



Imagerie spectroscopique et spectroscopie localisée par RMN du proton in vivo. Application à l'étude de la physiopathologie tumorale par cartographie des métabolites et du pH extracellulaire dans un modèle experimental de gliomes C6

Peggy Provent

► To cite this version:

Peggy Provent. Imagerie spectroscopique et spectroscopie localisée par RMN du proton in vivo. Application à l'étude de la physiopathologie tumorale par cartographie des métabolites et du pH extracellulaire dans un modèle experimental de gliomes C6. Biophysique [physics.bio-ph]. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2006. Français. NNT: . tel-00134012

HAL Id: tel-00134012

<https://theses.hal.science/tel-00134012>

Submitted on 28 Feb 2007

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 par

Peggy Provent

Pour obtenir le titre de

Docteur de l'Université Joseph Fourier - Grenoble 1

Spécialité Physique

Imagerie spectroscopique et spectroscopie
localisée par RMN du proton *in vivo*

Application à l'étude de la physiopathologie
tumorale par cartographie des métabolites et
du pH extracellulaire dans un modèle
expérimental de gliomes C6

Soutenue le 13 décembre 2006

Jury

Arend Heerschap	Rapporteur
Carles Arús	Rapporteur
Jonathan Coles	Directeur de thèse
Christoph Segebarth	Directeur de thèse
Jean-François Le Bas	Examineur
Vincent Lebon	Examineur

Thèse préparée au sein du laboratoire INSERM/UJF U594 Neuroimagerie Fonctionnelle et
métabolique, Grenoble

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier les membres du jury, en particulier **Arend Heerschap** et **Carles Arús** pour avoir rapporté mon travail. Je les remercie pour l'attention qu'ils ont portée à mon travail et les nombreux conseils qu'ils m'ont donné. Je remercie aussi **Jean-Francois Le bas** qui a présidé ce jury et **Vincent Le Bon** pour ces commentaires très intéressants.

Je voulais aussi remercier **Christoph Segebarth** et **Jonathan Coles**, mes directeurs de thèse. L'un comme l'autre m'ont beaucoup apporté tout au long de ma thèse, Jonathan par ses connaissances en biologie, mais aussi par son dynamisme, sa volonté d'aller toujours plus loin, Christoph par ses grandes compétences et connaissances dans le domaine de la RMN. Bien que la spectroscopie ne soit pas son domaine de prédilection, son intérêt pour mon travail et sa soif de compréhension m'ont aidé tout au long de ces années pour aller plus loin.

Je souhaite aussi remercier **Anne Ziegler**, qui bien qu'elle soit partie avant la fin, a été à l'origine de ce travail. C'est aussi elle qui m'a encadrée à mon arrivée dans le laboratoire et m'a donné goût à la spectroscopie *in vivo*.

Un grand merci à **Chantal Rémy**, qui nous a soutenus dans tous les moments difficiles, que ce soit par ses avis et commentaires scientifiques comme d'un point de vue personnel.

Merci aussi à Régine Farion, qui a beaucoup travaillé pour mes différents projets... et aussi à tous ceux avec qui j'ai partagé ces années, **Nils, Manu, Aktham, Sam, Bassem, Nathalie, Manue, Marie Claude** et tous les autres. Enfin un grand merci à **Vincente** et **Rolande** pour tout ce qu'elles font pour nous au quotidien, que ce soit par leur travail mais aussi par leur joie de vivre.

Et pour finir, merci à **Nicolas** de m'avoir supportée toutes ces années...

.

Table des matières

1	INTRODUCTION GENERALE	1-9
2	TECHNIQUES DE SPECTROSCOPIE <i>IN VIVO</i>	2-13
2.1	Spectroscopie localisée	2-13
2.1.1	La technique PRESS	2-13
2.1.2	Choix des temps d'écho utilisés.....	2-14
2.1.3	Choix des paramètres d'acquisition	2-15
2.2	Imagerie spectroscopique	2-16
2.2.1	Imagerie spectroscopique par encodage spiral.....	2-16
2.2.2	Séquence d'acquisition et paramètres	2-19
2.2.3	Reconstruction des images spectroscopiques.....	2-21
2.3	Particularités liées à l'emploi de temps d'écho courts	2-21
3	AMELIORATIONS LIEES AUX SEQUENCES D'ACQUISITION	3-23
3.1	Caractérisation des trajectoires spirales	3-23
3.1.1	Mesure de la trajectoire réelle	3-23
3.1.2	Matériels et méthodes.....	3-25
3.1.3	Résultats	3-25
3.2	Module de suppression d'eau	3-28
3.2.1	La technique CHESS.....	3-28
3.2.2	La technique VAPOR.....	3-28
3.2.3	Choix du module de suppression	3-29
3.3	Module de saturation du volume extérieur.....	3-32
4	MESURE DU DEBIT SANGUIN CEREBRAL DANS UN VOLUME D'INTERET.....	4-35
4.1	Mesure du débit dans un voxel : principe	4-35
4.2	Mise en place de la technique	4-37
4.3	Test de la technique.....	4-37
4.3.1	Matériel et méthodes	4-38
4.3.2	Résultats	4-38
5	PROCEDURE DE SHIM AUTOMATIQUE	5-41

5.1	Difficultés du shim manuel et intérêt d'une procédure de shim automatique...	5-41
5.2	Principe	5-42
5.3	Cartographie des inhomogénéités de champ	5-44
5.3.1	Séquence d'acquisition	5-44
5.3.2	Reconstruction de la phase	5-45
5.3.3	Pour un volume cubique : décomposition en harmoniques sphériques dans l'espace autour d'un point	5-46
5.3.4	Pour une tranche : décomposition en harmoniques sphériques dans un plan ...	5-48
5.4	Calibration des courants de shim	5-49
5.5	Calcul des valeurs de courant à appliquer.....	5-50
5.6	Cas d'un volume d'intérêt non centré sur le centre magnétique du système de gradient : effet d'un changement de repère	5-51
5.7	Résultats	5-52
5.8	Limitations	5-55
5.9	Possibilités d'amélioration du système.....	5-55
6	PREEMPHASES.....	6-57
6.1	Position du problème	6-57
6.2	Techniques de réglage des préemphases	6-58
6.2.1	Première méthode : réglage des préemphases à l'aide d'un gradiomètre	6-58
6.2.2	Seconde méthode : réglages des préemphases à l'aide du signal RMN	6-60
6.3	Résultats	6-62
6.4	Conclusion.....	6-64
7	MESURE DU PH EXTRACELLULAIRE DANS LES GLIOMES DE TYPE C6	7-65
7.1	Techniques de mesure du pH extracellulaire	7-65
7.1.1	Principe de la mesure de pH par RMN	7-66
7.1.2	IEPA et mesures de pHe par RMN ^1H	7-68
7.2	La molécule de ISUCA.....	7-69
7.2.1	Courbe de titration du proton H2 de la molécule de ISUCA	7-70
7.2.1.1	Matériels et méthodes.....	7-70
7.2.1.2	Résultats	7-71

7.2.2	Mesure des temps de relaxation T_1 et T_2 du proton H2 de l'ISUCA	7-72
7.2.3	Comparaison de l'ISUCA et du IEPA.....	7-72
7.3	Définition du protocole d'infusion.....	7-73
7.3.1	Etude de la pharmacocinétique et de la cytotoxicité de l'ISUCA	7-73
7.3.1.1	Cytotoxicité	7-73
7.3.1.2	Pharmacocinétique	7-73
7.3.2	Etude du protocole par spectroscopie monovoxel <i>in vivo</i>	7-76
7.3.2.1	Implantation des tumeurs C6.....	7-76
7.3.2.2	Préparation des animaux pour les expériences RMN.....	7-76
7.3.2.3	Spectroscopie monovoxel	7-76
7.3.2.4	Traitement des données	7-77
7.3.2.5	Résultats	7-77
7.3.3	Conclusion.....	7-77
7.4	Imagerie spectroscopique des métabolites et du pH extracellulaire.....	7-79
7.4.1	Protocole expérimental.....	7-79
7.4.2	Acquisitions et traitement des données	7-80
7.5	Résultats	7-81
7.5.1	Cartes des métabolites	7-83
7.5.2	Comparaison des données obtenues à des temps d'écho de 40 ms et 136 ms....	7-84
7.5.3	Cartes de pHe, influence de la concentration d'ISUCA sur la mesure de pHe	7-87
7.5.4	Lactate et pHe.....	7-88
7.5.5	Effet d'une infusion de glucose sur le pH extracellulaire et sur la concentration de lactate dans la tumeur	7-89
7.6	Discussion.....	7-92
8	EFFET DE L'AMMONIUM SUR LE METABOLISME CEREBRAL	8-95
8.1	Rôle de l'ammonium dans le métabolisme cérébral	8-95
8.2	Evolution des concentrations des principaux métabolites.....	8-95
8.2.1	Matériel et méthodes	8-96
8.2.1.1	Préparation des animaux	8-96
8.2.1.2	Protocole d'infusion	8-96
8.2.1.3	Spectroscopie localisée	8-96
8.2.1.4	Traitement des données	8-97
8.2.2	Evolution des concentrations des métabolites.....	8-100
8.2.3	Observations physiologiques.....	8-103
8.3	Concentration plasmatique d'ammonium	8-105
8.3.1	Matériels et méthodes.....	8-105

8.3.2	Résultats	8-105
8.4	Débit sanguin cérébral	8-106
8.4.1	Matériels et méthodes.....	8-106
8.4.2	Résultats	8-107
8.5	Comparaison des évolutions des concentrations d'ammonium plasmatique, de la quantité de lactate cérébral et du débit sanguin	8-108
8.6	Conclusion.....	8-108
9	CONCLUSION GENERALE	9-111
10	LISTE DES ABREVIATIONS.....	10-113
11	BIBLIOGRAPHIE	11-115
12	ANNEXES	12-125
12.1	Equipement.....	12-125
12.2	Programme de suivi des paramètres physiologiques	12-127
12.3	Programme de shim automatique.....	12-127

1 Introduction générale

La résonance magnétique nucléaire (RMN) est devenue une technique incontournable, que ce soit la spectroscopie haute résolution pour la caractérisation de composés chimiques ou de protéines, ou que ce soit l'imagerie médicale, de plus en plus utilisée pour la détection et la caractérisation d'états pathologiques. *In vivo*, la spectroscopie a d'abord été très utilisée pour la caractérisation métabolique de pathologies. Elle a ensuite été délaissée au profit des nombreuses techniques d'imagerie qui se sont développées et qui permettent d'exploiter différentes caractéristiques de l'eau pour observer différents paramètres (anatomie, perméabilité, diffusion,...).

Avec le développement d'antennes plus efficaces, une meilleure maîtrise des gradients, des champs plus élevés et autres avancées technologiques, la spectroscopie *in vivo* connaît actuellement un nouvel essor.

Aux champs classiquement utilisés en clinique (≤ 3 T), la spectroscopie permet principalement de distinguer le NAA, la choline, la créatine et, dans des cas pathologiques, le lactate. Avec l'utilisation de temps d'écho courts et de champs élevés, il est possible de quantifier jusqu'à 15 métabolites. L'utilisation de techniques d'édition permet de séparer des molécules dont la détection est impossible dans des spectres classiques, comme le glutamate, le GABA ou la taurine. L'imagerie spectroscopique, qui consiste à acquérir des spectres en chaque point de l'image, bien que très informative restait marginale en raison des durées longues d'acquisition. Elle profite désormais des développements des techniques d'imagerie rapide, et retrouve un attrait.

Bien que la spectroscopie d'une manière générale soit une technique maintenant très bien maîtrisée, sa mise en œuvre *in vivo* est difficile. Une première difficulté est liée à l'obtention d'un champ magnétique homogène. En effet, la qualité d'un spectre est directement liée à l'homogénéité du champ magnétique, les raies étant plus larges dans un champ magnétique dont l'homogénéité est imparfaite. Comme l'aire de chaque raie est proportionnelle à la quantité de protons, si la raie s'élargit, son intensité diminue et conduit donc à une baisse du rapport signal/bruit. De plus, un élargissement des raies peut aussi conduire à la superposition de raies dont les déplacements chimiques sont proches. En spectroscopie haute résolution, sur un échantillon, des largeurs de raie de l'ordre de 1 Hz peuvent être obtenues. *In vivo*, les largeurs de raie sont rarement inférieures à 15 ou 20 Hz pour un volume d'intérêt de 64 μ L. Les effets de susceptibilité magnétique aux interfaces entre les tissus est en grande partie la cause de cet élargissement. De plus, la taille du volume d'intérêt rend difficile une homogénéisation du champ magnétique. L'homogénéité du champ magnétique reste un élément crucial pour la spectroscopie.

Une autre difficulté de la spectroscopie est la présence abondante de l'eau. Alors que l'imagerie met à profit la présence de l'eau, en spectroscopie, cette importante résonance masque celles des autres molécules auxquelles la spectroscopie s'intéresse. Il est donc

nécessaire de s'affranchir de cette résonance pour pouvoir distinguer les résonances d'intérêt. La suppression du signal de l'eau en RMN *in vivo* est rendue difficile par la taille du volume dans lequel le signal de l'eau doit être supprimé. Les impulsions RF ne sont pas homogènes sur l'ensemble du volume, tous les protons ne subissent donc pas la même impulsion ; de plus leur fréquence de résonance peut varier dans le volume, en raison de variations du champ magnétique statique. Il est donc nécessaire d'utiliser des techniques plus perfectionnées qu'en RMN haute résolution pour obtenir une suppression du signal de l'eau dans l'ensemble du volume d'intérêt sans affecter les autres résonances.

La spectroscopie *in vivo* nécessite l'utilisation de techniques de localisation du signal. La première manière de localiser le signal utilisait une antenne de surface pour l'émission et la réception du champ radiofréquence. L'inhomogénéité du champ créé par ce type d'antenne empêche l'excitation des tissus éloignés de l'antenne. Le développement des techniques et des systèmes de gradient a permis d'améliorer la sélection du volume, par l'utilisation de techniques comme PRESS ou STEAM, qui permettent de sélectionner dans les trois directions de l'espace le volume d'intérêt. L'utilisation de ce type de techniques permet aussi une optimisation des paramètres de la séquence d'acquisition en fonction du métabolite d'intérêt. Par exemple, le temps d'écho peut être choisi de manière à privilégier la détection de métabolites tels que le lactate.

L'objectif de mon travail était d'améliorer les conditions d'acquisition pour la spectroscopie localisée et l'imagerie spectroscopique chez le petit animal pour la détection en particulier de deux molécules, le lactate, métabolite et l'ISUCA, molécule exogène qui permet une mesure du pH. L'ensemble des études ont été réalisées sur un aimant de 7T équipé d'une console SMIS. L'ISUCA est une molécule dont le déplacement chimique varie en fonction du pH, restant cantonnée dans l'espace extracellulaire, elle permet une mesure du pH extracellulaire.

Le second chapitre décrit les techniques utilisées, la séquence de localisation PRESS et l'imagerie spectroscopique par encodage spiral de l'espace k . Ce chapitre comporte une explication sur les choix de paramètres d'acquisition utilisés pour la détection des deux molécules ainsi que les difficultés qui en découlent.

Le troisième chapitre décrit les améliorations qui ont été apportées aux techniques d'acquisition. Les imperfections des systèmes de gradients conduisent à une différence entre la trajectoire désirée dans l'espace k et la trajectoire réellement décrite. Une mesure de la trajectoire réelle est alors nécessaire pour éviter une dégradation des images spectroscopiques. La suppression du signal de l'eau a aussi été améliorée, ainsi que la sélection du volume d'intérêt.

Le quatrième chapitre présente brièvement une technique de mesure des variations du débit sanguin cérébral par marquage des spins artériels dans un volume d'intérêt.

Le cinquième chapitre décrit la mise en place d'une technique de shim automatique basée sur les techniques FASTMAP et FLATNESS, qui permet un réglage de l'homogénéité du champ magnétique basée sur la mesure des inhomogénéités.

Le sixième chapitre est consacré au réglage du système de préemphases. Ce système permet de modifier les formes de gradients pour prendre en compte les effets de courants de Foucault.

En effet, lors de variations brusque du champ magnétique, occasionnées par les commutations de gradients, des courants sont induits dans l'ensemble des éléments présents dans le fourreau de gradients, qui eux-mêmes génèrent un champ opposé. La forme de gradient obtenue réellement au niveau de l'échantillon est déformée par rapport au gradient désiré. Pour résoudre ce problème, le système de préemphases permet de générer une commande de gradient déformée de manière à créer dans l'aimant un gradient conforme au gradient désiré.

Les deux derniers chapitres sont consacrés aux projets biologiques auxquelles les techniques développés ont été appliquées. Le premier projet porte sur la mesure du pH extracellulaire dans les tumeurs cérébrales. L'acidité du pHe dans les tumeurs joue un rôle important dans leur prolifération. Pour mieux comprendre les mécanismes qui conduisent à cette acidification, une molécule exogène a été utilisée pour mesurer le pHe. Cette molécule présente une résonance dont le déplacement chimique varie en fonction du pH. L'utilisation de l'imagerie spectroscopique par encodage spiral a permis de cartographier d'une part le pHe et d'autre part des métabolites, en particulier le lactate, et de comparer leurs distributions.

Le second projet biologique s'intéresse au rôle de l'ammonium dans le métabolisme cérébral et en particulier dans la glycolyse. L'ammonium est nécessaire à la formation du glutamate et de la glutamine ; d'un autre côté, en quantités excessives, il est toxique pour le cerveau puisqu'il est responsable des encéphalopathies consécutives aux hépatites. Cependant, la présence de sites de reconnaissance de l'ammonium sur différentes enzymes de la glycolyse laisse penser que l'ammonium puisse jouer un rôle dans la régulation de la glycolyse. L'évolution de la production de lactate suite à une hyperammoniémie sera étudiée.

2 Techniques de spectroscopie *in vivo*

Dans les applications biologiques qui seront décrites plus tard, deux techniques ont été appliquées, la spectroscopie localisée et l'imagerie spectroscopique. Les paramètres des séquences d'acquisition ont été optimisés pour la détection de deux molécules en particulier : le lactate, molécule endogène et l'ISUCA, molécule exogène utilisée pour la mesure du pH extracellulaire.

2.1 Spectroscopie localisée

Différents types de localisation existent, les plus utilisées en spectroscopie du proton sont les techniques PRESS et STEAM. La séquence STEAM conduit à une perte de signal d'un facteur 2, indépendamment des pertes liées aux temps de relaxation. Néanmoins, l'utilisation de cette technique est intéressante pour des utilisations à temps d'écho très courts, la configuration de la séquence permettant de diminuer les temps d'écho de manière plus importante que dans la séquence PRESS pour un même type d'impulsions. L'utilisation de temps d'écho très courts permet de compenser, dans une certaine mesure, la perte de signal intrinsèque à cette séquence.

Cependant, comme cela va être décrit dans le chapitre 6, des limitations techniques de notre équipement limitent la diminution du temps d'écho à 40 ms. Le choix s'est donc porté sur la séquence PRESS, de manière à obtenir un meilleur rapport signal sur bruit.

2.1.1 La technique PRESS

La technique de localisation PRESS (1) est basée sur l'utilisation d'impulsions sélectives spatialement. Ces impulsions sont des impulsions sélectives en fréquence appliquées simultanément avec un gradient de champ magnétique. La séquence PRESS utilise trois impulsions spatialement sélectives, dans trois directions orthogonales.

Une impulsion d'excitation suivie de deux impulsions de refocalisation permet de générer plusieurs échos (Figure 2-1). Seul l'écho à temps d'écho $TE = TE_1 + TE_2$ est généré par les trois impulsions. Cet écho contient donc l'aimantation provenant du volume défini par les trois impulsions.

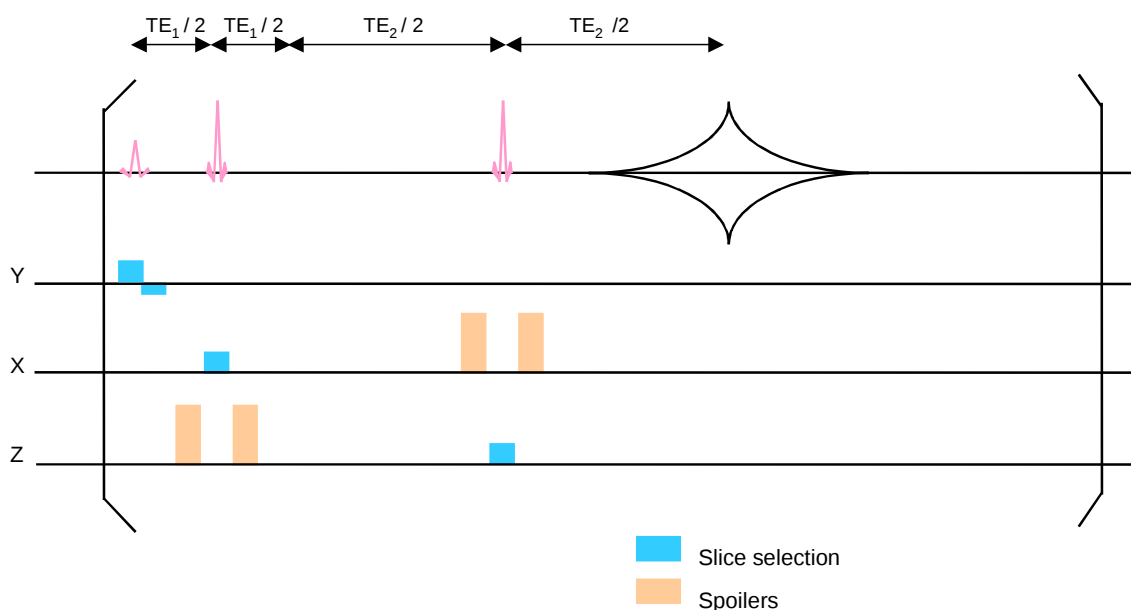


Figure 2-1. Séquence d'impulsions de type PRESS (Point RESolved Spectroscopy). La séquence est constituée d'une impulsion RF de 90° suivie de deux impulsions RF de 180° . Pendant chaque impulsion un gradient de sélection est appliqué. Des impulsions de gradients sont appliquées autour de chaque impulsion RF de 180° pour éliminer les cohérences non désirées

Des impulsions de gradients identiques sont ajoutées de part et d'autre des impulsions de refocalisation, de manière à s'affranchir des imperfections de l'impulsion de refocalisation. En effet, si cette impulsion n'est pas de 180° , des cohérences se créent qui perturbent le signal de l'écho. Des impulsions de gradient placées de part et d'autre de l'impulsion RF suppriment les cohérences indésirables.

2.1.2 Choix des temps d'écho utilisés

L'objectif de ce projet est d'appliquer les techniques de spectroscopie localisée et d'imagerie spectroscopique à deux projets biologiques. Les molécules d'intérêt dans ces projets sont le lactate et une molécule exogène, l'ISUCA. La molécule d'ISUCA a un temps de relaxation T_2 relativement court (80 ms). Pour obtenir le meilleur rapport signal sur bruit possible, le temps d'écho doit être le plus petit possible. Des limitations techniques de notre équipement ne permettent pas de diminuer le temps d'écho en dessous de 40 ms (voir chapitre 6). Ce temps d'écho sera choisi pour la mesure de la molécule d'ISUCA.

Le lactate peut être assimilé à un système de spins de type AX_3 . Le spin A résonne à 4.09 ppm sous la forme d'un quadruplet. La forme complexe de la raie et sa proximité avec la résonance de l'eau ne permettront pas de le détecter. Les spins X résonnent à 1.3 ppm sous la forme d'un doublet avec une constante de couplage J de 7.3 Hz (2). La détection du lactate à un temps d'écho de 40 ms est difficile car la forme du doublet n'est pas simple à ce temps d'écho. De plus, dans le cas de tumeurs, une raie de lipides peut apparaître à 1.2 ppm et rendre la détection du lactate difficile. Le temps d'écho choisi pour la détection du lactate est de

136 ms, qui présente plusieurs avantages pour la détection du lactate. Il correspond à une inversion parfaite du doublet du lactate ($TE=1/J$). Cela permet d'une part de faciliter sa quantification et d'autre part de le séparer plus facilement de la résonance des lipides. En effet, le doublet du lactate apparaît inversé alors que la raie des lipides, non couplés reste positive. De plus, les lipides ayant un temps de relaxation T_2 assez court (3), leur résonance est diminuée à ce temps d'écho.

Deux types d'acquisitions seront donc réalisés. Le temps d'écho de 40ms sera utilisé pour la détection de l'ISUCA et le temps d'écho de 136ms pour le lactate.

2.1.3 Choix des paramètres d'acquisition

Paramètres généraux du module PRESS

Les impulsions RF du module PRESS sont des impulsions de type sinus cardinal de 5 lobes, d'une durée de 0.9 ms et de bande passante de 6 kHz. La bande passante est choisie large, de manière à diminuer les artefacts liés aux déplacements chimiques. En effet, la position du voxel sélectionné est différente pour les différentes fréquences. Plus la bande passante de l'impulsion sera grande, plus les positions se rapprocheront. Cependant, plus la bande passante est large, plus la durée de l'impulsion sera courte, et donc plus la puissance RF nécessaire sera élevée. L'augmentation de la bande passante de l'impulsion est donc limitée par la puissance RF maximale qui peut être générée.

Acquisitions à temps d'écho de 136ms

Le premier temps d'écho est choisi le plus court possible pour que le second temps d'écho soit long et permette d'acquérir l'écho complet. L'acquisition de l'écho complet permet d'augmenter la quantité de signal à chaque acquisition. Les deux temps d'écho (TE_1 et TE_2) sont donc de 12 et 124 ms. La bande passante de l'acquisition est de 10 kHz, la fenêtre d'acquisition est centrée sur le sommet de l'écho, 1024 points sont acquis.

Le temps de répétition est de 3 secondes, la séquence est répétée trois fois avant de commencer l'acquisition de manière à atteindre un état d'équilibre. Un cyclage de phase de type EXORCYCLE (4) est réalisé.

Acquisitions à temps d'écho court

A temps d'écho court, il n'est pas possible d'acquérir l'écho complet. 4096 points sont acquis avec la même bande passante de 10 kHz. La fenêtre d'acquisition est ouverte le plus tôt possible, soit 3.1 ms avant le sommet de l'écho. Le temps de répétition est de 3.3 secondes. Un cyclage de phase EXORCYCLE (4) est aussi réalisé.

2.2 Imagerie spectroscopique

L'imagerie spectroscopique combine les techniques d'imagerie et de spectroscopie de manière à obtenir des spectres localisés en chaque point de l'image. Ceci permet ainsi d'obtenir des cartes de la répartition des différents métabolites observables *in vivo*. Cette technique nécessite l'acquisition de l'évolution du signal RMN dans le temps, dans chaque point de l'espace k .

La technique classique d'imagerie spectroscopique utilise l'encodage de phase dans deux directions orthogonales de l'espace (5). Dans ce cas, pour un champ de vue donné, la résolution spatiale désirée détermine directement le temps d'acquisition nécessaire. La durée des acquisitions est le facteur limitant dans ce type d'acquisitions.

Pour réduire le temps d'acquisition, de nombreuses techniques ont été développées. Certaines utilisent l'encodage classique mais en sous-échantillonnant l'espace k (6-8). D'autres effectuent un encodage simultané des informations spectrales et spatiales, par l'utilisation de gradients de lecture variables. Différentes techniques basées sur un encodage de type écho-planar ont été développées (9-11). D'autres techniques utilisent un balayage spiral de l'espace k (12,13).

Une innovation, développé par Bassem Hiba pendant sa thèse dans le laboratoire (13,14), est le balayage de l'espace k par des gradients de lecture de forme spirale montante et descendante. Ce type de balayage présente l'avantage de poursuivre l'acquisition de données pendant le retour vers le centre de l'espace k .

2.2.1 Imagerie spectroscopique par encodage spiral

La technique utilise une séquence de type PRESS pour sélectionner le volume d'intérêt, suivi d'une série de modules de gradients spiraux croissants et décroissants (Figure 2-2). Durant chaque phase croissante, l'espace k est balayé du centre vers la périphérie selon une trajectoire spirale, puis la phase descendante permet de revenir au centre de l'espace k .

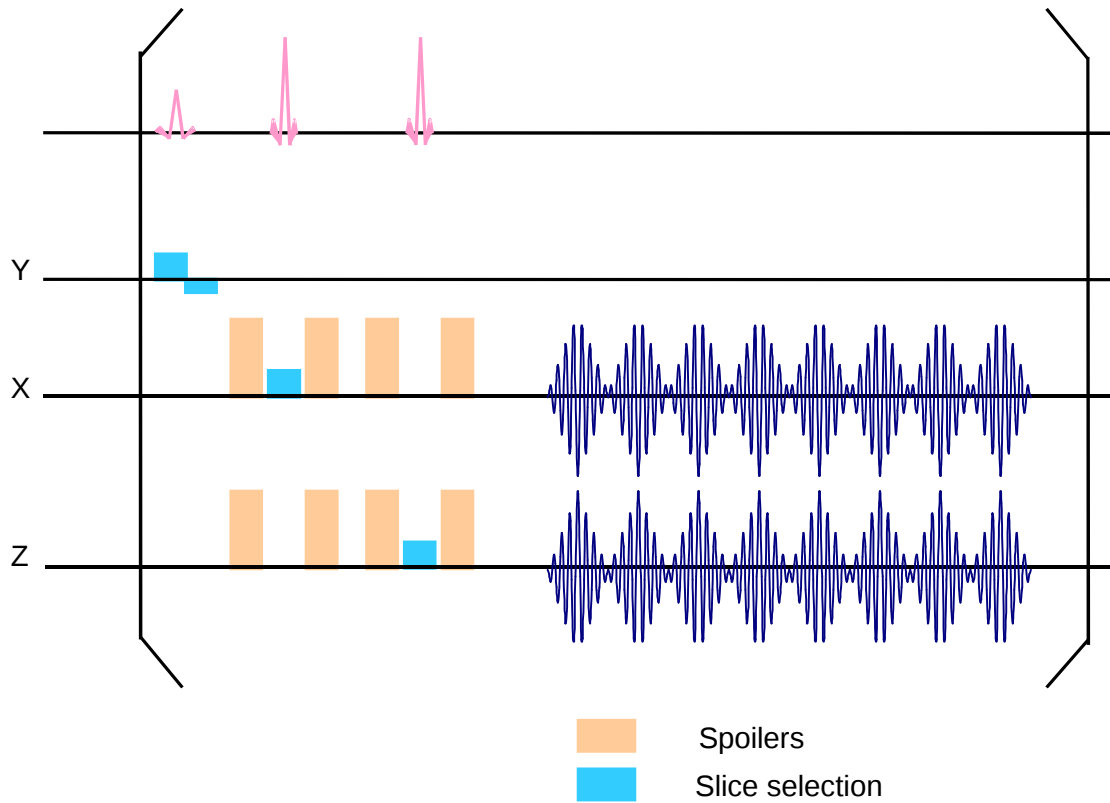


Figure 2-2. Séquence utilisée pour l'imagerie spectroscopique par encodage spiral : un module de sélection de type PRESS est suivi de gradients de lecture variables de forme spirale croissante et décroissante

Les gradients d'encodage spiral sont choisis pour balayer l'espace k à vitesse angulaire constante. La trajectoire peut être décrite dans l'espace k par :

$$\vec{k}(t) = k_x(t) + ik_y(t) = i\alpha t e^{-i\beta t}$$

Les variations temporelles des gradients peuvent donc être calculées en dérivant les équations des trajectoires dans l'espace k :

$$G_x(t) = \frac{2\pi}{\gamma} \frac{\partial k_x(t)}{\partial t} = \frac{2\pi}{\gamma} (\alpha \cos(\beta t) - \alpha \beta t \sin(\beta t))$$

$$G_y(t) = \frac{2\pi}{\gamma} \frac{\partial k_y(t)}{\partial t} = \frac{2\pi}{\gamma} (\alpha \sin(\beta t) + \alpha \beta t \cos(\beta t))$$

Pendant chaque module de gradients spiraux, l'ensemble de l'espace k peut être ainsi couvert. La répétition des modules spiraux permet d'acquérir plusieurs points temporels.

En théorie, il serait donc possible d'acquérir l'ensemble des données temporelles et spatiales dans une seule et même acquisition. Cependant, en pratique, les contraintes sur les gradients (limitation des temps de montée) rendent les modules spiraux trop longs par rapport à la résolution temporelle nécessaire pour couvrir la bande spectrale utile (10 ppm). Il est alors nécessaire de réaliser plusieurs acquisitions pour couvrir l'ensemble de l'espace k pour l'ensemble des points temporels. Pour cela, des entrelacements des trajectoires vont être

réalisés. Deux types d'entrelacements peuvent être distingués : les entrelacements temporels et les entrelacements spatiaux.

Entrelacements temporels

Les entrelacements temporels permettent d'augmenter la bande spectrale en réalisant plusieurs acquisitions en décalant le début d'application des gradients spiraux d'un temps Δt à chaque acquisition. Cela permet d'acquérir tous les points temporels désirés. La bande passante spectrale est alors $1/\Delta t$.

Le nombre d'entrelacements temporels N_t est calculé en fonction de la résolution temporelle choisie Δt et de la durée T de chaque module spiral :

$$N_t = T / \Delta t$$

Entrelacements spatiaux

Cette technique permet de réduire la durée de chaque module spiral en morcelant la trajectoire et en couvrant l'ensemble de l'espace k en plusieurs acquisitions.

Une spirale de N_{rot} tours peut être remplacée par N_k spirales de N_{rot}/N_k tours. Une rotation de la spirale est effectuée entre chacun des N_k entrelacements. (Figure 2-3)

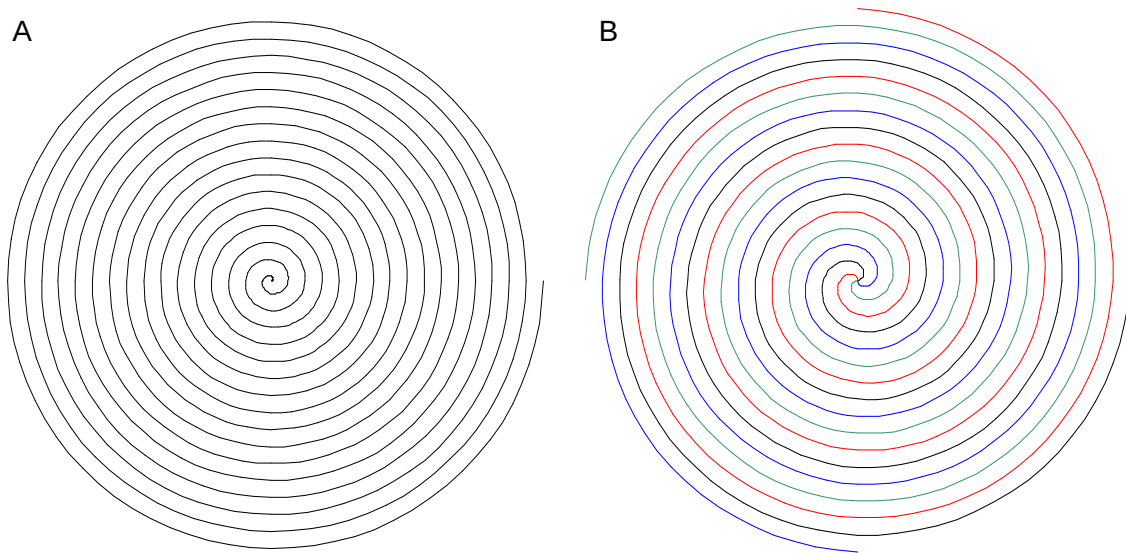


Figure 2-3. Exemple d'entrelacement spatial des trajectoires dans l'espace k . A) Trajectoire spirale sans entrelacements de 16 tours, B) Trajectoire correspondante obtenue par $N_k=4$ entrelacements spatiaux

Les N_k spirales peuvent être décrites par :

$$\vec{k} = i\alpha t e^{-i(\beta t + 2\pi s / N_k)} \quad s = 0 \dots N_k - 1$$

2.2.2 Séquence d'acquisition et paramètres

La séquence d'acquisition se compose d'un module de sélection de volume PRESS, suivi de l'application des gradients d'encodage spiral. Les impulsions de la séquence PRESS sont identiques à celles décrites pour la spectroscopie localisée. Le volume sélectionné est de 3 mm dans la direction de sélection de tranche (Y) et de 15mm dans les deux autres directions. Deux types d'images seront acquises, comme pour la spectroscopie localisée, à temps d'écho de 136 ms et de 40 ms, respectivement.

Choix des paramètres d'acquisition

Le choix des paramètres d'acquisition en imagerie spectroscopique est fait en fonction des résolutions et des bandes passantes désirées dans les dimensions spatiales et spectrales ainsi que des caractéristiques des gradients (temps de montée minimal)

Dans les deux types d'images, la résolution spatiale désirée Δr est de 1mm dans le plan de l'image, avec un champ de vue de 30x30 mm².

Le champ de vue (FOV) et la résolution spatiale sont liées par le nombre de tours de la trajectoire spirale par :

$$FOV = 2N_{rot}\Delta r$$

Cela impose donc un nombre de tour N_{rot} au minimum de 15 pour effectuer une trajectoire complète. Le nombre de tours choisi sera de 16, de manière à pouvoir séparer cette trajectoire en 2 ou 4 entrelacements spatiaux.

La bande passante minimale dans le domaine spectrale est de 3000 Hz (10 ppm), de manière à couvrir toute la gamme spectrale présentant des résonances *in vivo*. Le nombre d'entrelacements temporels sera donc choisi de manière à ce que le décalage temporel entre chaque acquisition soit de $\Delta t = 333 \mu s$ au maximum.

Acquisitions à temps d'écho de 136 ms

Les temps d'écho TE1 et TE2 sont choisis de la même manière que pour la spectroscopie localisée (12 et 124 ms). La durée de la fenêtre d'acquisition choisie est de 81.92 ms, centrée sur le sommet de l'écho. Les gradients d'encodages sont formés de 8 modules d'une durée de 10.24ms, composés de spirales montantes et descendantes de 8 tours chacune. Deux entrelacements spatiaux sont réalisés pour couvrir l'ensemble de l'espace k . Trent-deux entrelacements temporels sont réalisés pour couvrir une largeur spectrale de 3125Hz.

Le temps de répétition est de 3s, ce qui conduit à une durée d'acquisition de 3min 12s pour acquérir l'ensemble des données temporelles et spatiales. Quatre accumulations sont réalisées pour obtenir un rapport signal/bruit suffisant.

Acquisitions à temps d'écho court

A ce temps d'écho, l'écho complet ne peut pas être acquis. La fenêtre d'acquisition sera ouverte le plus tôt possible comme pour la spectroscopie localisée. Cependant, dans le cas de l'imagerie spectroscopique par encodage spiral, les premiers points temporels ne donnent qu'un échantillonnage partiel de l'espace k . Les points acquis pendant une durée égale à la durée d'un module spiral seront exclus lors du traitement. Le temps entre le début de l'acquisition et le sommet de l'écho est de 3ms. La durée d'un module spiral utilisé pour les acquisitions à $TE=136ms$ est de 10.24ms. Après traitement, l'écho ne serait alors échantillonné que 7ms après son sommet. Pour réduire les pertes de signal occasionnées, des modules spiraux d'une durée plus courte sont utilisés. Les modules choisis sont composés de spirales montantes et descendantes de 4 tours chacune et d'une durée de 5.12ms. Ils permettent de limiter la perte de signal mais pas d'échantillonner le sommet de l'écho.

Pour couvrir l'ensemble de l'espace k , 4 entrelacements spatiaux sont réalisés, une largeur spectrale de 6250Hz est couverte en 32 entrelacements temporels.

La durée d'une acquisition est de 6min 24s et 4 accumulations sont réalisées.

Les paramètres des acquisitions sont résumés dans le Tableau 2-1.

	TE = 136ms	TE = 40ms
Paramètres de l'image spectroscopique		
Bande passante spectrale	3125 Hz	6250 Hz
FOV	32 mm x 32 mm	32 mm x 32 mm
Résolution spatiale	1 mm	1 mm
Paramètres des modules spiraux		
Nombre de tours N_{rot}	8	4
Nombre de spirales N_{spiral}	8	8
Entrelacements temporels N_t	32	32
Entrelacements spatiaux N_k	2	4
Durée d'un module spiral	10.24 ms	5.12 ms
Paramètres de la séquence		
Temps de répétition	3s	3s
Nombre d'accumulations NA	4	4
Durée d'acquisition pour l'eau (NA=1)	3 min 18 s	6 min 30 s
Durée d'acquisition	12 min 54 s	25 min 42 s

Tableau 2-1 Paramètres d'acquisition choisis pour l'acquisition des images spectroscopiques selon le temps d'écho

2.2.3 Reconstruction des images spectroscopiques

Le programme utilisé pour la reconstruction des images spectroscopique a été développé au laboratoire par Bassem Hiba. Les détails des algorithmes utilisés pourront être trouvés dans le manuscrit de sa thèse (14).

