



# Développements en imagerie RMN spirale et application à la caractérisation de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique sur deux modèles de tumeurs intracérébrales

Marine Beaumont

## ► To cite this version:

Marine Beaumont. Développements en imagerie RMN spirale et application à la caractérisation de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique sur deux modèles de tumeurs intracérébrales. Biophysique [physics.bio-ph]. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2007. Français.  $\langle$ NNT :  $\rangle$ .  $\langle$ tel-00201228 $\rangle$

**HAL Id: tel-00201228**

**<https://theses.hal.science/tel-00201228v1>**

Submitted on 27 Dec 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.



HAL Authorization

# **Thèse**

présentée par

**Marine BEAUMONT**

Pour obtenir le titre de

**Docteur de l'Université Grenoble I - Joseph Fourier**

Spécialité : **Physique**

Option : **Physique pour les Sciences du Vivant**

## **Développements en imagerie RMN spirale et application à la caractérisation de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique sur deux modèles de tumeurs intracérébrales**

Thèse dirigée par Emmanuel BARBIER et Christoph SEGEBARTH

### **Composition du jury :**

|               |                                                                                                                                                        |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Rapporteurs : | Yannick Crémillieux, Directeur de Recherche<br>Charles-André Cuenod, Professeur                                                                        |
| Examineurs :  | Emmanuel Barbier, Chargé de Recherche<br>Antoine Delon, Professeur<br>Christoph Segebarth, Directeur de Recherche<br>Andreas Volk, Chargé de Recherche |

Grenoble Institut des Neurosciences - U836 INSERM / UJF / CEA

Equipe 5 - Neuroimagerie Fonctionnelle et Métabolique











# Tables des matières

|                                                                      |           |
|----------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Tables des matières .....</b>                                     | <b>7</b>  |
| <b>Liste des abréviations.....</b>                                   | <b>11</b> |
| <b>Liste des symboles .....</b>                                      | <b>13</b> |
| <b>Chapitre 1 : Introduction générale.....</b>                       | <b>15</b> |
| <b>I. Quelques principes théoriques de l'IRM .....</b>               | <b>16</b> |
| I.1. Quelques concepts de RMN.....                                   | 16        |
| I.1.a. Une aimantation macroscopique .....                           | 16        |
| I.1.b. Principe d'une expérience de RMN .....                        | 19        |
| I.1.c. Les temps de relaxation.....                                  | 20        |
| I.2. Application de la RMN à l'imagerie.....                         | 22        |
| I.2.a. Le gradient de champ magnétique .....                         | 23        |
| I.2.b. L'espace k.....                                               | 25        |
| <b>II. Les agents de contraste en IRM .....</b>                      | <b>29</b> |
| II.1. Les principaux types d'agents de contraste .....               | 29        |
| II.1.a. Les agents de contraste paramagnétiques.....                 | 30        |
| II.1.b. Les agents de contraste superparamagnétiques.....            | 30        |
| II.2. Principes d'action d'un agent de contraste en IRM.....         | 31        |
| II.2.a. Modification de la relaxation protonique.....                | 31        |
| II.2.b. Effet de susceptibilité magnétique et compartimentation..... | 32        |
| II.3. Nature du contraste de l'image .....                           | 33        |
| II.3.a. Influence des paramètres extrinsèques.....                   | 33        |
| II.3.b. Influence des agents de contraste sur l'image.....           | 35        |
| <b>III. La perméabilité vasculaire cérébrale.....</b>                | <b>39</b> |
| III.1. La barrière hémato-encéphalique .....                         | 39        |

|                                                                                             |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| III.1.a. Le cerveau sain : BHE intègre .....                                                | 39        |
| III.1.b. Le cerveau pathologique : BHE lésée .....                                          | 41        |
| III.2. Le concept de perméabilité vasculaire .....                                          | 43        |
| III.2.a. Définitions .....                                                                  | 43        |
| III.2.b. Les intérêts de la quantification .....                                            | 45        |
| III.3. Mesure de la perméabilité vasculaire .....                                           | 47        |
| III.3.a. Différentes techniques d'imagerie et leur AC .....                                 | 48        |
| III.3.b. Méthodes de mesure de la perméabilité à un AC .....                                | 49        |
| III.3.c. Méthode de mesure utilisée .....                                                   | 51        |
| <b>IV. Problématique et objectifs de l'étude .....</b>                                      | <b>55</b> |
| <br><b>Chapitre 2 : Développements méthodologiques : imagerie spirale et</b>                |           |
| <b>calibration de trajectoire .....</b>                                                     | <b>57</b> |
| <br><b>I. L'imagerie rapide spirale .....</b>                                               | <b>57</b> |
| I.1. Introduction .....                                                                     | 57        |
| I.2. Les spirales à densité variable .....                                                  | 59        |
| I.2.a. Théorie .....                                                                        | 59        |
| I.2.b. Implémentation et interfaçage .....                                                  | 63        |
| I.3. Optimisation des paramètres d'acquisition .....                                        | 64        |
| I.3.a. Problématique .....                                                                  | 64        |
| I.3.b. Matériel et méthodes .....                                                           | 65        |
| I.3.c. Résultats .....                                                                      | 67        |
| I.3.d. Conclusion .....                                                                     | 71        |
| I.4. Les techniques de reconstruction .....                                                 | 72        |
| I.4.a. Le gridding avec noyau de convolution .....                                          | 72        |
| I.4.b. La méthode itérative (INNG) .....                                                    | 74        |
| I.4.c. Le gridding linéaire .....                                                           | 75        |
| I.4.d. Le choix d'une technique de reconstruction .....                                     | 76        |
| I.5. Spectromètres et séquences d'acquisition .....                                         | 79        |
| <br><b>II. La calibration de trajectoire : développement d'une approche originale .....</b> | <b>81</b> |
| II.1. Introduction .....                                                                    | 81        |
| II.2. Matériel et méthodes .....                                                            | 83        |

|                                                                                |               |
|--------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| II.2.a. Eléments théoriques.....                                               | 83            |
| II.2.b. Séquence d'impulsions .....                                            | 87            |
| II.2.c. Expériences .....                                                      | 87            |
| II.3. Résultats et discussion .....                                            | 89            |
| <b>III. Conclusion .....</b>                                                   | <b>95</b>     |
| <br><b>Chapitre 3 : Mesure de la perméabilité de la BHE .....</b>              | <br><b>97</b> |
| <b>I. Choix méthodologiques et objectifs.....</b>                              | <b>97</b>     |
| I.1. Mesure du $T_1$ par la technique inversion-récupération .....             | 97            |
| I.2. Choix d'une méthode de mesure de l'AIF .....                              | 98            |
| I.3. Intégration à un protocole de mesure du VS et de l'ITV .....              | 99            |
| I.4. Objectifs de l'étude .....                                                | 99            |
| I.4.a. Faisabilité de l'emploi de deux AC.....                                 | 99            |
| I.4.b. Caractérisation de la perméabilité dans deux modèles de tumeurs .....   | 100           |
| I.4.c. Le Sinerem <sup>®</sup> est-il intravasculaire dans les tumeurs ? ..... | 100           |
| <b>II. Matériel et méthodes .....</b>                                          | <b>103</b>    |
| II.1. Modèles animaux et protocoles biologiques.....                           | 103           |
| II.1.a. Implantation et croissance des tumeurs cérébrales.....                 | 103           |
| II.1.b. Pose d'un cathéter dans la veine de la queue.....                      | 104           |
| II.1.c. Echantillonnage de l'AIF .....                                         | 104           |
| II.1.d. Histologie.....                                                        | 106           |
| II.2. Protocoles d'IRM.....                                                    | 106           |
| II.2.a. Dosage du gadolinium .....                                             | 106           |
| II.2.b. Initialisation des protocoles IRM sur le petit animal .....            | 107           |
| II.2.c. Mesures du VS et de l'ITV.....                                         | 108           |
| II.2.d. Mesure de la perméabilité .....                                        | 109           |
| II.3. Traitements des données .....                                            | 111           |
| II.3.a. Détermination de $T_1$ .....                                           | 111           |
| II.3.b. Détermination de $T_2$ .....                                           | 112           |
| II.3.c. Détermination des relaxivités $r_1$ et $r_2$ .....                     | 112           |
| II.3.d. Détermination de la concentration en Gd .....                          | 112           |
| II.3.e. Détermination du VS et de l'ITV.....                                   | 115           |

|                                                                               |            |
|-------------------------------------------------------------------------------|------------|
| II.3.f. Adaptation de l'AIF de référence à chaque mesure de perméabilité .... | 116        |
| II.3.g. Détermination des paramètres pharmacocinétiques .....                 | 119        |
| II.3.h. Analyse des résultats.....                                            | 119        |
| <b>III. Résultats.....</b>                                                    | <b>121</b> |
| III.1. Mesure des relaxivités du Gd-DOTA.....                                 | 121        |
| III.2. Mesure de l'AIF de référence .....                                     | 122        |
| III.2.a. Effet du sang sur la mesure de $T_2$ .....                           | 122        |
| III.2.b. Dosage de Gd dans le sang : AIF de référence.....                    | 123        |
| III.3. Mesures du VS et de l'ITV .....                                        | 125        |
| III.4. Mesure de la perméabilité .....                                        | 126        |
| III.4.a. Faisabilité.....                                                     | 126        |
| III.4.b. Décours temporels : $C_t(t)$ .....                                   | 128        |
| III.4.c. Cartes paramétriques .....                                           | 129        |
| III.4.d. Comparaison des deux modèles de tumeurs.....                         | 133        |
| III.4.e. Influence du Sinerem <sup>®</sup> sur la mesure .....                | 136        |
| III.5. Extravasation du Sinerem <sup>®</sup> .....                            | 138        |
| <b>IV. Discussion et conclusion.....</b>                                      | <b>141</b> |
| <b>Conclusion générale et perspectives .....</b>                              | <b>151</b> |
| <b>Références .....</b>                                                       | <b>155</b> |

