permis de porter un regard critique sur les manques et éventuellement les limites de la méthode utilisée.

Les cartes de référence ne sont pas, sur l'ensemble, centrées sur B_0 ni de fait homogènes. Les écarts apparaissant dans ces cartes résultent de l'application de l'algorithme de dépliage. Ils pourraient être évités par l'adaptation des TE et ΔTE des séquences aux déphasages attendus afin de limiter les repliements. Nous pourrions aussi plus simplement nous limiter à l'acquisition d'un seul écho car notre approche ne nécessite plus finalement l'acquisition de 2 échos entrelacés (Eq. 4.2.9). Par la suite, la réduction du nombre d'excitations RF induite ainsi sur l'acquisition d'un seul écho nous permettrait soit un gain substantiel en résolution (augmentation du nombre d'excitations RF pour

un même écho) soit une amélioration du RSB (augmentation de l'angle de basculement).

Nous avons ici un échantillon de 2 rats, pour lesquels nous n'avons pas suivi exactement le même protocole d'administration des aérosols. Cet échantillon, trop restreint, ne nous permet pas de mener d'étude statistique sur les mesures qui ont pu être réalisées mais il pose la faisabilité et les voies d'optimisation de la technique.

En termes de reproductibilité du mode d'administration des fluides (aérosols, hélium-3), nous disposons d'une surveillance de la pression relativement précise mais peu stable, et sujette à des fluctuations rapides parfois très importantes en fonction du comportement de l'animal. Ainsi, l'administration manuelle qui était faite au petit animal ne nous permettait pas de contrôler les volumes envoyés avec précision. Le manque de reproductibilité associé à ce mode d'administration a des conséquences importantes sur l'interprétation qui peut être faite des résultats. En termes de traitement des données, cela influe directement sur la pertinence des cartes de variation de B_0 calculées. En effet, les degrés d'inflation différents des poumons qui ont été obtenus lors de chaque expérience se traduisent par des cartes de phase qui ne sont pas directement superposables et qui nécessitent des opérations de recalage d'images. Cette étape induit inévitablement des biais que nous pourrions éviter si nous disposions d'un système reproductible d'administration. Au delà de l'aspect du traitement des données, la variabilité introduite par un mode d'administration manuel influe également sur les conditions de pression des fluides à l'intérieur des poumons de l'animal et change par définition les conditions opératoires de chaque expérience. En particulier, une variation des volumes alvéolaires implique une diffusion et une durée de vie du signal de l'hélium-3 différentes.

Il est aussi important de rappeler que les résultats obtenus n'apportent pas véritablement de quantification du dépôt d'aérosols. Nous sommes parvenus à mesurer les perturbations du champ magnétique statique induites par l'inhalation d'un nébulisat marqué par de l'oxyde de fer, mais nous ne pouvons pas dire à quelles quantités de fer correspondent ces variations de B_0 mesurées et où celles-ci ont été véritablement déposées dans les poumons. Il faudrait pour cela pouvoir remonter, à partir des cartes 3D de champ magnétique, aux sources magnétiques qui l'ont généré. Il s'agit d'un problème inverse mal posé pour lequel le nombre de dipôles magnétiques déposés sur les parois des poumons est différent du nombre d'équations déterminant la valeur du champ magnétique résultant et disponible en chaque voxel de la carte de champ magnétique mesurée. Des travaux récents s'intéressent à la quantification de sources magnétiques en IRM et montrent différentes approches possibles pour la résolution de ce problème inverse [55, 52, 54, 132, 53].

Enfin, pour valider notre méthode d'évaluation, il nous faudrait disposer d'outils de comparaison pour pouvoir corroborer la mesure que nous réalisons par IRM. D'un point de vue expérimental, cela implique la réalisation d'expériences avec plusieurs modalités d'imagerie, dont l'une constituerait une méthode de référence pour la quantification absolue des quantités déposées. Dans le domaine des aérosols pharmaceutiques, les tech-

niques de détection en médecine nucléaire font, en l'occurrence, office de référence. D'un point de vue strictement numérique, cela pourrait être implémenté avec des outils de simulation en mécanique des fluides, sur des modèles connus et éprouvés que nous pourrions valider ensuite par l'expérience. Les voies aériennes profondes sont particulièrement compliquées à modéliser et peu ouvertes à l'imagerie, mais les voies aériennes supérieures ont fait l'objet de nombreuses études à la fois théoriques et expérimentales [198, 79, 120].

Les résultats obtenus lors de cette série d'expériences sur le petit animal témoignent tant de la réussite d'élaboration d'une méthode d'investigation du dépôt d'aérosols que du fort potentiel présenté par l'IRM de l'hélium-3 utilisé à cette fin. La sensibilité de détection liée à l'usage de l'information de phase permet en effet ici de révéler la régionalisation du dépôt dans le poumon de rat à l'échelle du millimètre. Ces résultats préliminaires constituent un socle d'expériences qui nous permet aussi de mettre en relief les limites et manques que nous nous efforcerons par la suite de combler. Ils définissent les stratégies décrites dans la troisième partie de ce manuscrit en vue d'optimiser et surtout de valider notre méthode d'évaluation du dépôt d'aérosols.

**Validation de l'IRM de l'hélium-3
hyperpolarisé comme outil d'évaluation
du dépôt d'aérosols**

Chapitre 5

Approche multimodale dans les voies aériennes extrathoraciques

Le précédent chapitre décrit l'élaboration d'une voie originale d'investigation du dépôt d'aérosols par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé. Le processus de validation de cette méthode impose que celle-ci puisse être quantitative et comparée à d'autres techniques d'évaluation, notamment des techniques de référence, qui attesteront ou non de la pertinence de la mesure par IRM. Nous présentons ici une étude quantitative du dépôt d'aérosols par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé, confrontée à deux modalités théorique et expérimentale d'investigation du dépôt de particules dans les voies aériennes extrathoraciques.

5.1 IRM de l'hélium-3 et SPECT

Les techniques de détection en médecine nucléaire font actuellement office de référence pour l'évaluation du dépôt d'aérosols (voir 2.3.2.3). Nous avons comparé la mesure qui peut être réalisée en SPECT à celle que nous réalisons en IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé dans la région extrathoracique humaine.

La région extrathoracique définit les conditions d'entrée des aérosols dans l'appareil respiratoire. Elle peut être considérée comme un filtre, spécifique de la morphologie, caractérisant la transmission des aérosols vers l'arbre trachéobronchique. Cette géométrie a fait l'objet d'études approfondies dans le cadre d'investigations en médecine nucléaire [98, 97] ainsi que dans le cadre de simulations numériques du dépôt de particules [143, 224, 79, 221, 5]. Nous avons considéré cette géométrie car elle était également l'objet

d'études préalablement menées par le Centre de Recherche Claude Delorme (CRCD, Air-Liquide, France) en collaboration avec l'Equipe de Biomécanique Respiratoire et Cellulaire (IMRB, INSERM, Créteil, France) et l'IR4M [137, 184, 185]. Nous bénéficions ainsi du savoir-faire du groupe gaz médicaux en mécanique des fluides pour simuler le dépôt de particules dans une réplique numérique de cette géométrie (voir 5.2). Par ailleurs, cette géométrie offrait une large gamme de comparaisons possibles avec les résultats de la littérature.

5.1.1 Méthodes

5.1.1.1 Fantôme bouche-trachée

De nombreux modèles de région extrathoracique (ET) existent dans la littérature. Certains sont construits à partir de l'agencement de formes géométriques simples (tubes, coudes...) [205, 90, 142, 222]. D'autres, plus réalistes, sont créés à partir de données issues de l'imagerie médicale [36, 107, 98, 23, 113]. Nous avons porté notre choix sur un modèle réaliste, résultant de l'assemblage d'une cavité orale [35] et d'un modèle des voies ET nasales [45]. La cavité orale provient d'une impression dentaire réalisée sur un homme vivant. L'ouverture de la bouche est d'environ 50%. La région ET nasale a été reconstruite à partir d'images CT haute résolution. Les deux modèles ont été segmentés puis réunifiés en une seule géométrie (Fig. 5.1.1.B). Le fantôme ainsi obtenu a été réalisé par stéréolithographie (Fig. 5.1.1.C). Le chemin moyen emprunté par le gaz γ est de 270 mm de l'entrée de la bouche à la sortie de la trachée.

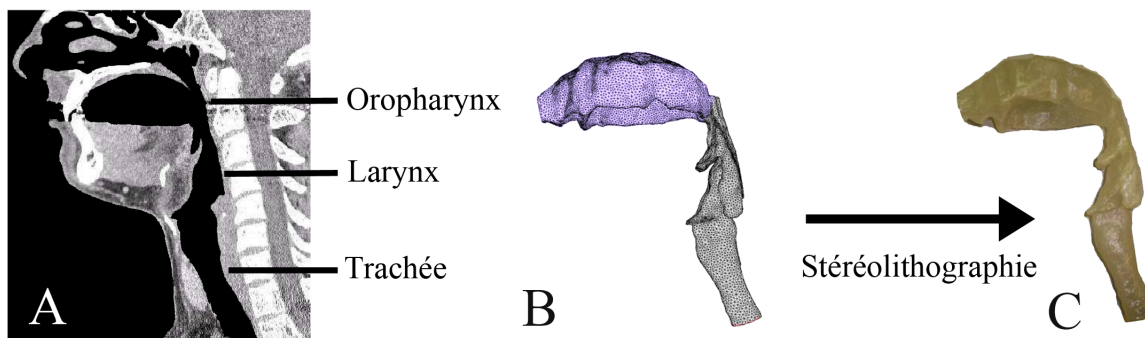


FIGURE 5.1.1 : (A) Image CT haute résolution présentant les principales régions anatomiques de la région ET. (B) Maillage 3D représentant l'assemblage de la cavité orale (mauve) et de la zone oropharynx-larynx-trachée (noir). (C) Réalisation par stéréolithographie du fantôme bouche-trachée.

5.1.1.2 Protocole de dépôt

Préparation d'une solution nébulisable

Nous avons réalisé le double marquage d'une solution de 200 mL de sérum physiologique. Pour ce faire, nous avons introduit un radiotracer à base de technétium (^{99m}Tc) dans la solution, pour une activité mesurée de 2,5 GBq. Nous avons ensuite ajouté un agent de contraste superparamagnétique (Cliavist®, Bayer Schering Pharma, Allemagne) pour atteindre une concentration en fer $[Fe] = 0,78 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. La solution a ensuite été nébulisée au moyen d'un générateur d'aérosols ultrasonique (35-B, Devilbiss, États-Unis).

Administration de l'aérosol

Le montage réalisé pour l'administration est représenté Fig 5.1.2. Le nébuliseur était raccordé à une conduite droite de diamètre interne 22 mm. L'entrée du fantôme bouche-trachée (cavité orale) était raccordée à l'extrémité de la conduite. La sortie du fantôme était reliée à une pompe péristaltique (Bravo Plus 1-60 $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$, TCR Tecora, Italie) fournissant un débit d'aspiration constant. Une série de quatre filtres antibactériens était disposée en sortie du fantôme afin d'éviter la contamination du circuit de pompe par l'aérosol radioactif. Le débit d'aspiration a été fixé à $30 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, valeur assimilable à des conditions d'inspiration physiologiques déjà étudiées dans la littérature pour ce même type de géométrie [98, 97]. Ce débit permettait aussi d'utiliser la pompe dans un régime de rotation élevé, atténuant ainsi les phénomènes d'oscillation propres aux pompes volumétriques. Le débit programmé sur la pompe a été calibré au moyen d'un débitmètre étalon à lame de savon (mini-BUCK M30, A.P. BUCK, Inc., États-Unis). Nous avons administré l'aérosol dans le fantôme bouche-trachée durant 10 min.

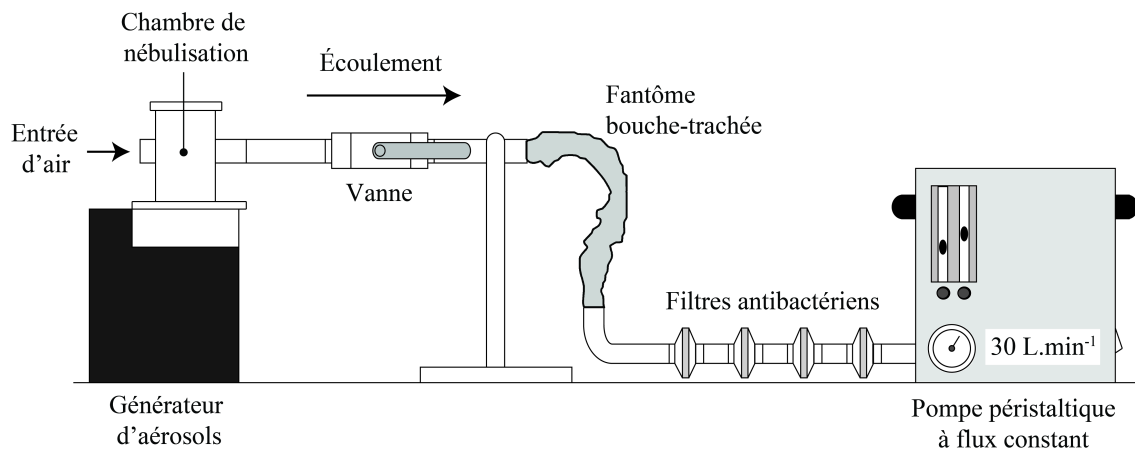


FIGURE 5.1.2 : Schéma du dispositif d'administration des aérosols dans le fantôme bouche-trachée.

5.1.1.3 Imagerie

SPECT-CT

L'imagerie SPECT du fantôme a été réalisée immédiatement après administration de l'aérosol. Les acquisitions ont été réalisées sur un imageur SPECT-CT (SPECT-CT Symbia®, Siemens Medical, Allemagne), situé dans le service de médecine nucléaire de l'Hôpital Bicêtre. Nous avons utilisé les paramètres suivants : 64 projections de 30 s, matrice $256 \times 256 \times 69$, $FOV = 615 \times 615 \times 166$ mm. L'acquisition SPECT a été suivie d'une acquisition CT 3D afin de disposer de repères géométriques pour localiser les zones de dépôt dans le fantôme. La résolution spatiale de la SPECT est donnée par la réponse impulsionnelle du système d'imagerie. Nous avons pu en faire une estimation en mesurant, orthogonalement à la paroi du fantôme, la largeur à mi-hauteur du signal pour le maximum d'intensité mesuré dans le fantôme. Celle-ci a été mesurée à 11 mm. Nous avons pu ensuite dégrader la matrice d'acquisition pour obtenir une taille de voxel de $4 \times 4 \times 4$ mm³ et ainsi obtenir une matrice comparable à l'acquisition faite en IRM, sans pour autant affecter la résolution native de la modalité.

Par la suite, le fantôme a été placé en quarantaine durant trois jours, temps nécessaire à la décroissance de l'activité du radiomarqueur. La période radioactive du technétium étant d'environ six heures, il subsistait moins de 6,3 % du technétium 99m initial après 24 h.

IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé

Nous avons utilisé une séquence d'écho de gradients 3D à 4 échos entrelacés avec les paramètres suivants : matrice $48 \times 16 \times 13$, $FOV = 192 \times 64 \times 52$ mm, $TE/TR = 2,6/35$ ms, $\Delta TE = 10$ ms, $\alpha = 2^\circ$. L'acquisition de 4 échos entrelacés nous a permis, pour une même acquisition, d'étendre la dynamique de mesure de l'information de phase. Nous avons dans un premier temps réalisé l'imagerie du fantôme avec dépôt. Le fantôme a ensuite été retiré de l'IRM puis nettoyé afin de faire disparaître le fer déposé sur les parois. Une acquisition de référence a pu ainsi être réalisée par la suite.

Le RSB des images a été calculé en faisant le rapport du module du signal sur l'écart type du bruit mesuré sur la partie réelle de celui-ci. Les cartes de référence de variation du champ magnétique statique B_0 ont été calculées à partir des deux premiers échos entrelacés de l'acquisition réalisée sur le fantôme sans dépôt d'aérosols. Un algorithme de dépliement de phase, $Z\pi M$ [64], a été appliqué sur ces jeux de données. Les cartes de variation de B_0 après administration des aérosols ont été calculées à partir des cartes de phases extraites des temps d'écho extrêmes.

5.1.1.4 Quantification absolue du dépôt d'aérosols

SPECT

La caméra SPECT mesure, pour chaque projection, les photons γ issus des désintégrations successives du radioélément. La quantité de rayonnement, exprimée en « nombre de coups », est directement proportionnelle à la quantité d'activité présente dans l'échantillon observé. Un facteur de correction est appliqué en fonction des données de calibration de la caméra et du temps d'acquisition.

Une solution de calibration de 5 mL de technétium 99m, pour une activité de 1,9 GBq, a été préparée. Nous avons calibré la caméra SPECT en prélevant différentes quantités (*i.e.* différentes activités) de radioélément que nous avons placé dans un compteur γ (Tab. 5.1). Nous avons ensuite disposé les quantités prélevées dans la caméra SPECT puis réalisé l'imagerie en projection des différentes sources. En tenant compte de la constante de décroissance radioactive du technétium 99m, il était possible de corrélérer l'activité mesurée par le compteur γ au nombre de coups enregistré par la caméra (Fig. 5.1.3).

On appelle $T_{1/2}$ la durée au bout de laquelle le nombre de radionucléides présents dans l'échantillon est réduit de moitié. La constante radioactive de l'élément peut s'écrire sous la forme :

$$\lambda = \frac{\ln 2}{T_{1/2}} \quad (5.1.1)$$

L'activité corrigée de la décroissance radioactive au temps t peut s'écrire :

$$A(t) = A_0 \exp(-\lambda \cdot t) \quad (5.1.2)$$

Volume prélevé (μL)	50	100	250	500
Activité initiale (MBq)	18,2	78,98	111	145,9
Activité corrigée (MBq)	15,99	70,09	99,08	134,30
Signal SPECT (nbre de coups)	375 000	1 600 000	2 263 000	3 090 000

TABLE 5.1 : Mesure d'activité et signal SPECT pour différents prélèvements dans la solution mère de calibration.

Comme cela est présenté Fig. 5.1.3, l'activité réelle mesurée par la γ caméra après calibration était donnée par la relation :

$$\text{Activité (MBq)} = 4,4 \cdot 10^{-5} \times \text{Nbre de coups mesurés}$$

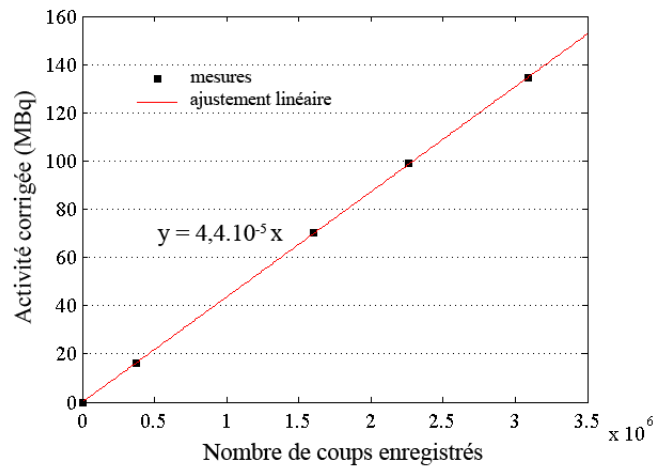


FIGURE 5.1.3 : Graphe représentant la relation entre activité mesurée par le compteur γ (MBq) et signal mesuré par SPECT (nbre de coups).

Connaissant la concentration en activité dans une solution mère donnée (en $\text{MBq} \cdot \text{mL}^{-1}$), il était dès lors possible de quantifier le volume de solution correspondant à l'activité enregistrée par la caméra. Dans le cas de notre étude du dépôt d'aérosols dans le fantôme bouche-trachée, nous avons :

$$[\text{Activité}] = 13,5 \text{ MBq} \cdot \text{mL}^{-1}$$

La concentration en fer dans la solution mère étant également connue, il était aisé d'estimer à quelle quantité de fer déposée correspondait l'activité qui avait pu être enregistrée par la caméra SPECT.

IRM de l'hélium-3 - Inversion du problème

Les mesures que nous réalisons par IRM nous permettent de dresser les cartes des variations du champ magnétique statique B_0 occasionnées par le dépôt d'oxyde de fer.

Dans une première approximation, le dépôt d'aérosols peut être considéré comme un ensemble de gouttelettes sphériques induisant chacune un champ magnétique dipolaire. Les variations du champ magnétique statique sont alors données par la somme de ces champs magnétiques dipolaires :

$$\delta \vec{B}(\vec{r}) = \sum_{n=1}^N \frac{\mu_0}{4\pi |\vec{r} - \vec{r}_n|^3} \left(3 (\vec{m}_n \cdot (\vec{r} - \vec{r}_n)) \frac{(\vec{r} - \vec{r}_n)}{|\vec{r} - \vec{r}_n|} - \vec{m}_n \right) \quad (5.1.3)$$

avec

\vec{m}_n : le moment magnétique dipolaire de la $n^{\text{ième}}$ gouttelette localisée en \vec{r}_n

μ_0 : la perméabilité du vide

N : le nombre total de gouttelettes

Le moment dipolaire \vec{m}_n est parallèle au champ magnétique statique le long de l'axe z de l'aimant : $\vec{B}_0 = B_0 \vec{e}_z$.

Il est également proportionnel à la masse de fer w_n contenue dans les gouttelettes d'agent de contraste superparamagnétique :

$$\vec{m}_n = w_n m_0 \vec{e}_z \quad (5.1.4)$$

avec

m_0 : le moment dipolaire du ferrofluide par unité de masse

Les cartes de variation du champ magnétique statique que nous mesurons correspondent à la projection de $\delta \vec{B}(\vec{r})$ sur l'axe z :

$$\delta \vec{B}_z(\vec{r}) = \sum_{n=1}^N w_n \frac{\mu_0 m_0}{4\pi |\vec{r} - \vec{r}_n|^3} \left(3 \frac{(\vec{e}_z \cdot (\vec{r} - \vec{r}_n))}{|\vec{r} - \vec{r}_n|^2} - 1 \right) \quad (5.1.5)$$

Pour reconstruire la distribution spatiale des gouttelettes de ferrofluide, *i.e.* leur position \vec{r}_n et leur masse en fer w_n , l'équation 5.1.5 doit être inversée. Cette inversion est rendue possible si nous faisons l'hypothèse que chaque voxel définissant les parois internes du fantôme contient une seule gouttelette, positionnée en son centre, dont seule la concentration en fer varie. Pour la résolution spatiale dont nous disposons, cette hypothèse peut se justifier car les variations spatiales du champ magnétique statique ne sont pas mesurées au sein d'un seul et même voxel.

La résolution du problème inverse est ainsi réduite à la détermination de la masse de fer w_n ($n \in [1, N]$) dans chacun des voxels couvrant les parois du fantôme. L'équation 5.1.5 peut alors être écrite comme un produit de matrices :

$$\Delta B_z = H \cdot W \quad (5.1.6)$$

avec

ΔB_z : le vecteur de dimension M représentant le champ magnétique à l'intérieur du volume considéré aux positions \vec{R}_m : $\Delta B_{z,m} = \delta B_z(\vec{R}_m)$, $m \in [1, M]$

M : le nombre de voxels à l'intérieur du volume

W : le vecteur de dimension N représentant les masses de fer w_n , $W_n = w_n$, $n \in [1, N]$

N : le nombre de voxels couvrant les parois du fantôme

H est alors défini comme la matrice de dimension $M \times N$ selon :

$$H_{m,n} = \frac{\mu_0 m_0}{4\pi |\vec{R}_m - \vec{r}_n|^3} \left(3 \frac{(\vec{e}_z \cdot (\vec{R}_m - \vec{r}_n))^2}{|\vec{R}_m - \vec{r}_n|^2} - 1 \right) \quad (5.1.7)$$

La géométrie du fantôme donne la position des voxels \vec{R}_m et \vec{r}_n , définissant par conséquent la matrice H , tandis que les cartes de variation du champ magnétique statique

mesurées décrivent le vecteur ΔB_z .

Le nombre N de voxels couvrant les parois étant différent du nombre M défini à l'intérieur du volume, la matrice H ne constitue pas une matrice carrée. L'inversion directe de la matrice H (Eq. 5.1.7) est donc impossible. Toutefois, N étant généralement plus petit que M , le nombre d'inconnues w_n est inférieur au nombre d'équations posées et l'équation 5.1.7 peut être résolue comme un problème d'optimisation contraint pour lequel les éléments W doivent être positifs.

Dans le cas du fantôme bouche-trachée, nous avons $N=1364$ et $M=2037$. La taille des voxels était de $4 \times 4 \times 4 \text{ mm}^3$, et le moment dipolaire magnétique par unité de masse vaut $m_0 = 79 \text{ mA} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ à 1,5 T. La carte de distribution en masse du fer sur les parois du fantôme a pu être établie à partir des cartes de variation de B_0 mesurées.

Le champ magnétique résultant de cette distribution de champs dipolaires calculée a été simulé puis comparé au champ magnétique initialement mesuré. Une analyse voxel à voxel a été menée en calculant le coefficient de variation entre les différentes cartes de variation de B_0 . Pour chaque voxel, la moyenne et l'écart type entre les deux cartes de variation du champ ont été calculés. Le coefficient de variation est représenté par le rapport entre l'écart type et la moyenne dans chaque voxel.

5.1.2 Résultats

5.1.2.1 Imagerie

SPECT

La figure 5.1.4 présente la projection en 2 dimensions des images de dépôt acquises en SPECT, avant (A) et après (B) dégradation de la matrice d'acquisition, afin de pouvoir faire correspondre les matrices de données SPECT à celles acquises par la suite en IRM de l'hélium-3. Les images sont superposées à une image CT définissant les contours du fantôme.

Les figures 5.1.4.C et 5.1.4.D sont extraites des travaux de Grgic *et al.*[97] et présentent des acquisitions en scintigraphie planaire du dépôt d'aérosols radiomarqués dans des géométries réalistes similaires, pour des distributions d'aérosols et des conformations géométriques des voies aériennes extrathoraciques différentes. Fig. 5.1.4.C, l'administration a été réalisée avec un aérosol monodisperse et un diamètre de particules de $5 \mu\text{m}$. Fig. 5.1.4.D, l'administration a été réalisée avec un aérosol monodisperse et un diamètre de particules de $3 \mu\text{m}$. Le débit d'administration des aérosols était programmé à $90 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$.

On constate un dépôt visiblement plus important Fig. 5.1.4.C, que l'on peut attribuer en grande partie à une augmentation du phénomène d'impaction, directement lié à la taille plus importante des particules aérosolisées et au débit d'administration plus

important. La géométrie des fantômes conditionne également grandement la nature du dépôt, en modifiant notamment les conditions d'écoulement.

On dénote quelques similitudes (flèches de couleur) avec l'acquisition que nous avons menée. On remarque en l'occurrence des zones d'accumulation du dépôt au niveau de l'épiglotte (flèches bleues) ainsi que dans la zone de constriction où sont situées les cordes vocales (flèches rouges et vertes). Pour l'ensemble des cas présentés, il est également important de noter que le signal représenté dépasse souvent les limites physiques du fantôme.

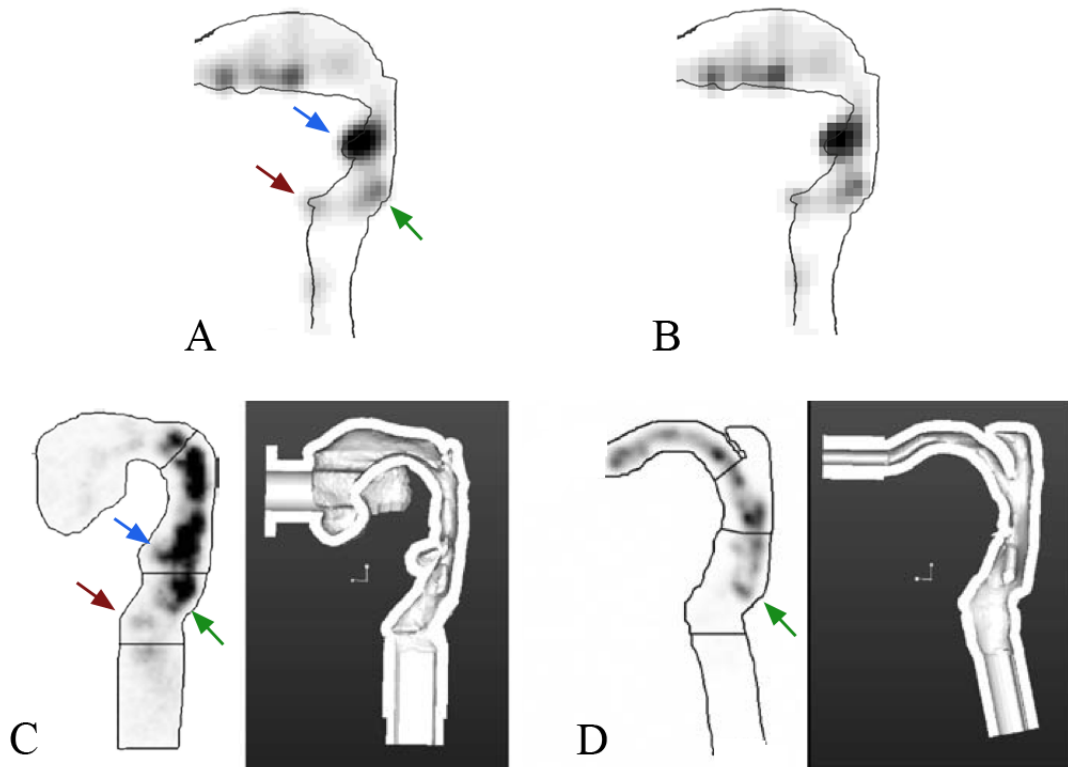


FIGURE 5.1.4 : (A) Image SPECT 2D projetée du dépôt d'aérosols dans le fantôme bouche-trachée, superposée à une image CT décrivant les contours du fantôme. Taille de voxel = $2,4 \times 2,4 \times 2,4 \text{ mm}^3$. (B) Image SPECT du dépôt d'aérosols dans le fantôme après dégradation de la matrice d'acquisition (A). Taille de voxel = $4 \times 4 \times 4 \text{ mm}^3$. (C) et (D) Images 2D projetées du dépôt d'aérosols dans des géométries réalistes, d'après les travaux de Grgic *et al.*[97]

Le dépôt d'aérosols mesuré en SPECT est présenté Fig. 5.1.5 pour huit coupes centrales dans le fantôme bouche-trachée, après dégradation des matrices initialement acquises, pour une taille de voxel de $4 \times 4 \times 4 \text{ mm}^3$. Les images SPECT sont superposées aux images CT pour mieux situer les zones de dépôt dans la géométrie. On remarque des zones d'hyperintensité au niveau de l'épiglotte ainsi que dans la zone de constriction

où sont disposées les cordes vocales. De façon moins marquée, on remarque la présence de signal au niveau de la trachée ainsi que dans l'oropharynx et dans la bouche. On constate d'une manière générale que le signal représenté sur les images peut dépasser de façon importante les limites physiques du fantôme (images CT).

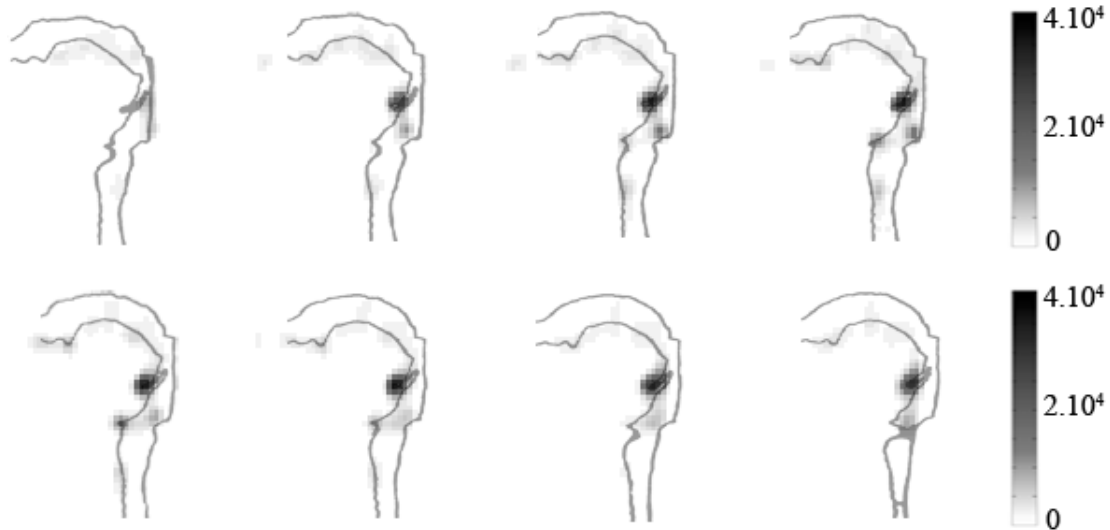


FIGURE 5.1.5 : Images SPECT du dépôt d'aérosols radiomarqués dans le fantôme bouche-trachée (nombre de coups). Représentation de huit coupes centrales superposées avec les coupes CT du fantôme correspondantes. Les images CT permettent de distinguer les parois du fantôme.

IRM de l'hélium-3

Le RSB maximum mesuré pour l'acquisition dans le fantôme sans dépôt est $RSB_{\max} = 49$. Dans le fantôme avec dépôt, $RSB_{\max} = 30$. La figure 5.1.6 présente les images de modules pour huit coupes centrales acquises dans le fantôme sans dépôt d'aérosols. Nous pouvons distinguer l'épiglotte (flèches oranges) ainsi que la constriction des voies aériennes au niveau des cordes vocales (flèches blanches). Nous remarquons une atténuation importante, jusqu'à la disparition totale du signal au niveau de la bouche. La taille du fantôme, de l'ordre de 200 mm, étant relativement importante par rapport à l'antenne utilisée (antenne petit animal), cette perte de signal est essentiellement due la sensibilité de l'antenne dans les régions physiquement les plus éloignées.

Les cartes de référence des variations du champ magnétique statique sont homogènes et présentent des valeurs nulles ou proches de zéro, témoins de l'absence de fer déposé sur les parois du fantôme (Fig. 5.1.7). Les cartes de variation de B_0 avec dépôt sont présentées Fig. 5.1.8. Des modifications importantes du champ magnétique statique apparaissent dans les zones de constriction des voies aériennes, comme celle située entre la

bouche et l'oropharynx (flèches blanches, $0,4 \leq |\delta B_0| \leq 0,5$ ppm), ou encore celle située à l'emplacement des cordes vocales (flèches vertes, $0,3 \leq |\delta B_0| \leq 0,5$ ppm). Nous remarquons également d'importants changements au niveau de l'épiglotte (flèches bleues, $0,3 \leq |\delta B_0| \leq 0,45$ ppm), ainsi que dans la trachée (flèches rouges, $0,4 \leq |\delta B_0| \leq 0,5$ ppm). Des perturbations notables sont également observées pour les coupes situées aux extrémités représentées (flèches oranges, $0,4 \leq |\delta B_0| \leq 0,5$ ppm), correspondant aux zones de passage vers les sinus pyriformes.

L'erreur moyenne sur la mesure de la phase vaut $0,03 \pm 0,02$ rad, pour l'acquisition réalisée sans dépôt, et $0,05 \pm 0,04$ rad, pour l'acquisition avec dépôt d'aérosols dans le fantôme. Les cartes d'erreur associées à la mesure des variations du champ magnétique statique sont représentées Fig. 5.1.9. Nous pouvons ainsi observer une erreur relativement faible ($\approx 0,05$ ppm) dans les régions de fort RSB et une erreur importante, jusqu'à $0,4$ ppm, mesurée dans les régions de faible RSB en limite de sensibilité de l'antenne. Aussi, l'interprétation des cartes de variation de champ magnétique devra-t-elle être pondérée dans les zones de plus faible RSB comme dans la bouche où encore à l'extrémité de la trachée.

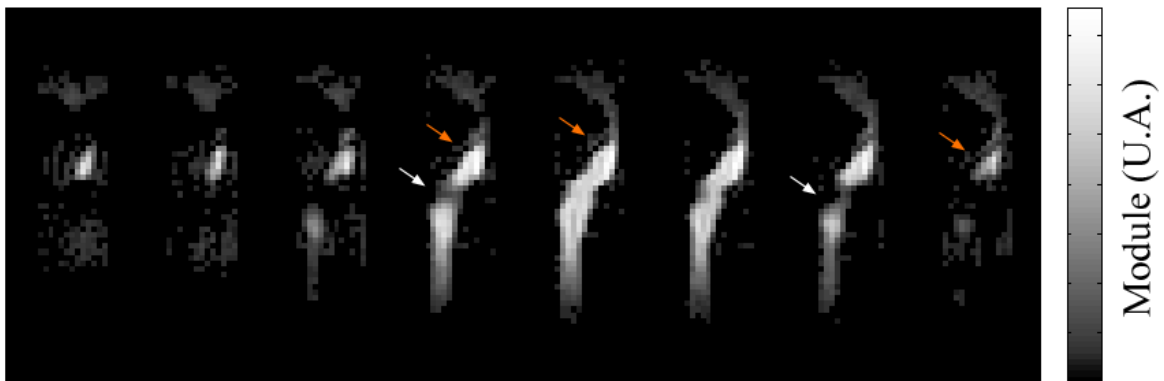


FIGURE 5.1.6 : Images de module acquises en IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé sur le fantôme bouche-trachée sans dépôt de fer. Représentation des huit coupes centrales disposant du RSB le plus élevé.

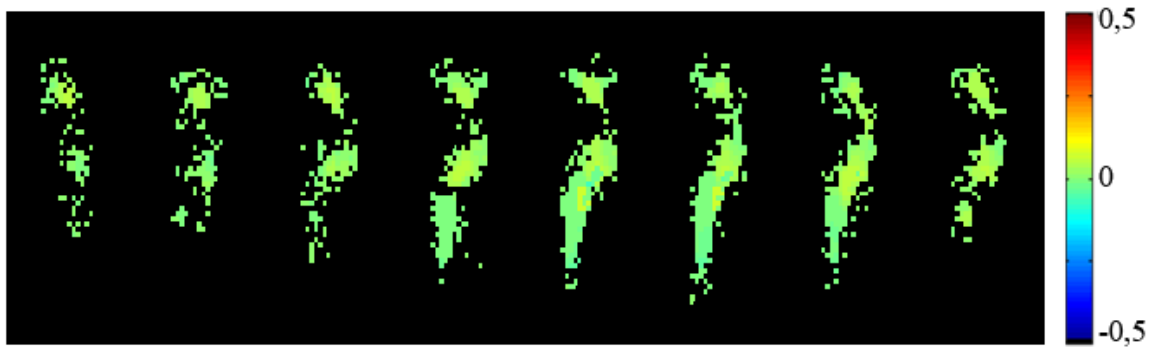


FIGURE 5.1.7 : Cartes de variation du champ magnétique statique B_0 de référence (en ppm) dans le fantôme bouche-trachée. Représentation des huit coupes centrales.