Pendant chaque acquisition, une partie de l'espace k et une partie du domaine temporel sont acquises. L'ensemble des points acquis est réparti dans l'espace (k_x, k_z, t) .

La première étape du traitement consiste à ramener les données à des plans de l'espace k repartis régulièrement dans la dimension temporelle. Pour cela, les données sont tout d'abord triées dans des intervalles de temps Δt . On obtient $((N_{\text{spiral}}+1)N_t-1)$ intervalles de temps. Dans chacun de ces plans, se trouvent les données acquises aux temps t_i , avec

$$i\Delta t \leq t_i < (i+1)\Delta t \quad i = 0 \dots (N_{\text{spiral}} + 1)N_t - 2$$

Une correction de phase de premier ordre est ensuite appliquée dans le domaine spectral afin de ramener chaque point (k_x, k_z, t_i) dans le plan $(k_x, k_z, i\Delta t)$.

Les N_t premiers et N_t-1 derniers plans temporels ne contiennent pas l'ensemble des points de l'espace k , ces plans seront donc exclus. Il reste alors $(N_{\text{spiral}}-1)N_t$ plans (k_x, k_z) repartis dans le domaine temporel.

Chacun de ces plans contient des points repartis sur la trajectoire spirale. Un algorithme de gridding est alors appliqué pour ramener ces points sur une grille cartésienne.

Les données peuvent ensuite être traitées de la même manière que pour une image spectroscopique classique : un filtre de type Gaussien et un zéro-filling sont appliqués dans la direction temporelle avant une transformée de Fourier. Dans les deux directions spatiales, un filtre de Hanning et un zéro-filling sont appliqués et suivis d'une transformée de Fourier inverse à deux dimensions.

2.3 Particularités liées à l'emploi de temps d'écho courts

L'utilisation de temps d'écho courts présente plusieurs avantages : d'une part, les spins ayant des T_2 courts peuvent être détectés, d'autre part, l'intensité de l'ensemble des signaux est améliorée puisque la relaxation a eu lieu pendant un temps plus court. Si le temps d'écho est court, l'intensité des raies est peu modulée par le T_2 du spin, les modulations d'intensité de chaque raie dues à la relaxation peuvent être négligées. Les spins couplés sont aussi plus faciles à quantifier, puisque à des temps d'écho très courts, le couplage J n'a pas eu le temps d'avoir un effet significatif, les formes de raies peuvent donc être alors assimilées à des singulets. Il est donc très intéressant, en théorie, de travailler à des temps d'écho courts. Cependant, l'utilisation des temps d'écho courts présente aussi certaines difficultés.

Il est plus difficile de s'affranchir du signal de l'eau à des temps d'écho courts qu'aux temps d'écho longs, les protons des molécules d'eau présentant un T_2 relativement court. Il sera donc important d'optimiser la suppression du signal de l'eau. D'autre part, les lipides, peu présents dans le tissu cérébral sain, sont par contre présents dans les zones proches de l'os crânien. En principe, ces espaces ne sont pas contenus dans les volumes d'intérêt mais des défauts de

sélection du volume d'intérêt peuvent rapidement conduire à des artefacts de repliement. Pour éviter ce type de problème, des modules de saturation du volume extérieur sont appliqués avant la séquence PRESS pour éviter ce type de problèmes.

Lorsque le temps d'écho est court, l'acquisition doit commencer très rapidement après la fin d'application des derniers gradients. Par conséquent, pendant l'acquisition du signal, il peut rester des gradients de champ résiduels dus aux courants de Foucault qui vont déformer le spectre. Pour diminuer ces effets, des systèmes de "préemphases" sont présents sur les équipements IRM. Ces systèmes permettent de déformer la commande du gradient, de manière à ce que le gradient généré dans l'aimant ait la forme désirée. Le réglage de ce système de "préemphases" sera réalisé, il est décrit dans le chapitre 6.

Un problème récurrent en RMN *in vivo*, qui n'est pas toutefois spécifique aux temps d'écho courts, est le problème de l'homogénéité du champ magnétique. Les interfaces entre air et tissus, et entre différents tissus sont le siège d'artefacts liés aux différences de susceptibilité magnétique. Les inhomogénéités du champ magnétique provoquent en spectroscopie, un élargissement des raies observées. L'aire des raies étant proportionnelle à la quantité de proton, un élargissement des raies provoque une baisse de l'intensité des raies et donc une baisse de rapport signal/bruit. D'autre part, plus les raies sont larges, plus les raies voisines auront tendance à se superposer, comme par exemple les raies du lactate et des lipides. Des courants appliqués dans une série de bobines de shim permettent générer un champ magnétique statique pour corriger, en partie, ces effets. Il est fastidieux régler manuellement ces courants. Un système de réglage automatique de ces courants sera mis au point (voir chapitre 5).

3 Améliorations liées aux séquences d'acquisition

3.1 *Caractérisation des trajectoires spirales*

De nombreuses causes peuvent conduire à des différences entre les trajectoires programmées et les trajectoires effectivement réalisées dans l'espace k . Une première cause peut résider dans la réponse des systèmes de gradients, en termes de temps de montée effectifs. Une autre cause réside dans les courants de Foucault induits dans l'aimant, tant par la séquence précédant les spirales que par les spirales elles-mêmes. Les conséquences de ces phénomènes peuvent se manifester de différentes manières. La première, visible en imagerie est une rotation de l'image, due à une différence entre le début effectif de la spirale et le début théorique. On peut aussi observer une déformation globale de l'image. En spectroscopie, ces effets se manifestent aussi par des déformations des spectres.

Les déformations de la trajectoire spirale sont difficiles à prévoir et à corriger. Il est donc plus fiable de caractériser la trajectoire effectivement réalisée plutôt que de chercher à optimiser la trajectoire. La trajectoire réelle sera alors utilisée avant de rééchantillonner l'espace k sur une grille cartésienne.

3.1.1 Mesure de la trajectoire réelle

Différentes techniques ont été proposées pour mesurer la trajectoire réelle (15-18). La technique choisie (14,15,18) utilise le codage de phase du signal mesuré en présence des gradients de lecture spiraux, de manière à reconstituer la trajectoire dans l'espace k par transformée de Fourier (Figure 3-1).

Pour que la trajectoire mesurée soit le plus proche possible de la trajectoire réelle réalisée *in vivo*, la séquence comporte en plus du module PRESS, l'ensemble des gradients de la séquence de mesure, ceux-ci pouvant également contribuer aux courants de Foucault. Pour cela, les gradients des modules OVS et VAPOR sont maintenus, seules les impulsions RF sont retirées de la séquence.

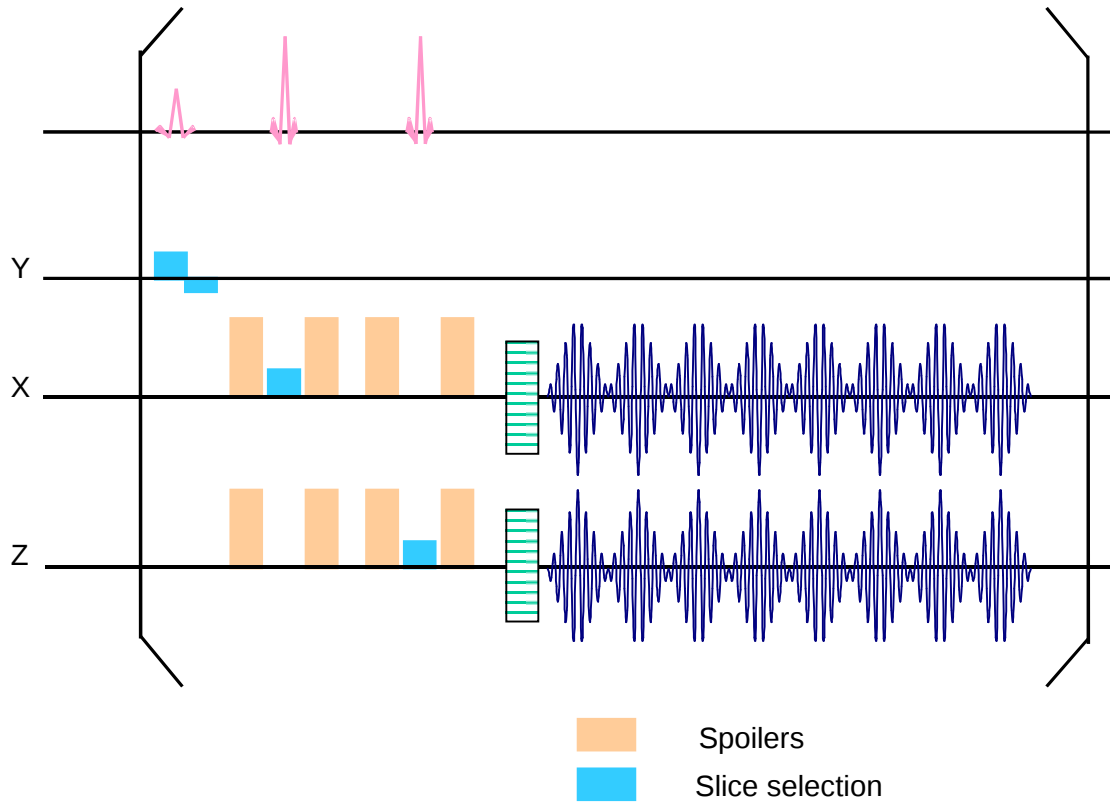


Figure 3-1. Séquence utilisée pour la calibration des trajectoires spirales : la séquence est identique à la séquence d'acquisition, des gradients d'encodage de phase sont placés avant les modules spiraux

Le signal acquis par cette séquence peut s'écrire sous la forme

$$S(k_p, t) = \int \rho(x, t) e^{-i(\xi(x, t) + (k(t) + k_p)x)} dx$$

- où
- k_p est la position de l'espace k déterminée par le gradient d'encodage de phase
 - $S(k_p, t)$ est le signal RMN acquis en fonction du temps et de l'encodage dans l'espace k
 - $k(t)$ est la trajectoire dans l'espace k , en fonction du temps, réalisée par l'application des gradients de lecture spiraux
 - $\xi(x, t)$ est le terme de phase décrivant l'ensemble des perturbations du signal (induite par les courants de Foucault, inhomogénéités)
 - $\rho(x, t)$ est la densité de l'aimantation

Par transformée de Fourier dans la direction de l'encodage de phase k_p , on obtient :

$$I(x, t) = FT[S(k_p, t)] = \rho(x, t) e^{-i(\xi(x, t) + k(t)x)}$$

Le terme $\xi(x, t)$ peut être décomposé en une partie $\phi(x, t)$ caractérisant les inhomogénéités locales et qui ne dépend pas du gradient de lecture, et en une partie $\psi(x, t)$ qui dépend du gradient de lecture (gradients induits par les courants de Foucault lors de la commutation de gradients).

Si la polarité du gradient de lecture est inversée, les termes indépendants de celui-ci ($\rho(x,t)$ et $\phi(x,t)$) restent constants alors que les termes dépendants du gradient de lecture sont inversés. Seule la phase de I sera donc affectée.

La différence $\Delta\theta(x,t)$ entre les phases de I obtenues suivant l'acquisition avec un gradient de lecture positif et un gradient de lecture négatif, respectivement, dépend uniquement du gradient de lecture.

$$\Delta\theta(x,t) = 2 (\psi(x,t) + k(t)x)$$

La trajectoire dans l'espace k peut alors être extraite de cette expression par ajustement par moindres carrés de la dépendance spatiale de ce terme.

3.1.2 Matériels et méthodes

La mesure des trajectoires spirales est réalisée sur un échantillon d'eau, dans la configuration utilisée pour les expériences *in vivo*. La « configuration » comprend les systèmes d'antenne et de support de l'animal, qui peuvent contribuer chacun aux courants de Foucault, ainsi que les réglages de préemphases. De manière idéale, la mesure devrait être réalisée individuellement pour chaque animal, cependant, la durée d'acquisition de ce type de mesure ne le permet pas.

L'échantillon utilisé est une balle de ping-pong remplie d'un gel d'agarose (3%), dopé au Gd-DOTA (0.02 mM), de manière à reproduire approximativement les T_1 observés *in vivo*.

La séquence utilisée est la séquence appliquée lors des expériences *in vivo*, avec en plus un gradient d'encodage de phase avant le module spirale. De manière à reproduire le plus fidèlement possible les effets observés *in vivo* pour la spectroscopie, les modules de suppression d'eau et de saturation du volume extérieur sont conservés. Les impulsions RF du module de suppression d'eau sont supprimées, mais les gradients de déphasage sont conservés. Trente-deux pas de codage sont réalisés dans chacune des deux directions de codage. Des acquisitions sont réalisées avec les gradients positifs et négatifs.

3.1.3 Résultats

La Figure 3-2 montre les trajectoires théoriques et mesurées dans les deux cas d'encodage utilisés. Les huit modules spiraux consécutifs se superposent dans cette représentation. Pour plus de clarté, la Figure 3-3 montre le détail de la trajectoire composée de spirales de 4 tours, avec quatre entrelacements temporels.

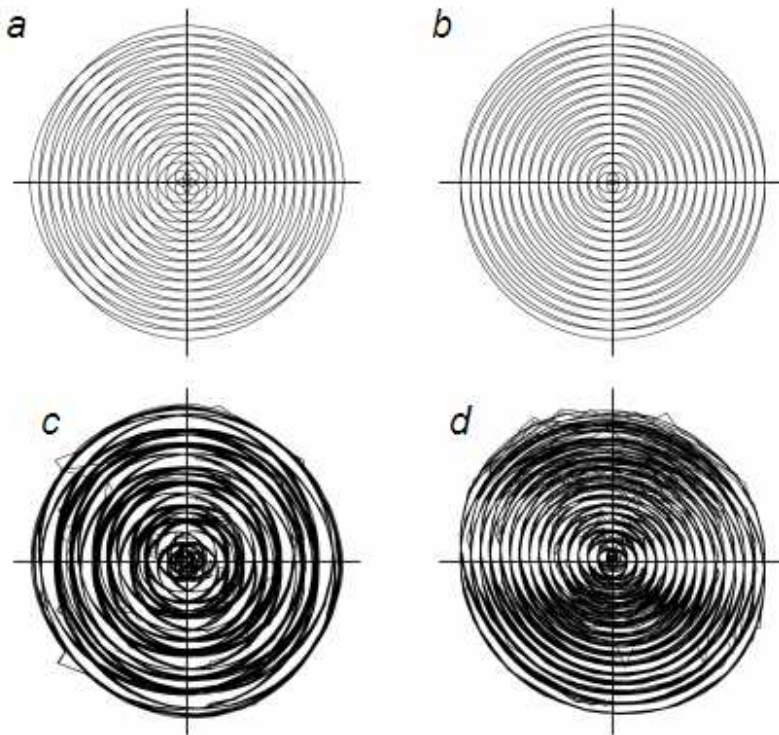


Figure 3-2. Comparaison des trajectoires théoriques et trajectoires réelles pour les deux types de trajectoires utilisées: trajectoire 4 tours, 4 entrelacements spatiaux, a) théorique et c) réelle ; trajectoire 8 tours, 2 entrelacements spatiaux, b) théorique et d) réelle

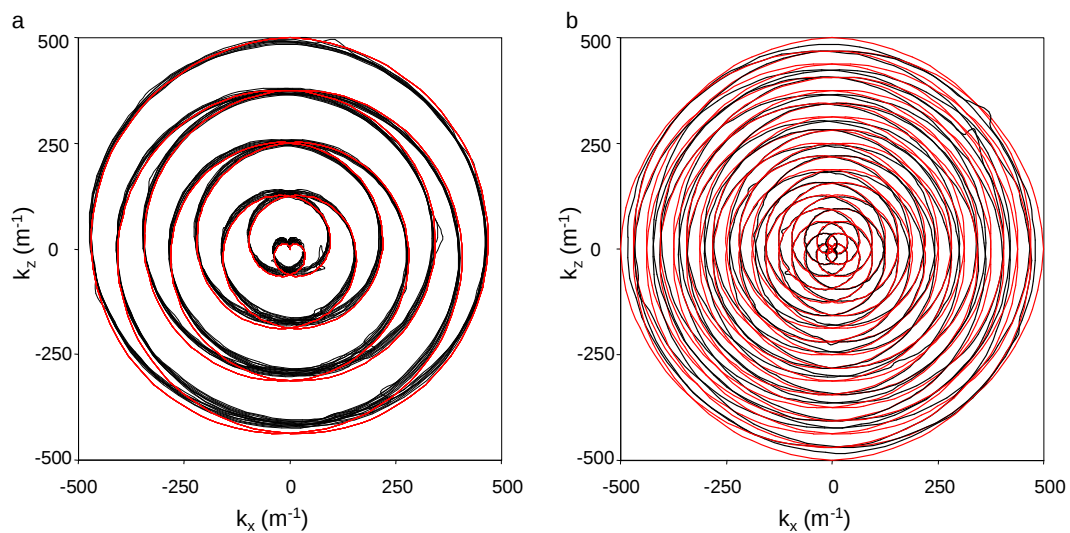


Figure 3-3. Trajectoires réelles (noir) et théoriques (rouge) dans le cas d'une trajectoire composée de 8 spirales montantes-descendantes de 4 tours, avec 4 entrelacements spatiaux : a) superposition des 8 spirales du premier entrelacement b) premier module spiral de chaque entrelacement

On peut observer sur les deux types de trajectoires une différence importante entre la trajectoire mesurée et la trajectoire théorique. Les trajectoires réalisées par les modules spiraux successifs d'une même acquisition ne sont pas identiques, alors que la commande est identique. Il y a aussi une rotation de la trajectoire mesurée par rapport à la trajectoire théorique.

De plus, la trajectoire composée de spirales de 8 tours (Figure 3-2-d) a une forme elliptique, les valeurs maximales en k_x et k_z sont différentes ce qui montre que les gradients dans les directions X et Z ne sont pas équivalents.

La Figure 3-4 montre l'effet de l'utilisation de la trajectoire calibrée ou théorique sur une image spirale. L'effet le plus visible est une rotation globale de l'image, due à des retards des gradients réels par rapport aux gradients théoriques. D'autre part, on peut observer sur l'image reconstruite avec des trajectoires théoriques des distorsions "ghosts" autour du volume sélectionné. Ces distorsions disparaissent avec l'utilisation des trajectoires réelles.

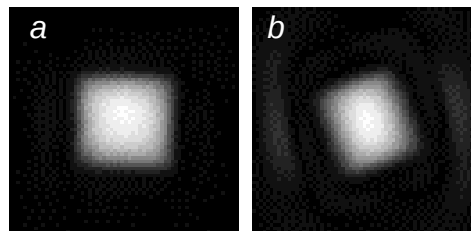


Figure 3-4. Image spirale d'un volume PRESS, acquise sur un échantillon d'eau, reconstituée a) avec la trajectoire mesurée et corrigée, b) avec la trajectoire théorique

L'utilisation des trajectoires calibrées est donc indispensable pour obtenir des images spectroscopiques sans distorsions.

La Figure 3-5 montre l'image de l'eau et celle des lipides acquises à temps d'écho courts sur un rat porteur de tumeur C6. L'image reconstruite avec la trajectoire calibrée montre une zone tumorale contenant une grande quantité de lipides, les zones saines contenant peu de lipides. L'image reconstruite avec la trajectoire théorique montre de grandes distorsions du signal des lipides.

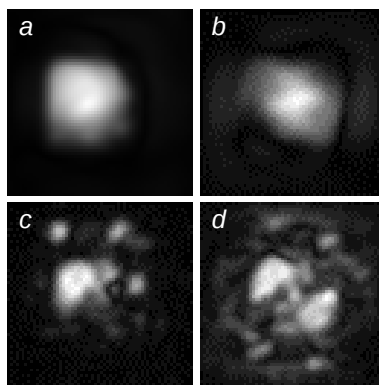


Figure 3-5. Images spectroscopiques acquises sur le cerveau d'un rat porteur de tumeur C6 avec un temps d'écho de 40 ms : images de l'eau reconstituées a) avec la trajectoire réelle ou b) avec la trajectoire théorique et images du pic à 1.3 ppm (lactate et lipides) c) avec la trajectoire réelle ou d) avec la trajectoire théorique

3.2 Module de suppression d'eau

3.2.1 La technique CHES

La technique la plus couramment utilisée est la technique CHES (19). Elle consiste à appliquer une impulsion, sélective en fréquence, pour faire basculer l'aimantation de l'eau dans le plan transverse puis à déphaser cette aimantation par l'application d'un gradient intense. L'opération est répétée plusieurs fois avec des gradients dans différentes directions. Cette technique est assez efficace pour la spectroscopie localisée à temps d'écho long. Cependant, elle devient moins efficace lors de l'utilisation de temps d'écho court et pour l'imagerie spectroscopique. En effet, à temps d'écho court, le signal de l'eau étant moins atténué par les effets de T_2 , les résidus d'eau deviennent alors importants. Pour l'utilisation en imagerie spectroscopique, la grande taille du volume d'intérêt rend la méthode moins efficace à cause de la forte sensibilité de la méthode à l'angle de basculement des impulsions.

3.2.2 La technique VAPOR

Pour améliorer la suppression du signal de l'eau à temps d'écho courts, le groupe de R.Gruetter a développé VAPOR (20), un autre module de suppression d'eau. La technique est basée sur l'application d'impulsions sélectives en fréquence suivies de gradients de déphasages. Les durées entre les impulsions ainsi que les amplitudes relatives des différentes impulsions ont été optimisées pour minimiser le signal de l'eau à la fin du module, pour différentes valeurs de l'angle initial de basculement. Ceci permet d'obtenir une suppression plus efficace du signal de l'eau même dans le cas de volume d'intérêt de grande taille. Différentes versions ont été développées, selon le champ magnétique, pour prendre en compte les temps de relaxation T_1 et T_2 de l'eau.

La version que j'ai utilisée a été développée pour un champ magnétique de 7T (21). Elle se compose de 8 impulsions, séparées par des intervalles de 150 ms – 100 ms – 122 ms – 105 ms– 102 ms – 61 ms – 67 ms. Le délai entre la dernière impulsion du module VAPOR et l'impulsion d'excitation de la séquence d'intérêt est de 14 ms (Figure 3-6).

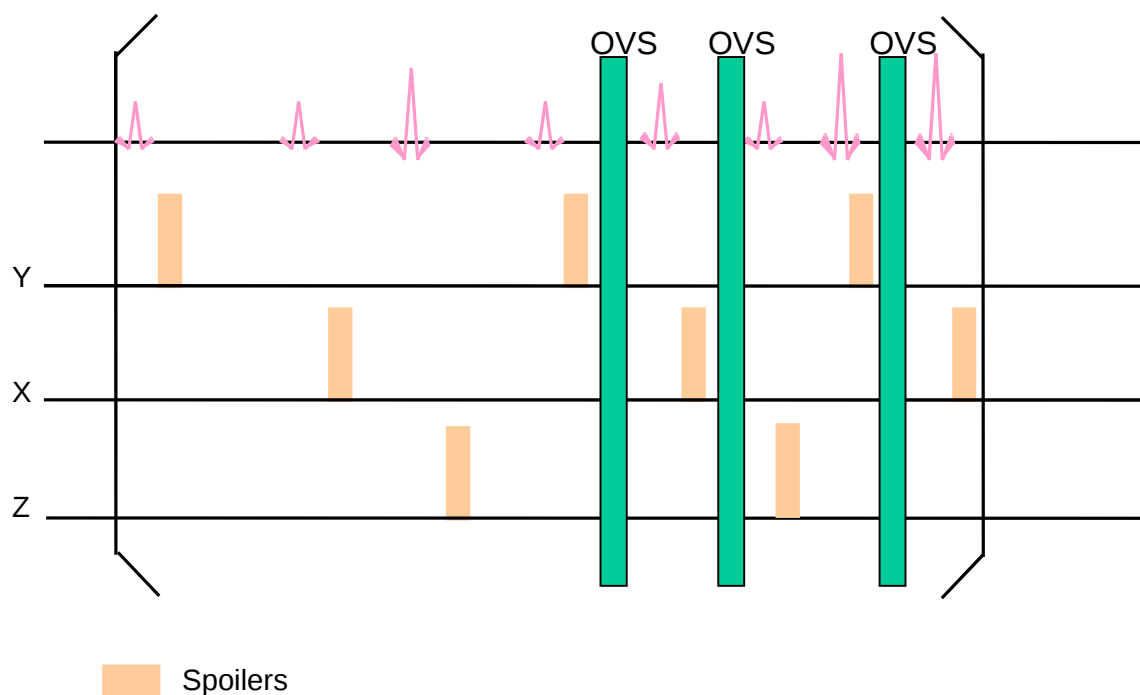


Figure 3-6. Schéma du module de suppression d'eau de type VAPOR, composé de 8 impulsions

Les puissances des troisième, septième et huitième impulsions sont augmentées de 5 dB par rapport à la puissance de la première impulsion, celle de la cinquième est augmentée de 4 dB.

3.2.3 Choix du module de suppression

Afin de tester l'efficacité du module de suppression d'eau VAPOR et de choisir la bande passante des impulsions, un profil de la suppression d'eau a été mesuré pour le module CHESSE et le module VAPOR. Les impulsions du module CHESSE sont des impulsions de type sinus cardinal de bande passante 500 Hz. Pour le module VAPOR, des impulsions de type sinus cardinal de bande passante de 500 et 250 Hz ont été comparées.

Ces expériences sont réalisées sur un rat. La séquence d'acquisition est composée d'un module de suppression d'eau (CHESSE ou VAPOR), suivi de la séquence PRESS. Plusieurs spectres sont acquis en faisant varier la fréquence des impulsions RF du module de suppression d'eau par rapport à la fréquence de résonance de l'eau. L'amplitude de la raie de l'eau est représentée en fonction de la différence de fréquence entre la fréquence de résonance de l'eau et la fréquence des impulsions du module de suppression d'eau (Figure 3-7). Le profil de suppression de CHESSE montre que la suppression n'est pas homogène et présente deux lobes où le signal est mal supprimé (entre 50 et 150 Hz de part et d'autre de la fréquence de

résonance). La suppression effectuée avec le module VAPOR, avec des impulsions de 500 Hz est de meilleure qualité et homogène sur toute la zone supprimée, cependant, la zone supprimée est assez large (600 Hz environ). Pour réduire la largeur de la suppression, des impulsions dont la bande passante est plus faible peuvent être utilisées. Cependant, comme le montre la Figure 3-7-c, l'utilisation d'impulsions de 250 Hz permet d'obtenir une largeur supprimée de 400 Hz environ, mais la qualité de la suppression est détériorée.

L'utilisation d'impulsions de type différent comme des impulsions asymétriques (20) pourrait permettre d'obtenir une bonne suppression sur une largeur plus faible. Les projets biologiques auxquels nous appliquons ces techniques s'intéressant principalement aux molécules de lactate et d'ISUCA dont les résonances sont assez éloignées de l'eau, nous avons préféré privilégier la qualité de la suppression plutôt qu'une faible largeur de la suppression. La suppression obtenue avec le module de suppression de type VAPOR avec des impulsions de type sinus cardinal de bande passante de 500 Hz est de qualité suffisante (Figure 3-7-b) et sa largeur suffisamment faible pour les applications auxquelles elle est destinée.

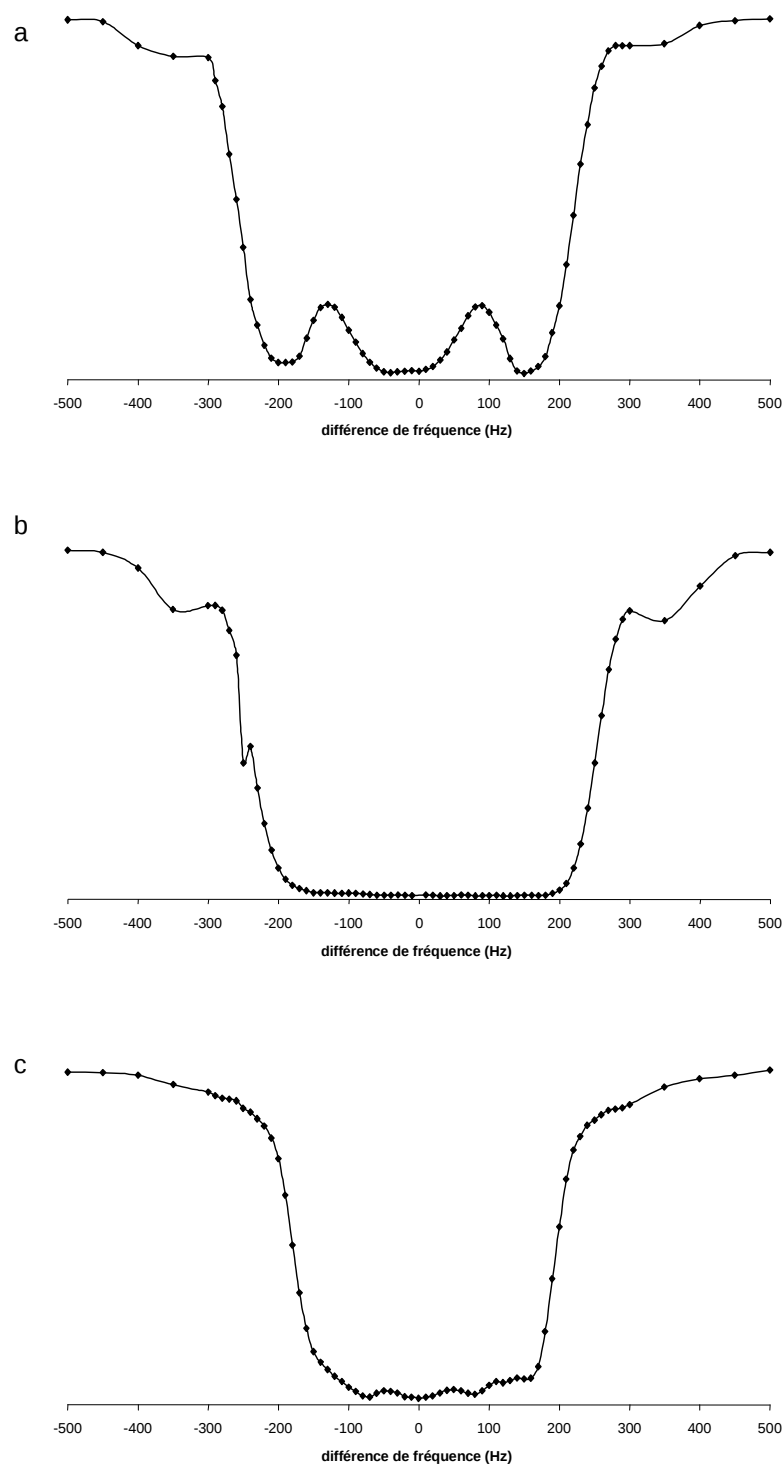


Figure 3-7. Profil de suppression d'eau : Intensité de la raie de l'eau en fonction de la différence entre la fréquence de résonance de l'eau et la fréquence des impulsions RF du module de suppression. a) module CHESSE, b) module VAPOR avec des impulsions RF de 500 Hz, c) module VAPOR avec des impulsions RF de 250 Hz

3.3 Module de saturation du volume extérieur

Les impulsions sélectives qui permettent la sélection dans le domaine spatial, étant de durée finie, ne présentent pas un profil de sélection parfait. Ces imperfections se présentent principalement sous la forme de lobes secondaires, autour du volume sélectionné.

Afin d'améliorer la sélection du volume d'intérêt, des modules de saturation du volume extérieur (OVS : outer volume saturation) (22) sont placés avant la séquence de sélection.

Ces modules consistent à appliquer une impulsion de 90° sélective spatialement aux bandes situées de part et d'autre du volume d'intérêt, et ensuite un gradient permettant de disperser le signal provenant du volume sélectionné (Figure 3-8).

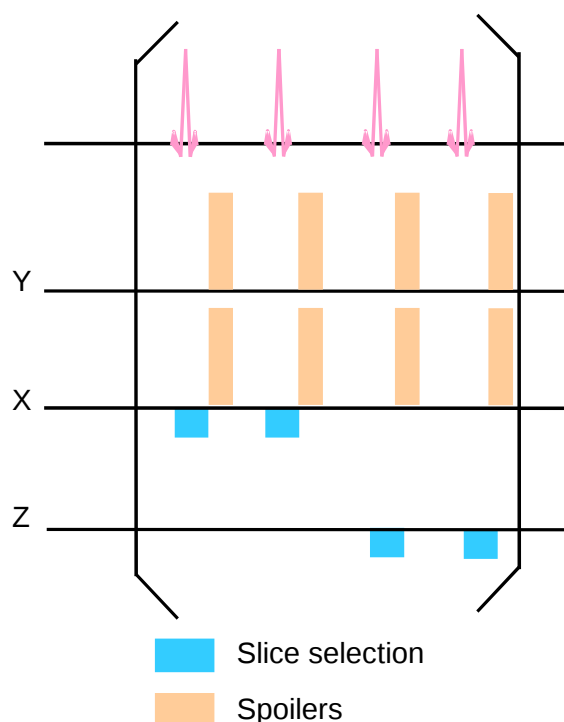


Figure 3-8. Schéma du module de suppression du volume extérieur. Chaque impulsion, associée à un gradient de sélection de tranche permet d'exciter les spins provenant d'une tranche située autour du volume d'intérêt. Un gradient est appliqué après la sélection pour déphaser les spins provenant de cette tranche.

Les impulsions utilisées sont des impulsions sinus cardinal 5 lobes de bande passante 6 kHz. Pour que la suppression soit la plus efficace possible, les modules doivent être placés le plus proche possible de la séquence de sélection PRESS. Étant donné la durée du module VAPOR, les modules OVS sont entrelacés entre les impulsions de VAPOR (Figure 3-6).

Le volume sélectionné par la séquence PRESS est parallèle à la sonde de surface utilisée en émission-réception. La sélection effectuée dans la direction orthogonale à l'antenne de surface par la séquence PRESS est donc améliorée par l'inhomogénéité de la sonde. Les effets de

lobes sont peu importants dans cette direction. Il a donc été choisi de ne pas appliquer d'OVS dans cette direction. Dans les autres directions, ces modules sont répétés deux fois, entre les impulsions 4 et 5, 5 et 6, et 7 et 8 de VAPOR. La largeur des bandes sélectionnées ainsi que leur distance par rapport au volume sélectionné ont été optimisées de manière à minimiser les lobes périphériques qui peuvent se trouver de part et d'autre du volume sélectionné. Les bandes ainsi obtenues ont une largeur de 15 mm et un espace de 2.3 mm est maintenu entre le bord du volume sélectionné et celui de la tranche de saturation. Cet écart est utilisé pour éviter que les lobes secondaires de la tranche OVS occasionnent une saturation d'une partie du volume d'intérêt.

Les tailles et positions des bandes sont donc ainsi fixées pour toutes les expériences, seules les puissances des différentes impulsions seront réglées à chaque expérience. La puissance de chaque impulsion est ajustée de manière indépendante car l'inhomogénéité de l'émission de la sonde de surface conduit à ce que l'angle de bascule de 90° corresponde à des puissances différentes selon la position de la bande de saturation (Figure 3-9).

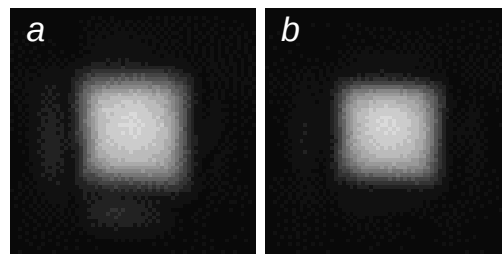


Figure 3-9. Image d'un volume PRESS acquis sur un échantillon d'eau a) sans module OVS et b) avec module OVS. La séquence d'acquisition se compose d'un module de sélection PRESS, suivi de gradients d'imagerie spiraux (1 spirale montante-descendante de 4 tours, 4 entrelacements temporels), précédé ou non d'un module OVS

4 Mesure du débit sanguin cérébral dans un volume d'intérêt

4.1 Mesure du débit dans un voxel : principe

Le principe de la mesure de débit sanguin cérébral par marquage de spin artériel est d'utiliser l'eau contenue dans le sang artériel comme traceur diffusible (23). L'aimantation des protons de l'eau contenue dans le sang artériel est inversée de manière continue lors de leur passage dans le cou, avant l'entrée dans le cerveau. Cette inversion peut être réalisée à l'aide d'une irradiation continue appliquée par une petite antenne dédiée en présence de gradient, ou à l'aide d'impulsions d'inversion spatialement sélectives.

Les équations de Bloch décrivant l'aimantation longitudinale de l'eau cérébrale peuvent être modifiées de manière à prendre en compte les effets de flux sanguin.

$$\frac{dM_b(t)}{dt} = \frac{M_b^0 - M_b(t)}{T_1} + fM_a(t) - fM_v(t)$$

où $M_b(t)$ est l'aimantation longitudinale de l'eau contenue dans le cerveau par unité de volume

M_b^0 est la valeur de M_b dans le cas d'une relaxation complète

T_1 est le temps de relaxation longitudinal

f est le débit sanguin cérébral (en mL.g⁻¹.s⁻¹)

$M_a(t)$ est l'aimantation longitudinale de l'eau contenue dans le sang artériel par unité de volume. $fM_a(t)$ représente le flux d'aimantation correspondant aux spins artériels qui entrent dans le cerveau.

$M_v(t)$ est l'aimantation longitudinale de l'eau contenue dans le sang veineux par unité de volume. $fM_v(t)$ représente le flux d'aimantation correspondant aux spins veineux qui sortent du cerveau.

En admettant que l'aimantation des spins veineux qui sortent du cerveau est la même que celle du tissu, l'aimantation sortant du cerveau peut alors s'écrire $\frac{f}{\lambda} M_b(t)$ où λ est le coefficient de partition de l'eau entre le sang et le tissu ((quantité d'eau/g de tissu) / (quantité d'eau/mL de sang)).

En absence de marquage (expérience contrôle), les flux d'aimantation entrant et sortant sont égaux, donc $fM_a^0 = fM_v^0 = \frac{f}{\lambda} M_b^0$

$$\frac{dM_b^{cont}(t)}{dt} = \left(\frac{1}{T_1} + \frac{f}{\lambda}\right)(M_b^0 - M_b^{cont}(t))$$

on peut définir un temps de relaxation apparent T_{1app} tel que

$$\frac{dM_b(t)}{dt} = \frac{(M_b^0 - M_b(t))}{T_{1app}} \quad \text{où} \quad \frac{1}{T_{1app}} = \frac{1}{T_1} + \frac{f}{\lambda}$$

Si l'aimantation de l'eau artérielle est inversée de manière continue dans une expérience de marquage, alors $M_a(t) = -M_a^0$.

En remplaçant ces différentes expressions, on obtient

$$\frac{dM_b^{marq}(t)}{dt} = \left(\frac{1}{T_1} - \frac{f}{\lambda}\right)M_b^0 - \left(\frac{1}{T_1} + \frac{f}{\lambda}\right)M_b^{marq}(t)$$

Après un temps de marquage TR long devant T_{1app} , l'aimantation tend vers un état stationnaire

$$M_b^{marq} = \frac{\frac{1}{T_1} - \frac{f}{\lambda}}{\frac{1}{T_1} + \frac{f}{\lambda}} M_b^0 = \left(1 - \frac{2fT_{1app}}{\lambda}\right) M_b^{cont}$$

On déduit alors que
$$f = \frac{\lambda}{2T_{1app}} \frac{M_b^{cont} - M_b^{lmarq}}{M_b^{cont}}$$

Dans des conditions physiologiques normales chez le rat, le débit sanguin cérébral est de $0.016 \text{ mL.g}^{-1}.\text{s}^{-1}$ (24), T_1 est de l'ordre de 1.7 s à 7T et λ vaut 0.9 mL.g^{-1} . Dans ces conditions, $T_1 \approx T_{1app}$ et on peut donc considérer que la variation de signal observée entre les expériences avec et sans marquage de spin est directement proportionnelle au débit sanguin.

En réalisant en plus une mesure de T_1 , il est alors possible d'obtenir une mesure quantitative du débit sanguin cérébral. Dans notre cas, nous ne nous intéressons qu'aux variations relatives de débit, les mesures avec et sans marquage de spin seront suffisantes.

Sur ce principe, après un marquage continu des spins artériels, une technique d'imagerie peut être utilisée pour obtenir une image du débit sanguin dans le cerveau. Cependant, la sensibilité de cette technique est faible. De plus, dans notre cas, nous nous intéressons à la comparaison entre les résultats de la spectroscopie et ceux de la mesure de débit sanguin. Nous avons donc utilisé une technique de localisation de type PRESS, pour obtenir le débit sanguin cérébral au sein d'un volume d'intérêt similaire à celui utilisé en spectroscopie. Le volume d'intérêt étant de taille assez importante, il sera donc plus aisé de détecter les variations de signal.