# Liste des abréviations

**AC** : agent de contraste

**AIF** : *arterial input function*

**BHE** : barrière hémato-encéphalique

**CDA** : coefficient de diffusion apparent

**CPMG** : Carr Purcell Meiboom Gill

**DCE-MRI** : *dynamic contrast enhanced MRI*

**EES** : *extravascular extracellular space*

**EPI** : *echo-planar imaging*

**fem** : force électromotrice

**FLASH** : *fast low angle shot sequence*

**FOV** : *field of view*

**GE** : *gradient-echo*

**INNG** : *iterative next-neighbor regridding*

**IRM** : imagerie par résonance magnétique

**IR** : inversion-récupération

**ITV** : index de taille des vaisseaux

**IV** : intraveineuse

**LCR** : liquide céphalo-rachidien

**LMH** : largeur à mi-hauteur

**MDEFT** : *modified driven equilibrium Fourier transform*

**MGESE** : *multi gradient-echoes spin-echo*

**MRI** : *magnetic resonance imaging*

**PSF** : *point spread function*

**RF** : radiofréquence

**RMN** : résonance magnétique nucléaire

**ROI** : *region of interest*

**RSB** : rapport signal sur bruit

**SE** : *spin-echo*

**TDM** : tomodensitométrie

**TE** : temps d'écho

**TF** : transformée de Fourier

**TI** : temps d'inversion

**TR** : temps de répétition

**USPIO** : *ultra-small particle of iron oxide*

**VDS** : *variable density spiral*

**VS** : volume sanguin

**VSC** : volume sanguin cérébral

# Liste des symboles

- $\alpha$  : angle de basculement de l'impulsion RF  
 $\beta$  : densité de l'échantillonnage spiral  
 $\chi$  : susceptibilité magnétique  
 $\delta k$  : pas d'échantillonnage dans l'espace k  
 $\delta x$  : résolution spatiale de l'image  
 $\Delta s$  : épaisseur de tranche pour la calibration de trajectoire  
 $\phi$  : phase du signal RMN  
 $\gamma$  : rapport gyromagnétique  
 $\mu$  : moment magnétique nucléaire  
 $\nu$  : fréquence temporelle  
 $\rho$  : densité d'aimantation, de protons  
 $\sigma$  : moment cinétique de spin  
 $\omega$  : vitesse de rotation
- $B_0$  : champ magnétique principal, statique  
 $B_1$  : champ magnétique tournant, impulsion RF
- $C_e(t)$  : concentration en agent de contraste dans l'espace extravasculaire extracellulaire  
 $C_p(t)$  : concentration en agent de contraste dans le plasma  
 $C_t(t)$  : concentration en agent de contraste dans le tissu
- $Gd$  : gadolinium  
 $G_x, G_y, G_z$  : gradients de champ magnétique
- $h$  : constante de Planck
- $k (k_x, k_y)$  : fréquence spatiale  
 $k_B$  : constante de Boltzmann  
 $k_{ep}$  : constante d'échange entre l'EES et le plasma  
 $k_{pe}$  : constante d'échange entre le plasma et l'EES  
 $k_{max}$  : valeur maximale des fréquences spatiales échantillonnées  
 $K^{trans}$  : constante de transfert à travers la paroi vasculaire
- $M_0$  : aimantation macroscopique, alignée selon  $B_0$   
 $M_{\perp} (M_x, M_y)$  : aimantation transversale  
 $M_z$  : aimantation longitudinale
- $P$  : perméabilité de la paroi vasculaire
- $r_1, r_2$  : relaxivités d'un agent de contraste  
 $R_1$  : vitesse de relaxation longitudinale  
 $R_2$  : vitesse de relaxation transversale  
 $R_2^*$  : vitesse de relaxation transversale avec prise en compte des inhomogénéités de  $B_0$

**S** : surface d'échange

**S(t)** : signal RMN

$t_A$  : temps d'arrivée de l'AC dans le sang

$t_P$  : temps du pic de concentration en AC dans le sang

**T** : température

**T<sub>1</sub>** : temps de relaxation longitudinale

**T<sub>2</sub>** : temps de relaxation transversale

**T<sub>2</sub><sup>\*</sup>** : temps de relaxation transversale avec prise en compte de l'inhomogénéités de  $B_0$

**T<sub>2</sub><sup>\*</sup> avant/après** :  $T_2^*$  avant ou après injection du Sinerem<sup>®</sup>

**T<sub>acq</sub>** : temps d'acquisition

**v<sub>e</sub>** : fraction volumique de l'EES

**v<sub>p</sub>** : fraction volumique du plasma

**V** : volume d'extravasation de l'AC

**V<sub>t</sub>** : volume de tissu

# Chapitre 1 : Introduction générale

Comprendre le fonctionnement du cerveau sain et pathologique est essentiel pour développer et caractériser de nouvelles stratégies thérapeutiques. De nombreuses équipes de recherche s'emploient à cette mission extrêmement vaste, comme à l'Institut des Neurosciences de Grenoble. Cependant, toutes ces études, que ce soit à l'échelle de la cellule ou de l'organe, ne peuvent être menées sans le soutien de la recherche méthodologique et une étroite collaboration entre biologistes, médecins et physiciens. Le développement des techniques d'imagerie contribue pour beaucoup à la compréhension du fonctionnement du cerveau. Parmi ces techniques, l'imagerie par résonance magnétique (IRM) se révèle être un outil de choix en matière d'imagerie cérébrale.

Les apports de l'IRM sont multiples. Si elle permet une excellente caractérisation anatomique des différents tissus constituant le cerveau, elle est aussi appréciée pour la grande variété d'informations qu'elle peut fournir. En effet, l'IRM permet de mesurer de nombreux paramètres physiologiques (flux, débit et volume sanguins, coefficient de diffusion de l'eau...) et c'est grâce à une étude multiparamétrique du cerveau et de ses pathologies que l'on accède à une caractérisation pertinente et utile à la compréhension des phénomènes biologiques. Il en est de même lors de l'évaluation de l'efficacité d'un traitement.

Les objectifs de ce travail de thèse sont d'une part de réaliser des développements au niveau des techniques d'acquisition d'images par IRM (imagerie rapide) et d'autre part de mettre en place une mesure de la perméabilité vasculaire. Ces outils permettront au laboratoire de compléter son éventail de techniques permettant la caractérisation de la microvascularisation cérébrale. De nombreuses pathologies du cerveau, dont les tumeurs cérébrales, présentent une altération de la microvascularisation. Son étude permet de trouver des marqueurs prédictifs de l'évolution de ces pathologies cérébrales et des marqueurs de leur réponse à une thérapie donnée.

Ce chapitre d'introduction générale a pour objectif de fournir les éléments nécessaires à la compréhension des chapitres suivants. Le deuxième chapitre traitera des développements méthodologiques réalisés en imagerie rapide spirale. Ce travail nous a conduits à développer notre propre technique de mesure de la trajectoire dans l'espace  $k$ . Le troisième chapitre

présentera notre méthode de mesure de la perméabilité vasculaire par IRM. Nous avons réalisé des mesures sur deux modèles de tumeurs cérébrales, chez le rat, et nous avons également étudié l'effet sur la mesure de perméabilité de la présence d'un agent de contraste superparamagnétique dans le compartiment vasculaire.

Les notions que nous avons choisies de présenter dans ce chapitre se regroupent en trois parties. Dans la première partie, nous étudierons quelques principes théoriques de l'IRM, technique d'imagerie reposant sur le phénomène de résonance magnétique nucléaire (RMN). Nous aborderons, dans une deuxième partie, les agents de contraste utilisés en IRM en décrivant leurs propriétés et leurs principes d'action sur l'image. La troisième partie de ce chapitre introductif nous permettra d'appréhender le contexte biologique de ce travail de thèse : la microvascularisation cérébrale saine et tumorale, et plus précisément le concept de perméabilité vasculaire.

## I. Quelques principes théoriques de l'IRM

### I.1. Quelques concepts de RMN

Dans cette partie, nous allons introduire la notion d'aimantation nucléaire, grâce à quelques concepts de physique quantique. Puis, une fois le fait établi que cette aimantation est caractérisable au niveau macroscopique, nous expliquerons le phénomène de résonance magnétique nucléaire (RMN).

#### I.1.a. Une aimantation macroscopique

Le spin nucléaire, propriété intrinsèque du noyau atomique, possède un moment cinétique quantifié, noté  $\vec{\sigma}$ . Ses valeurs observables, notées  $\sigma$ , sont données par :

$$\sigma = m\hbar, \quad 1-I-1$$

où  $\hbar$  est la constante de Planck divisée par  $2\pi$ ,  $m$  est défini par  $-I \leq m \leq I$  et  $I$  est un nombre entier ou demi-entier, appelé le nombre quantique de spin nucléaire. La valeur de  $I$  dépend du nombre de neutrons et de protons constituant le noyau. Dans le cas du noyau d'hydrogène,  $I$  est égal à  $1/2$ .

Un moment magnétique nucléaire,  $\vec{\mu}$ , est associé au moment cinétique nucléaire  $\vec{\sigma}$ . Ses valeurs observables, notées  $\mu$ , sont proportionnelles à  $\sigma$ . Le facteur de proportionnalité est le rapport gyromagnétique, noté  $\gamma$ . Il vaut  $2,675.10^8 \text{ rad.s}^{-1}.\text{T}^{-1}$  dans le cas de l'hydrogène.

$$\mu = \gamma \sigma . \quad 1\text{-I-2}$$

En présence d'un champ magnétique statique  $\vec{B}_0$ , le moment magnétique nucléaire est soumis à un couple  $\vec{\Gamma}$  tel que  $\vec{\Gamma} = \vec{\mu} \wedge \vec{B}_0$ . D'après les lois fondamentales de la dynamique, nous savons que  $\frac{d\vec{\sigma}}{dt} = \vec{\Gamma}$ . On peut calculer  $\vec{\mu}$  en utilisant :

$$\frac{d\vec{\mu}}{dt} = \gamma \vec{\mu} \wedge \vec{B}_0 . \quad 1\text{-I-3}$$

La solution de cette équation montre que l'angle entre  $\vec{\mu}$  et  $\vec{B}_0$  est constant et que  $\vec{\mu}$  est animé par un mouvement de précession autour de  $\vec{B}_0$  à la vitesse angulaire  $\omega_0 = -\gamma B_0$ . Ce mouvement est appelé précession de Larmor et est caractérisé par la fréquence de Larmor :

$$\nu_0 = \gamma B_0 , \quad 1\text{-I-4}$$

où  $\gamma = \gamma / 2\pi$  et s'exprime en  $\text{s}^{-1}.\text{T}^{-1}$ .

Pour définir le comportement d'un ensemble de moments magnétiques soumis à un champ magnétique statique, nous allons faire appel à des notions de physique statistique.