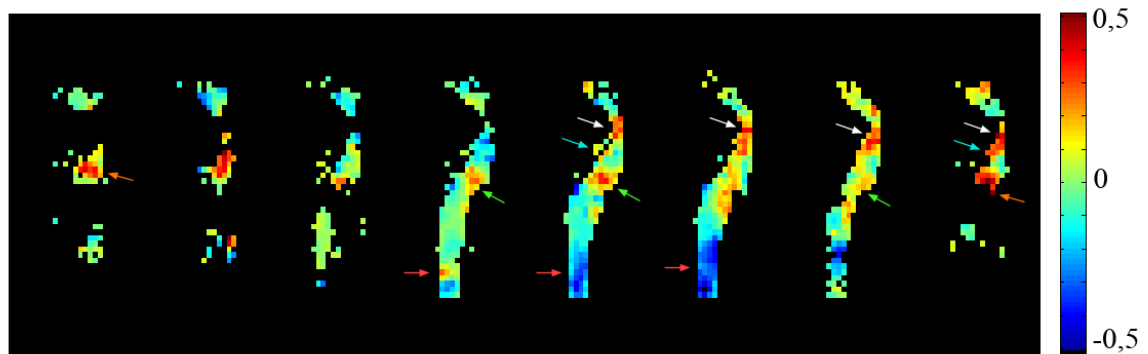


FIGURE 5.1.8 : Cartes de variation du champ magnétique statique B_0 (en ppm) engendrées par le dépôt de fer dans le fantôme bouche-trachée. Représentation de huit coupes centrales.

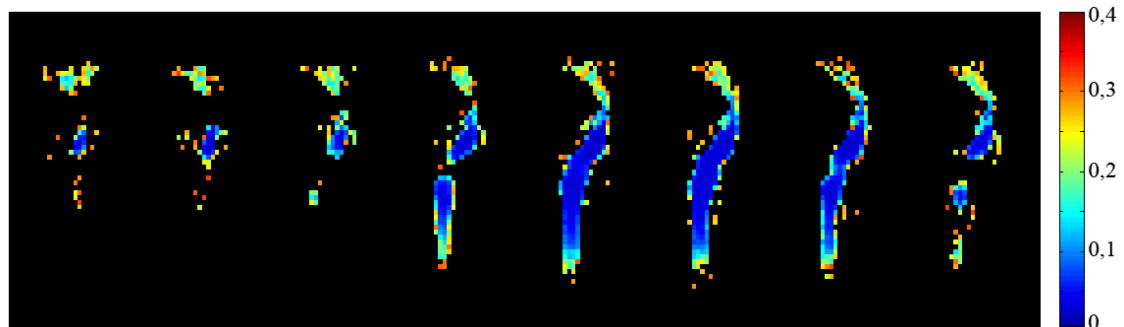


FIGURE 5.1.9 : Cartes d'erreur sur la mesure des variations du champ B_0 (en ppm) obtenue à partir des cartes d'erreur de phase.

5.1.2.2 Quantification

SPECT

La quantification du dépôt d'aérosols à partir de l'imagerie SPECT est présentée Fig. 5.1.10. Les cartes présentent la quantité de fer déposée, en $\mu\text{g}_{\text{Fe}} \cdot \text{voxel}^{-1}$, calculée à partir de l'activité mesurée dans le fantôme. Pour chaque coupe, les images sont superposées à l'imagerie CT définissant les contours du fantôme. Les images révèlent, comme sur l'examen SPECT, des zones de surintensité au niveau de l'épiglotte ($27 \leq m_{\text{Fe}} \leq 40 \mu\text{g}_{\text{Fe}} \cdot \text{voxel}^{-1}$), au niveau de la constriction où sont situées les cordes vocales ($18 \leq m_{\text{Fe}} \leq 35 \mu\text{g}_{\text{Fe}} \cdot \text{voxel}^{-1}$), ainsi que dans la trachée ($10 \leq m_{\text{Fe}} \leq 26 \mu\text{g}_{\text{Fe}} \cdot \text{voxel}^{-1}$). La masse totale de fer déposée sur l'ensemble du volume est estimée à 2,5 mg.

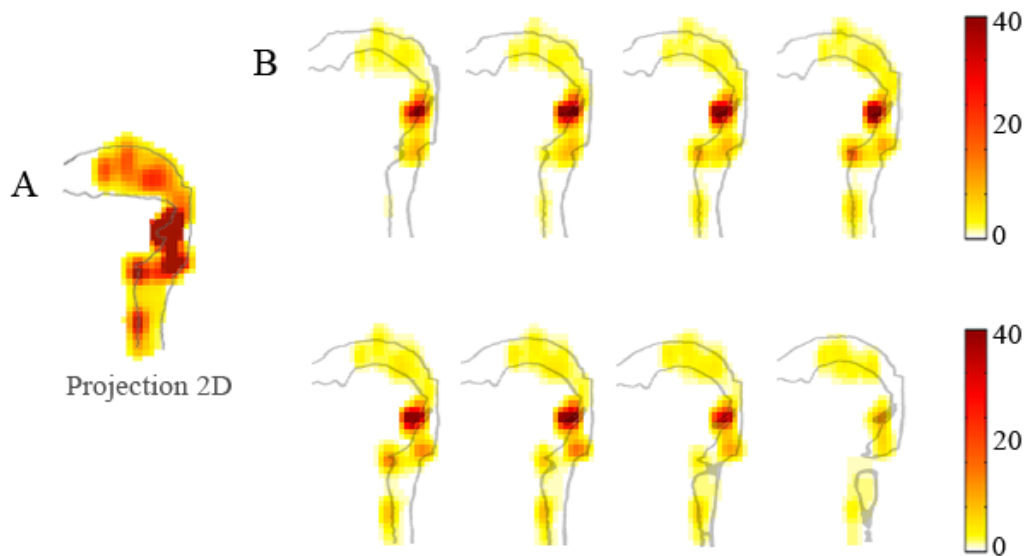


FIGURE 5.1.10 : Quantification du dépôt d'aérosols à partir de l'imagerie SPECT (Fig.5.1.5) dans le fantôme bouche-trachée (en $\mu\text{g}_{\text{Fe}} \cdot \text{voxel}^{-1}$). (A) Projection 2D sur l'ensemble du volume. (B) Représentation pour les huit coupes centrales. Les images sont superposées à l'image CT (pourtour grisé) afin de situer le dépôt dans la géométrie.

IRM de l'hélium-3

La résolution du problème inverse permet de cartographier la distribution du dépôt, en $\mu\text{g}_{\text{Fe}} \cdot \text{voxel}^{-1}$, sur les parois du fantôme (Fig. 5.1.11). Les dépôts les plus importants sont estimés au passage entre la cavité orale et l'oropharynx, au niveau de l'épiglotte, puis plus bas au niveau des cordes vocales et de la trachée (flèches blanches). Dans un voxel, ils atteignent respectivement $27 \mu\text{g}$, $30 \mu\text{g}$, $36,5 \mu\text{g}$ et $39 \mu\text{g}$. Le dépôt calculé après inversion du problème laisse également apparaître un dépôt important dans la cavité orale (flèche rouge), peu vraisemblable compte tenu du manque de signal et de l'erreur

importante sur la mesure du champ B_0 dans cette région du fantôme. La masse totale de fer déposée sur l'ensemble du volume est estimée à 2,3 mg.

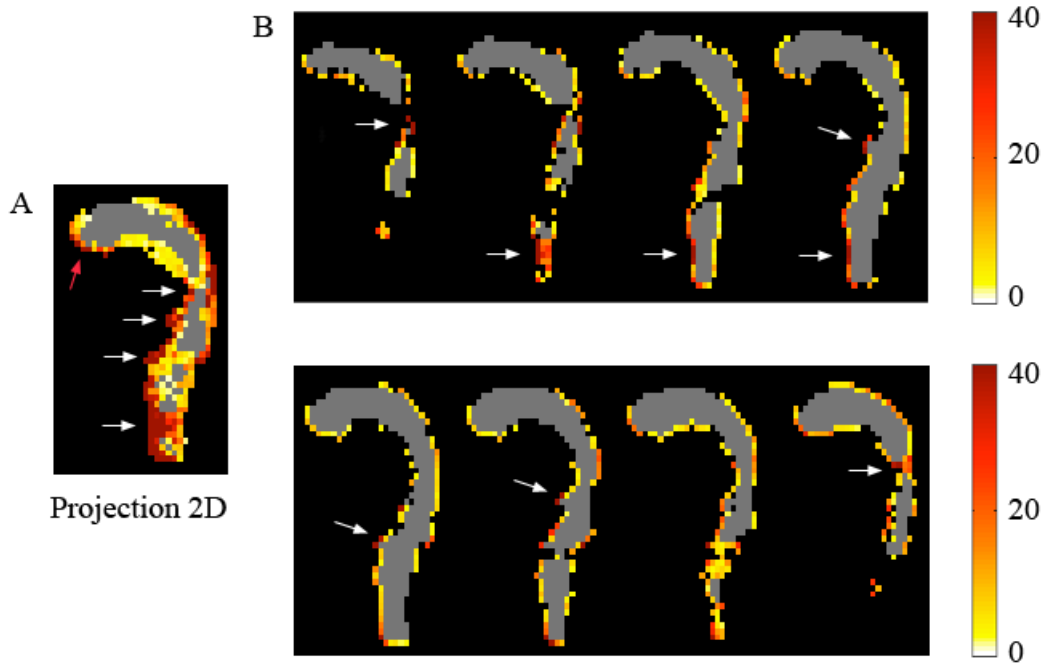


FIGURE 5.1.11 : Cartes de distribution du dépôt de fer sur les parois du fantôme bouche-trachée obtenues après résolution du problème inverse à partir des cartes de variation de champ magnétique statique (Fig. 5.1.8) (en $\mu\text{g}_{\text{Fe}} \cdot \text{voxel}^{-1}$). (A) Projection 2D sur l'ensemble du volume. (B) Représentation pour huit coupes centrales.

Les cartes de variation de B_0 simulées après inversion du problème ont été comparées aux cartes de variation que nous avons mesurées. La figure 5.1.12 présente les cartes de variation de B_0 mesurées (A) et simulées (B) dans une coupe centrale du fantôme. D'un point de vue qualitatif, on note de fortes similitudes entre les deux cartes. L'analyse voxel à voxel indique aussi une bonne correspondance entre les deux séries de cartes sur l'ensemble du volume, avec un coefficient de variation inférieur ou égal à 7% pour 90% des voxels comparés (Fig. 5.1.13).

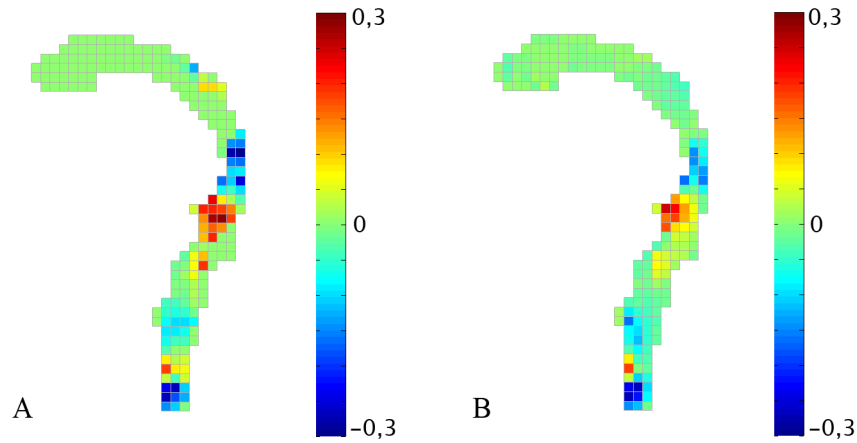


FIGURE 5.1.12 : Cartes de variation du champ magnétique statique B_0 (en ppm) dans une coupe centrale du fantôme. (A) Carte mesurée à partir de l'imagerie IRM. (B) Carte simulée à partir de la distribution en masse du dépôt de fer sur les parois du fantôme, après inversion du problème.

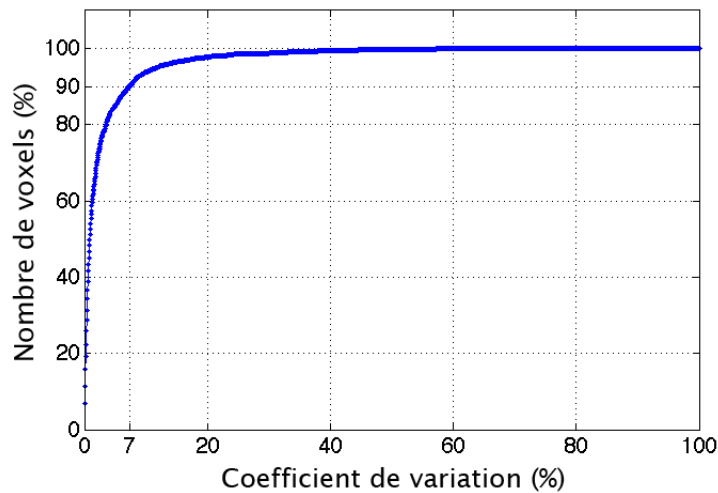


FIGURE 5.1.13 : Graphe représentant la quantité de voxels comparée (en %) en fonction du coefficient de variation calculé (en %), pour l'ensemble des cartes de variation de B_0 mesurées et simulées.

5.1.3 Comparaison entre modalités

La masse totale quantifiée à partir de l'acquisition SPECT, 2,5 mg, est relativement proche de celle mesurée à partir des acquisitions IRM, 2,30 mg. La différence observée peut être imputée à l'absence de signal mesurée en IRM au niveau de la cavité orale, essentiellement causée par la faible sensibilité de l'antenne utilisée dans cette région. Par ailleurs, l'accumulation de dépôt au niveau des sinus piriformes a également obstrué le passage de l'hélium-3 hyperpolarisé, entraînant également l'absence de signal IRM dans cette région, y interdisant par conséquent la quantification du dépôt. De façon plus générale, l'erreur de mesure importante qui peut être faite dans les zones de faible RSB sur les acquisitions IRM conduit nécessairement à des incertitudes sur la quantification-même du dépôt de fer.

Des différences notables entre les deux modalités apparaissent au niveau de la trachée. Le fantôme a été imagé en position droite lors de l'acquisition SPECT, puis basculé horizontalement pour l'acquisition IRM. Les zones de dépôt qui n'avaient pas encore séché après l'acquisition SPECT ont pu couler pendant le délai de quarantaine du fantôme. Par gravité, les dépôts ont ainsi pu se déplacer vers la trachée, modifiant la distribution des dépôts d'aérosols avant l'IRM

La haute sensibilité de l'imagerie SPECT est ici affectée par une réponse impulsionnelle lui conférant une résolution spatiale inférieure (proche d'un facteur 3) à celle obtenue en IRM. Cela se traduit notamment par la présence de signal en dehors des limites physiques du fantôme. L'image de projection permet ainsi de distinguer les structures anatomiques principales faisant l'objet de dépôt, mais l'information tomographique est peu utile car elle ne permet pas véritablement de discriminer le dépôt dans l'anatomie en fonction de la coupe sélectionnée. Dans les voies aériennes supérieures, la scintigraphie planaire est encore adaptée à la taille et à la relative symétrie de la morphologie en jeu [98, 97]. Mais l'imagerie SPECT ne serait pas pertinente lors d'investigations dans des géométries de taille plus réduite, comme dans les générations de bronches moyennes et profondes ou encore chez le petit animal. Des algorithmes de déconvolution et des outils utilisant les simulations de Monte-Carlo peuvent être utilisés afin de contourner cette limitation, intrinsèque à cette modalité d'imagerie [178, 7, 133].

Le temps total d'acquisition par IRM est ici de 78,5 s. L'acquisition d'un seul écho, pris au TE optimal, réduirait le temps d'acquisition d'un facteur 4, soit une durée d'acquisition de 19 s, tout en maintenant la même résolution spatiale de 4 mm. En comparaison, le temps d'acquisition de la SPECT est ici de 32 min pour une résolution spatiale effective de 11 mm.

5.2 IRM de l'hélium-3 et simulations CFD

Le dépôt de particules est conditionné par la manière dont les particules sont véhiculées au sein de la géométrie traversée. La caractérisation des mécanismes de transport des aérosols est un critère déterminant dans l'interprétation qui peut être faite du dépôt. Les outils numériques de mécanique des fluides permettent de résoudre les équations de l'écoulement des gaz dans des géométries complexes et de caractériser le transport et le dépôt de particules. Nous avons confronté la mesure de dépôt que nous réalisons par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé à des simulations numériques conduites dans le fantôme bouche trachée.

5.2.1 Étude de l'écoulement

Dans un premier temps, l'écoulement a été caractérisé dans le fantôme bouche-trachée. Les méthodes utilisées et les résultats obtenus font l'objet d'une description détaillée dans les travaux de thèse de Julien Sandeau [184]. Des simulations numériques menées par Julien Sandeau ont permis de dresser les profils de vitesse dans la géométrie du fantôme pour différentes gammes de débits d'air. Les calculs réalisés résolvent les équations de mécanique des fluides dans cette géométrie complexe en prenant en compte l'état, le régime d'écoulement ainsi que la turbulence. La vélocimétrie 3D de l'écoulement du gaz a été expérimentalement réalisée par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé. Les mesures de vitesse expérimentales réalisées par IRM ont ensuite été comparées aux résultats des simulations numériques.

5.2.1.1 Simulations numériques

Équations de la mécanique des fluides

La détermination de l'écoulement d'un fluide, dans un volume donné, consiste en l'établissement des champs de pression et de vitesse en tout point du volume. Il s'agit de la résolution des équations de Navier-Stokes [27].

La première traduit la conservation de la masse, c'est l'équation de continuité. Pour un gaz incompressible de masse volumique ρ_g ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$) et de viscosité μ_g ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) uniformes et constantes, elle s'écrit selon la convention d'Einstein :

$$\frac{\partial u_i(r, t)}{\partial x_i} = 0 \quad (5.2.1)$$

avec

$u(r, t)$ ($u_1(r, t)$, $u_2(r, t)$, $u_3(r, t)$) : le vecteur vitesse ($m \cdot s^{-1}$)

$r(x_1, x_2, x_3)$: le vecteur position (m)

t : le temps (s)

La seconde traduit la conservation de la quantité de mouvement. Pour chacune des composantes $u_i(r, t)$ ($i = \{1, 2, 3\}$) du vecteur vitesse, elle s'écrit :

$$\rho_g \frac{\partial u_i(r, t)}{\partial t} + \rho_g \frac{\partial (u_i(r, t) u_j(r, t))}{\partial x_j} = - \frac{\partial p(r, t)}{\partial x_i} + \mu_g \frac{\partial}{\partial x_j} \left[\frac{\partial u_i(r, t)}{\partial x_j} + \frac{\partial u_j(r, t)}{\partial x_i} \right] \quad (5.2.2)$$

avec

$p(r, t)$: la pression (Pa)

En posant¹ :

$$u_i^+ = \frac{u_i}{U}$$

$$x_i^+ = \frac{x_i}{D}$$

$$t^+ = t 4\pi f_r$$

$$p^+ = \frac{p}{\rho_g U^2}$$

où U ($m \cdot s^{-1}$) et D (m) sont des constantes de vitesse et de longueur et f_r (s^{-1}) la fréquence respiratoire, les équations 5.2.1 et 5.2.2 peuvent s'écrire :

$$\frac{\partial u_i^+}{\partial x_i^+} = 0 \quad (5.2.3)$$

$$\frac{1}{Sr} \frac{\partial u_i^+}{\partial t^+} + \frac{\partial (u_i^+ u_j^+)}{\partial x_j^+} = - \frac{\partial p^+}{\partial x_i^+} + \frac{1}{Re} \frac{\partial}{\partial x_j} \left[\frac{\partial u_i^+}{\partial x_j^+} + \frac{\partial u_j^+}{\partial x_i^+} \right] \quad (5.2.4)$$

avec

$$Re = \frac{\rho_g D U}{\mu_g} \quad (5.2.5)$$

$$Sr = \frac{4\pi f_r D}{U} \quad (5.2.6)$$

Re est le nombre de Reynolds du gaz et Sr , le nombre de Strouhal de l'écoulement supposé sinusoïdal monofréquence.

Le choix des valeurs pour U et D n'est pas évident étant donné la complexité de la morphologie étudiée. La valeur de U a été choisie égale à la vitesse moyenne dans la trachée et D égale au diamètre hydraulique moyen de la trachée, soit $U = Q/S_t$ où Q est le débit de gaz inhalé (en $m^3 \cdot s^{-1}$), S_t la section moyenne de la trachée (en m^2), et $D = 4S_t/P_t$, avec P_t le périmètre moyen de la trachée (en m).

1. On omettra désormais d'indiquer la dépendance en position et en temps (r,t)

En tout point de la géométrie et à tout instant, les équations 5.2.3 et 5.2.4 forment un système de quatre équations aux dérivées partielles à quatre inconnues (p, u_1, u_2, u_3). Du fait de la complexité de la géométrie, il n'est pas possible de résoudre analytiquement ce système. Les méthodes numériques, par discrétisation du temps et de l'espace, permettent, à l'aide d'algorithmes itératifs, d'approcher la solution à chaque instant et en tout point définis par la discrétisation. On parle alors de mécanique des fluides numérique (ou CFD, *Computational Fluid Dynamics*).

Régimes d'écoulement

Le nombre de Reynolds Re caractérise le rapport entre forces d'inertie liées à l'accélération convective (second terme du premier membre de l'équation 5.2.4) et forces visqueuses (second terme du second membre de l'équation 5.2.4). Les valeurs faibles de Re sont associées à des écoulements dits « laminaires » et les valeurs élevées à des écoulements dits « turbulents ». La valeur critique Re_c correspond à la transition laminaire-turbulent et dépend essentiellement de la géométrie. Un écoulement turbulent se caractérise par des fluctuations aléatoires de pression et de vitesse sur de petites échelles de temps et des structures tourbillonnantes d'échelle de longueur très variables.

Dekker a mesuré la valeur de débit d'air critique Q_{cair} (associée à Re_c) à partir duquel des structures tourbillonnantes apparaissent dans des modèles larynx-trachée (prélevés sur cadavres) [58]. Ces mesures donnent une valeur moyenne $Q_{cair} \approx 100 \text{ mL} \cdot \text{s}^{-1}$, communément admise dans la littérature. On peut en déduire le nombre de Reynolds critique correspondant $Re_c \approx 460$.

Chez l'humain, les valeurs de débit physiologiquement possibles lors d'une inhalation sont situées entre 240 et 2450 $\text{mL} \cdot \text{s}^{-1}$. Cela correspond à des nombres de Reynolds compris entre 1100 et 11250, dépassant ainsi la valeur de Reynolds critique Re_c . Le régime d'écoulement lors de l'inhalation peut donc être laminaire, turbulent ou proche de la transition laminaire-turbulent.

Le caractère turbulent de l'écoulement, avec la présence de tourbillons de grandeur différente, complique le calcul des champs de pression et de vitesse. Aussi, le calcul d'écoulements turbulents passe par le choix d'un modèle de turbulence.

Modèles de turbulence

Afin de s'affranchir des fluctuations de pression et de vitesse génératrices de tourbillons, les équations 5.2.1 et 5.2.2 sont moyennées. Pour cela, on décompose la pression et les composantes de la vitesse selon :

$$p = \bar{p} + p' \quad (5.2.7)$$

$$u_i = \bar{u}_i + u'_i \quad (5.2.8)$$

avec $\bar{}$ désignant l'opérateur de moyenne et le signe $'$ correspondant aux fluctuations (de moyenne nulle par définition).

Les équations 5.2.1 et 5.2.2 peuvent s'écrire alors :

$$\frac{\partial \bar{u}_i}{\partial x_i} = 0 \quad (5.2.9)$$

$$\rho_g \frac{\partial \bar{u}_i}{\partial t} + \rho_g \frac{\partial (\bar{u}_i \bar{u}_j)}{\partial x_j} = -\frac{\partial \bar{p}}{\partial x_i} + \frac{\partial}{\partial x_j} \left[\mu_g \left(\frac{\partial \bar{u}_i}{\partial x_j} + \frac{\partial \bar{u}_j}{\partial x_i} \right) - \rho_g \overline{u'_i u'_j} \right] \quad (5.2.10)$$

Un nouveau terme apparaît, $-\rho_g \overline{u'_i u'_j}$, souvent appelé contrainte de Reynolds. L'estimation de ces contraintes est nécessaire pour fermer le système formé par les équations 5.2.9 et 5.2.10. Cette estimation est donnée par les modèles de turbulence.

Parmi les modèles existant, les modèles les plus répandus sont les modèles de type $k - \epsilon$ et $k - \omega$. Ces modèles utilisent l'approximation de Boussinesq :

$$-\rho_g \overline{u'_i u'_j} = 2\mu_T \left(\frac{\partial \bar{u}_i}{\partial x_j} + \frac{\partial \bar{u}_j}{\partial x_i} \right) - \frac{2}{3} k \delta_{ij} \quad (5.2.11)$$

avec

μ_T : la viscosité turbulente ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$)

δ_{ij} : le symbole de Kronecker

$k = \frac{1}{2} \overline{u_i'^2}$: l'énergie cinétique turbulente ($\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-2}$)

Cette approximation est utile du point de vue du calcul car elle considère qu'il existe une analogie entre fluctuations turbulentes et agitation aléatoire des molécules de gaz [216].

L'équation 5.2.10 peut ainsi s'écrire :

$$\rho_g \frac{\partial \bar{u}_i}{\partial t} + \rho_g \frac{\partial (\bar{u}_i \bar{u}_j)}{\partial x_j} = -\frac{\partial \bar{p}}{\partial x_i} + \frac{\partial}{\partial x_j} \left[(\mu_g + \mu_T) \left(\frac{\partial \bar{u}_i}{\partial x_j} + \frac{\partial \bar{u}_j}{\partial x_i} \right) - \frac{2}{3} k \delta_{ij} \right] \quad (5.2.12)$$

Afin de fermer le système, il est donc nécessaire d'écrire une équation pour μ_T et k . Les modèles de turbulence se différencient selon le choix des équations retenues.

Étant donné que nous nous intéressons aux couches proches de la paroi afin de déterminer ensuite le dépôt de particules, un modèle de type $k - \omega$ a été choisi, car il s'avère plus précis dans le calcul de l'écoulement aux couches limites [147, 216].

Maillage du modèle

Le maillage surfacique ayant servi à la réalisation physique du modèle a été affiné pour le calcul CFD (Fig. 5.2.1). Une fois le maillage surfacique construit, un maillage volumique a été élaboré pour la détermination de l'écoulement dans le volume (Fig.5.2.2). Pour disposer d'une bonne résolution du calcul au niveau des couches limites, le nombre de cellules dans la zone proche des parois a été densifié.

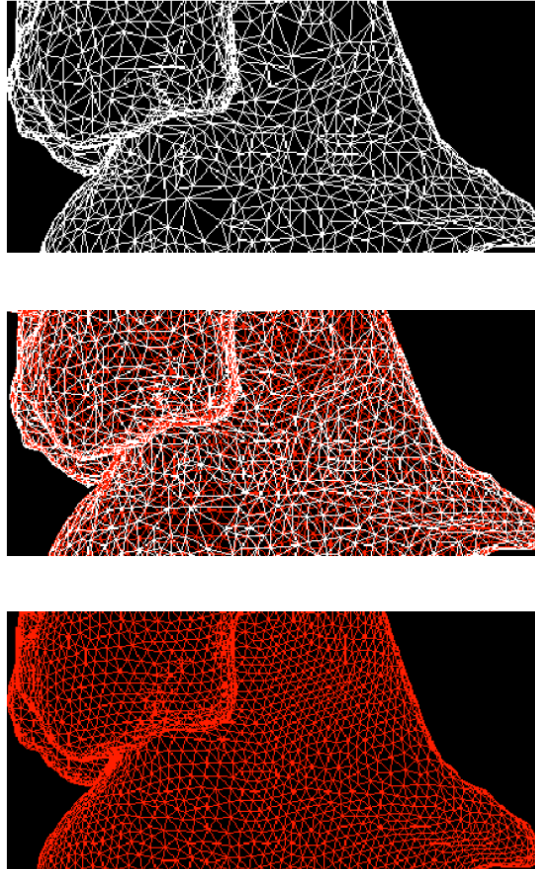


FIGURE 5.2.1 : Construction du maillage de calcul surfacique. En blanc, le maillage géométrique surfacique. En rouge, le maillage affiné pour le calcul. Extrait de [184].

La précision du maillage dans lequel le calcul CFD est réalisé est un paramètre influençant fortement la pertinence des résultats que l'on peut obtenir. Un maillage peu précis ne rend pas compte de toutes les structures de l'écoulement et peut fausser le calcul effectué. À l'inverse, un maillage extrêmement précis demandera un temps de calcul relativement important sans que le gain d'information relatif soit véritablement significatif. Un compromis a été trouvé pour un maillage de calcul dont les caractéristiques sont données Tab. 5.2.

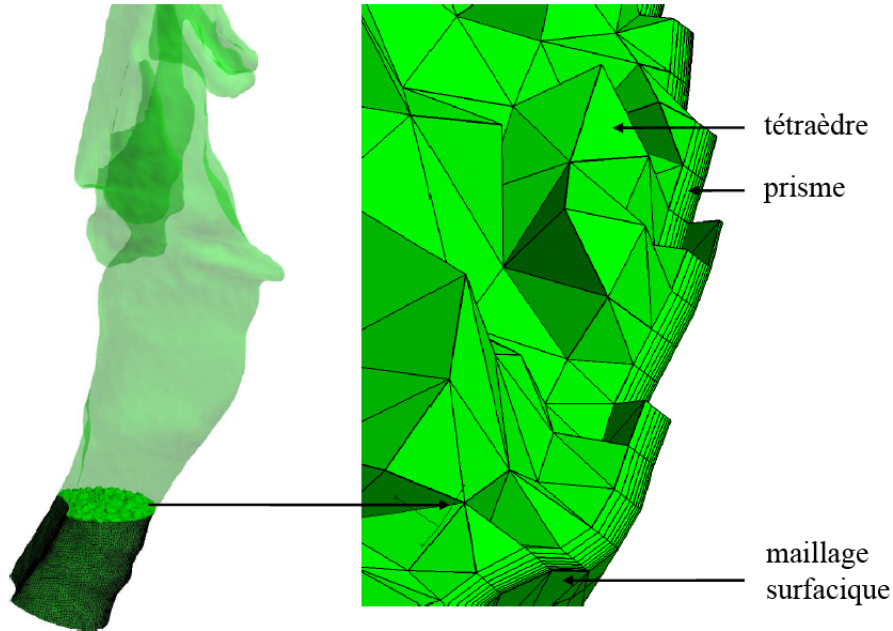


FIGURE 5.2.2 : Coupe réalisée dans le maillage volumique. On distingue l'empilement des couches de prismes à partir du maillage surfacique et les tétraèdres venant remplir le volume. Extrait de [184].

maillage	M
$N_c (\times 1000)$	4081
$s (\text{mm}^2)$	0,09
$a (\text{mm})$	0,5
$h (\text{mm})$	0,001
n_p	8

TABLE 5.2 : Caractéristiques du maillage utilisé pour les calculs menés dans le modèle bouche-trachée. N_c est le nombre de cellules et n_p , le nombre de couches de prismes superposées à partir des surfaces frontières. s est la surface moyenne d'une face, h la hauteur de la première couche de prismes et a est une longueur caractéristique d'une face à la surface frontière.

5.2.1.2 Vélométrie 3D par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé

Des mesures de vitesse ont été effectuées dans le fantôme bouche-trachée en imageant des écoulements de mélanges gazeux contenant de l'hélium-3 hyperpolarisé. Cette technique, mise en place au sein du laboratoire [51], a été initialement testée sur un fantôme des premières générations de l'arbre bronchique [56]. Elle a été adaptée ici pour cartographier les trois composantes spatiales de la vitesse dans l'ensemble du fantôme lors d'une seule acquisition.

Principe

La vitesse peut être codée sur la phase de l'aimantation au moyen de gradients de champ magnétique. Au cours de la précession de Larmor, lors du retour à l'équilibre des spins, la phase accumulée par l'ensemble de spins, dont la position est donnée par $\vec{r}(t)$, pendant l'application du gradient d'encodage $\vec{G}(t)$ selon la direction $\vec{G}(t)/G$, T est donnée par :

$$\Delta\Phi(\vec{r}) = \gamma \int_0^T (B_0 + \vec{G}(t) \cdot \vec{r}(t)) dt \quad (5.2.13)$$

Une mesure de référence, en l'absence de gradient d'encodage, définit en tout point l'origine des phases : $\Phi_0 = \gamma \int_0^T B_0 dt$

On peut en déduire l'expression de la phase en fonction du gradient appliqué :

$$\Delta\Phi(\vec{r}) = \gamma \int_0^T \vec{G}(t) \cdot \vec{r}(t) dt \quad (5.2.14)$$

Au premier ordre du mouvement, la position peut être donnée par le développement limité suivant : $\vec{r}(t) \simeq \vec{r}_0 + \vec{u}_0(r) t$

avec $\vec{r}_0 = \vec{r}(t=0)$ et $\vec{u}_0(r) = \vec{u}(r, t=0)$

Avec l'application d'un gradient bipolaire tel que $\int_0^{T/2} \vec{G}(t) dt = -\int_{T/2}^T \vec{G}(t) dt$, on obtient :

$$\Delta\Phi(\vec{r}) = \gamma \int_0^T \vec{G}(t) \cdot \vec{u}_0(\vec{r}) t dt \quad (5.2.15)$$

En considérant le mouvement des spins comme uniforme pendant le temps T , on en déduit la relation de proportionnalité entre la phase accumulée et la vitesse des spins selon les trois axes :

$$\Delta\Phi_i(\vec{r}) = \left[\gamma \int_0^T \vec{G}_i t dt \right] \vec{u}_i(\vec{r}) \text{ où } i = \{1, 2, 3\} \quad (5.2.16)$$

La phase mesurée sur le signal est ainsi linéaire avec la vitesse des atomes d'hélium-3. Après soustraction de la phase de la mesure de référence Φ_0 , la différence de phase résultante est bien proportionnelle à la vitesse. De façon analogue à la définition du champ de vue d'une image, le *FOV*, il est possible de définir un champ de vitesse, le *FOS*, selon les trois dimensions $FOS_i, (i = \{1, 2, 3\})$ tel que $FOS_i = \max(u_i) - \min(u_i)$ décrive l'intervalle des phases $[-\pi, \pi]$:

$$FOS_i = \frac{2\pi}{\gamma \int_0^T G_i t dt} \text{ où } i = \{1, 2, 3\} \quad (5.2.17)$$

On trouve alors :

$$u_i(r) = FOS_i \frac{\Delta\Phi_i(r)}{2\pi} \text{ où } i = \{1, 2, 3\} \quad (5.2.18)$$

Ainsi, dans l'hypothèse d'un mouvement uniforme à l'échelle du voxel et de la durée d'application du gradient d'encodage, la mesure en contraste de phase permet de cartographier les composantes de la vitesse des spins selon les directions de l'encodage du mouvement.

Séquence

La séquence utilisée est décrite Fig. 5.2.3. Il s'agit d'une séquence d'écho de gradient à quatre échos entrelacés adaptée pour l'encodage de la vitesse.

Le premier écho sans gradient d'encodage de la vitesse détermine la phase de référence. Les échos suivants disposent de gradients d'encodage de la vitesse pour chacune des directions de l'espace. Par la suite, la carte des phases de référence est soustraite aux cartes des phases correspondant à l'encodage de la vitesse dans les trois directions de l'espace, permettant ainsi de calculer la vitesse comme décrit Eq. 5.2.18.

Les paramètres qui ont été utilisés sont les suivants : matrice $92 \times 48 \times 20$, $FOV = 184 \times 96 \times 40$ mm, $FOS = 3,6 \times 7,9 \times 7,9$ m·s⁻¹, $TE/TR = 8,6/20$ ms, écho asymétrique $f = 0,19$.

Dispositif expérimental

Les expériences de vélocimétrie dans le fantôme bouche-trachée ont été menées à l'IR4M sur un IRM 0,1 T (MAG 0,1 T, Sopa-Imaging, France) à la fréquence de l'hélium-3 : 3,9 MHz. Il s'agit d'un aimant résistif refroidi par circuit hydraulique. Les systèmes de gradient de l'imageur permettent d'atteindre une amplitude de 14 mT·m⁻¹. L'émission RF est assurée par une antenne thorax de type « selle de cheval » (saddle coil).

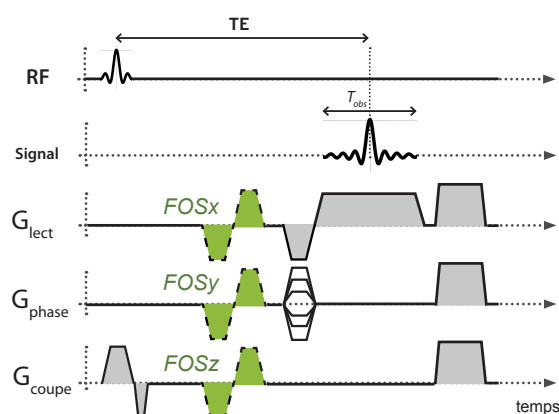


FIGURE 5.2.3 : Chronogramme de la séquence de vélocimétrie IRM. Lors de l'encodage de vitesse, un gradient bipolaire est successivement appliqué selon les trois directions de l'espace (ici en vert) pour estimer la phase accumulée par rapport à la phase de référence (sans gradient bipolaire).

La réception était réalisée par une antenne double bracelet, analogue à l'antenne petit animal décrite précédemment (voir chapitre 4, *Matériel d'imagerie*) de type Helmholtz positionnée de telle sorte que le champ RF B_1 soit perpendiculaire au champ B_0 de l'imageur.

Le gaz d'hélium-3 a été polarisé en Allemagne à l'Université de Mayence à des taux voisins de 65% et a été transporté par avion de Francfort à Paris, conditionné à 3 bars dans des cellules de 1 L. Ces dernières voyagent au sein d'un solénoïde qui maintient un champ magnétique afin d'autoriser une durée de vie du moment magnétique total de près de 120 h dans ces conditions.

Le montage expérimental est schématisé Fig. 5.2.4. Un sac Tedlar® de 20 L était rempli d'un mélange contenant moins de 5% d'hélium-3 hyperpolarisé, complété à l'azote. Le contenu du sac était ensuite aspiré par une pompe à double membrane fournissant un débit constant d'aspiration de $250 \text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}$. Le débit d'administration du gaz était mesuré en continu au moyen d'un débitmètre massique compatible avec l'IRM (AWM700, Honeywell International Inc., États-Unis). Le débitmètre était calibré au début de chaque expérience en mesurant le passage d'azote extrait d'une seringue de calibration de 3 L (Hans Rudolph Inc., États-Unis).

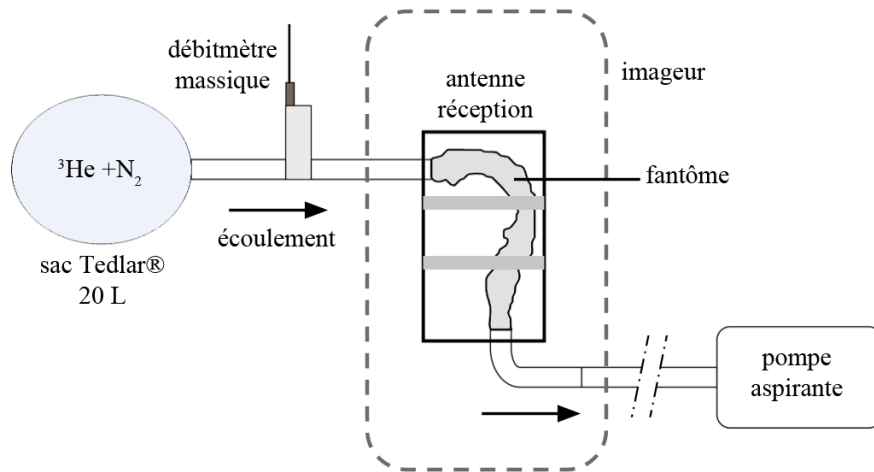


FIGURE 5.2.4 : Schéma du montage expérimental de vélocimétrie IRM dans le fantôme bouche-trachéé.