4.2 Mise en place de la technique

La séquence est composée d'un module PRESS, avec un temps d'écho court (28 ms), précédé d'une inversion pseudo-continue des spins artériels pendant une durée de 5 s. Cette inversion est réalisée par l'application d'une série d'impulsions de faible amplitude en présence d'un gradient (Figure 4-1). Les impulsions sont appliquées avec un offset de fréquence de 8300 Hz par rapport à la fréquence de résonance de l'eau dans le volume d'intérêt. Les spins contenus dans une tranche perpendiculaire à l'axe de l'aimant (z) sont alors inversés au niveau du cou de l'animal. L'acquisition de contrôle est réalisée en inversant le signe de l'offset de fréquence de l'impulsion radiofréquence de manière à sélectionner une tranche de marquage opposée à la tranche de marquage par rapport au volume d'intérêt, dans la direction z (caudale). Cette technique permet d'obtenir le même effet de transfert d'aimantation pendant les expériences de marquage et de contrôle (24).

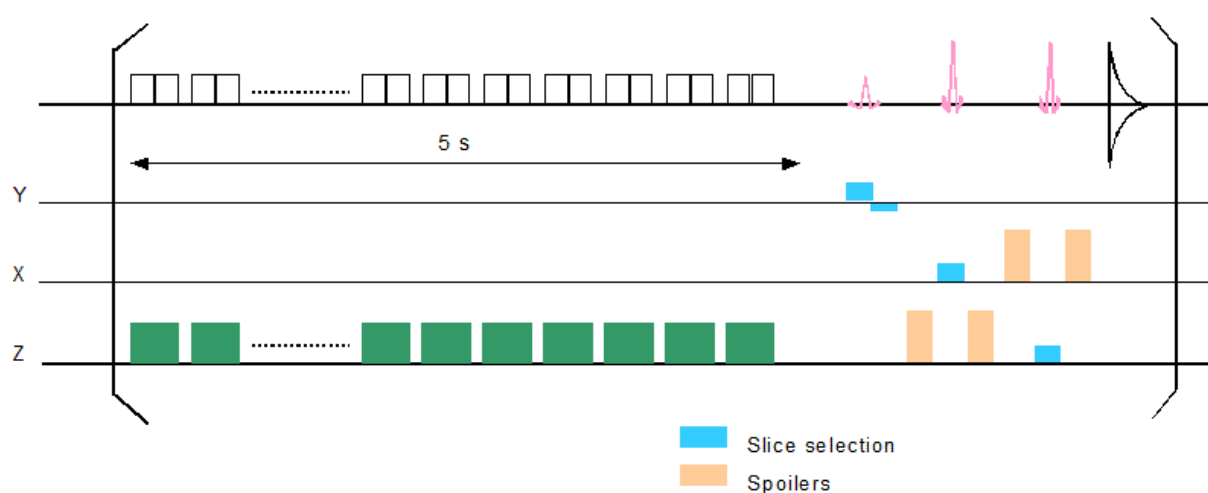


Figure 4-1. Séquence de marquage de spin artériel

Le module de marquage des spins artériels a été développé au laboratoire par Emmanuel Barbier pour des applications en imagerie. Nous l'avons adapté pour une utilisation monovoxel.

Idéalement, le marquage est réalisé par l'application continue de l'irradiation RF et du gradient de sélection. Cependant, en pratique, ni l'amplificateur RF ni l'amplificateur de gradient ne peuvent générer d'impulsions continue pendant une durée de 5 s, le marquage est donc réalisé par une série d'impulsions séparées par un délai de 100 μ s.

4.3 Test de la technique

Pour tester la validité des mesures de débit sanguin cérébral, nous avons utilisé un modèle d'hypercapnie. En effet, il est connu que l'hypercapnie provoque une augmentation du débit sanguin cérébral (24).

4.3.1 Matériel et méthodes

Un rat Wistar mâle est anesthésié par de l'isoflurane (6 % puis 1.2 %) puis une trachéotomie est réalisée. L'animal est ensuite ventilé mécaniquement avec un mélange d'air et d'oxygène (80 %/20 %) et d'isoflurane (1.2 %).

Le rat est ensuite placé dans un berceau et introduit à l'intérieur d'une sonde de volume, branchée en quadrature. La température rectale du rat est maintenue à 37°C par une circulation d'eau placée sous le rat.

Après l'acquisition des images de repérage, un voxel de 4mm de côté est placé dans le striatum.

Une acquisition de 30 minutes est réalisée, les acquisitions de contrôle et de marquage se succédant toutes les 5 secondes.

Cinq minutes après le début de l'acquisition, le mélange respiré par le rat est remplacé par un mélange contenant en plus 6 % de CO₂, pendant 5 minutes. Cette hypercapnie est répétée 10 minutes plus tard.

Pour chaque acquisition, l'intégrale du signal acquis est calculée, puis pour chaque paire d'acquisitions contrôle-marquage, la différence relative de l'intensité du signal est déterminée.

4.3.2 Résultats

L'évolution de la différence relative des signaux de contrôle et de marquage, chez un rat au cours d'une expérience d'hypercapnie, est présentée dans la (Figure 4-2).

Lorsque la concentration de CO₂ est augmentée, la différence relative des signaux augmente, puis elle revient sa valeur basale après l'arrêt de l'hypercapnie.

En utilisant l'équation donnée en introduction

$$f = \frac{\lambda}{2T_{1app}} \frac{M_b^{cont}(TR) - M_b^{lab}(TR)}{M_b^{cont}(TR)}$$

le débit sanguin cérébral dans les conditions basales serait de 0.39 mL.g⁻¹.min⁻¹. Cette valeur est très inférieure aux valeurs normales observées (1 mL.g⁻¹.min⁻¹). Cette différence peut s'expliquer principalement par l'utilisation de deux approximations dans ce calcul. Le T_{1app} n'ayant pas été mesuré, une valeur de 1.7 s a été utilisée. De plus, la relation décrite ici est valable uniquement dans le cas d'une inversion totale, ce qui n'est pas le cas avec l'inversion appliquée ici qui était fractionnée à cause des contraintes instrumentales.

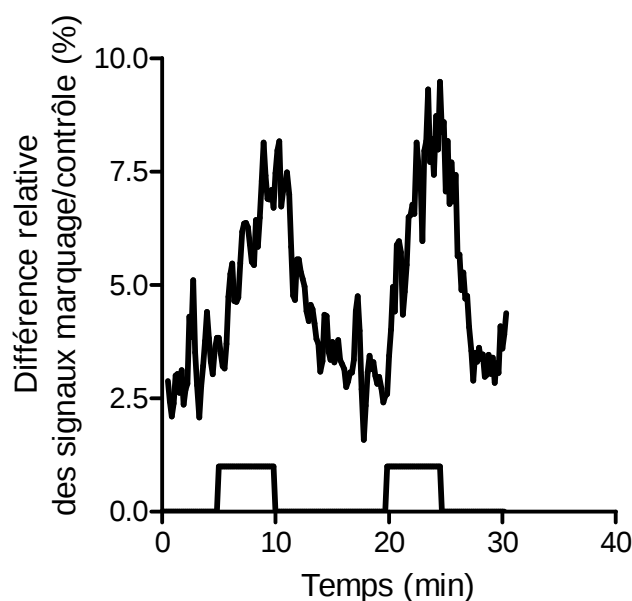


Figure 4-2. Evolution de la différence relative des signaux contrôle/marquage lorsque la quantité de CO₂ inspirée par le rat varie : les périodes d'hypercapnie se situent entre 5 et 10 min puis entre 20 et 25 min

Les variations observées lors de l'hypercapnie sont compatibles avec les données de la littérature. En effet, une inhalation de 6 % de CO₂ conduit à une augmentation de la pression artérielle partielle en CO₂ ($P_a\text{CO}_2$) d'une valeur basale de 30 mmHg environ vers une valeur de 70 mmHg. W.Zhang (24) décrit des valeurs de débit passant de 1.1 à 3.0 mL.g⁻¹.min⁻¹ pour de telles variations de la $P_a\text{CO}_2$. Dans notre cas, la différence de signal entre contrôle et marquage varie de 2.5 % dans l'état basal à 7.5 % pendant l'hypercapnie, ce qui correspond bien à un triplement. La mesure effectuée semble donc bien proportionnelle au débit sanguin cérébral.

Sans mesure plus précise du taux d'inversion et du $T_{1\text{app}}$, il n'est pas possible de réaliser de mesure quantitative du débit sanguin cérébral. Cependant la technique de mesure mise en place s'avère sensible aux variations de débit sanguin cérébral.

5 Procédure de shim automatique

L'optimisation de l'homogénéité du champ magnétique dans le volume d'intérêt est un enjeu important pour la spectroscopie *in vivo*. En effet, la largeur des raies observées en spectroscopie est fonction des temps de relaxation T_2 de la molécule observée mais surtout du temps T_2^* . Les effets de T_2^* sont directement liés à l'inhomogénéité du champ magnétique. L'introduction de l'animal dans l'aimant provoque de fortes inhomogénéités, dues principalement à toutes les interfaces entre les différents tissus. L'amélioration de l'homogénéité du champ magnétique statique est réalisée en réglant les courants dans une série de bobines (bobines de "shim") réparties à l'intérieur de l'aimant de manière à créer différentes formes de champs. Ces réglages sont généralement effectués manuellement par l'utilisateur. Comme cela sera décrit plus loin, les critères utilisés pour un réglage manuel ne permettent pas forcément d'obtenir un résultat optimal. Le temps nécessaire pour la réalisation de ces réglages est aussi un point critique dans les applications *in vivo*.

Nous avons choisi de mettre en place une technique d'amélioration automatique de l'homogénéité du champ magnétique. Cette méthode a été présentée par R.Gruetter, sous le nom de FASTMAP (25), puis améliorée par J.Shen (FASTERMAP) (26) pour l'utilisation dans un volume, puis modifiée par J.Shen pour l'utilisation dans une tranche (FLATNESS) (27).

5.1 Difficultés du shim manuel et intérêt d'une procédure de shim automatique

Pour obtenir des raies exploitables sur les spectres RMN, il faut que le champ magnétique statique B_0 soit très homogène. Dans le cas de l'imagerie spectroscopique, ce champ doit être homogène sur toute la zone à imager, qui peut être de taille assez importante ($20 \times 20 \times 3 \text{ mm}^3$). De plus, dans les expériences *in vivo*, les inhomogénéités intrinsèques sont assez importantes. Pour ces raisons, il est souvent difficile et long de réaliser la correction de l'homogénéité de manière manuelle.

Manuellement, la procédure de correction est basée sur l'optimisation du signal provenant de l'ensemble du volume sensible : soit en allongeant la décroissance de la FID (ou de l'écho), c'est-à-dire en accroissant son intégrale, soit en augmentant l'amplitude de la raie de l'eau (et donc en diminuant sa largeur).

Cette procédure pose plusieurs problèmes. Tout d'abord, l'optimisation se fait de manière itérative, en observant l'effet sur le signal de la variation du courant dans chaque bobine. Il est donc possible de ne pas trouver le maximum global du signal mais seulement un maximum local. De plus, les corrections de deuxième ordre sont souvent difficiles à réaliser car l'effet de ces courants sur l'intensité de la raie est assez faible et l'amélioration est souvent difficile à apprécier.

Il est donc souvent difficile d'obtenir une très bonne qualité de spectre à l'aide d'une correction manuelle. Il existe des techniques de correction automatique basées sur le même principe mais ces techniques sont plus adaptées à la spectroscopie haute résolution qu'à l'imagerie spectroscopique *in vivo* où les inhomogénéités sont très fortes et où il est donc facile de trouver un maximum secondaire.

De plus, le champ doit être homogène sur tout le volume d'intérêt. Lorsque le champ est optimisé de manière manuelle, on observe le signal global provenant de l'ensemble du volume sélectionné. Si une zone du volume d'intérêt est la source d'un signal de forte intensité, le signal observé proviendra principalement de cette zone. En améliorant le signal global, le champ sera homogénéisé principalement dans la zone de forte intensité, le champ ne sera donc pas forcément homogénéisé dans l'ensemble du volume d'intérêt.

La technique qui a été mise en place ici permet de résoudre ces différents problèmes. Elle est basée sur une cartographie des inhomogénéités de champ, les courants des bobines de correction sont ensuite réglés de manière à les corriger. Cette méthode a donc plusieurs avantages : elle n'est pas itérative et elle permet une amélioration de l'homogénéité du champ, basée sur la mesure du champ et non pas seulement sur son effet sur le signal, ce qui permet d'obtenir un champ homogène en chaque point du volume d'intérêt.

5.2 Principe

Chaque composante du champ magnétique statique satisfait à l'équation de Laplace :

$$\Delta B_x = \Delta B_y = \Delta B_z = 0 \quad \text{où } \Delta \text{ est l'opérateur Laplacien}$$

Les composantes transversales B_x et B_y pouvant être négligées, la composante B_z peut donc être développée en une série d'harmoniques sphériques, qui forment une base de fonctions satisfaisant à l'équation de Laplace.

Le champ magnétique nominal B_0 est déformé par l'introduction de l'animal et de l'antenne. Pour pouvoir obtenir un champ B_0 homogène en présence de l'animal et de l'antenne, une série de bobines est placée dans le fourreau de l'aimant. Le champ peut être réglé par la valeur du courant injecté dans chaque bobine. Les bobines de shim sont construites de manière à ce que chaque bobine génère un champ magnétique ayant principalement la forme d'une harmonique sphérique.

Les champs en forme d'harmoniques sphériques de premier ordre (variant linéairement) dans les trois directions X, Y et Z sont généralement générés par l'intermédiaire du fourreau de gradients. La plupart des imageurs petit animal possèdent aussi des bobines générant les harmoniques sphériques de deuxième ordre (Z^2 , ZX, ZY, X^2-Y^2 et XY), certains imageurs possédant aussi les bobines de troisième ordre. Des bobines générant des champs en forme d'harmoniques sphériques étant présentes, il est donc possible de corriger toutes les distorsions du champ, en tout cas aux ordres 1 et 2.

Pour pouvoir corriger les inhomogénéités du champ B_0 de manière automatique, une solution consiste donc à cartographier les inhomogénéités de champ et à procéder à leur décomposition

en harmoniques sphériques. Connaissant le champ créé par chaque bobine de shim, il est alors possible de corriger les inhomogénéités.

La différence de phase entre des échos acquis à des temps différents est proportionnelle à la valeur du champ magnétique au point considéré. Par conséquent, la mesure de cette différence peut être utilisée pour cartographier les inhomogénéités du champ magnétique. Sur ce principe, différentes techniques d'imagerie peuvent être utilisées, comme des techniques d'imagerie rapide de type écho-planar. Cependant, la reconstruction de la phase à partir des deux images acquises à des temps d'écho différents nécessite l'utilisation d'algorithmes de reconstruction de la phase. En effet, la phase du signal complexe étant calculée avec la fonction arc tangente, elle est définie à $k\pi$ près. Des algorithmes de déroulement de phase permettent de corriger les sauts de phase occasionnés afin d'assurer la continuité des valeurs. Il faut ensuite procéder à la décomposition en harmoniques sphériques du champ ainsi déterminé.

Le déroulement de la phase ainsi que la décomposition en harmoniques sphérique en 2D sont des techniques difficiles à mettre en œuvre. Dans le but de simplifier les différentes étapes conduisant à la décomposition en harmoniques sphériques, la technique FASTMAP propose de mesurer les inhomogénéités du champ magnétique le long d'un nombre limité d'axes. Cette technique permet de limiter les erreurs dues aux déroulements de phase et à la décomposition en harmoniques sphériques, à 2 ou 3 dimensions.

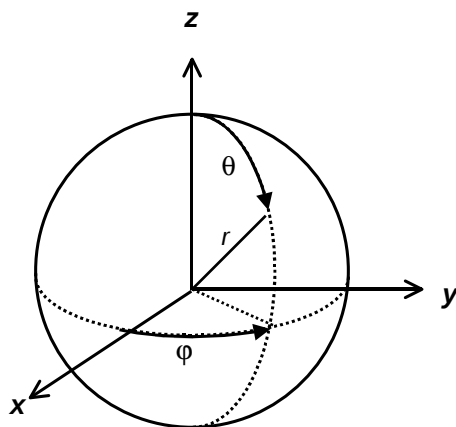


Figure 5-1. Définition du système de coordonnées sphériques utilisé

Appellation des harmoniques sphériques	$\psi_i(r, \theta, \phi) = r^{n_i} \chi_i(\theta, \phi)$
X	$r \sin \theta \cos \phi$
Y	$r \sin \theta \sin \phi$
Z	$r \cos \theta$
Z^2	$r^2 (3 \cos^2 \theta - 1) / 2$
ZX	$r^2 \sin \theta \cos \theta \cos \phi$
ZY	$r^2 \sin \theta \cos \theta \sin \phi$
$X^2 - Y^2$	$r^2 \sin^2 \theta \cos 2\phi$
XY	$r^2 \sin^2 \theta \sin 2\phi$
Z^3	$r^3 (5 \cos^3 \theta - 3 \cos \theta) / 2$
XZ^2	$r^3 \sin \theta (5 \cos^2 \theta - 1) \cos \phi$
YZ^2	$r^3 \sin \theta (5 \cos^2 \theta - 1) \sin \phi$
$Z(X^2 - Y^2)$	$r^3 \sin^2 \theta \cos \theta \cos 2\phi$
ZXY	$r^3 \sin^2 \theta \cos \theta \sin 2\phi$
X^3	$r^3 \sin^3 \theta \cos 3\phi$
Y^3	$r^3 \sin^3 \theta \sin 3\phi$

Tableau 5-1. Les différents harmoniques sphériques : appellations et équations associées

5.3 Cartographie des inhomogénéités de champ

Les inhomogénéités du champ magnétique sont donc mesurées le long de différents axes, de manière à pouvoir reconstituer la décomposition en harmoniques sphériques. Dans le cas où le champ doit être homogénéisé dans un volume, la technique FASTMAP utilise la mesure des inhomogénéités le long de 6 axes pour leur détermination complète dans l'espace. Dans le cas où le champ doit être homogène dans une tranche (cas de l'imagerie spectroscopique), il est important de caractériser les inhomogénéités du champ dans ce plan, la technique FLATNESS utilise 4 orientations pour les déterminer.

5.3.1 Séquence d'acquisition

La séquence d'acquisition (Figure 5-2) est basée sur une séquence de type écho de spin, composée d'une impulsion sélective d'excitation de 90° et de deux impulsions sélectives de refocalisation de 180° . Pendant la première impulsion, de type sinus cardinal, un gradient de sélection de tranche est appliqué dans une première direction. Un gradient est appliqué dans une direction orthogonale à la première pendant les deux impulsions suivantes, qui sont de type sécante hyperbolique.

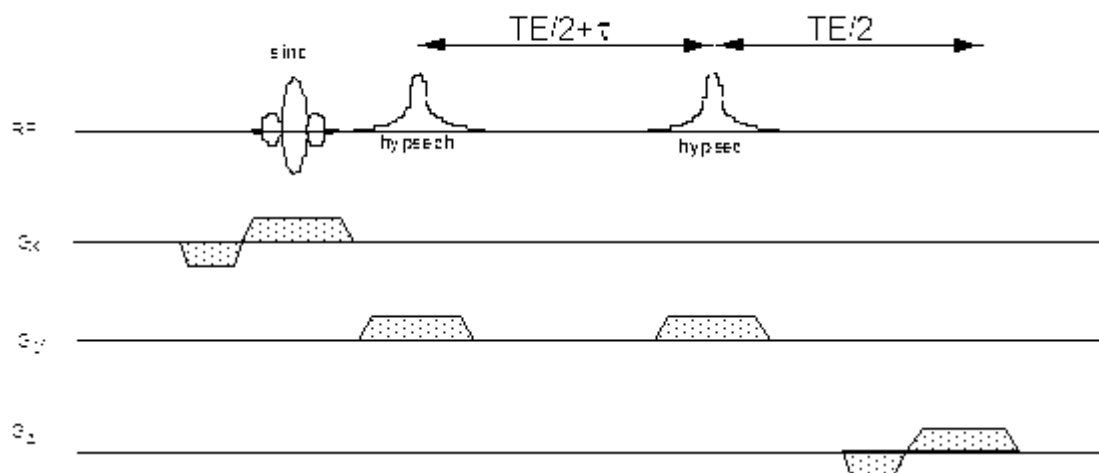


Figure 5-2. Séquence d'acquisition utilisée pour la cartographie des inhomogénéités de champ :
Une première impulsion de 90° permet une sélection de tranche dans une direction, les deux impulsions sécantes hyperboliques permettent la sélection dans une seconde direction. Un gradient de lecture est appliqué dans une troisième direction pendant l'acquisition. Deux acquisitions sont réalisées, avec $\tau = 0$ et $\tau = 7$ ms

Ces trois impulsions permettent donc de sélectionner une barre, dont la section est déterminée par l'intensité des gradients et la bande passante des impulsions. Un gradient de lecture est ensuite appliqué pendant l'acquisition dans une troisième direction, orthogonale aux deux autres. Cette séquence permet donc d'obtenir le profil du signal dans la direction de la barre. Pour chaque orientation de la barre, deux acquisitions sont réalisées, l'une avec $\tau = 0$ et l'autre avec $\tau \neq 0$. La valeur de τ est ajustée en fonction de l'ordre de grandeur des inhomogénéités de champ. En effet, plus τ est grand, plus le déphasage mesuré est important. Un grand déphasage permet une détection plus fine des inhomogénéités de champ, cependant, le déphasage ne doit pas dépasser 2π .

5.3.2 Reconstruction de la phase

Les deux signaux temporels obtenus pour $\tau=0$ et $\tau \neq 0$ sont ensuite transformés en données spatiales par transformée de Fourier. La phase de chacun des signaux S est ensuite calculée en chaque point par $\arctan(\text{Re}(S)/\text{Im}(S))$. La fonction $\arctan$ donnant des valeurs comprises entre $-\pi/2$ et $\pi/2$, il est nécessaire d'appliquer un algorithme de déroulement de phase de manière à corriger les sauts de phase éventuels provoqués par l'utilisation de la fonction $\arctan$. On obtient ainsi l'évolution de la phase le long de l'axe pour chacune des deux mesures ($\tau = 0$ et $\tau \neq 0$).

Les inhomogénéités de champ magnétique en chaque point sont proportionnelles à la différence de phase entre les deux signaux acquis.

$$\Delta\phi(r) = \gamma \Delta B_0(r) \tau$$

On peut ainsi obtenir l'évolution du champ magnétique le long de l'axe.

5.3.3 Pour un volume cubique : décomposition en harmoniques sphériques dans l'espace autour d'un point

Lorsque le but est d'optimiser l'homogénéité du champ magnétique dans un cube, les mesures des inhomogénéités sont effectuées le long de six axes, orientés selon les diagonales de chaque face du cube et se coupant au centre de ce cube (Figure 5-3).

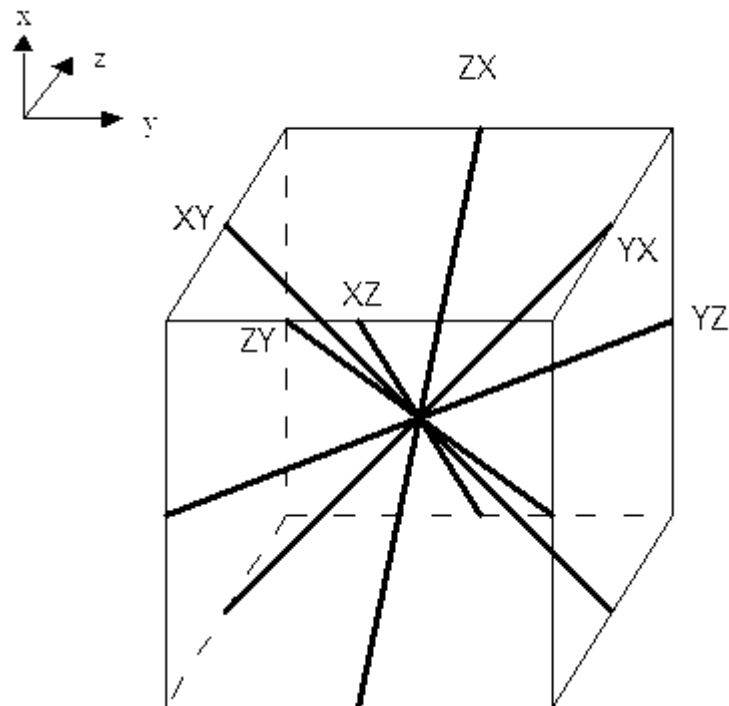


Figure 5-3. Six directions utilisées pour la mesure des inhomogénéités de champ magnétique dans un volume. Les mesures se font le long d'axes orientés selon les diagonales des faces d'un cube, les six tranches se coupent au centre du volume d'intérêt

Chacune de ces orientations peut être définie dans le repère des coordonnées sphériques par les angles θ et ϕ .

Orientations	θ_j	ϕ_j
XY	90	-45
YX	90	-135
XZ	45	0
ZX	-45	0
YZ	45	-90
ZY	45	90

Tableau 5-2. Orientations des différents axes utilisés pour la cartographie des inhomogénéités de champ dans un voxel

Dans l'espace, les inhomogénéités du champ sont décomposables en harmoniques sphériques.

$$\Delta B_0(r, \theta, \varphi) = \sum_k k_k \Psi_k(r, \theta, \varphi)$$

Le long d'un axe quelconque, défini par les angles θ_j et φ_j , seul r varie :

$$\Delta B_0(r) = \sum_k k_k \Psi_k(r, \theta_j, \varphi_j)$$

Comme les fonctions Ψ_k sont de la forme :

$$\Psi_k(r, \theta, \varphi) = r^{n_k} \chi_k(\theta, \varphi)$$

avec $n = 1$ pour les harmoniques sphériques d'ordre 1

$n = 2$ pour les harmoniques sphériques d'ordre 2

Le long d'un axe d'orientation (θ_j, φ_j) , les inhomogénéités du champ magnétique ont donc la forme d'un polynôme en r .

$$\Delta B_0(r) = \sum_k k_k r^{n_k} \chi_k(\theta_j, \varphi_j)$$

Les coefficients de la décomposition polynomiale des inhomogénéités de champ sont donc liés aux coefficients k_k de la décomposition en harmoniques sphériques.

Par exemple, pour l'orientation XY ($\theta_0 = 90^\circ$, $\varphi_0 = -45^\circ$), le polynôme peut s'écrire sous la forme :

$$\begin{aligned} & k_x r \sin \theta_0 \cos \varphi_0 + k_y r \sin \theta_0 \sin \varphi_0 + k_z r \cos \theta_0 + k_{z^2} r^2 (3 \cos^2 \theta_0 - 1) / 2 \\ & + k_{zx} r^2 \sin \theta_0 \cos \theta_0 \cos \varphi_0 + k_{zy} r^2 \sin \theta_0 \cos \theta_0 \sin \varphi_0 + k_{x^2-y^2} r^2 \sin^2 \theta_0 \cos 2\varphi_0 + k_{2xy} r^2 \sin^2 \theta_0 \sin 2\varphi_0 + \dots \\ & = \frac{\sqrt{2}}{2} k_x r - \frac{\sqrt{2}}{2} k_y r - \frac{1}{2} k_{z^2} r^2 - k_{2xy} r^2 = a^{xy} r + b^{xy} r^2 + \dots \\ & \text{d'où } a^{xy} = \frac{\sqrt{2}}{2} (k_x - k_y) \text{ et } b^{xy} = -k_{2xy} - \frac{1}{2} k_{z^2} \end{aligned}$$

En développant de la même façon le champ en harmoniques sphériques pour chacune des orientations, on obtient un système d'équations dont les solutions sont :

$$\begin{aligned} k_x &= \frac{1}{\sqrt{8}} (a^{xy} - a^{yx} + a^{xz} - a^{zx}) \\ k_y &= \frac{1}{\sqrt{8}} (-a^{xy} - a^{yx} - a^{yz} + a^{zy}) \\ k_z &= \frac{1}{\sqrt{8}} (a^{xz} + a^{zx} + a^{yz} + a^{zy}) \\ k_{z^2} &= \frac{1}{3} (-2b^{xy} - 2b^{yx} + b^{xz} + b^{zx} + b^{yz} + b^{zy}) \\ k_{zx} &= b^{xz} - b^{zx} \\ k_{zy} &= -b^{yz} + b^{zy} \\ k_{x^2-y^2} &= \frac{1}{2} (b^{xz} + b^{zx} - b^{yz} - b^{zy}) \\ k_{2xy} &= \frac{1}{2} (-b^{xy} + b^{yx}) \end{aligned}$$

À partir des six orientations, il est donc bien possible de déterminer les coefficients des harmoniques sphériques d'ordre 1 et 2.

5.3.4 Pour une tranche : décomposition en harmoniques sphériques dans un plan

Lorsque le but est d'améliorer l'homogénéité du champ magnétique dans une tranche, les axes sont choisis comme étant les deux axes principaux et les deux diagonales du plan. (Figure 5-4)

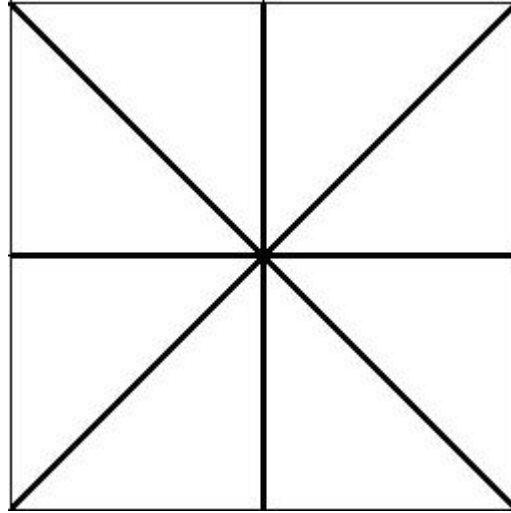


Figure 5-4. Orientations des quatre axes utilisés pour mesurer les inhomogénéités de champ magnétique dans un plan.

La décomposition polynomiale des inhomogénéités de champ le long des différents axes permet, de la même manière que pour le voxel, de déterminer les coefficients des harmoniques sphériques. L'ensemble de ces relations, pour les trois orientations possibles est résumé dans le Tableau 5-3.

Shim	Transverse	Coronale	Sagittale
Z	0	$a^z/2 + (a^{xz} + a^{zx})/\sqrt{8}$	$a^z/2 + (a^{yz} + a^{zy})/\sqrt{8}$
X	$a^x/2 + (a^{xy} - a^{yx})/\sqrt{8}$	$a^x/2 + (a^{xz} - a^{zx})/\sqrt{8}$	0
Y	$a^y/2 + (-a^{xy} - a^{yx})/\sqrt{8}$	0	$a^y/2 + (-a^{yz} + a^{zy})/\sqrt{8}$
Z ²	$-(b^x + b^y + b^{xy} + b^{yx})/2$	$(-b^x + b^z + b^{xz} + b^{zx})/2$	$(-b^y + b^z + b^{yz} + b^{zy})/2$
XZ	0	$b^{xz} - b^{zx}$	0
YZ	0	0	$-b^{yz} + b^{zy}$
X ² -Y ²	$(b^x - b^y)/2$	$(b^x + b^{xz} + b^{zx})/2$	$-(b^y + b^{yz} + b^{zy})/2$
2XY	$(-b^{xy} + b^{yx})/2$	0	0

Tableau 5-3. Relation entre les coefficients de la décomposition polynomiale le long des axes et les harmoniques sphériques

Cette technique ne permet de déterminer que les contributions des harmoniques sphériques qui varient dans le plan de coupe. Par exemple, dans le plan transverse (x,y), l'harmonique sphérique Z étant constante, aucune inhomogénéité associée à cette fonction ne peut donc être détectée. Cependant, l'épaisseur de coupe utilisée n'étant pas nulle, des inhomogénéités associées à ces fonctions orthogonales au plan de coupe influencent tout de même l'homogénéité observée dans la tranche. Il est donc important de les prendre en compte et de corriger ces inhomogénéités.

Pour résoudre ce problème, nous avons choisi une méthode simple qui consiste à d'abord corriger les inhomogénéités dans un cube centré de la même façon que la tranche, de manière à corriger approximativement les inhomogénéités dans les directions orthogonales au plan de coupe, puis à affiner les corrections en se focalisant sur la tranche d'intérêt.

5.4 Calibration des courants de shim

Pour pouvoir relier la décomposition des inhomogénéités de champ en harmoniques sphériques aux valeurs des courants de correction à appliquer à chaque bobine de shim, il faut préalablement connaître le champ créé par chaque bobine.

Chaque bobine de correction crée en principe un champ dont la forme est proche d'une harmonique sphérique, cependant il est important de connaître de manière précise le champ créé.

Pour effectuer cette calibration, un échantillon sphérique d'eau est utilisé. Des acquisitions sont réalisées avec la méthode FASTMAP, dans les six directions.

Pour chaque bobine, plusieurs acquisitions sont réalisées en faisant varier les valeurs du courant la parcourant. Les acquisitions sont ensuite traitées de manière à connaître le poids des différentes harmoniques sphériques pour chaque acquisition.

Pour chaque harmonique sphérique, la relation entre le coefficient de l'harmonique et la valeur x du courant appliqué doit être linéaire : $y=ax+b$, le coefficient constant b correspondant aux inhomogénéités de l'échantillon en absence de courant et le coefficient a reflétant l'influence du courant sur l'harmonique sphérique.

Un fit linéaire est donc réalisé pour chaque harmonique. On peut ensuite en déduire une matrice contenant les coefficients permettant de connaître la valeur de chaque harmonique sphérique pour une valeur de courant donné.

Après cette étape de calibration, le champ B créé par l'application d'un courant I_j sur une bobine est connu :

$$B = \sum_i C_{i,j} I_j \psi_i \text{ où } C_{i,j} \text{ le coefficient de l'harmonique } i \text{ pour le bobinage } j.$$

5.5 Calcul des valeurs de courant à appliquer

Le champ créé par chaque bobine étant connu, il faut ensuite résoudre le problème inverse : connaître le courant à appliquer dans chaque bobine pour créer un champ donné.

Chaque bobine de shim crée un champ ayant approximativement la forme de l'harmonique sphérique pour laquelle il a été construit, mais elle crée aussi des champs résiduels ayant les formes des autres harmoniques.

Si on souhaite effectuer une correction de champ de k_j sur l'harmonique sphérique j , le courant devra être principalement appliqué sur la bobine j . Le courant à appliquer sera $I_j = \frac{k_j}{C_{j,j}}$.

Le champ réel alors créé par ce courant sera : $B = \sum_i C_{i,j} I_j \psi_i = C_{j,j} \frac{k_j}{C_{j,j}} \psi_j + \sum_{i \neq j} k_j C_{i,j} \psi_i$,

soit le terme correctif attendu et un ensemble de termes supplémentaires venant du fait que les courants de shim n'agissent pas que sur une seule harmonique.

Le champ supplémentaire créé doit alors être corrigé par l'application de courants sur les autres bobines de shim : sur chaque autre harmonique sphérique, le champ à corriger est de

$$B = C_{i,j} \frac{k_j}{C_{j,j}} \psi_i = C_{i,j} \frac{k_j}{C_{j,j} C_{i,i}} C_{i,i} \psi_i$$

Pour créer le champ $B = k_j \psi_j$, il faudra donc appliquer un courant $I_j = \frac{k_j}{C_{j,j}}$ sur la bobine j ,

et des courants $I_i = -k_j \frac{C_{i,j}}{C_{j,j} C_{i,i}}$ sur les autres bobines.

De manière générale, soit $\vec{k}$ le vecteur contenant les coefficients des harmoniques à générer et $\vec{I}$ le vecteur contenant les courant à appliquer, on peut définir la matrice β , telle que

$$\vec{I} = \beta \cdot \vec{k}$$

$$\text{où } \beta_{i,j} = -\frac{C_{i,j}}{C_{j,j} C_{i,i}} \text{ pour } i \neq j$$

$$\text{et } \beta_{j,j} = \frac{1}{C_{j,j}}$$

5.6 Cas d'un volume d'intérêt non centré sur le centre magnétique du système de gradient : effet d'un changement de repère

Les équations qui ont été décrites précédemment sont valables pour un volume (voxel ou tranche) centré sur le centre de l'aimant, le centre des axes d'acquisition correspond au centre de l'aimant. Dans le cas où le volume d'intérêt n'est pas centré sur le centre magnétique des bobines de correction, les acquisitions effectuées le long d'axes se coupent au centre du volume. La décomposition en harmoniques est alors effectuée dans un repère qui est différent du repère des bobines de correction. Il n'est donc pas possible d'utiliser directement les coefficients des harmoniques sphériques obtenus par les acquisitions pour calculer les courants de shim à appliquer. Il faut apporter des termes correctifs pour tenir compte de ce décalage.

Soit $R=(O,x,y,z)$ le repère des bobines de correction, O' le centre du volume d'intérêt, repéré par les coordonnées (x_0,y_0,z_0) dans le repère (O,x,y,z) et $R'=(O',x',y',z')$ le repère centré sur O' et de même orientation.

Un point de coordonnées (x,y,z) dans le repère R aura pour coordonnées :

$$x' = x - x_0$$

$$y' = y - y_0$$

$$z' = z - z_0$$

Les calculs des courants de shim se font à partir des coefficients des harmoniques sphériques dans le repère R . Il faut donc connaître le lien entre les coefficients calculés dans le repère R' et les coefficients dans le repère R .

Par exemple, un coefficient k mesuré pour l'harmonique sphérique $x'^2-y'^2$ dans le repère R' correspond à un champ de forme

$$\begin{aligned} & k(x'^2 - y'^2) \\ &= k[(x - x_0)^2 - (y - y_0)^2] \\ &= k[(x^2 - y^2) - 2x_0x - 2y_0y + x_0^2 + y_0^2] \end{aligned}$$

Un coefficient k constaté dans le repère R' ne correspond donc pas simplement à un coefficient k dans le repère R .

Un terme continu $x_0^2 + y_0^2$ apparaît dans l'équation. Il conduira simplement à une composante continue du champ, qui se traduit par un changement de fréquence. Ce terme n'intervient donc pas dans le calcul des courants de shim.

Un coefficient k mesuré dans le repère R' pour l'harmonique sphérique $x'^2-y'^2$ correspond donc à des coefficients :

$$\begin{aligned} & k \quad \text{pour l'harmonique sphérique } x^2-y^2 \\ & -2kx_0 \quad \text{pour l'harmonique sphérique } x \\ & -2ky_0 \quad \text{pour l'harmonique sphérique } y \text{ dans le repère } R \end{aligned}$$

De la même manière, le rapport entre le coefficient des harmoniques sphériques dans les repères R et R' peut être déterminé pour chaque harmonique sphérique.

Si les coefficients des harmoniques sphériques sont exprimés sous forme de vecteur, il est alors facile de déterminer une matrice carrée permettant d'obtenir les coefficients dans le repère R :

$$\begin{vmatrix} k_x \\ k_y \\ k_z \\ k_{z^2} \\ k_{zx} \\ k_{zy} \\ k_{x^2-y^2} \\ k_{xy} \end{vmatrix} = \begin{vmatrix} 1 & 0 & 0 & x_0 & -z_0 & 0 & -2x_0 & -2y_0 \\ 0 & 1 & 0 & y_0 & 0 & -z_0 & 2y_0 & -2x_0 \\ 0 & 0 & 1 & -2z_0 & -x_0 & -y_0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \end{vmatrix} \begin{vmatrix} k'_x \\ k'_y \\ k'_z \\ k'_{z^2} \\ k'_{zx} \\ k'_{zy} \\ k'_{x^2-y^2} \\ k'_{xy} \end{vmatrix}$$

Une fois les coefficients k ainsi recalculés, les valeurs de courants à appliquer peuvent être calculées de la même manière que précédemment.

5.7 Résultats

Cette procédure de correction automatique de l'homogénéité a été mise en place sur un aimant 7T muni d'une console SMIS. Le fourreau de shim est constitué de bobines Z^2 , ZX , ZY , X^2-Y^2 , XY ainsi que de certaines bobines de troisième ordre Z^3 , Z^2Y , Z^2X , $Z(X^2-Y^2)$, ZXY . Les harmoniques de premier ordre sont générées par l'intermédiaire du fourreau de gradient.

Etant donné que les corrections d'ordre 3 ne peuvent pas toutes être générées, le programme se limite aux calculs et corrections sur les ordres 1 et 2.

La séquence d'acquisition est basée sur une séquence développée par SMIS pour cette application. Elle a été améliorée pour prendre en compte les décalages de position puisque la séquence SMIS était limitée à des acquisitions centrées dans l'aimant.

Les données acquises sont traitées par un programme écrit en langage C++. Il permet de calculer les valeurs de courant à appliquer et également de reprendre les valeurs de courant utilisées pendant l'acquisition, de les ajouter aux corrections. Un fichier contenant les valeurs à appliquer est alors créé dans le format SMIS. Le programme est décrit en annexe.