Lorsqu'un moment magnétique nucléaire est sous l'influence d'un champ statique  $\vec{B}_0$ , il peut prendre les valeurs d'énergie suivantes :

$$E(m) = m\hbar\omega_0 = -m\hbar\gamma B_0 . \quad 1\text{-I-5}$$

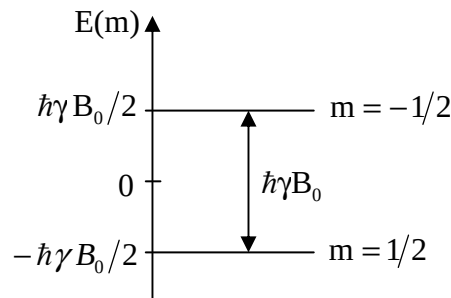


**Figure 1-I-1 :** Niveaux d'énergie du moment magnétique d'un noyau d'hydrogène soumis à champ magnétique statique  $\vec{B}_0$ .

Dans le cas du noyau d'hydrogène, où  $I=1/2$ , seuls deux niveaux d'énergie sont possibles (Figure 1-I-1). Soit  $P(E(m))$  la probabilité pour qu'un spin nucléaire se trouve dans l'état d'énergie  $E(m)$ . La valeur de  $P(E(m))$  est donnée par la statistique de Boltzmann :

$$P(E(m)) = \frac{\exp[-E(m)/k_B T]}{\sum_{m=-I}^{m=I} \exp[-E(m)/k_B T]}, \quad 1-I-6$$

où  $k_B$  est la constante de Boltzmann et  $T$  la température.

Soit  $n$  le nombre de moments magnétiques nucléaires par unité de volume. L'aimantation macroscopique résultante  $M_0$ , correspondant à la somme des contributions des  $n$  spins nucléaires, s'écrit :

$$M_0 = n \sum_{m=-I}^{m=I} \gamma m \hbar P(E(m)). \quad 1-I-7$$

Dans la limite où  $\hbar \gamma B_0 \ll k_B T$ , nous effectuons l'approximation  $\exp(X) \approx 1 + X$  et nous obtenons :

$$M_0 = n \frac{\gamma^2 \hbar^2 I(I+1)}{3k_B T} B_0. \quad 1-I-8$$

L'aimantation résultante sera non nulle seulement si le nombre quantique de spin est différent de zéro. Soit dans le cas de l'hydrogène :

$$M_0 = n \frac{\gamma^2 \hbar^2}{4k_B T} B_0. \quad 1-I-9$$

L'aimantation macroscopique  $\vec{M}_0$  est alignée selon  $\vec{B}_0$  et invariante dans le temps. Elle est directement proportionnelle à la densité de spins nucléaires et au rapport gyromagnétique du noyau considéré. D'autre part, on utilise aussi la formulation suivante :

$$M_0 = \chi B_0, \quad 1-I-10$$

où  $\chi$  est la susceptibilité magnétique, sans dimension. Dans ce cas, il s'agit de la susceptibilité paramagnétique nucléaire (<sup>84</sup>Schenck, J.F. 1996). Elle est extrêmement faible aux températures ambiantes, car les moments magnétiques nucléaires sont très petits. Dans la suite du manuscrit, la notion de susceptibilité magnétique sera de nouveau abordée, en tant que caractéristique de la matière. Dans ces cas là, la susceptibilité magnétique est le facteur de proportionnalité entre l'aimantation électronique, très grande par rapport à l'aimantation

nucléaire, et le champ magnétique. Elle permet de classer les éléments (ou molécules) en fonction de leur comportement lorsqu'ils sont placés dans un champ magnétique (dia-, para-, superparamagnétisme).

Désormais, nous ne considérerons plus que l'aimantation macroscopique  $\vec{M}_0$ , et nous utiliserons les principes de la physique classique.

### I.1.b. Principe d'une expérience de RMN

Si les premières observations de résonance magnétique nucléaire ont été faites par Isidor I. Rabi *et al.* en 1938 (<sup>76</sup>Rabi, I.I. *et al.* 1938), le phénomène a clairement été identifié par Felix Bloch et Edward M. Purcell en 1946 (<sup>14</sup>Bloch, F. 1946; <sup>74</sup>Purcell, E.M. *et al.* 1946). Pour leurs travaux, ils obtinrent le Prix Nobel de physique en 1952.

Les noyaux à spin non nul, placés dans un champ magnétique statique, présentent une aimantation non nulle ( $\vec{M}_0$ ). Toutefois, celle-ci est trop faible pour être observable lorsqu'elle est colinéaire à  $\vec{B}_0$ . Le principe d'une expérience de RMN consiste donc à perturber l'état d'équilibre de l'aimantation nucléaire. Pour ce faire, un champ magnétique  $\vec{B}_1$ , tournant autour de  $\vec{B}_0$  à la vitesse  $\omega$  et appliqué dans un plan transversal à  $\vec{B}_0$ , permet d'écarter l'aimantation nucléaire de la direction de  $\vec{B}_0$ . Cette expérience peut être décrite en modifiant l'Equation 1-I-3 :

$$\frac{d\vec{M}_0}{dt} = \gamma \vec{M}_0 \wedge (\vec{B}_0 + \vec{B}_1). \quad 1-I-11$$

Cette équation est établie dans le référentiel du laboratoire. Si on se place dans un référentiel tournant à la vitesse  $\omega$  autour de  $\vec{B}_0$ , on obtient :

$$\frac{d\vec{M}_0}{dt}_{\text{tournant}} = \gamma \vec{M}_0 \wedge \left( \vec{B}_0 + \vec{B}_1 + \frac{\vec{\omega}}{\gamma} \right). \quad 1-I-12$$

Le champ effectif, autour duquel l'aimantation nucléaire effectue son mouvement de précession, devient  $(\vec{B}_0 + \vec{B}_1 + \vec{\omega}/\gamma)$ . Afin d'obtenir que l'aimantation nucléaire soit

complètement basculée dans un plan transversal à  $\vec{B}_0$ , il convient d'annuler la composante longitudinale du champ effectif :

$$\vec{B}_0 + \frac{\vec{\omega}}{\gamma} = \vec{0} \Rightarrow \vec{\omega} = -\gamma\vec{B}_0 = \vec{\omega}_0. \quad 1-I-13$$

La résonance magnétique nucléaire est obtenue lorsque l'état d'équilibre de l'aimantation nucléaire est perturbé par un champ magnétique tournant, appliqué perpendiculairement à cette dernière, et dont la fréquence est égale à la fréquence de Larmor. Cette condition remplie, l'aimantation nucléaire  $\vec{M}_0$  tourne autour de  $\vec{B}_1$  et comporte une composante transversale  $M_\perp$ .

Suite à l'application du champ  $\vec{B}_1$  (grâce à une bobine ou antenne d'émission), l'aimantation va retourner à sa position d'équilibre, *i.e.* parallèle à  $\vec{B}_0$ , en poursuivant son mouvement de précession autour de  $\vec{B}_0$  (Figure 1-I-2a). Ce mouvement rotatoire va induire une variation du flux magnétique et donc une force électromotrice (fem) aux bornes d'une bobine (ou antenne de réception) dont l'axe est perpendiculaire à  $\vec{B}_0$  et placée à proximité de l'échantillon. Cette fem est proportionnelle à  $M_\perp$  et est à l'origine du signal RMN. Notons que ce qui vient d'être décrit est une expérience de RMN pulsée. Il est possible d'effectuer des mesures pendant l'application du champ  $\vec{B}_1$ , il s'agit alors de RMN continue, technique que nous n'utiliserons pas dans ce manuscrit.

Pour conclure, une expérience de RMN (pulsée) se décompose en trois étapes :

- placer l'échantillon dans un champ magnétique statique  $\vec{B}_0$  pour obtenir une aimantation nucléaire,
- perturber ponctuellement l'équilibre de cette aimantation à l'aide d'un champ  $\vec{B}_1$  perpendiculaire à  $\vec{B}_0$  et tournant à la vitesse  $\omega_0 = -\gamma B_0$ ,
- mesurer la fem induite (proportionnelle à l'aimantation transverse) avant le retour à l'équilibre.

### **I.1.c. Les temps de relaxation**

Lorsque la position d'équilibre de l'aimantation  $\vec{M}_0$  a été perturbée, une fois la perturbation terminée, l'aimantation retourne à sa position d'équilibre : c'est le phénomène de

relaxation. La relaxation s'effectue sous la forme d'un mouvement de précession autour de l'axe du champ statique (Figure 1-I-2a). L'évolution temporelle de chacune des trois composantes du vecteur  $\vec{M}_0$ , i.e.  $M_x$ ,  $M_y$  et  $M_z$ , est décrite par les équations de Bloch (<sup>14</sup>Bloch, F. 1946) :

$$\begin{cases} \frac{dM_x}{dt} = -\frac{M_x}{T_2} \\ \frac{dM_y}{dt} = -\frac{M_y}{T_2} \\ \frac{dM_z}{dt} = -\frac{(M_z - M_0)}{T_1} \end{cases} . \quad 1-I-14$$

La résolution de ces équations conduit à :

$$\begin{cases} M_x = M_x(0)e^{-t/T_2} \\ M_y = M_y(0)e^{-t/T_2} \\ M_z = M_z(0)e^{-t/T_1} + M_0(1 - e^{-t/T_1}) \end{cases} , \quad 1-I-15$$

où  $M_x(0)$ ,  $M_y(0)$  et  $M_z(0)$  sont les composantes de la valeur initiale de l'aimantation, qui n'est pas nécessairement égale à  $M_0$ .

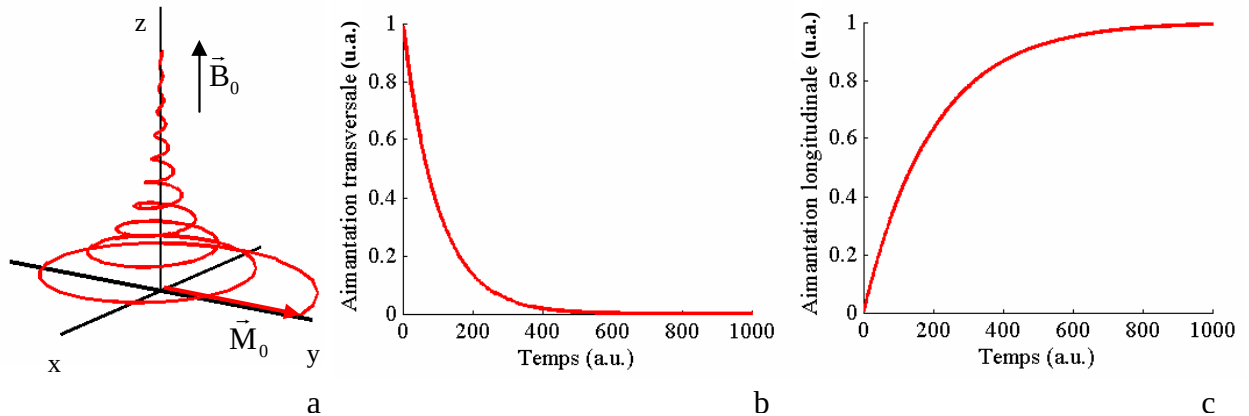


**Figure 1-I-2 :** Evolution du vecteur aimantation au cours de la relaxation **(a)**, ainsi que de ses composantes transversale **(b)** et longitudinale **(c)**. Les temps de relaxation  $T_2$  et  $T_1$ , dans cet exemple, sont égaux à 100 et 200 u.a., respectivement.