5.2.1.3 Résultats et discussion

Influence du débit

La figure 5.2.5 représente les cartes de vitesse calculées par CFD dans l'air pour trois débits différents ($Q = 250, 500$ et $1000 \text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}$), pour la coupe centrale du fantôme en vue sagittale. Les vitesses maximales sont localisées dans ce qui est communément nommé le jet laryngeal, créé au niveau de l'épiglotte et entretenu lors de son passage dans le larynx par la restriction des voies aériennes au niveau des cordes vocales (glotte). Le jet laryngeal a fait l'objet d'études diverses [141] car il est la cause principale du dépôt d'aérosols dans une région où l'impaction inertielle est prédominante. Les particules en suspension sont en effet entraînées par l'écoulement puis accélérées par le jet laryngeal conduisant à leur dépôt sur les parois, pondéré selon la courbure rencontrée, la vitesse et la taille des particules. L'obstacle que constitue la paroi avant le passage de la glotte, alors que le jet laryngeal se trouve confiné sur la paroi postérieure avec des vitesses calculées très élevées, représente un lieu préférentiel de dépôt. Après passage de la glotte, le jet s'oriente vers la paroi antérieure de la trachée. Ce résultat a également été observé dans la littérature [40, 113].

Les profils de vitesse adimensionnés u^+ ont également été tracés en plusieurs sections du modèle (Fig. 5.2.6). On remarque une similitude très nette entre les profils pour les différents débits étudiés. Elle trouve son origine dans les forces centrifuges auxquelles le gaz est soumis lorsqu'il parcourt les nombreux virages et coudes de la région ET. Cette similitude s'estompe lorsque l'écoulement devient stationnaire [112]. Ce comportement justifie la cartographie des vitesses par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé à un seul débit : $Q = 250 \text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}$.

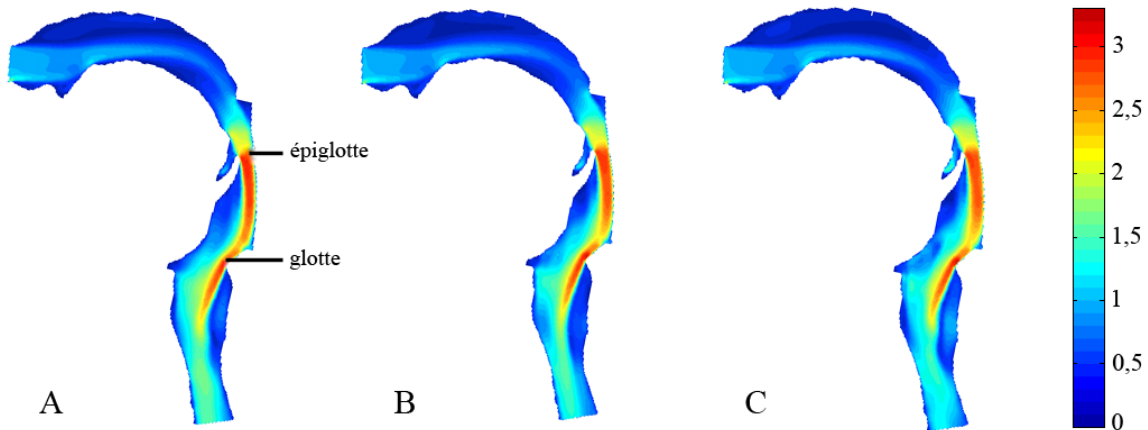


FIGURE 5.2.5 : Cartes de vitesse u^+ (en $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) calculées pour différents débits d'air. (A) $Q = 250 \text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}$. (B) $Q = 500 \text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}$. (C) $Q = 1000 \text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}$. Extrait de [184].

Comparaison entre mesure et calcul

Les trois composantes spatiales et le module des vitesses sont présentés Fig. 5.2.7 à 5.2.10 pour sept coupes centrales prises dans le fantôme bouche-trachée après mesure par IRM de l'hélium-3 et calcul CFD, pour un débit d'administration de gaz $250 \text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}$. Les cartes sont relativement similaires malgré des différences observées notamment au niveau du larynx, pour les vitesses les plus importantes. La modification observée de la géométrie en IRM peut s'expliquer par les délais qui pouvaient intervenir entre codage de vitesse et codage de position [184]. En effet, durant l'acquisition IRM, le codage de vitesse était effectué avant le codage de position. Un délai s'écoulait alors, pouvant entraîner une image légèrement déformée du fantôme.

La composante u_1 est dirigée suivant l'axe de la trachée (Fig. 5.2.7). Comme cela est prédit par le calcul, on observe de faibles valeurs dans la bouche. Les valeurs les plus élevées sont mesurées au niveau de la glotte, au centre du larynx, dans le coude situé en amont de la glotte, puis après le passage des cordes vocales. Les valeurs calculées apparaissent plus élevées que celles mesurées dans la région du larynx.

La composante u_2 est dirigée suivant l'axe de la cavité orale (Fig. 5.2.8). On remarque un maximum positif de vitesse au niveau de la cavité orale puis un maximum négatif au niveau du larynx, décrivant le changement de direction de l'écoulement. Si la correspondance des valeurs entre mesure et calcul semble correcte, on note toutefois des valeurs plus importantes pour la mesure par IRM de l'hélium-3 à la sortie du larynx.

La composante de vitesse u_3 est orthogonale au plan observé (Fig. 5.2.9). Une administration parfaitement dirigée dans l'axe de la bouche supposerait que l'on mesure des vitesses proches de 0 dans cette direction. Les vitesses sont certes plus faibles mais il apparaît cependant des vitesses allant jusqu'à $1 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$, qui ont été prises en compte dans

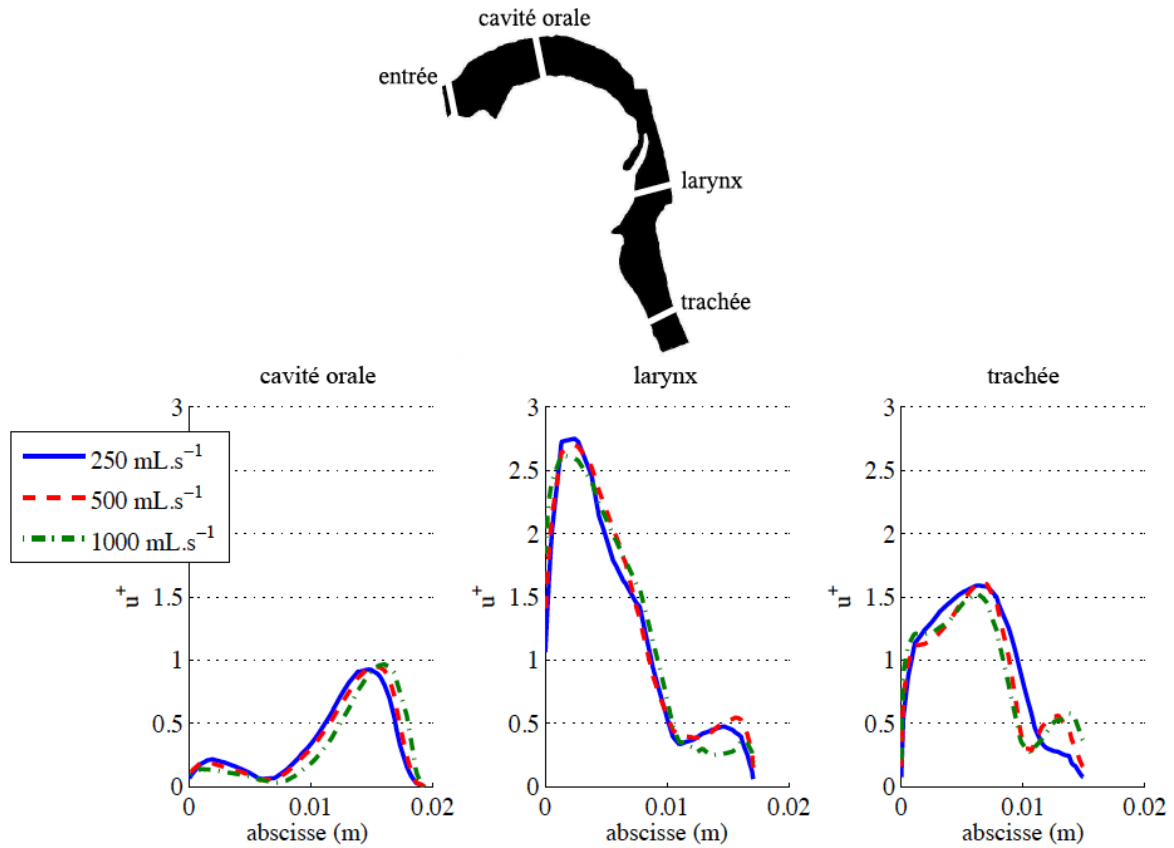


FIGURE 5.2.6 : Profils de vitesse calculés à différents endroits du modèle pour différents débits d'air. $Q = 250 \text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}$, $Q = 500 \text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}$ et $Q = 1000 \text{ mL}\cdot\text{s}^{-1}$. Extraits de [184].

le calcul CFD. Pour cette direction toutefois, les cartes de vitesse mesurées et calculées diffèrent.

La représentation des cartes du module de vitesse du gaz (Fig. 5.2.10) permet de vérifier régionalement la similitude entre théorie et expérience. Les vitesses les plus élevées, situées au niveau de l'épiglotte puis en amont de la glotte, attestent la présence du jet laryngeal.

Malgré quelques différences observées, les propriétés générales de l'écoulement (direction, ordre de grandeur des vitesses) calculées par CFD sont confirmées par la mesure IRM dans une reproduction du modèle de bouche-trachée. Cette étude conforte le modèle d'écoulements gazeux déployé à travers les voies extrathoraciques. Elle pose les bases du transport d'aérosols dans ces voies.

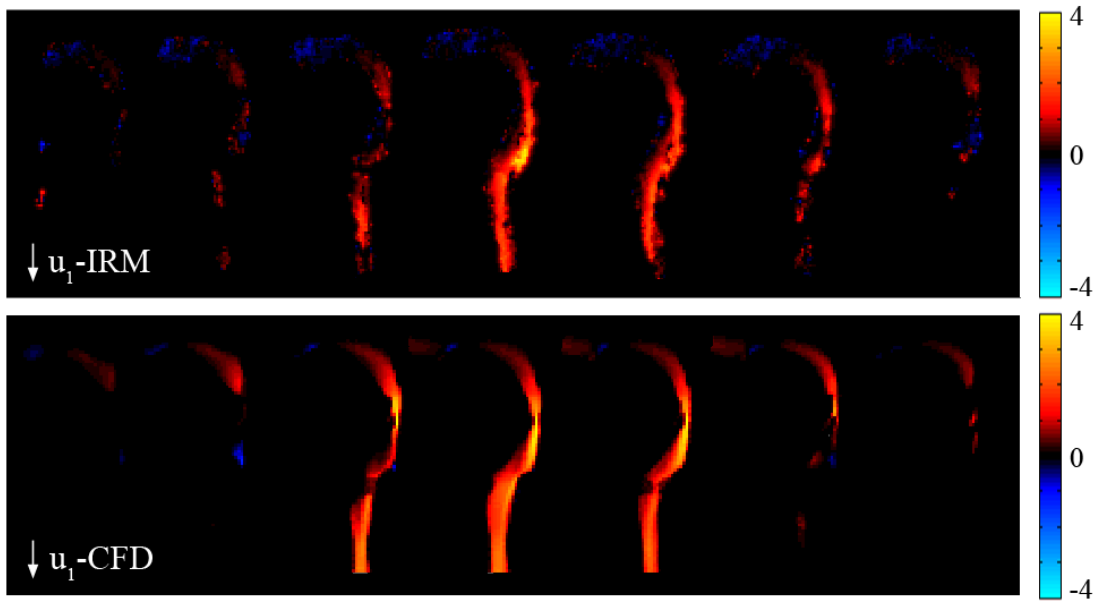


FIGURE 5.2.7 : Cartes de vitesse u_1 , selon l'axe de la trachée, (en $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) mesurées par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé (haut) et calculées par CFD (bas).

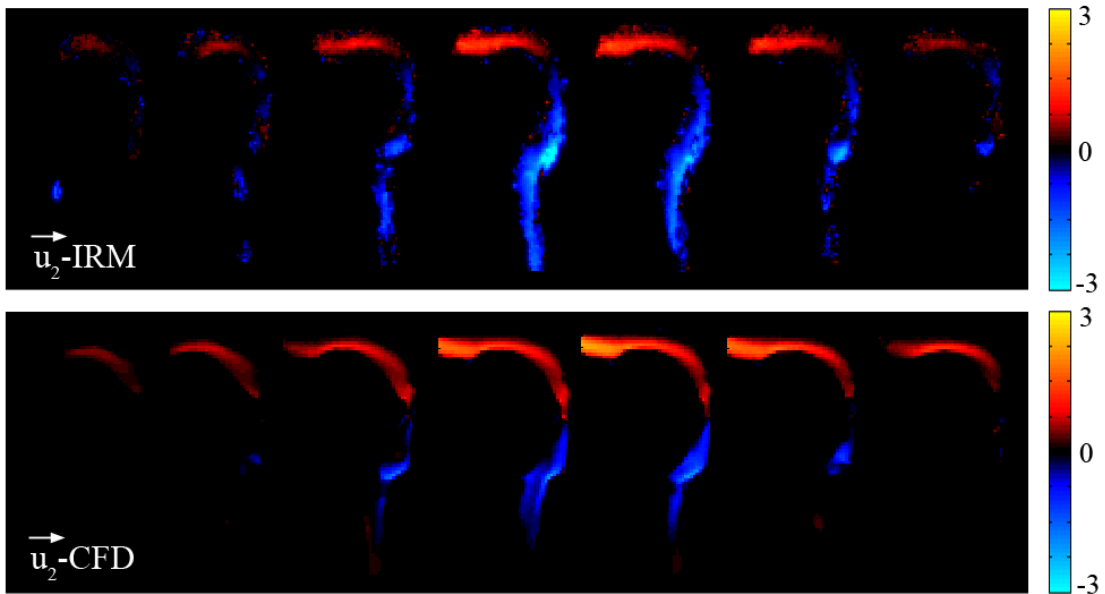


FIGURE 5.2.8 : Cartes de vitesse, u_2 , selon l'axe de la cavité orale, (en $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) mesurées par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé (haut) et calculées par CFD (bas).

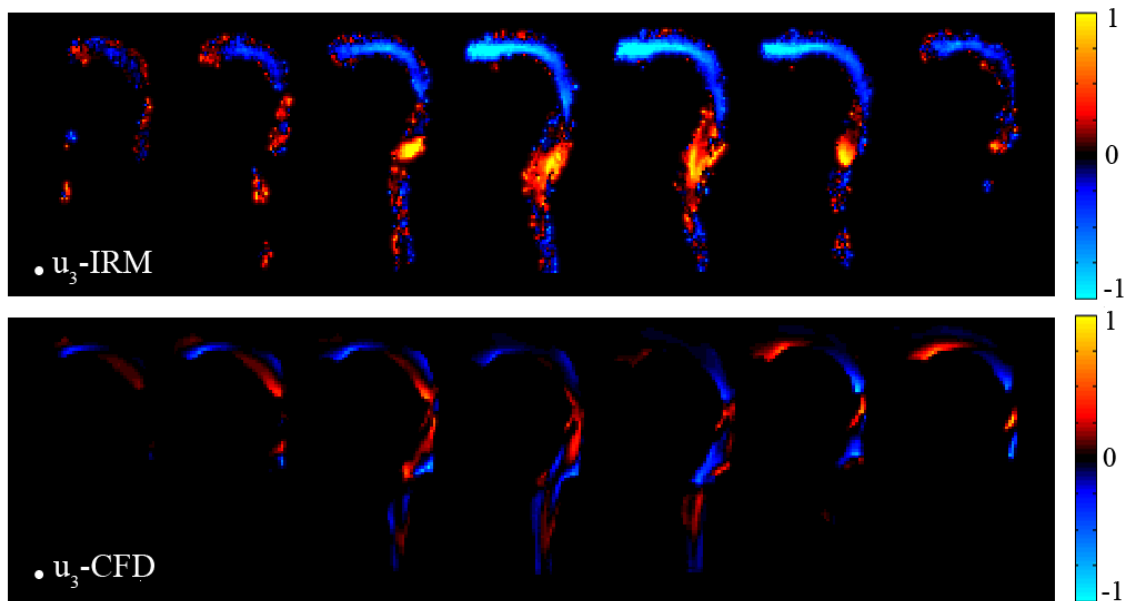


FIGURE 5.2.9 : Cartes de vitesse, u_3 , selon la normale au plan image, (en $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) mesurées par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé (haut) et calculées par CFD (bas).

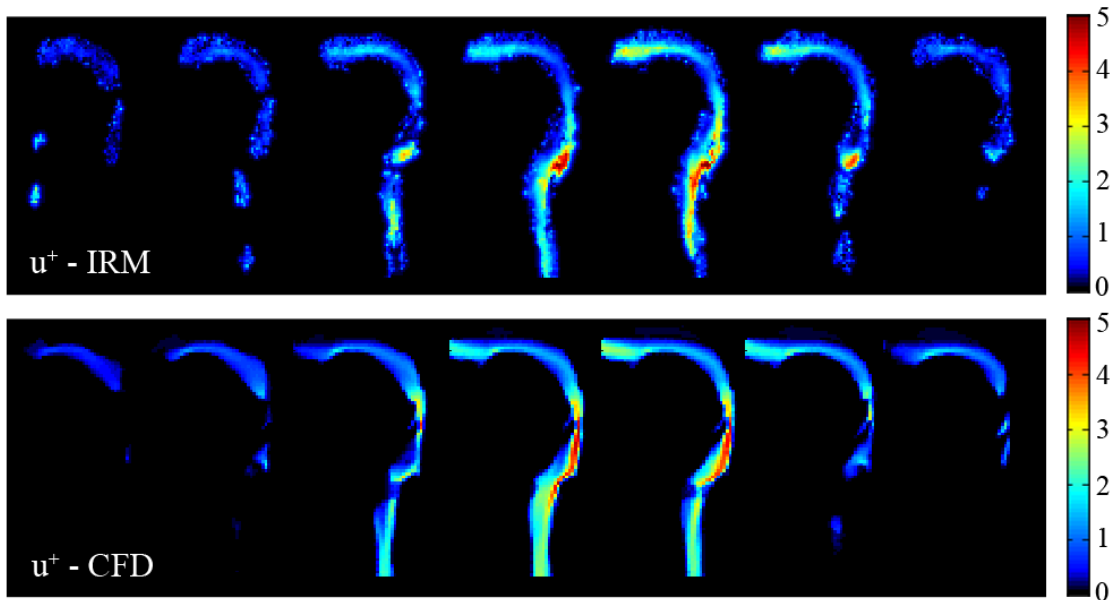


FIGURE 5.2.10 : Cartes du module de vitesse du gaz, u^+ (en $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$), mesurés par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé (haut) et calculés par CFD (bas).

5.2.2 Étude du dépôt de particules

L'estimation par CFD du dépôt de particules en suspension dans un fluide est donnée par la résolution conjointe des équations de l'écoulement et des équations du mouvement des particules. Après avoir caractérisé l'écoulement, comme cela a été abordé dans la section précédente, le dépôt a été simulé dans le modèle pour des conditions similaires à l'expérience d'administration dans le modèle physique. Les résultats obtenus ont été comparés à l'imagerie SPECT et IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé.

5.2.2.1 Simulations numériques

Les écoulements turbulents chargés de particules sont modélisés selon deux principales approches, Eulérienne et Lagrangienne [77].

L'approche Eulérienne modélise l'aérosol comme un mélange de deux fluides : d'une part le gaz, et d'autre part les particules considérées dans leur ensemble comme un milieu continu (on parle de nuage de particules). La résolution des équations de l'écoulement de ce mélange de deux fluides permet d'obtenir les grandeurs (pression, vitesse) moyennées sur des volumes élémentaires. Cette approche ne permet pas une détermination exacte de la trajectoire des particules ni du lieu de dépôt de ces dernières.

Dans l'approche Lagrangienne, l'équation du mouvement est résolue pour chaque particule. Cette approche, coûteuse en temps de calcul, permet néanmoins de suivre la particule depuis son point de départ jusqu'à son point d'arrivée. Le choix du nombre de particules et, par conséquent, du nombre de trajectoires calculées est en général défini pour l'obtention d'un résultat de dépôt indépendant du nombre de particules injectées. L'approche Lagrangienne a été utilisée ici pour la détermination du dépôt de particules dans le fantôme bouche-trachée.

Couplage

Différents types de couplage existent selon l'importance de l'influence du mouvement des particules sur le gaz. Le couplage unidirectionnel (one-way coupling) suppose que seul l'écoulement du gaz a une influence sur la trajectoire des particules. Le couplage bidirectionnel (two-way coupling) prend en compte l'influence du mouvement des particules sur l'écoulement. Le couplage quadridirectionnel (four-way coupling) considère l'ensemble des interactions possibles lors du mouvement de plusieurs particules dans un écoulement de gaz. Le choix du type de couplage est fonction de la concentration des particules dans le gaz.

La concentration des aérosols est en général faible, voire très faible. Aussi, la plupart des calculs CFD d'écoulement d'aérosols dans la région extrathoracique ont-ils été effectués selon l'hypothèse d'un couplage unidirectionnel. Ce choix a également été fait ici. Il permet de découpler la résolution des équations de l'écoulement de celle des trajectoires des particules.

Équation du mouvement

On considère le cas d'une particule sphérique de diamètre $1 \leq d_p \leq 10 \mu\text{m}$ et de masse volumique $\rho_p = 1000 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$, correspondant aux propriétés typiques d'une particule aqueuse issue d'un nébuliseur.

Les principales forces qui agissent sur le mouvement de la particule sont la force de traînée F_D et le poids F_P [81]. La deuxième loi de Newton peut s'écrire :

$$m_p \frac{du_p}{dt} = F_D + F_P = -\frac{1}{8} \rho_g C_D \pi d_p^2 |u_p - u| (u_p - u) - m_p g \quad (5.2.19)$$

avec

u_p : le vecteur vitesse de la particule

u : le vecteur vitesse du fluide

m_p : la masse de la particule

g : le vecteur gravité

C_D : le coefficient de traînée

Le coefficient de traînée dépend donc du nombre de Reynolds de la particule Re_p défini à partir de d_p :

$$Re_p = \frac{\rho_g d_p |u_p - u|}{\mu_g} \quad (5.2.20)$$

Plusieurs expressions $C_D = f(Re_p)$ existent. Elles ont été obtenues à partir de mesures expérimentales. On utilise les expressions déterminées par Morsi *et al.* [152] :

$$C_D = a_1 + \frac{a_2}{Re_p} + \frac{a_3}{Re_p^2} \quad (5.2.21)$$

avec

a_1, a_2 et a_3 : des constantes définies selon Re_p .

Nombre de Stokes

Pour les petites valeurs de Re_p ($Re_p \leq 0,1$), on a $C_D = 24/Re_p$ et on retrouve l'expression de la force de Stokes pour la force de traînée :

$$F_D = -3\pi\mu_g d_p (u_p - u) \quad (5.2.22)$$

Dans le cas où la force de gravité est négligeable (cas des petites particules), on peut résoudre l'équation 5.2.22 :

$$\frac{\pi}{6} \rho_g d_p^3 \frac{du_p}{dt} = -3\pi\mu_g d_p (u_p - u)$$

$$\frac{du_p}{dt} = -\frac{(u_p - u)}{\tau_p}$$

$$\frac{du_p}{(u_p - u)} = -\frac{dt}{\tau_p}$$

$$u_p - u = (u_p - u)_{t=0} \exp\left(-\frac{t}{\tau_p}\right)$$

avec τ_p le temps de relaxation de la particule défini comme suit :

$$\tau_p = \frac{\rho_g d_p^2}{18\mu_g} \quad (5.2.23)$$

Lorsque l'on introduit une particule sans vitesse initiale dans un écoulement, la grandeur τ_p désigne le temps nécessaire à ce que la particule se déplace à la vitesse de l'écoulement.

Si l'on considère le temps τ_s caractéristique de l'écoulement :

$$\tau_s = \frac{W}{L} \quad (5.2.24)$$

avec

W : vitesse caractéristique de l'écoulement (en $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)

L : longueur caractéristique de l'écoulement (en m)

Il est utile d'introduire ici le nombre de Stokes Stk défini comme le rapport :

$$Stk = \frac{\tau_p}{\tau_s} = \frac{\rho_g d_p^2 W}{18\mu_g L} \quad (5.2.25)$$

Dans les situations où $Stk \ll 1$, soit $\tau_p \ll \tau_s$, la particule s'adapte rapidement à l'écoulement et est donc susceptible de suivre les lignes de courant sans se déposer. Quand $Stk \gg 1$, soit $\tau_p \gg \tau_s$, le temps nécessaire à la particule pour se conformer à l'écoulement est plus grand que celui qui caractérise l'écoulement. Par conséquent, tout changement dans la géométrie aura une influence sur l'écoulement de la particule. On retrouve le mécanisme de dépôt par impaction inertielle pour laquelle le nombre de Stokes intègre les principales grandeurs physiques.

Estimation de la force de traînée

L'expression de la force de traînée fait intervenir la vitesse du fluide, u . La résolution des équations de Navier-Stokes avec un modèle de turbulence ne permet de calculer que la vitesse moyenne du fluide, \bar{u} . Or, l'influence des fluctuations turbulentes sur le dépôt n'est pas négligeable. Il est donc nécessaire de modéliser les fluctuations de vitesse u' , ce que permet le modèle d'interaction avec des structures tourbillonnantes EIM (*Eddy Interaction Model*).

Le modèle EIM représente l'influence des structures turbulentes sur les fluctuations de vitesse par une loi normale gaussienne γ :

$$u'_i = \gamma \sqrt{u_i'^2} \text{ où } i = \{1, 2, 3\} \quad (5.2.26)$$

avec

- 1 : composante axiale, dans le sens de l'écoulement
- 2 : composante normale à la paroi
- 3 : composante transverse

Soit, en supposant les fluctuations spatiales de vitesse comme isotropes :

$$u'_1 = u'_2 = u'_3 = \gamma \sqrt{\frac{2}{3}k} \quad (5.2.27)$$

On peut en déduire l'estimation du champ des fluctuations u'_i grâce au champ de k , connu grâce à la résolution des équations de l'écoulement moyen.

On définit ensuite deux temps caractéristiques :

- $\tau_e(s)$, caractéristique de la durée de vie d'une structure tourbillonnante :

$$\tau_e = \frac{C_L}{\omega} \quad (5.2.28)$$

avec $C_L = 0,15$, une constante

- $\tau_{St}(s)$, le temps mis par une particule pour traverser une structure tourbillonnante :

$$\tau_{St} = -\tau_p \ln \left[1 - \left(\frac{L_e}{\tau_p |u_p - u|} \right) \right] \quad (5.2.29)$$

avec L_e : l'échelle de grandeur de la structure tourbillonnante

L'expression de l'équation 5.2.29 peut s'expliquer intuitivement à l'aide de valeurs limites. Si L_e approche $\tau_p |u_p - u|$, c'est-à-dire si l'échelle de longueur de la structure tourbillonnante est de l'ordre de la distance nécessaire à la particule pour se conformer à l'écoulement, alors la particule tend à rester dans la structure tourbillonnante et on a bien τ_{St} qui tend vers des valeurs importantes. Si L_e tend vers 0, alors, la taille de la structure tourbillonnante tend à devenir plus petite, la particule est susceptible de la traverser au bout d'un temps plus court, et on a bien τ_{St} qui tend vers 0.

À un instant initial $t_i = 0$, γ prend une valeur selon la loi de probabilité qui la définit. Les fluctuations de vitesse sont modélisées selon l'équation 5.2.27, la force de trainée peut être calculée et l'équation du mouvement (Eq. 5.2.19) peut être résolue.

Caractérisation de l'aérosol

L'aérosol produit par le nébuliseur que nous avons utilisé lors de nos expériences de dépôt a été caractérisé au Centre de Recherche Claude Delorme, Air Liquide. Ainsi, la distribution de tailles des particules générée par ce nébuliseur a pu être mesurée pour être intégrée dans les paramètres du calcul CFD.

La caractérisation a été réalisée par diffraction laser (Helos/BF with Inhaler dispersion module, Sympatec GmbH, Allemagne) selon le même protocole d'administration

qui avait été mis en place lors des expériences de dépôt dans le fantôme bouche-trachée. Une pompe péristaltique (Bravo Plus 1-60 $L \cdot \text{min}^{-1}$, TCR Tecora, Italie) était connectée en sortie du dispositif expérimental, fournissant un débit d'aspiration constant de $500 \text{ mL} \cdot \text{s}^{-1}$.

Une solution nébulisable composée de sérum physiologique (0,9% NaCl) a été préparée, sans ajout de traceurs pour l'imagerie (technétium-99m, oxyde de fer superparamagnétiques). L'influence des traceurs sur la taille des particules nébulisées a été considérée comme négligeable, leur concentration étant faible. La caractérisation de l'aérosol est réalisée par dix mesures successives de 60 s, à partir desquelles les tailles de particules mesurées sont distribuées en proportion sur 24 diamètres différents. Cette opération a été répétée trois fois.

La masse volumique de la solution de sérum physiologique étant très proche de celle de l'eau pure, nous avons considéré que le diamètre des particules nébulisées était égal au diamètre aérodynamique (AD). Les mesures nous ont permis d'établir la distribution de tailles des gouttelettes selon une loi log-normale, après analyse de la diffraction de la lumière selon la théorie de Lorenz-Mie. Nous avons utilisé un indice de refraction complexe de $1,33+0i$. Le diamètre aérodynamique médian en masse (MMAD) et l'écart type géométrique (GSD) ont été estimés à partir de l'ensemble des données acquises. L'aérosol a été caractérisé comme polydisperse avec $MMAD = 5,04 \pm 0,28 \mu\text{m}$ et $GSD = 1,78 \pm 0,01 \mu\text{m}$. Les distributions cumulée et non cumulée de tailles des particules mesurées sont présentées Fig. 5.2.11.a.

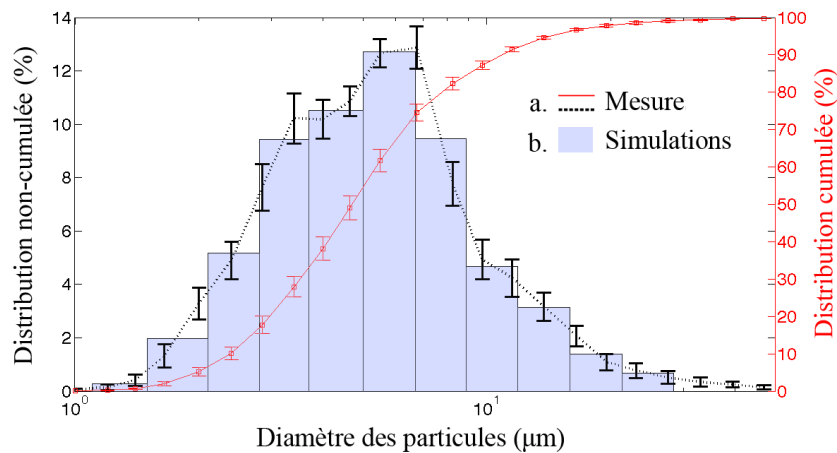


FIGURE 5.2.11 : Distribution non-cumulée de taille des particules utilisée dans le calcul CFD (en bleu) superposée aux distributions non cumulée (en noir) et cumulée (en rouge) mesurées par diffraction laser.

Les calculs de trajectoire des particules ont été réalisés pour 2 400 particules, réparties selon 17 diamètres déterminés à partir des données de caractérisation de l'aérosol (Fig. 5.2.11.b).

Post-traitement

Les simulations, réalisées pour un nombre fini de particules, permettent de quantifier le dépôt d'aérosols en fonction du nombre total de particules lancées dans les simulations.

Dans le but de comparer les résultats obtenus à la quantification faite par IRM, les fractions déposées ont été multipliées par la quantité totale de fer qui a été déterminée par IRM et la résolution spatiale de $1,2 \times 1,2 \times 1,2 \text{ mm}^3$ obtenue pour le calcul CFD a également été dégradée à celle de l'IRM : $4 \times 4 \times 4 \text{ mm}^3$.

5.2.2.2 Comparaison entre mesures et calcul

La distribution du dépôt de particules calculée par CFD est présentée en projection 2D sur la Fig. 5.2.12. Les cartes de dépôt résultantes (en $\mu\text{g}_{\text{Fe}} \cdot \text{voxel}^{-1}$) sont représentées Fig. 5.2.13, après dégradation de la résolution spatiale, pour les huit coupes centrales du fantôme bouche-trachée. Les simulations mettent en évidence des dépôts prononcés au niveau de l'épiglotte et à l'abord des cordes vocales (flèches blanches). Le dépôt calculé est particulièrement important dans le coude situé en amont des cordes vocales. Les valeurs de dépôt sont comprises entre 0 et $40 \mu\text{g}$ de fer dans l'ensemble du volume. Nous avons observé toutefois deux voxels pour lesquels le dépôt mesuré atteint respectivement 171 et $345 \mu\text{g}$ au niveau de l'épiglotte et dans la trachée. L'accumulation de dépôt peut engendrer des hausses locales, mais on s'attend toutefois à obtenir une distribution relativement continue du dépôt à l'échelle de plusieurs voxels et non des valeurs singulières aussi élevées. Dans cette ligne, l'échelle de représentation de la quantité de dépôt ne les prend pas en compte : elle a été volontairement fixée à un maximum de $40 \mu\text{g} \cdot \text{voxel}^{-1}$.

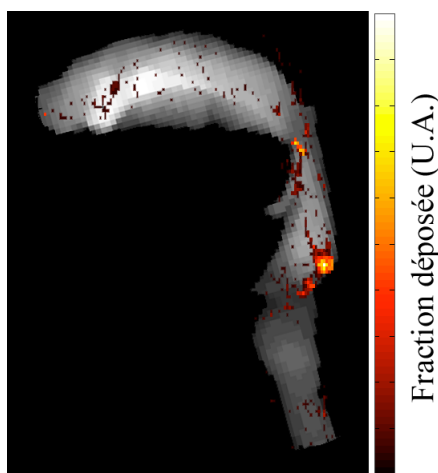


FIGURE 5.2.12 : Distribution du dépôt de particules obtenue par CFD en projection 2D dans le fantôme bouche-trachée en vue sagittale, superposée à une projection de la géométrie.

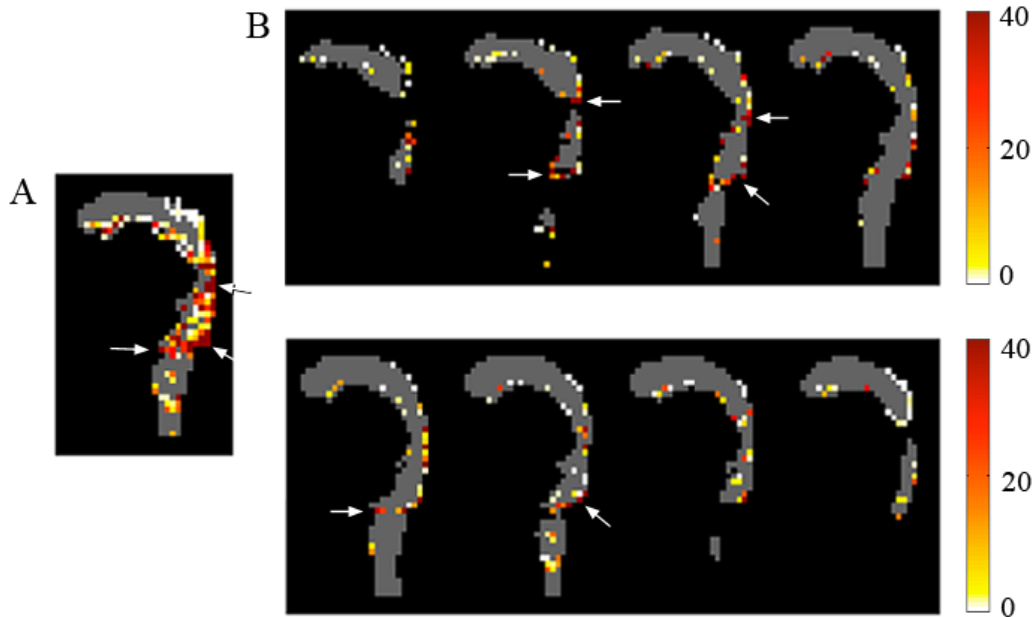


FIGURE 5.2.13 : Cartes de dépôt de fer sur les parois du fantôme bouche-trachée calculées par CFD (en $\mu\text{g}_{\text{FE}} \cdot \text{voxel}^{-1}$). (A) Projection 2D sur l'ensemble du volume. (B) Représentation des huit coupes centrales.

Le calcul CFD est comparé à la mesure du dépôt par IRM et SPECT Fig. 5.2.14. Les cartes de dépôt de fer ont été projetées sur la surface 3D segmentée délimitant les parois du fantôme. On remarque un grand nombre de similitudes (flèches vertes) entre les trois modalités avec un fort dépôt au passage coudé de la bouche à l'oropharynx, au niveau de l'épiglotte, où les recirculations sont importantes, et à la transition entre le larynx et la trachée, autour de la constriction des cordes vocales, zone d'écoulement turbulent. Pour les trois modalités, le dépôt le plus important apparaît juste en amont des cordes vocales, à l'entrée de l'œsophage qui est de fait, face au jet laryngeal, une zone d'impaction évidente.

Un certain nombre de discordances apparaissent également. On note principalement des différences entre l'IRM et les deux autres modalités au niveau de la bouche et de la trachée (flèches rouges). Comme cela a pu être indiqué précédemment, le manque de signal lors de l'acquisition IRM, *i.e.* l'erreur importante de mesure qui a pu être réalisée, au niveau de la bouche, rend la quantification dans cette région difficilement comparable aux autres modalités. La différence observée au niveau de la trachée entre le calcul CFD et les deux autres modalités pourrait avoir pour origine une sous-estimation de la turbulence dans cette région en sortie des cordes vocales.