L'utilisation du programme de correction automatique permet un grand gain de temps par rapport au réglage manuel ; en effet, la mesure des inhomogénéités dure entre une et deux minutes et le traitement est quasiment instantané.

Dans un voxel de taille $4 \times 4 \times 4 \text{ mm}^3$, le programme permet d'obtenir des largeurs de raies de l'ordre de 16 Hz, *in vivo* dans le cerveau de rat.

La Figure 5-5 présente les variations du champ magnétique mesurées par l'intermédiaire de la séquence décrite précédemment, dans les 6 orientations, avant et après l'ajustement automatique des courants. Ces mesures de champ ont été réalisées sur le cerveau d'un rat. On peut observer une nette amélioration des profils de champ sur le champ de vue.

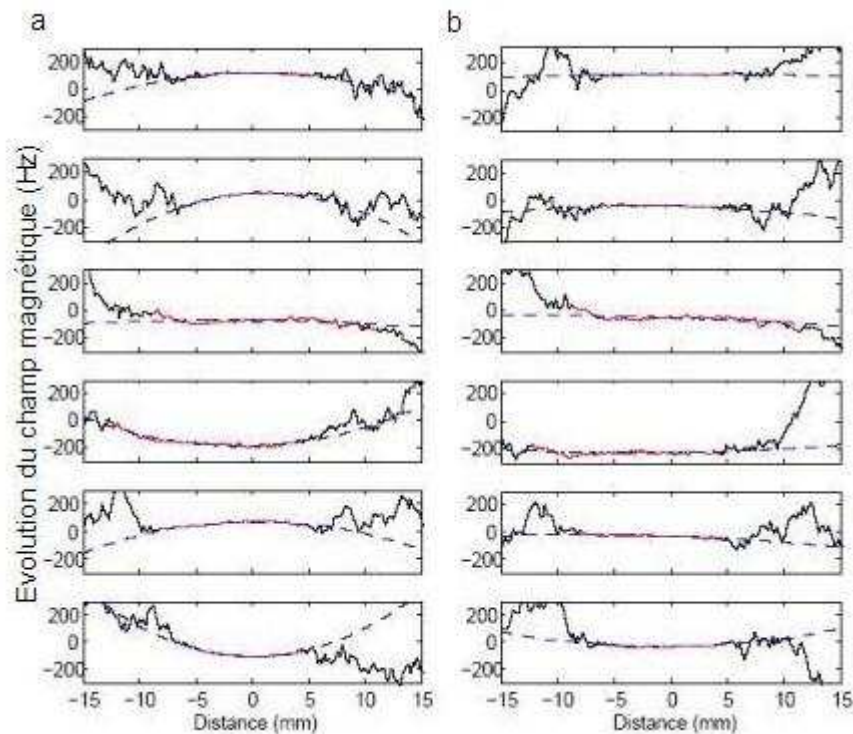


Figure 5-5. Evolution du champ magnétique le long des six axes de mesure, (a) avant correction de l'homogénéité et (b) après correction automatique

Pour une tranche, la technique de shim automatique permet d'obtenir un champ plus homogène sur l'ensemble de la tranche. Bien que la raie de l'eau provenant de l'ensemble de la tranche soit plus large que celle obtenue par un ajustement manuel, les images spectroscopiques de l'eau dans la tranche montrent que la correction automatique apporte des améliorations significatives. La raie de l'eau conserve une largeur constante sur une plus grande surface et se décale moins en fréquence. La Figure 5-6 illustre cet effet de la correction automatique sur un tube d'eau. Après traitement des données, une lorentzienne est ajustée à la raie de l'eau dans chaque voxel de l'image spectroscopique. Les images de la première ligne représentent l'image de l'aire de la raie de l'eau après ajustement automatique des courants dans les bobines de correction (a) et après un ajustement manuel (b). Avec la procédure automatique, on peut observer une meilleure homogénéité de l'aire de la raie au centre de l'échantillon ainsi qu'une meilleure définition des bords du volume sélectionné. Les images de la seconde ligne représentent l'évolution de la position de la raie de l'eau dans l'image. On peut observer que la position de la raie est plus stable avec la procédure de shim automatique. Cependant, il subsiste une évolution de la fréquence de l'eau, principalement dans la direction z. Les spectres présentés Figure 5-7 sont les spectres globaux issus du voxel de sélection PRESS utilisé pour les images spectroscopiques.

Les deux spectres présentent très peu de différences, la largeur des deux raies est identique. Cet exemple illustre bien le fait que la qualité du spectre global provenant du volume sélectionné ne reflète pas forcément la qualité du champ magnétique en chaque point de ce volume.

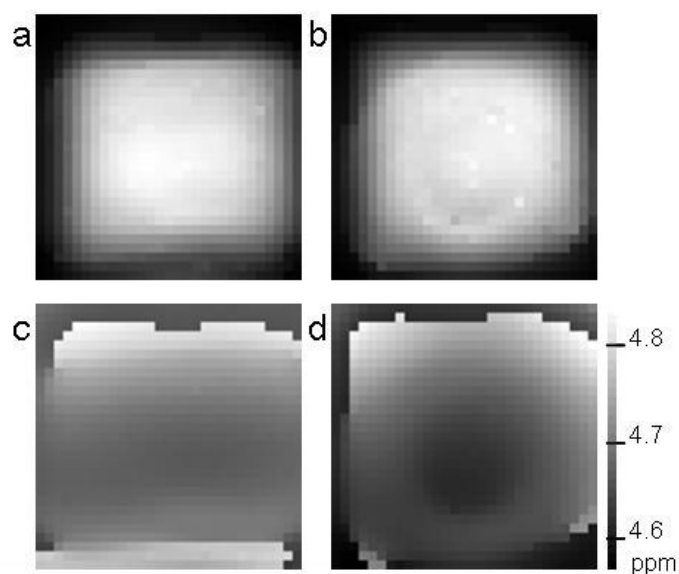


Figure 5-6. Comparaison de la qualité d'images spectroscopiques d'un volume d'intérêt sélectionné dans un tube d'eau obtenues après utilisation de la procédure de correction automatique ou après un ajustement manuel. Image de l'intensité de la raie de l'eau après correction automatique(a) ou après ajustement manuel (b). Image de la position du pic de l'eau après correction automatique(c) ou après ajustement manuel (d).

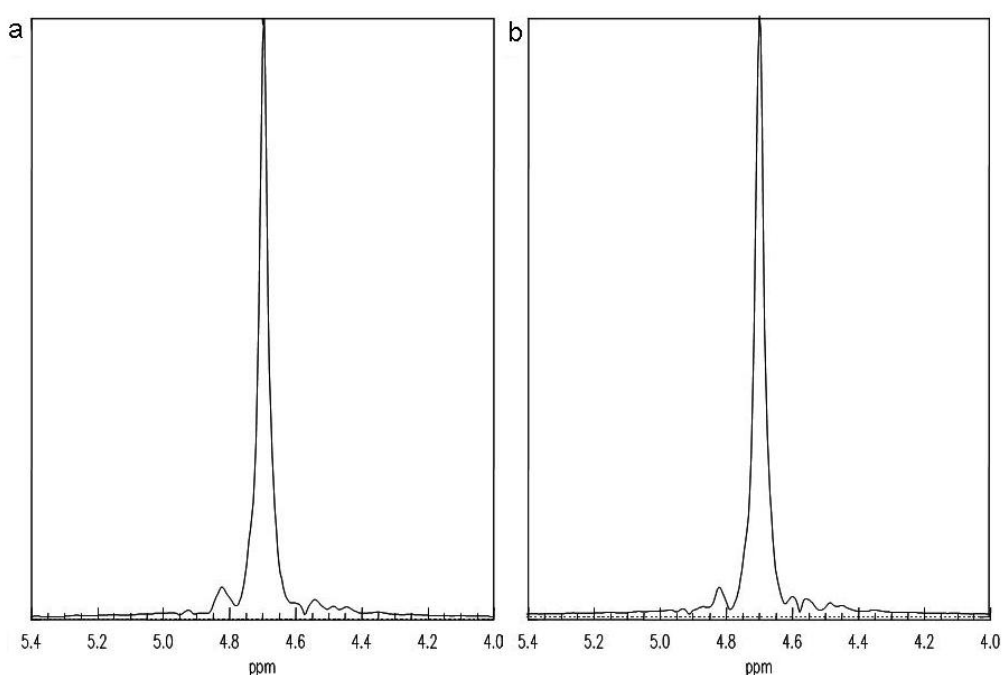


Figure 5-7. Spectres issus du volume total sélectionné pour les images spectroscopiques. Comparaison entre le spectre obtenu après l'utilisation de la procédure de correction automatique (a) et après un ajustement manuel (b)

5.8 Limitations

L'utilisation de la procédure automatique conduit souvent à appliquer des courants plus importants dans les bobines que ceux utilisés habituellement lors d'une correction par une méthode manuelle.

L'utilisation de courants importants conduit à un échauffement du fourreau. Notre système de refroidissement est insuffisant pour contrer cet échauffement. Pour ne pas risquer d'endommager le système, le temps des expériences doit donc être réduit pour ne pas atteindre une température excessive.

D'autre part, on observe une dérive de la fréquence du signal de l'eau au cours de l'expérience lorsque la procédure de shim automatique est utilisée. Cette dérive semble liée à l'utilisation de courants de second ordre importants. Cette dérive peut s'expliquer par une dérive des courants au cours du temps engendrée par une dérive de l'alimentation des bobines ou une conséquence de l'échauffement. Ce problème rend nécessaire un réajustement régulier de la fréquence de résonance.

De plus, l'alimentation des bobines impose des limites sur les valeurs de courant qui peuvent être délivrées. Ces limites peuvent être atteintes, principalement pour les bobines Z^2 et X^2-Y^2 . Dans ce cas, le courant appliqué est le courant limite, le champ n'est alors pas corrigé de manière optimale.

5.9 Possibilités d'amélioration du système

Une première amélioration serait d'utiliser les bobines d'ordre 3 qui existent sur le système. Il est facile d'étendre la méthode décrite précédemment au troisième ordre. Cependant, seules les bobines Z^3 , Z^2Y , Z^2X , $Z(X^2-Y^2)$, ZXY sont présentes dans le fourreau, les bobines X^3 et Y^3 sont inexistantes. Il est important de prendre en compte l'absence de ces bobines, en particulier pour le calcul des corrections à apporter dans le cas d'un volume d'intérêt non centré. L'utilisation des bobines de troisième ordre pourrait améliorer la qualité de l'homogénéité du champ, cependant cela conduirait à augmenter encore le courant global nécessaire pour générer ces corrections, le système étant déjà proche de ces limites en n'utilisant que le deuxième ordre, il est probable qu'il ne soit pas possible de générer ces courants supplémentaires.

Différentes améliorations pourraient être apportées pour affiner la détermination des courants à appliquer, comme par exemple l'utilisation successive de deux valeurs différentes de τ pour effectuer un premier ajustement puis l'affiner en utilisant une valeur de τ plus importante, qui permet de mesurer des inhomogénéités plus faibles.

Cependant, le problème le plus limitant est la forte sollicitation de l'alimentation et le fait que les courants limites soient atteints. Une solution serait d'utiliser un système de shim passif pour réduire les inhomogénéités de champ magnétique. Dans ce cas, on suppose que les déformations du champ magnétique sont toujours du même type et un système est conçu de manière à contrer ces déformations de manière passive. Le champ obtenu est alors déjà

homogène sans l'utilisation des bobines de shim actif. Ce type de technique est utilisé pour l'imagerie fonctionnelle chez l'homme pour réduire les inhomogénéités dues aux effets de susceptibilité magnétique induits dans les zones proches du palais. Un dispositif est alors introduit dans la bouche pour contrer les effets de susceptibilité. Différents types de système ont été développés, utilisant des matériaux diamagnétiques (28,29) ou des bobines électriques par exemple (30). Une autre méthode a été développée par C.Juchem (31) pour améliorer l'homogénéité du champ chez le singe. Dans ce cas, un système de shim passif est mis au point pour chaque animal et adapté autour de la tête de l'animal.

Ce système pourrait permettre de diminuer fortement les demandes de courant au niveau des alimentations de shim. L'échauffement du système pourrait ainsi être réduit et conduire à une plus grande stabilité du système. Cependant, ce type de système suppose soit de confectionner un système de shim passif différent pour chaque animal, ce qui paraît peu faisable dans les études sur le petit animal, soit d'utiliser le même système dans tous les cas et de pouvoir positionner l'animal de manière reproductible.

6 Préemphases

6.1 Position du problème

Pour provoquer l'effet attendu sur les spins, les formes d'ondes des gradients de champ magnétique doivent être conformes à celles qui ont été programmées. La commutation des courants dans le fourreau conduit à la création de courants induits (courants de Foucault) qui contribuent de façon transitoire au champ et aux gradients de champ. Ces courants induits sont proportionnels aux variations par unité de temps du flux magnétique. Ils sont donc induits pendant les montées et les descentes des formes d'ondes des gradients. Ils se manifestent d'une part par des contributions aux gradients programmés et d'autre part par une contribution transitoire au champ magnétique statique (Figure 6-1).

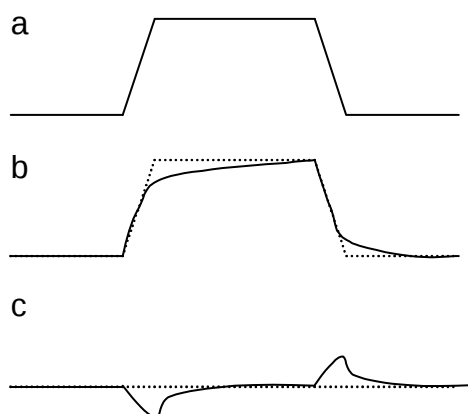


Figure 6-1. a) forme de la commande de gradient b) gradient résultant c) variations du champ magnétique statique B_0

D'autres causes peuvent provoquer une réponse des gradients différente de la commande, comme par exemple la non-linéarité des systèmes électroniques. Cependant, la mise en œuvre de systèmes électroniques de plus en plus performants (utilisation de systèmes digitaux plutôt qu'analogiques) limite ce genre de problèmes.

Pour diminuer les effets des courants de Foucault, une solution consiste à déformer la commande de manière à ce que la forme d'onde réelle des gradients soit celle qui est programmée. Un système dit de préemphases est utilisé pour réaliser une déformation à la montée et à la descente des formes d'onde des gradients. Une bobine supplémentaire permet de générer une contribution transitoire au champ magnétique statique pendant les rampes de gradient de manière à corriger les variations de B_0 induites par les courants de Foucault.

Les effets des courants de Foucault peuvent être modélisés par une interaction entre le fourreau de gradient et chacun des éléments conducteurs présents. Chacun de ces éléments peut être décrit comme un circuit composé d'une inductance et d'une résistance. Les différents

éléments sont couplés par mutuelle inductance. Le courant qui circule dans la bobine de gradient peut ainsi générer un courant dans chaque élément conducteur, qui produira alors un champ magnétique (32,33). Pour analyser ces champs, il convient de les décrire comme des sommes de fonctions exponentielles.

Les systèmes de correction classiquement utilisés sont donc basés sur des corrections exponentielles : les rampes de montée et de descentes sont multipliées par une somme d'exponentielles décroissantes (généralement trois), dont on peut ajuster le temps caractéristique et l'intensité. Le même type de correction peut être appliqué au champ statique B_0 , par l'intermédiaire d'une bobine spécifique qui génère un champ statique transitoire.

6.2 Techniques de réglage des préemphases

Il existe principalement deux types de techniques pour détecter (et ensuite corriger) les effets des courants de Foucault. La première est basée sur la mesure directe du champ induit dans l'aimant par des petites bobines placées dans l'aimant. La deuxième technique consiste à appliquer un gradient de façon transitoire puis de mesurer un signal RMN, et d'évaluer ainsi l'effet de l'application du gradient sur le signal en fonction du délai entre application et mesure. Le signal mesuré peut être simplement la FID provenant d'un échantillon homogène ou une mesure de carte de champ par exemple (34). On peut ensuite réaliser les corrections des préemphases soit de manière manuelle et itérative, soit en calculant les différentes contributions après calibration du système de corrections. Nous avons choisi d'évaluer les deux méthodes de mesure des courants induits dans l'aimant. Le réglage des préemphases passe par la détermination des constantes de temps et des amplitudes des corrections à apporter à la forme d'ondes des gradients afin de minimiser les effets des courants de Foucault. Pour cela, on commence généralement par éliminer les effets apparaissant aux temps les plus longs (constantes de temps longues), puis aux temps plus courts.

6.2.1 Première méthode : réglage des préemphases à l'aide d'un gradiomètre

La méthode décrite ici est basée sur la mesure directe des gradients de champ magnétique dans le fourreau de l'aimant par l'intermédiaire de deux bobines placées le long de l'axe du gradient. L'appareillage que nous utilisons ici a été réalisé par Villiam Senaj (35). Il se compose d'un système de bobines (Figure 6-2) reliées à un boîtier intégrateur. La tension induite dans une bobine placée dans un champ variable $B(t)$ est proportionnelle aux variations par unité de temps du champ en ce point.

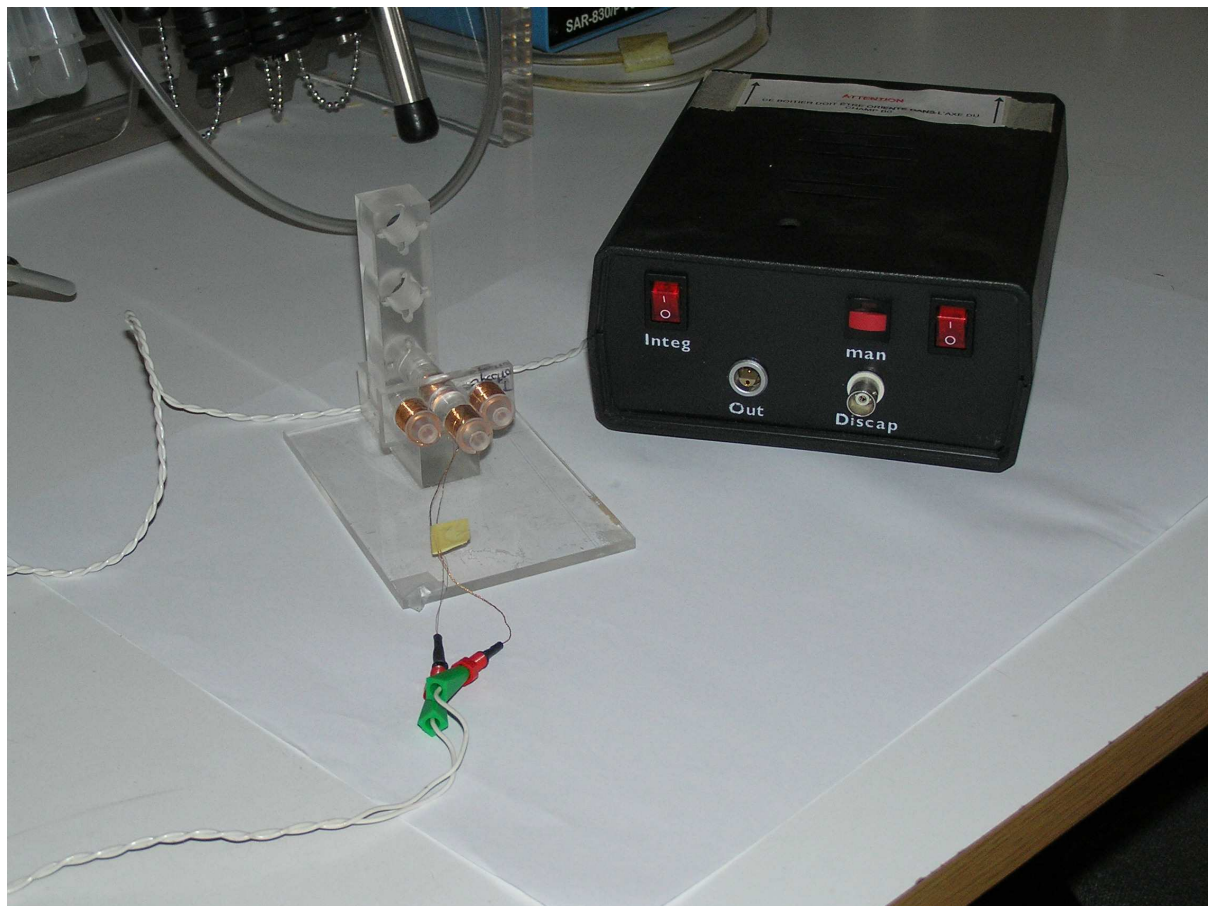


Figure 6-2. Gradiomètre et boîtier intégrateur : le gradiomètre est constitué de quatre bobines, deux bobines coaxiale placées le long de l'axe du champ magnétique statique pour mesurer les gradients dans la direction Z et deux bobines placées le long d'un axe orthogonal pour mesurer les gradients dans une direction perpendiculaire.

Si deux bobines identiques sont placées le long de l'axe selon lequel le gradient de champ magnétique est appliqué, la différence de tension entre les deux bobines est proportionnelle à la distance entre les deux bobines et aux variations par unité de temps du gradient de champ magnétique. En utilisant un système électronique qui intègre la tension différentielle entre ces deux bobines, on obtient une tension proportionnelle au gradient de champ magnétique.

Le système de bobines est placé au centre de l'aimant, en choisissant les bobines utilisées et leur orientation en fonction du gradient étudié. L'intégrateur est relié à un oscilloscope qui permettra de visualiser le gradient généré dans l'aimant.

Le gradient appliqué est choisi de durée longue de manière à pouvoir dissocier les effets de la montée et de la descente du gradient. En effet, si la durée du gradient est faible devant la durée des courants de Foucault induits, les effets observés lors de la descente du gradient seront un cumul des effets résiduels de ceux induits par la montée et de ceux induits par la descente. En pratique, les gradients sont appliqués pendant une durée de 100 à 500 ms. Des gradients intenses (60 mT/m) sont choisis pour accentuer les effets et pouvoir les corriger le plus finement possible. Les temps de montée et de descente des gradients sont ceux utilisées dans les séquences de spectroscopie (500 μ s).

6.2.2 Seconde méthode : réglages des préemphases à l'aide du signal RMN

Un gradient est appliqué, pendant un période longue devant la durée des effets de courants de Foucault. Une impulsion de 90° est appliquée à un temps variable après l'application du gradient. Le signal de précession libre est recueilli juste après l'impulsion (36). Si le gradient est parfait (pas de courants de Foucault), il n'a pas d'effet sur le signal observé, quel que soit le temps entre le gradient appliqué et l'impulsion. En présence de courants de Foucault, la raie observée après transformée de Fourier est déplacée en fréquence et élargie par rapport à la raie observée en absence de gradient.

L'effet observé sur la largeur de la raie résulte du fait que le résidu de gradient rend le champ inhomogène. L'effet sur la position de la raie provient d'une contribution au champ magnétique statique induite par les courants de Foucault. La déformation observée sur le spectre dépend du temps entre le gradient et l'impulsion (Figure 6-3).

Les durées d'application et les amplitudes du gradient sont choisies de la même manière que dans la première méthode, pour séparer les effets dus aux montées et aux descentes des formes d'onde des gradients

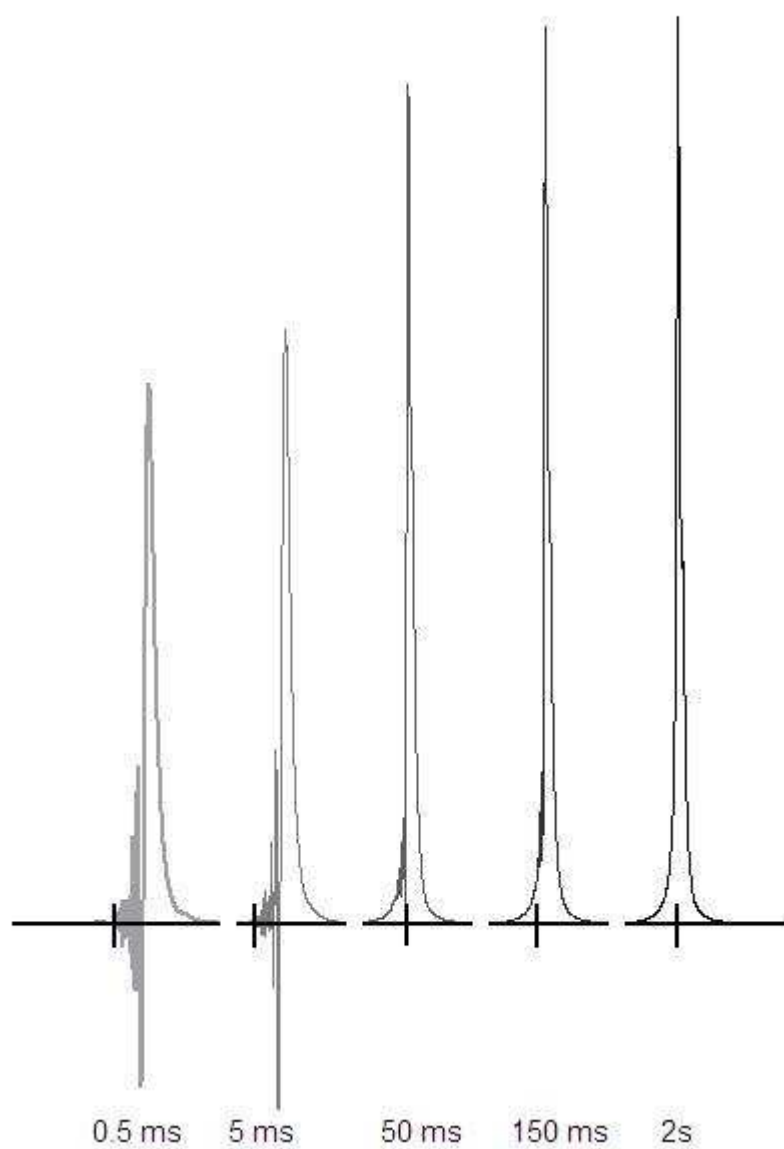


Figure 6-3. Effet, sur les spectres de l'eau, des courants de Foucault induits par un gradient appliqué avant l'impulsion d'excitation selon le délai entre la fin d'application du gradient et l'impulsion d'excitation. Aucune correction de préemphases n'a été appliquée.

6.3 Résultats

La méthode de mesure directe du gradient par le gradiomètre a d'abord été utilisée. Des exemples de ces mesures sont présentés sur la Figure 6-4.

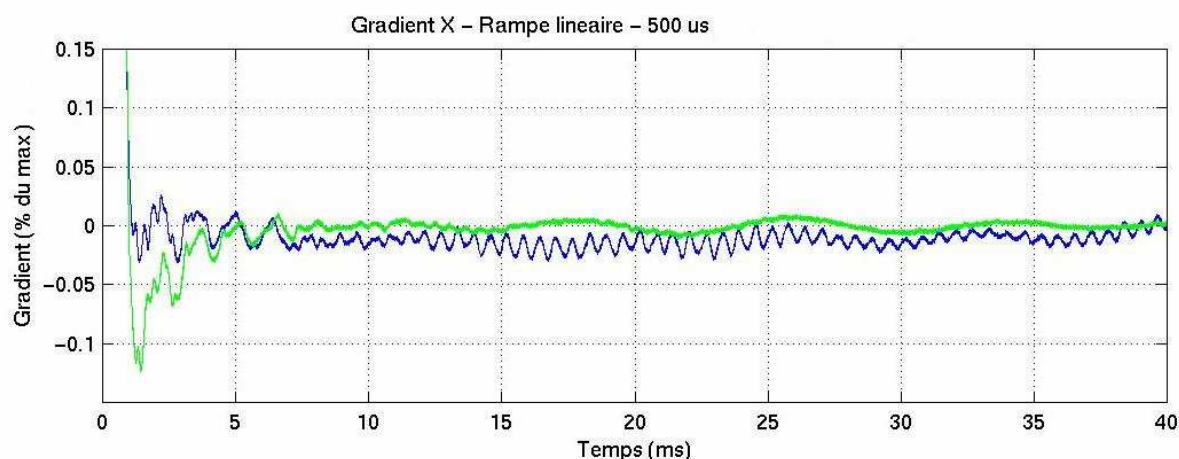


Figure 6-4. Mesure du gradient résiduel après commutation : avant (vert) et après (bleu) réglage du système de préemphases

Les réglages effectués ont permis de diminuer les effets observés après la commutation du gradient telle qu'observée à l'oscilloscope (courbe bleue par rapport à courbe verte). Cependant, lorsque l'effet du gradient sur le signal d'un échantillon est observé, aucune amélioration n'est observée (non illustré).

Devant la difficulté de régler le système de préemphases par cette technique, nous avons préféré nous intéresser directement aux effets sur le signal RMN. La Figure 6-5 montre l'allure des spectres en fonction du délai entre la fin du gradient et l'impulsion après réglage du système de préemphases. Pour une comparaison plus quantitative, l'aire de la raie de l'eau est évaluée par l'intégration sur l'ensemble du spectre. La dernière mesure effectuée avec un délai de 2 secondes entre la fin du gradient et l'impulsion est prise comme référence. La Figure 6-6 montre les résultats obtenus pour le gradient X. Le réglage permet une nette amélioration pour les durées courtes (10 ms). Cependant, des effets subsistent pendant une durée très importante (100 ms). La société Magnex a reconnu un défaut de conception du fourreau de gradients qui rend impossible ces corrections. Une opération est en cours pour remplacer cet équipement.

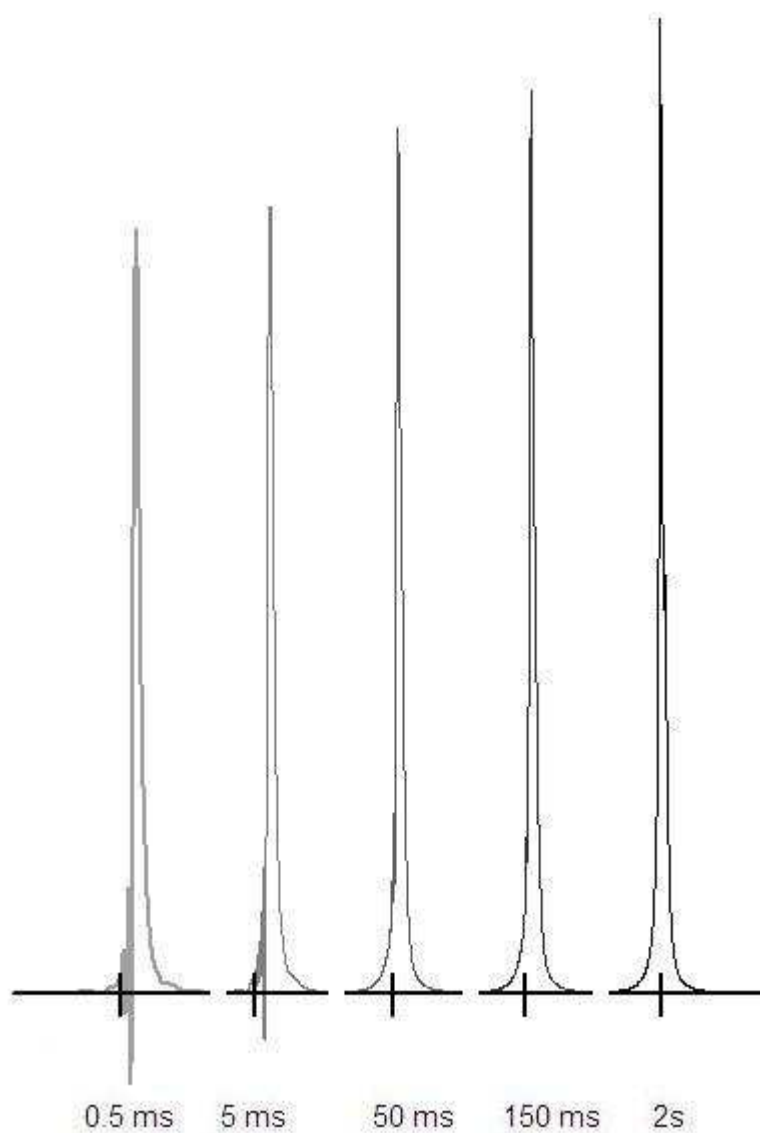


Figure 6-5. Effet, sur les spectres de l'eau, des courants de Foucault induits par un gradient appliqué avant l'impulsion d'excitation selon le délai entre la fin d'application du gradient et l'impulsion d'excitation. Mesures réalisées après réglages des préemphases

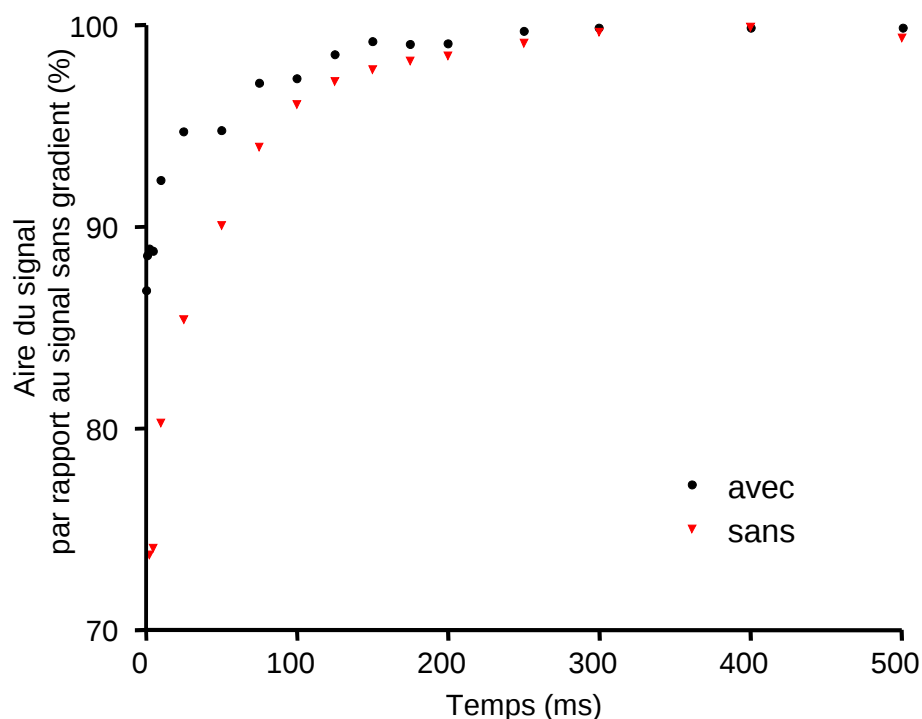


Figure 6-6. Effet d'un gradient dans la direction X sur le signal en fonction du délai entre la fin du gradient et l'impulsion. En rouge, en l'absence de correction de préemphases et en noir après réglages

6.4 Conclusion

Le système de préemphases a été réglé de manière à minimiser les effets des courants de Foucault, cependant ces réglages restent peu satisfaisants. En pratique, pour la spectroscopie avec une séquence d'acquisition de type PRESS, des déformations du spectre apparaissent à temps d'écho court. Les effets décrits lors des réglages du système de préemphases subsistent jusqu'à des temps de 100 ms environ après commutation des gradients. En pratique, avec une séquence PRESS, les effets observés sont différents. Dans ce cas, les gradients utilisés sont de durée brève (de l'ordre de 2 ms) et généralement d'intensité faible. Les courants induits sont donc également faibles. De plus, pour des gradients appliqués pendant une faible durée, les courants induits pendant les rampes de montée et de descente peuvent se compenser dans une large mesure.

Le temps d'écho minimum utilisable a été déterminé en observant l'allure des spectres obtenus. Des perturbations apparaissent pour des temps d'écho jusqu'à 30 ms environ. Pour conserver une qualité de spectres correcte dans toutes les conditions, nous avons choisi de ne pas réduire le temps d'écho en dessous de 40 ms.

7 Mesure du pH extracellulaire dans les gliomes de type C6

Le tissu tumoral se comporte de façon différente du tissu sain. Dans le tissu cérébral sain, le pH extracellulaire (pHe) est plus alcalin que le pH intracellulaire (pHi). Dans le tissu tumoral, le pHi reste sensiblement le même que dans le tissu sain ou est légèrement supérieur. Au contraire, le pHe est plus acide dans le tissu tumoral que dans le tissu sain. Le pHe peut varier en fonction du type de tumeur (37-39). Ces différences conduisent généralement à une inversion du gradient de pH entre l'extérieur et l'intérieur de la cellule. L'effet des molécules utilisées en chimiothérapie est affecté par ce gradient de pH, ces molécules étant généralement des acides ou bases faibles, le rapport entre leurs concentrations intra et extra cellulaires dépend de ce gradient de pH. Il est donc important de connaître et de prendre en compte le pHe dans le traitement des cancers (40-42). De plus, l'acidité du pH extracellulaire semble faciliter la croissance des tumeurs (43-46). L'inhibition des mécanismes de régulation du pHe dans les cellules tumorales permet de réduire la prolifération des tumeurs (43,47,48). Plusieurs mécanismes qui contribuent à cette acidification du pHe dans les tumeurs sont connus. Les protons qui sont expulsés des cellules tumorales peuvent diffuser vers les vaisseaux sanguins et donc être évacués de la tumeur. Pour maintenir un pHe plus faible que celui du sang, il faut donc une production continue de protons. Dans les tumeurs, la glycolyse est activée et la respiration mitochondriale est inhibée (44,49,50). La glycolyse produit des protons et du lactate en quantités identiques. Les protons peuvent ensuite sortir des cellules avec le lactate, soit par des cotransporteur (MCT), soit par diffusion de la forme neutre Hlact à travers la membrane bilipidique (47,51,52). La glycolyse associée à un transport de lactate peut donc expliquer une baisse du pHe et un maintien d'un pHi normal. Cependant, différents transporteurs membranaires de protons, notamment l'échangeur Na^+/H^+ de type NHE1 (fortement exprimé dans les gliomes), semblent être impliqués dans le maintien d'un pHe bas. Une mesure combinée du pHe et du métabolisme, en particulier du lactate dans les tumeurs pourrait donc permettre de mieux comprendre les mécanismes conduisant à cette acidification.

7.1 Techniques de mesure du pH extracellulaire

Différentes techniques ont été utilisées pour mesurer le pH dans les tissus. La technique qui a été le plus utilisée est la mesure par microélectrodes (53,54). Cette technique a permis de mesurer le pHe dans de nombreux tissus. Dans les tumeurs, elle a permis de montrer que le pHe était plus acide que dans le tissu sain, mais elle a aussi montré une forte variabilité entre les valeurs de pHe en fonction du type de tumeur mais aussi de la position de la microélectrode. De plus, cette méthode est invasive et n'a jamais été appliquée à des tumeurs cérébrales.

Des méthodes utilisant la spectroscopie par RMN ^{31}P ou ^{19}F ont aussi été utilisées. Ces techniques exploitent l'échange entre les formes acides et basiques d'une molécule, qui fait varier le déplacement chimique d'un atome. En spectroscopie du ^{31}P , le pHi peut ainsi être mesuré à l'aide du déplacement chimique du phosphate inorganique, molécule endogène et intracellulaire. Des molécules exogènes qui restent extracellulaires peuvent être utilisées pour mesurer le pHe, comme le 3-APP (3-aminopropylphosphonate) (55,56) ou le 2-DG-6-P (57) en ^{31}P ou le 3-[N-(4-fluor-2-trifluorométhylphényl)-sulphamoyl]-propionique acid (56,58) en ^{19}F .

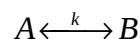
En RMN du proton des molécules exogènes, dérivées de l'imidazole ont été développées pour mesurer le pHe (59). La première molécule testée a été le ± 2 -imidazol-1-yl-3-ethoxycarbonylpropionique acid (60-62).

Les approches par spectroscopie du ^{31}P et du ^{19}F présentent l'inconvénient d'être peu sensibles et donc de nécessiter des temps d'acquisition longs et des volumes d'intérêt grands. L'utilisation de la RMN du proton permet des temps d'acquisition plus courts et l'observation de volumes plus faibles. De plus, cela peut permettre d'obtenir une comparaison avec les principaux métabolites détectés en RMN du proton dans la même expérience.

7.1.1 Principe de la mesure de pH par RMN

La mesure de pH par RMN est basée sur la différence de déplacement chimique qui peut exister entre des spins d'une molécule dans sa forme acide ou dans sa forme basique.

Soit un équilibre chimique entre deux molécules



Un spin, présent dans les formes A et B a un environnement électronique différent dans les deux formes et a donc des déplacements chimiques différents dans les deux formes (δ_A et δ_B). L'allure du spectre de la solution contenant A et B dépend de la vitesse d'échange k entre les deux formes (63). Si l'échange est lent devant la différence de déplacement chimique ($\delta_A - \delta_B$) les deux raies sont distinctes mais élargies de k/π (Figure 7-1). Si $k \approx (\delta_A - \delta_B)$ il y a coalescence, les deux raies ne se distinguent plus.