Le phénomène de relaxation est caractérisé par deux constantes de temps :

- $T_2$  : temps de relaxation transversale ou spin-spin
- $T_1$  : temps de relaxation longitudinale ou spin-réseau

Le temps  $T_2$  caractérise le déphasage local entre les différents isochromats (ensembles de moments magnétiques ayant le même comportement, chaque isochromat étant initialement aligné sur  $\vec{B}_0$ ),  $T_1$  reflète les interactions des spins nucléaires avec leur environnement.

Etant donné que les observations de ces phénomènes, en imagerie, sont réalisées au niveau macroscopique (un voxel d'imagerie  $\approx 1 \text{ mm}^3$ ), on associera les temps de relaxation aux milieux (tissu, molécule, liquide...) plutôt qu'aux noyaux. Ainsi, on parlera du  $T_1$  ou du  $T_2$  de l'eau, du sang, de la graisse ou du liquide céphalo-rachidien (LCR).

Ces deux temps de relaxation, associés à la densité de spins nucléaires ou densité d'aimantation ( $\rho$ ), constituent certains des paramètres intrinsèques du milieu (Tableau 1-I-1) qui pondèrent le signal RMN. Cependant, le choix de la pondération dépend de la séquence et des caractéristiques d'acquisition du signal, telles que le temps d'écho (TE), le temps de répétition (TR), l'angle de basculement ( $\alpha$ )... : ce sont les caractéristiques extrinsèques (cf. §II.3.a).

| Tissu             | $\rho$ | 1 T        |            | 1,5 T      |            |
|-------------------|--------|------------|------------|------------|------------|
|                   |        | $T_1$ (ms) | $T_2$ (ms) | $T_1$ (ms) | $T_2$ (ms) |
| LCR               | 1      | 2500       | 200        | 3000       | 200        |
| Substance grise   | 0,7    | 500        | 90         | 750        | 90         |
| Substance blanche | 0,6    | 350        | 75         | 500        | 75         |

**Tableau 1-I-1 :** Exemples de valeurs des paramètres intrinsèques  $\rho$ ,  $T_1$  et  $T_2$  (densité d'aimantation ( $H^1$ ) et temps de relaxations longitudinale et transversale, respectivement) des principaux constituants du cerveau, aux champs magnétiques de 1 T et 1,5 T.

## I.2. Application de la RMN à l'imagerie

En 1971, Raymond Damadian montra que des tissus sains et cancéreux présentaient des temps de relaxation  $T_1$  et  $T_2$  différents (<sup>27</sup>Damadian, R. 1971). Le sujet allait susciter un grand intérêt dans la communauté scientifique et, pendant les années 70, de nombreux groupes de recherche travaillèrent à une méthode d'imagerie par RMN. C'est en 1972 que Paul C. Lauterbur présenta la première image RMN à 2 dimensions (<sup>52</sup>Lauterbur, P.C. 1973), grâce à l'application de gradients de champ magnétique. Durant cette même période, Sir Peter Mansfield et ses collaborateurs développèrent aussi un système d'imagerie par RMN, ainsi que la technique de sélection de tranche (cf. §I.2.a), qui leur permirent de réaliser, en 1978, les premières images en RMN chez l'homme (<sup>55</sup>Mansfield, P. *et al.* 1978). Depuis, l'imagerie

par résonance magnétique (IRM) est devenue une discipline à part entière et le premier congrès totalement dédié à cette technique eu lieu en 1981 à Winston-Salem, Etats-Unis. En 2003, messieurs Lauterbur et Mansfield ont obtenu le Prix Nobel pour la discipline "physiologie ou médecine".

Nous détaillons maintenant quelques aspects de l'IRM, principalement ceux qui nous seront nécessaires à la compréhension de la suite de ce manuscrit.

### I.2.a. Le gradient de champ magnétique

Elément clé de l'application de la RMN à l'imagerie, le gradient de champ magnétique est une variation de l'intensité du champ magnétique en fonction de sa position dans l'espace. Supposons que le champ statique  $\vec{B}_0$  est orienté selon la direction z. L'application d'un gradient de champ magnétique constant selon la direction x, noté  $G_x$ , a pour conséquence de faire varier l'intensité du champ résultant  $\vec{B}$ , toujours orienté selon z, lors d'un déplacement selon x (Figure 1-I-3) :

$$B(x) \cdot \vec{z} = (B_0 + G_x x) \cdot \vec{z}. \quad 1-I-16$$

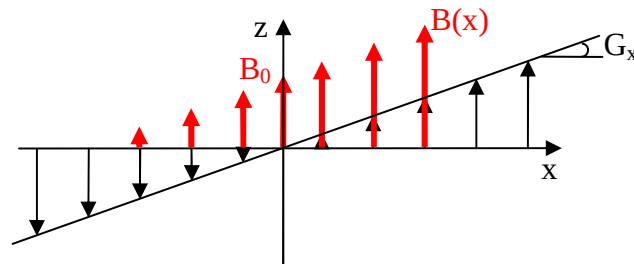


**Figure 1-I-3 :** Evolution de l'amplitude du champ magnétique  $\vec{B}$  en fonction de la position en présence d'un gradient de champ magnétique constant selon x. Notons que ce schéma n'est pas à l'échelle puisque dans les conditions expérimentales, l'application de gradients de champ magnétique entraîne une variation d'intensité de  $B_0$  de l'ordre de 1/1000, assez faible pour faire l'approximation qu'elle ne modifie pas la valeur de l'aimantation.

Cette opération peut être réalisée dans les trois directions de l'espace, avec des gradients de champ magnétique  $G_x$ ,  $G_y$  et  $G_z$ . L'intensité du champ magnétique statique résultant peut être rendu dépendant de la position dans l'espace, caractérisée par le vecteur position  $\vec{r}$  :  $B(\vec{r})$ . Par conséquent, la fréquence de résonance (ou fréquence de Larmor)  $\nu$

peut être rendue dépendante de  $\vec{r}$  :  $\nu(\vec{r}) = \gamma B(\vec{r})$ . En utilisant adroitement cette propriété, on peut coder spatialement les signaux RMN et obtenir ainsi des images.

### Cas du gradient de sélection de tranche et de l'impulsion RF :

Afin de procéder à l'expérience de RMN (comme décrite dans le paragraphe I.1.b), on bascule l'aimantation dans un plan transversal au champ statique, en appliquant un champ magnétique ( $\vec{B}_1$ ) tournant à une fréquence proche ou égale à la fréquence de Larmor. Etant donné les ordres de grandeur des rapports gyromagnétiques des noyaux étudiés ( $\gamma$ ) et des champs magnétiques statiques utilisés ( $B_0$ ), les fréquences rencontrées sont de l'ordre du mégahertz, il s'agit donc d'un champ radiofréquence (RF). De plus, ce champ tournant est appliqué pendant une durée finie, puisque l'on souhaite simplement écarter l'aimantation de la direction de  $\vec{B}_0$ , afin d'étudier son retour à l'équilibre. La durée d'application de ce champ sera en pratique de quelques millisecondes. On parle alors d'impulsion RF : c'est l'excitation. Enfin, notons que l'apparition d'une composante transversale de l'aimantation ne nécessite pas un basculement complet de l'aimantation dans le plan transverse, *i.e.* une rotation de  $90^\circ$ . Une légère perturbation de la position d'équilibre suffit : c'est pour cela qu'à chaque impulsion RF est associé un angle de basculement ( $\alpha$ ).

Supposons que l'on applique un gradient dans la direction  $z$ . Il en résulte une distribution linéaire des fréquences de résonance des noyaux selon cette direction :  $\nu(z) = |\gamma|(B_0 + G_z z)$ . L'impulsion RF est appliquée une fois le gradient  $G_z$  établi. Cette impulsion, de bande passante  $\Delta\nu$ , ne fera basculer dans le plan transverse que les éléments résonant aux fréquences appartenant à cette bande passante, c'est-à-dire qu'il y aura sélection d'éléments en fonction de leur position  $z$  (Figure 1-I-4). Autrement dit, le profil de tranche désiré sera déterminé par la bande passante du profil de l'impulsion RF. Cette approximation est valable aux petits angles.

Dans nos applications, nous utilisons un profil temporel, pour l'impulsion RF, en sinus cardinal ; sa transformée de Fourier (TF) étant une fonction porte, nous obtenons des tranches de profil rectangulaire. L'amplitude du gradient de sélection de tranche est définie par :

$$G_z = \frac{\Delta\nu}{\gamma\Delta z} . \quad 1-I-17$$

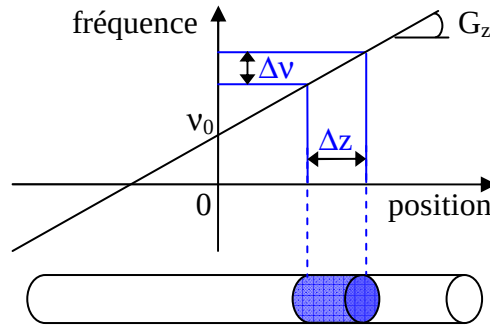


**Figure 1-I-4** : Principe de la sélection de tranche d'une épaisseur  $\Delta z$  par l'application simultanée d'un gradient de champ  $G_z$  et d'une impulsion RF de bande passante  $\Delta \nu$ .

## I.2.b. L'espace k

Afin d'introduire la notion d'espace k, indispensable lors d'un travail de méthodologie IRM, nous allons étudier le signal provenant d'un petit élément de volume lors d'une expérience d'IRM. Comme cela a été démontré dans le paragraphe I.1.b, le signal mesuré est directement proportionnel à l'aimantation macroscopique, et donc à la densité d'aimantation de l'élément de volume considéré (cf. Equation 1-I-9).