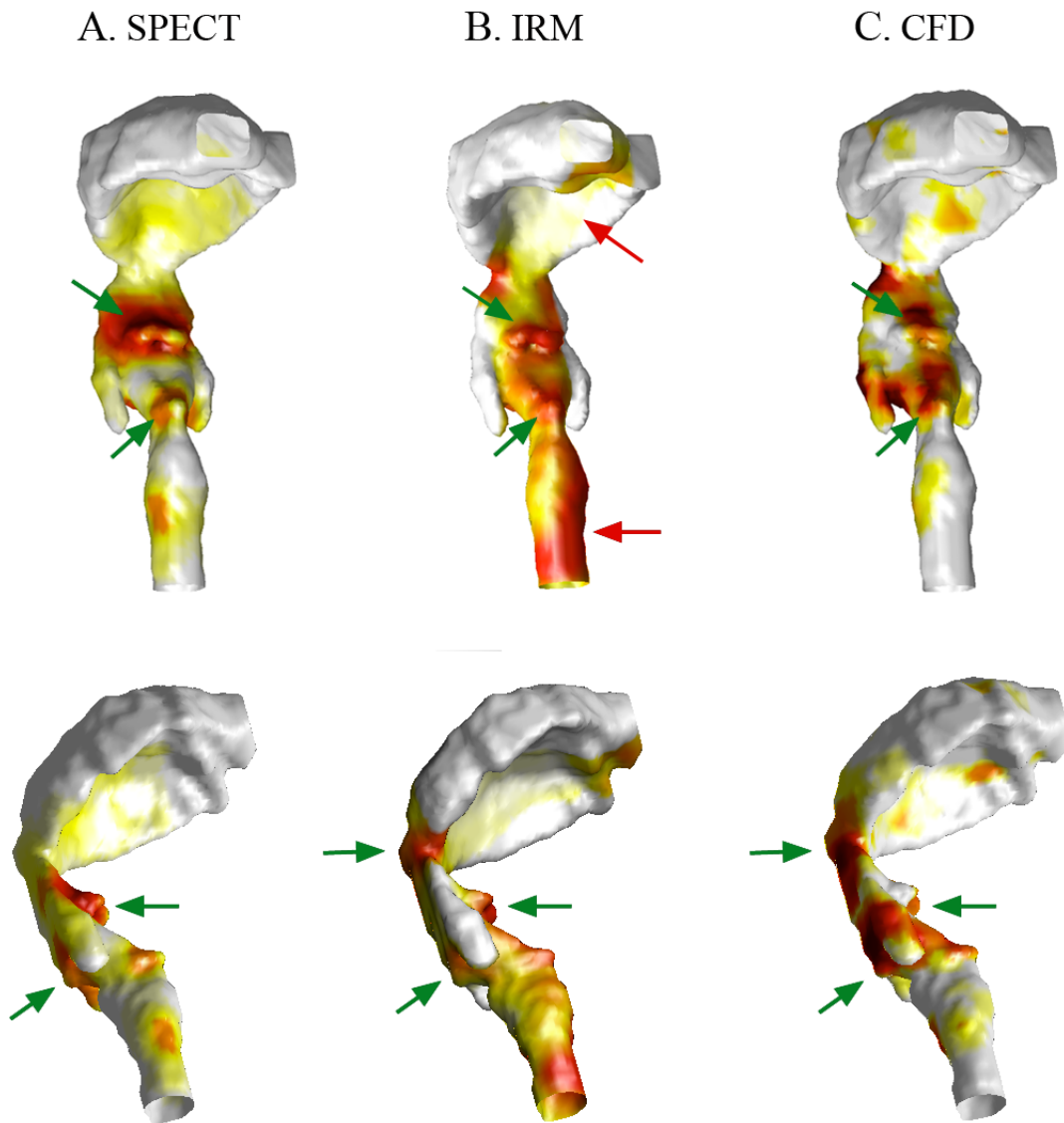


FIGURE 5.2.14 : Représentation 3D des cartes de dépôt de fer projetées sur la surface du modèle bouche-trachée, (A) à partir de l'activité mesurée en SPECT, (B) à partir des cartes de variation du champ magnétique statique mesurées par IRM, et (C) à partir des simulations CFD du dépôt de particules.

5.3 Conclusion

Nous avons présenté dans ce chapitre une approche originale de quantification absolue du dépôt d'aérosols à base d'oxyde de fer, réalisée à partir des cartes de variation du champ magnétique statique B_0 mesurées dans les voies aériennes par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé. Cette approche a été confrontée à une modalité d'imagerie de référence dans le domaine des aérosols, la SPECT, qui corrobore la mesure faite par IRM.

L'IRM de l'hélium-3, modalité non ionisante, dispose de la sensibilité lui permettant de détecter le dépôt d'aérosols, avec des résolutions spatiales et temporelles qui surclassent la modalité SPECT. La haute sensibilité de cette dernière est en l'occurrence défavorisée par des temps d'acquisition relativement long et par une résolution spatiale qui rend peu pertinente l'analyse tomographique du dépôt. L'optimisation des séquences IRM permet d'envisager des résolutions de l'ordre du millimètre en une vingtaine de secondes, compatible avec une apnée. La résolution de la SPECT est limitée à plusieurs millimètres en plusieurs dizaines de minutes, impliquant un moyennage sur plusieurs cycles respiratoires. L'utilisation d'imageurs SPECT précliniques autoriseraient des résolutions spatiales plus élevées mais au prix de champs de vue réduits et de temps d'acquisition pouvant dépasser 1 h30 min [146], inadaptés à l'imagerie du dépôt pulmonaire chez l'homme.

Une comparaison complète a également été menée entre IRM de l'hélium-3 et calculs numériques, de l'écoulement du gaz vecteur au dépôt de particules. La caractérisation de l'écoulement dans les voies aériennes extrathoraciques révèle de nombreuses similitudes entre les deux modalités, et permet en particulier de comprendre le dépôt au travers des mécanismes de transport de l'aérosol. L'identification du jet laryngeal, principale cause du dépôt dans les voies extrathoraciques, permet de comprendre la concentration du dépôt au niveau de l'épiglotte, sur la paroi postérieure du larynx en amont de la glotte, puis sur la paroi antérieure de la trachée.

Le dépôt de particules calculé par CFD corrobore la mesure IRM mais rappelle toutefois l'importance de l'estimation de la turbulence dans cette géométrie complexe.

La mesure du dépôt d'aérosols par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé a été validée par différentes modalités. Cette méthode permet, de façon non invasive et sans recours aux rayonnements ionisants, de discriminer la régionalisation du dépôt dans des géométries complexes avec des performances dépassant celles offertes par la technique de référence qu'est la SPECT. Les particules d'oxyde de fer ferromagnétique ou superparamagnétique ne sont pas toxiques ni carcinogènes [206]. Elles sont déjà pleinement utilisées en magnétopneumographie pour étudier la clairance alvéolaire à long terme [150]. La sensibilité de la technique avancée ici ainsi que ses résolutions spatiale et temporelle atteignables ne nécessitent pas l'administration de doses plus importantes dans une application *in vivo*.

Chapitre 6

Validation expérimentale sur le petit animal

La validation de l'IRM comme outil d'étude du dépôt d'aérosols nécessite la mise en place de protocoles expérimentaux reproductibles, autorisant, d'une part, la calibration des acquisitions sur une carte de référence et, d'autre part, la comparaison des acquisitions menées sur différents sujets ou fantômes. Dans le cas de l'IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé, et comme cela a pu être souligné lors de notre première étude du dépôt d'aérosols sur le petit animal (chapitre 4), les conditions d'administration du gaz traceur jouent un rôle déterminant dans la pertinence et la reproductibilité des mesures effectuées. Nous présentons dans ce chapitre le développement d'une plateforme d'administration de gaz et d'aérosols ainsi que la première étude du dépôt d'aérosols par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé, *in vivo*, chez le petit animal, réalisée au moyen de cette plateforme.

6.1 Conception d'une plateforme d'administration de gaz pour le petit animal

Chez le petit animal, le contrôle des paramètres de ventilation s'avère indispensable et largement répandu pour l'étude de la fonction respiratoire. Au-delà du maintien des constantes physiologiques de l'animal, le recours à des respirateurs permet d'intervenir sur les paramètres de ventilation (pression, volume, fréquence respiratoire) et d'examiner ainsi en détail le fonctionnement du poumon. Dans le cadre d'investigations ayant recours à l'imagerie médicale, les respirateurs permettent aussi de limiter de façon importante

les effets non désirés induits par les mouvements respiratoires sur la qualité des images acquises (mise en apnée, gating respiratoire).

Dans le cas nous concernant, le contrôle des paramètres de ventilation associé à celui de l'administration de gaz polarisé répondait à un besoin de contrôle et de reproductibilité indispensables à toute étude menée sur le petit animal. Il devait en l'occurrence pallier la variabilité des mesures réalisées, occasionnée par l'administration manuelle des gaz et aérosols, tant au niveau intra-sujet qu'au niveau inter-sujet. Ce besoin était également fortement présent dans les différentes thématiques de recherche du laboratoire associant IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé et étude sur le petit animal (cartographie de la diffusion apparente, ADC, cartographie de la durée de vie du signal, T_2^* , cartographie des propriétés mécaniques du parenchyme pulmonaire). Le type de ventilation, le gaz ventilatoire, le mode d'administration et le degré d'inflation du poumon conditionnent en effet largement le résultat de ces mesures en imposant en premier lieu une carte de champ magnétique propre à l'organe et à son état. Celle-ci résulte de la différence de susceptibilité magnétique aux interfaces entre le gaz et le tissu. Elle conduit à la cartographie T_2^* et définit une référence pour la cartographie de dépôt ultérieure. En deuxième lieu, ces conditions mettent en jeu un ensemble de volumes aériens qui restreignent la diffusion des atomes d'hélium-3 dans le gaz alors présent. Elles influencent la cartographie ADC. En dernier lieu, ces conditions sollicitent les propriétés mécaniques du parenchyme pulmonaire, à la base de la fonction-même du poumon. La cartographie des modules viscoélastiques en est de fait une mesure assez sensible. La maîtrise de ces conditions pose en somme la ligne de base de toute tentative d'étalonnage et, par suite, de quantification de l'ensemble de ces modalités IRM.

Nous avons dans un premier temps dressé l'inventaire des dispositifs existants mais aucun ne pouvait répondre complètement aux besoins spécifiques conjugués de ventilation mécanique et d'administration d'hélium-3 hyperpolarisé et d'aérosols. Par conséquent, nous nous sommes orientés vers la réalisation de notre propre plateforme d'administration pour ainsi répondre de façon adaptée à nos thématiques de recherche.

6.1.1 Contexte

6.1.1.1 Administration de gaz hyperpolarisé

L'administration de gaz hyperpolarisé dans un environnement magnétique et RF n'est pas une pratique nouvelle et d'autres équipes ont déjà apporté des solutions à cette problématique. On a pu recenser dans la littérature trois principales approches.

La première n'utilise pas de respirateur. Le petit animal est anesthésié puis connecté à un dispositif d'administration du gaz [71]. L'administration est suivie d'une apnée pour l'acquisition des images IRM. Cette approche est simple et efficace, avec toutefois un nombre de fonctionnalités réduit et l'absence de contrôle de l'insertion de l'administration dans le cycle respiratoire de l'animal.

La seconde associe un ventilateur commercial à un module d'administration spécifiquement conçu pour le gaz hyperpolarisé. En règle générale, le gaz, stocké dans un sac Tedlar®, est confiné dans une enceinte pressurisée et une vanne contrôlée permet l'administration du gaz à l'animal *via* le ventilateur [33, 208, 116].

On répertorie dans le commerce essentiellement deux dispositifs de ventilation compatibles IRM et dédiés au petit animal, les modèles *MRI-1 Ventilator* (CWE Inc., Ardmore, États-Unis) et *flexiVent* (SCIREQ, Scientific Respiratory Equipment, Inc., Canada). Le premier est un ventilateur petit animal traditionnel, disposant d'une vanne d'administration non magnétique, que l'on place dans l'aimant au plus près de l'animal. Nous avons testé la vanne d'administration et celle-ci s'avère incompatible avec l'usage de gaz polarisés (Fig. 6.1.1). En effet, la vanne amagnétique d'administration, métallique, s'est révélée dépolarisante pour le gaz d'hélium-3. Le second est décrit comme compatible avec l'utilisation de gaz hyperpolarisé [208, 116]. Ces deux dispositifs ne permettent pas la mise en apnée de l'animal.

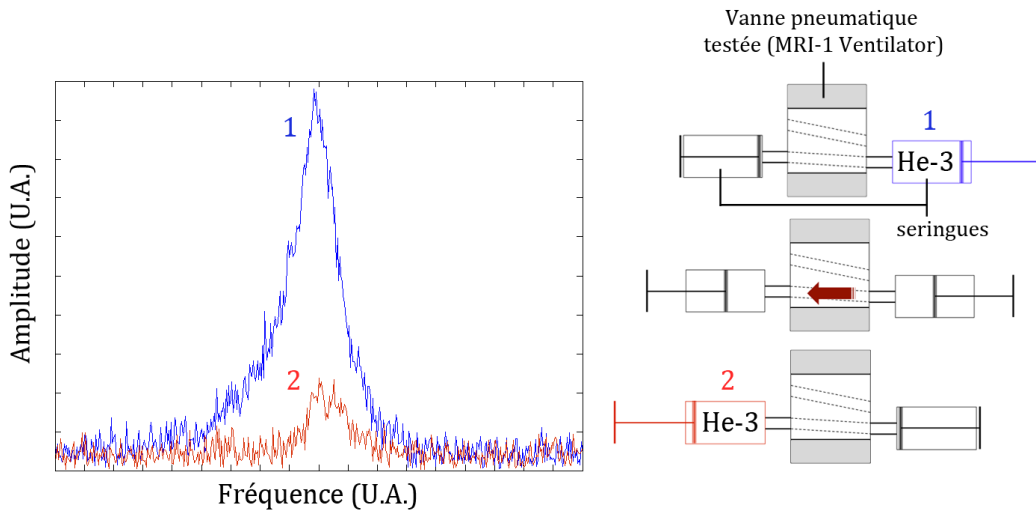


FIGURE 6.1.1 : Évaluation de la dépolarisation de l'hélium-3 suite au passage du gaz dans la vanne pneumatique amagnétique du ventilateur *MRI-1 Ventilator* (CWE Inc., États-Unis). Deux FID sont représentées (1) avant et (2) immédiatement après passage du gaz dans la vanne. On note une diminution de l'amplitude du signal d'un facteur 5.

La troisième et dernière approche consiste en l'élaboration de prototypes complets d'administration et de ventilation issus des développements de quelques équipes de recherche. Le plus souvent, ils sont partiellement décrits dans la littérature. Par ailleurs, les conditions expérimentales et les objectifs visés étant spécifiques à chaque équipe, il en résulte des stratégies d'administration relativement variées.

Un ventilateur compatible IRM permettant l'administration de gaz hyperpolarisé est décrit dans les travaux de Hedlund *et al.* [106, 105]. Il s'agit d'un module d'administra-

tion non magnétique associé à un respirateur. Ce dispositif a permis l'investigation de la ventilation pour une large gamme de cycles respiratoires et également l'étude de la diffusion dans le poumon de rat [68]. Cette équipe a récemment proposé une nouvelle génération de cet administrateur [160], qui déporte le module pneumatique d'inhalation de façon à s'affranchir des contraintes magnétiques et RF (cas d'un aimant 2 T préclinique). Les conduites de gaz à l'animal sont allongées, mais leur section est réduite (0,8 mm), de façon à limiter les volumes morts. L'impédance induite par la faible section des conduites est décrite comme suffisamment faible pour permettre l'expiration sans difficulté de l'animal. Ce dispositif est élégant et précisément conçu pour un environnement magnétique préclinique, où les champs magnétique et RF sont confinés, et serait difficilement adaptable à un environnement clinique sans majoration des volumes morts et de l'impédance à l'écoulement, due à la faible section des conduites de gaz.

On a également pu recenser un dispositif dédié à l'imagerie dynamique du cycle respiratoire chez le rat et la souris, décrit dans les travaux de Chen *et al.* [31, 32].

On note enfin le développement d'un respirateur [50, 123] utilisé dans les travaux de Ruiz-Cabello *et al.* [180] et Perez-Sanchez *et al.* [170] pour l'étude des propriétés de diffusion du gaz dans les poumons de rat. Cet administrateur a aussi été utilisé dans les travaux de Olsson *et al.* [163] pour l'étude de la broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO). Il s'agit d'un ventilateur couplé à un module pneumatique non magnétique réalisée en nylon. Le module d'administration comporte une vanne spécifique pour l'administration d'hélium-3, une vanne pour l'air ou les mélanges à base d'oxygène et une vanne assurant l'expiration de l'animal (Fig. 6.1.2). L'ajout d'une vanne d'inspiration autorise la réalisation de mélanges comportant jusqu'à deux fluides, réalisés au plus près de l'animal par le contrôle des temps d'ouverture des deux vannes d'inspiration.

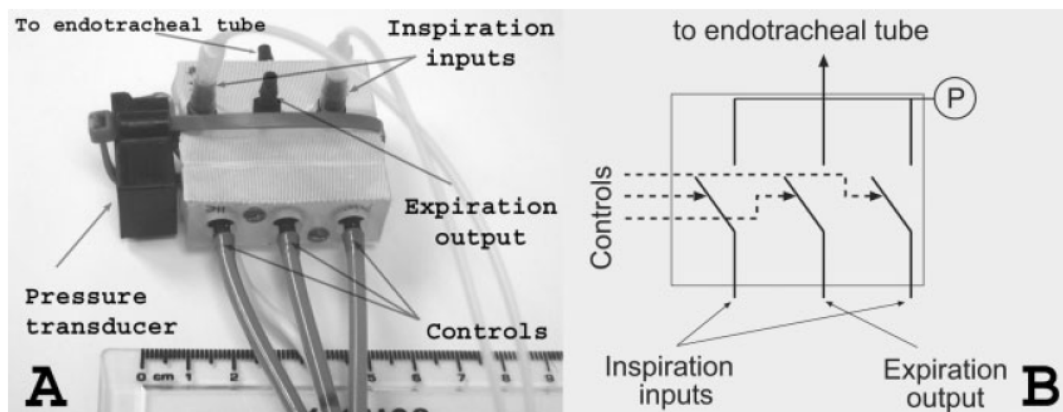


FIGURE 6.1.2 : Représentation du module d'administration utilisé dans les travaux de Perez de Alejo *et al.* (A) Photographie du module d'administration et (B) schéma des trois vannes d'administration disposées à l'intérieur du module. Extrait de [50].

Nous nous sommes inspirés du principe de fonctionnement de ce module pneumatique

pour concevoir une plateforme de ventilation et d'administration de gaz et d'aérosols aux fonctionnalités étendues qui satisfassent les nécessités des cartographie du dépôt d'aérosols, de la diffusion apparente, de la durée de vie du signal et des modules viscoélastiques du poumons par résonance magnétique de l'hélium-3 hyperpolarisé.

6.1.1.2 Établissement d'un cahier des charges

La conception de la plateforme d'administration répond à deux fonctions principales, la ventilation contrôlée du petit animal et l'administration de mélanges gazeux. Nous avons étendu les possibilités de mélange à trois gaz différents avec pour objectif, à moyen et long terme, d'étudier l'écoulement d'aérosols pour des mélanges de gaz vecteurs complexes (azote, SF₆, hélium-4, oxygène) et dans le but de caractériser la diffusion des gaz dans les poumons pour de larges gammes de densités et de viscosités.

Plus précisément, le cahier des charges de cette plateforme a été établi selon les critères suivants :

- ventilation contrôlée du petit animal,
- compatibilité avec une vaste gamme d'animaux, allant de la souris au lapin,
- réalisation d'apnées,
- surveillance et enregistrement en temps réel des paramètres de ventilation,
- réalisation, stockage et administration de mélanges gazeux comprenant jusqu'à trois gaz différents,
- surveillance et enregistrement en temps réel de l'état du système d'administration,
- compatibilité avec l'environnement magnétique et RF,
- compatibilité avec le stockage et l'administration d'hélium-3 hyperpolarisé,
- contrôle de la ventilation et de l'administration au moyen d'une interface utilisateur intuitive et ergonomique.

La réalisation de la plateforme s'est articulée autour de cinq axes principaux :

- Mécanique : conception, plans et réalisation de l'ensemble des éléments de la plateforme
- Electronique : étude et réalisation d'un module de commande et d'acquisition
- Pneumatique : étude et mise en oeuvre de l'alimentation en fluides du système
- Logiciel : conception et réalisation d'un programme de commande et d'une interface utilisateur
- Montage et tests : assemblage et essais en conditions réelles de la plateforme d'administration sur fantôme puis sur le petit animal.

La plateforme d'administration a été baptisée SAGAS (Small Animal Gas Administration System), palindrome de lettres évoquant le caractère épique du cheminement parcouru jusqu'à l'aboutissement de ce projet.

6.1.2 SAGAS : Small Animal Gas Administration System

6.1.2.1 Fonctionnement et installation

La conception de la plateforme SAGAS a été étudiée pour la réalisation, le stockage et l'administration de mélanges gazeux comportant jusqu'à trois gaz différents. Le module d'administration évolue sensiblement comparé à ce que l'on peut trouver dans la littérature, avec quatre compartiments, dédiés au mélange et au stockage de gaz, et vingt-trois vannes qui assurent les fonctions de ventilation, mélange et administration des gaz et aérosols au petit animal.

Description du module d'administration

Le schéma de principe du module d'administration est présenté Fig. 6.1.3. Le module comprend quatre caissons étanches à l'intérieur desquels sont placés des sacs Tedlar® destinés à recevoir les gaz, les mélanges gazeux ou les aérosols.

Douze capteurs de pression sont disposés au niveau des caissons et des différents jeux de vannes dans le but de surveiller la pression dans l'ensemble du système.

Le circuit d'administration du gaz 1 est séparé des autres circuits d'administration afin, le cas échéant, de le remplir d'aérosols et de ne pas contaminer le système.

Par défaut et pour des raisons de sécurité, le système au repos ouvre automatiquement le circuit d'expiration à l'atmosphère (circuit bleu clair). Les autres vannes du système sont gardées fermées.

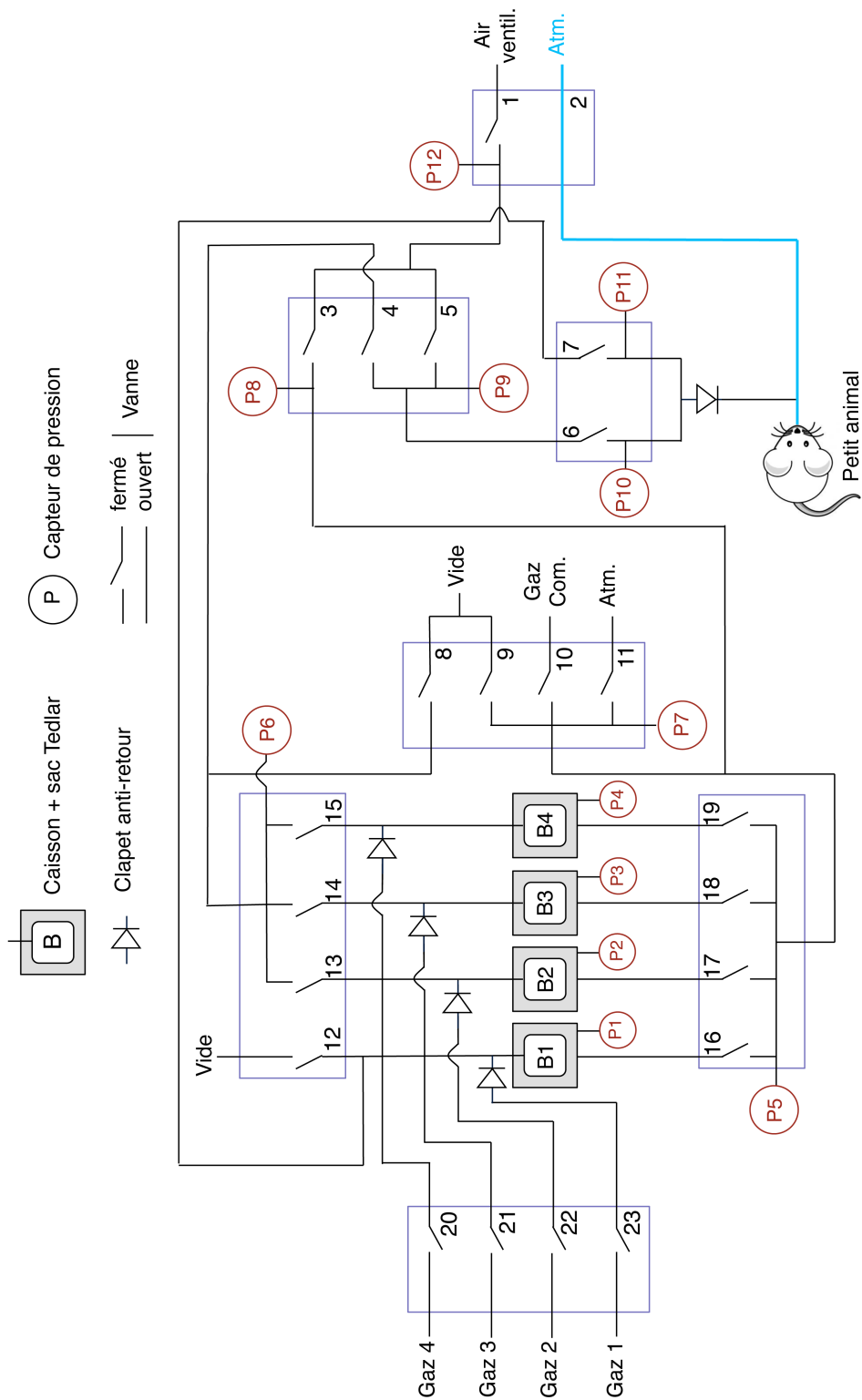


FIGURE 6.1.3 : Schéma de principe de la plateforme d'administration SAGAS. Représentation de l'état par défaut du système.

Fonctionnement

Inspiration

L'état du système lors d'une inspiration est présenté Fig. 6.1.4 (circuit bleu clair). Une bouteille d'air comprimé munie d'un détendeur et d'un régulateur de pression est connectée à la vanne n°1. Les vannes 1, 5 et 6 sont ouvertes et laissent passer le flux d'air vers le petit animal. La quantité d'air inspiré est modulée en fonction de la pression en sortie de la bouteille d'air et du délai d'ouverture des vannes. À la fin d'une inspiration, les vannes 1, 5 et 6 sont fermées, et le système ouvre de nouveau le circuit d'expiration à l'atmosphère (vanne 2), ce qui correspond au retour à l'état de repos du système (Fig. 6.1.3).

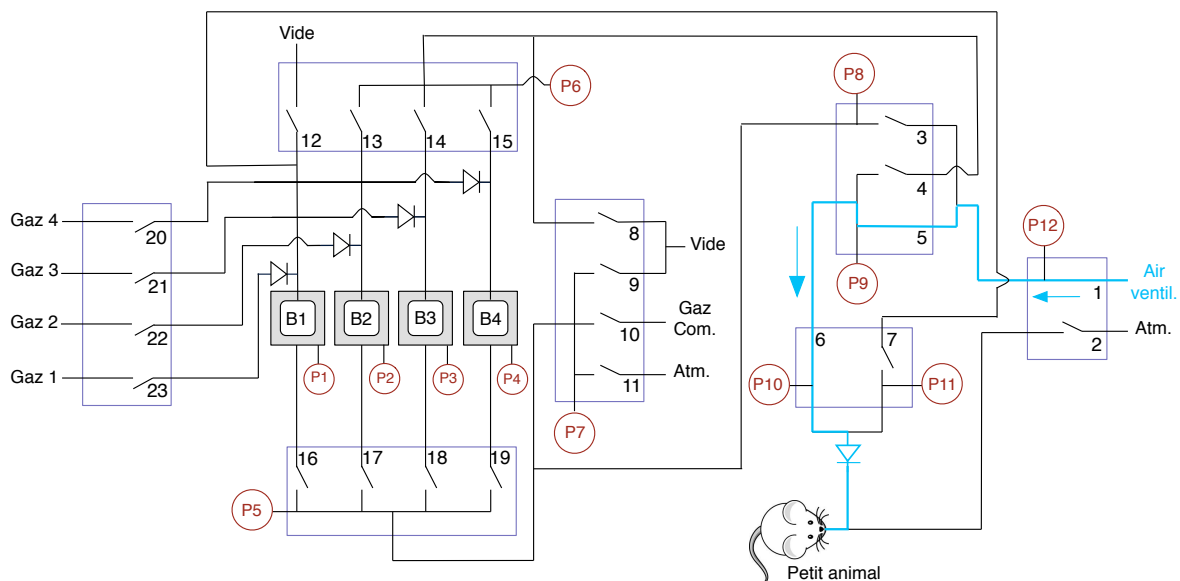


FIGURE 6.1.4 : État d'ouverture des vannes du système d'administration lors de la phase d'inspiration.

Vidange des sacs

La vidange des sacs est opérée par la mise à la pression atmosphérique des caissons et la mise sous vide des sacs. Le processus est décrit Fig. 6.1.5 pour le sac n°2. Le caisson est mis à pression atmosphérique grâce à l'ouverture des vannes 11 et 17 (circuit vert). Le sac n°2 est ouvert sur le vide par l'ouverture des vannes 8 et 13 (circuit rouge). Il est également possible de vider la ligne conduisant le gaz au petit animal par l'ouverture de la vanne 4, tel que cela est également représenté sur la figure. Cela peut être particulièrement utile si l'on souhaite éviter la présence d'un corps particulier dans la conduite, comme par exemple la présence d'oxygène paramagnétique pour éviter de dépolymériser l'hélium-3. Lorsqu'un animal est connecté à la plateforme d'administration durant la

phase de vidange, le circuit d'expiration est ouvert sur l'atmosphère afin qu'il puisse respirer de façon spontanée (circuit bleu clair).

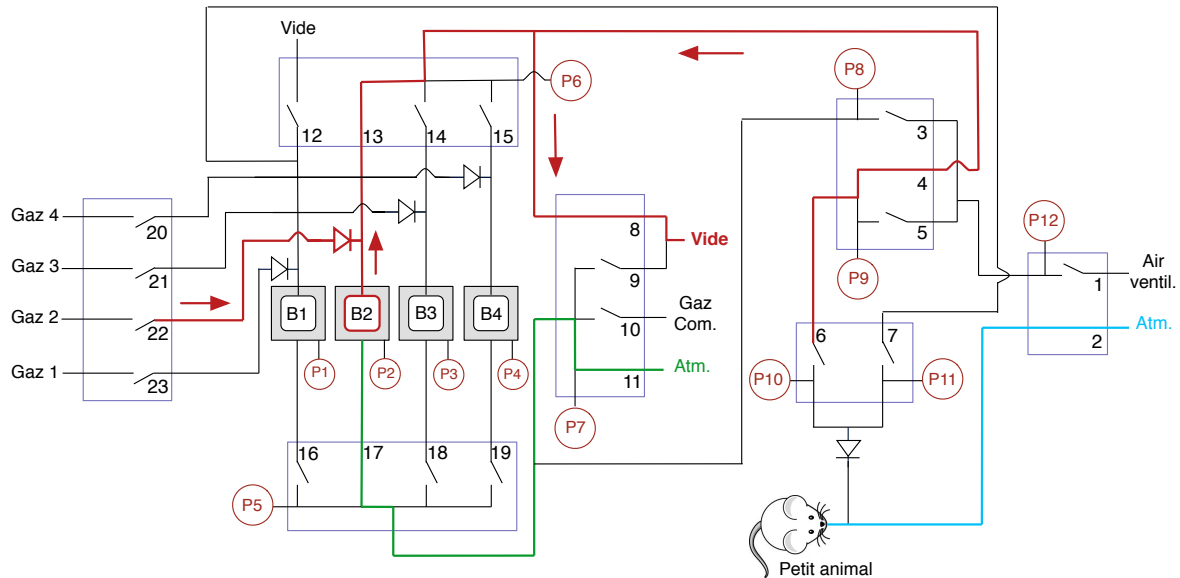


FIGURE 6.1.5 : Représentation du processus de vidange pour le sac n°2 (B2, bag 2).

Remplissage des sacs

Les vannes 20 à 23 sont connectées à quatre sources de gaz différentes. Il peut s'agir de bouteilles de gaz comprimé, d'un sac contenant l'hélium-3 hyperpolarisé ou encore d'un sac contenant un aérosol. Les sacs sont remplis après ouverture des vannes tandis que les caissons correspondant sont ouverts sur le vide, afin de faciliter et d'accélérer le processus de remplissage. Les sacs sont toujours entièrement vidés avant d'être remplis. Le degré de remplissage des sacs est conditionné par les temps d'ouverture des vannes et la pression en sortie des sources de gaz.

Le processus de remplissage est décrit Fig. 6.1.6 pour le sac n°2. Le caisson est mis sous vide par l'ouverture des vannes 9 et 17. Le sac est ouvert sur le gaz par l'ouverture de la vanne attenante, ici la vanne 22. Il est possible de remplir la ligne de gaz conduisant au petit animal par l'ouverture des vannes 4 et 13. Cela peut permettre de purger la ligne et également de limiter les volumes morts avant administration du gaz à l'animal.

Réalisation de mélanges

Dans la littérature, la réalisation de mélanges de gaz est obtenue par l'ouverture régulée de vannes d'inhalation, au plus près de l'animal. Il n'y a pas de stockage, le mélange est réalisé à chaque inhalation. Les mélanges réalisés comportent un maximum de trois

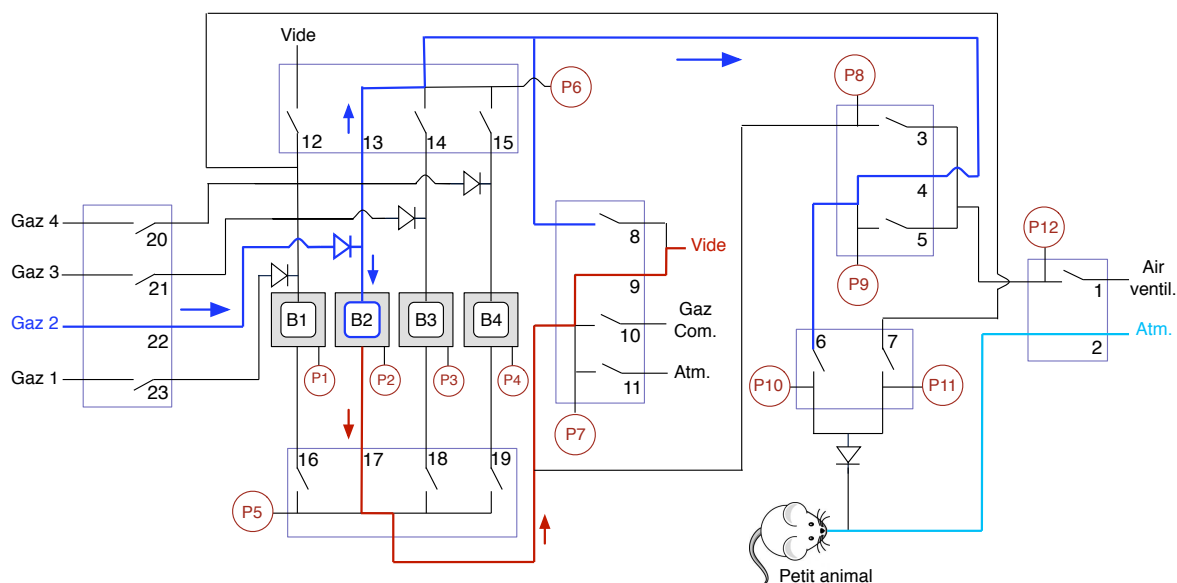


FIGURE 6.1.6 : Représentation du processus de remplissage pour le sac n°2.

gaz différents. La plateforme SAGAS comprend plusieurs possibilités selon l'orientation choisie :

- La voie séparée provenant du sac n°1 (B1) peut être dédiée à l'administration d'hélium-3. Ainsi, des mélanges comprenant des substances dépolarisantes, comme l'oxygène, peuvent être réalisés dans les sacs n° 2 (B2), 3 (B3) ou 4 (B4). L'administration de l'hélium-3 et du mélange peut être réalisée au plus près de l'animal par l'intermédiaire des vannes 6 et 7, en limitant l'influence des substances dépolarisantes sur la polarisation de l'hélium-3.
- La voie provenant du sac B1 peut être dédiée à l'administration d'aérosols¹. L'hélium-3, ou un mélange à base d'hélium-3, peut alors être préparé dans les sacs B2, B3 et B4.

La versatilité offerte par la plateforme dans la modification de composition du gaz administré à l'animal offre des possibilités multiples, notamment pour la caractérisation de l'écoulement de fluides dans les voies aériennes.

Nous décrivons la réalisation d'un mélange comportant trois gaz différents dans le sac B3. Le sac B3 doit être initialement vidé. Les sacs B2 et B4 sont considérés comme remplis.

Étape 1 : l'ouverture de la vanne 21 permet un premier remplissage du sac B3 avec le gaz 3 (Fig. 6.1.7). Le vide est réalisé simultanément dans le caisson par l'ouverture des vannes 9 et 18.

1. Cette voie nécessite d'être intégralement nettoyée (ou remplacée) selon qu'elle véhicule l'hélium-3 hyperpolarisé ou un aérosol.

Étape 2 : le sac B2 est comprimé par l'ouverture des vannes 10 et 17, et une fraction du contenu du sac B2 est transférée dans le sac B3 (Fig. 6.1.8) grâce à l'ouverture des vannes 13 et 14.

Étape 3 : une fraction du sac B4 est administrée dans le sac B3 (Fig. 6.1.9). Le sac B4 est simultanément comprimé par l'ouverture des vannes 10 et 19, et ouvert sur le sac B3 par l'ouverture des vannes 14 et 15.

Il est impératif de veiller à ce que la somme des volumes administrés dans le sac B3 ne dépasse pas la contenance du sac.

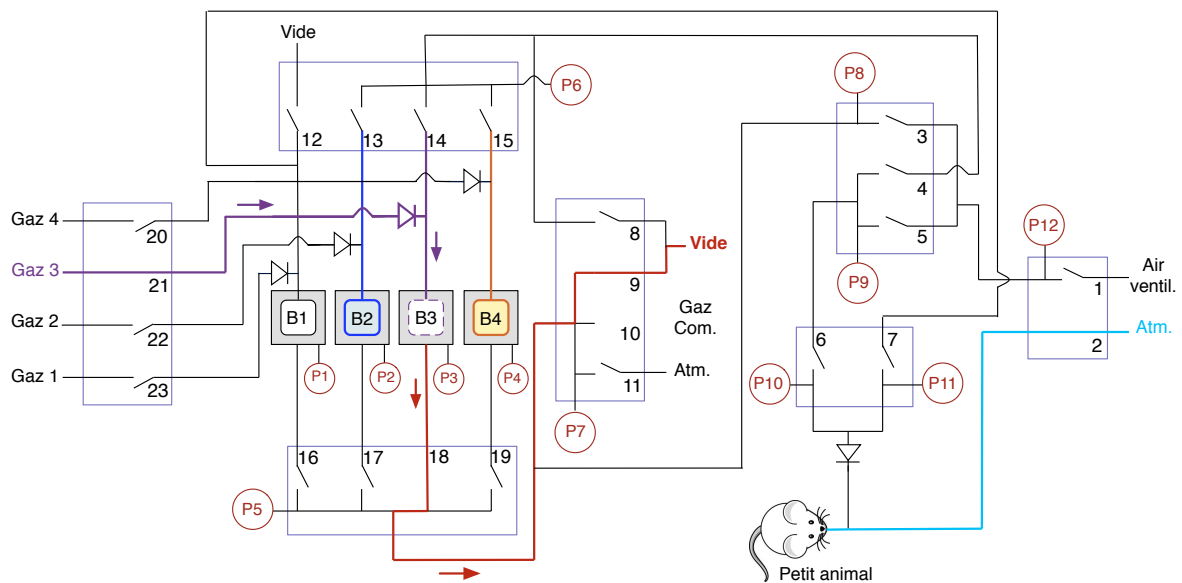


FIGURE 6.1.7 : Schéma illustrant le remplissage partiel du sac 3.