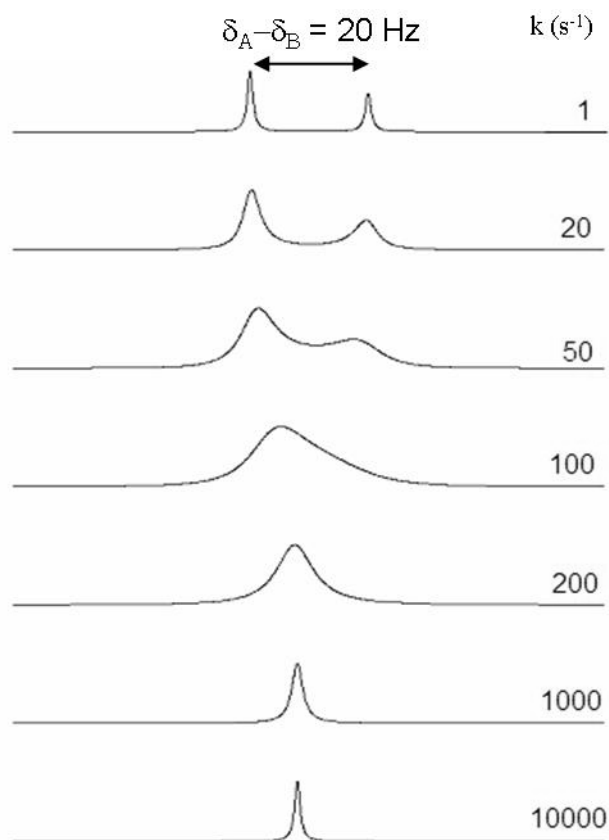


Figure 7-1. Evolution du spectre d'une solution composée de deux molécules (en proportion 2:1) en échange, en fonction de la vitesse de l'échange

Si l'échange est rapide $k \gg (\delta_A - \delta_B)$, on n'observe plus qu'une seule raie dont la position est intermédiaire entre les positions δ_A et δ_B :

$$\delta_{obs} = \frac{[A]\delta_A + [B]\delta_B}{[A] + [B]}$$

et dont la largeur est donnée par :

$$\frac{\pi(\delta_A - \delta_B)^2}{2k} + \frac{1}{\pi T_2^*}$$

Dans le cas où A/B est un couple acide/base, les concentrations de A et B sont liées au pH de la solution et au pK_a du couple acide/base

$$pK_a = pH - \log \frac{[B]}{[A]} \quad \text{équation de Henderson-Hasselbalch}$$

Le pH de la solution est donc lié à la fréquence de résonance observée.

$$pH = pK_a + \log \frac{\delta_{obs} - \delta_A}{\delta_B - \delta_{obs}}$$

Ainsi, la mesure de la fréquence de résonance d'un atome du couple peut permettre de connaître le pH de la solution.

7.1.2 IEPA et mesures de pHe par RMN ^1H

La mesure du pH extracellulaire *in vivo* par RMN du proton est basée sur la mesure du déplacement chimique d'une résonance sensible au pH. Cependant, pour pouvoir réaliser ce type de mesure *in vivo*, le couple acide/base utilisé doit répondre à un certain nombre d'exigences.

- Pour être utilisée de manière non invasive *in vivo*, la molécule ne doit pas être toxique pour l'organisme ni beaucoup perturber la physiologie.
- Les résonances des composés endogènes observées *in vivo* en RMN du proton sont nombreuses. Les résonances d'intérêt pour la mesure du pH doivent donc pouvoir se distinguer aisément des résonances intrinsèques du tissu.
- Pour ne mesurer que le pH extracellulaire, la molécule sonde doit rester cantonnée dans l'espace extracellulaire.
- Le pKa du couple acide base doit se situer dans la zone de pH à mesurer puisque la meilleure sensibilité est obtenue pour des valeurs de pH situées autour de la valeur de pKa. La différence entre les déplacements chimiques des formes acides et basiques doit être suffisamment grande par rapport à la résolution spectrale des spectres pour obtenir une valeur précise de pH.

Le ± 2 -imidazol-1-yl-3-ethoxycarbonylpropionic acid (IEPA) (Figure 7-2) présente des caractéristiques qui permettent de l'utiliser pour des mesures de pHe *in vivo*. En effet cette molécule reste cantonnée dans l'espace extracellulaire et n'est pas toxique pour l'animal. Les protons situés sur le cycle de l'imidazole présentent des déplacements chimiques compris entre 6 et 8 ppm. Cette zone de déplacement chimique est pauvre en résonances intrinsèques au tissu, ce qui facilite leur détection. De plus, ces déplacements chimiques sont sensibles au pH. Le pKa de la molécule est de 6.56.

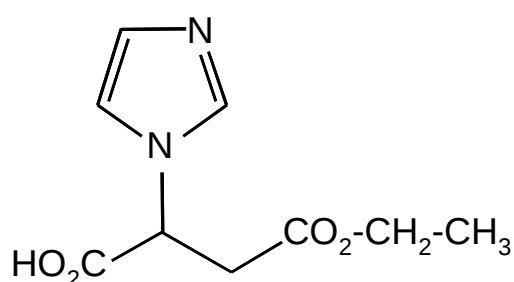


Figure 7-2. Molécule de IEPA : ± 2 -imidazol-1-yl-3-ethoxycarbonylpropionic acid

La molécule de IEPA ne traverse pas la barrière hémato-encéphalique, ce qui limite son utilisation dans le cerveau aux zones où la barrière est rompue, comme dans les tumeurs.

Une première étude a été menée par Garcia-Martin et al.(62) sur des rats porteurs de tumeurs cérébrales C6. Des images spectroscopiques ont été réalisées de manière à cartographier d'une part le pHe dans ces tumeurs et d'autre part les principaux métabolites.

Cette étude a permis de montrer la faisabilité de la technique et de comparer la répartition des métabolites avec celle du pHe dans la tumeur. Le pHe moyen observé dans les tumeurs était plus bas que dans le tissu sain mais les auteurs attendaient une corrélation spatiale entre la concentration de lactate et l'acidité extracellulaire alors que les résultats n'ont montré aucune corrélation positive.

Afin de confirmer ce résultat et essayer de l'expliquer, nous avons apporté plusieurs améliorations à la technique de mesure. La durée d'acquisition des images a été réduite par l'introduction de l'encodage spiral de l'espace k (voir chapitre 2) et la qualité des images a été améliorée par l'introduction d'une technique de shim automatique (voir chapitre 5) et d'une meilleure suppression du signal de l'eau (voir chapitre 3). D'autre part, une nouvelle molécule a été développée pour améliorer la précision sur la mesure du pHe.

7.2 La molécule de ISUCA

Le pHe moyen mesuré par le IEPA dans les tumeurs C6 est de 7.084 ± 0.017 (SE)(62). La zone de sensibilité optimale pour une sonde pH est située autour de la valeur de pKa. Le pKa de la molécule de IEPA étant de 6.56, il n'est pas le mieux adapté pour des mesures de pHe dans les tumeurs C6. Afin d'améliorer la sensibilité de la mesure, une seconde molécule a été testée, l'ISUCA : ± 2 -Imidazol-1-ylsuccinic acid (Figure 7-3). Cette molécule dont la structure est proche de celle du IEPA, présente des caractéristiques assez similaires : elle reste extracellulaire et son proton H2 présente un déplacement chimique dépendant du pH (Figure 7-4). Cependant, son pKa étant plus proche de 7, la sensibilité de la mesure devrait, en principe, être meilleure.

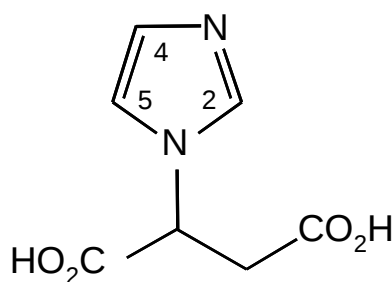


Figure 7-3. Molécule d'ISUCA : ± 2 -imidazol-1-ylsuccinic acid. Le proton H2 présente un déplacement chimique qui varie en fonction du pH

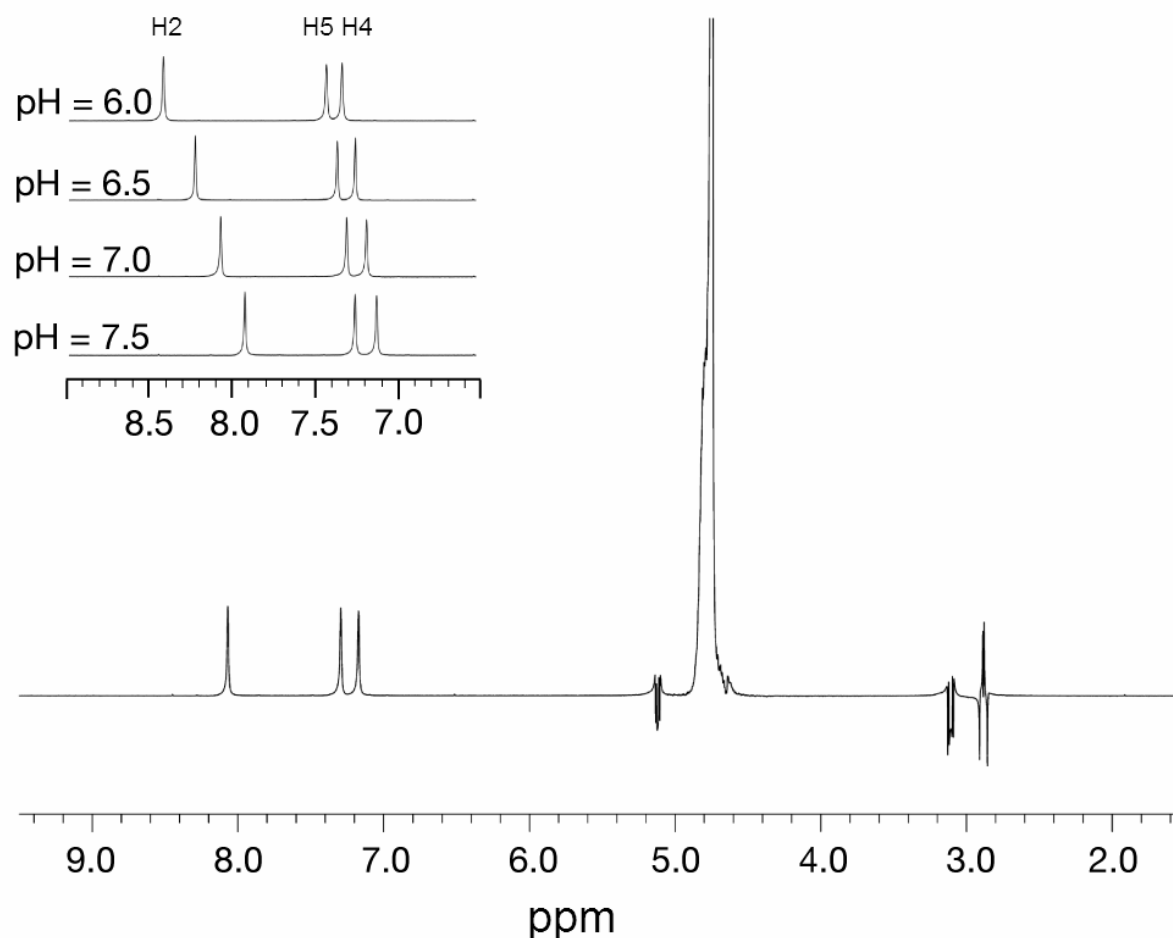


Figure 7-4. Spectre d'une solution d'ISUCA dans du sérum, et détails de la zone 6.5-9 ppm pour différentes valeurs de pH

Ce travail a été réalisé en collaboration avec les laboratoires de Sebastián Cerdán (Instituto de Investigaciones Biomédicas, CSIC, Madrid) et de Paloma Ballesteros (Laboratorio de Síntesis Orgánica e Imagen Molecular, Instituto Universitario de Investigación, Madrid). Le laboratoire de Paloma Ballesteros a développé et caractérisé la molécule d'ISUCA, le laboratoire de Sebastián Cerdán a effectué les tests préliminaires de cytotoxicité et de pharmacocinétique.

7.2.1 Courbe de titration du proton H2 de la molécule de ISUCA

7.2.1.1 Matériels et méthodes

Les expériences ont été réalisées sur un aimant de 400 MHz, équipé d'une console Bruker. Douze tubes contenant du plasma de rat, de l'ISUCA (20 mM) et du TSP deutéré (3-

(trimethylsilyl)-propionic acid d_4 , 2 mM) ont été préparés. Le pH des solutions a été ajusté par ajout d'acide chlorhydrique ou de soude de manière à couvrir une gamme de pH allant de 3.5 à 10. Le pH a été ajusté à 37°C, les spectres ont été également acquis à 37°C.

La séquence d'acquisition utilisée consistait en une impulsion de présaturation du signal de l'eau d'une durée de 3 s suivie d'une impulsion rectangulaire de 8 μ s dont l'amplitude est ajustée pour obtenir un angle de 90°. La FID était acquise avec 16384 points et une bande passante de 4000 Hz.

Pour chaque valeur de pH, un spectre a été acquis et le déplacement chimique du proton H2 déterminé. La raie du TSP a servi de référence de déplacement chimique. L'équation de la courbe de titration a été obtenue par ajustement par moindres carrés de l'équation d'Henderson-Hasselbalch.

7.2.1.2 Résultats

La Figure 7-5 montre l'évolution du déplacement chimique du proton H2 en fonction du pH.

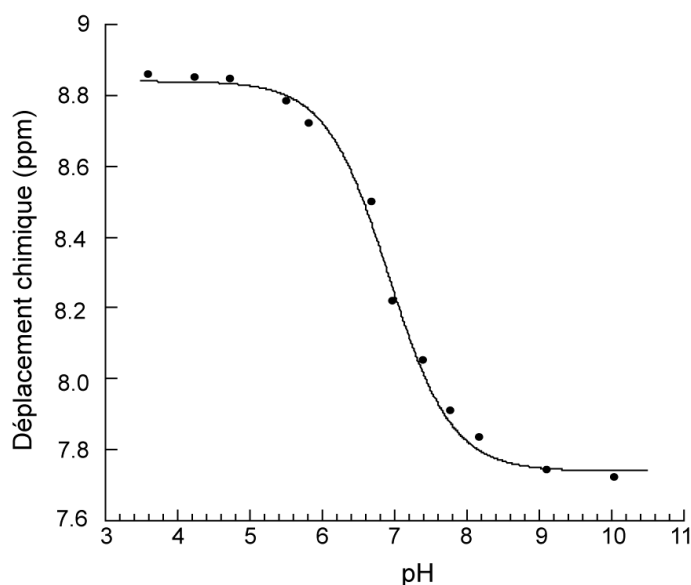


Figure 7-5. Evolution du déplacement chimique du proton H2 de la molécule d'ISUCA en fonction du pH. Les mesures sont effectuées dans du plasma de rat maintenu à une température de 37°C

L'équation de la courbe obtenue est

$$pH = 6.92 + \log \frac{\delta - 8.85}{7.75 - \delta}$$

7.2.2 Mesure des temps de relaxation T_1 et T_2 du proton H2 de l'ISUCA

Les mesures effectuées sur la molécule de IEPA (64) montraient que le T_2 du proton H2 du IEPA variait en fonction du pH. Ces valeurs se situent entre 40 et 70 ms pour un pH compris entre 6.5 et 7.5.

Les temps de relaxation T_1 et T_2 du proton H2 de l'ISUCA ont été mesurés à 37°C dans du sérum, à un pH de 7.2, par des techniques classiques d'inversion-récupération et de Carr-Purcell. Le temps de relaxation transverse T_2 est de 80.0 ± 1.5 ms (SEM, $n = 5$) et le temps de relaxation longitudinal T_1 de 1056 ± 10 ms (SEM, $n = 3$).

7.2.3 Comparaison de l'ISUCA et du IEPA

Le Tableau 7-1 donne les valeurs de pKa et des déplacements chimiques asymptotiques (δ_A et δ_B) pour les deux molécules. Les valeurs asymptotiques pour les deux molécules sont très proches, cependant, le pKa pour l'ISUCA est plus proche du pH étudié, ce qui permet d'obtenir une meilleure sensibilité. Par exemple, si on considère une zone de pH comprise entre 6.8 et 7.2, les variations de déplacement chimique observées dans cette gamme seront respectivement de 0.2 ppm pour le IEPA et 0.25 ppm pour l'ISUCA.

	pKa	δ_A (ppm)	δ_B (ppm)	T_2 (ms, pH=7.2)
IEPA	6.56	8.85	7.73	65
ISUCA	6.92	8.85	7.75	80

Tableau 7-1 : Valeurs du pKa et des déplacements chimiques asymptotiques et du temps de relaxation transverse pour les molécules d'ISUCA et de IEPA, mesurés dans du plasma de rat à 37°C

D'autre part le T_2 mesuré pour le proton H2 de l'ISUCA est beaucoup plus important que celui du proton H2 du IEPA dans les mêmes conditions. Pour des concentrations équivalentes et avec les mêmes paramètres d'acquisition, le rapport signal/bruit dans les spectres *in vivo* devrait donc être amélioré par l'utilisation de la nouvelle molécule sonde.

L'utilisation de l'ISUCA dans ces expériences devrait donc permettre d'améliorer d'une part la précision du déplacement chimique mesuré grâce à une augmentation du rapport signal/bruit, et d'autre part la précision sur la valeur de pH déduite grâce à une meilleure sensibilité du déplacement chimique de l'ISUCA dans la gamme de pH d'intérêt.

7.3 Définition du protocole d'infusion

Pour pouvoir être utilisé pour mesurer le pHe dans des tumeurs cérébrales par imagerie spectroscopique, le proton H2 de l'ISUCA doit être présent en concentration suffisante dans la tumeur pour être détectable et cette concentration doit rester suffisante pendant un temps suffisant pour permettre l'acquisition des images, soit pendant 30 minutes au moins.

7.3.1 Etude de la pharmacocinétique et de la cytotoxicité de l'ISUCA

Les études préliminaires de cytotoxicité et de pharmacocinétique ont été réalisées par le laboratoire de Sebastián Cerdán.

7.3.1.1 Cytotoxicité

Les études de cytotoxicité de l'ISUCA ont été réalisées *in vitro*, sur des cellules de culture. L'état des cellules était déterminé en mesurant la quantité de lactate dehydrogenase (LDH) relargué dans le milieu de culture lorsque de l'ISUCA était incubé dans le milieu de culture des cellules. En effet, les cellules non viables deviennent perméables aux grosses molécules, comme la LDH. Ainsi, la présence de LDH dans le milieu est un signe de mort cellulaire. (l'absence de LDH dans le milieu étant un signe de viabilité des cellules).

L'étude de cytotoxicité a été effectuée sur des cultures de cellules C6 incubées avec différentes concentrations d'ISUCA allant de 5 à 100 mM.

Une libération de LDH n'a été mise en évidence qu'après 6 h d'incubation avec une concentration supérieure à 50 mM.

7.3.1.2 Pharmacocinétique

Des études pharmacocinétiques ont été réalisées pour déterminer un protocole d'infusion d'ISUCA permettant d'obtenir des concentrations suffisantes d'ISUCA dans le sang, sans présenter d'effets nocifs.

Les expériences ont été menées sur des rats mâles Wistar de 200-250 g, anesthésiés avec de la xytazine (8 mg.kg⁻¹) et de la kétamine (80 mg.kg⁻¹) par voie intrapéritonéale. L'ISUCA est injecté par la veine jugulaire droite. Des prélèvements de sang ont été réalisés toutes les 10 minutes dans la veine jugulaire gauche (0.2 mL). Des échantillons d'urine étaient aussi prélevés toutes les 5 minutes. Les échantillons étaient ensuite analysés par HPLC pour déterminer la concentration d'ISUCA.

Différents protocoles ont été testés pour obtenir de manière rapide une concentration stable d'ISUCA dans le plasma, puis maintenir cette concentration sur une certaine durée. Après analyse de l'évolution des concentrations d'ISUCA dans le plasma pour les différents protocoles, le choix s'est porté sur un protocole en deux phases. La solution d'ISUCA 2 M est préparée dans de l'eau, le pH est ajusté à 7.2 par ajout de NaOH. Dans la première phase, l'ISUCA est injecté avec un débit de 0.33 mmol.min⁻¹.kg⁻¹ pendant 20 minutes, puis dans la deuxième phase, le débit est réduit à 0.2 mmol.min⁻¹.kg⁻¹ pendant 40 minutes.

Le même protocole a été testé avec le IEPA, afin de comparer la cinétique des deux molécules.

Les résultats pour ce protocole sont présentés dans la (Figure 7-6). La concentration plasmatique d'ISUCA augmente rapidement en 10 minutes pour atteindre un plateau autour de 45 mM puis se stabilise. La concentration dans l'urine semble assez stable pendant l'infusion et diminue lentement après l'arrêt de l'infusion.

En comparaison, le IEPA augmente plus lentement et atteint un plateau de concentration plus faible (30 mM environ). Les concentrations urinaires sont globalement plus importantes que celles de l'ISUCA, mais aussi très variables.

Pour un même protocole, l'ISUCA devrait donc permettre d'obtenir des concentrations plus importantes dans le cerveau.

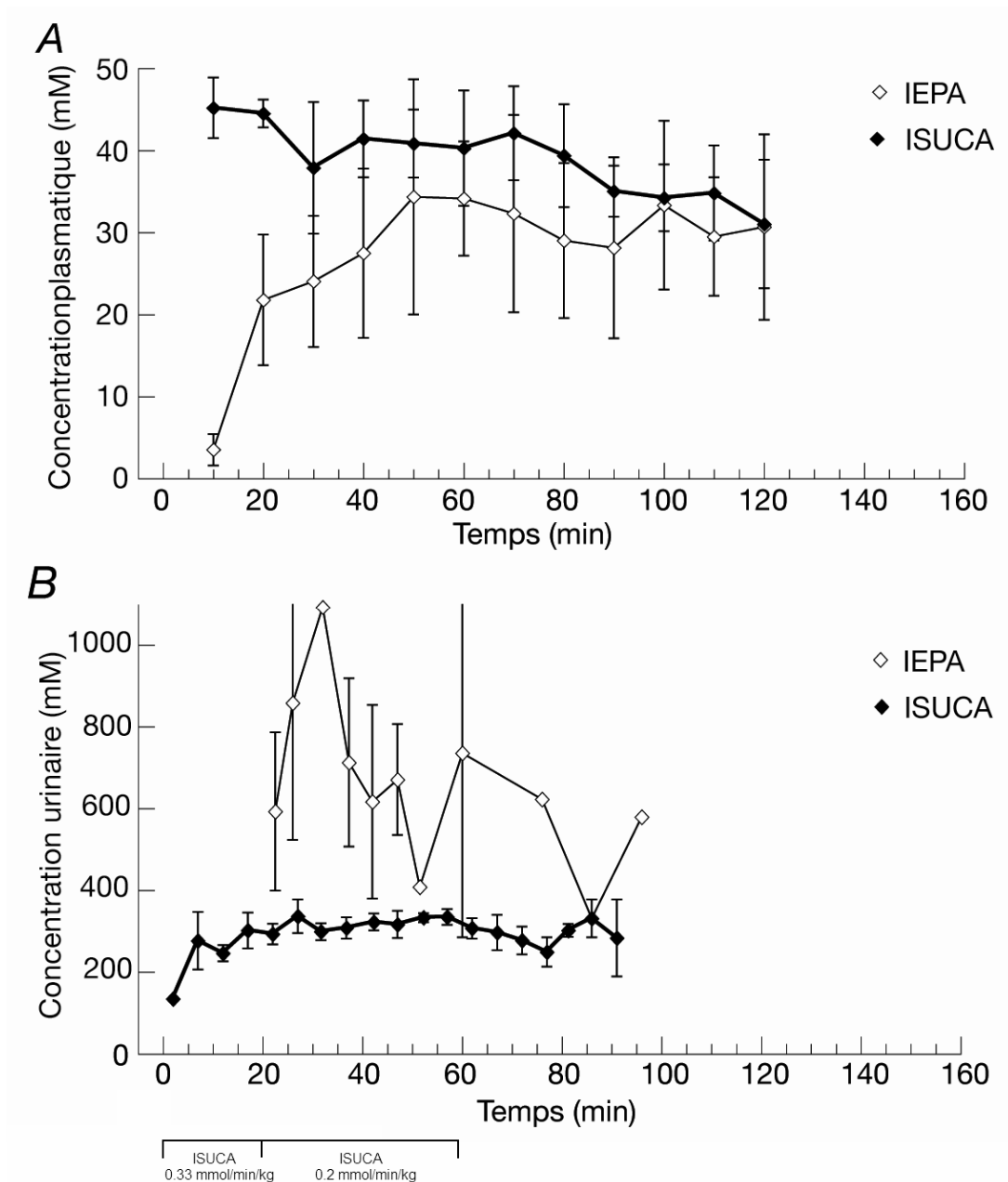


Figure 7-6. Evolution des concentrations plasmatiques (A) et urinaires (B) d'ISUCA ou de IEPA, mesurée par HPLC pendant le protocole d'infusion. Les barres d'erreur correspondent à l'erreur sur la moyenne (SEM), n=3, sauf pour les points sans barre d'erreur (n=1)

7.3.2 Etude du protocole par spectroscopie monovoxel *in vivo*

Le protocole ainsi défini a ensuite été testé sur des rats porteurs de tumeurs C6. Des spectres localisés dans la tumeur ont été acquis tout au long de l'infusion de manière à déterminer si les quantités d'ISUCA dans la tumeur étaient suffisantes pour les mesurer par imagerie spectroscopique, et à partir de quelle durée cette concentration était suffisante.

Le protocole définitif utilise une solution d'ISUCA moins concentrée (1 M), les quantités injectées (adaptées en fonction du poids du rat) sont identiques, soit $0.33 \text{ mmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$ pendant 20 minutes puis $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$. Le protocole doit permettre l'acquisition d'images spectroscopiques de l'ISUCA sur une durée de 3h environ après le début de l'infusion. La durée de l'infusion a donc été allongée à deux heures au total.

7.3.2.1 Implantation des tumeurs C6

Des gliomes ont été induits dans les cerveaux de mâles Wistar par l'injection des cellules tumorales C6 obtenues à partir d'un gliome malin chimiquement provoqué dans un cerveau de rat (ATCC, The Global Bioresource Center).

Une dose de $5 \mu\text{l}$ de cellules C6 en suspension (10^5 cellules, préparées dans du milieu DMEM (Dubelcco's Modified Eagle Medium, Life Technologies) contenant 2 % de glutamine et 1 % d'antibiotiques supplémentaires) a été injectée de manière stéréotactique 3.5 mm en-dessous de la dure-mère dans le noyau caudé droit de chacun des cerveaux des rats.

7.3.2.2 Préparation des animaux pour les expériences RMN

Les animaux ont été anesthésiés par de l'isoflurane 5 % dans un mélange d'air et d'oxygène (80 % / 20 %) puis maintenus sous anesthésie avec de l'isoflurane (1.5 - 2.5 %). Des cathéters étaient placés dans la veine et l'artère fémorale. Une trachéotomie était ensuite réalisée pour pouvoir maintenir la respiration des animaux par un ventilateur.

La pression artérielle, la température rectale et la respiration étaient contrôlées pendant toute l'expérience. La température rectale était maintenue à 37°C par un système de régulation couplé à une circulation d'eau chaude placée sous le rat.

7.3.2.3 Spectroscopie monovoxel

Les rats étaient ensuite placés dans un berceau, la tête maintenue par des barres d'oreille. Une bobine de surface de diamètre 25 mm était alors placée au-dessus de la tête de l'animal.

Des images de repérages ont été réalisées avec une séquence d'écho de spin, pondérée en T_2 , avec un temps d'écho de 80 ms et un temps de répétition de 3000 ms. Neuf tranches de 1 mm ont été acquises dans une orientation coronale puis neuf tranches en orientation transverse.

A partir de ces images, un voxel de $4 \times 4 \times 4 \text{ mm}^3$ était positionné dans la zone tumorale. La séquence d'acquisition utilisée est la séquence PRESS avec un temps d'écho de 40 ms, les caractéristiques détaillées de la séquence sont décrites dans le chapitre 2. La suppression d'eau est réalisée par un module de type VAPOR (voir chapitre 3). Quarante-vingt accumulations sont réalisées, la durée d'acquisition est alors de 4 min 30 s ($TR = 3.3 \text{ s}$), 4096 points sont acquis avec une bande passante de 10 kHz.

Après ajustement des paramètres de la séquence de spectroscopie, un premier spectre était réalisé avant de commencer l'infusion d'ISUCA. Des spectres étaient ensuite acquis toutes les 5 minutes pendant toute la durée de l'infusion. Entre chaque spectre avec suppression d'eau, un spectre de l'eau était acquis pour mesurer la fréquence de résonance de l'eau et modifier les fréquences d'émission et de réception en cas de variations.

A la fin de l'expérience, des images pondérées T_1 après injection d'un agent de contraste ont été acquises pour vérifier la perméabilité des vaisseaux tumoraux. Les images ont été réalisées avec une séquence d'écho de spin, avec un temps d'écho de 30 ms et un temps de répétition de 500 ms. Les images ont été réalisées en orientation transverse, les tranches étaient positionnées de la même façon que pour les images pondérées en T_2 . Une première série d'images était réalisée puis 0.5 mmol.kg^{-1} de Gd-DOTA était injecté par la veine fémorale. Une série d'images était acquise juste après l'injection puis toutes les 30 secondes.

7.3.2.4 Traitement des données

Après un zéro-filling pour obtenir 8192 points, un filtre temporel de type lorentzien, de largeur 8 Hz est appliqué, le spectre est enfin obtenu par transformée de Fourier. Les trois raies de l'ISUCA sont ajustées par des lorentziennes de manière à estimer leur aire. La distinction entre les raies H4 et H5 n'étant pas toujours évidente, étant données leurs positions proches, la somme des aires des deux raies est réalisée.

7.3.2.5 Résultats

La Figure 7-7 montre l'évolution des spectres dans la zone 6 à 9 ppm au cours du temps. Les raies commencent à apparaître à partir de 15 minutes après le début de l'infusion. La raie H2 peut être quantifiée au bout de 20 minutes pour tous les animaux (Figure 7-8). La concentration d'ISUCA continue à augmenter tout au long de l'infusion et reste stable pendant les trente minutes suivant l'arrêt de l'infusion. Ceci peut s'expliquer par une diffusion progressive de l'ISUCA de la périphérie de la tumeur, bien perfusée, vers son centre.

7.3.3 Conclusion

Le protocole d'infusion ainsi défini permet à l'ISUCA d'atteindre une concentration plasmatique assez stable pendant une durée supérieure à 2h. Cette concentration est en dessous de la limite de toxicité de l'ISUCA. L'ISUCA pénètre bien dans les tumeurs C6 et peut être détecté par spectroscopie localisée au bout de 15 à 20 minutes. Pour assurer une bonne qualité des images spectroscopiques, nous attendrons 50 minutes après le début de l'infusion pour réaliser les images spectroscopiques.

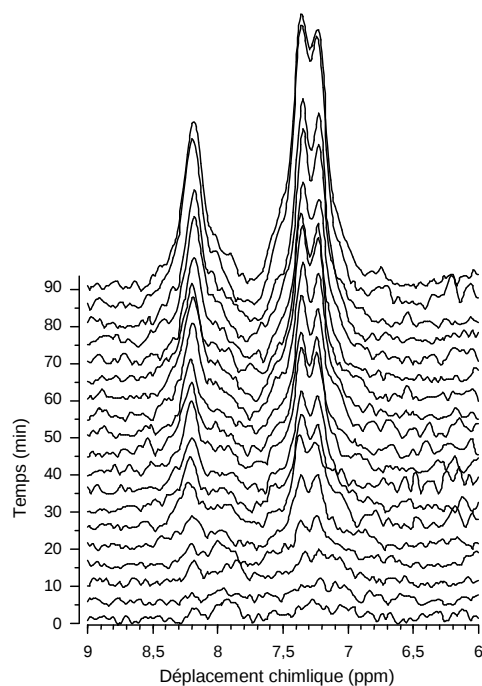


Figure 7-7. Evolution des spectres acquis dans un voxel contenant la tumeur (TE=40ms) dans la zone 6 à 10 ppm, pendant l'infusion de la molécule d'ISUCA

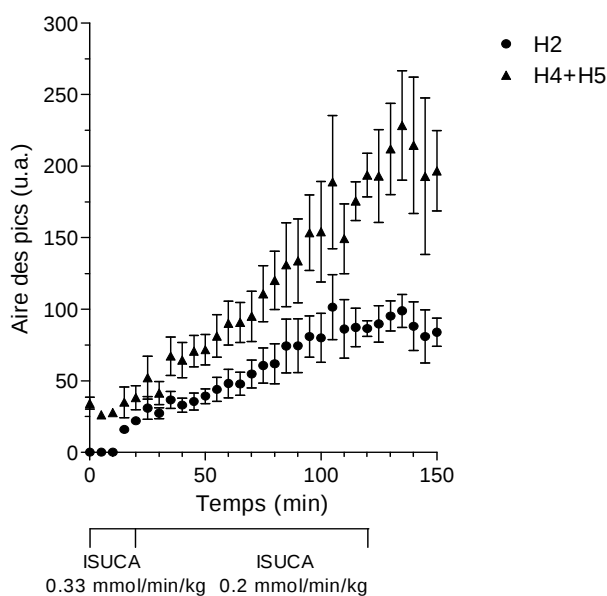


Figure 7-8. Evolution de l'aire des raies du cycle de l'ISUCA en fonction du temps, pendant une infusion, dans un voxel contenant la tumeur. Les pics H4 et H5 étant difficiles à distinguer in vivo, la somme des deux pics est représentée. Les barres d'erreur correspondent à l'erreur sur la moyenne. L'expérience est réalisée sur 8 animaux mais toutes les valeurs n'ont pas pu être déterminées pour chaque animal

7.4 Imagerie spectroscopique des métabolites et du pH extracellulaire

La diminution du pH extracellulaire dans les tumeurs est difficile à expliquer. Elle a probablement différentes causes. Une hypothèse pour expliquer cette diminution est basée sur la production de lactate. En effet, dans la plupart des tumeurs, une augmentation de la production de lactate est observable. Le lactate est produit dans les cellules et sort des cellules sous forme neutre. Il serait alors dissocié dans l'espace extracellulaire en lactate et un proton. Une augmentation de la production de lactate pourrait donc être à l'origine d'une augmentation du nombre de protons dans l'espace extracellulaire, c'est-à-dire d'une diminution du pHe. Les premières expériences menées avec la molécule de IEPA ont permis de cartographier sur le même animal, le pHe et les principaux métabolites, en particulier, le lactate. L'objectif des expériences menées avec l'ISUCA est dans un premier temps de confirmer les résultats obtenus précédemment, et dans un deuxième temps de mieux comprendre les mécanismes de l'acidification du pHe en observant les effets d'une infusion de glucose, d'une part sur le pHe et d'autre part sur la production de lactate.

7.4.1 Protocole expérimental

Les études ont été menées sur des rats porteurs de tumeurs C6, le protocole d'implantation, ainsi que de préparation des animaux pour le suivi IRM était le même que celui décrit dans le paragraphe 7.3.2, pour la définition du protocole d'infusion.

Deux types d'images spectroscopiques ont été acquises, soit avec un temps d'écho de 136 ms, en 12 min, pour observer les métabolites, soit avec un temps d'écho de 40 ms, en 25 min, pour cartographier la molécule d'ISUCA et donc le pHe. Avant chacune des acquisitions, une image spectroscopique dans les mêmes conditions mais sans suppression d'eau était réalisée pour servir de référence.

Dans un premier temps, des images pondérées T_2 ont été acquises avec une séquence spin-écho ($TE = 80$ ms, $TR = 3$ s), dans les directions coronales et transverses de manière à positionner le volume d'intérêt ($15 \times 15 \times 3$ mm³ dans le plan transverse). Après ajustement des différents paramètres des séquences d'acquisitions, des images spectroscopiques étaient acquises, à temps d'écho court pour vérifier la qualité de l'image et vérifier l'absence de résonance dans la zone 7-9 ppm, et à temps d'écho long pour la mesure des métabolites. L'infusion d'ISUCA était alors amorcée, avec le protocole décrit précédemment. Après 50 minutes d'attente, deux images successives à temps d'écho court étaient réalisées. Ces deux acquisitions étaient réalisées pour vérifier si la concentration d'ISUCA a une influence sur le pHe mesuré. L'infusion d'ISUCA était alors arrêtée et remplacée par une infusion de glucose (0.2 mmol.min⁻¹.kg⁻¹). Après 30 minutes, une image à temps d'écho court et une à temps d'écho long étaient acquises successivement. Enfin, une injection de Gd-DOTA, suivie d'acquisitions d'images pondérées T_1 ($TE = 30$ ms, $TR = 500$ ms) étaient réalisées.

Dans ce qui suit, les différentes images sont nommées pH pour les images à temps d'écho court et Met pour les images à temps d'écho long. La première acquisition à temps d'écho long est nommée Met(pre), les deux images successives acquises après infusion d'ISUCA, pH1 et pH2 et les images acquises pendant l'infusion de glucose Met(glc) et pH(glc) (Figure 7-9).

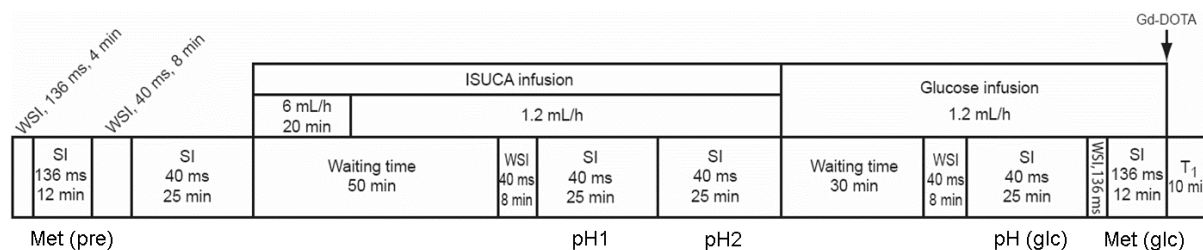


Figure 7-9. Protocole décrivant les infusions et les acquisitions réalisées.

7.4.2 Acquisitions et traitement des données

Caractéristiques de la séquence d'imagerie spectroscopique pour l'ISUCA

Le proton H2 de l'ISUCA a un temps de relaxation T_2 relativement court (80 ms). Il est donc nécessaire d'utiliser un temps d'écho court pour pouvoir l'observer, d'autant plus que les concentrations obtenues dans la tumeur restent faibles. Le temps d'écho choisi pour les images de l'ISUCA est de 40 ms.

Les caractéristiques détaillées de la séquence sont données dans le chapitre 2. Brièvement, la séquence est constituée d'un module PRESS suivi de gradients d'encodage spiraux. Quatre entrelacements spatiaux et 32 entrelacements temporels sont réalisés. Une première acquisition est réalisée pour obtenir l'image spectroscopique de l'eau en 6 min 30 s. Le module de suppression d'eau (voir chapitre 3), entrelacé avec des modules OVS, est ajouté pour l'image spectroscopique de l'ISUCA. Quatre accumulations sont réalisées, pour donner un temps d'acquisition de 25 min 42 s.

Caractéristiques de la séquence d'imagerie spectroscopique pour les métabolites

Le temps d'écho choisi pour les métabolites est de 136 ms. Ce temps d'écho a été choisi pour améliorer la séparation entre le lactate et les lipides. Le doublet du lactate situé à 1.3 ppm est inversé à ce temps d'écho alors que la raie des lipides mobiles (1.2 ppm) reste positive. Dans ce cas, 2 entrelacements spatiaux et 32 entrelacements temporels sont réalisés. Pour chaque acquisition, une image de l'eau est réalisée en 3 min 18 s, puis une image avec suppression d'eau est réalisée, avec 4 accumulations, en 12 min 54 s.

Les puissances des impulsions RF de la séquence PRESS, du module de suppression d'eau et des modules OVS sont réglés indépendamment pour les deux séquences d'acquisition.

Traitement des données

Les images spectroscopiques sont reconstituées en utilisant un programme écrit en C++, développé par Bassem Hiba pendant sa thèse (14). Les trajectoires calibrées sont utilisées dans chaque cas pour reconstruire l'espace k . Un filtre de Hanning ainsi qu'un zéro-filling sont réalisés dans les deux directions spatiales. Un filtre gaussien avec une apodisation de 8 Hz ainsi qu'un zéro-filling sont réalisés dans la direction spectrale pour obtenir 1024 points. Dans les deux cas, la résolution spatiale finale est de 0.5 mm.

De manière à corriger les inhomogénéités de champ et les effets de courant de Foucault dans les images, les images de l'eau seront utilisées comme référence pour corriger les images des métabolites, par déconvolution (65,66).