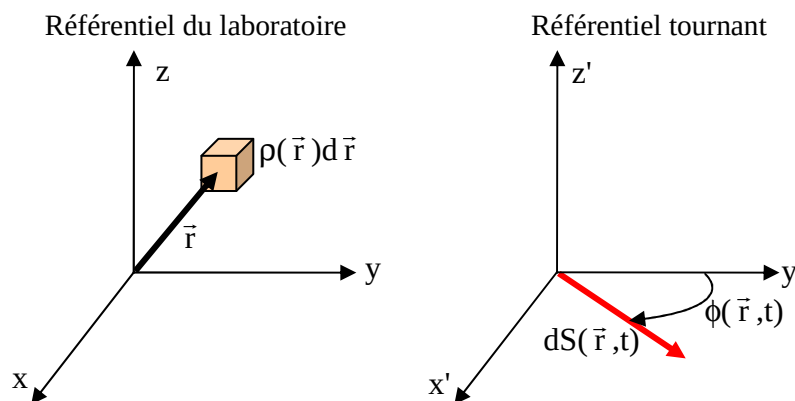


**Figure 1-I-5** : Signal provenant d'un élément de volume  $d\vec{r}$ , de densité d'aimantation  $\rho(\vec{r})$  et observé dans le référentiel tournant.

Soit  $dS(\vec{r}, t)$  le signal provenant d'un élément de volume  $d\vec{r}$  de densité d'aimantation  $\rho(\vec{r})$  (Figure 1-I-5), après application d'une impulsion RF et soumis à un gradient de champ magnétique  $\vec{G}(t)$ . L'étude qui suit se positionne dans le référentiel tournant à la fréquence de résonance de notre système  $\nu_0 = \gamma B_0$ . Etant donné la taille de l'élément de volume  $d\vec{r}$ , le champ effectif est considéré constant à l'intérieur de celui-ci :

$$dS(\vec{r}, t) = \rho(\vec{r}) d\vec{r} e^{i\phi(\vec{r}, t)}, \quad 1-I-18$$

où  $\phi(\vec{r}, t)$  est la phase du signal. Elle est égale à  $\int_0^t \omega(\vec{r}, t') dt'$ , avec  $\omega(\vec{r}, t) = \gamma B(\vec{r}, t)$  et

$B(\vec{r}, t) = \vec{r} \cdot \vec{G}(t)$ , soit :

$$\phi(\vec{r}, t) = 2\pi \vec{r} \cdot \frac{\gamma}{2\pi} \int_0^t \vec{G}(t') dt'. \quad 1-I-19$$

On définit  $\vec{k}(t) = \gamma \int_0^t \vec{G}(t') dt'$ . L'amplitude de  $\vec{k}(t)$  s'exprime en  $m^{-1}$ . Le vecteur  $\vec{k}$ , défini sur trois dimensions, décrit l'espace k, espace réciproque de l'espace spatial.

La phase du signal peut donc s'écrire sous la forme  $\phi(\vec{r}, t) = 2\pi \vec{r} \cdot \vec{k}(t)$ .

Le signal total mesuré  $S(t)$  (qui est égal à  $\int dS(\vec{r}, t)$ ) vaut donc :

$$S(t) = \int \rho(\vec{r}) e^{i2\pi \vec{r} \cdot \vec{k}(t)} d\vec{r}, \quad 1-I-20$$

avec un changement de variable on obtient :

$$S(\vec{k}) = \int \rho(\vec{r}) e^{i2\pi \vec{r} \cdot \vec{k}} d\vec{r}. \quad 1-I-21$$

On reconnaît, dans l'Equation 1-I-21, que le signal  $S(\vec{k})$  est égal à la transformée de Fourier (TF) de la densité d'aimantation  $\rho(\vec{r})$ .

Si on généralise cette expérience, on peut réaliser une sélection de tranche dans le volume que l'on souhaite imager, dans le plan (x,y) par exemple. En se plaçant dans le plan de la tranche, on obtient :

$$S(k_x, k_y) = TF[\rho(x, y)] \quad 1-I-22$$

Le signal collecté dans l'espace k correspond donc à la transformée de Fourier de l'image (Figure 1-I-6). Pour un échantillonnage cartésien de l'espace, le champ de vue (*field of view*, FOV) et la résolution spatiale de l'image dans la direction x ( $\delta x$ ), ont donc pour expressions :

$$\text{FOV} = \frac{1}{\delta k_x} \quad \text{et} \quad \delta x = \frac{1}{2k_{x \max}} \quad 1\text{-I-23}$$

où  $\delta k_x$  est la résolution dans la direction  $k_x$  de l'espace  $k$  (*i.e.* le pas d'échantillonnage), dont les valeurs échantillonnées pour l'obtention de l'image sont comprises entre  $-k_{x \max}$  et  $+k_{x \max}$ .

Les variations en fonction du temps du vecteur  $\vec{k}(t)$  décrivent une trajectoire dans l'espace  $k$ . La position du vecteur  $\vec{k}$  à l'instant  $t$  est l'intégrale des valeurs du gradient de champ magnétique entre l'impulsion RF et  $t$ . On peut donc exprimer le gradient de champ magnétique  $\vec{G}(t)$  comme la dérivée de  $\vec{k}(t)$ , fréquence spatiale de l'image :

$$\vec{G}(t) = \frac{1}{\gamma} \frac{d\vec{k}}{dt} \quad 1\text{-I-24}$$

L'évolution temporelle des gradients, et donc la trajectoire de  $\vec{k}$ , doit permettre de parcourir l'espace  $k$  de manière à collecter les données fréquentielles nécessaires à l'obtention de l'image, *i.e.* en respectant le critère de Nyquist.

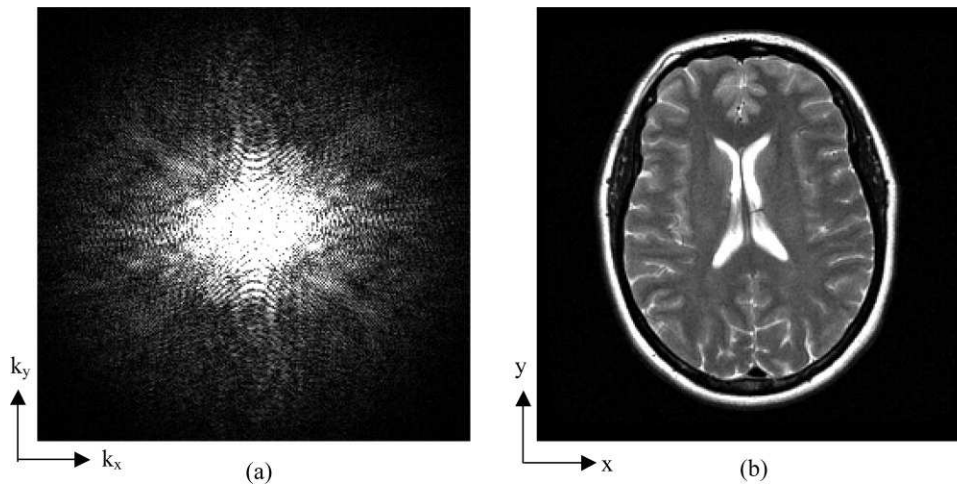


**Figure 1-I-6 :** Représentation des modules des données RMN complexes dans l'espace  $k$  **(a)** puis, suite à une TF, dans l'espace image **(b)**. D'après <sup>69</sup>Paschal, C.B. *et al.* 2004.

Dans cette partie, nous avons exposé quelques principes théoriques de l'IRM. Nous avons brièvement décrit l'origine de l'aimantation nucléaire en présence d'un champ magnétique statique et comment, grâce à une expérience de RMN, il était possible de mesurer un signal proportionnel à cette aimantation. L'étude de ce signal RMN est complexe et de nombreux paramètres intrinsèques le pondèrent, comme la densité d'aimantation, ou les

temps de relaxations longitudinale et transversale ( $T_1$  et  $T_2$ ), mais aussi, dans le cas de la RMN de l'hydrogène *in vivo*, le débit sanguin, la diffusion de l'eau, l'oxygénation des tissus et bien d'autres encore. Les techniques d'acquisition, dans lesquelles les paramètres extrinsèques (TE, TR,  $\alpha$ ,...) sont ajustés pour obtenir un signal principalement pondéré par un des paramètres intrinsèques, seront développées dans la partie suivante. Dans la suite de ce manuscrit, nous ne travaillerons qu'en RMN de l'hydrogène, communément appelée RMN du proton.

L'introduction des gradients de champ magnétique a permis l'application de la RMN à l'imagerie. Bien que nous ne nous soyons pas attardés sur les techniques d'encodage en phase et fréquence, le principe de gradient de champ magnétique a été exposé ainsi que le formalisme qui l'accompagne dans son application à l'IRM : l'espace  $k$ .

## II. Les agents de contraste en IRM

L'IRM est une technique complexe d'imagerie, qui a pour grande richesse de fournir des images aux contrastes variés, en fonction de la technique d'acquisition. Elle permet d'accéder à une description détaillée de l'anatomie des différents tissus, ainsi qu'à une différenciation des tissus sains et pathologiques, grâce à des modifications de certains paramètres intrinsèques du tissu (temps de relaxation, densité d'aimantation, diffusion, débit,...) induites par certaines de ces pathologies. Cependant, en 1984, les premières utilisations de produits de contraste en IRM permirent une amélioration de l'efficacité de détection de tissus tumoraux ou de kystes (<sup>21</sup>Carr, D.H. 1984). En effet, l'emploi d'agents de contraste (AC) permet de palier à certaines limitations de l'IRM en apportant des éléments de réponse dans les cas où la simple optimisation des paramètres et techniques d'acquisition s'avère insuffisante pour fournir des images pertinentes pour le diagnostic.

Comment un agent de contraste modifie-t-il l'intensité du signal ? Comme nous l'avons vu dans la partie précédente, l'intensité du signal RMN est modulée par de nombreux paramètres, dont les temps de relaxation. C'est en modifiant ces temps que les agents de contraste agissent en IRM. Ce faisant et contrairement au mode de fonctionnement d'un agent de contraste dans les techniques d'imagerie par rayons X ou ultrasons, les agents de contraste en IRM ont un mode d'action indirect. Cette originalité rend la description des mécanismes d'action plus complexe.

Dans cette partie, en nous référant principalement à l'ouvrage "*The chemistry of contrast agents in medical magnetic resonance imaging*." (<sup>56</sup>Mansson, S. et al. 2001), nous allons décrire les principaux types d'agents de contraste utilisés en IRM, puis nous apporterons des éléments d'explication sur leurs principes d'action.