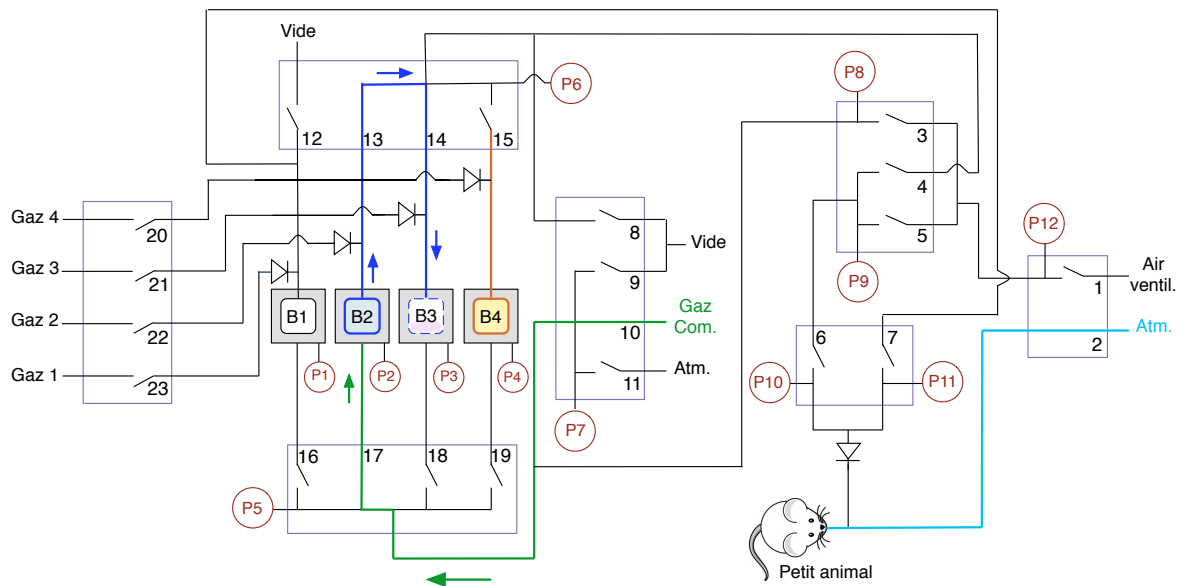


FIGURE 6.1.8 : Représentation de l'administration d'une fraction de gaz contenue dans le sac 2, dans le sac 3.

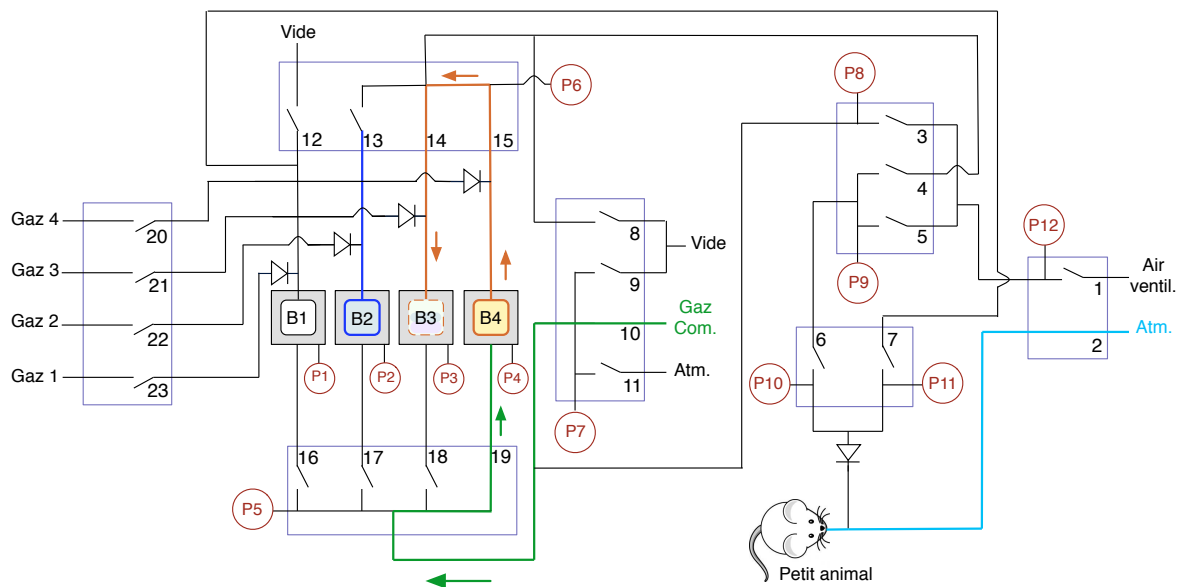


FIGURE 6.1.9 : Représentation de l'administration dans le sac 3 d'une fraction de gaz contenue dans le sac 4.

Installation du système

La figure 6.1.10 présente l'installation de la plateforme SAGAS dans l'environnement IRM. Le système est composé d'un module d'administration (1), d'un module de commande (2) et d'un ordinateur de contrôle (3). Le module d'administration et le module de commande ont été conçus pour pouvoir être installés dans la salle de l'aimant. Le module d'administration est situé au plus près de l'animal, dans le centre de l'imageur afin de réduire les volumes morts de gaz dans les conduites. La commande pneumatique est transmise au module d'administration par un faisceau de 32 tubes FESTO® (PUN-6×0, Festo AG & Co. KG, Allemagne) (en bleu sur la figure). Un câble spécifique a été réalisé pour transmettre les signaux des 12 capteurs de pression situés sur le module d'administration, au module de commande (noir). L'ordinateur de contrôle est disposé hors de la salle de l'aimant, à proximité de la console IRM.

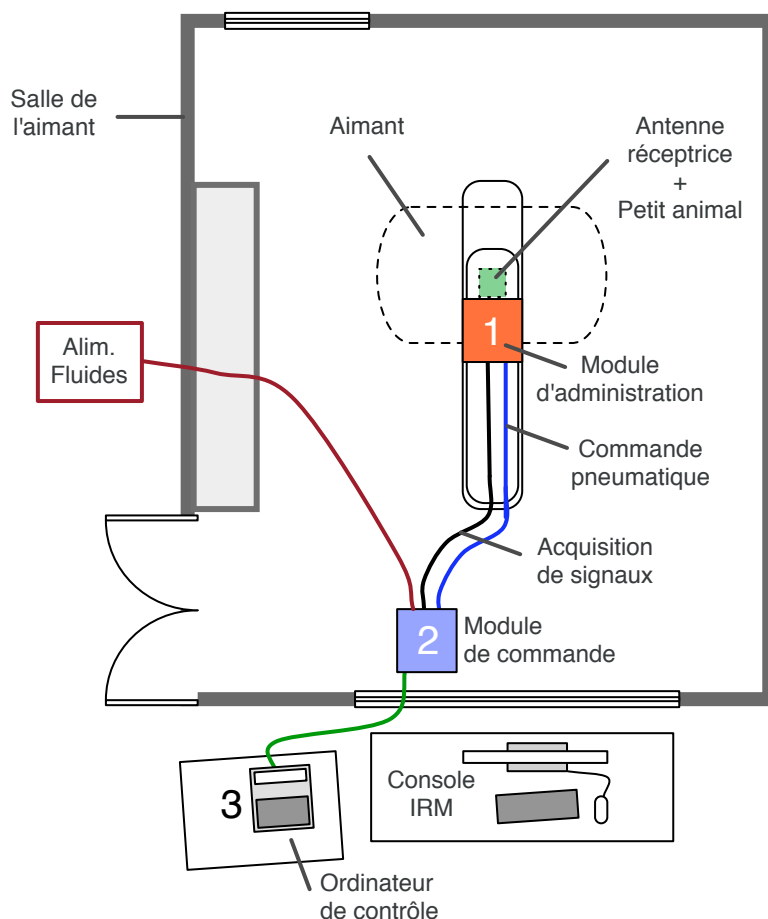


FIGURE 6.1.10 : Schéma d'installation de SAGAS dans l'environnement IRM. (1) Module d'administration. (2) Module de commande. (3) Ordinateur de contrôle.

6.1.2.2 Réalisations

Nous décrivons ici les différentes étapes de réalisation qui ont permis la construction du système d'administration.

Module d'administration

La principale contrainte était la nécessité d'un module non magnétique et non dépolarisant pour l'hélium-3, capable d'être disposé au centre de l'imageur, n'entraînant pas de perturbations électromagnétiques ou radiofréquence de l'acquisition IRM.

Vannes pneumatiques

L'élément clé du module est la conception des vannes qui vont permettre la réalisation des mélanges et l'acheminement du gaz et des aérosols au petit animal. Comme cela est mentionné plus haut, nous avons réalisé les vannes selon la description qui en a été faite dans les travaux de Perez de Alejo *et al.* [50]. Il s'agit d'un modèle de vanne pneumatique afin d'éviter l'introduction d'éléments métalliques et d'une électronique de commande dans le tunnel de l'aimant. Celles-ci sont commandées par air comprimé à distance avec des électrovannes situées dans le module de commande.

La figure 6.1.11 décrit leur principe de fonctionnement. Le corps de la vanne, en teflon, accueille un cylindre (également en teflon) percé de part en part, qui vient emprisonner une membrane en latex. L'étanchéité est assurée par la présence de deux anneaux en caoutchouc qui viennent presser la membrane en latex contre la paroi interne du corps de vanne. Lorsque la pression de commande est supérieure à la pression d'entrée du gaz dans le corps de vanne (Fig. 6.1.11.A), la membrane en latex empêche le passage du gaz vers la sortie de la vanne : la vanne est fermée. Lorsque la pression de commande est inférieure à la pression d'entrée du gaz dans le corps de vanne (Fig. 6.1.11.B), la membrane est soulevée et le gaz peut alors s'écouler et sortir du corps de vanne : la vanne est ouverte. Pour les membranes, le latex a été choisi car il offrait les temps de réponse d'ouverture et de fermeture les plus courts, respectivement 17,5 et 7,5 ms à 0,5 bar. Le vinyle, à titre d'exemple, offrait des temps d'ouverture et de fermeture respectifs de 50 et 35 ms.

Nous avons dessiné et fait fabriquer 7 éléments séparés, comprenant chacun entre 2 et 4 vannes, pour parvenir à un total de 23 vannes. Un élément de 3 vannes est représenté Fig. 6.1.12. Des connecteurs de type Luer-lock ont été vissés sur chacune des entrées et sorties de vannes.

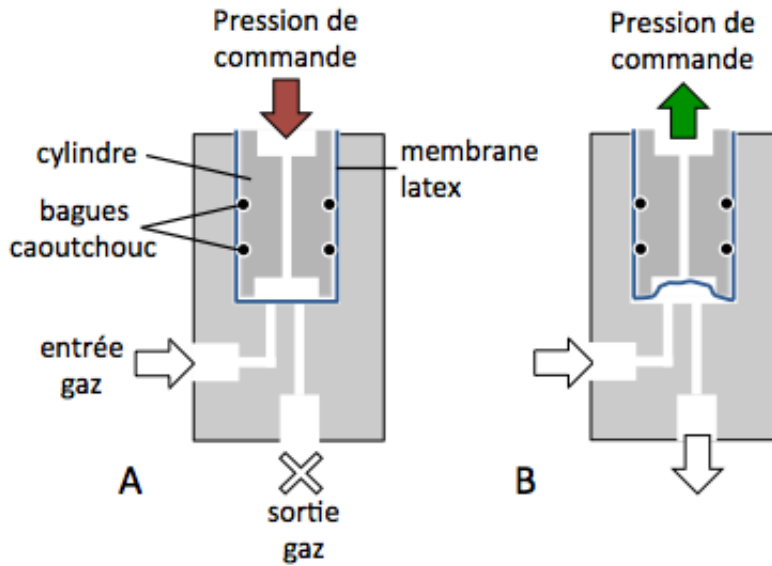


FIGURE 6.1.11 : Représentation en coupe du fonctionnement des vannes pneumatiques utilisées. (A) Vanne fermée. (B) Vanne ouverte.

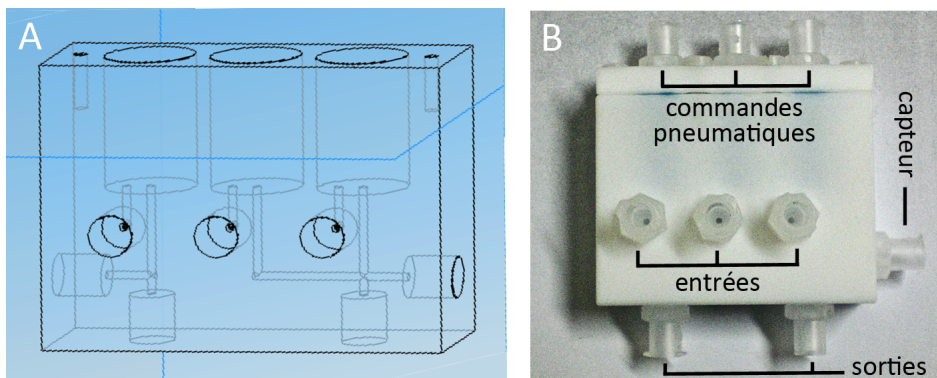


FIGURE 6.1.12 : (A) Dessin et (B) réalisation en téflon d'un élément du système comportant 3 vannes pneumatiques.

Caissons et support de fixation

Un support de fixation adapté aux dimensions du lit de l'IRM a été dessiné puis réalisé en altuglas, pour accueillir le module d'administration (Fig. 6.1.13.A). Le support est composé d'une structure plane perforée, permettant de positionner le module à différents emplacements, et de deux rails de fixation pour sa mise en place sur le lit de l'IRM. Il comprend également un panneau vertical pour la fixation d'un connecteur électronique et de deux connecteurs pneumatiques.

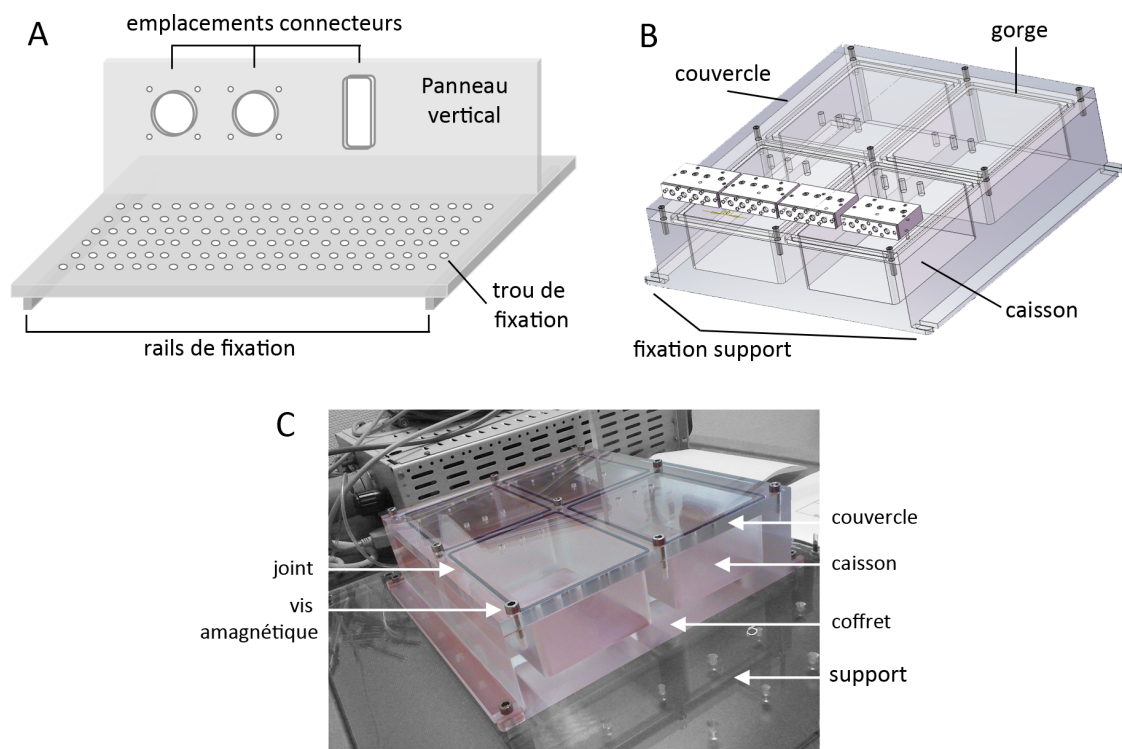


FIGURE 6.1.13 : Dessins représentant (A) le support de fixation destiné à l'accueil du module d'administration, et (B) le coffret muni de son couvercle destiné à accueillir les sacs B1 à B4. Les vannes (en blanc) sont positionnées sur le couvercle à titre indicatif.

Un coffret comportant quatre caissons a été dessiné (Fig. 6.1.13.B) puis réalisé à partir d'une pièce d'altuglas (Fig. 6.1.13.C). L'altuglas a été privilégié car c'est un matériau non magnétique dont la surface peut être polie, rendant ainsi la pièce transparente et autorisant par la suite le contrôle visuel du bon déroulement des opérations de vidange et remplissage des sacs à l'intérieur du coffret. Le coffret reçoit un couvercle, également en altuglas. L'étanchéité de chaque caisson est assurée par un joint torique en viton, enserré dans une gorge entre le coffret et le couvercle. Un ensemble de 9 vis en inox amagnétique permet la fixation du couvercle au coffret. Les caissons contiennent un volume de 500 cm^3 ,

autorisant ainsi l'administration de gaz à une large gamme d'animaux. Des sacs Tedlar® de 200 cm³ ont été spécifiquement réalisés pour les expériences chez le rat, puis disposés à l'intérieur des caissons.

Assemblage du module

Les différents éléments du module ont été assemblés comme cela est représenté Fig. 6.1.14. Les vannes ont été connectées avec du tube Pharmed® BPT (06508-16, Master-Flex, France) selon le schéma décrit Fig. 6.1.3, puis fixées sur le couvercle du coffret en altuglas. Les douze capteurs de pression (26PCFFM6G, Honeywell International Inc., États-Unis) ont été disposés sur l'ensemble des vannes et des caissons, puis raccordés au connecteur électronique ITT-Cannon (DLM5-260, ITT Corporation, États-Unis) disposé sur le panneau vertical du support. La commande pneumatique est transmise aux vannes par l'intermédiaire de 23 tubes Festo® (PUN-4×0, Festo AG & Co. KG, Allemagne), raccordés aux deux connecteurs pneumatiques disposés sur le panneau vertical du support.

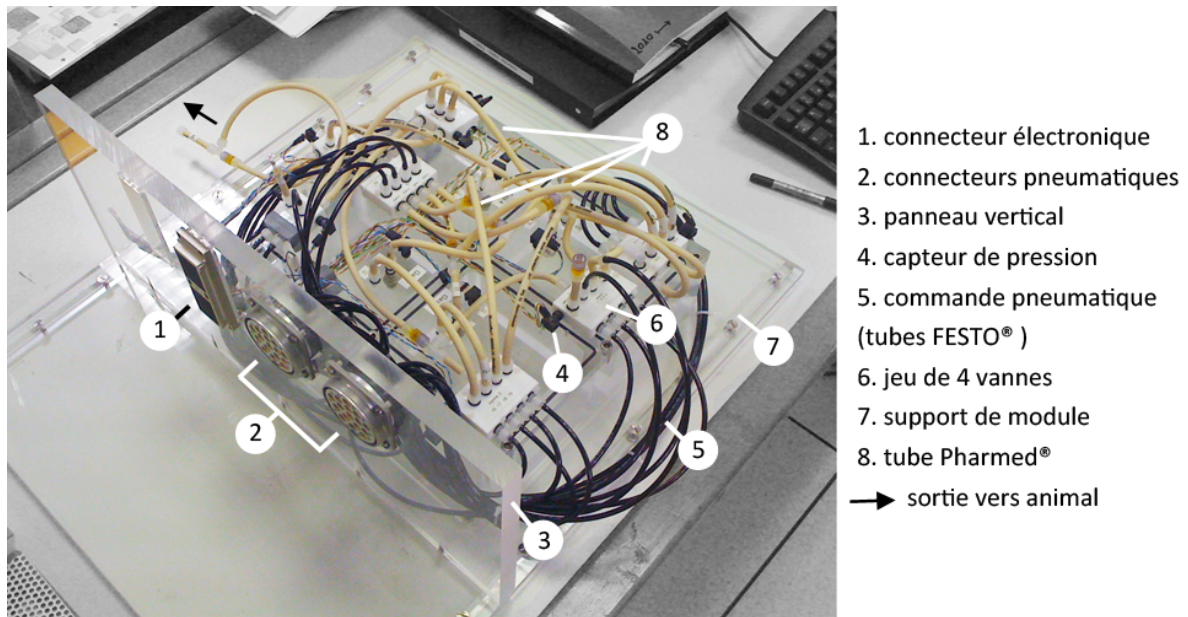


FIGURE 6.1.14 : Module d'administration de SAGAS après assemblage.

Module de commande

Le module de commande permet le contrôle des vannes du module d'administration et l'acquisition des signaux des capteurs de pression. Le boîtier présenté Fig. 6.1.15 comporte une alimentation électrique 12 V, 23 électrovannes (Picosol®, Fluid Automation

Systems, Suisse), une carte de contrôle et une carte d'acquisition toutes les deux développées par Georges Willoquet à l'IR4M. La carte de contrôle a été en effet spécifiquement conçue et réalisée pour commander les 23 électrovannes, reliées à chacune des vannes pneumatiques du module d'administration. Cette carte embarque un microcontrôleur chargé du stockage et de l'envoi des informations de commande aux électrovannes. La carte d'acquisition a été spécifiquement conçue pour recueillir les signaux des 12 capteurs de pression disposés sur le module d'administration. La gamme de fonctionnement des électrovannes est comprise entre 0 et 2 bar.

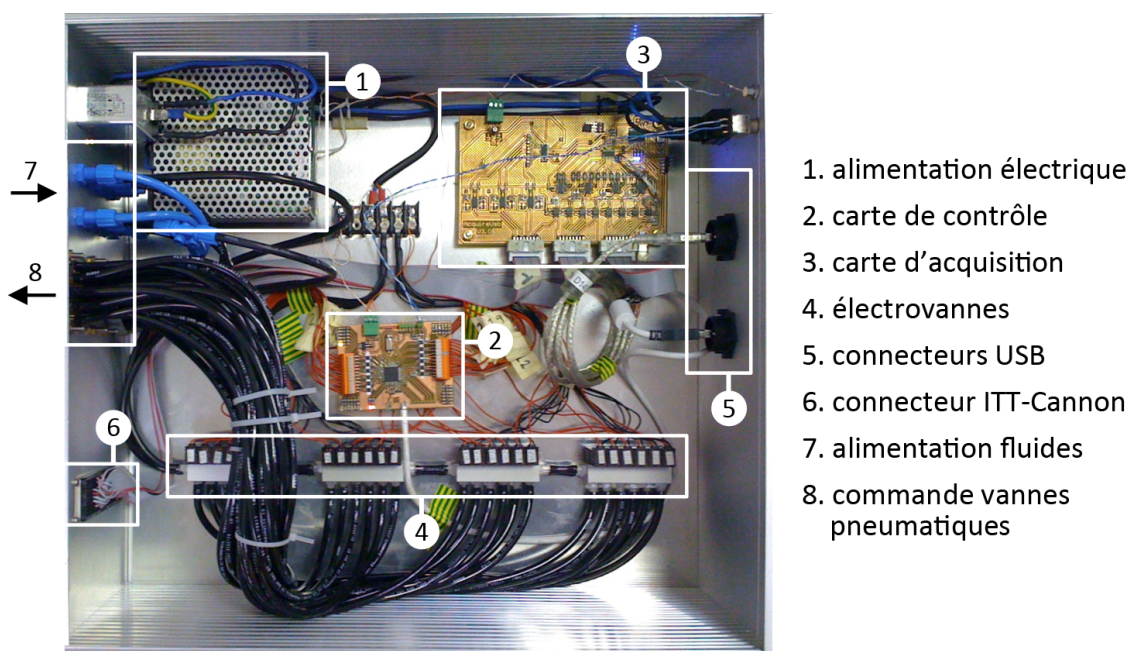


FIGURE 6.1.15 : Vue intérieure de dessus du module de commande.

La face avant du module (Fig. 6.1.16.A) comprend un interrupteur, un témoin d'allumage, un bouton de réinitialisation de la carte de contrôle et deux connecteurs USB permettant la liaison avec l'ordinateur de contrôle. La face arrière (Fig. 6.1.16.B) comprend le connecteur d'alimentation électrique, les connecteurs pour l'alimentation en fluides, deux connecteurs pneumatiques pour la commande des vannes et l'administration de gaz, et un connecteur électronique ITT-Cannon (DLM5-260, ITT Corporation, États-Unis) destiné à la récupération des signaux des capteurs de pression.

L'ordinateur dialogue avec la carte de contrôle en lui envoyant l'information binaire sur l'état d'ouverture des 23 vannes pneumatiques (Fig. 6.1.17) pour une configuration donnée (l'inspiration par exemple), ainsi qu'une durée correspondant au temps d'application de cette configuration. Les vannes peuvent être dans l'état ouvert, fermé, ou identique à l'état précédent (inchangé). Une séquence d'administration consiste en une succession de configurations séquentielles. À l'heure actuelle, 120 configurations décrivant

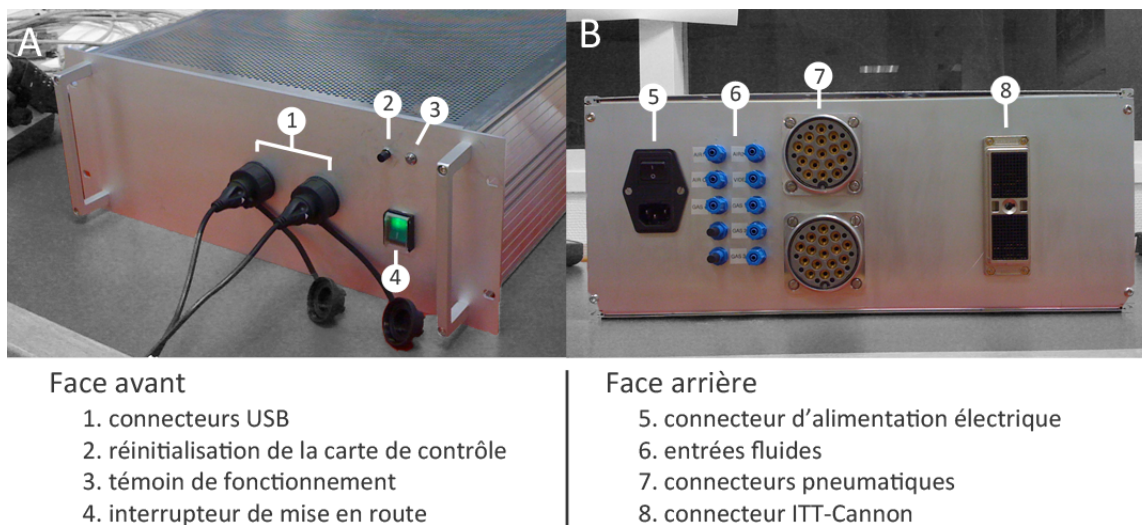


FIGURE 6.1.16 : Vues des faces avant (A) et arrière (B) du module de commande.

l'état d'ouverture des 23 vannes ont été programmées. Ces configurations correspondent aux fonctions d'inspiration, expiration, mise en apnée, remplissage des sacs, vidange, administration de gaz à l'animal et réalisation de mélanges.

N° Config (décimal)	N° Config (binaire)	Etat des vannes O : Ouverte - F : Fermée - #:Inchangé																							Nom config
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
0	0 0 0 0 0 0 0 0	O	F	F	F	O	O	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	A_air
1	0 0 0 0 0 0 0 1	F	O	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F	A_atm

FIGURE 6.1.17 : Exemple illustrant l'état d'ouverture des 23 vannes pneumatiques pour la configuration 0, inspiration (A_air) et pour la configuration 1, expiration (A_atm).

Logiciel

Un programme de contrôle de la plateforme SAGAS et une interface utilisateur ont été développés en PythonTM par José-Manuel Pérez-Sánchez à l'IR4M. Le programme de contrôle permet le dialogue entre l'ordinateur et les cartes de contrôle et d'acquisition du module de commande. L'interface utilisateur permet de paramétrer et lancer la ventilation du petit animal, de charger ou de programmer des séquences d'administration, ou encore d'afficher et d'enregistrer les signaux envoyés par les capteurs de pression disposés sur le module d'administration. Il comporte également un module de calibration des capteurs.

Description de l'interface

L'interface se décompose en 5 boutons principaux et 5 fenêtres dont on peut paramétrer l'affichage (Fig. 6.1.18). Dans la fenêtre « Sequences » (1), apparaissent les séquences de ventilation et d'administration. Il est possible de créer de nouvelles séquences à partir des 120 configurations actuellement disponibles, de les sauvegarder et également de charger des séquences existantes. Dans la fenêtre « Playlist manager » (2), peuvent être agencées différentes séquences, dans l'ordre souhaité et selon un nombre de répétitions déterminé. Dans la fenêtre « Quick editor » (3), apparaissent les temps d'application paramétrables de chaque configuration. La grande fenêtre de droite (4) est une fenêtre d'affichage dans laquelle on peut observer l'édition de séquences, la calibration de capteurs, ou plus simplement le schéma de déroulement d'une séquence et l'information renvoyée par les capteurs de pression. La fenêtre « Message log » (5) permet de suivre le bon déroulement des processus de communication entre l'ordinateur et les cartes de contrôle et d'acquisition. Le bouton « Administration » permet de lancer une séquence d'administration ou simplement la ventilation contrôlée du petit animal, le bouton « Acquisition » permet d'afficher les données provenant des capteurs de pression, et le bouton « Storage » permet de lancer l'enregistrement de données.

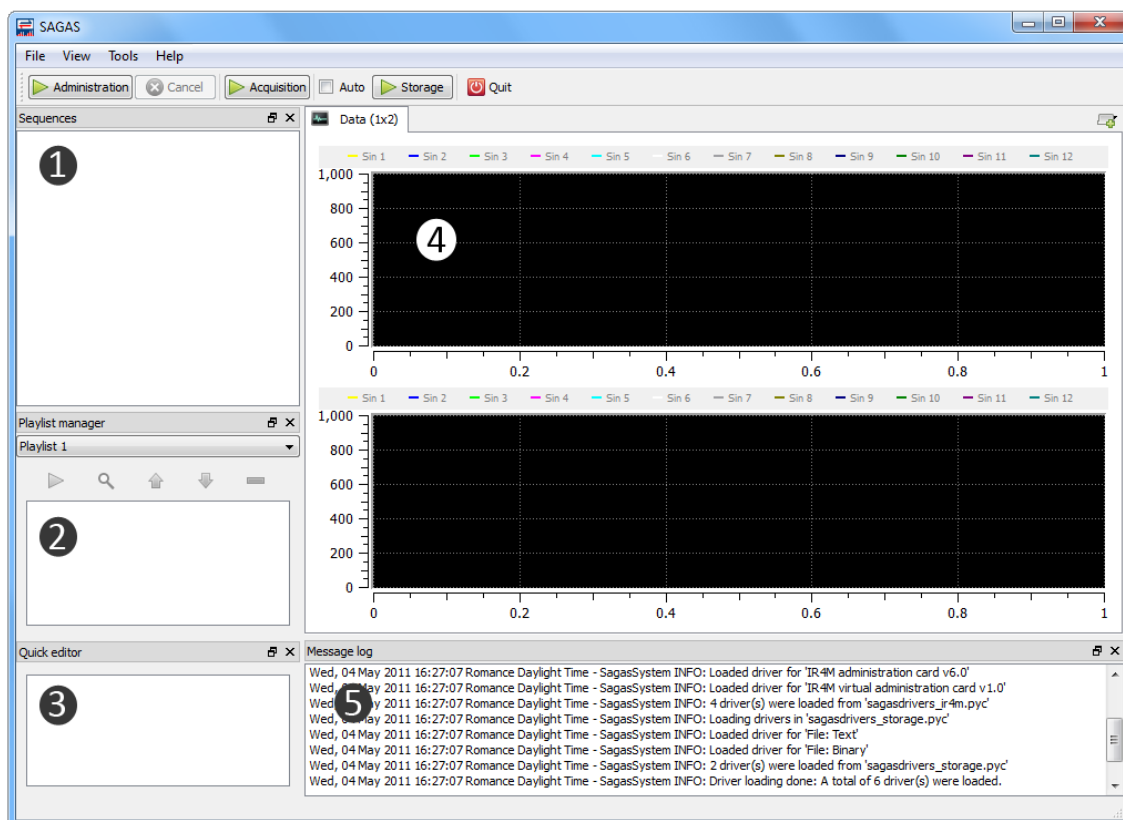


FIGURE 6.1.18 : Interface utilisateur du logiciel SAGAS.

Séquences

L'édition de séquences se fait dans la fenêtre Fig. 6.1.18(4). Celle-ci se décompose en deux parties, la première propre à l'édition des séquences et la seconde dédiée à la visualisation des évènements programmés. La partie édition permet d'ajouter ou d'enlever des configurations d'états de vannes, de définir une durée d'application minimale, maximale et une valeur par défaut. La partie visualisation affiche l'évènement vu, au choix par l'animal, les sacs 1, 2, 3 ou 4, ou une combinaison de ces quatre possibilités (par exemple, animal + sac 4). Une montée en pression est schématisée par une pente ascendante, une diminution par une pente descendante.

L'exemple présenté Fig. 6.1.19 illustre une administration de gaz à l'animal depuis le sac 4, suivi d'une apnée. On distingue dans la partie édition (à gauche) les différents noms de configuration de vannes et leurs délais d'ouverture. Sur le schéma de visualisation (à droite), on peut voir le sac 4 se vider (bleu clair) et l'inflation des poumons de l'animal suivi de l'apnée et de l'expiration (jaune). Lorsque l'on sort de l'environnement d'édition des séquences, on peut à tout instant afficher le diagramme des évènements en cliquant sur la séquence que l'on souhaite visualiser.

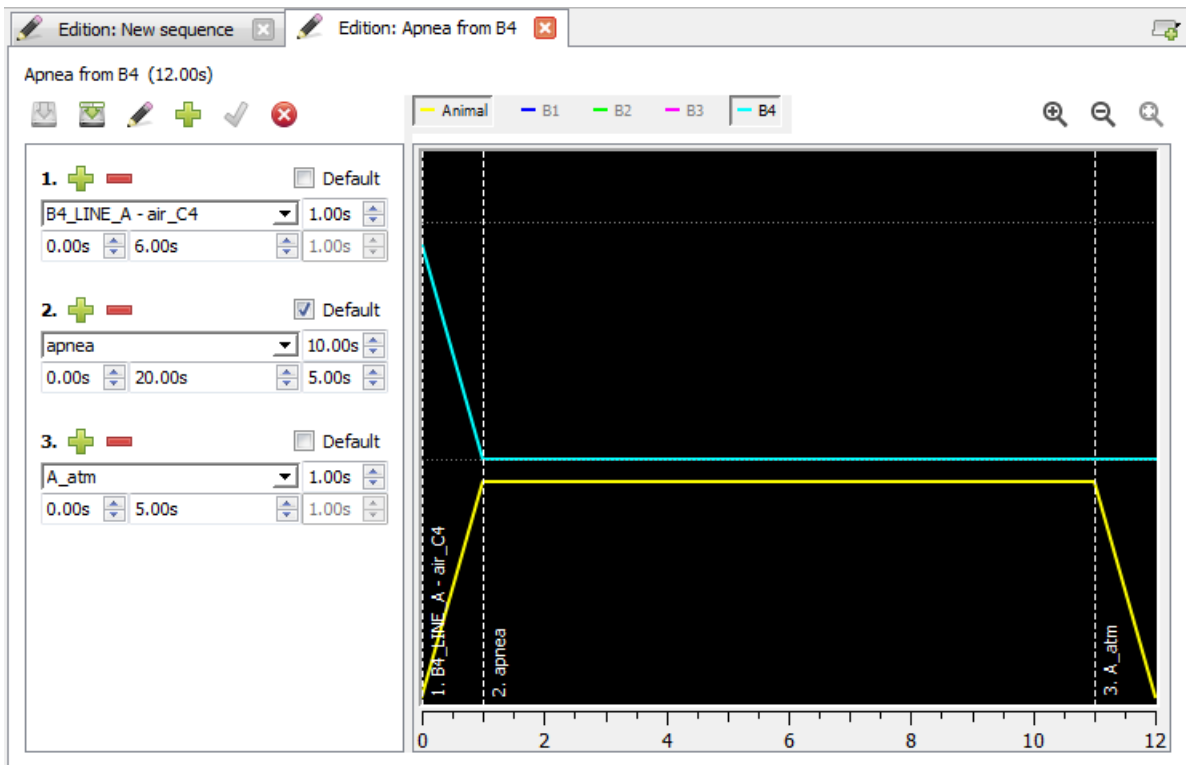


FIGURE 6.1.19 : Édition de séquences avec le logiciel SAGAS.

Listes de lecture

Une liste de lecture résulte de l'agencement de plusieurs séquences. Il est ainsi possible de programmer des protocoles d'administration, en choisissant plusieurs séquences, puis en définissant leur ordre d'action ainsi qu'un nombre d'occurrences.

L'exemple présenté Fig. 6.1.20 montre une liste de lecture comportant 3 séquences, la première pour le remplissage du sac 4 (Fill B4 gas4), puis un cycle respiratoire (Normal breathing) répété à 4 reprises, suivi de l'administration du contenu du sac 4 et de la mise en apnée de l'animal (Apnea from B4). La fenêtre de visualisation permet de bien détailler les différentes étapes de la liste de lecture. On peut remarquer sur la fenêtre de visualisation l'apparition du nom de chaque séquence ainsi qu'un numéro correspondant à leur ordre d'apparition. On peut noter dans la fenêtre « Quick editor » les détails de la séquence *Normal breathing*, avec la possibilité de modifier les durées des différentes configurations d'états de vannes, dans les limites qui auront été fixées lors de l'édition des séquences (Fig. 6.1.19).