La quantité de signal obtenu pour les raies de l'ISUCA étant relativement faible, les images spectroscopiques à temps d'écho court seront analysées en magnitude. Par contre, les images spectroscopiques à temps d'écho long seront traitées en utilisant les données complexes.

Les différents métabolites sont quantifiés en utilisant un programme sous IDL, permettant de faire un ajustement des différentes raies par des lorentziennes. Dans tous les cas, le seuil de détection des raies est fixé à deux fois le rapport signal sur bruit. Dans le cas des images à temps d'écho court, les raies H2, H4 et H5 sont quantifiés simultanément. Le déplacement chimique de la raie H2 dans chaque voxel permet de déduire la valeur du pHe en chaque point.

Dans le cas des images à temps d'écho long, la choline (3.0 ppm), la créatine (3.2 ppm), le NAA (2.0 ppm), le lactate (1.3 ppm, doublet inversé) et les lipides (1.23 ppm) sont quantifiés de manière simultanée, en considérant que les largeurs des différentes raies sont identiques. L'aire des différentes raies permet de reconstituer des images des différents métabolites. Lorsque la présence de lipides est détectée, le lactate n'est pas quantifié, afin d'éviter une mauvaise estimation de la quantité de lactate due à la superposition des deux raies. La quantification est réalisée sur l'ensemble de l'image spectroscopique acquise. Une quantification de la choline, de la créatine et du NAA est aussi réalisée sur les images acquises à temps d'écho court, de manière à vérifier la qualité des images. Cependant, la qualité des images étant supérieure à temps d'écho long pour les métabolites (présence de lipides et moins bonne suppression d'eau), les images à temps d'écho long seront utilisées pour toutes les quantifications réalisées sur les métabolites (valeurs moyennes, corrélation).

7.5 Résultats

Pour les expériences d'imagerie spectroscopiques, des tumeurs ont été implantées sur 24 animaux. Les animaux ont ensuite été choisis sur la base d'images pondérées T_2 . L'expérience a été réalisée au total sur 18 animaux. Cependant, le protocole complet nécessite 5h. Cette durée est très importante à la fois pour l'animal, déjà affaibli par sa tumeur, mais aussi pour le spectromètre. Parmi ces animaux, certains n'ont pas survécu pendant toute la durée de l'expérience, pour d'autres, des problèmes de chirurgie n'ont pas permis de réaliser l'infusion d'ISUCA correctement. Pour d'autres animaux, des problèmes d'échauffement du système de

gradient nous ont obligé à arrêter l'expérience. Finalement, 5 animaux présentent des données exploitables. Quatre animaux ont subi le protocole complet, pour le dernier, l'expérience a été arrêtée avant l'infusion de glucose en raison d'un échauffement du système de gradients.

D'après les images pondérées T_2 et T_1 après injection de Gd-DOTA, ainsi que d'après les coupes histologiques réalisées, on peut remarquer que les tumeurs étaient de taille et de comportements différents (Figure 7-10). Les rats Y66 et Y71 présentaient des tumeurs de petite taille, celle du rat Y71 était très nécrotique au centre alors que celle du rat Y66 ne l'était pas. Les trois autres présentaient des tumeurs plus grosses. Chez le rat Y49, il y avait peu de nécrose alors qu'elle était importante au centre chez les rats Y89 et Y92.

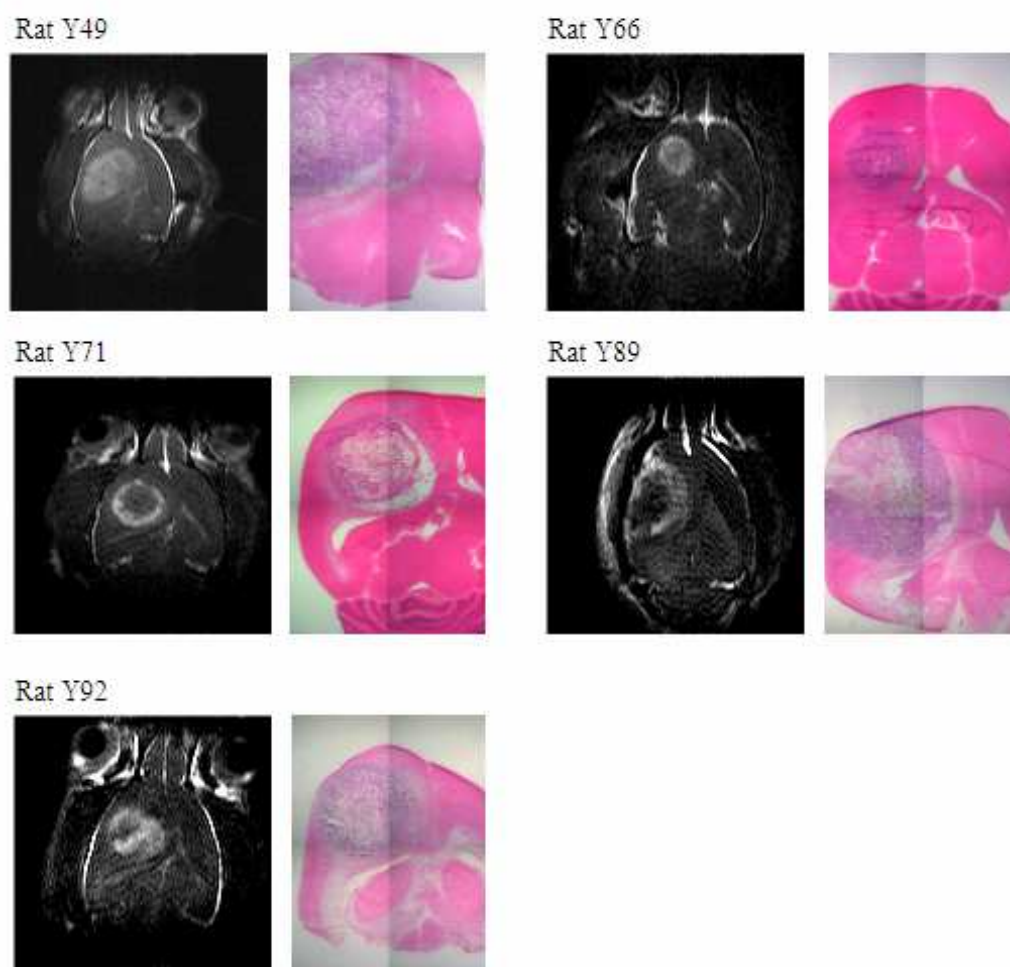


Figure 7-10. Images pondérées T_1 et coupes histologiques pour les cinq animaux étudiés.

La Figure 7-11 montre des exemples de spectres issus des acquisitions pH2 et Met(pre). Dans les zones tumorales, les pics d'ISUCA sont bien visibles sur les spectres à temps d'écho court (c, d). Sur les spectres à temps d'écho long, du lactate (f, g) et parfois des lipides (f) sont

présents. Le spectre f est un exemple de spectre où la quantification du lactate n'est pas réalisée en raison de la contamination possible par les lipides. Dans le tissu sain, aucune présence d'ISUCA n'est détectée (e) alors que NAA, tCho et tCr sont présents (e et h).

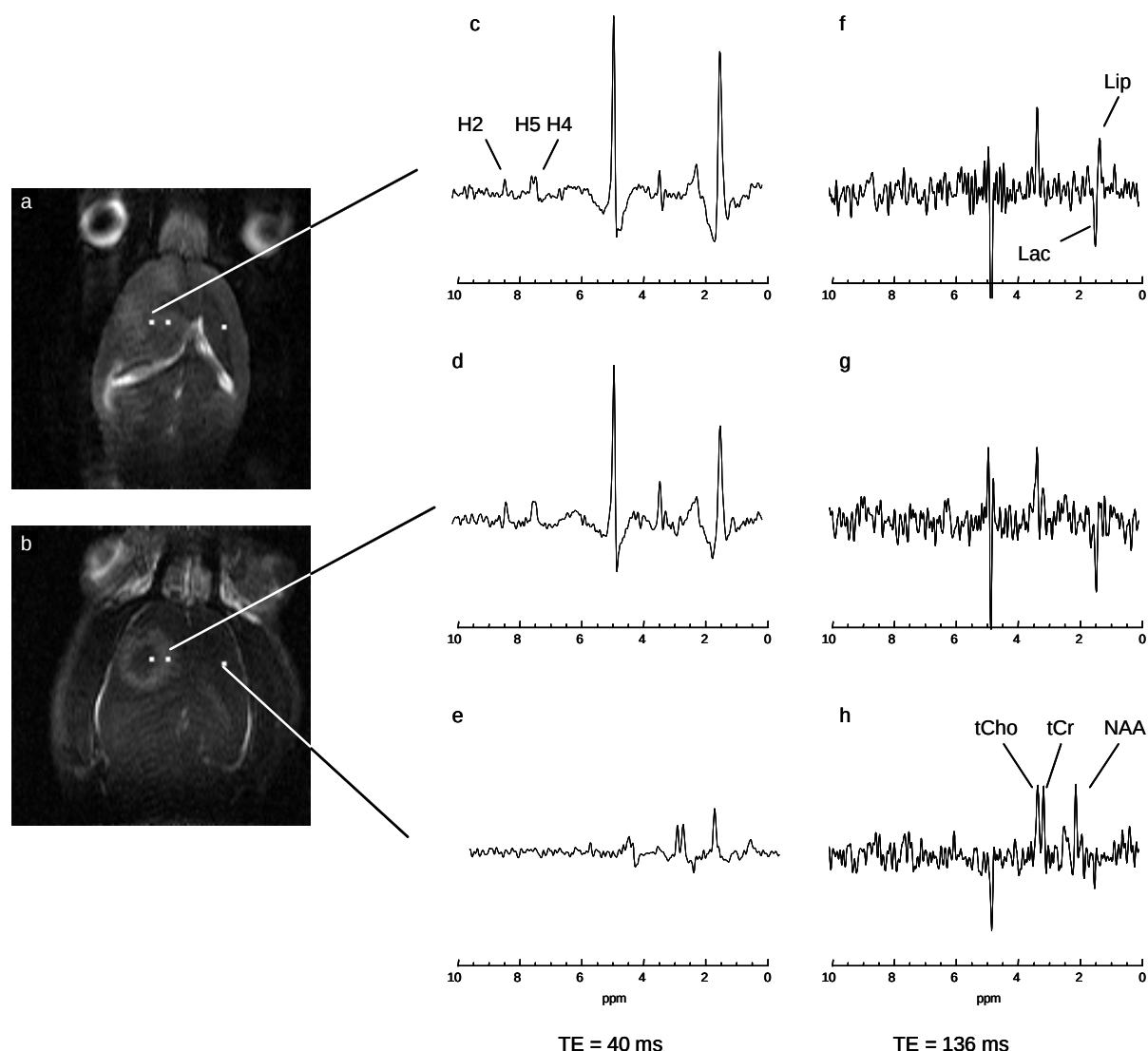


Figure 7-11. Exemples de spectres issus des images spectroscopiques acquises avec des temps d'écho de 40 ms et 136 ms : Images pondérées T₂ (a) et pondérée T₁ après injection de Gd-DOTA (b), spectres issus des images spectroscopiques TE=40 ms et spectres issus des images spectroscopiques TE=136 ms dans trois zones caractéristiques : zone tumorale nécrotique (c, f), zone tumorale non nécrotique (d, g) et tissu sain (e, h)

7.5.1 Cartes des métabolites

Les images spectroscopiques acquises à temps d'écho long permettent de reconstruire les cartes de concentration des principaux métabolites : tCho, tCr, NAA et lactate. Ces cartes permettent de retrouver des distributions des métabolites semblables à celles décrites dans de précédentes études (62,67) dans le tissu sain et dans les tumeurs.

Le tissu sain présente une grande quantité de NAA, de tCho et de tCr, et peu de lactate. Au contraire dans les tumeurs, la concentration de NAA, marqueur des neurones est fortement diminuée, la créatine est aussi diminuée, alors que la tCho, indicateur de la prolifération cellulaire (68) est légèrement augmentée, en particulier à la périphérie de la tumeur. De fortes concentrations de lactate sont observées (Figure 7-12).

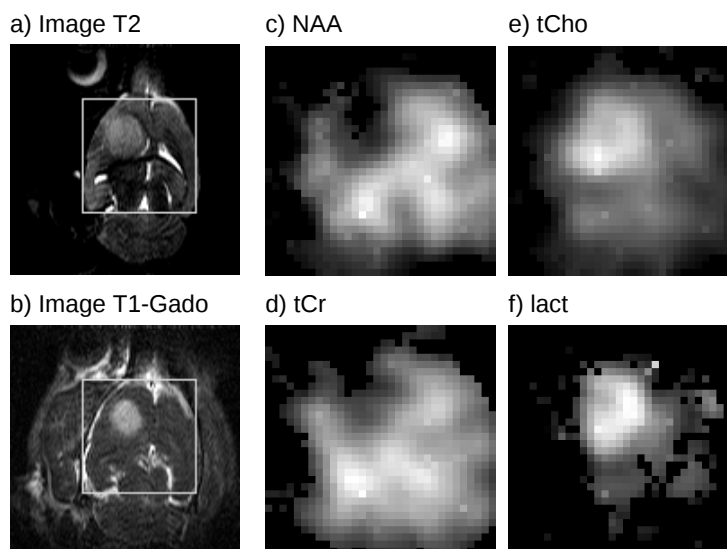


Figure 7-12. Exemple de cartes métaboliques obtenues pour un rat : a) image pondérée T_2 , et b) image pondérée T_1 acquise après injection d'agent de contraste, et position du voxel de sélection PRESS. Cartes des différents métabolites dans le voxel sélectionné c) NAA, d) tCr, e) tCho et f) lactate

7.5.2 Comparaison des données obtenues à des temps d'écho de 40 ms et 136 ms

Comparaison des quantifications des métabolites à partir des images à temps d'écho de 40ms et 136ms

Afin de vérifier la qualité des images spectroscopiques acquises à temps d'écho court, différents tests ont été réalisés. La qualité générale des images a été évaluée en comparant la quantification des principaux métabolites (NAA, tCr et tCho) obtenues sur les images Met(pre) et pH2 (Figure 7-13).

Plusieurs phénomènes pourraient détériorer la corrélation entre les aires des raies obtenues pour les deux images : la quantification du NAA dans les images pH2 est perturbée, dans les zones tumorales, par la présence d'une raie large des lipides associée à une faible quantité de NAA (Figure 7-11 c et d). Les raies de tCr et de tCho peuvent être perturbées par la présence d'ISUCA (raies autour de 2.9 et 3.1 ppm -Figure 7-4), ces raies correspondant à des spins

couplés, leur forme peut être différente aux deux temps d'écho et donc perturber les raies de tCho et de tCr de manière différente sur les deux images.

Les corrélations, calculées sur l'ensemble des animaux, entre les images Met(pre) et pH2 sont satisfaisantes étant donné les différences que le temps d'écho peut occasionner (Tableau 7-2).

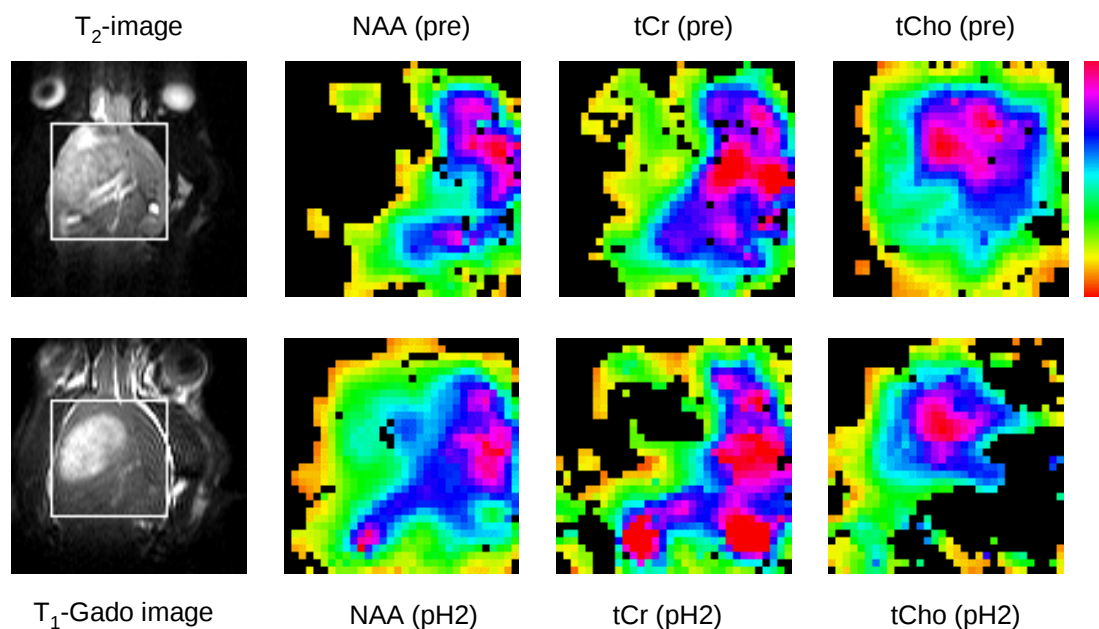


Figure 7-13. Comparaison entre les images métaboliques obtenues avec les acquisitions Met(pre) (TE=136 ms) et pH2 (TE=40 ms) pour NAA, tCr et tCho

L'imagerie spectroscopique par un encodage spiral de l'espace k ne souffre pas a priori d'artefact de déplacement chimique, contrairement aux techniques utilisant un encodage de l'espace k classique par des gradients de phase. Cependant, pour s'en assurer, nous avons vérifié que les corrélations entre les images obtenues pour les métabolites aux deux temps d'écho n'étaient pas améliorées par une translation d'une image par rapport à l'autre.

La comparaison entre les images acquises à un même temps d'écho, mais séparées par une durée importante (pH2 et pH(glc), Met(pre) et Met(glc)) montre la stabilité du système, les corrélations étant très importantes malgré les modifications qui pourraient être occasionnées par le glucose.

En conclusion, la reproductibilité, pour le même type d'image, TE=136ms ou TE=40ms est bonne, la qualité des images acquises à temps d'écho court est comparable à celle des images à temps d'écho long, et il n'y a pas de différence de position entre les deux types d'images. Une comparaison directe des cartes de pHe et de lactate est donc possible.

Comparaison des images Met(pre) (TE=136ms) et pH2 (TE=40ms)

	r	n	P
tCho	0.8608	1557	<0.0001
tCr	0.7301	1729	<0.0001
NAA	0.7626	1704	<0.0001

Comparaison des images Met(pre) et Met(glc) (TE=136ms)

tCho	0.8412	1914	<0.0001
tCr	0.8547	1387	<0.0001
NAA	0.8103	1273	<0.0001

Comparaison des images pH2 et pH(glc) (TE=40ms)

tCho	0.9342	1775	<0.0001
tCr	0.8875	2177	<0.0001
NAA	0.9369	2925	<0.0001

Tableau 7-2 Coefficients de corrélation obtenus pour l'ensemble des animaux. Comparaison des aires des principaux métabolites obtenues pour les images : comparaison entre les deux types d'acquisitions (TE=40ms et TE=136ms) et comparaison des images de même type acquises à différents moments

Validité de la mesure de pH

La mesure de pH repose sur l'évaluation du déplacement chimique du proton H2 de l'ISUCA. Il est donc important de pouvoir évaluer la précision des mesures de déplacement chimique. Pour cela, nous avons comparé la distribution de déplacement chimique obtenue pour l'ISUCA et pour une autre raie. La raie de tCr a été choisie pour cette étude. Le NAA ne peut pas être utilisé pour cette étude puisqu'il est de faible intensité, voir inexistant dans les zones tumorales. tCr a été préféré à tCho car l'intensité des raies de tCr est assez comparable à celles d'ISUCA dans les zones tumorales. L'écart-type sur la position de la raie de tCr est de 0.075 ppm pour l'ensemble des rats. Cette valeur est une estimation de l'erreur probable dans un voxel individuel. La raie de tCr peut être perturbée par la présence d'ISUCA dans les zones tumorales. De plus dans certains cas, la proximité entre tCr et tCho perturbe la quantification. Il est donc probable que la précision sur la mesure de déplacement chimique de la raie d'ISUCA, bien isolée, soit meilleure. Pour l'ISUCA, l'écart-type est de 0.119 ppm, cette valeur montre que la position de la raie d'ISUCA varie de manière plus importante que celle de tCr. La plus grande dispersion des positions des raies d'ISUCA suggère donc une variation du pHe dans les tumeurs. La mesure ainsi réalisée est donc assez sensible pour détecter des variations de pHe à l'intérieur d'une tumeur.

7.5.3 Cartes de pHe, influence de la concentration d'ISUCA sur la mesure de pHe

La molécule d'ISUCA est détectée principalement dans la zone tumorale. Pour chaque animal, cette zone a été repérée à partir des images pondérées T_1 et T_2 et une région d'intérêt rectangulaire a été définie, les mesures de pH, des métabolites et de corrélations sont réalisées dans ces zones. La Figure 7-14 donne des exemples de cartes de pHe et de cartes de la quantité d'ISUCA pour les deux acquisitions, pH1 et pH2 pour deux rats, dans les zones tumorales définies sur les images.

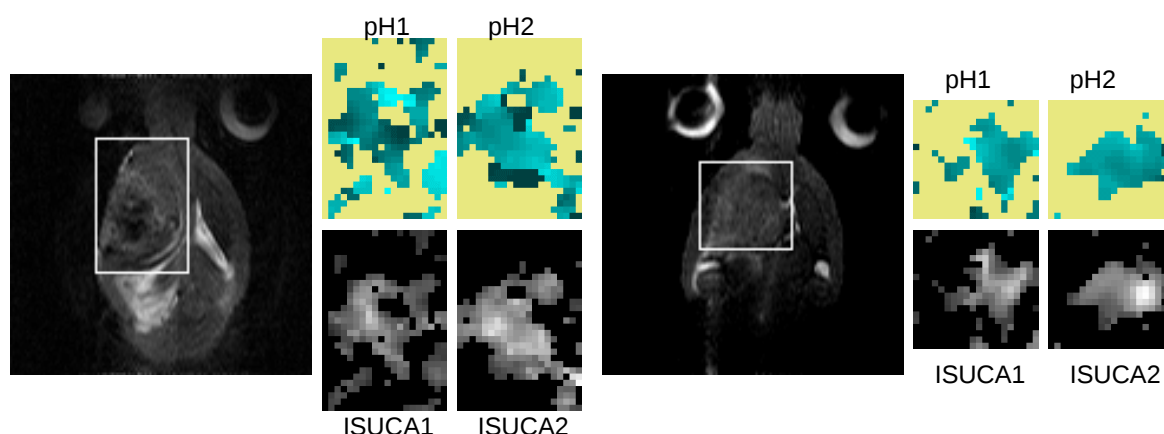


Figure 7-14. Exemples de cartes de pHe pour deux rats : images pondérées T_2 avec emplacement de la zone d'intérêt, cartes de pHe et d'ISUCA pour les deux acquisitions

Deux acquisitions successives ont été réalisées pour la mesure du pHe de manière à vérifier si la présence d'ISUCA ne modifie pas le pHe. En effet, l'ajout d'un couple acido-basique dans le milieu peut provoquer des variations de pH. Les protons peuvent être transportés vers les vaisseaux sanguins par l'intermédiaire de la forme acide de la molécule. On s'attend donc à une augmentation du pHe lorsque la concentration d'ISUCA augmente.

Le pHe moyen a été calculé dans les deux acquisitions. En moyenne sur les cinq animaux, le pHe moyen mesuré lors de la première acquisition est de 6.972 ± 0.005 (SEM, $n = 649$ voxels), celui mesuré lors de la deuxième acquisition est de 7.000 ± 0.004 (SEM, $n = 874$).

Par un test apparié sur l'ensemble des voxels où le pHe est mesurable dans les deux acquisitions, aucune différence significative n'a été détectée ($P = 0.35$, $n = 448$).

D'autre part, la comparaison entre l'aire de la raie H2 mesurée pour la première et pour la deuxième acquisition montre que la quantité d'ISUCA mesurée augmente de $29.6 \% \pm 2.5 \%$ (SEM, $n = 448$).

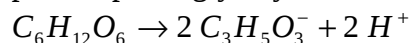
Une augmentation de la concentration d'ISUCA d'environ 30% ne provoque pas de variation significative du pHe mesuré. La présence d'ISUCA doit provoquer une augmentation du pHe, cependant, les variations occasionnées sont plus faibles que la sensibilité de la mesure.

	Moyenne $\pm$ SEM	Nb de voxels	P
pH1	6.972 ± 0.0049	649	
pH2	7.000 ± 0.0041	874	
pH2-pH1	-0.0069 ± 0.0075	448	0.35
(ISUCA2-ISUCA1)/ISUCA1	$29.6 \% \pm 2.5 \%$	448	< 0.0001

Tableau 7-3 Evolution du pHe et de la concentration d'ISUCA entre les deux images successives

7.5.4 Lactate et pHe

L'acidification du pHe dans les tumeurs doit provenir d'une augmentation du flux de proton des cellules vers le milieu extracellulaire. D'autre part, la production de lactate est augmentée dans les tumeurs. Le lactate est produit par la glycolyse en même temps qu'un proton.



De plus, le lactate est transporté hors de la cellule en même temps qu'un proton, que ce soit par un cotransporteur d'acide monocarboxylique ou à travers la membrane bilipidique sous la forme neutre Hlact (47,51,52). Ce phénomène pourrait donc suffire à expliquer la baisse de pHe, ainsi que le maintien d'un pH_i normal.

Les distributions spatiales du lactate et du pHe ont été comparées, de manière globale sur les cinq rats. Le coefficient de corrélation entre lactate et pHe est de $r=0.208$ ($p < 0.0001$, $n=229$). Il est important de noter que ce coefficient de corrélation est faible, mais surtout qu'il est positif. Le pHe a donc tendance à être plus acide dans les zones où il y a moins de lactate, ce qui est contraire aux observations attendues si les protons du milieu extracellulaire provenaient de la sortie du lactate des cellules tumorales. La Figure 7-15 montre la distribution de la quantité de lactate en fonction du pHe.

Cependant, il est important de remarquer le faible nombre de voxels où pHe et lactate ont été mesurés (229), en comparaison du nombre de points total où le pHe est mesuré (874), ou le lactate est mesuré (640).

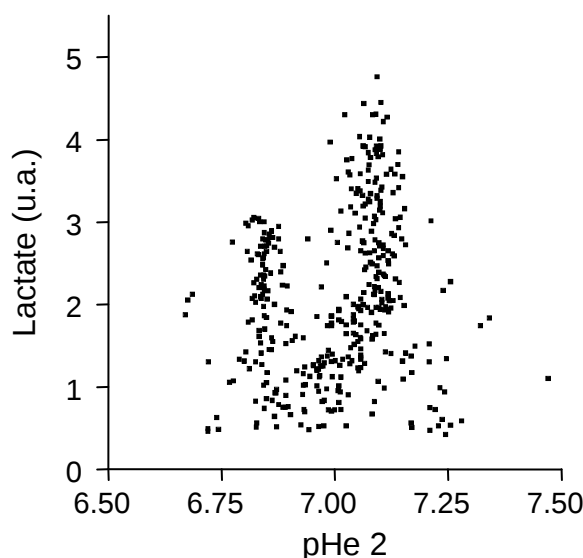


Figure 7-15. Corrélation entre les valeurs de pHe obtenues lors de la seconde image et les quantités de lactate

7.5.5 Effet d'une infusion de glucose sur le pH extracellulaire et sur la concentration de lactate dans la tumeur

L'hyperglycémie est connue pour augmenter la concentration de lactate dans les gliomes (69,70) et pour réduire le pHe dans d'autres modèles de tumeurs (71,72). Cependant, les deux phénomènes n'ont jamais été mesurés de manière simultanée dans les gliomes.

Après une infusion de glucose, des images à temps d'écho court et à temps d'écho long sont réalisées. Les variations occasionnées par l'hyperglycémie sur le pHe et sur la quantité de lactate peuvent ainsi être observées.

La comparaison entre les images acquises avant et après infusion de glucose permet de confirmer l'augmentation de la production de lactate et montre que le pHe est acidifié suite à une hyperglycémie dans les gliomes. Le pHe moyen après infusion de glucose est de 6.880 ± 0.007 (SEM, $n = 690$), la comparaison voxel par voxel montre une baisse du pHe moyenne de 0.149 ± 0.007 (SEM, $n = 524$), alors que la concentration d'ISUCA continue à augmenter ($+25.5 \% \pm 1.9 \%$). D'un autre côté, le lactate augmente de $54.4 \% \pm 3.4 \%$ (SEM, $n = 287$).

De manière globale, on observe donc une diminution du pHe et une augmentation de la quantité de lactate dans les gliomes de type C6 à la suite d'une hyperglycémie.

Cependant, les augmentations de lactate ne sont pas corrélées spatialement aux diminutions de pHe. On peut observer des zones où le lactate augmente fortement sans variation de pHe et au contraire des zones où le pHe diminue sans augmentation de la quantité de lactate (Figure 7-16).

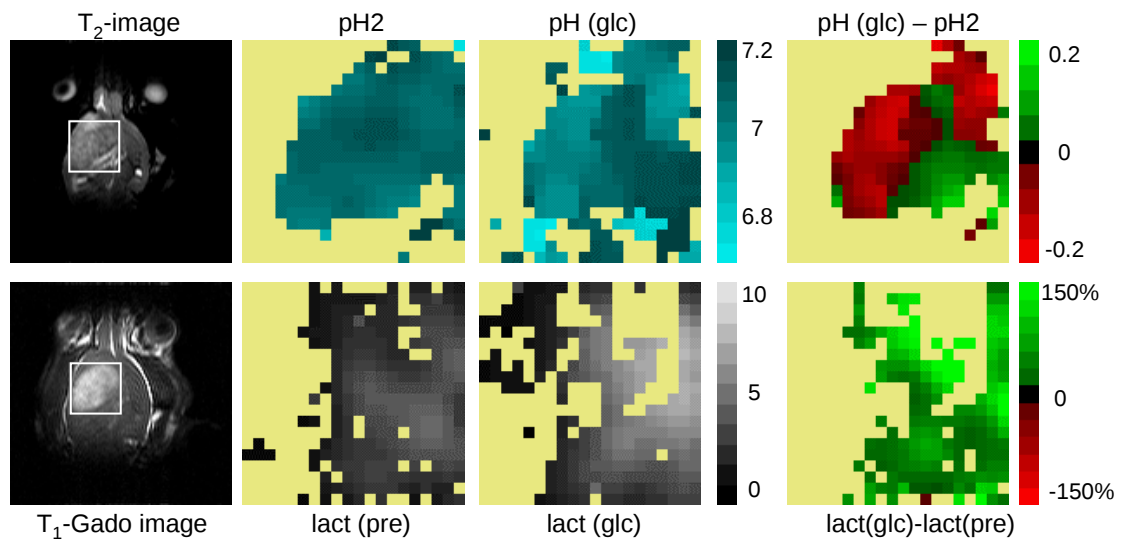


Figure 7-16. Effet d'une infusion de glucose sur le pHe et sur la concentration de lactate : images T₂ et T₁ après injection d'agent de contraste et position du volume d'interet. Images du pHe et du lactate avant et après infusion de glucose, et différence des images

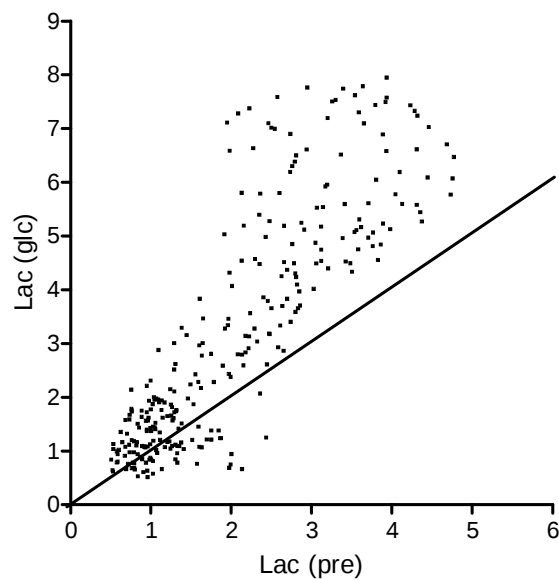


Figure 7-17. Comparaison des quantités de lactate dans les images Met(pre) et Met(glc)

La quantité de lactate augmente plus dans les zones où la quantité de lactate initiale était élevée (Figure 7-17). Cette observation suggère que les zones contenant initialement de fortes quantités de lactate sont des zones où la glycolyse est active, et non pas des zones où le lactate s'accumule.

Les productions de lactate et l'augmentation nette de la concentration de protons observées ne sont donc pas localisées aux mêmes endroits. Cependant, la production de lactate observée montre que la glycolyse est active. Une production de protons doit donc y être associée. On peut donc se demander si d'une manière globale sur l'ensemble de la tumeur, la quantité de lactate produite peut expliquer l'augmentation de la quantité de protons.

Si l'ensemble des protons produits provient de la glycolyse, on peut considérer que les flux de lactate et de protons de la cellule vers le milieu extracellulaire augmente de la même manière lors de l'hyperglycémie. Dans cette hypothèse, les flux de protons et de lactate entre les cellules et le sang dans le milieu extracellulaire, à l'état de base (avant hyperglycémie) doivent être égaux. Les augmentations moyennes des quantités de lactate et de protons dans le milieu extracellulaire après hyperglycémie doivent alors être les mêmes.

Une comparaison précise des productions de lactate et de protons est difficile. En effet, elles peuvent être calculées à partir d'acquisitions successives, la mesure de lactate est donc réalisée après une durée plus importante d'hyperglycémie que celle des protons. Les mesures ne sont pas réalisées sur l'ensemble de la tumeur, certains voxels ne pouvant pas être pris en compte dans les zones présentant des lipides pour le lactate et dans les zones où la concentration d'ISUCA est insuffisante pour les protons. Enfin, les quantités de lactate mesurées sont des quantités globales, extra et intra cellulaires. Les variations de pHe et pH_i peuvent faire changer le rapport entre les concentrations intra et extra cellulaires. Cependant, les augmentations observées sont de 54% pour le lactate et de 41% pour les protons, ces résultats ne paraissent pas incompatibles avec l'hypothèse selon laquelle les protons proviendraient de la glycolyse.

7.6 Discussion

Les résultats de ces expériences confirment les résultats précédemment obtenus, la concentration de protons extracellulaires et la quantité de lactate observées dans les gliomes de type C6 ne présentent pas de corrélation spatiale. De plus, une stimulation de la glycolyse par hyperglycémie provoque une augmentation de la quantité de lactate ainsi que de celle de protons. Les quantités de lactate et de protons produites d'une manière globale lors de l'hyperglycémie sont compatibles avec l'hypothèse selon laquelle la glycolyse est à l'origine de l'acidification du pHe. Cependant, l'augmentation de lactate et celle des protons ne sont pas corrélées spatialement.

Une théorie basée sur nos résultats et ceux de la littérature peut permettre de donner une cohérence à ces résultats.

Les différents éléments de cette théorie sont :

- la glycolyse est la source principale de l'excès de protons dans les tumeurs (45)
- différents types de pompes membranaires contribuent à la progression des tumeurs, en particulier les échangeurs Na^+/H^+ (43,46) et $\text{V-H}^+\text{-ATPase}$ (48)
- le pHe a tendance à être plus faible à la périphérie de la tumeur (Figure 7-14, Figure 7-16 et Figure 3B (44))
- dans les gliomes C6, les cellules sont faiblement couplées par des jonctions communicantes (73). Les jonctions laissent passer les protons facilement.
- les concentrations de protons et de lactate sont dissociées spatialement (62)

Un modèle incorporant ces différents éléments est présenté dans la Figure 7-18. Les protons sont produits par la glycolyse dans la tumeur. Il y a un flux de protons à travers les pompes à protons près de la périphérie de la tumeur. Pour associer ces deux processus, nous proposons que les protons produits par la glycolyse sortent dans l'espace extracellulaire avec le lactate, par diffusion ou par les transporteurs MCT. Ils entrent à nouveau dans la cellule ou dans les cellules voisines. Ceci peut se produire grâce au gradient électrochimique, qui est plus important que dans les cellules normales, ou indirectement par des échangeurs $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$. Les protons peuvent ensuite diffuser d'une cellule à l'autre par les jonctions communicantes vers des régions de pHi élevé (43). Ils sont ensuite relargués dans l'espace extracellulaire dans la périphérie de la tumeur.

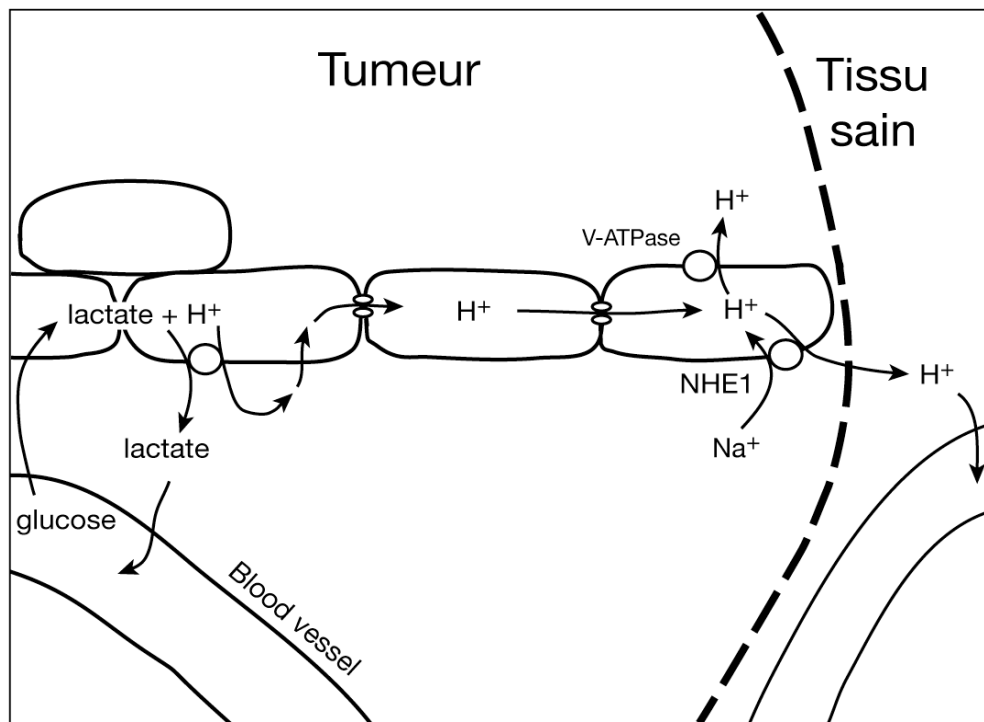


Figure 7-18. Modèle permettant de lier les résultats obtenus lors de cette étude avec les connaissances précédentes qui montrent l'importance de la glycolyse, des pompes membranaires et de la diffusion des protons vers le tissu sain proche de la tumeur

De nombreuses questions restent en suspens dans la compréhension des mécanismes d'acidification des tumeurs et son lien avec la prolifération des cellules tumorales.

Une approche utilisant des techniques issues de l'imagerie de diffusion pourrait permettre de distinguer le lactate intracellulaire du lactate extracellulaire et ainsi permettre de mieux comprendre le rôle du lactate dans l'acidification du pHe (74).

8 Effet de l'ammonium sur le métabolisme cérébral

8.1 Rôle de l'ammonium dans le métabolisme cérébral

L'ammonium est connu comme étant le principal lien entre les maladies hépatiques et les encéphalopathies qui en résultent (75-77). L'ammonium peut donc être toxique pour le cerveau. Cependant, l'ammonium est aussi nécessaire au métabolisme puisqu'il est indispensable pour former le glutamate à partir de l' α -ketoglutarate, et la glutamine à partir du glutamate.

Différentes enzymes possèdent des sites de reconnaissance allostérique pour l'ammonium. Parmi ces enzymes, l'hexokinase, la phosphofructokinase et la pyruvate kinase, enzymes de la glycolyse, sont activées par l'ammonium (78). Au contraire, l' α -ketoglutarate dehydrogenase est inhibée par l'ammonium. Cette enzyme fait partie du cycle TCA, qui dégrade le pyruvate. Il semble donc que l'ammonium puisse jouer un rôle dans la régulation de la glycolyse et dans la formation de lactate.

De telles augmentations de la production de lactate ont été observées dans les études sur l'encéphalopathie hépatique, dans tous les modèles, l'augmentation de la concentration plasmatique d'ammonium provoque une augmentation de la concentration de lactate dans le cerveau (75-77,79-85).

L'ammonium peut donc bien provoquer une stimulation de la glycolyse. Son rôle a été étudié de façon importante dans les cas de pathologie. Cependant il est possible que l'ammonium joue aussi un rôle dans des conditions physiologiques. En effet, plusieurs auteurs suggèrent qu'une activation neuronale provoque une production de lactate dans les astrocytes (86,87). Il est aussi proposé que l'ammonium contribue à cette stimulation (88-90).