### II.1. Les principaux types d'agents de contraste

Les propriétés magnétiques évoquées dans cette partie décrivent le comportement des matériaux en présence d'un champ magnétique au niveau électronique et non pas nucléaire.

Le diamagnétisme, qui produit des aimantations très faibles, n'est pas une propriété utilisée pour faire des AC, et il ne sera pas étudié dans cette partie.

### II.1.a. Les agents de contraste paramagnétiques

Un matériau est dit paramagnétique s'il possède des électrons libres (non appariés) et donc un moment magnétique électronique. Lorsqu'il est soumis à un champ magnétique, une aimantation apparaît, orientée parallèlement au champ. Ces matériaux ont une susceptibilité magnétique positive ( $\chi > 0$ ), qui varie inversement avec la température mais qui est indépendante de  $B_0$  : c'est le paramagnétisme de Curie.

En IRM, les deux principaux agents de contraste paramagnétiques utilisés sont les ions métalliques de gadolinium ( $Gd^{3+}$ ) et de manganèse ( $Mn^{2+}$ ), qui possèdent 7 et 5 électrons libres, respectivement. Cependant, ils ne sont pas administrés sous cette forme pour des raisons de biodistribution et de toxicité. En associant ces ions avec un ligand, il est possible d'enrayer les problèmes de toxicité et de contrôler la biodistribution, sans annuler leur pouvoir contrastant, *i.e.* leurs propriétés magnétiques. Le produit final est appelé un chélate. Sa taille, qui dépend évidemment de la taille du ligand, doit être suffisamment petite afin de ne pas perturber les conditions physiologiques de l'environnement dans lequel il est administré (le sang dans la plupart des cas). Les plus petits, qui sont aussi les plus courants, ont un diamètre de l'ordre du nanomètre, les plus gros peuvent atteindre plusieurs centaines de nanomètres. A titre de comparaison, notons que l'albumine, qui est une protéine circulante du sang, a un diamètre de 3,6 nm et que celui des globules rouges se situe entre 7 et 8  $\mu m$ .

### II.1.b. Les agents de contraste superparamagnétiques

Le superparamagnétisme est un comportement dérivé du paramagnétisme. Cependant, la valeur du moment magnétique induit en présence d'un champ magnétique est bien plus importante que dans le cas précédent. Ceci est dû à la grande quantité d'ions paramagnétiques qui constitue un composé superparamagnétique, ainsi qu'à un effet de collaboration magnétique. La valeur de la susceptibilité magnétique  $\chi$  de ces agents est donc plus grande que celles des AC paramagnétiques. En plus de varier avec la température, elle présente aussi la particularité de varier en fonction de l'intensité du champ magnétique.

En IRM, ce sont principalement des particules d'oxyde de fer qui sont utilisées. Les cristaux de fer sont entourés par une couverture qui empêche leur agglomération. Ces particules sont classées en deux catégories :

- les SPIO (*small particle of iron oxyde*), de diamètre supérieur à 50 nm ;
- les USPIO (*ultra-small particle of iron oxyde*), de diamètre inférieur à 50 nm.

Pour les travaux présentés dans cette thèse, nous avons utilisé deux agents de contraste : un chélate de gadolinium paramagnétique, le Gd-DOTA (<sup>17</sup>Bousquet, J.C. *et al.* 1988), de 1 nm de diamètre et un USPIO, l'AMI 227 (<sup>23</sup>Chambon, C. *et al.* 1993), de 30 nm de diamètre. Ces deux AC nous ont été fournis par les laboratoires Guerbet sous les noms de Dotarem<sup>®</sup> et Sinerem<sup>®</sup>, respectivement.

## II.2. Principes d'action d'un agent de contraste en IRM

### II.2.a. Modification de la relaxation protonique

Grâce à leur moment magnétique électronique élevé, les agents de contraste paramagnétiques vont agir par un mécanisme d'interaction dipolaire avec les moments magnétiques des protons. La conséquence de cette interaction est une augmentation des vitesses de relaxation des protons, *i.e.* une diminution des temps  $T_1$  et  $T_2$ . En conditions normales d'utilisation, ce phénomène est régi par la relation suivante :

$$\frac{1}{T_i} = \frac{1}{T_{i0}} + r_i[AC], \quad 1-II-1$$

où  $i$  est égal à 1 ou 2,  $1/T_i$  (également notée  $R_i$ ) étant la vitesse de relaxation longitudinale ou transversale,  $1/T_{i0}$  est la vitesse de relaxation avant l'introduction de l'AC, et  $[AC]$  est la concentration en agent de contraste, en mM. La relaxivité,  $r_i$ , est une caractéristique de l'AC, et elle est exprimée en  $\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ . Sa valeur dépend d'un grand nombre de paramètres. En effet, elle peut varier en fonction du champ magnétique  $B_0$ , de la température, ou encore de la nature du milieu dans lequel l'AC est en solution (<sup>4</sup>Aime, S. *et al.* 1988; <sup>63</sup>Muller, R.N. *et al.* 1988; <sup>86</sup>Stanisz, G.J. *et al.* 2000). Dans la suite de cet exposé, nous considérerons que les paramètres qui viennent d'être cités sont constants, ou que leur influence est négligeable sur la valeur de la relaxivité.

L'amplitude de cet effet catalytique de l'AC sur les vitesses de relaxation des protons, dépend de la distance entre l'AC et les protons. On distingue deux cas :

- la relaxivité de sphère interne : les molécules d'eau se lient à la première sphère de coordination de l'ion métallique. L'échange de protons entre les deux parties engendre une augmentation des vitesses de relaxation,
- la relaxivité de la sphère externe : les protons diffusent autour de la molécule et subissent l'effet d'interaction dipolaire à distance, *i.e.* les fluctuations du champ local.

Cette dernière est moins importante en amplitude que la première. Cependant, la structure des AC rend difficile l'accès de la sphère interne aux protons, les effets de relaxivité de la sphère externe ont alors une contribution importante dans l'ensemble des effets de relaxivité. Pour les particules superparamagnétiques, leur influence sur les vitesses de relaxation protoniques n'est due qu'à un effet de relaxivité de la sphère externe. Les agents paramagnétiques combinent les deux effets de manière égale.

## II.2.b. Effet de susceptibilité magnétique et compartimentation

### Notion de $T_2^*$ :

Lorsque les moments magnétiques des différents protons, présents dans l'élément de volume dont on désire mesurer le signal, sont soumis au champ statique  $B_0$ , ils précessent tous autour de  $B_0$ . Cependant, l'homogénéité de ce champ n'est jamais parfaite. Les inhomogénéités de champ magnétique vont induire le déphasage des différents isochromats et donc une diminution de l'aimantation nucléaire transversale résultante. Ce phénomène se répercute directement sur la relaxation transversale alors décrite en termes de temps de relaxation  $T_2^*$ .

Lorsqu'un agent de contraste est introduit dans le champ magnétique statique, son aimantation s'aligne sur le champ. Si cet AC est compartimenté, dans un vaisseau sanguin ou une cellule par exemple, alors l'ensemble de ces aimantations confinées produit une forte inhomogénéité locale de champ, qui conduit à une importante diminution du  $T_2^*$ . L'origine de l'inhomogénéité du champ vient du fait que les susceptibilités magnétiques des AC sont bien plus élevées que celles des tissus (la plupart des tissus sont diamagnétiques, *i.e.*  $\chi < 0$ ) : on parle donc d'un effet de susceptibilité magnétique (<sup>104</sup>Yablonskiy, D.A. *et al.* 1994).

De plus, le compartiment contenant l'AC agit comme un agent de contraste secondaire pour les protons se situant en-dehors et à proximité. Ces protons subissent un effet de relaxivité de la sphère externe, comme décrit dans le paragraphe II.2.a, ce qui entraîne une diminution des vitesses de relaxations.

Dans ces deux cas, la quantification de la diminution du temps de relaxation ne trouve pas de solution aussi simple que dans le cas précédent. Les principaux facteurs intervenant sont :

- la concentration en AC dans le compartiment ou la différence de susceptibilité magnétique entre les compartiments,

- la forme et la taille du compartiment contenant l'AC,
- le coefficient de diffusion de l'eau,
- les paramètres de la séquence d'acquisition.

C'est en utilisant adéquatement ces phénomènes qu'ont été développées les techniques de mesure du volume sanguin (VS) et de l'index de taille des vaisseaux (ITV) par injection d'un USPIO intravasculaire (<sup>92</sup>Troprès, I. *et al.* 2001).

## II.3. Nature du contraste de l'image

Le contraste est la capacité de distinguer deux régions adjacentes d'une image, grâce à leurs intensités respectives (*e.g.*  $I_1$  et  $I_2$ ). Afin de quantifier cette propriété, on utilise le rapport contraste sur bruit (RCB) défini par :

$$RCB = \frac{|I_1 - I_2|}{\sigma_{\text{bruit}}}, \quad 1-II-2$$

où  $\sigma_{\text{bruit}}$  est l'écart type du bruit dans l'image.

### II.3.a. Influence des paramètres extrinsèques

Pour une image donnée, l'intensité d'un tissu dépend de ses paramètres intrinsèques. Cependant, comme cela a été introduit dans le paragraphe I.1.c, le type de pondération du signal, dépend du choix des paramètres extrinsèques *i.e.* les paramètres d'acquisition (Figure 1-II-2).

L'angle de basculement de la RF est un de ces paramètres, mais dans la plupart de nos applications il sera égal à  $90^\circ$  : l'aimantation longitudinale est donc entièrement basculée dans le plan transverse au moment de l'excitation. De plus, nous ne travaillons pas avec des séquences utilisant des trains d'impulsions RF, séquences de type SSFP (*Steady-State Free Precession*, <sup>83</sup>Scheffler, K. 1999), où l'origine de la pondération du signal est plus complexe que ce que nous allons décrire dans cette partie. L'influence de la RF sur le type de pondération du signal étant écartée, les deux paramètres qui nous intéressent sont le temps d'écho et le temps de répétition.

### Le temps d'écho (TE) :

Il s'agit du temps qui sépare l'excitation et le moment de l'acquisition du signal, au centre de l'espace k. Si ce temps est proche des valeurs de  $T_2$  des tissus, ce sont les temps de relaxation transversale des différents tissus qui vont pondérer les intensités de l'image. Au moment de l'acquisition, plus le  $T_2$  d'un tissu est court, plus le signal de ce tissu sera faible et inversement (Figure 1-II-1a). Plus les valeurs de  $T_2$  de deux tissus seront différentes, plus leur RCB sera élevé.