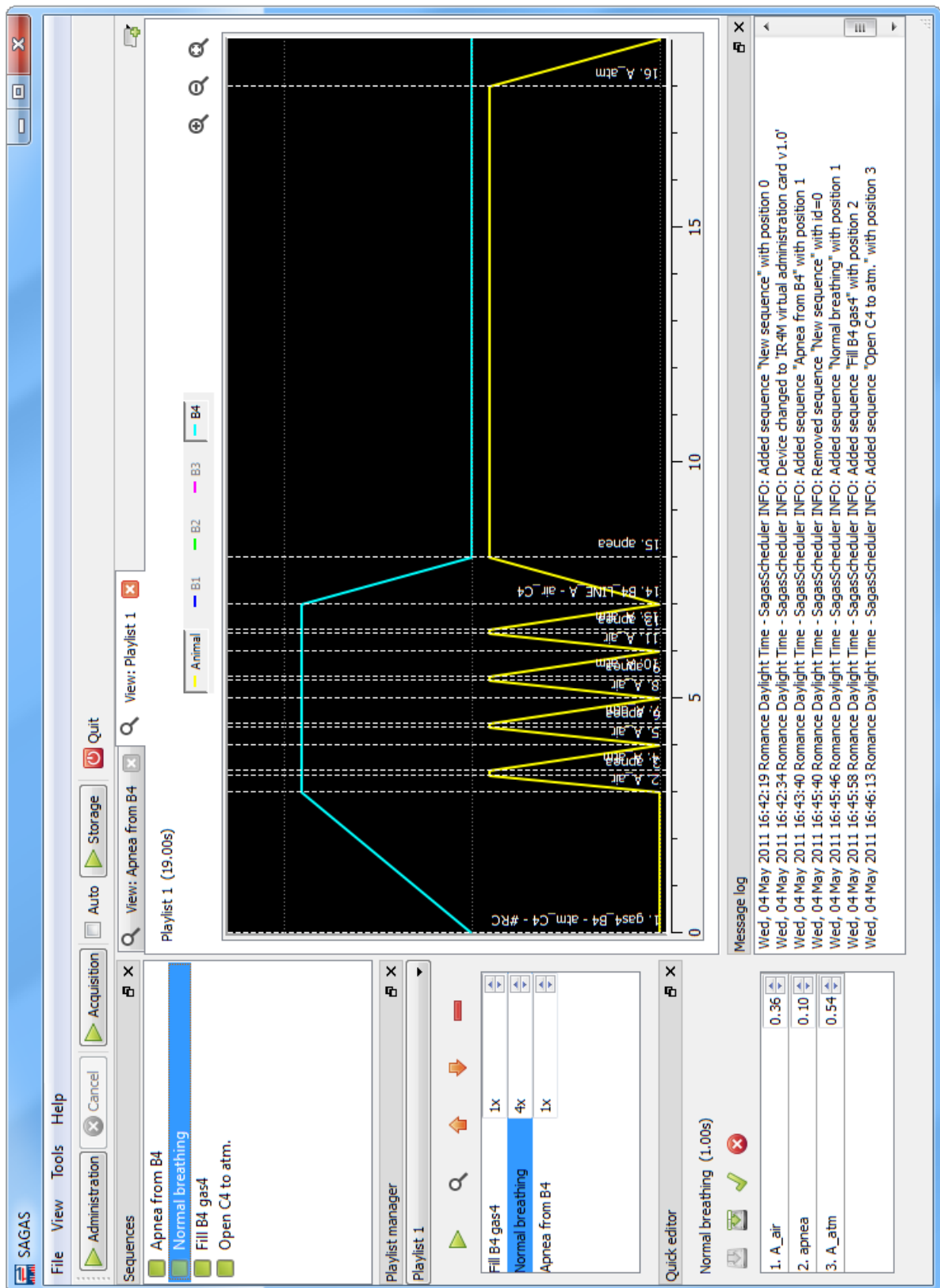


FIGURE 6.1.20 : Représentation d'une liste de lecture de séquence de ventilation et d'administration sous SAGAS.

Calibration des capteurs de pression

L'interface dispose d'une application de calibration des capteurs de pression. Les capteurs utilisés étant linéaires sur leur gamme de mesure, la pression est calculée au moyen d'un offset et d'un facteur de conversion.

L'interface (Fig. 6.1.21) permet de paramétrer une pression de calibration (valeur connue) (1) et un nombre de répétitions à partir duquel la mesure est moyennée (2). L'utilisateur choisit le capteur à calibrer (3) puis acquiert plusieurs points de mesure (au moins deux) en soumettant les capteurs aux pressions de calibration. Après une régression, l'application fournit la pente (facteur de conversion) et l'ordonnée à l'origine (offset) de la droite passant, au sens des moindres carrés, par les points de mesure (4), puis stocke les données de calibration. D'une expérience à l'autre, l'utilisateur peut recharger les paramètres d'une précédente calibration ou bien recommencer la calibration en chaque début d'expérience. Les capteurs que nous avons utilisés étant relativement stables, leur calibration quotidienne n'était pas nécessaire.

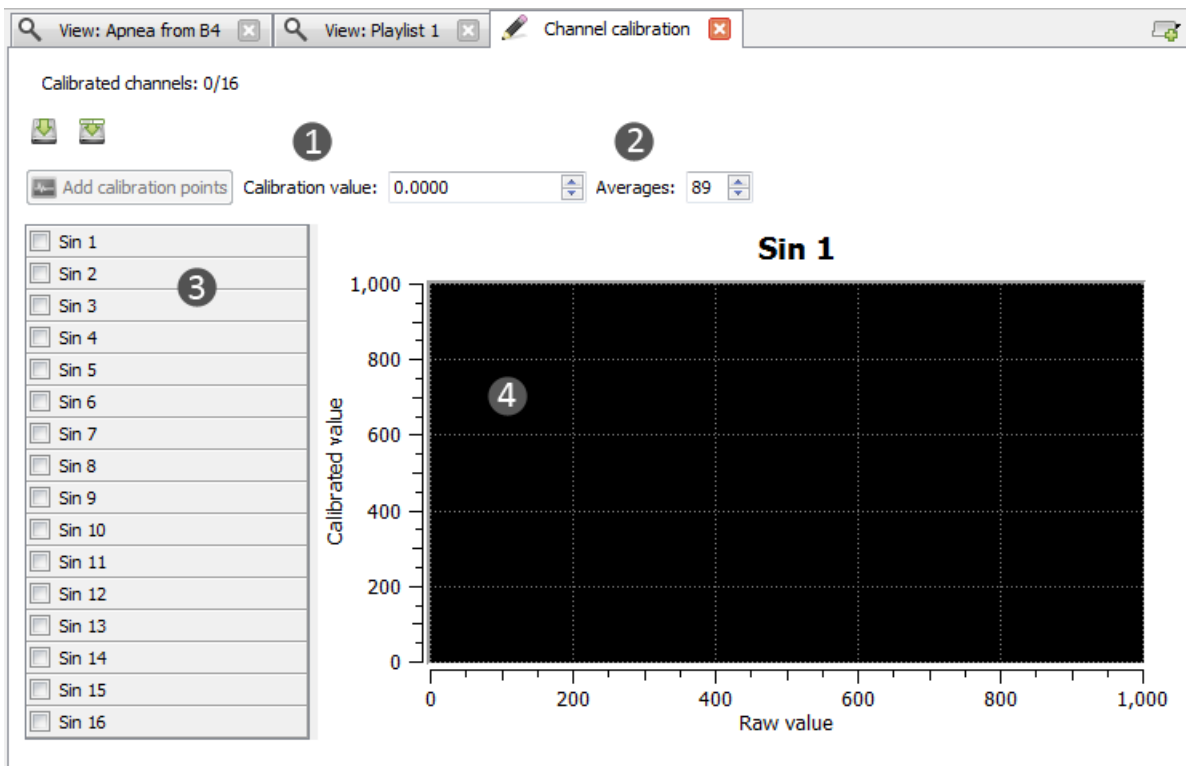


FIGURE 6.1.21 : Interface de calibration des capteurs de pression. (1) Choix de la valeur de calibration. (2) Définition du nombre de mesures pour une valeur de pression. (3) Choix du capteur à calibrer. (4) Affichage de la droite de calibration.

Surveillance et enregistrement de la pression

Après calibration, l'utilisateur peut surveiller et enregistrer la pression mesurée par les capteurs de pression. L'interface dispose d'un menu d'affichage dans lequel on peut choisir le nombre de capteurs surveillés et le nombre de fenêtres d'affichage. La figure 6.1.22 présente l'affichage des signaux de 6 capteurs dans 6 fenêtres individuelles.

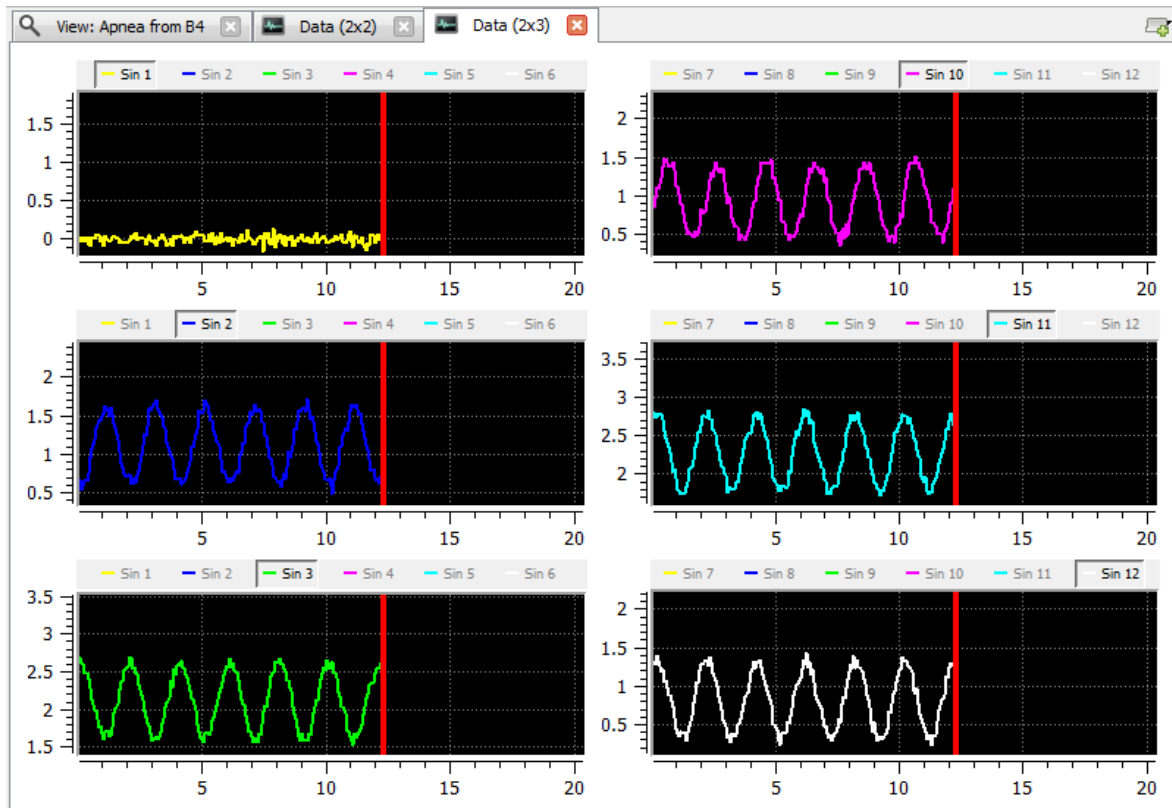


FIGURE 6.1.22 : Affichage de la pression pour 6 capteurs dans l'interface SAGAS. Les données affichées ont été simulées pour l'illustration.

6.1.2.3 Montage et tests

Le système monté a d'abord été testé hors IRM sur un sac en latex simulant les poumons de rat, puis *in vivo* sur le petit animal. Le système a ensuite été testé dans l'environnement IRM. L'installation conformément au schéma Fig. 6.1.10 est présentée Fig. 6.1.23. Les fonctions de ventilation et d'administration de gaz à partir des sacs de la plateforme ont été testées en priorité.

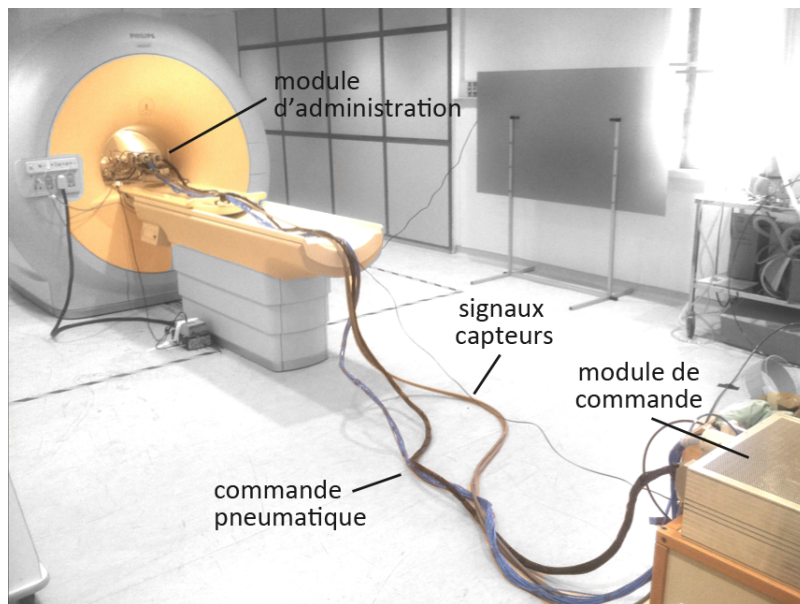


FIGURE 6.1.23 : Installation de SAGAS dans l'environnement IRM.

Les premières images acquises chez le rat, avec SAGAS, en IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé sont présentées Fig. 6.1.24 et 6.1.25. Une séquence 3D écho de gradients a été réalisée avec les paramètres suivants : matrice $64 \times 32 \times 22$, FOV = $80 \times 40 \times 27,5$ mm, TE/TR = 1,34/4,62 ms, $\alpha = 3^\circ$.

Une première série d'images a été réalisée *in vivo*, pour l'administration d'une dose d'hélium-3 hyperpolarisé après un premier lavage des poumons à l'hélium-3. L'animal était placé en apnée avant le lancement de la séquence d'imagerie. Une seconde série d'images a été réalisée *post mortem* après 4 lavages successifs des poumons de l'animal avec de l'hélium-3. L'administration de gaz à l'animal s'est faite pour une pression d'inflation limitée à 18 mbar, afin de respecter les conditions physiologiques de respiration de l'animal. Le RSB maximum des images a été calculé en faisant le rapport de l'intensité maximum sur l'écart type mesuré sur la partie réelle du bruit.

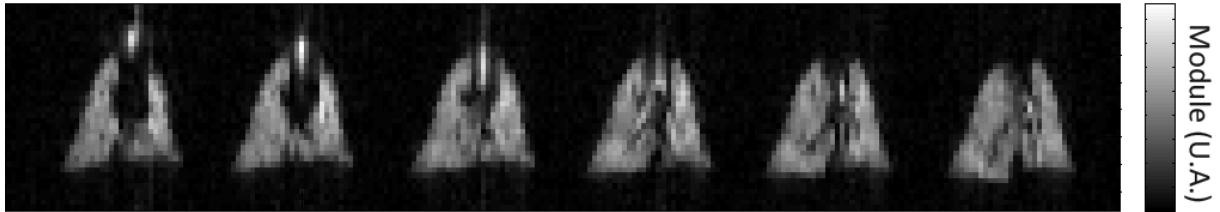


FIGURE 6.1.24 : Images de module acquises avec SAGAS en IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé *in vivo* dans les poumons de rat. Représentation de 6 coupes centrales.

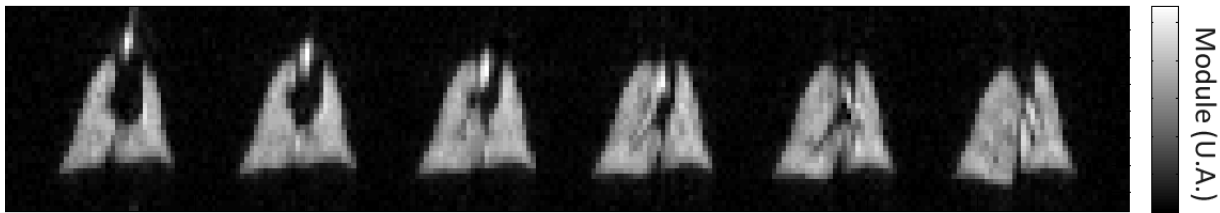


FIGURE 6.1.25 : Images de module acquises avec le système SAGAS en IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé *post-mortem* dans les poumons de rat. Représentation de 6 coupes centrales.

Le RSB maximum pour les images *in vivo* est de 51 contre 83 pour les images acquises *post mortem*. Le lavage répété des poumons à l'hélium-3 permet d'éliminer en grande partie l'oxygène paramagnétique des poumons, ce qui se traduit par un gain significatif du RSB. Les images permettent de distinguer assez nettement le parenchyme, la trachée et les deux bronches principales de l'animal. Une séquence d'administration de gaz identique a été réalisée pour les deux acquisitions (*in vivo* et *post mortem*), ce qui se traduit par des états d'inflation du poumon rigoureusement identiques d'une acquisition à l'autre.

6.1.2.4 Conclusion

Une plateforme de ventilation et d'administration de gaz pour le petit animal, SAGAS, a été réalisée. Cette plateforme permet effectivement de ventiler le petit animal, de stocker et d'administrer un gaz à partir des sacs contenus dans le module d'administration. Le système s'est avéré compatible avec les environnements magnétique et RF, et avec l'utilisation d'hélium-3 hyperpolarisé. Le système de surveillance et d'enregistrement des signaux des capteurs de pression nous a permis de contrôler en temps réel la pression d'inflation imposée au rat, tout en garantissant de se placer dans des conditions de respiration et d'administration de gaz physiologiquement viables pour l'animal. Pour l'heure, la réalisation de mélanges n'a pas été testée.

L'utilisation du dispositif SAGAS a permis la réalisation d'images du poumon de rat en

IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé, avec une résolution spatiale atteignant $1,25 \times 1,25 \times 1,25 \text{ mm}^3$, supérieure à celle qui a avait été obtenue lors de la première étude de dépôt chez le petit animal ($2 \times 2 \times 2 \text{ mm}^3$). La réalisation de cet outil complexe nous permet d'envisager l'étude du dépôt d'aérosols *in vivo* sur plusieurs animaux, selon un protocole d'administration déterminé et reproductible.

6.2 Étude *in vivo* du dépôt d'aérosols dans les voies aériennes du petit animal

La réalisation d'une plateforme d'administration de gaz nous a permis de considérer l'étude du dépôt d'aérosols dans les voies aériennes du petit animal. Le dispositif SAGAS pallie en effet le manque de reproductibilité du mode d'administration de gaz évoqué lors de notre première étude (cf chapitre 4) et autorise à présent l'imagerie du poumon par résonance magnétique de l'hélium-3 hyperpolarisé sur des échantillons statistiquement significatifs. Nous décrivons ici l'étude *in vivo* du dépôt d'aérosols au moyen de la plateforme SAGAS chez le petit animal.

6.2.1 Méthodes

Le protocole opératoire décrit ici a été mené sur cinq rats mâles Wistar. Les rats ont été anesthésiés par injection intra-péritonéale de sodium pentobarbital, puis trachéotomisés. Chaque rat a ensuite été placé dans l'IRM, au centre de l'antenne petit animal, puis raccordé à SAGAS. Les rats ont été ventilés mécaniquement selon un cycle respiratoire dont la durée d'inspiration était comprise entre 0,2 et 0,4s, suivi d'une expiration dont la durée était comprise entre 0,4 et 0,6s. Le cycle respiratoire était programmé pour une pression d'inflation maximale située autour de 10 mbar. Une dose d'hélium-3 était ensuite administrée avant une apnée de 10s, pour une pression d'inflation moyenne de 20 mbar. Une première série d'images des poumons était alors réalisée par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé durant la mise en apnée de l'animal.

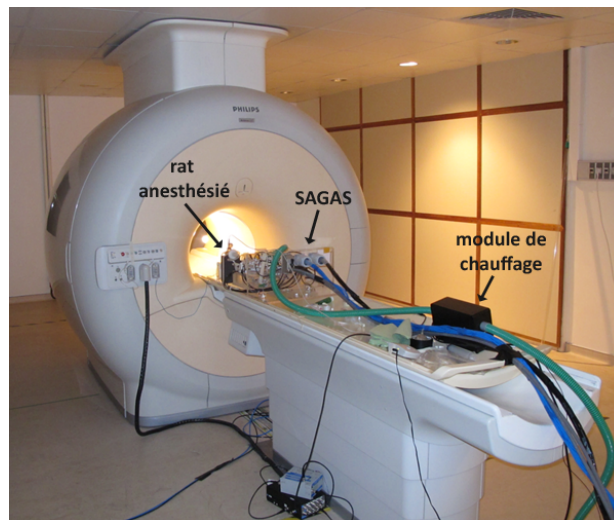


FIGURE 6.2.1 : Installation du dispositif expérimental sur le lit de l'IRM. Un module de chauffage par ventilation d'air chaud (Heater system, SA Instruments, Inc., États-Unis) a été ajouté pour le maintien en température de l'animal.

Une solution de sérum physiologique a été marquée avec un agent de contraste superparamagnétique (Cliavist®, Bayer Schering Pharma, Allemagne), jusqu'à obtenir une concentration en fer $[Fe]$ de $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. Pour chaque rat, un volume de 3 mL de solution a été nébulisé avec un générateur d'aérosols ultrasonique (Aeroneb® Solo, Aerogen, Irlande) placé entre la sortie de l'administrateur et la trachée du petit animal. Notre choix s'est porté sur un nébuliseur différent de celui précédemment utilisé, plus compact, pouvant être raccordé au milieu d'une conduite de ventilation et supportant l'utilisation dans un environnement magnétique. Le nébuliseur utilisé est présenté Fig. 6.2.2.A. L'aérosol généré par ce nébuliseur a été caractérisé par diffraction laser comme précédemment décrit (chapitre 5, *Caractérisation de l'aérosol*). L'aérosol est polydisperse avec $MMAD = 4,51 \pm 0,12 \mu\text{m}$ et $GSD = 1,94 \pm 0,07 \mu\text{m}$. La distribution cumulée de taille des particules mesurée est présentée Fig. 6.2.2.B.

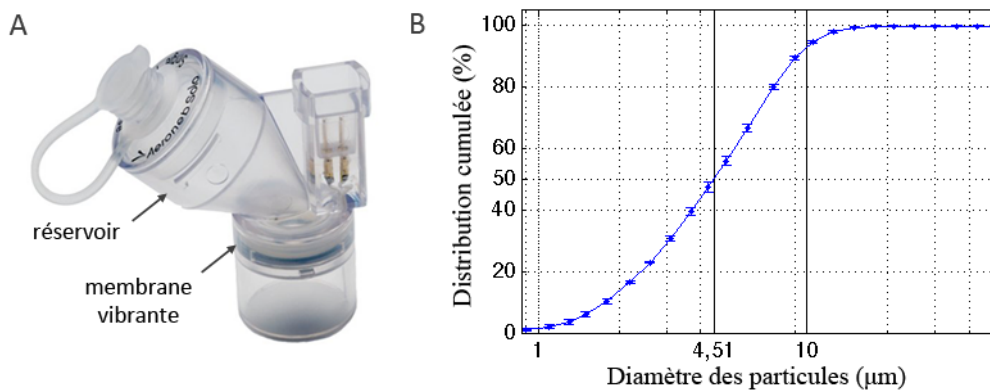


FIGURE 6.2.2 : (A) Représentation du générateur d'aérosols Aeroneb® Solo et (B) Distribution cumulée de taille des particules générée par le nébuliseur, mesurée par diffraction laser.

Durant l'administration de l'aérosol, l'animal était ventilé artificiellement selon les paramètres décrits précédemment, pour une pression maximale d'inflation des poumons située autour de 10 mbar . Une seconde série d'images était réalisée après administration de l'aérosol avec les mêmes paramètres et dans les mêmes conditions d'administration d'hélium-3 hyperpolarisé et d'apnée. Le montage expérimental est présenté Fig. 6.2.1 et Fig. 6.2.3.

Nous avons utilisé une séquence d'imagerie 3D en écho de gradients avec les paramètres suivant : matrice $64 \times 32 \times 22$, $\text{FOV} = 80 \times 40 \times 27,5 \text{ mm}$, $\text{TE/TR} = 5/11 \text{ ms}$, $\alpha = 3,6^\circ$.

Les images 3D de module acquises avant et après l'administration d'aérosols sont spatialement renormalisées entre-elles, indépendamment pour chaque rat, selon l'approche non-linéaire de SPM8 [89] autorisant une transformation non rigide. Le degré de non-linéarité de la transformation définit d'une part la variation du degré d'inflation des poumons de l'animal. Les paramètres des cinq matrices de transformation affine résultantes définissent d'autre part les translations et les rotations de l'organe entre les deux

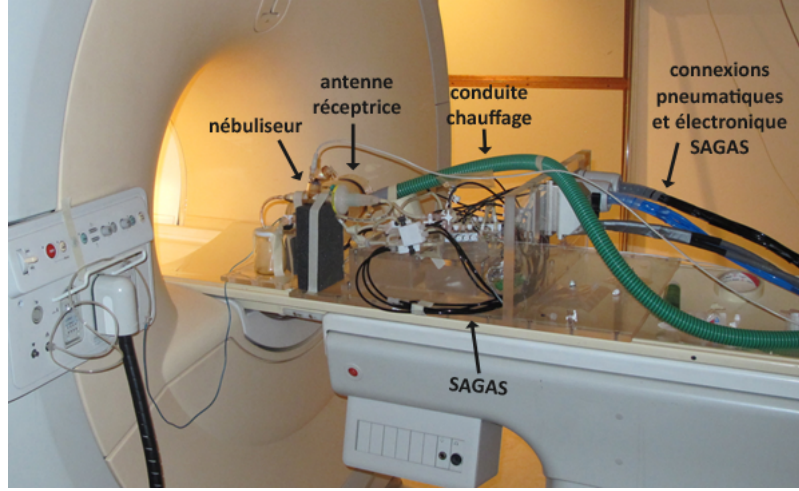


FIGURE 6.2.3 : Installation du dispositif de nébulisation dans la conduite d'administration, sur le chemin entre SAGAS et l'animal.

acquisitions IRM, avant et après administration d'aérosols, suivant l'expression :

$$T \cdot R = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & t_1 \\ 0 & 1 & 0 & t_2 \\ 0 & 0 & 1 & t_3 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} r_{11} & r_{12} & r_{13} & 0 \\ r_{21} & r_{22} & r_{23} & 0 \\ r_{31} & r_{32} & r_{33} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}, \quad (6.2.1)$$

où T est la matrice de translation selon les trois axes et R , la matrice de rotation selon les trois axes. Les angles de rotation correspondant sont donnés par :

$$\begin{aligned} r_2 &= \arcsin(r_{13}) \\ r_1 &= \arctan 2(r_{23}/\cos(r_2), r_{33}/\cos(r_2)) \\ r_3 &= \arctan 2(r_{12}/\cos(r_2), r_{11}/\cos(r_2)) \end{aligned} \quad (6.2.2)$$

Les vecteurs de translation $\vec{t}(t_1, t_2, t_3)$ et les angles de rotation (r_1, r_2, r_3) sont utilisés pour évaluer les performances de SAGAS [8].

Pour les 5 rats, les cartes de variation du champ magnétique statique induite par le dépôt d'aérosols ont été calculées, avant renormalisation spatiale, à partir des acquisitions réalisées avant et après administration des aérosols, suivant l'équation 4.2.9 décrite au chapitre 4. Le RSB maximum des images a été défini comme le rapport du module du signal maximum sur l'écart type du bruit mesuré pour sa partie réelle. Pour mener une comparaison des résultats inter-sujet sur la base du voxel, les images et les cartes de variation du champ magnétique ont toutes été finalement normalisées spatialement sur les images 3D de module acquises avant l'administration d'aérosol avec SPM8. Les cartes de variation du champ magnétique ont été ensuite masquées en commun. La moyenne et l'écart type entre les cartes de variation du champ B_0 de chaque rat ont été calculés

dans chaque voxel, puis le coefficient de variation défini comme le rapport de l'écart type sur la moyenne.

6.2.2 Résultats et discussion

Aucun terme non-linéaire n'a été nécessaire pour recalibrer les images de module acquises avant et après administration d'aérosols. L'administration d'hélium-3 qui précède l'apnée, pendant laquelle l'acquisition IRM est réalisée, a ainsi préparé l'animal dans le même état d'inflation pour les deux acquisitions IRM. La transformation affine résiduelle reflète uniquement les déplacements du poumon entre les deux acquisitions, c'est-à-dire les translations et les rotations que l'animal et donc l'organe a subies entre les deux images. Les translations des poumons entre les deux acquisitions IRM sont données par unité de voxel et en mm pour les cinq animaux dans les matrices ci-dessous :

$$T_{\text{Rat } 1\dots 5} = \begin{pmatrix} 2,06 & 0,85 & 1,77 & 1,43 & -0,86 \\ -0,52 & 0,40 & 0,84 & 1,25 & 2,18 \\ 0,13 & 0,50 & -0,12 & 0,15 & -0,38 \end{pmatrix} \text{ voxel}, \quad (6.2.3)$$

$$\text{soit, } T_{\text{Rat } 1\dots 5} = \begin{pmatrix} 2,57 & 1,05 & 2,21 & 1,79 & -1,07 \\ -0,65 & 0,50 & 1,05 & 1,56 & 2,72 \\ 0,17 & 0,63 & -0,15 & 0,19 & -0,47 \end{pmatrix} \text{ mm}. \quad (6.2.4)$$

Les déplacements selon la normale aux coupes sont négligeables. Ils n'excèdent pas 0,63 mm et leur valeur absolue moyenne est 0,32 mm. Ces faibles valeurs traduisent en fond la reproductibilité du processus complet d'administration d'aérosols et de gaz. La position de l'animal dans cette direction est en effet fixée par le lit sur lequel il repose. Un tel référentiel n'existe pas dans les autres directions. Le déplacement absolu moyen dans les deux autres directions est de 1,52 mm et le déplacement peut atteindre 2,72 mm. Ces valeurs sont un peu plus élevées que la taille du voxel (1,25 mm). Elles peuvent être attribuées soit aux manipulations réalisées sur les vanes près de l'animal soit, tout simplement, aux mouvements propres de l'animal dans l'antenne.

Les angles de rotation des poumons selon les trois directions de l'espace sont repris en degré dans la matrice :

$$R_{\text{Rat } 1\dots 5} = \begin{pmatrix} 2,06 & 0,85 & 1,77 & 1,43 & -0,86 \\ -0,52 & 0,40 & 0,84 & 1,25 & 2,18 \\ 0,13 & 0,50 & -0,12 & 0,15 & -0,38 \end{pmatrix} ^\circ. \quad (6.2.5)$$

Leurs faibles valeurs confortent la reproduction par SAGAS de l'état pulmonaire des animaux d'une apnée à l'autre. La valeur absolue moyenne des angles est de 0,84° et ceux-ci demeurent inférieures à 2,18°.

Les images de module sont représentées Fig. 6.2.4 (A) avant et (B) après normalisation spatiale pour les 5 rats de l'étude, selon les vues coronale, axiale, et sagittale.

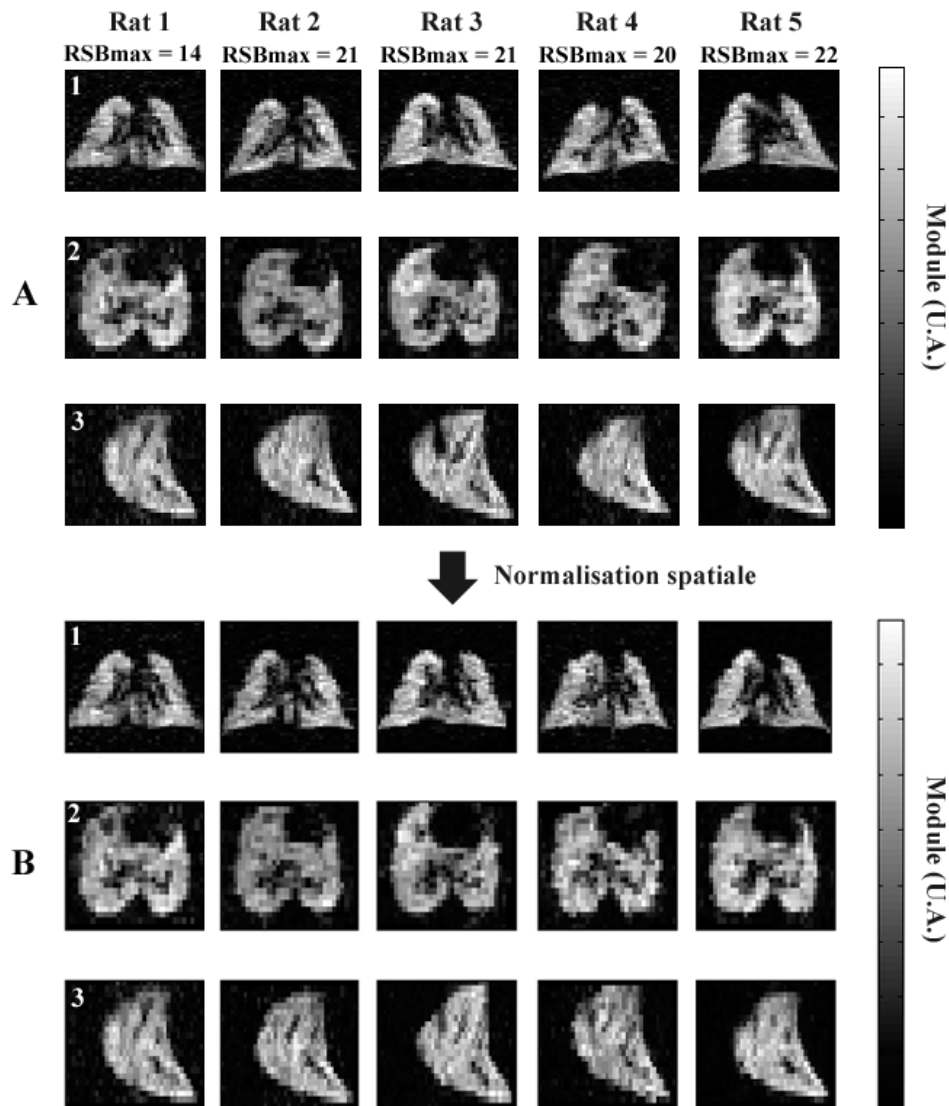


FIGURE 6.2.4 : Images de module acquises sur les 5 rats avant dépôt, (A) avant et après (B) normalisation spatiale. Représentations coronale (1) et axiale (2) pour une coupe centrale prise dans les poumons, sagittale (3) pour une coupe prise dans le poumon droit.

La normalisation spatiale non rigide permet de recaler les formes et les structures des 5 poumons et autorise ainsi leur comparaison régionale. On remarque la bonne correspondance des images sur les vues coronale et axiale et quelques écarts sur les vues en coupe sagittale.

Les cartes de variation de B_0 sont présentées en vue coronale Fig. 6.2.5 pour 6 coupes prises dans l'ensemble du volume pulmonaire des 5 rats. D'une manière générale, on peut observer des variations distribuées dans la globalité du parenchyme. Toutefois, les plus fortes perturbations du champ magnétique sont localisées à proximité des 2 bronches

principales (flèches rouges) et à la périphérie du poumon (flèches blanches). Le rat 3 présente les variations les plus conséquentes.

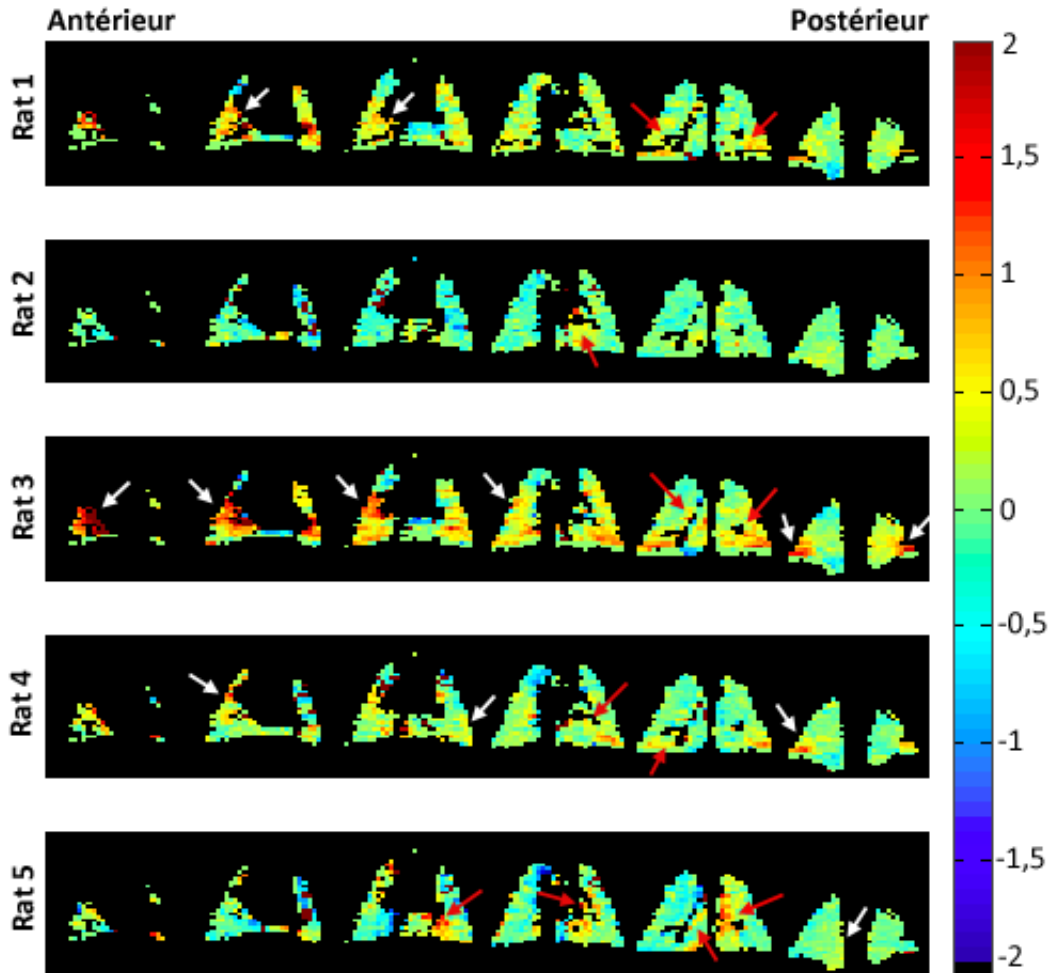


FIGURE 6.2.5 : Cartes de variations de B_0 (en ppm) présentées en vue coronale pour les 5 rats étudiés. Les cartes représentent un échantillon de 6 coupes prises dans l'ensemble du poumon.

On retrouve des tendances similaires sur les images présentées Fig. 6.2.6 pour 7 coupes balayant le poumon dans le plan axial. Des variations importantes apparaissent en périphérie postérieure à proximité des bronches principales (flèches rouges). Les variations maximales sont situées sur la partie antérieure des poumons (flèches blanches).

La figure 6.2.7 présente les cartes de variation de B_0 pour 6 coupes prises dans le plan sagittal. On peut remarquer la prédominance des variations de champ sur la partie antérieure des poumons de l'animal (flèches blanches).