Pour que l'ammonium joue un rôle dans cette stimulation, il faut que l'augmentation de la production de lactate provoqué par une augmentation de la concentration d'ammonium soit rapide et réversible. Toutes les études *in vivo* précédentes ont été menées, soit à un temps unique après l'augmentation d'ammonium, soit lors d'une élévation chronique de la concentration d'ammonium.

Aucune étude ne s'est jusqu'alors intéressée à la dynamique de cette réaction. La spectroscopie par RMN du proton apparaît comme une technique bien adaptée à l'étude de l'évolution du lactate dans le cerveau.

8.2 Evolution des concentrations des principaux métabolites

L'évolution des concentrations des métabolites est suivie par spectroscopie localisée dans le cerveau de rat, dans un volume de 64 μ L placé dans la zone du striatum. Les mesures peuvent être répétées toutes les 4 minutes. Le suivi est effectué sur une durée de deux à trois heures.

Des infusions d'ammonium répétées peuvent ainsi être effectuées. Des infusions de chlorure de sodium de même concentration sont utilisées comme contrôle.

8.2.1 Matériel et méthodes

8.2.1.1 Préparation des animaux

Les expériences ont été menées sur des rats de type Wistar de 380 à 450 g. Ils étaient anesthésiés avec de l'isoflurane (5 % puis 1.5-2 %) dans un mélange d'air et d'oxygène (70 %/30 %). Des cathéters étaient placés dans l'artère et la veine fémorale. Celui placé dans la veine fémorale était utilisé pour réaliser les injections d'ammonium ou de chlorure de sodium. Celui placé dans l'artère permettait de contrôler la pression artérielle tout au long de l'expérience et de réaliser des prélèvements de sang sur lesquels sont mesurés la PaO_2 , la PaCO_2 et le pH. Ces mesures ont été réalisées avec un analyseur automatique (ABL510, Radiometer). Le rat était trachéotomisé afin de permettre une ventilation mécanique. Le rat était ensuite placé dans un berceau, maintenu par des barres d'oreille. Une bobine de surface de 25 mm de diamètre était placée au-dessus du cerveau du rat. La température rectale de l'animal était contrôlée en permanence et maintenue à 37°C par un système de circulation d'eau placée sous l'abdomen.

8.2.1.2 Protocole d'infusion

Une solution de NH_4Cl à 1M est préparée dans de l'eau distillée, le pH est ajusté approximativement à 7.3 avec de la soude. 2.5 mmol.kg⁻¹ de NH_4Cl était injecté en 4 minutes dans la veine fémorale. Pour les expériences de contrôle, une solution de NaCl 1 M était injectée dans les mêmes conditions.

Les mesures de spectroscopie ont été réalisées sur 9 animaux. Deux infusions successives d'ammonium ont été réalisées pour 3 de ces animaux, une seule infusion a été réalisée pour 1 animal. Trois animaux ont reçu une injection de NaCl suivie d'une infusion d'ammonium et 2 animaux n'ont reçu qu'une infusion de NaCl. Le temps entre deux infusions est de 50 minutes ou plus lorsque des changements étaient encore observés sur les spectres après ce temps.

8.2.1.3 Spectroscopie localisée

Des images anatomiques de repérages, pondérées en T_2 étaient acquises avec une séquence de type écho de spin. Neuf tranches coronales et 9 tranches transverses étaient réalisées de manière à positionner un volume d'intérêt de 4x4x4 mm³, placé dans la zone du striatum (Figure 8-1). La procédure de shim automatique décrite dans le chapitre 5 a été utilisée pour améliorer l'homogénéité du champ magnétique B_0 dans le volume d'intérêt.

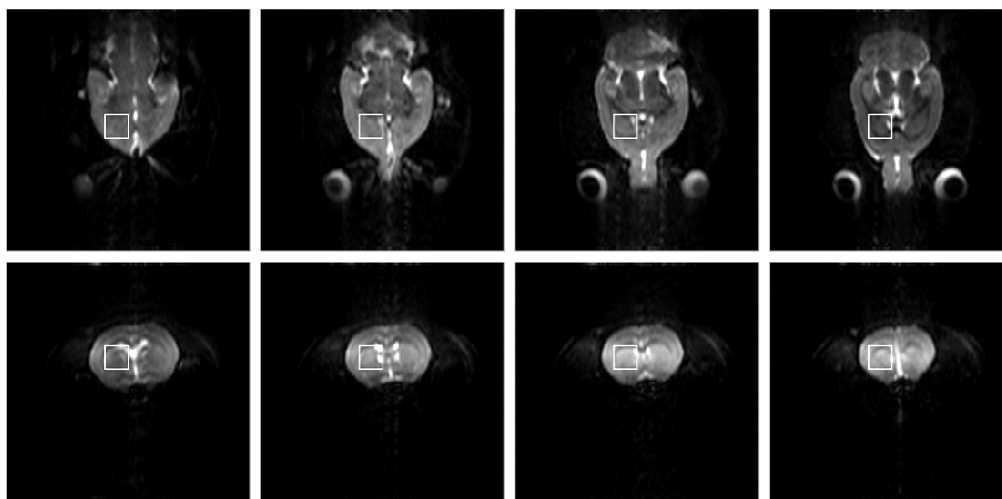


Figure 8-1. Images pondérées T_2 dans des orientations coronales et transverses : positionnement du voxel de $4 \times 4 \times 4 \text{ mm}^3$ utilisé pour la spectroscopie

Séquence d'impulsion

Pour suivre l'évolution des concentrations des principaux métabolites, des spectres localisés étaient réalisés tout au long de l'expérience. La séquence d'acquisition est une séquence de type PRESS, précédée d'un module de suppression de l'eau de type VAPOR. Le temps d'écho est de 136 ms. Le temps de répétition est de 3 secondes et le nombre d'accumulations est de 64. Un cyclage de phase de type EXORCYCLE (4) était réalisé de manière à éliminer les échos stimulés. Les caractéristiques précises de la séquence sont décrites dans les chapitres 2 et 3. La durée d'une acquisition est de 3 min 20 s. Avant chaque acquisition un spectre de l'eau était acquis ($TE = 136 \text{ ms}$, $NA = 1$) pour réajuster la fréquence de résonance. Les acquisitions étaient répétées toutes les 4 minutes.

8.2.1.4 Traitement des données

Paramètres de traitement des spectres

Les traitements ont été réalisés à l'aide de programmes développés au laboratoire avec le logiciel IDL (RSI, Boulder, CO). Un zéro-filling est réalisé de manière à obtenir 4096 points temporels, un filtre de type exponentiel est appliqué avec une apodisation de 8 Hz. Le spectre est finalement obtenu par transformée de Fourier. La phase d'ordre zéro des spectres ainsi obtenus est ajustée individuellement pour chaque spectre de façon manuelle.

Détermination de l'évolution des concentrations des métabolites

L'aire de chaque raie est ensuite déterminée par un ajustement de la forme de raie par des lorentziennes. Les raies dont les aires ont été déterminées correspondent à la choline et

phosphocholine (tCho), la créatine et phosphocréatine (tCr), le N-acetyl-aspartate (NAA), le lactate (lact) et la raie à 2.35 ppm (glx), constituée principalement de glutamate.

L'obtention des aires des raies se fait en deux temps. Dans un premier temps, les aires des raies de tCho, tCr, glx et NAA sont déterminées, en même temps, par une somme de fonctions lorentziennes. Les paramètres de l'ajustement sont les largeurs des raies, leur position et leur amplitude. La raie du lactate étant de faible amplitude dans des conditions normales, il est difficile à évaluer lorsque tous les paramètres sont libres. Afin d'améliorer sa quantification, on considère que les largeurs des raies de NAA et de lactate sont largement dominés par les effets de T_2^* . Dans ce cas, les largeurs de raie des deux raies sont considérées comme identiques. La raie du lactate est en fait un doublet dont le couplage spin-spin est $J = 7$ Hz. (91) La fonction modèle utilisée pour le lactate est donc la somme de deux lorentziennes de même largeur et de même amplitude, séparées de 7 Hz. Un deuxième ajustement est donc réalisé, en fixant des largeurs de raie identiques pour les deux composants.

La comparaison des aires des raies ainsi déterminées entre différents rats ne peut se faire directement, en raison de différences de paramètres d'acquisition. Ces différences sont dues principalement à l'ajustement des impulsions 90° et 180° de la séquence d'acquisition PRESS. En effet, la sensibilité de l'antenne de surface est très dépendante de la position du voxel par rapport à l'antenne.

Dans de nombreuses études, les auteurs choisissent de normaliser les aires des raies par rapport à l'aire d'une raie considérée comme stable, pour chaque spectre. Ce type de normalisation permet alors de donner l'évolution d'une raie par rapport à une autre.

Une telle normalisation est utile, voire nécessaire si l'on veut comparer les métabolites entre différents animaux. Dans la présente étude, nous pouvons nous passer de la supposition de l'invariabilité d'un métabolite, puisque ce qui nous intéresse est l'évolution temporelle des concentrations des métabolites pour chaque rat. Pour chaque rat, les conditions d'acquisition restent les mêmes tout au long de l'expérience et les variations relatives des aires des raies reflètent bien les évolutions des concentrations des métabolites.

Composition de la raie glx à 2.35 ppm

La raie située à 2.35 ppm provient des résonances des protons de plusieurs métabolites : le glutamate, la glutamine, le GABA et le NAA. Afin de déterminer la composition de cette raie *in vivo*, des tests *in vitro* ont été effectués par Nils Kickler (92). Pour chaque métabolite, une solution contenant 100 mM du métabolite, 0.2 mM de Gd-DOTA et 37 mM de TSP est préparée. Le Gd-DOTA est utilisé pour diminuer les temps de relaxation T_1 et T_2 vers des valeurs proches de celles observées *in vivo* (93).

Des spectres localisés sont ensuite acquis et reconstruits pour chaque métabolite dans les mêmes conditions que celles utilisées *in vivo* (TE = 136 ms). Le TSP est utilisé pour ajuster la phase d'ordre 0 des spectres et ajuster la fréquence en plaçant la raie du TSP à 0 ppm. Des différences de shim et de puissance RF peuvent provoquer des différences d'amplitude et de largeur de raie entre les différents échantillons. Pour corriger ces effets, une apodisation et un

ajustement de l'amplitude sont réalisés sur chaque spectre de manière à ce que le TSP ait même largeur et même amplitude sur tous les spectres.

Le spectre du NAA est ensuite apodisé pour obtenir une largeur de raie du NAA à 2 ppm similaire à celle obtenue dans les expériences *in vivo* (22 Hz). La même apodisation est appliquée aux autres spectres. Les amplitudes des spectres sont ensuite ajustées pour reproduire les concentrations des différents métabolites observés *in vivo*. Les concentrations de glutamate, glutamine et GABA sont respectivement de $11.3 \text{ mmol.kg}^{-1}$, 5.5 mmol.kg^{-1} et 1.7 mmol.kg^{-1} (81-83). La concentration de NAA est de 8.9 mmol.kg^{-1} (94-96). Les différents spectres sont ensuite sommés pour obtenir le spectre global (Figure 8-2).

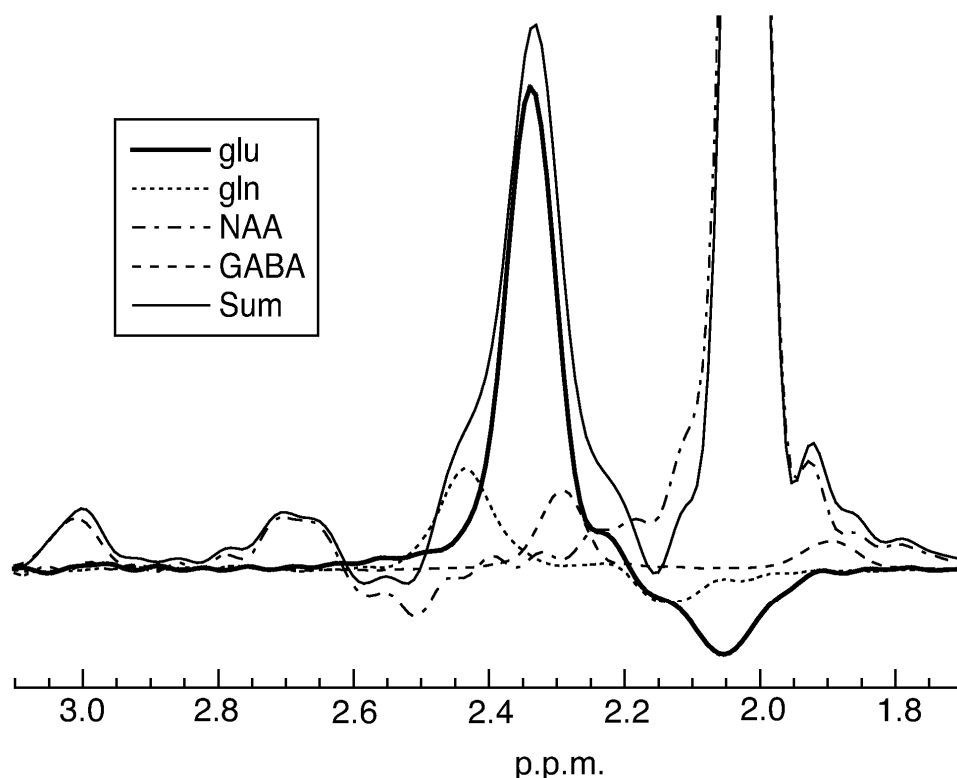


Figure 8-2. Spectres des métabolites présentant des résonances à 2.35 ppm acquis *in vitro* (TE=136ms) et somme de ces spectres.

Afin de déterminer la proportion du signal attribuée au glutamate, l'aire de la raie a été déterminé par affinement lorentzien (comme décrit plus haut), d'une part dans le spectre de glutamate pur et d'autre part dans le spectre global. Le résultat montre que 79 % de l'aire de la raie globale observée provient du glutamate.

D'autre part, un spectre simulant une augmentation de la concentration de glutamine de 25 % a été comparé au spectre global. L'aire de la raie observée à 2.35 ppm est augmentée de 2.4 % dans ces conditions.

8.2.2 Evolution des concentrations des métabolites

La Figure 8-3 montre un exemple de spectres acquis avant infusion, 16 minutes et 80 minutes après la fin de l'infusion. Une augmentation importante de l'aire de la raie du lactate, à 1.3 ppm est visible sur le deuxième spectre, suivie d'un retour à une valeur normale sur le troisième spectre.

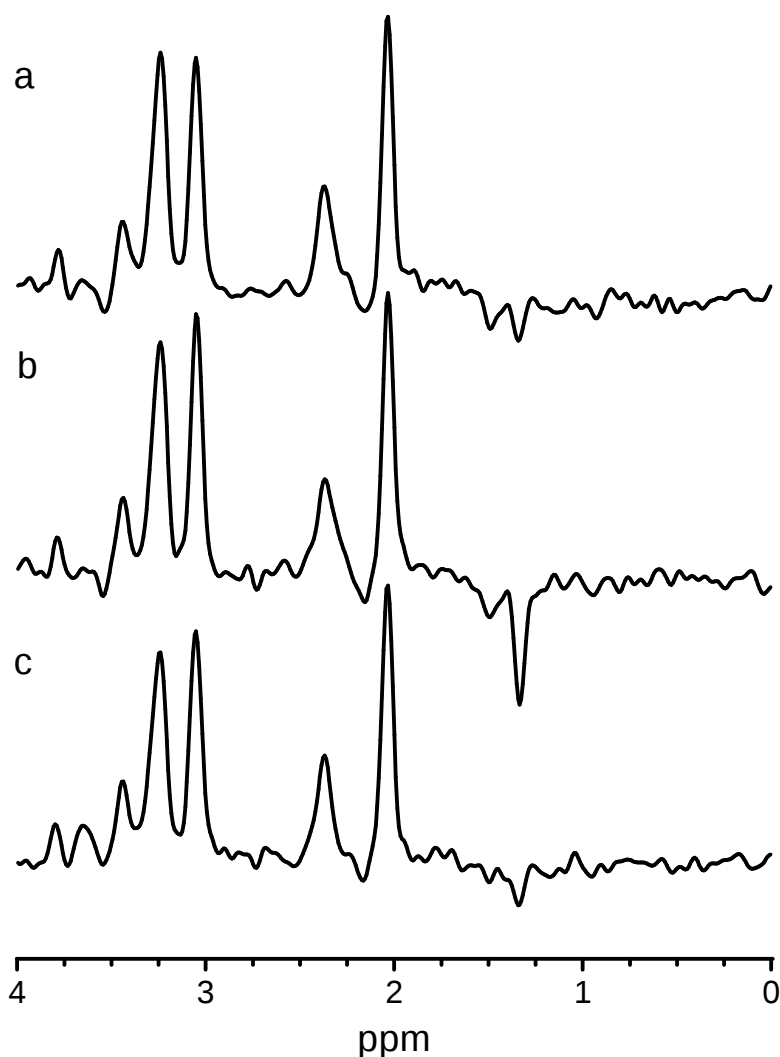


Figure 8-3. Spectre acquis avec un temps d'écho de 136ms, dans le voxel sélectionné. a) avant injection d'ammonium, b) 16 minutes après l'injection, c) 80 minutes après l'injection

La Figure 8-4 montre l'évolution des aires des raies des différents métabolites au cours d'une expérience pour un rat. On peut observer que le lactate augmente de façon importante dès le premier spectre acquis pendant l'infusion, atteint une valeur maximale au bout de 15 minutes environ puis revient vers une valeur normale en 40 minutes. La créatine (3.02 ppm), la choline

(3.2 ppm) et le NAA (2 ppm) semblent stables, la raie située à 2.35 ppm (glx) semble légèrement diminuer.

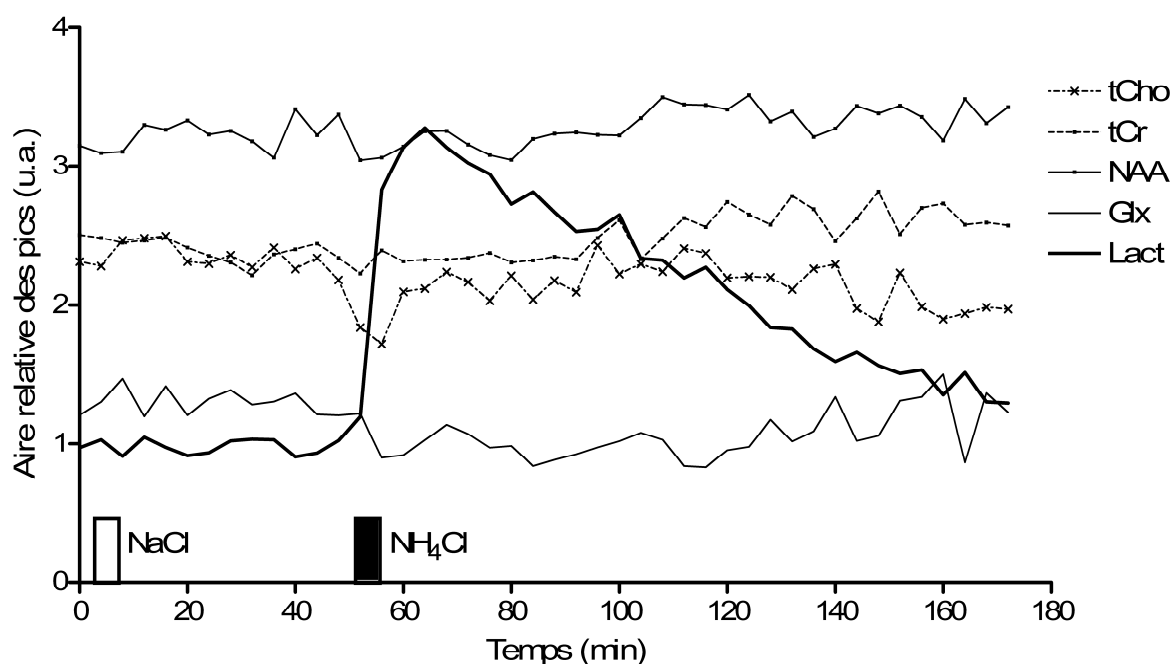


Figure 8-4. Evolution des aires des pics des principaux métabolites mesurés après une première infusion de NaCl puis une seconde infusion de NH_4Cl

Pour vérifier ces observations, des tests statistiques sont effectués. Le maximum du signal de lactate est observé 13.2 ± 2.1 minutes (SEM, $n = 10$) après la fin de l'infusion. Nous avons comparé la différence entre les spectres acquis avant l'infusion (moyenne des trois spectres précédents) et les spectres acquis autour du pic de concentration de lactate (moyenne des spectres acquis 8, 12 et 16 minutes après l'infusion). Un test de Student est réalisé. Dans le cas d'une infusion contrôle de NaCl, seul la créatine varie de manière significative (-3.1 %), dans le cas des infusions de NH_4Cl , le lactate augmente de 165%, le NAA de 3.5 % et le glutamate diminue de 7.1 % (Tableau 8-1).

	% de variation $\pm$ SEM (p)	
	infusion de NH ₄ Cl	infusion de NaCl
	n = 10	n = 5
tCho	1.5 % $\pm$ 1.7 % (p=0.4)	-2.3% $\pm$ 1.7 % (p=0.4)
tCr	2.3 % $\pm$ 2.2 % (p=0.3)	-3.1 % $\pm$ 0.6 % (p=0.02)
glx	-7.1 % $\pm$ 1.7 % (p=0.0026)	3.4 % $\pm$ 2.6 % (p=0.4)
NAA	3.5 % $\pm$ 0.7 % (p<0.0006)	0.2 % $\pm$ 0.9 % (p=0.9)
lact	165.1 % $\pm$ 25.2 % (p=0.0001)	2.8 % $\pm$ 10.2 % (p=0.8)

Tableau 8-1 : Variations des signaux des principaux métabolites 15 minutes après la fin de l'infusion de NH₄Cl ou de NaCl, par rapport à la valeur initiale.

Les variations des aires des raies peuvent s'expliquer soit par des variations de concentration, soit par des variations des paramètres de relaxation T_1 ou T_2 . En effet, la séquence PRESS est sensible aux variations de temps de relaxation T_2 , pour un temps d'écho donné, une augmentation de T_2 provoque une augmentation du signal, et inversement. Concernant les temps de relaxation T_1 , le T_1 des métabolites est de l'ordre de 1.5 s à 7 T, le temps de répétition TR utilisé dans ces expériences est de 3 s. L'aimantation n'a donc pas le temps d'atteindre la relaxation totale entre deux TR et atteint un état d'équilibre. Des variations de T_1 provoquent donc des variations de l'aimantation longitudinale d'équilibre et affectent le signal acquis. Une augmentation de T_1 provoque une diminution de l'aimantation d'équilibre et donc une diminution du signal.

Des diminutions de T_1 ont été décrites dans des cas d'encéphalopathie hépatique chez l'homme (97,98), cependant, elles semblent être dues à une accumulation de manganèse au cours du temps. Ce type d'accumulation semble peu probable dans des temps aussi courts que ceux de nos expériences.

D'éventuelles variations des temps de relaxation T_1 ou T_2 pourraient expliquer des variations de l'aire des raies de quelques pourcents, telles que celles observées pour le NAA, cependant elles ne peuvent pas expliquer des variations de 165 % observées pour le lactate. Les variations de l'aire du doublet de lactate sont essentiellement dues à des variations de concentration.

De plus, des variations des temps de relaxation s'expliquent par des changements de l'environnement des molécules. On s'attend à ce que les variations occasionnées affectent tous les métabolites de la même manière. Les aires des raies des différents métabolites devraient donc varier dans le même sens. Or, après une infusion d'ammonium, la raie glx diminue, celle de NAA augmentent et tCho et tCr ne sont pas affectées. Il semble donc peu probable que même les faibles variations observées pour ces raies ne soient dues qu'à des variations des temps de relaxation.

Evolution du glutamate

Différents auteurs montrent une augmentation de la glutamine importante associée à des concentrations d'ammonium élevées, soit par infusion d'ammonium(80), soit dans des cas d'encéphalopathie hépatique (79). Ceci peut être expliqué par le fait qu'une augmentation de la concentration d'ammonium favorise la conversion du glutamate en glutamine. Une augmentation de la glutamine et une baisse du glutamate sont attendues.

Les tests *in vitro* suggèrent que la raie à 2.35 ppm est composée à 79 % de glutamate. Le comportement *in vivo* n'est pas forcément identique aux mesures effectuées *in vitro*, il est donc impossible de quantifier précisément les variations de glutamate. Cependant, la raie à 2 ppm indique une augmentation du NAA, et on attend une augmentation de la glutamine. L'aire de la raie de glx observé à 2.35 ppm baisse de manière significative de 7.1 %. Ces différentes observations suggèrent que la concentration de glutamate diminue, et que cette diminution est supérieure à 7.1 %.

Les expériences de contrôle où du NaCl est infusé à la place de l'ammonium montrent que toutes les raies à l'exception de la créatine restent stables. Les effets observés lors de l'infusion d'ammonium ne peuvent donc pas être expliqués par l'infusion d'une grande quantité de solution ionique avec une forte osmolarité. L'effet observé est bien du à la molécule d'ammonium.

8.2.3 Observations physiologiques

La pression artérielle était mesurée pendant toute l'expérience. Les enregistrements montrent de fortes perturbations de la pression artérielle dès le début de l'infusion et pendant une quarantaine de minutes après l'infusion. L'ensemble des enregistrements de pression artérielle (dont les enregistrements effectués lors des expériences de mesure du débit sanguin et des concentrations sanguines d'ammonium décrites ci-dessous) présentent des perturbations importantes lors des infusions d'ammonium.

Quinze des vingt enregistrements présentent le même type de comportement, deux présentent un comportement légèrement différent et trois enregistrements n'ont pas pu être exploités pour des raisons techniques. Les quinze enregistrements semblables présentent tous une forte diminution de la pression artérielle atteignant en moyenne 43 ± 5 mmHg, 7.8 ± 0.9 minutes après le début de l'infusion, suivi d'une forte augmentation de pression atteignant 172 ± 7 mmHg en 18.8 ± 1.3 minutes. La pression revient ensuite lentement à une valeur normale de 89 ± 6 mmHg en 40.4 ± 2.8 minutes. (Figure 8-5-a)

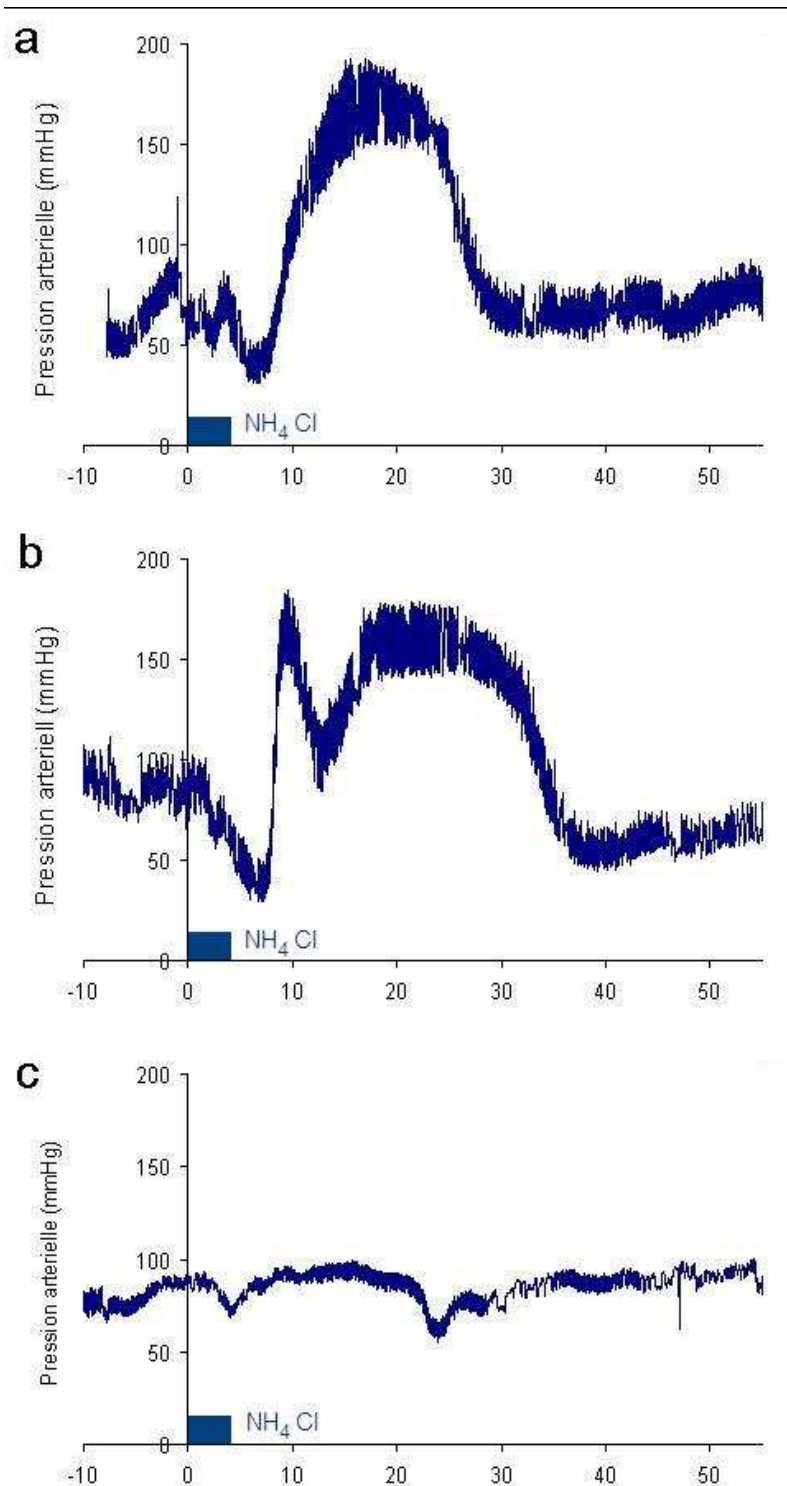


Figure 8-5. Evolution de la pression artérielle lors d'une infusion d'ammonium ou de NaCl. a) comportement obtenu pour 15 expériences après infusion d'ammonium, b) comportement obtenu dans deux cas après infusion d'ammonium, c) comportement après infusion de NaCl

Les deux enregistrements différents présentent une première diminution de la pression suivie d'une forte augmentation, puis présentent un comportement similaire aux autres (Figure 8-5-b).

Les enregistrements obtenus lors des expériences contrôle d'infusion de NaCl ne montrent pas de variation importante de la pression artérielle pendant ou après l'infusion (Figure 8-5-c).

8.3 Concentration plasmatique d'ammonium

Des expériences ont été menées pour comparer l'évolution des concentrations des métabolites à la concentration plasmatique en ammonium.

8.3.1 Matériels et méthodes

Préparation des animaux

Les conditions étaient les mêmes que pour les expériences de RMN, des cathéters étaient posés dans la veine et l'artère fémorales, les animaux étaient trachéotomisés. La pression artérielle, la respiration et la température rectale étaient contrôlées et enregistrée tout au long de l'expérience. Les gaz du sang étaient contrôlés avant le début de l'infusion et après la fin de l'infusion. Cette expérience a été réalisée sur six rats.

Infusion

Le protocole d'infusion d'ammonium était le même que pour les expériences de spectroscopie, soit 2.5 mmol.kg^{-1} injecté en 4 minutes. Une seule infusion était réalisée pour chaque animal.

Des prélèvements de sang de 0.5 mL étaient effectués avant l'infusion, à la fin de l'infusion puis toutes les 10 minutes pendant une heure. Les prélèvements sont été maintenus à 0°C puis centrifugés pendant 10 minutes pour récupérer le plasma. L'ammonium plasmatique a ensuite été dosé par une méthode enzymatique (99,100). La concentration ainsi déterminée est la concentration totale d'ammonium ($[\text{NH}_4^+] + [\text{NH}_3]$), elle sera notée $[\text{NH}_4^+]$ par la suite puisque au pH plasmatique, l'ammonium se présente majoritairement sous la forme NH_4^+ .

8.3.2 Résultats

La Figure 8-6 montre l'évolution des concentrations plasmatiques d'ammonium moyenne pour les 6 rats. La mesure effectuée après la fin de l'infusion montre que la concentration plasmatique d'ammonium à ce temps est très supérieure à la concentration de base, cependant, en comparaison de la quantité d'ammonium injectée, une grande partie de l'ammonium a déjà été éliminée du sang. En admettant que la quantité totale de plasma d'un rat de 300 g est de l'ordre de 10 mL, la quantité d'ammonium dans le plasma au bout de 5 minutes serait de 0.015 mmol, comparé à une quantité de 0.75 mmol d'ammonium injecté.

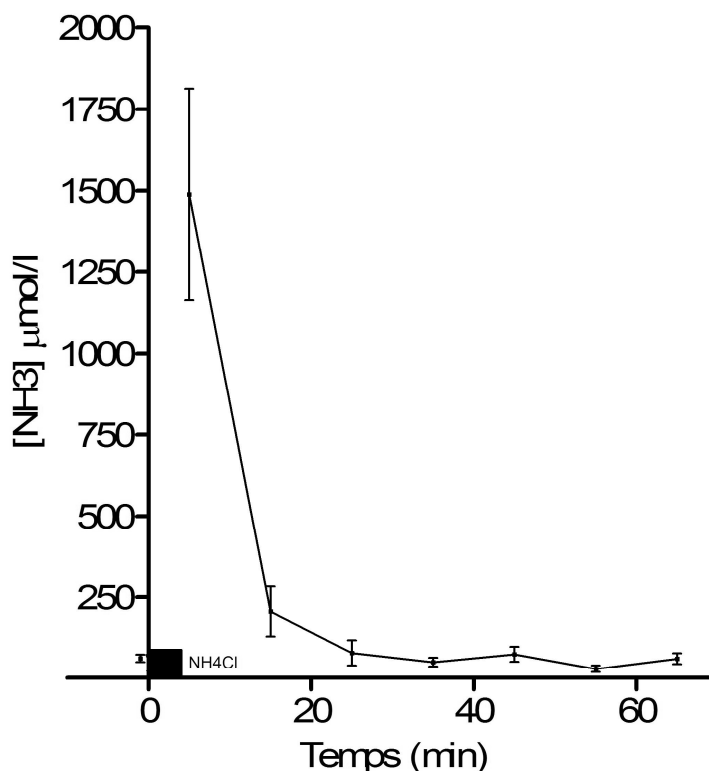


Figure 8-6. Evolution de la concentration d'ammonium plasmatique après une infusion d'ammonium (moyenne, SEM, n=6)

La concentration d'ammonium plasmatique revient rapidement vers une concentration normale, en moins de 25 minutes.

8.4 Débit sanguin cérébral

Les enregistrements de la pression artérielle montrent de fortes perturbations pendant une durée importante après l'infusion d'ammonium. Les baisses de la pression artérielles observées pourraient être à l'origine d'une baisse de débit sanguin. Dans ce cas, l'augmentation de la concentration de lactate pourrait être expliquée par une hypoxie. Afin de vérifier ce point, le débit sanguin cérébral au cours du temps a été mesuré par une technique de marquage de spin artériel dans un voxel localisé de la même manière que pour l'étude par spectroscopie.

8.4.1 Matériels et méthodes

La préparation de l'animal ainsi que le protocole d'infusion étaient identiques aux expériences de suivi métabolique par spectroscopie. L'antenne utilisée, contrairement aux autres expériences était une antenne de volume en quadrature. Le volume d'intérêt ($4 \times 4 \times 4 \text{ mm}^3$) était

positionné à l'aide d'images de repérage dans la zone du striatum de la même manière que pour le suivi métabolique. La technique de marquage des spins artériels est décrite dans le chapitre 4. Une série d'acquisitions alternant marquage et contrôle était réalisée de manière continue pendant toute la durée de l'expérience. Après cinq minutes, l'infusion d'ammonium était réalisée, les acquisitions se poursuivaient pendant un minimum de 40 minutes, ou jusqu'à un retour à une valeur normale.

8.4.2 Résultats

La Figure 8-7 montre l'évolution du signal obtenu en fonction du temps pour les trois rats.

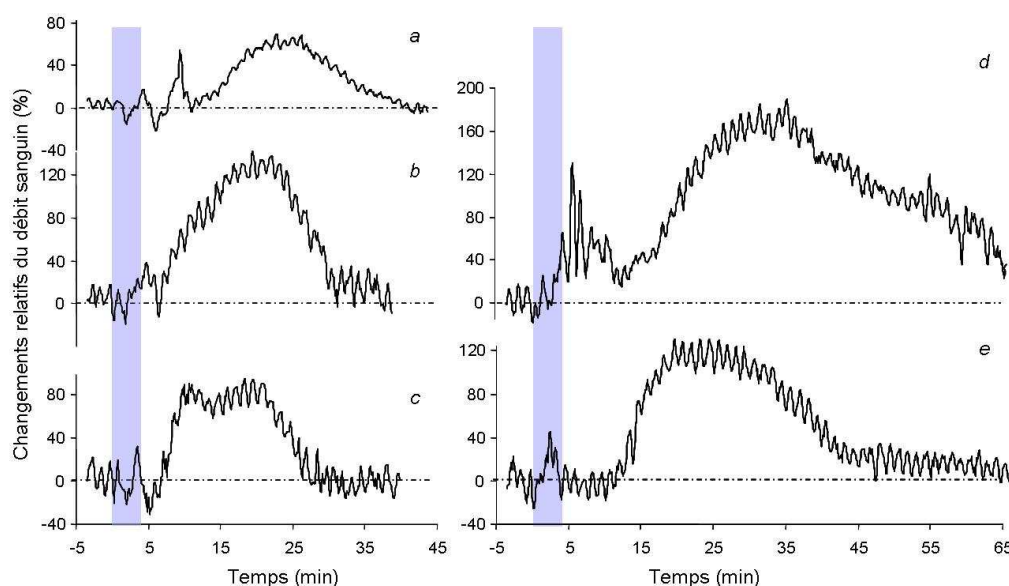


Figure 8-7. Evolution du débit sanguin cérébral après infusion d'ammonium chez trois animaux : a, b et c première infusion, d et e deuxième infusion

On peut observer une augmentation du débit sanguin après l'infusion d'ammonium, suivi d'un retour à une valeur normale. Le débit augmente jusqu'à une valeur de 2.16 ± 0.16 fois sa valeur normale en 15.5 ± 3.3 minutes après la fin de l'infusion pour redescendre à 50 % du maximum en 29.8 ± 4.5 minutes.

L'augmentation rapide de la concentration plasmatique d'ammonium n'est donc pas à l'origine d'un phénomène d'hypoxie qui aurait pu expliquer l'augmentation de la concentration de lactate.

8.5 Comparaison des évolutions des concentrations d'ammonium plasmatique, de la quantité de lactate cérébral et du débit sanguin

Les trois types de mesure montrent une évolution différente des concentrations plasmatiques d'ammonium, de la quantité de lactate cérébral et du débit sanguin.

L'augmentation de la concentration plasmatique d'ammonium est très rapide et suivie d'un retour rapide à la normale. Une brève, mais forte, augmentation de la concentration plasmatique d'ammonium provoque rapidement une production accrue de lactate. Cette production persiste pendant 10 minutes environ. L'augmentation de la concentration de lactate est un phénomène qui se déclenche plus rapidement que les variations de pression artérielle ou de débit sanguin.

	Ammonium plasmatique N=6	Lactate cérébral N=10	Débit sanguin cérébral N=5	Pression artérielle N=15
Maximum/ligne de base	> 340	3.10 ± 0.35	2.16 ± 0.16	2.05 ± 0.15
Temps entre la fin de l'infusion et la demi-montée (min)	Nn	3.3 ± 1.2	9.9 ± 2.2	10.0 ± 1.2
Temps entre la fin de l'infusion et le maximum (min)	≈ 0	13.2 ± 2.1	15.5 ± 3.3	14.8 ± 1.3
Temps entre la fin de l'infusion et le retour à 50% de maximum (min)	< 9	31.2 ± 5.7	29.8 ± 4.5	24.9 ± 2.0

Tableau 8-2 : Comparaison des variations et des temps caractéristiques d'évolution des différents paramètres mesurés

8.6 Conclusion

L'augmentation de la production de lactate associée à une augmentation de la quantité d'ammonium plasmatique est un phénomène rapide, réversible et qui peut être répété plusieurs fois. Cette augmentation de lactate n'est pas associée à un phénomène d'hypoxie. Ces résultats sont donc compatibles avec un possible rôle physiologique de l'ammonium dans la régulation de la glycolyse dans le cerveau.

Suivant l'hypothèse de A.Benjamin et J.Quastel (101) qui suggère un flux d'ammonium des neurones vers les astrocytes et la suggestion de M.Tsacopoulos et P.Magistretti (102) selon laquelle une activation neuronale provoque une libération de lactate par les astrocytes, nous proposons que l'ammonium participe à la régulation du métabolisme énergétique dans les astrocytes en réponse à une stimulation neuronale.