### Le temps de répétition (TR) :

Dans les séquences classiques d'acquisition en IRM, il faut répéter plusieurs fois l'expérience perturbation/relaxation/acquisition afin d'obtenir une image. Le temps qui s'écoule entre chaque impulsion RF est le temps de répétition. Plus le TR est court et moins l'aimantation aura de temps pour revenir à l'équilibre (ce qui prend environ  $5T_1$ ). Lors de l'impulsion suivante, la quantité d'aimantation qui sera basculée dans le plan transversal sera inférieure à la valeur nominale. Plus les tissus ont un  $T_1$  long, moins ils pourront récupérer d'aimantation entre les impulsions et moins ils fourniront de signal à l'acquisition (Figure 1-II-1b). Plus les valeurs de  $T_1$  de deux tissus seront différentes, plus leur RCB sera élevé.

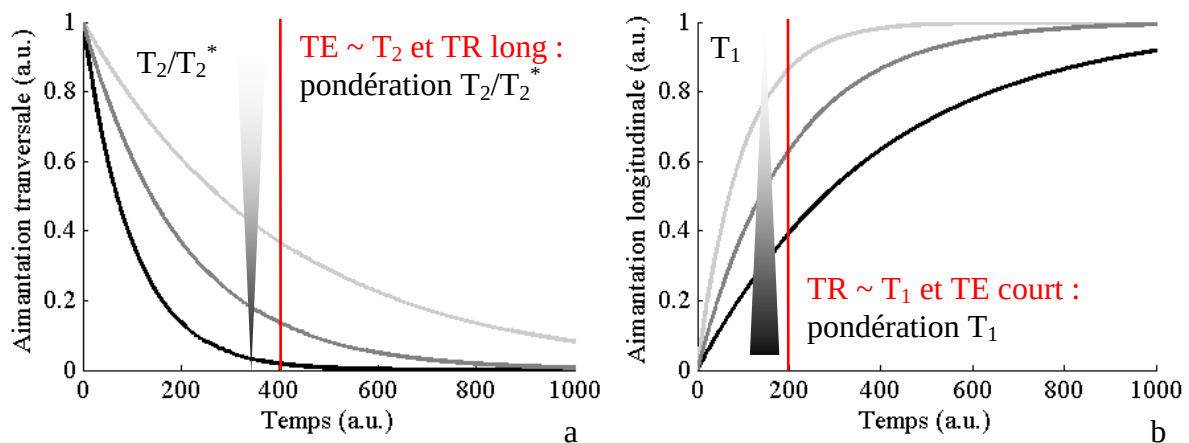


**Figure 1-II-1 :** Pondération du signal en fonction du choix des paramètres extrinsèques ( $\alpha = 90^\circ$ ) : un TE long permet une pondération  $T_2$  ou  $T_2^*$  (a), alors qu'un TR court permet de réaliser une pondération  $T_1$  (b). Les triangles en dégradé indiquent qu'il s'agit de pondérations opposées : un tissu avec un  $T_2$  long apparaîtra blanc (fort signal) dans le cas d'une acquisition pondérée  $T_2$ , tandis qu'un tissu avec un  $T_1$  long sera noir (faible signal) dans une image pondérée  $T_1$ .

Afin d'obtenir une pondération  $T_1$  ou  $T_2$  du signal, il convient d'ajuster ces deux temps : une pondération  $T_1$  est obtenue en travaillant avec des TR moyens (proches de  $T_1$ ) et

des TE courts (pour éviter une contamination par les effets de relaxation transversale, Figure 1-II-2b). De même, une pondération  $T_2$  sera le résultat d'une acquisition avec un TE de l'ordre des  $T_2$  observés et un TR long (afin de diminuer la pondération  $T_1$ , Figure 1-II-2c).

Sans entrer dans les détails, si le signal est acquis "directement" après le basculement dans le plan transverse, avec des séquences de type *gradient-echo* (GE), on aura une pondération  $T_2^*$ . Par contre, avec des séquences de type *spin-echo* (SE) où les isochromats sont refocalisés et les effets de dispersion dus aux inhomogénéités de champ éliminés, on obtient une pondération  $T_2$ .

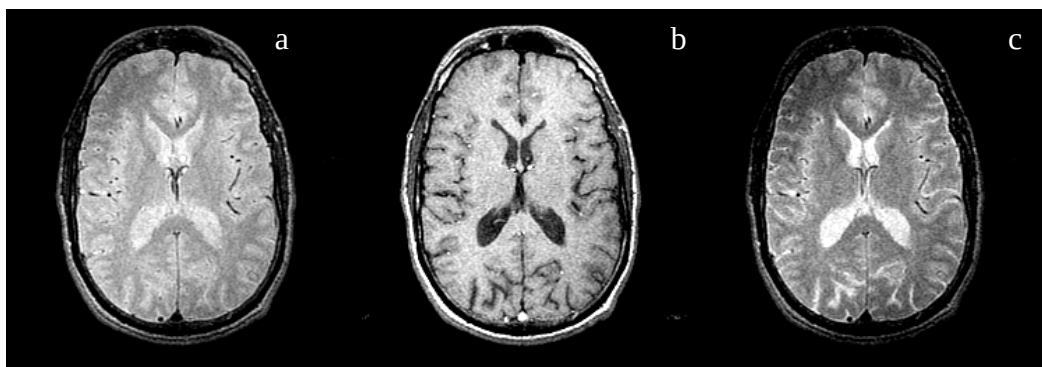


**Figure 1-II-2 :** Images SE de cerveau pondérées par la densité d'aimantation (i.e. de protons) (a), le  $T_1$  (b) et le  $T_2$  (c). Pour chacune des images TR/TE vaut 2000/60 ms, 500/20 ms et 2000/80 ms, respectivement. D'après <http://www.cis.rit.edu/htbooks/mri/>.

### II.3.b. Influence des agents de contraste sur l'image

Le but d'un AC est d'améliorer le contraste de l'image, soit d'augmenter le RCB entre les différents tissus.

#### Cas de l'effet de relaxivité :

Comme cela a été décrit dans la partie précédente, dans les images pondérées  $T_1$ , plus le temps de relaxation longitudinale est court, plus le signal est intense. Dans ce cas là, la présence de l'AC rehausse le signal de la zone dans laquelle il est présent. Parallèlement, avec le même type d'agent de contraste, en pondération  $T_2$ , l'utilisation d'un AC conduit à une diminution du signal des tissus concernés (diminution des temps de relaxation transversale).

Les AC agissant par effet de relaxivité sont en général utilisés en pondération  $T_1$  afin d'obtenir un contraste dit "positif". La première raison, qualitative, est liée à leur utilisation en clinique puisqu'il s'agit de "mettre en lumière" des phénomènes difficilement visibles en

imagerie traditionnelle. La seconde raison, quantitative, est liée au fait que le  $T_1$  est toujours supérieur au  $T_2$ . Ainsi, pour des valeurs de relaxivité  $r_1$  et  $r_2$  très proches (ce qui est le cas des AC paramagnétiques, Tableau 1-II-1), la modification observée sur le signal, et donc sur le contraste, sera plus importante en pondération  $T_1$  qu'en pondération  $T_2$  (cf. Equation 1-II-1).

| Agent de contraste                        | Relaxivité                                     |                                                |
|-------------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------|
|                                           | $r_1$ ( $\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ) | $r_2$ ( $\text{mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ) |
| *Gd-DOTA (Dotarem®) - paramagnétique      | 3,40                                           | 4,20                                           |
| §Gd-DOTA (Dotarem®) - paramagnétique      | 4,02                                           | 4,25                                           |
| *AMI 227 (Sinerem®) - superparamagnétique | 7,75                                           | 89                                             |

\* dans milieu 4% HSA, à 37°C. Valeurs fournies par les laboratoires Guerbet

§ dans sérum physiologique, à 20°C. Valeurs mesurées au laboratoire

**Tableau 1-II-1 :** Valeurs des relaxivités du Dotarem® et du Sinerem®, agents paramagnétique et superparamagnétique, respectivement, à 2,35 T.

### Cas de l'effet de susceptibilité :

L'effet de susceptibilité magnétique, qui diminue le temps de relaxation transversale  $T_2^*$ , engendre une diminution de signal en imagerie pondérée  $T_2^*$ . La diminution du temps de relaxation transversale est souvent très importante et conduit à une "quasi-destruction" du signal, qui peut aussi générer une baisse de signal en imagerie pondérée  $T_1$ . L'effet de susceptibilité est donc assimilé à un contraste dit "négatif", quelle que soit la technique d'imagerie.

La notion d'agent de contraste positif ou négatif est ambiguë. En effet, chaque AC, para- ou superparamagnétique, peut agir sur le signal par des effets de relaxivité et de susceptibilité, s'il est compartimenté. La nature du contraste n'est donc pas inhérente à la molécule utilisée et dépend du choix des paramètres extrinsèques. Aux champs utilisés en IRM, les valeurs des aimantations des agents superparamagnétiques sont environ 1000 fois plus importantes que celles des agents paramagnétiques. En pratique, les particules superparamagnétiques, compartimentées, sont plus facilement des agents à effet de susceptibilité, que les molécules paramagnétiques. Néanmoins, ces dernières sont également utilisées pour des effets de susceptibilité dans des techniques de mesure de la perfusion lorsque l'AC se trouve en forte concentration dans le compartiment vasculaire (<sup>79</sup>Rosen, B.R. *et al.* 1990). De même, si les chélates de Gd sont les AC positifs de référence en imagerie pondérée  $T_1$ , les USPIO peuvent aussi être utilisés comme AC positifs, lorsqu'ils sont

phagocytés (<sup>25</sup>Corot, C. *et al.* 2004). Dans ce cas là, bien que les molécules d'AC soient compartimentées dans les macrophages, la faible concentration et la distribution homogène de ces derniers dans le voxel peuvent conduire à une diminution du  $T_1$  du tissu environnant.

Le choix de la pondération de l'intensité de l'image (typiquement  $T_1$  ou  $T_2$ ) n'est donc pas toujours suffisant pour connaître la nature de la modification du signal d'un tissu en présence d'AC (diminution ou rehaussement). Le signal RMN reste un composite non linéaire des différents temps de relaxation. Dans le cas d'une image pondérée  $T_1$ , tant que la concentration en AC est faible (notion relative à chaque type d'AC) et homogène, il y aura rehaussement du signal par effet de relaxivité  $r_1$  (contraste positif). Si la concentration de l'AC augmente ou si sa distribution est inhomogène à l'échelle du voxel, alors on assiste à deux phénomènes :

- diminution de  $T_2^*$  par effet de susceptibilité,
- diminution de  $T_2$  par effet de relaxivité  $r_2$ .