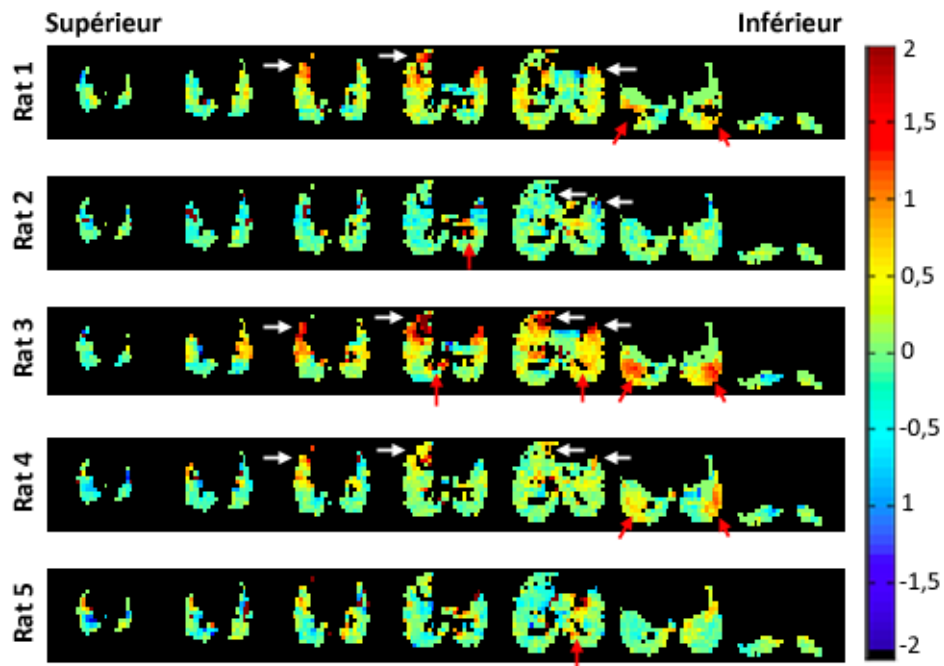


FIGURE 6.2.6 : Cartes de variations de B_0 (en ppm) présentées en vue axiale pour les 5 rats étudiés. Les cartes représentent un échantillon de 7 coupes balayant l'ensemble des poumons.

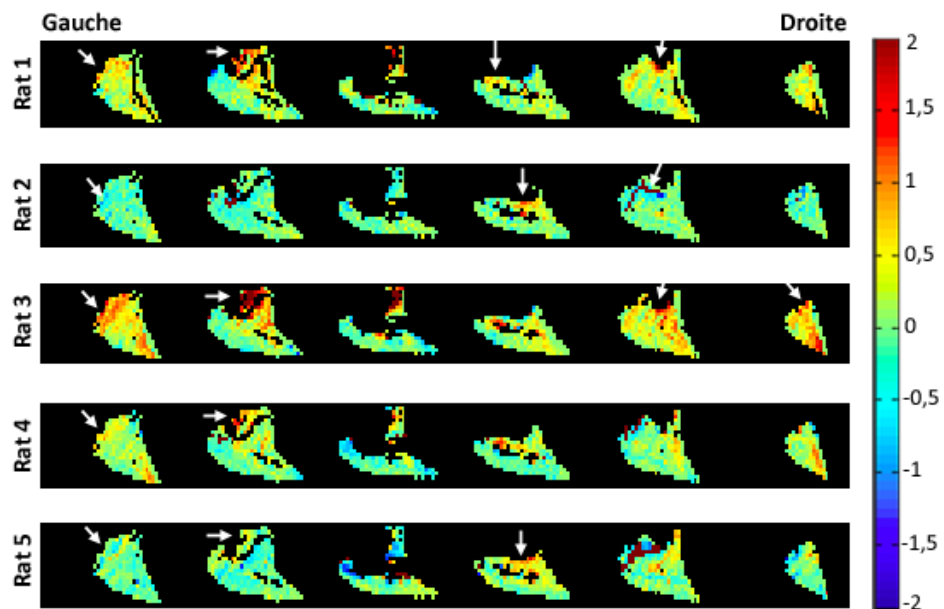


FIGURE 6.2.7 : Cartes de variations de B_0 (en ppm) présentées en vue sagittale pour les 5 rats étudiés. Les cartes représentent un échantillon de 6 coupes prises dans l'ensemble des deux poumons.

La figure 6.2.8 donne les pourcentages de voxel, moyennés sur les 5 rats, pour lesquels la valeur absolue des perturbations du champ magnétique statique B_0 sont non-nulles (jaune) et supérieures à 0,5 ppm (marron), pour quatre principales régions du poumon, antérieure (A), postérieure (P), supérieure (H, head) et inférieure (F, feet). Il est important de noter que même si l'on observe des variations sur l'ensemble de ces régions (plus de 80% des voxels présentent des valeurs non nulles), les perturbations les plus importantes prédominent dans la partie antérieure des poumons, tandis qu'elles semblent distribuées de façon plus homogène entre partie supérieure et inférieure. Lors de l'administration des aérosols, on peut émettre l'hypothèse d'un dépôt préférentiel dans les régions antérieures, à l'origine des perturbations maximales mesurées.

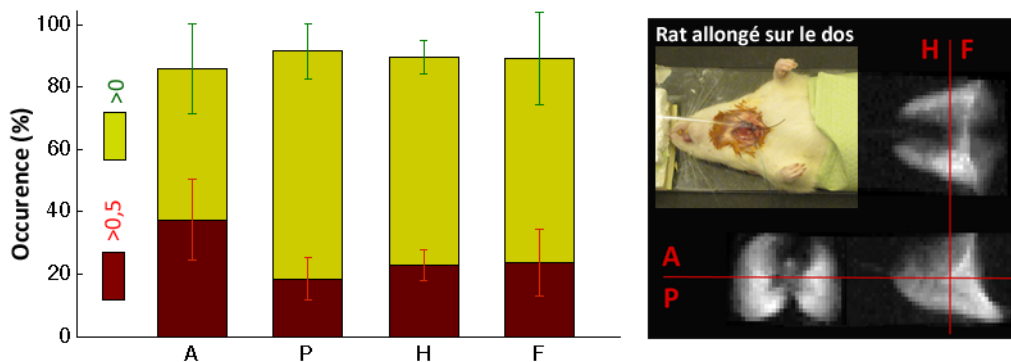


FIGURE 6.2.8 : Graphe présentant l'occurrence (en %) des variations de B_0 , en valeur absolue, pour des valeurs supérieures à 0 (jaune) et à 0,5 ppm (marron) et situées dans quatre régions distinctes du poumon, (A) antérieure, P (postérieure), (H) supérieure et (F) inférieure.

En termes de reproductibilité, on observe sur les figure 6.2.5 à 6.2.7 des perturbations du champ B_0 plus importantes pour les rats 1, 3, 4 et 5 que pour le rat 2, avec des valeurs particulièrement élevées pour le rat 3. La distribution des variations de B_0 pour l'ensemble des voxels des 5 rats est présentée Fig. 6.2.9. On remarque des tendances similaires entre les différentes distributions, et on retrouve une distribution des perturbations plus importantes pour le rat 3, tandis qu'elles demeurent sensiblement moins importantes pour le rat 2, avec notamment un nombre élevé de valeurs nulles et proches de 0.

Le coefficient de variation inter-voxel pour les 5 rats est présenté Fig. 6.2.10. On remarque deux principales tendances. La première permet de constater que pour plus de 80% des voxels, le coefficient de variation est inférieur à 15%. En revanche, pour 20% des voxels restants, on remarque un coefficient de variation pouvant aller jusqu'à 60%.

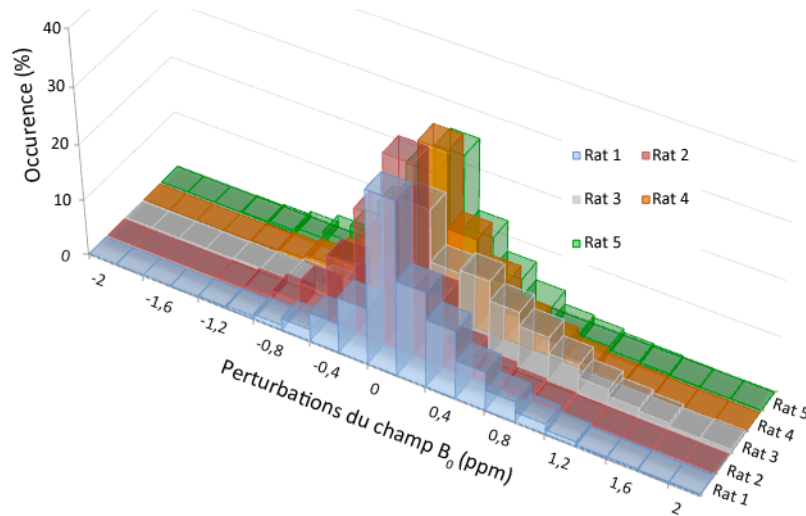


FIGURE 6.2.9 : Distribution non-cumulée des perturbations de B_0 (en ppm) pour les 5 rats de l'étude.

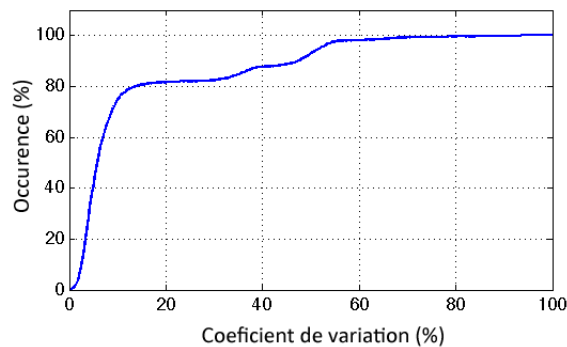


FIGURE 6.2.10 : Distribution cumulée des coefficients de variation inter-voxel (en %) pour les 5 rats étudiés.

Cela traduit les disparités apparaissant entre les différents rats, attestant d'une augmentation locale et non homogène des perturbations du champ B_0 lorsque les dépôts dans les voies aériennes sont plus importants, comme cela est le cas pour le rat 3 par exemple.

6.2.3 Conclusion

L'évaluation *in vivo* du dépôt d'aérosols dans les voies aériennes par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé a été menée chez 5 rats sains. Le calcul des cartes de variation de B_0 induite par le dépôt d'aérosols à base d'oxyde de fer a permis de localiser les principales régions de perturbation du champ magnétique statique et d'identifier de premières zones importantes du dépôt pour une résolution spatiale isotrope de $1,25 \times 1,25 \times 1,25 \text{ mm}^3$ et

un temps d'acquisition total (avant + après dépôt) inférieur à 10 s. Pour l'ensemble des rats étudiés, il apparaît une prédominance du dépôt dans la région antérieure des poumons, alors qu'il est plus difficile de conclure quant à la distribution supérieure-inférieure du dépôt. Ces résultats s'accordent à la position allongée, sur le dos du rat et la plus grande facilité que l'animal a naturellement pour recruter les régions alvéolaires antérieures[219, 11, 210, 80, 176]. La gravité semble être négligeable, à ce stade, dans les mécanismes de transport et de dépôt. Comme cela avait pu être remarqué lors de notre étude préliminaire du dépôt d'aérosols chez le rat (voir chapitre 4), les perturbations observées au niveau des premières générations de bronches soulignent également l'importance du phénomène de dépôt par impaction. Aux conditions d'administration et aux tailles des aérosols en jeu, le dépôt serait donc *a priori* proximal et distal et répondrait en effet au résultat de l'impaction dans les premiers embranchements de l'arbre bronchique et à la sédimentation prédominants dans les régions alvéolaires distantes. Les voies aériennes intermédiaires ne joueraient ici qu'un rôle secondaire de transmission.

La plateforme SAGAS nous a assuré une très bonne reproductibilité de la préparation de l'état pulmonaire intra-sujet et inter-sujet. Avec un contrôle des paramètres de pression, le protocole d'administration de gaz est reproduit pour les différents rats. La normalisation spatiale des jeux d'images nous a permis de caractériser cette reproductibilité et de nous affranchir des différences morphologiques entre les poumons des différents rats. Nous avons pu ainsi mener la première comparaison voxel à voxel en IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé et poser les premiers résultats *in vivo* de la distribution du dépôt d'aérosols dans les poumons. Celle-ci suit les mêmes tendances régionales d'un animal à l'autre. Les différences résiduelles pourraient être imputées à la fois aux différents modes respiratoires des animaux pendant l'administration d'aérosols et au mode d'administration qui n'exclut pas la présence de condensats obstructifs sur les parois des conduites d'inspiration. Le transport des aérosols vers les poumons en est alors modifié pour chaque animal.

Cette étude ouvre une voie originale d'investigation du dépôt d'aérosols dans les voies aériennes et une véritable standardisation du protocole d'administration de gaz au petit animal. Elle rend possible *in vivo* l'évaluation du dépôt d'aérosols marqués par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé. Associée à une extrapolation de la méthode de quantification du dépôt décrite au précédent chapitre, cette voie d'investigation pourrait, à moyen terme, supplanter les voies d'investigation de référence en médecine nucléaire, par des résolutions spatiale et temporelle bien meilleures et par une innocuité assurée par l'absence de rayonnements ionisants. Cela pourrait en l'occurrence permettre l'évaluation du dépôt d'aérosols lors d'études longitudinales, répétées sur de courts délais de temps, ce que n'autorisent pas à l'heure actuelle les techniques de médecine nucléaire, en particulier pour la réalisation d'études sur de jeunes enfants.

Conclusion et perspectives

La diversification de l'usage des thérapies inhalées, avec la considération récente du poumon comme organe de transfert vers la circulation systémique, a mis en exergue l'importance du ciblage des agents thérapeutiques en fonction des effets et applications visés. La complexité du système respiratoire, la difficulté de sa modélisation, le manque corrélatif, en somme, de connaissances des mécanismes de transport et de dépôt des aérosols soulignent par ailleurs l'apport fondamental des techniques d'imagerie pour l'obtention d'une information à la fois régionale et quantitative et l'orientation de la recherche et des développements dans le domaine. Dans ce contexte, la détection en médecine nucléaire fait office de référence pour sa sensibilité, mais pâtit de résolutions spatiale et temporelle faibles, limitant l'analyse et l'interprétation qui peut être faite de la distribution régionale des aérosols et de son évolution dans le temps. L'imagerie par résonance magnétique de l'hélium-3 hyperpolarisé apporte de nouvelles perspectives dans l'exploration pulmonaire et rivalise avec les techniques d'imagerie actuelles, autorisant des résolutions spatiales voisines de la tomographie par rayon X, supérieures aux techniques de médecine nucléaire, et disposant de résolutions temporelles dépassant l'ensemble de ces modalités. Les travaux rapportés dans cette thèse s'inscrivent dans cette problématique et proposent une voie originale d'évaluation et de quantification du dépôt d'aérosols dans les voies aériennes par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé.

Dans un premier temps, et dans un contexte où l'imagerie par résonance magnétique ne s'était pas encore penchée sur la problématique des aérosols thérapeutiques, un vaste travail d'investigation a été mené pour évaluer la sensibilité de l'IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé au dépôt d'aérosols marqués à base d'oxyde de fer superparamagnétique. Nous avons porté notre attention sur différents indicateurs : les temps de relaxation longitudinal et transverse des noyaux d'hélium-3, respectivement T_1 et T_2^* , et l'information portée par la phase du signal d'hélium-3, pour différentes gammes de concentration en fer. Les résultats préliminaires obtenus *in vitro* et *in vivo* indiquent que chacun des paramètres testés mesurent des variations lors de la présence de fer, avec toutefois des nuances en termes de sensibilité et de discrimination spatiale. En l'occurrence, l'effet *in vitro* des aérosols marqués sur le temps de relaxation T_1 des noyaux d'hélium-3 est faible et global en rapport avec la diffusion. Il serait inévitablement dominé *in vivo* par d'autres mécanismes de relaxation, en particulier ceux induits par la présence d'oxygène para-

magnétique et par les différences de susceptibilité aux interfaces air-tissu à l'intérieur du poumon. Concernant le T_2^* , l'effet du fer sur le signal de l'hélium-3 s'avère plus important que les effets observés sur le T_1 , mais est toutefois supplanté par l'effet mesuré sur les cartes de variations du champ magnétique statique B_0 , obtenues à partir de l'information de phase. La sensibilité offerte par cette dernière autorise en effet une véritable discrimination spatiale de la distribution du fer, en dépit de la diffusion rapide du gaz traceur, alors que les cartes de T_2^* présentent des valeurs plus homogènes sur l'ensemble des fantômes imagés. Ainsi, le calcul des cartes de variations de B_0 est l'approche qui a été privilégiée, en particulier pour sa sensibilité, pour la détection du dépôt d'aérosols marqués dans les voies aériennes.

Le second volet de ce travail s'est porté sur la validation de notre méthode d'évaluation, et sur le développement de la quantification du dépôt d'aérosols. Nous avons pu comparer la mesure faite par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé à une modalité expérimentale de référence, la tomographie d'émission monophotonique (SPECT), et théorique, le calcul numérique en mécanique des fluides (CFD), autorisant la résolution des équations de la mécanique des fluides et du transport de particules, dans un fantôme des voies aériennes extrathoraciques. Une approche mathématique originale a été mise en oeuvre pour quantifier l'aérosol déposé sur les parois du fantômes, permettant de déterminer la distribution de dipôles magnétiques à partir des cartes de variation du champ magnétique statique B_0 . Les résultats obtenus montrent une bonne correspondance entre les différentes modalités, confirmant la pertinence de l'information mesurée par IRM, tant sur le plan de la régionalisation du dépôt que sur la quantification qui a pu être menée.

Nous avons enfin pu tester la reproductibilité de notre méthode d'évaluation du dépôt *in vivo* chez le rat, grâce à la réalisation d'une plateforme de ventilation et d'administration de gaz et d'aérosols dédiée, SAGAS. Cette plateforme, développée spécifiquement pour l'environnement magnétique de l'IRM et pour l'utilisation de gaz hyperpolarisés, nous a en effet permis de contrôler les paramètres d'administration de gaz de façon à respecter les constantes physiologiques de l'animal, tout en gardant des conditions d'administration constantes d'un animal à l'autre (contrôle de la pression d'inflation des poumons). Les résultats obtenus présentent des distributions voisines du dépôt d'aérosols dans les poumon des cinq animaux imagés, et une première analyse régionale montre une prédominance du dépôt dans la région antérieure des poumons. L'interprétation de cette régionalisation particulière est délicate et dépendante de paramètres multiples (cycle respiratoire, nature de l'aérosol, position de l'animal, composition du gaz vecteur), et nécessiterait de pouvoir être complétée par d'autres études menées dans des conditions expérimentales différentes. C'est l'objet d'un projet lancé cette année sur des animaux asthmatiques et emphysémateux. La plateforme SAGAS est un élément central dans la mise en place de telles expériences et permettra dans l'avenir, grâce au contrôle de la composition des fluides administrés et du cycle respiratoire imposé, de véritablement caractériser et standardiser non seulement l'évaluation *in vivo* du dépôt d'aérosols dans

les voies pulmonaires mais aussi l'ensemble des études précliniques qui nécessitent des conditions respiratoires contrôlées et reproductibles.

La médecine nucléaire est actuellement la technique d'imagerie de référence permettant, seule, de cartographier la quantité d'aérosols thérapeutiques marqués déposés dans les poumons. Au cours de cette thèse, nous avons mis au point un nouvel outil méthodologique, non ionisant, disposant de résolutions spatiale et temporelle surpassant celles des techniques disponibles. Sa mise en œuvre pourrait avantageusement remplacer, et pour le sujet et pour l'étude, ces dernières. L'IRM par contraste de phase de l'hélium-3 hyperpolarisé devrait, à court et moyen termes, ouvrir un véritable champ expérimental de validation et de détermination des modes de distribution des aérosols dans l'arbre respiratoire en premier lieu et dans les régions aériennes distales en second lieu. En effet, chez le petit animal, la résolution spatiale offerte ici sur un IRM clinique autorise déjà une discrimination du dépôt entre régions proximale et distale du poumon, en trois dimensions, qu'il est difficile de réaliser sur les appareils de médecine nucléaire utilisés aujourd'hui chez l'humain - y compris les appareils tomographiques. En outre, bien au-delà des performances de la médecine nucléaire, la résolution temporelle de l'IRM, associée à la relative permanence des oxydes de fer dans l'environnement pulmonaire, permettrait également d'envisager le suivi longitudinal des particules déposées, immédiatement après leur administration, avant, pendant, après et longtemps après l'entrée en action des mécanismes de clairance pulmonaire. Enfin, l'IRM par contraste de phase de l'hélium-3 hyperpolarisé nous permet d'envisager à plus long terme le suivi dynamique du transport-même des aérosols du nébuliseur au poumon.

Liste des publications

1. Article

Soumis :

Sarracanie, M., Grebenkov, D., Sandeau, J., Coulibaly, S., Martin, A.R., Hill, K.A., Pérez-Sánchez, J.M., Fodil, R., Martin, L., Durand, E., Caillibotte, G., Isabey, D., Darrasse, L., Bittoun, J., & Maître, X., Helium-3 MRI of aerosol deposition in human airways, 2011, *Phys. Rev. Lett.*

2. Communications avec actes

-2011-

Sarracanie, M., Grebenkov, D., Sandeau, J., Coulibaly, S., Martin, A.R., Hill, K.A., Pérez-Sánchez, J.M., Fodil, R., Martin, L., Durand, E., Caillibotte, G., Isabey, D., Darrasse, L., Bittoun, J., & Maître, X., Quantification of aerosol deposition in the upper airways : A multimodality study, *International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM) 19th Annual Meeting*, Montréal, Québec, Canada.

-2010-

Martin, L., Maître, X., Sarracanie, M., Friese, M., de Rochefort, L., Dubuisson, R-M., Boriassé, E., & Durand, E., Optimisation of velocity encoding gradients for phase contrast gas velocity taking diffusion into account, *Joint Annual Meeting of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM) and European Society of Magnetic Resonance in Medicine and Biology (ESMRMB)*, Stockholm, Suède.

Hill, K.A., Pérez-Sánchez, J.M., Maître, X., Santarelli, R., Sarracanie, M., Friese, M., Hagot, P., Darrasse, L., In vivo comparison of 2D and 3D T2* in the rat lung using hyperpolarized helium-3 MRI at 1.5 T, *Joint Annual Meeting of the ISMRM and ESMRMB*, Stockholm, Suède.

Pérez-Sánchez, J.M., Hill, K.A., Santarelli, R., **Sarracanie, M.**, Hagot, P., Friese, M., Maître, X., & Darrasse, L. Comparison of apparent diffusion and T2* measurements at 1.5 T for sensitive lung characterisation using hyperpolarised helium-3 MRI, *United Kingdom Radiological Congress*, Birmingham, Royaume-Uni.

Hill, K.A., Pérez-Sánchez, J.M., Maître, X., Santarelli, R., **Sarracanie, M.**, Hagot, P., Friese, M., & Darrasse, L., Comparison of 2D and 3D T2* as a sensitive indicator of lung microstructure using hyperpolarised helium-3 MRI, *United Kingdom Radiological Congress*, Birmingham, Royaume-Uni.

-2009-

Sarracanie, M., Maître, X., Coulibaly, S., Hill, K.A., Pérez-Sánchez, J.M., Martin, L., Durand, E., Darrasse, L., & Bittoun, J., Hyperpolarised helium-3 MRI versus SPECT-CT for quantification of aerosol deposition in the airways, *ESMRMB 26th Annual Scientific Meeting*, Antalya, Turquie.

Sarracanie, M., Maître, X., de Rochefort, L., Hill, K.A., Pérez-Sánchez, J.M., Dubuisson, R-M., Boriassé, E., Martin, L., Durand, E., Darrasse, L., & Bittoun, J., Hyperpolarized helium-3 relaxation times as an assessment of aerosols presence in the airways, *ESMRMB 26th Annual Scientific Meeting*, Antalya, Turquie.

Hill, K.A., Maître, X., Pérez-Sánchez, J.M., **Sarracanie, M.**, Santarelli, R., Martin, L., Boriassé, E., Hagot, P., Lee, J., Zhibin, Y., & Darrasse, L., Rapid 3D dynamic imaging of the respiratory cycle using hyperpolarized helium-3 MRI and k-t BLAST, *ESMRMB 26th Annual Scientific Meeting*, Antalya, Turquie.

Maître, X., Sinkus, R., Santarelli, R., **Sarracanie, M.**, Dubuisson, R-M., Boriassé, E., Bittoun, J., & Darrasse, L., In vivo lung elastography with hyperpolarised helium-3 MRI, *International Society for Magnetic Resonance in Medicine 17th Annual Meeting*, Honolulu, HI, Etats-Unis.

-2008-

Sarracanie, M., Maître, X., Caluch, A., Santarelli, R., Dubuisson, R-M., Darrasse, L., Louis, B., Boriassé, E., Marsolat, F., Fodil, R., Grebenkov, D., Filoche, M., Sapoval, B., Caillibotte, G., Apiou, G., Isabey, D., Martin, L., Durand, E., & Bittoun, J., Assessment of hyperpolarised helium-3 MRI for aerosol deposition in the lungs, *ESMRMB 25th Annual Scientific Meeting*, Valencia, Spain.

Maître, X., Sandeau, J., Fodil, R., Louis, B., **Sarracanie, M.**, Santarelli, R., Durand, E., Darrasse, L., Caillibotte, G., Bittoun, J., Apiou, G., & Isabey, D., Hyperpolarised gas velocity mapping to capture flow jets in a phantom of human upper airways, *ESMRMB 25th Annual Scientific Meeting*, Valencia, Spain.

3. Communications sans actes

-2010-

Sarracanie, M., Pérez-Sánchez, J-M., Marsolat, F., Martin, L., Santarelli, R., Hagot, P., Maître, X., & Darrasse, L., SAGAS (Small Animal Gas Administration System) : Gas administration platform for lung imaging of small animals, Nouveaux défis en imagerie du petit animal, *GDR Imagiv (CNRS)*, Marseille, France.

Sarracanie, M., Maître, X., Coulibaly, S., Grebenkov, D., Hill, K.A., Martin, L., Durand, E., Darrasse, L., & Bittoun, J., Quantification of aerosol deposition in the upper airways with hyperpolarized helium-3 MRI and SPECT, *Polarized Helium for Lung Imaging Network (PHeLINet) Workshop, Lung Imaging : The Latest Developments and Medical Applications*, Cracovie, Pologne.

Debuire, P., **Sarracanie, M.**, Maître, Xavier., Durand, E., Bittoun, J., & Darrasse, L., Hyperpolarised helium-3 MRI to map aerosol deposition ex vivo in preserved cat lungs, *PHeLINet Workshop, Lung Imaging : The Latest Developments and Medical Applications*, Cracovie, Pologne.

Hill, K.A., Pérez-Sánchez, J.M., Santarelli, R., **Sarracanie, M.**, Hagot, P., Friese, M., Maître, X., & Darrasse, L., In vivo comparison of 2D and 3D T2* in the rat lung using hyperpolarized helium-3 MRI at 1.5 T, *Journée de la Recherche des facultés de Médecine et Pharmacie de l'université Paris-Sud 11*, Le Kremlin-Bicêtre, France.

-2009-

Sarracanie, M., Maître, X., Coulibaly, S., Sandeau, J., Hill, K.A., Pérez-Sánchez, J.M., Martin, L., Durand, E., Darrasse, L., & Bittoun, J., Aerosol deposition in the upper airways : From CFD simulations to SPECT-CT and Hyperpolarized helium-3 MRI, *4th International Workshop for Pulmonary Functional Imaging*, Boston, MA, Etats-Unis.

Sarracanie, M., Maître, X., Coulibaly, S., Hill, K., Pérez-Sánchez, J-M., Martin, L., Durand, E., Darrasse, L., Bittoun, J., Quantification du dépôt d'aérosols dans les voies aériennes : Comparaison SPECT-CT et IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé, L'IRM, une modalité d'imagerie quantitative ?, *Journée thématique GDR ISIS (CNRS) & GDR Stic-Santé (CNRS-INSERM)*, Paris, France.

Sarracanie, M., Maître, X., Coulibaly, S., Hill, K.A., Pérez-Sánchez, J.M., Martin, L., Durand, E., Darrasse, L., & Bittoun, J., Quantification du dépôt d'aérosols dans les voies aériennes : Comparaison SPECT-CT et IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé, *Congrès Général de la Société Française de Physique (SFP)*, Palaiseau, France.

Sarracanie, M., Maître, X., de Rochefort, L., Hill, K.A., Pérez-Sánchez J-M., Dubuisson, R-M., Boriassé, E., Martin, L., Darrasse, L., & Bittoun, J., Etude des temps de relaxation de l'hélium-3 hyperpolarisé comme un indicateur de la présence d'aérosols dans les voies pulmonaires, *Journée de la Recherche des facultés de Médecine et Pharmacie de l'université Paris-Sud 11*, Le Kremlin-Bicêtre, France.

Hill, K.A., Maître, X., **Sarracanie, M.**, Pérez-Sánchez, J.M., Dubuisson, R-M., Boriassé, E., Martin, L., Durand, E., Darrasse, L., & Bittoun, J., Cartographie dynamique T2* au cours du cycle respiratoire par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé, *Journée de la Recherche des facultés de Médecine et Pharmacie de l'université Paris-Sud 11*, Le Kremlin-Bicêtre, France.

Hill, K.A., Maître, X., Pérez-Sánchez, J-M., **Sarracanie, M.**, Santarelli, R., & Darrasse, L., 3D dynamic imaging and T2* measurement over the respiratory cycle using hyperpolarized helium-3 MRI, *Oxford Biomedical Imaging Festival*, Oxford, Royaume-Uni.

Hill, K.A., Maître, X., Pérez-Sánchez, J.M., **Sarracanie, M.**, Santarelli, R., Martin, L., Boriassé, E., Hagot, P., Collier, G., Zhibin, Y., Lee, J., & Darrasse, L., Imagerie dynamique 3D rapide au cours du cycle respiratoire par IRM de l'hélium-3 hyperpolarisé et k-t BLAST, *Congrès Général de la SFP*, Palaiseau, France.

Santarelli, R., Maître, X., Sinkus, R., **Sarracanie, M.**, Salameh, N., Durand, E., & Darrasse, L., Couplage fluide/structure dans le parenchyme pulmonaire pour une élastographie quantitative par résonance magnétique de l'hélium-3 hyperpolarisé, *Congrès Général de la SFP*, Palaiseau, France.

-2008-

Sarracanie, M., Maître, X., Santarelli, R., Dubuisson, R-M., Boriassé, E., Durand, E., Caluch, A., Grebenkov, D., Filoche, M., Sapoval, B., Louis, B., Darrasse, L., Caillibotte, G., Apiou, G., Isabey, D., & Bittoun, J., Hyperpolarised helium-3 MRI study of aerosols deposition in phantom and rat airways, *PHeLINet Advanced Training School*, Paris, France.

Sarracanie, M., Maître, X., Santarelli, R., Durand, E., Grebenkov, D., Filoche, M., Sapoval, B., Louis, B., Darrasse, L., Caillibotte, G., Apiou, G., Isabey, D., & Bittoun, J., Etude du dépôt et du transport d'aérosols dans les voies aériennes humaines par résonance magnétique de l'hélium-3 hyperpolarisé, *16e Colloque Jeunes Chercheurs Alain Bouyssy du Centre Scientifique d'Orsay*, Orsay, France.

Santarelli, R., Maître, X., Sinkus, R., **Sarracanie, M.**, Dubuisson, R-M., Boriassé, E., Bittoun, J., and Darrasse, L., In vivo lung elastography with hyperpolarized helium-3 MRI, *PHeLINet Advanced Training School*, Paris, France.

Bibliographie

- [1] J P Mugler 3rd, C Wang, G W Miller, G D Jr Cates, J F Mata, J R Brookeman, E E de Lange, and T A Altes. Helium-3 diffusion mr imaging of the human lung over multiple time scales. *Academic Radiology*, 15(6) :693–701, 2008.
- [2] Marie Abboud. *Pompage optique de l'hélium-3 à forte pression dans un champ magnétique de 1,5 tesla*. PhD thesis, École normale supérieure, Université Pierre et Marie Curie, 2005.
- [3] J E Agnew. Characterizing lung aerosol penetration. *Journal of Aerosol Medicine*, 4(3) :237–249, 2009.
- [4] J M Aiache and S Aiache. Les aérosols du xixe au xxie siècle. *Journal de Pharmacie de Belgique*, 60(4) :117–128, 2005.
- [5] M Ali, RN Reddy, and MK Mazumder. Electrostatic charge effect on respirable aerosol particle deposition in a cadaver based throat cast replica. *Journal of Electrostatics*, 66(7-8) :401–406, 2008.
- [6] T A Altes, P K Rehm, F Harrel, M Salerno, T M Daniel, and E E de Lange. Ventilation imaging of the lung : Comparison of hyperpolarized helium-3 mr imaging with xe-133 scintigraphy. *Academic Radiology*, 11(7) :729–734, 2004.
- [7] P Andreo. Monte Carlo techniques in medical radiation physics. *Physics in Medicine and Biology*, 36(7) :861, 1991.
- [8] J Ashburner. Computational anatomy with the spm software. *Magnetic Resonance Imaging*, 27(8) :1163–1174, 2009.
- [9] P Bachert, L R Shad, M Bock, M V Knopp, M Ebert, T Grossmann, W Heil, D Hofmann, R Surkau, and E W Otten. Nuclear magnetic resonance imaging of airways in humans with use of hyperpolarized ^3He . *Magnetic Resonance in Medicine*, 36(2) :192–196, 1996.
- [10] J Becker, J Bermuth, M Ebert, T Grossman, W Heil, D Hofmann, H Humblot, M Leduc, E W Otten, D Rohe, and R Surkau. Interdisciplinary experiments with polarized he-3. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A : Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*, 402(2-3) :327–336, 1998.

- [11] N Beckmann, B Tigani, L Mazzoni, and J R Fozard. Mri of lung parenchyma in rats and mice using a gradient-echo sequence. *NMR in Biomedicine*, 14(5) :297–306, 2001.
- [12] Bhavna, Farhan Jalees Ahmad, Gaurav Mittal, Gaurav K Jain, Geena Malhotra, Roop K Khar, and Aseem Bhatnagar. Nano-salbutamol dry powder inhalation : A new approach for treating broncho-constrictive conditions. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 71(2) :282–291, 2009.
- [13] C P Bidinosti, J Choukeife, P J Nacher, and G Tastevin. In vivo nmr of hyperpolarized ^3He in the human lung at very low magnetic fields. *Journal of Magnetic Resonance*, 162(1) :122–132, 2003.
- [14] N P Bigelow, P J Nacher, and M Leduc. Accurate optical measurement of nuclear polarization in optically pumped He-3 gas. *Journal de Physique II*, 2(12) :2159–2179, 1992.
- [15] F Bloch. Nuclear induction. *Physical Review*, 70(7-8) :460–474, 1946.
- [16] M Bock. Simultaneous t_2^* and diffusion measurements with ^3He . *Magnetic Resonance in Medicine*, 38(6) :890–895, 1997.
- [17] E Bondesson, T Bengtsson, L Borgström, L E Nilsson, K Norrgen, E Trofast, and P Wollmer. Planar gamma scintigraphy-points to consider when quantifying pulmonary dry powder aerosol deposition. *International Journal of Pharmaceutics*, (251) :33–47, 2003.
- [18] L Borgström. In vitro, ex vivo, in vivo veritas. *Allergy*, 54 :88–92, 1999.
- [19] L Borgström, S Newman, A Weisz, and F Moren. Pulmonary deposition of inhaled terbutaline : comparison of scanning gamma camera and urinary excretion methods. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 81(8) :753–755, 1992.
- [20] S Boseley. The asthma plague. *The Guardian*, pages 10–15, Nov 4 2005.
- [21] D Bouros and K M Antoniou. Current and future therapeutic approaches in idiopathic pulmonary fibrosis. *European Respiratory Journal*, 26(4) :693–703, 2005.
- [22] Rosa T. Branca, Zackary I. Cleveland, Boma Fubara, Challa S. S. R. Kumar, Robert R. Maronpot, Carola Leuschner, Warren S. Warren, and Bastiaan Driehuys. Molecular mri for sensitive and specific detection of lung metastases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(8) :3693–3697, 2010.
- [23] M Brouns. *Numerical and experimental study of flows deposition of aerosols in the human upper airways*. PhD thesis, Vrije Universiteit Brussels, Belgium, 2007.
- [24] P R Byron. Determinants of drug and polypeptide bio-availability from aerosols delivered to the lungs. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 5(1-2) :107–132, 1990.
- [25] F Laloe C Cohen-Tannoudji, B Diu. *Mécanique Quantique*. Hermann, 1977.
- [26] L Calmels. *Imagerie fonctionnelle et microscopique du petit animal orientée vers la cancérologie*. PhD thesis, Université Paris-Sud 11, 2010.

-
- [27] S Candel. *Mécanique des fluides*. Dunod, France, 1995.
- [28] T C Carvalho, J I Peters, and R O Williams III. Influence of particle size on regional lung deposition – what evidence is there? *International Journal of Pharmaceutics*, 406(1-2) :1–10, 2011.
- [29] CDER, US department of Health and Human Services, Food and Drug Administration. *Guidance for industry - Nasal Spray and inhalation solution, suspension and spray drug products - chemistry, manufacturing, and controls documentation.*, 2002.
- [30] H K Chan. Use of single photon emission computed tomography in aerosol studies. *Journal of Aerosol Medicine*, 6(1) :23–36, 1993.
- [31] B T Chen, A C S Brau, and G A Johnson. Measurement of regional lung function in rats using hyperpolarized 3helium dynamicmri. *Magnetic Resonance in Medicine*, 49(1) :78–88, 2003.
- [32] B T Chen, A T Yordanov, and G A Johnson. Ventilation-synchronous magnetic resonance microscopy of pulmonary structure and ventilation in mice. *Magnetic Resonance in Medicine*, 53(1) :69–75, 2005.
- [33] X J Chen, M S Chawla, L W Hedlund, H E Moller, J R MacFall, and G A Johnson. Mr microscopy of lung airways with hyperpolarized 3he. *Magnetic Resonance in Medicine*, 39(1) :79–84, 1998.
- [34] X J Chen, H E Moller, M S Chawla, G P Cofer, B Driehuys, L W Hedlund, and G A Johnson. Spatially resolved measurements of hyperpolarized gas properties in the lung in vivo. part i : diffusion coefficient. *Magnetic Resonance in Medicine*, 42(4) :721–728, 1999.
- [35] K H Cheng, Y S Cheng, H C Yeh, and D L Swift. Measurements of airway dimensions and calculation of mass transfer characteristics of the human oral passage. *Journal of Biomechanical Engineering*, 119(4) :476–482, 1997.
- [36] Y S Cheng. Particle Deposition in a Cast of Human Oral Airways. *Aerosol Science and Technology*, pages 1–16, 1999.
- [37] S V Chernikov, J R Taylor, N S Platonov, V P Gapontsev, P J Nacher, G Tastevin, M Leduc, and M J Barlow. 1083 nm ytterbium doped fibre amplifier for optical pumping of helium. *Electronics Letters*, 33(9) :787–789, 1997.
- [38] A L Coates, M Green, K Leung, J Chan, N Ribeiro, E Louca, F Ratjen, M Charron, M Tservistas, and M Keller. Rapid pulmonary delivery of inhaled tobramycin for pseudomonas infection in cystic fibrosis : a pilot project. *Pediatric Pulmonology*, 43(8), 2008.
- [39] F D Colegrove, L D Schearer, and G K Walters. Polarization of he3 gas by optical pumping. *Physical Review*, 132(6) :2561–2572, 1963.
- [40] T E Corcoran and N Chigier. Characterization of the laryngeal jet using phase doppler interferometry. *Journal of Aerosol Medicine*, 13(2) :125–137, 2000.