Dans le cerveau, la plupart des neurones sont glutamatergiques. Le glutamate, une fois libéré dans l'espace extracellulaire est réincorporé dans les cellules par l'intermédiaire de transporteur, principalement dans les astrocytes (103). Il est nécessaire que le glutamate soit recyclé dans les neurones. La glutamine synthétase étant principalement localisée dans les astrocytes et la glutaminase dans les neurones, il existe un flux de glutamine des astrocytes vers les neurones. Pour assurer ce cycle, un flux d'azote des neurones vers les astrocytes est nécessaire. Ce flux d'azote peut être assuré par l'intermédiaire de plusieurs molécules. Plusieurs études montrent que la leucine et l'alanine peuvent assurer une partie de ce flux (104). Cependant, une capture rapide par les astrocytes de l'ammonium (sous forme NH_4^+) a été montrée (90,104,105) et laisse penser que l'ammonium puisse aussi participer au transport d'azote des neurones vers les astrocytes (106)(Figure 8-8).

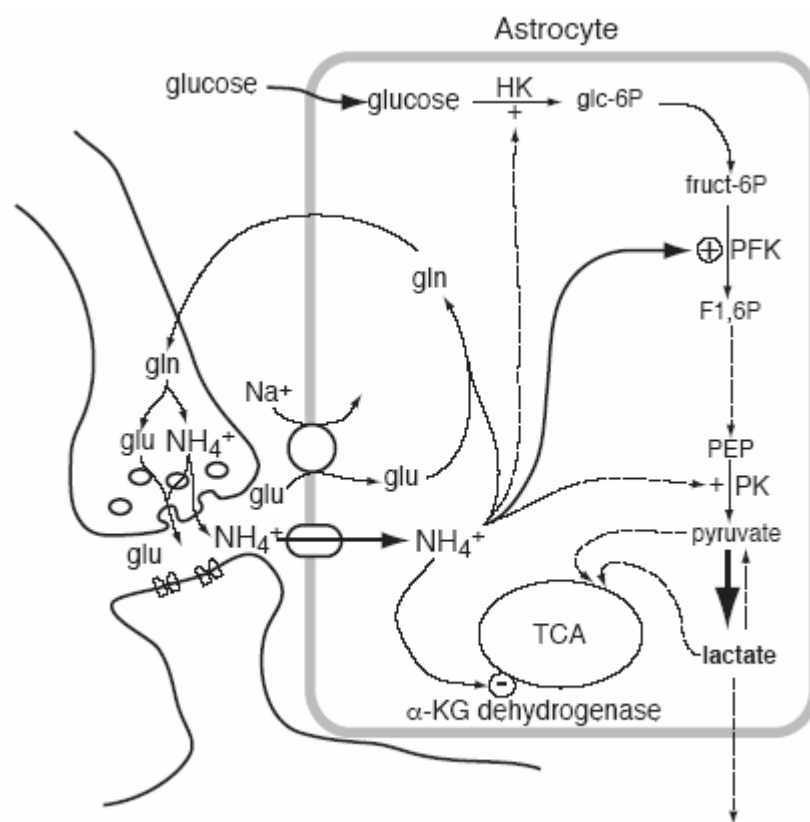


Figure 8-8. Schéma des différents mécanismes relatifs au rôle de l'ammonium dans le métabolisme cérébral

9 Conclusion générale

Le travail décrit ici peut se décomposer en deux parties. Dans un premier temps, de nouveaux développements ont permis d'améliorer la qualité des acquisitions réalisées en spectroscopie localisée et en imagerie spectroscopique. Ces développements ont porté à la fois sur des améliorations des séquences d'acquisitions elles-mêmes et également sur l'amélioration des conditions d'acquisition.

Les conditions générales d'acquisitions ont été améliorées par un réglage du système de préemphases dans la limite des possibilités du matériel existant.

La mise en place d'une procédure automatique de correction des inhomogénéités de champ magnétique a permis d'améliorer de manière considérable la qualité des images spectroscopiques ; elle permet aussi un fort gain de temps.

En ce qui concerne les séquences d'acquisition, les différentes étapes ont été optimisées. Tout d'abord une nouvelle technique de suppression du signal de l'eau a été mise en place et le module de saturation du volume extérieur a été optimisé de manière à améliorer la définition du volume d'intérêt. La séquence d'imagerie spectroscopique par encodage spiral développé par Bassem Hiba a ensuite été adaptée aux acquisitions à temps d'écho court, en adaptant la forme des gradients d'encodage spiraux et en réalisant les mesures de trajectoire de l'espace k en présence de l'ensemble des gradients (en particulier les gradients des modules VAPOR et OVS) de manière à réduire l'effet des courants de Foucault sur les images spectroscopiques.

L'application de l'imagerie spectroscopique par encodage spiral à la mesure du pH extracellulaire dans les gliomes C6 a permis de confirmer et d'approfondir les résultats précédemment obtenus par M-L.Garcia (62). L'acidité extracellulaire et le lactate ne présentent pas de corrélation spatiale positive. Après une hyperglycémie, une production de lactate et une production de protons sont observées, cependant l'augmentation de protons et de lactate ne sont pas colocalisée. Ces résultats suggèrent que la glycolyse est un mécanisme important dans l'acidification du pH_e dans les tumeurs, mais des mécanismes semblent permettre une redistribution des protons, leur permettant de jouer un rôle important dans la prolifération tumorale.

L'ammonium joue un rôle important dans le métabolisme cérébral, puisqu'il est nécessaire à la formation de la glutamine. Cependant il semblerait qu'il puisse jouer également un autre rôle important dans la régulation de la glycolyse, lors de la stimulation neuronale. Les résultats obtenus montrent que la production de lactate est stimulée par l'ammonium. Ce phénomène est réversible et peut être répété. Bien que très loin d'être une preuve d'un rôle physiologique de l'ammonium, ceci est une condition sine qua non. Ces résultats sont donc une première étape dans la connaissance du rôle exact de l'ammonium dans les échanges entre neurones et cellules gliales.

10 Liste des abréviations

^1H	proton
B_0	Champ magnétique statique
CHESS	"Chemical shift selective", technique de suppression du signal de l'eau
f	Débit sanguin cérébral ($\text{mL.g}^{-1}.\text{s}^{-1}$)
FASTERMAP	"fast, automatic shimming technique with improved efficiency and reliability for mapping along projections"
FASTMAP	"fast, automatic shimming technique by mapping along projections"
FID	"free induction decay", signal de précession libre
FLATNESS	"Five Linear Acquisitions for up to Thirdorder, Noniterative, Efficient Slice Shimming"
GABA	acide γ -aminobutyrique
glc	glucose
gln	glutamine
glu	glutamate
glx	Appellation générique donnée à la raie située à 2.35 ppm contenant glu, gln et GABA et NAA
lact	Lactate
lip	Lipides
M_0	Aimantation macroscopique
M_b	Aimantation longitudinale du tissu cérébral
M_z	Aimantation longitudinale
NAA	N-acétylaspartate
OVS	"outer volume saturation"
pHe	pH extracellulaire
pHi	pH intracellulaire
ppm	Partie par million
PRESS	Point RESolved Spectroscopy
RMN	Résonance magnétique nucléaire
SEM	erreur standard sur la moyenne (standard error of the mean)
T_1	Temps de relaxation longitudinal
T_2	Temps de relaxation transverse

T_2^*	Temps de relaxation transverse apparent (prenant en compte les inhomogénéités de champ magnétique)
tCho	Choline totale (choline + phosphocholine)
tCr	Créatine totale (créatine + phosphocréatine)
TE	Temps d'écho
TR	Temps de répétition
TSP	3-(trimethylsilyl)-propionic acid d_4 , référence de déplacement chimique utilisée <i>in vitro</i>
VAPOR	"Variable pulse power and optimized relaxation delays", technique de suppression du signal de l'eau
γ	Rapport gyromagnétique
λ	Coefficient de partition entre l'eau contenue dans le sang et dans le tissu cérébral

11 Bibliographie

1. Bottomley PA. Spatial localization in NMR spectroscopy in vivo. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1987;508:333-348.
2. Behar KL, Ogino T. Assignment of resonance in the ^1H spectrum of rat brain by two-dimensional shift correlated and J-resolved NMR spectroscopy. *Magn Reson Med* 1991;17(2):285-303.
3. Zoula S. Lipides mobiles détectés par spectroscopie RMN du proton dans un modèle de gliome intracérébral chez le rat : localisation, signification et intérêt pour le diagnostic des tumeurs cérébrales [Sciences]. Grenoble (France): Joseph Fourier - Grenoble 1; 2002.
4. Bodenhausen G, Freeman R, Turner DL. Suppression of artifacts in two-dimensional J spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance* (1969) 1977;27(3):511-514.
5. Brown TR, Kincaid BM, Ugurbil K. NMR chemical shift imaging in three dimensions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1982;79(11):3523-3526.
6. Maudsley AA, Matson GB, Hugg JW, Weiner MW. Reduced phase encoding in spectroscopic imaging. *Magn Reson Med* 1994;31(6):645-651.
7. Hugg JW, Maudsley AA, Weiner MW, Matson GB. Comparison of k-space sampling schemes for multidimensional MR spectroscopic imaging. *Magn Reson Med* 1996;36(3):469-473.
8. von Kienlin M, Ziegler A, Le Fur Y, Rubin C, Decorps M, Remy C. 2D-spatial/2D-spectral spectroscopic imaging of intracerebral gliomas in rat brain. *Magn Reson Med* 2000;43(2):211-219.
9. Doyle M, Mansfield P. Chemical-shift imaging: a hybrid approach. *Magn Reson Med* 1987;5(3):255-261.
10. Guilfoyle DN, Blamire A, Chapman B, Ordidge RJ, Mansfield P. PEEP--a rapid chemical-shift imaging method. *Magn Reson Med* 1989;10(2):282-287.
11. Mansfield P. Spatial mapping of the chemical shift in NMR. *Magn Reson Med* 1984;1(3):370-386.
12. Adalsteinsson E, Irarrazabal P, Topp S, Meyer C, Macovski A, Spielman DM. Volumetric spectroscopic imaging with spiral-based k-space trajectories. *Magn Reson Med* 1998;39(6):889-898.

13. Hiba B, Faure B, Lamalle L, Décorps M, Ziegler A. Out-and-in spiral spectroscopic imaging in rat brain at 7T. *Magnetic Resonance in Medecine* 2003;50(6):1127-1133.
14. Hiba B. Imagerie spectroscopique spirale par résonance magnétique à 7 T : développement et applications sur le cerveau de rat tumoral [Sciences]. Grenoble (France): Joseph Fourier - Grenoble 1; 2004.
15. Alley MT, Glover GH, Pelc NJ. Gradient characterization using a Fourier-transform technique. *Magn Reson Med* 1998;39(4):581-587.
16. Duyn JH, Yang Y, Frank JA, van der Veen JW. Simple correction method for k-space trajectory deviations in MRI. *J Magn Reson* 1998;132(1):150-153.
17. Mason GF, Harshbarger T, Hetherington HP, Zhang Y, Pohost GM, Twieg DB. A method to measure arbitrary k-space trajectories for rapid MR imaging. *Magn Reson Med* 1997;38(3):492-496.
18. Spielman DM, Pauly JM. Spiral imaging on a small-bore system at 4.7T. *Magn Reson Med* 1995;34(4):580-585.
19. Haase A, Frahm J, Hanicke W, Matthaei D. 1H NMR chemical shift selective (CHESS) imaging. *Phys Med Biol* 1985;30(4):341-344.
20. Tkac I, Starcuk Z, Choi IY, Gruetter R. In vivo 1H NMR spectroscopy of rat brain at 1 ms echo time. *Magn Reson Med* 1999;41(4):649-656.
21. Tkac I, Andersen P, Adriany G, Merkle H, Ugurbil K, Gruetter R. In vivo 1H NMR spectroscopy of the human brain at 7 T. *Magn Reson Med* 2001;46(3):451-456.
22. Doddrell DD, Galloway GJ, Brooks WM, Bulsing JM, Field JC, Irving MG, Baddeley H. The utilization of two frequency-shifted sinc pulses for performing volume-selected *in vivo* NMR spectroscopy. *Magnetic Resonance in Medicine* 1986;3(6):970-975.
23. Williams DS, Detre JA, Leigh JS, Koretsky AP. Magnetic resonance imaging of perfusion using spin inversion of arterial water. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89(1):212-216.
24. Zhang W, Williams DS, Detre JA, Koretsky AP. Measurement of brain perfusion by volume-localized NMR spectroscopy using inversion of arterial water spins: accounting for transit time and cross-relaxation. *Magn Reson Med* 1992;25(2):362-371.
25. Gruetter R. Automatic, localized in vivo adjustment of all first- and second-order shim coils. *Magn Reson Med* 1993;29(6):804-811.

26. Shen J, Rycyna RE, Rothman DL. Improvements on an in vivo automatic shimming method [FASTERMAP]. *Magn Reson Med* 1997;38(5):834-839.
27. Shen J, Rothman DL, Hetherington HP, Pan JW. Linear projection method for automatic slice shimming. *Magn Reson Med* 1999;42(6):1082-1088.
28. Wilson JL, Jenkinson M, Jezzard P. Optimization of static field homogeneity in human brain using diamagnetic passive shims. *Magn Reson Med* 2002;48(5):906-914.
29. Wilson JL, Jenkinson M, Jezzard P. Protocol to determine the optimal intraoral passive shim for minimisation of susceptibility artifact in human inferior frontal cortex. *Neuroimage* 2003;19(4):1802-1811.
30. Hsu JJ, Glover GH. Mitigation of susceptibility-induced signal loss in neuroimaging using localized shim coils. *Magn Reson Med* 2005;53(2):243-248.
31. Juchem C, Logothetis NK, Pfeuffer J. Simple approach of combined passive and active shimming for in vivo MR spectroscopy of the brain. 2005; Basel (CH). ESMRMB.
32. Jehenson P, Westphal M, Schuff N. Analytical method for the compensation of eddy-current effects induced by pulsed magnetic field gradients in NMR systems. *Journal of Magnetic Resonance (1969)* 1990;90(2):264-278.
33. Van Vaals JJ, Bergman AH. Optimization of eddy-current compensation. *Journal of Magnetic Resonance (1969)* 1990;90(1):52-70.
34. Terpstra M, Andersen PM, Gruetter R. Localized eddy current compensation using quantitative field mapping. *J Magn Reson* 1998;131(1):139-143.
35. Senaj V, Guillot G, Darrasse L. Inductive measurement of magnetic field gradients for magnetic resonance imaging. *Review of Scientific Instruments* 1998;69(6):2400-2405.
36. Wysong RE, Lowe IJ. A simple method of measuring gradient induced eddy currents to set compensation networks. *Magn Reson Med* 1993;29(1):119-121.
37. Wike-Hooley JL, Haveman J, Reinhold HS. The relevance of tumour pH to the treatment of malignant disease. *Radiother Oncol* 1984;2(4):343-366.
38. Kallinowski F, Vaupel P. pH distributions in spontaneous and isografted rat tumours. *Br J Cancer* 1988;58(3):314-321.
39. Stubbs M, McSheehy PM, Griffiths JR. Causes and consequences of acidic pH in tumors: a magnetic resonance study. *Adv Enzyme Regul* 1999;39:13-30.

40. Gerweck LE, Seetharaman K. Cellular pH gradient in tumor versus normal tissue: potential exploitation for the treatment of cancer. *Cancer Res* 1996;56(6):1194-1198.
41. Raghunand N, He X, van Sluis R, Mahoney B, Baggett B, Taylor CW, Paine-Murrieta G, Roe D, Bhujwala ZM, Gillies RJ. Enhancement of chemotherapy by manipulation of tumour pH. *Br J Cancer* 1999;80(7):1005-1011.
42. McSheehy PM, Troy H, Kelland LR, Judson IR, Leach MO, Griffiths JR. Increased tumour extracellular pH induced by Bafilomycin A1 inhibits tumour growth and mitosis in vivo and alters 5-fluorouracil pharmacokinetics. *Eur J Cancer* 2003;39(4):532-540.
43. Cardone RA, Casavola V, Reshkin SJ. The role of disturbed pH dynamics and the Na⁺/H⁺ exchanger in metastasis. *Nat Rev Cancer* 2005;5(10):786-795.
44. Gatenby RA, Gawlinski ET, Gmitro AF, Kaylor B, Gillies RJ. Acid-mediated tumor invasion: a multidisciplinary study. *Cancer Res* 2006;66(10):5216-5223.
45. Gatenby RA, Gillies RJ. Why do cancers have high aerobic glycolysis? *Nat Rev Cancer* 2004;4(11):891-899.
46. Stock C, Gassner B, Hauck CR, Arnold H, Mally S, Eble JA, Dieterich P, Schwab A. Migration of human melanoma cells depends on extracellular pH and Na⁺/H⁺ exchange. *J Physiol* 2005;567(Pt 1):225-238.
47. Mathupala SP, Parajuli P, Sloan AE. Silencing of monocarboxylate transporters via small interfering ribonucleic acid inhibits glycolysis and induces cell death in malignant glioma: an in vitro study. *Neurosurgery* 2004;55(6):1410-1419; discussion 1419.
48. Petrangolini G, Supino R, Pratesi G, Dal Bo L, Tortoreto M, Croce AC, Misiano P, Belfiore P, Farina C, Zunino F. Effect of a novel vacuolar-H⁺-ATPase inhibitor on cell and tumor response to camptothecins. *J Pharmacol Exp Ther* 2006;318(3):939-946.
49. Matoba S, Kang JG, Patino WD, Wragg A, Boehm M, Gavrilova O, Hurley PJ, Bunz F, Hwang PM. p53 regulates mitochondrial respiration. *Science* 2006;312(5780):1650-1653.
50. Bensaad K, Tsuruta A, Selak MA, Vidal MN, Nakano K, Bartrons R, Gottlieb E, Vousden KH. TIGAR, a p53-inducible regulator of glycolysis and apoptosis. *Cell* 2006;126(1):107-120.
51. Mason MJ, Thomas RC. A microelectrode study of the mechanisms of L-lactate entry into and release from frog sartorius muscle. *J Physiol* 1988;400:459-479.

52. Halestrap AP, Price NT. The proton-linked monocarboxylate transporter (MCT) family: structure, function and regulation. *Biochem J* 1999;343 Pt 2:281-299.
53. Pampus F. [Hydrogen-Ion Concentration of Brain Tissue in Space-Occupying Intracranial Processes.]. *Acta Neurochir (Wien)* 1963;11:305-318.
54. Jahde E, Rajewsky MF, Baumgartl H. pH distributions in transplanted neural tumors and normal tissues of BDIX rats as measured with pH microelectrodes. *Cancer Res* 1982;42(4):1498-1504.
55. Gillies RJ, Liu Z, Bhujwalla Z. ³¹P-MRS measurements of extracellular pH of tumors using 3-aminopropylphosphonate. *Am J Physiol* 1994;267(1 Pt 1):C195-203.
56. Ojugo AS, McSheehy PM, McIntyre DJ, McCoy C, Stubbs M, Leach MO, Judson IR, Griffiths JR. Measurement of the extracellular pH of solid tumours in mice by magnetic resonance spectroscopy: a comparison of exogenous (¹⁹F) and (³¹P) probes. *NMR Biomed* 1999;12(8):495-504.
57. Kintner DB, Anderson ME, Sailor KA, Dienel G, Fitzpatrick JH, Jr., Gilboe DD. In vivo microdialysis of 2-deoxyglucose 6-phosphate into brain: a novel method for the measurement of interstitial pH using ³¹P-NMR. *J Neurochem* 1999;72(1):405-412.
58. Aoki Y, Akagi K, Tanaka Y, Kawai J, Takahashi M. Measurement of intratumor pH by pH indicator used in ¹⁹F-magnetic resonance spectroscopy. Measurement of extracellular pH decrease caused by hyperthermia combined with hydralazine. *Invest Radiol* 1996;31(11):680-689.
59. Gil S, Zaderenzo P, Cruz F, Cerdan S, Ballesteros P. Imidazol-1-ylalkanoic acids as extrinsic ¹H NMR probes for the determination of intracellular pH, extracellular pH and cell volume. *Bioorg Med Chem* 1994;2(5):305-314.
60. van Sluis R, Bhujwalla ZM, Raghunand N, Ballesteros P, Alvarez J, Cerdan S, Galons JP, Gillies RJ. In vivo imaging of extracellular pH using ¹H MRSI. *Magn Reson Med* 1999;41(4):743-750.
61. Bhujwalla ZM, Artemov D, Ballesteros P, Cerdan S, Gillies RJ, Solaiyappan M. Combined vascular and extracellular pH imaging of solid tumors. *NMR Biomed* 2002;15(2):114-119.
62. Garcia-Martin M-L, Herigault G, Remy C, Farion R, Ballesteros P, Coles JA, Cerdan S, Ziegler A. Mapping extracellular pH in rat brain gliomas in vivo by ¹H magnetic resonance spectroscopic imaging: comparison with maps of metabolites. *Cancer Research* 2001;61(17):6524-6531.
63. Akitt JW, Mann BE. *NMR and Chemistry : An Introduction to modern NMR spectroscopy*. 4 th ed: Stanley Thornes. p 189-198.

64. Hérigault G. Spectroscopie RMN du proton *in vivo* à 1 ou 2 dimensions fréquentielles. Application au cerveau de rat tumoral [Sciences]. Grenoble (France): Joseph Fourier - Grenoble 1; 2000.
65. Metz KR, Lam MM, Webb AG. Reference deconvolution: A simple and effective method for resolution enhancement in nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Concepts in Magnetic Resonance* 2000;12(1):21-42.
66. Morris GA. Compensation of instrumental imperfections by deconvolution using an internal reference signal. *Journal of Magnetic Resonance* (1969) 1988;80(3):547-552.
67. Zoula S, Herigault G, Ziegler A, Farion R, Decors M, Remy C. Correlation between the occurrence of 1H-MRS lipid signal, necrosis and lipid droplets during C6 rat glioma development. *NMR Biomed* 2003;16(4):199-212.
68. Tamiya T, Kinoshita K, Ono Y, Matsumoto K, Furuta T, Ohmoto T. Proton magnetic resonance spectroscopy reflects cellular proliferative activity in astrocytomas. *Neuroradiology* 2000;42(5):333-338.
69. Terpstra M, Gruetter R, High WB, Mescher M, DelaBarre L, Merkle H, Garwood M. Lactate turnover in rat glioma measured by *in vivo* nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Cancer Res* 1998;58(22):5083-5088.
70. Loginov VM, Vorob'ev Iu V, Khalanskii AS, Kachkov IA, Promyslov M. [Concentration of lactate concentration in experimental glial tumors and brain tissue during brief artificial hyperglycemia]. *Zh Vopr Neirokhir Im N N Burdenko* 1985(2):31-35.
71. Reinhold HS, van den Berg-Blok AE, van den Berg AP. Dose-effect relationships for glucose-induced tumour acidification and its erythrocyte flux. *Eur J Cancer* 1991;27(9):1151-1154.
72. Helmlinger G, Sckell A, Dellian M, Forbes NS, Jain RK. Acid production in glycolysis-impaired tumors provides new insights into tumor metabolism. *Clin Cancer Res* 2002;8(4):1284-1291.
73. Sanchez-Alvarez R, Paino T, Herrero-Gonzalez S, Medina JM, Tabernero A. Tolbutamide reduces glioma cell proliferation by increasing connexin43, which promotes the up-regulation of p21 and p27 and subsequent changes in retinoblastoma phosphorylation. *Glia* 2006;54(2):125-134.
74. Pfeuffer J, Tkac I, Gruetter R. Extracellular-intracellular distribution of glucose and lactate in the rat brain assessed noninvasively by diffusion-weighted 1H nuclear magnetic resonance spectroscopy *in vivo*. *J Cereb Blood Flow Metab* 2000;20(4):736-746.

75. Phillips GB, Schwartz R, Gabuzda GJ, Jr., Davidson CS. The syndrome of impending hepatic coma in patients with cirrhosis of the liver given certain nitrogenous substances. *N Engl J Med* 1952;247(7):239-246.
76. Kanamori K, Ross BD, Chung JC, Kuo EL. Severity of hyperammonemic encephalopathy correlates with brain ammonia level and saturation of glutamine synthetase in vivo. *J Neurochem* 1996;67(4):1584-1594.
77. Shawcross DL, Damink SW, Butterworth RF, Jalan R. Ammonia and hepatic encephalopathy: the more things change, the more they remain the same. *Metab Brain Dis* 2005;20(3):169-179.
78. Muntz JA, Hurwitz J. The effect of ammonium ions upon isolated reactions of the glycolytic scheme. *Arch Biochem* 1951;32(1):137-149.
79. Bates TE, Williams SR, Kauppinen RA, Gadian DG. Observation of cerebral metabolites in an animal model of acute liver failure in vivo: a ¹H and ³¹P nuclear magnetic resonance study. *J Neurochem* 1989;53(1):102-110.
80. Fitzpatrick SM, Hetherington HP, Behar KL, Shulman RG. Effects of acute hyperammonemia on cerebral amino acid metabolism and pH in vivo, measured by ¹H and ³¹P nuclear magnetic resonance. *J Neurochem* 1989;52(3):741-749.
81. Hawkins RA, Miller AL, Nielsen RC, Veech RL. The acute action of ammonia on rat brain metabolism in vivo. *Biochem J* 1973;134(4):1001-1008.
82. Hindfelt B, Siesjö BK. Cerebral effects of acute ammonia intoxication. II. The effect upon energy metabolism. *Scand J Clin Lab Invest* 1971;28(3):365-374.
83. Hindfelt B. The effect of acute ammonia intoxication upon the brain energy state in rats pretreated with L-methionine D-L-sulphoximine. *Scand J Clin Lab Invest* 1973;31(3):289-299.
84. O'Connor JE, Costell M, Grisolia S. Prevention of ammonia toxicity by L-carnitine: metabolic changes in brain. *Neurochem Res* 1984;9(4):563-570.
85. Zwingmann C, Chatauret N, Leibfritz D, Butterworth RF. Selective increase of brain lactate synthesis in experimental acute liver failure: results of a [¹H-C] nuclear magnetic resonance study. *Hepatology* 2003;37(2):420-428.
86. Coles JA, Vega C, Marcaggi P. Metabolic trafficking between cells in nervous tissue. *Prog Brain Res* 2000;125:241-254.
87. Pellerin L, Magistretti PJ. Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91(22):10625-10629.

88. Tsacopoulos M, Poitry-Yamate CL, Poitry S. Ammonium and glutamate released by neurons are signals regulating the nutritive function of a glial cell. *J Neurosci* 1997;17(7):2383-2390.
89. Poitry S, Poitry-Yamate C, Ueberfeld J, MacLeish PR, Tsacopoulos M. Mechanisms of glutamate metabolic signaling in retinal glial (Muller) cells. *J Neurosci* 2000;20(5):1809-1821.
90. Marcaggi P, Coles JA. Ammonium in nervous tissue: transport across cell membranes, fluxes from neurons to glial cells, and role in signalling. *Prog Neurobiol* 2001;64(2):157-183.
91. Govindaraju V, Young K, Maudsley AA. Proton NMR chemical shifts and coupling constants for brain metabolites. *NMR Biomed* 2000;13(3):129-153.
92. Kickler N. Mesure de glutamate cérébral chez l'homme et chez le petit animal par spectroscopie RMN in vivo, application à la maladie de Parkinson: Université Joseph Fourier Grenoble; 2006.
93. de Graaf RA. In vivo NMR spectroscopy : Principles and techniques. Wiley, editor; 1998.
94. Sager TN, Laursen H, Fink-Jensen A, Topp S, Stensgaard A, Hedehus M, Rosenbaum S, Valsborg JS, Hansen AJ. N-Acetylaspartate distribution in rat brain striatum during acute brain ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 1999;19(2):164-172.
95. Miyake M, Kakimoto Y. Developmental changes of N-acetyl-L-aspartic acid, N-acetyl-alpha-aspartylglutamic acid and beta-citryl-L-glutamic acid in different brain regions and spinal cords of rat and guinea pig. *J Neurochem* 1981;37(4):1064-1067.
96. Marcucci F, Mussini E, Valzelli L, Garattini S. Distribution of N-acetyl-L-aspartic acid in rat brain. *J Neurochem* 1966;13(11):1069-1070.
97. Spahr L, Butterworth RF, Fontaine S, Bui L, Therrien G, Milette PC, Lebrun LH, Zayed J, Leblanc A, Pomier-Layrargues G. Increased blood manganese in cirrhotic patients: relationship to pallidal magnetic resonance signal hyperintensity and neurological symptoms. *Hepatology* 1996;24(5):1116-1120.
98. Klos KJ, Ahlskog JE, Josephs KA, Fealey RD, Cowl CT, Kumar N. Neurologic spectrum of chronic liver failure and basal ganglia T1 hyperintensity on magnetic resonance imaging: probable manganese neurotoxicity. *Arch Neurol* 2005;62(9):1385-1390.
99. Kirsten E, Gerez C, Kirsten R. [An enzymatic microdetermination method for ammonia, specifically for extracts of animal tissues and fluids. Determination of NH₄ ions in blood.]. *Biochem Z* 1963;337:312-319.

100. da Fonseca-Wollheim F. [Direct determination of plasma ammonia without deproteinization. An improved enzymic determination of ammonia, II (author's transl)]. *Z Klin Chem Klin Biochem* 1973;11(10):426-431.
101. Benjamin AM, Quastel JH. Metabolism of amino acids and ammonia in rat brain cortex slices in vitro: a possible role of ammonia in brain function. *J Neurochem* 1975;25(3):197-206.
102. Tsacopoulos M, Magistretti PJ. Metabolic coupling between glia and neurons. *J Neurosci* 1996;16(3):877-885.
103. Marcaggi P, Attwell D. Role of glial amino acid transporters in synaptic transmission and brain energetics. *Glia* 2004;47(3):217-225.
104. Bak LK, Schousboe A, Waagepetersen HS. The glutamate/GABA-glutamine cycle: aspects of transport, neurotransmitter homeostasis and ammonia transfer. *J Neurochem* 2006;98(3):641-653.
105. Nagaraja TN, Brookes N. Intracellular acidification induced by passive and active transport of ammonium ions in astrocytes. *Am J Physiol* 1998;274(4 Pt 1):C883-891.
106. Marcaggi P. An ammoniumflux from neurons to glia cells. 2006; London (GB).

12 Annexes

12.1 Equipement

L'ensemble des expériences de RMN sur le petit animal ont été menées sur un aimant de 7 T

- Aimant supraconducteur horizontal de 7 T, diamètre 21cm (Magnex Scientific Ltd.)
- Fourreau de gradient (Magnex Scientific Ltd., SGRAD MKII 195/120/S) autobloqué avec un système de refroidissement à eau. Intensité maximale de gradient 200mT/m. Diamètre interne de 12 cm
- Amplificateur RF 200-400 MHz, 1 kW (Bruker Biospin, BLAH1000)
- Amplificateurs de gradient (AE Techtron Corp. Amplifiers 7700)
- Alimentation de shim (Resonance Research Corp.) 2-4 A par canal, 10 A total max
- Console de pilotage SMIS (MRRS Research Software 6.1)

L'antenne utilisée pour la spectroscopie est une antenne de surface d'un diamètre de 25 mm, fabriquée au laboratoire.

Pour les expériences de marquage de spins artériels, une antenne de volume en quadrature (Rapid Biomed, diamètre interne 69mm) a été utilisée pour l'émission et la réception du signal. Elle n'a pas été utilisée pour la spectroscopie du fait d'une trop faible sensibilité à la réception.

L'animal et l'antenne sont placés dans un berceau (Figure 12-1), maintenu par un positionneur à l'extérieur de l'aimant (Figure 12-2). Les gradients d'encodage spiraux provoquent de fortes vibrations mécaniques. Pour limiter les mouvements de l'animal et de l'antenne pendant l'application de ces gradients, un support suspendu a été réalisé. Le berceau est séparé du fourreau de gradients par de la mousse placée à l'extrémité du berceau. La mousse permet de limiter la propagation des vibrations.

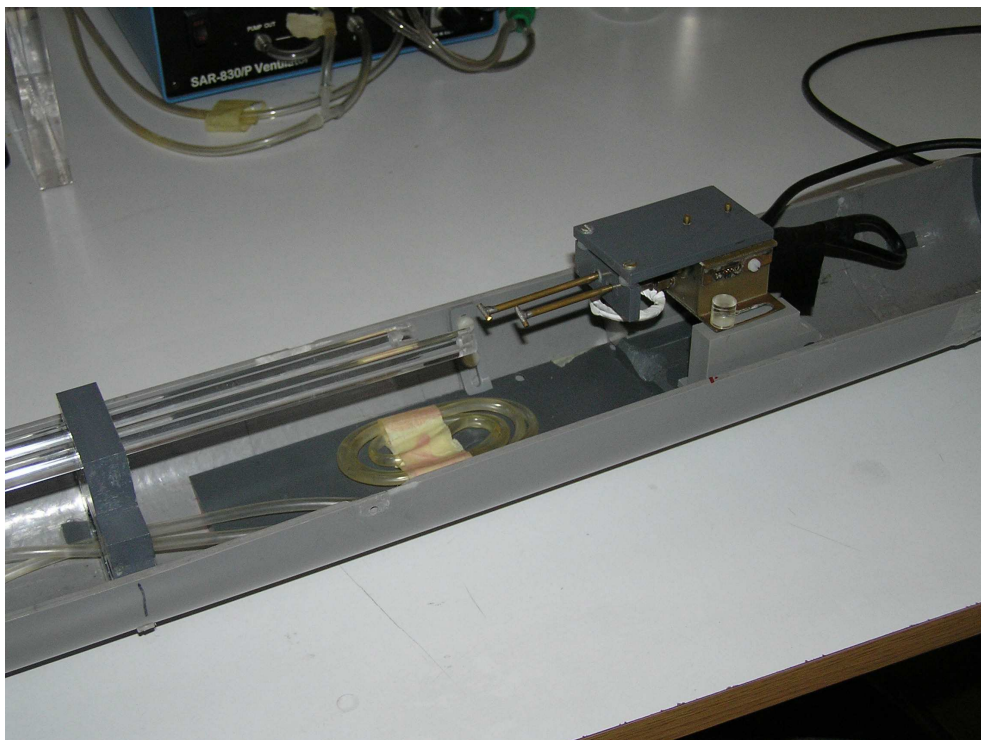


Figure 12-1. Berceau et antenne de surface



Figure 12-2. Positionneur sur lequel est fixé le berceau. Il permet de régler la position du berceau par rapport au centre de l'aimant, dans les trois directions

L'animal est maintenu par des barres d'oreilles. Une circulation d'eau est placée sous l'abdomen, un système de régulation permet de contrôler la circulation pour maintenir la température rectale à 37°C.

12.2 Programme de suivi des paramètres physiologiques

Différents paramètres peuvent être suivis au cours des expériences et enregistrés pour une analyse ultérieure. Ces paramètres sont la respiration, dans le cas où la respiration est maintenue par un ventilateur mécanique, la pression artérielle et la température rectale.

Le système a été développé par Olivier Montigon, il se compose d'un programme écrit en LabView, interfacé avec des cartes d'acquisitions.

La respiration est mesurée directement au niveau du ventilateur. La pression artérielle est mesurée par un transducteur placé à l'extrémité du cathéter artériel. La température est mesurée par une sonde rectale.

L'écran de visualisation permet d'observer l'évolution des différents paramètres en temps réel, et d'accéder dans un même temps à un historique de l'évolution depuis le début de l'expérience. Les paramètres peuvent être enregistrés de manière continue ou à des moments précis de l'expérience. Un fichier texte est alors généré et permet un traitement ultérieur.

12.3 Programme de shim automatique

Le programme de shim automatique a été développé en langage C++ et se présente sous la forme d'une application exécutable. Il est installé sur chaque spectromètre (2.35 T et 7 T).

Une matrice de calibration a été réalisée pour chaque spectromètre.

L'interface utilisateur est présentée sur la Figure 12-3. Il se compose de quatre onglets permettant de sélectionner le type de volume (volume ou trois orientations possibles) dans lequel sont réalisées les mesures de champ. Une fois le choix réalisé, une pression sur le bouton Autoshim file permet de faire apparaître successivement trois boîtes de dialogue. La première demande de choisir le fichier dans lequel les données ont été acquises, la seconde demande le nom du fichier de shim qui était utilisé pendant l'acquisition, la troisième permet de choisir le nom de fichier sous lequel seront enregistrées les nouvelles valeurs des courants à appliquer.

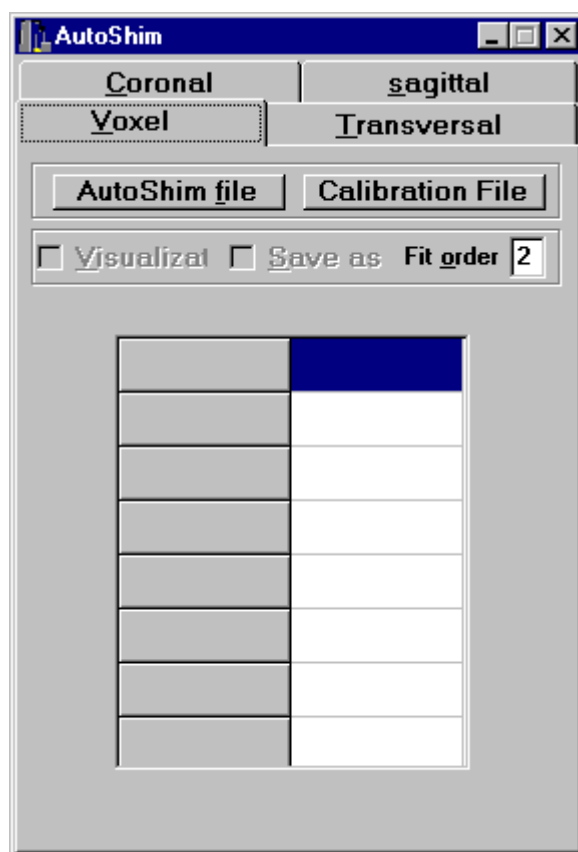


Figure 12-3. Interface du programme de shim automatique

Après traitement des données, les nouvelles valeurs de courant à appliquer sont enregistrées dans le fichier et affichées sur l'interface (Figure 12-4), pour permettre un contrôle rapide.

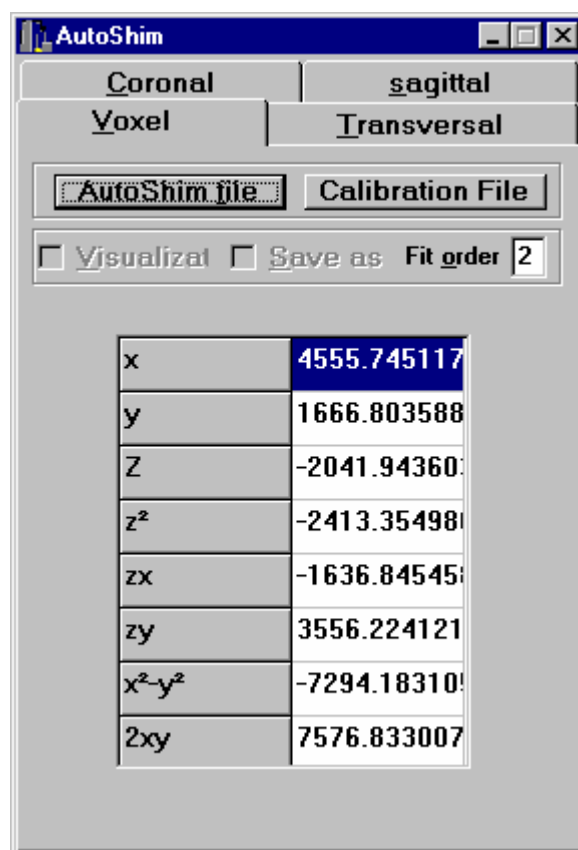


Figure 12-4. Interface du programme de shim automatique : les valeurs decourant à appliquer sont affichés (unité arbitraire)

La matrice de calibration par défaut est celle mesurée sur le spectromètre où le programme est installé, cependant, la touche « calibration file » permet de charger une matrice différente.

Création de la matrice de calibration

Pour créer la matrice de calibration, il faut mesurer les coefficients des harmoniques sphériques générés par différentes valeurs de courants appliqués sur un shim. Les différentes acquisitions sont réalisées en utilisant une macro installée sur le spectromètre. Cette macro permet de réaliser ces acquisitions, en donnant le fichier de paramètres à utiliser ainsi que le nombre de pas et d'incrémentes à réaliser sur chaque bobine sélectionnée.

Une option du programme décrit précédemment permet d'enregistrer les coefficients des harmoniques sphériques pour chaque fichier.

Par régression linéaire, la contribution de chaque bobine sur les différentes harmoniques sphériques est calculée. La matrice de calibration est ensuite générée de la manière décrite dans le chapitre 4.