- [41] C Corot, P Robert, J M Idée, and M Port. Recent advances in iron oxide nanocrystal technology for medical imaging. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(14) :1471–1504, 2006.
- [42] T Costanza. Galway and us firms team up on inhaled insulin product. www.siliconrepublic.com/innovation/item/19961-galway-and-us-firms-team-up/, 2011.
- [43] E Courtage. *Pompage optique de l'hélium dans des conditions non standard*. PhD thesis, Ecole Normale Supérieure, Université Paris-Sud 11, 2001.
- [44] CPMP/EWP/4151/00. *Guidelines on the requirements for clinical documentation for orally inhaled products including the requirements for demonstration of therapeutic equivalence between two inhaled products for use in the treatment of asthma and chronic obstructive pulmonary disease*, Octobre 2007.
- [45] C Croce. *Étude numérique et expérimentale de l'écoulement nasal dans des géométries réalistes*. PhD thesis, Université Paris Est, 2007.
- [46] S A Cryan, N Sivadas, and L Garcia-Contreras. In vivo animal models for drug delivery across the lung mucosal barrier. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(11) :1133–1151, 2007.
- [47] J M Daniels, L D Scheerer, M Leduc, and P J Nacher. Polarizing ^3He nuclei with neodymium la1-xndxmgal11o19 lasers. *Journal of the Optical Society of America B*, 4(7) :1133–1135, 1987.
- [48] L Darrasse, G Guillot, P J Nacher, and G Tastevin. Low-field helium-3 nuclear magnetic resonance in human lungs. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, 324(11) :691–700, 1997.
- [49] S Davis. Delivery of peptide and non-peptide drugs through the respiratory tract. *Pharmaceutical Science and Technology Today*, 2(2) :450–456, 1999.
- [50] R Perez de Alejo, J Ruiz-Cabello, P Villa, I Rodriguez, J M Perez-Sanchez, G Peces-Barba, and M Cortijo. A fully mri-compatible animal ventilator for special-gas mixing applications. *Concepts in Magnetic Resonance Part B : Magnetic Resonance Engineering*, 26B(1) :93–103, 2005.
- [51] L de Rochefort. *Imagerie dynamique et vélocimétrie IRM des gaz hyperpolarisés*. PhD thesis, Université Paris-Sud 11, 2006.
- [52] L de Rochefort, R Brown, M R Prince, and Y Wang. Quantitative MR susceptibility mapping using piece-wise constant regularized inversion of the magnetic field. *Magnetic Resonance in Medicine*, 60(4) :1003–9, 2008.
- [53] L de Rochefort, T Liu, B Kressler, J Liu, P Spincemaille, V Lebon, J Wu, and Y Wang. Quantitative susceptibility map reconstruction from MR phase data using bayesian regularization : validation and application to brain imaging. *Magnetic Resonance in Medicine*, 63(1) :194–206, 2010.

-
- [54] L de Rochefort, T Nguyen, R Brown, P Spincemaille, G Choi, J Weinsaft, M R Prince, and Y Wang. In vivo quantification of contrast agent concentration using the induced magnetic field for time-resolved arterial input function measurement with MRI. *Medical Physics*, 35(12) :5328, 2008.
- [55] L de Rochefort, M Poirier-Quinot, B Kressler, C Wilhelm, F Gazeau, J-C Ginefri, L Darrasse, and Y Wang. SPIO Labeled Cells : Magnetic Resonance Source Quantification by Inverting the Dipole Field, 2007.
- [56] L de Rochefort, L Vial, R Fodil, X Maître, B Louis, D Isabey, G Caillibotte, M Thiriet, J Bittoun, E Durand, and G Spirlea-Apiou. In vitro validation of computational fluid dynamic simulation in human proximal airways with hyperpolarized ^3He magnetic resonance phase-contrast velocimetry. *Journal of Applied Physiology*, pages 1–13, 2007.
- [57] C L Degen, M Poggio, H J Mamin, C T Rettner, and D Rugar. Nanoscale magnetic resonance imaging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(5) :1313–1317, 2009.
- [58] E Dekker. Transition between laminar and turbulent flow in human trachea. *Journal of Applied Physiology*, 16(6) :1060–1064, 1961.
- [59] J Delamare, F Delamare, E Gélis-Malville, and L Delamare. *Dictionnaire illustré des termes de médecine Garnier-Delamare*. Maloine, 2002.
- [60] A J Deninger, B Eberle, T Grossmann, W Heil, H U Kauczor, L Lauer, K Markstaller, E W Otten, J Schmiedeskamp, W G Schreiber, R Surkau, M Thelen, and N Weiler. Quantification of regional intrapulmonary oxygen partial pressure evolution during apnea. *Journal of Magnetic Resonance*, 141(2) :207–216, 1999.
- [61] M H Deppe, J Parra-Robles, S Ajraoui, S R Parnell, M Clemence, R F Schulte, and J Wild. Susceptibility effects in hyperpolarized ^3He lung mri at 1.5t and 3t. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 30(2) :418–423, 2009.
- [62] P Devillier. *L'aérosolthérapie par nébulisation*, chapter Pharmacocinétique des médicaments nébulisés, pages 33–42. Margaux Orange, Paris, 2006.
- [63] P Devillier, E Naline, and J C Dubus. Pourquoi et comment mesurer et optimiser le dépôt pulmonaire des traitements inhalés? *Revue des Maladies Respiratoires*, 26(10) :1127–1137, 2009.
- [64] J M Dias and J M Leitao. The zpim algorithm : a method for interferometric image reconstruction in sar/sas. *IEEE Transactions on Image Processing*, 11(4) :408–422, 2002.
- [65] M B Dolovich and R Labiris. Defining lung regions for the purpose of calculating deposition to the small airways. *The Proceedings of the American Thoracic Society*, 1 :329–337, 2004.
- [66] M B Dolovich, J Sanchis, C Rossman, and M T Newhouse. Aerosol penetrance : a sensitive index of peripheral airway obstruction. *Journal of Applied Physiology*, 40(3) :468–471, 1976.

- [67] M B Dolovitch. 18f-fluorodeoxyglucose positron emission tomographic imaging of pulmonary functions, pathology, and drug delivery. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 6 :477–485, 2009.
- [68] J P Dugas, J W Garbow, D K Kobayashi, and M S Conradi. Hyperpolarized 3he mri of mouse lung. *Magnetic Resonance in Medicine*, 52(6) :1310–1317, 2004.
- [69] J Dupont-Roc, M Leduc, and F Laloë. New value for the metastability exchange cross section in helium. *Physical Review Letters*, 27(8) :467–470, 1971.
- [70] J Dupont-Roc, M Leduc, and F Laloë. Contribution à l'étude du pompage optique par échange de métastabilité dans 3he. *Journal de Physique*, 34(11-12) :977–987, 1973.
- [71] D Dupuich, Y Berthezène, P L Clouet, V Stupar, E Canet, and Y Crémillieux. Dynamic 3he imaging for quantification of regional lung ventilation parameters. *Magnetic Resonance in Medicine*, 50(4) :777–783, 2003.
- [72] E Durand, G Guillot, L Darrasse, G Tastevin, P J Nacher, A Vignaud, D Vattolo, and J Bittoun. Cpmg measurements and ultrafast imaging in human lungs with hyperpolarized helium-3 at low field (0.1 t). *Magnetic Resonance in Medicine*, 47(1) :75–81, 2002.
- [73] M Ebert, T Grossmann, W Heil, E W Otten, R Surkau, M Thelen, M Leduc, P Bachert, M V Knopp, and L R Schad. Nuclear magnetic resonance imaging with hyperpolarised helium-3. *The Lancet*, 347(9011) :1297–1299, 1996.
- [74] W Eder, MJ Ege, and E von Multius. The asthma epidemic. *The New England Journal of Medicine*, 355 :2226–2235, 2006.
- [75] D A Edwards and C Dunbar. Bioengineering of therapeutic aerosols. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 4 :93–107, 2002.
- [76] C Ehrhardt, C Kneuer, C Bies, C M Lehr, K J Kim, and U Bakowsky. Salbutamol is actively absorbed across human bronchial epithelial cell layers. *Pulmonary Pharmacology and Therapeutics*, 18(3) :165–170, 2005.
- [77] S. Elghobashi. On predicting particle-laden turbulent flows. *Applied Scientific Research*, 52(4) :309–329, 1994.
- [78] M L Everard. Using radiolabelled aerosols in children. *Thorax*, 49(12) :1259–1266, 1994.
- [79] A Fadl, J Wang, Z Zhang, and Y Sung Cheng. Effects of mdi spray angle on aerosol penetration efficiency through an oral airway cast. *Journal of Aerosol Science*, 38(8) :853–864, 2007.
- [80] S B Fain. Functional lung imaging using hyperpolarized gas mri. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 25(5) :910–923, 2007.
- [81] W H Finlay. *The mechanics of inhaled pharmaceutical aerosols : an introduction*. Academic Press, USA, 2001.

-
- [82] J S Fleming. *Respiratory Drug Delivery IX*, chapter Measuring drug deposition by airway generation in humans, pages 187–193. Davis Healthcare International, 2004.
- [83] J S Fleming and J H Conway. Three-dimensional imaging of aerosol deposition. *Journal of Aerosol Medicine*, 14(2) :147–153, 2001.
- [84] J S Fleming, B Epps, J H Conway, and T B Martonen. Comparison of spect aerosol deposition data with a human respiratory tract model. *Journal of Aerosol Medicine*, 19(3) :268–278, 2006.
- [85] J S Fleming, M Quint, L Bolt, T B Martonen, and J H Conway. Comparison of spect aerosol deposition data with twenty-four hour clearance measurements. *Journal of Aerosol Medicine*, 19(3) :261–267, 2006.
- [86] B I Florea, M L Cassara, and H E Junginger. Drug transport and metabolism characteristics of the human airway epithelial cell line calu-3. *Journal of Controlled Release*, 87(1-3) :131–138, 2003.
- [87] J L Flowers, B W Petley, and M G Richard. A measurement of the nuclear magnetic moment of the helium-3 atom in terms of that of the proton. *Metrologia*, (2) :75–87, 1993.
- [88] P Foster-Gareau, C Heyn, A Alejski, and B K Rutt. Imaging single mammalian cells with a 1.5 t clinical mri scanner. *Magnetic Resonance in Medicine*, 49(5) :968–971, 2003.
- [89] K J Friston, J T Ashburner, S J Kiebel, T E Nichols, and W D Penny. *Statistical Parametric Mapping*. Elsevier, 2007.
- [90] T Gemci, B Shortall, G M Allen, T E Corcoran, and N Chigier. A cfd study of the throat during aerosol drug delivery using heliox and air. *Journal of Aerosol Science*, 34(9) :1175–1192, 2003.
- [91] T R Gentile, M E Hayden, and M J Barlow. Comparison of metastability-exchange optical pumping sources. *Journal of the Optical Society of America B*, 20(10) :2068–2074, 2003.
- [92] T R Gentile and R D Mckeown. Spin-polarizing ^3He nuclei with an arc-lamp-pumped neodymium-doped lanthanum magnesium hexaluminate laser. *Physical Review A*, 47(1) :456–467, 1993.
- [93] P-O Girodet and M Molimard. Pharmacological approach to evaluate aerosol pulmonary deposition. *Journal of Aerosol Medicine*, 18(2) :183–192, 2005.
- [94] E Girodon-Boulandet and C Costa. Génétique de la mucoviscidose. *Médecine thérapeutique/Pédiatrie*, 8(3) :126–134, 2005.
- [95] I Gonda. The ascent of pulmonary drug delivery. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 89(7) :940–945, 2000.
- [96] I Gonda. Systemic delivery of drugs to humans via inhalation. *Journal of Aerosol Medicine*, 19(1) :47–53, 2006.

- [97] B Grgic, W H Finlay, P K P Burnell, and A F Heenan. In vitro intersubject and intrasubject deposition measurements in realistic mouth-throat geometries. *Journal of Aerosol Science*, 35(8) :1025–1040, 2004.
- [98] B Grgic, W H Finlay, and A F Heenan. Regional aerosol deposition and flow measurements in an idealized mouth and throat. *Journal of Aerosol Science*, 35(1) :21–32, 2004.
- [99] M Grippi and M Morgenbesser. *Physiopathologie pulmonaire*. Arnette Blackwell, France, 1996.
- [100] M Gumbleton, A J Hollins, Y Omid, L Campbell, and G Taylor. Targeting caveolae for vesicular drug transport. *Journal of Controlled Release*, 87(1-3) :139–151, 2003.
- [101] E M Haacke, R W Brown, M R Thompson, and R Venkatesan. *Magnetic Resonance Imaging, Physical Principles And Sequence Design*, chapter A Closer Look at Radiofrequency Pulses, pages 381–419. Wiley-Liss, 1999.
- [102] D Habib. *Diffusion de l'hélium-3 hyperpolarisé dans le tissu pulmonaire : évaluation par différentes techniques IRM*. PhD thesis, Université Paris-Sud 11, 2007.
- [103] D Habib, D Grebenkov, and G Guillot. Gas diffusion in a pulmonary acinus model : experiments with hyperpolarized helium-3. *Magnetic Resonance Imaging*, 26(8) :1101–1113, 2008.
- [104] W Happer, E Miron, S Schaefer, D Schreiber, W A Vanwijngaarden, and X Zeng. Polarization of the nuclear spins of noble-gas atoms by spin exchange with optically pumped alkali-metal atoms. *Physical Review*, 29(6) :3092–3110, 1984.
- [105] L W Hedlund and G A Johnson. Mechanical ventilation for imaging the small animal lung. *Institute for Laboratory Animal Research*, 43(3) :159–174, 2002.
- [106] LW Hedlund, GP Cofer, SJ Owen, and G Allan Johnson. MR-compatible ventilator for small animals : computer-controlled ventilation for proton and noble gas imaging. *Magnetic Resonance Imaging*, 18(6) :753–759, 2000.
- [107] A F Heenan, E Matida, A Pollard, and W H Finlay. Experimental measurements and computational modeling of the flow field in an idealized human oropharynx. *Experiments in Fluids*, 35 :70–84, 2003.
- [108] W Heil, H Humblot, E W Otten, M Schafer, R Sarkau, and M Leduc. Very long nuclear-relaxation times of spin-polarized helium-3 in metal-coated cells. *Physics Letters A*, 201(4) :337–343, 1995.
- [109] K A Hill, J M Perez-Sanchez, X Maître, R Santarelli, M Sarracanie, M Friese, P Hagot, and L Darrasse. In vivo comparison of 2d and 3d t_2^* in the rat lung using hyperpolarized helium-3 mri at 1.5 t. In *Proceedings of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, number 2565. International Society for Magnetic Resonance in Medicine, 2010.

-
- [110] K A Hill, J M Perez-Sanchez, X Maître, R Santarelli, M Sarracanie, P Hagot, M Friese, and L Darrasse. Comparison of 2d and 3d t_2^* as a sensitive indicator of lung microstructure using hyperpolarised helium-3 mri. In *Proceedings of the UK Radiological Congress*, number 1000, page 3. British Institute of Radiology, 2010.
- [111] M Hindle and H Chrystyn. Determination of the relative bioavailability of salbutamol to the lung following inhalation. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 34(4) :311–315, 1992.
- [112] D Isabey, H K Chang, C Delpuech, A Harf, and C Hatzfeld. Dependence of central airway resistance on frequency and tidal volume : a model study. *Journal of Applied Physiology*, 61(1) :113–126, 1986.
- [113] S T Jarayaju, M Brouns, S Verbanck, and C Lacor. Fluid flow and particle deposition analysis in a realistic extrathoracic airway model using unstructured grids. *Journal of Aerosol Science*, 38(5) :497–508, 2007.
- [114] B Kastler and D Vetter. *Comprendre l'IRM - Manuel d'auto-apprentissage*. Elsevier Masson, 2006.
- [115] H U Kauczor. Helium-3 imaging of pulmonary ventilation. *The British Journal of Radiology*, 71 :701–703, 1998.
- [116] S S Kaushik, J Nouis, E Potts, Z Cleveland, W M Foster, and B Driehuys. Respiratory impedance in a mouse model of asthma using hyperpolarized ^3He mr imaging. In *Proceedings of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, number 2567. International Society for Magnetic Resonance in Medicine, 2010.
- [117] K J Kim, Z Borok, and E D Crandall. A useful in vitro model for transport studies of alveolar epithelial barrier. *Pharmaceutical Research*, 18(3) :253–255, 2001.
- [118] K J Kim and A B Malik. Protein transport across the lung epithelial barrier. *American Journal of Physiology*, 284(2) :L247–L259, 2003.
- [119] H Kitaoka, S Tamura, and R Takaki. A three-dimensional model of the human pulmonary acinus. *Journal of Applied Physiology*, 88(6) :2260–2268, 2000.
- [120] C Kleinstreuer, Z Zhang, and Z Li. Modeling airflow and particle transport/deposition in pulmonary airways. *Respiratory Physiology and Neurobiology*, 163(1-3) :128–138, 2008.
- [121] S Kobayashi, S Kondo, and K Juni. Critical factors on pulmonary absorption of peptides and proteins : diffusional barrier and metabolic barrier. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(6) :367–372, 1996.
- [122] A Kumar, D Welti, and R R Ernst. Nmr fourier zeugmatography. *Journal of Magnetic Resonance*, 18(1) :69–83, 1975.
- [123] A Kyriazis, R Perez de Alejo, I Rodriguez, L E Olsson, and J Ruiz-Cabello. A mri and polarized gases compatible respirator and gas administrator for the study of the small animal lung : Volume measurement and control. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 57(7) :1745–1749, 2010.

- [124] N R Labiris and M B Dolovich. Pulmonary drug delivery. part i : physiological factors affecting therapeutic effectiveness of aerosolized medicine. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 56(6) :588–599, 2003.
- [125] P C Lauterbur. Image formation by induced local interactions - examples employing nuclear magnetic-resonance. *Nature*, 242 :190–191, 1973.
- [126] J Lavalaye, J C Grutters, E M van de Garde, M M van Buul, J M van den Bosch, A D Windhorst, and F J Verzijbergen. Imaging of fibrogenesis in patients with idiopathic pulmonary fibrosis with cis-4-[(18)f]-fluoro-l : -proline pet. *Molecular Imaging Biology*, 11(2) :123–127, 2009.
- [127] K Lew. *Respiratory system*. Marshall Cavendish, USA, 2010.
- [128] Z Li and P S Conti. Radiopharmaceutical chemistry for positron emission tomography. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62(11) :1031–1051, 2010.
- [129] D R Lide. *Handbook of chemistry and physics, 85nd edition*. CRC press, 2004-2005.
- [130] J Linder and S I Rennard. *Bronchoalveolar Lavage*, page 179. ASCP Press, 1988.
- [131] B J Lipworth and D J Clark. Effects of airway caliber on lung delivery of nebulized salbutamol. *Thorax*, 52(12) :1036–1039, 1997.
- [132] T Liu, P Spincemaille, L de Rochefort, B Kressler, and Y Wang. Calculation of susceptibility through multiple orientation sampling (COSMOS) : a method for conditioning the inverse problem from measured magnetic field map to susceptibility source image in MRI. *Magnetic Resonance in Medicine*, 61(1) :196–204, 2009.
- [133] M Ljungberg, S-E Strand, and M A King. *Monte Carlo calculations in nuclear medicine : applications in diagnostic imaging*. Institute of physics pub., 1998 edition, 1998.
- [134] S Ljunggren. A simple graphical representation of fourier-based imaging methods. *Journal of Magnetic Resonance*, 54 :338–343, 1983.
- [135] C Lombry, D A Edwards, V Preat, and R Vanbever. Alveolar macrophages are a primary barrier to pulmonary absorption of macromolecules. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, 286(5) :L1002–L1008, 2004.
- [136] J R MacFall, H C Charles, R D Black, H Middleton, J C Swartz, B Saam, B Driehuys, C Erickson, W Happer, G D Cates, G A Johnson, and C E Ravin. Human lung air spaces : potential for MR imaging with hyperpolarized He-3. *Radiology*, 200(2) :553–8, 1996.
- [137] X Maître, J Sandeau, R Fodil, B Louis, M Sarracanie, R Santarelli, E Durand, L Darrasse, G Caillibotte, J Bittoun, and D Isabey. Hyperpolarised gas velocity mapping to capture flow jets in a phantom of human upper airways. In *ESMRMB*, Valencia, Spain, 2008.
- [138] P Mansfield and A A Maudsley. Planar spin imaging by nmr. *Journal of Magnetic Resonance*, 27(1) :101–119, 1977.

-
- [139] Andrew R. Martin, Richard B. Thompson, and Warren H. Finlay. MRI Measurement of Regional Lung Deposition in Mice Exposed Nose-Only to Nebulized Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 21(4) :335–342, 2008.
- [140] F J Martinez, S Safrin, D Weycker, K M Starko, W Z Bradford, T E King, K R Flaherty, D A Schwartz, P W Noble, G Raghu, and K K Brown. The clinical course of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Annals of Internal Medicine*, 142(12) :963–967, 2005.
- [141] T B Martonen. Mathematical model for the selective deposition of inhaled pharmaceuticals. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 82(12) :1191–1199, 1993.
- [142] E A Matida, W H DeHaan, W H Finlay, and C F Lange. Simulation of particle deposition in an idealized mouth with different small diameters inlets. *Aerosol Science and Technology*, 37 :924–932, 2003.
- [143] E A Matida, W H Finlay, C F Lange, and B Grgic. Improved numerical simulation of aerosol deposition in an idealized mouth-throat. *Journal of Aerosol Science*, 35(1) :1–19, 2004.
- [144] J R Mayo and M E Hayden. Hyperpolarized helium 3 diffusion imaging of the lung. *Radiology*, 222(1) :8–11, 2002.
- [145] S J McLachlan, M R Morris, M A Lucas, R A Fisco, M N Eakins, D R Fowler, R B Scheetz, and A Y Olukotun. Phase i clinical evaluation of a new iron oxide mr contrast agent. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 4(3) :301–307, 1994.
- [146] L J Meng, G Fu, E J Roy, B Suppe, and C T Chen. An ultrahigh resolution SPECT system for I-125 mouse brain imaging studies. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A : Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment*, 600(2) :498–505, 2009.
- [147] F R Menter. Two-equation eddy-viscosity turbulence models for engineering applications. *American Institute of Aeronautics and Astronautics Journal*, 32(8) :1598–1605, 1994.
- [148] K Mentore, D K Froh, E E de Lange, J R Brookeman, A O Paget-Brown, and T A Altes. Hyperpolarized hhe 3 mri of the lung in cystic fibrosis : assessment at baseline and after bronchodilator and airway clearance treatment. *Academic Radiology*, 12(11) :1423–1429, 2005.
- [149] G Meseguer, R Gurny, and P Buri. In vivo evaluation of dosage forms : application of gamma scintigraphy to non enteral routes of administration. *Journal of Drug Targeting*, 2(4) :269–288, 1994.
- [150] W Möller, W Barth, M Kohlhäüfl, K Häussinger, W Stahlhofen, and J Heyder. Human alveolar long-term clearance of ferromagnetic iron oxide microparticles in healthy and diseased subjects. *Experimental Lung Research*, 27(7) :547–568, 2001.

- [151] A E Morbach, KK Gast, J Schmiedeskamp, A Dahmen, A Herweling, C P Heussel, H U Kauczor, and W G Schreiber. Diffusion-weighted mri of the lung with hyperpolarized helium-3 : a study of reproducibility. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 21(6) :765–774, 2005.
- [152] S A Morsi and A J Alexander. An investigation of particle trajectories in two-phase flow systems. *Journal of Fluid Mechanics*, 55(2) :193–208, 1972.
- [153] P J Nacher and M Leduc. Optical pumping in ^3He with a laser. *Journal de Physique*, 46(12) :2057–2073, 1985.
- [154] N R Newbury, A S Barton, G D Cates, W Happer, and H Middleton. Gaseous ^3He magnetic dipolar spin relaxation. *Physics Letters A*, 48(6) :4411–4420, 1993.
- [155] S Newman, S Malik, P Hirst, G R Pitcairn, A Heide, J Pabst, A Dinkelaker, and W Fleischer. Lung deposition of salbutamol in healthy human subjects from lung deposition of salbutamol in healthy human subjects from the maghaler dry powder inhaler. *Respiratory Medicine*, 96(12) :1026–1032, 2002.
- [156] S P Newman. Can lung deposition data act as a surrogate for the clinical response to inhaled asthma drugs? *British Journal of Clinical Pharmacology*, 49 :529–537, 2000.
- [157] S P Newman, P Andersen, P Byron, R Dalby, and J Peart. *Respiratory Drug Delivery : Essential Theory and Practice*, chapter In vivo assessment of inhaled products, pages 97–133. RDD Online, 2009.
- [158] S P Newman, K P Steed, S J Reader, G Hooper, and B Zierenberg. Efficient delivery to the lungs of flunisolide aerosol from a new portable hand-held multidose nebulizer. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 85(9) :960–964, 1996.
- [159] L Vecellio None. Aérosolthérapie. *EMC-Médecine*, 2(1) :56–65, 2005.
- [160] J Nouis, M Fanarjian, L Hedlund, and B Driehuys. A constant-volume ventilator and gas recapture system for hyperpolarized gas mri of mouse and rat lungs. *Concepts in Magnetic Resonance Part B : Magnetic Resonance Engineering*, 39B(2) :78–88, 2011.
- [161] G Oberdorster, C Cox, and R Gelein. Intratracheal instillation versus intratracheal-inhalation of tracer particles for measuring lung clearance function. *Experimental Lung Research*, 23(1) :17–34, 1997.
- [162] F Ojima, T Ido, T Takahashi, M Ito, H Sasaki, M Yanai, T Aikawa, T Takishima, K Abiko, and K Amano. Preparation of a fine powder of 2-deoxy-2-[^{18}F]fluorodglucose suitable for inhalation to diagnose lung diseases by means of pet. *Annals of Nuclear Medicine*, 3 :143–147, 1989.
- [163] L E Olsson, A Smailjic, P O Onnervik, and P D Hockings. ^1H and hyperpolarized ^3He mr imaging of mouse with lps-induced inflammation. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 29(4) :977–981, 2009.

-
- [164] J S Patton. Mechanisms of macromolecule absorption by the lungs. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 19(1) :3–36, 1996.
- [165] J S Patton and P R Byron. Inhaling medicines : delivering drugs to the body through the lungs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 6 :67–74, 2007.
- [166] J S Patton, C S Fishburn, and J G Weers. The lungs as a portal of entry for systemic drug delivery. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 1(4) :338–44, 2004. Patton, John S Fishburn, C Simone Weers, Jeffrey G Review United States Proceedings of the American Thoracic Society Proc Am Thorac Soc. 2004;1(4) :338-44.
- [167] J S Patton, S Nagarajan, and A Clark. Pulmonary absorption and metabolism of peptides and proteins. *Respiratory Drug Delivery VI*, 1 :17–24, 1998.
- [168] G Peces-Barba, J Ruiz-Cabello, Y Cremillieux, I Rodriguez, D Dupuich, V Callot, M Ortega, M L Rubio Arbo, M Cortijo, and N Gonzalez-Mangado. Helium-3 mri diffusion coefficient : correlation to morphometry in a model of mild emphysema. *European Respiratory Journal*, 22 :14–19, 2003.
- [169] A D Perera, C Kapitza, L Nosek, R S Fishman, D A Shapiro, T Heise, and L Heine-mann. Absorption and metabolic effect of inhaled insulin : inpatient variability after inhalation via the aerodose insulin inhaler in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 25(12) :2276–2281, 2002.
- [170] J M Perez-Sanchez, R Perez de Alejo, I Rodriguez, M Cortijo, G Peces-Barba, and J Ruiz-Cabello. In vivo diffusion weighted 19fmri using sf6. *Magnetic Resonance in Medicine*, 54(2) :460–463, 2005.
- [171] P Phipps, I Gonda, D Bailey, P Borham, G Bautovitch, and S Anderson. Comparisons of planar and tomographic gamma scintigraphy to measure the penetration index of inhaled aerosols. *American Review of Respiratory Disease*, 139(6) :1516–1523, 1989.
- [172] J Pintaske, P Martirosian, H Graf, G Erb, K P Lodemann, C D Claussen, and F Schick. Relaxivity of gadopentetate dimeglumine (magnevist), gadobutrol (gadovist), and gadobenate dimeglumine (multihance) in human blood plasma at 0.2, 1.5, and 3 tesla. *Investigative Radiology*, 41(3) :213–221, 2006.
- [173] G Pitcairn, A Joyson, P Hirst, D Prior, and S Newman. *Respiratory Drug Delivery VIII*, chapter Lung penetration profiles : a new method for analyzing Lung penetration profiles : a new method for analyzing regional lung deposition data in scintigraphic studies, pages 549–552. Davis Horwood, 2002.
- [174] G Pitcairn, C Kalirai, A Joyson, S P Newman, and J S Fleming. *Respiratory Drug Delivery IX*, chapter Development of a standard method for quantifying regional lung deposition from SPECT and relating the data to airway anatomy, pages 621–624. Davis Healthcare International, 2004.
- [175] G Pitcairn and S P Newman. Tissue attenuation corrections in gamma scintigraphy. *Journal of Aerosol Medicine*, 10(3), 1997.

- [176] G K Prisk, K Yamada, A C Henderson, T J Arai, D L Levin, R B Buxton, and S R Hopkins. Pulmonary perfusion in the prone and supine postures in the normal human lung. *Journal of Applied Physiology*, 103(3) :883–894, 2007.
- [177] E M Purcell, H C Torrey, and R V Pound. Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid. *Physical Review*, 69 :37–38, 1946.
- [178] D E Raeside. Monte Carlo principles and applications. *Physics in Medicine and Biology*, 21(2) :181, 1976.
- [179] P Reimer, C Marx, E J Rummeny, M Müller, M Lentschig, T Balzer, K H Dietl, U Sulkowski, T Berns, K Shamsi, and P E Peters. Spio-enhanced 2d-tof mr angiography of the portal venous system results of an intraindividual comparison. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 7(6) :945–949, 1997.
- [180] J Ruiz-Cabello, J M Perez-Sanchez, R Perez de Alejo, I Rodriguez, N Gonzalez-Mangado, G Peces-Barba, and M Cortijo. Diffusionweighted 19 f-mri of lung periphery : Influence of pressure and air-sf6 composition on apparent diffusion coefficients. *Respiratory Physiology and Neurobiology*, 148(1-2) :43–56, 2005.
- [181] B Saam, W Happer, and H Middleton. Nuclear-relaxation of he-3 in the presence of o-2. *Physics Letters A*, 52(1) :862–865, 1995.
- [182] M Sakagami. Insulin disposition in the lung following oral inhalation in humans : a meta-analysis of its pharmacokinetics. *Clinical Pharmacokinetics*, 43(8) :539–552, 2004.
- [183] M Salerno, J R Brookeman, E E de Lange, and J P Mugler 3rd. Hyperpolarized 3he lung imaging at 0.5 and 1.5 tesla : A study of susceptibility-induced effects. *Magnetic Resonance in Medicine*, 53(1) :212–216, 2005.
- [184] J Sandeau. *Modélisation Physique et Résolution Numérique du Transport et du Dépôt des Particules d’Aérosols Médicaments dans les Voies Respiratoires Extrathoraciques Humaines*. PhD thesis, Université Paris Est, Paris, 2009.
- [185] J Sandeau, I Katz, R Fodil, B Louis, G Spirlea-Apiou, G Caillibotte, and D Isabey. CFD simulation of particle deposition in a reconstructed human oral extrathoracic airway for air and helium-oxygen mixtures. *Journal of Aerosol Science*, 41(3) :281–294, 2010.
- [186] S Sanjar and J Matthews. Treating systemic diseases via the lung. *Journal of Aerosol Medicine*, 14(Supp. 1) :S51–S58, 2001.
- [187] A P Sayani and Y W Chien. Systemic delivery of peptides and proteins across absorptive mucosae. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 13(1-2) :85–184, 1996.
- [188] L Schanker. Drug absorption from the lung. *Biochemical pharmacology*, 1978.
- [189] L D Scheerer, F D Colegrove, and G K Walters. Large 3he nuclear polarization. *Physical Review Letters*, 10(3) :108, 1963.

-
- [190] G Scheuch, W Bennet, L Borgström, A Clark, R Dalby, M B Dolovich, J Fleming, P Gehr, I Gonda, C O'Callaghan, G Taylor, and S Newman. Deposition, imaging and clearance : What remains to be done? *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, 23(Supplement 2) :39–57, 2010.
- [191] G Scheuch, M J Kohlhaeuffl, P Brand, and R Siekmeier. Clinical perspectives on pulmonary systemic and macromolecular delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(9-10) :996–1008, 2006.
- [192] B Schmekel, H Hedenström, and G Hedenstierna. Deposition of terbutaline in the large or small airways : a single-center pilot study of ventilation-perfusion distributions and airway tone. *Current Therapeutic Research*, 63(9) :536–548, 2002.
- [193] E E Schneeberger. Structural basis for some permeability properties of the air-blood barrier. *Federal Proceedings*, 37(11) :2471–2478, 1978.
- [194] W G Schreiber, N Weller, H U Kauczor, K Markstaller, B Eberle, J Hast, R Surkau, T Grossmann, G Hanisch, E W Otten, and M Thelen. Ultrafast mri of lung ventilation using hyperpolarized helium-3. *Rofo*, 172(2) :129–133, 2000.
- [195] J Schuster, R Rubsamen, P Lloyd, and J Lloyd. The aerx aerosol delivery system. *Pharmaceutical Research*, 14(3) :354–357, 1997.
- [196] S Serfati, L Darrasse, and S Kan. Double-bracelet resonator helmholtz probe for nmr experiments. *Review of Scientific Instruments*, 66(12) :5522–5526, 1995.
- [197] E M Shapiro, K Sharer, S Skrtic, and A P Koretsky. In vivo detection of single cells by mri. *Magnetic Resonance in Medicine*, 55(2) :242–249, 2006.
- [198] H Shi, C Kleinstreuer, and Z Zhang. Modeling of inertial particle transport and deposition in human nasal cavities with wall roughness. *Journal of Aerosol Science*, 38(4) :398–419, 2007.
- [199] S A Shoyele and A Slowey. Prospects of formulating proteins/peptides as aerosols for pulmonary drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 314(1) :1–8, 2006.
- [200] V L Silkstone, S A Corlett, and H Chrystyn. Determination of the relative bioavailability of salbutamol to the lung and systemic circulation following nebulization. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 54(2) :115–119, 2002.
- [201] V L Silkstone, H S Tomlinson, S A Corlett, and H Chrystyn. Relative bioavailability of salbutamol to the lung when administration is prolonged. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 50(3) :281–284, 2000.
- [202] M J Slaman and R A Aziz. Accurate transport-properties and 2nd virial-coefficients for helium based on a state-of-the-art interatomic potential. *International Journal of Thermophysics*, 12(5) :837–854, 1991.
- [203] N J Snell and D Ganderton. Assessing lung deposition of inhaled medications. Consensus statement from a workshop of the British Association for Lung Re-

- search, held at the Institute of Biology, London, U.K. on 17 April 1998. *Respiratory Medicine*, 93(2) :123–33, 1999. Snell, N J Ganderton, D Consensus Development Conference Review England Respiratory medicine *Respir Med*. 1999 Feb ;93(2) :123-33.
- [204] T Srichana, R Suedee, D Muanpanarai, and N Tanmanee. The study of in vitro-in vivo correlation : pharmacokinetics and pharmacodynamics of albuterol dry powder inhalers. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 94(1) :220–230, 2005.
- [205] K W Stapleton, E Guentsh, M K Hoskinson, and W H Finlay. On the suitability of k- turbulence modeling for aerosol deposition in the mouth and throat : a comparison with experiment. *Journal of Aerosol Science*, 31(6) :739–749, 2000.
- [206] H E Stokinger. A review of world literature finds iron oxides noncarcinogenic. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 45(2) :127–133, 1984.
- [207] G Tastevin, S Grot, E Courtade, S Bordais, and P J Nacher. A broad-band ytterbium-doped tunable fiber laser for 3he optical pumping at 1083 nm. *Applied Physics B*, 78(2) :145–156, 2004.
- [208] A C Thomas, E N Potts, B T Chen, D M Slipetz, W M Foster, and B Driehuys. A robust protocol for regional evaluation of methacholine challenge in mouse models of allergic asthma using hyperpolarized 3he mri. *NMR in Biomedicine*, 22(5) :502–515, 2009.
- [209] L Tossici-Bolt, J S Fleming, J H Conway, and T B Martonen. Analytical technique to recover the third dimension in planar imaging of inhaled aerosols : (1) impact on spatial quantification. *Journal of Aerosol Medicine*, 19(4) :565–579, 2006.
- [210] J A Victorino, J B Borges, V N Okamoto, G F J Matos, M R Tucci, M P R Carames, H Tanaka, F Suarez Sipmann, D C B Santos, C S V Barbas, C R R Carvalho, and M B Amato. Imbalances in regional lung ventilation : A validation study on electrical impedance tomography. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 169(7) :791–800, 2004.
- [211] A Vignaud. *Influence de l'intensité du champ magnétique sur l'imagerie RMN des poumons à l'aide d'hélium-3 hyperpolarisé*. PhD thesis, Université Paris-Sud 11, 2003.
- [212] G K Walters, F D Colegrove, and L D Schearer. Nuclear polarization of he3 gas by metastability exchange with optically pumped metastable he3 atoms. *Physical Review Letters*, 8(11) :439–442, 1962.
- [213] E R Weibel. *Morphometry of the human lung*. Academic Press, USA, 1963.
- [214] E R Weibel, B Sapoval, and M Filoche. Design of peripheral airways for efficient gas exchange. *Respiratory Physiology and Neurobiology*, 148(1-2) :3–21, 2005.
- [215] S White, D B Bennet an S Cheu, P W Conley, D B Guzek, S Gray, J Howard, R Malcolmson, J M Parker, P Roberts, N Sadrzadeh, J D Schumacher, S Seshadri,

- G W Slugget, C L Stevenson, and N J Harper. Exubera : pharmaceutical development of a novel product for pulmonary delivery of insulin. *Diabetes Technology and Therapeutics*, 7(6) :896–906, 2005.
- [216] D C Wilcox. *Turbulence modeling for CFD*. DCW Industries Inc., USA, 1998.
- [217] M Wolf. *Highest He-3 nuclear spin polarization production by metastable exchange pumping*. PhD thesis, Johannes Gutenberg-Universität, 2004.
- [218] Y Y Xie, P Y Zeng, R A Ziegel, T S Wiedmann, B E Hammer, and P W Longest. Magnetic deposition of aerosols composed of aggregated superparamagnetic nanoparticles. *Pharmaceutical Research*, 27(5) :855–865, 2010.
- [219] Q H Yang and S J Lai-Fook. Effect of lung inflation on regional lung expansion in supine and prone rabbits. *Journal of Applied Physiology*, 71(1) :76–82, 1991.
- [220] J Y Zhang, Y Wang, and C Prakash. Xenobiotic-metabolizing enzymes in human lung. *Current Drug Metabolism*, 7(8) :939–948, 2006.
- [221] Y Zhang, K Gilbertson, and W H Finlay. In Vivo in Vitro Comparison of Deposition in Three Mouth-Throat models with Qvar and Turbuhaler Inhalers, 2007.
- [222] Z Zhang, C Kleinstreuer C S Kim, and Y Cheng. Vaporizing microdroplet inhalation, transport, and deposition in a human upper airway model. *Aerosol Science and Technology*, 38(1) :36–49, 2004.
- [223] L Zhao, R Mulkern, C H Tseng, D Williamson, S Patz, R Kraft, R L Walsworth, F A Jolesz, and M S Albert. Gradient-echo imaging considerations for hyperpolarized ^{129}Xe mr. *Journal of Magnetic Resonance B*, 113(2) :179–183, 1996.
- [224] Y Zhou and YS Cheng. Particle deposition in a cast of human tracheobronchial airways. *Aerosol Science and Technology*, 39(6) :492–500, 2005.