Dans les deux cas, lorsque ces effets deviennent importants, cela conduit à une chute de l'intensité du signal (contraste négatif), malgré la pondération  $T_1$  (TE court). C'est ce qu'il se passe au moment de l'injection du produit de contraste dans le système sanguin, les concentrations sanguines en AC peuvent atteindre des valeurs très importantes avec une distribution inhomogène dans le voxel : l'hyper intensité attendue sur une image pondérée  $T_1$  peut donc se transformer en chute de signal (dans le cas de l'utilisation d'un agent paramagnétique). Ce cas de figure sera discuté plus amplement dans la partie III.3.b.

Dans cette partie nous avons proposé un aperçu de la nature et du fonctionnement des agents de contraste les plus utilisés en IRM : les agents paramagnétiques et superparamagnétiques. Nous constatons également qu'en plus d'avoir un mode d'action indirect sur le contraste, les effets à l'origine de leur pouvoir contrastant sont multiples, complexes et pas toujours dissociés.

L'utilité des agents de contraste en IRM n'est plus à prouver, et leur emploi en clinique (Dotarem<sup>®</sup>, Magnevist<sup>®</sup>, ...) est routinière. L'information extraite correspond généralement à la réponse à la question : "Le contraste est-il modifié après l'injection d'AC ?" Mais cette information se révèle assez limitée. Dans le cas des tumeurs par exemple, il est reconnu que les contours de la zone où se rehausse le signal ne correspondent pas toujours aux contours observés sur des coupes histologiques marquées pour la densité de noyaux (<sup>29</sup>Earnest 4th, F. *et al.* 1988). L'analyse du phénomène d'extravasation de l'AC peut être

affinée en enregistrant de façon dynamique les variations du signal au cours du temps, comme nous allons le voir dans la partie suivante.

### III. La perméabilité vasculaire cérébrale

Dans cette partie, nous allons introduire le troisième élément clé de ce travail : la perméabilité vasculaire cérébrale. Afin de mieux aborder ce concept, nous parlerons du cerveau et de sa vascularisation, et par conséquent, de la barrière hémato-encéphalique. Après avoir discuté de son fonctionnement normal et pathologique, nous pourrions nous intéresser à la notion de perméabilité. Nous verrons alors que la mesure de cette quantité véhicule un grand nombre d'informations et nous ferons un rapide survol des techniques de mesure. Enfin, nous détaillerons la méthodologie utilisée pour la suite de notre travail.

#### III.1. La barrière hémato-encéphalique

##### III.1.a. Le cerveau sain : BHE intègre

Le cerveau et la moelle épinière forment le système nerveux central. Il est principalement constitué de neurones et de cellules gliales qui assurent de nombreuses fonctions, regroupées sous le terme d'activité cérébrale. Cette activité cérébrale est extrêmement consommatrice d'énergie et le cerveau ne possède pas de ressource propre. L'apport de l'oxygène, du glucose et autres éléments nécessaires à son fonctionnement se fait donc exclusivement par le réseau vasculaire. Le cerveau qui ne représente que 2% de la masse corporelle, consomme près de 20% de l'oxygène inspiré. Le volume sanguin cérébral (VSC) est estimé à 3-4% (<sup>46</sup>Ito, H. *et al.* 2001). Le sang et les nutriments arrivent au cerveau par un réseau artériel complexe (Figure 1-III-1). Les plus petites ramifications de ce réseau, qui alimentent le cœur de l'organe, sont les capillaires, dont le diamètre est compris entre 4 et 8  $\mu\text{m}$ . Avec les artéioles et les veinules, ils forment la microvascularisation, dont la longueur cumulée a été estimée à environ 650 km. C'est à ce niveau que s'effectuent les échanges entre le sang et la matière cérébrale. La surface d'échange entre le compartiment vasculaire et le parenchyme cérébral (20  $\text{m}^2$  pour 1,3 kg de tissu cérébral) constitue la principale particularité du réseau vasculaire cérébral. Elle porte le nom de barrière hémato-encéphalique (BHE), terme introduit en 1921 par Lina Stern, bien que sa découverte par Paul Ehrlich remonte au 19<sup>ème</sup> siècle. La BHE, plus d'une simple barrière physique, concentre de nombreuses

propriétés particulières. Ce système d'échanges actifs régule les apports en différentes ressources et permet aussi de protéger le cerveau des agressions extérieures.

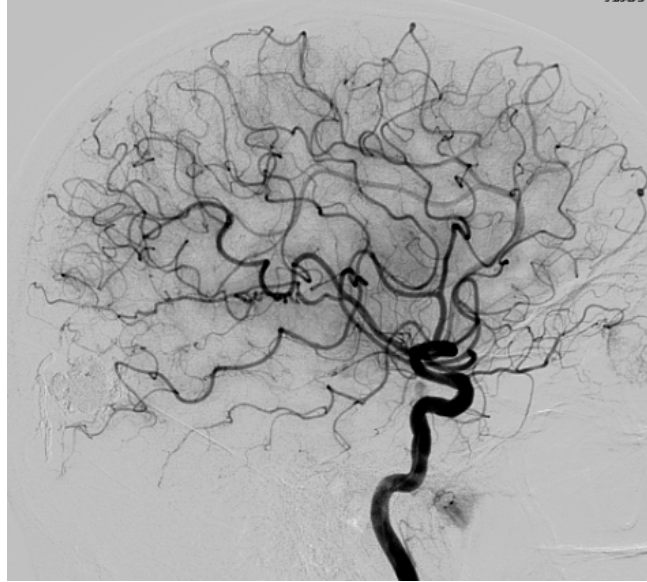


**Figure 1-III-1 :** Représentation du réseau artériel cérébral par artériographie carotidienne droite. D'après <http://www.fo-rothschild.fr/>.

Les constituants et les mécanismes de la BHE sont nombreux et complexes et l'objet de ce manuscrit n'est pas de faire la description complète des éléments connus. Les principales cellules formant les vaisseaux sanguins sont les cellules endothéliales. Dans tout le reste du corps, les échanges sang-tissu s'effectuent principalement par diffusion simple au niveau des espaces entre ces cellules (pores), *i.e.* par des voies paracellulaires. Dans le cas de la BHE, les cellules endothéliales sont reliées entre elles par des jonctions serrées (<sup>44</sup>Huber, J.D. *et al.* 2001), qui limitent fortement ce mode de communication. Les échanges ont donc aussi lieu à travers les membranes cellulaires (Figure 1-III-2). Les substances gazeuses, telles que l'oxygène et le dioxyde de carbone, et les petites molécules lipophiles diffusent sans problème à travers la BHE. Les petites molécules hydrophiles et les nutriments sont eux véhiculés par des transporteurs spécifiques. Enfin les plus grosses protéines, telles que l'albumine (cf. §II.1.a), seront transportées par endo/transcytose, mais ce mécanisme est extrêmement rare au niveau des vaisseaux sanguins cérébraux. Les cellules endothéliales sont entourées par la lame basale, ensemble de protéines et glycoprotéines extracellulaires parmi lesquelles on trouve le collagène IV. Le second type cellulaire fortement présent est l'astrocyte. La présence des pieds astrocytaires au contact des capillaires sert à réguler les échanges entre le sang et le cerveau et à assurer le maintien de l'intégrité de la BHE.

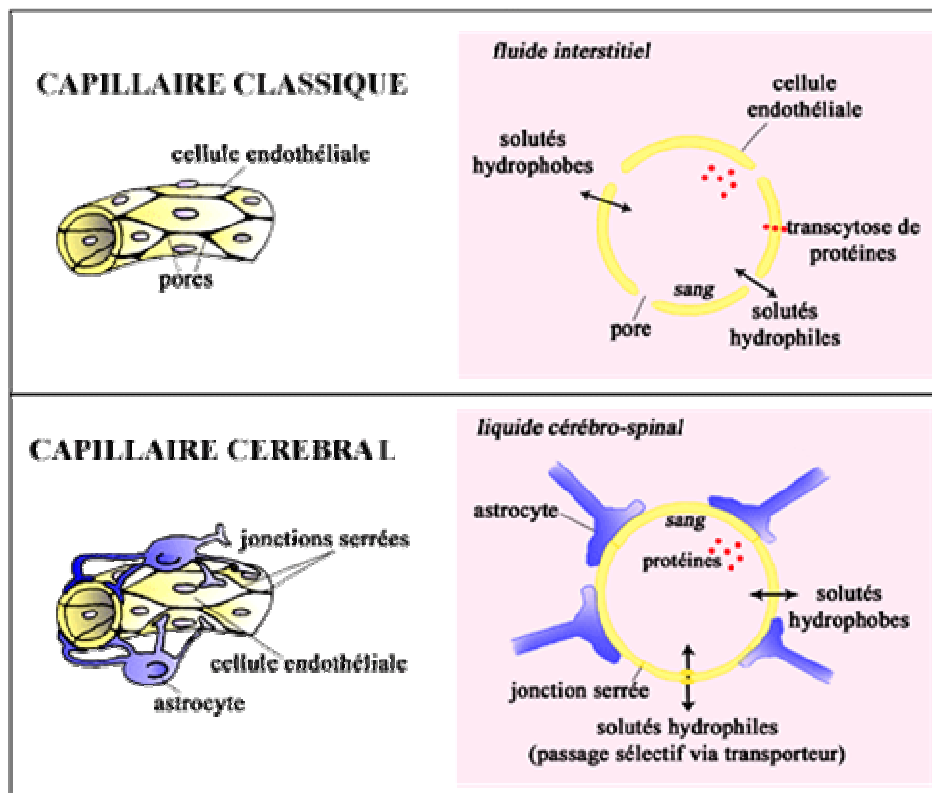


**Figure 1-III-2 :** Schéma de la constitution des capillaires classiques et cérébraux et de certaines des voies de transport. D'après <http://club.bhe.free.fr/>.

### III.1.b. Le cerveau pathologique : BHE lésée

De nombreuses neuropathologies présentent un dysfonctionnement de la barrière hémato-encéphalique. Ces anomalies portent des noms divers tels que rupture de BHE, absence de BHE, ouverture de BHE... De la même manière que la définition du concept de BHE est une tâche ardue, la description de toutes ses altérations, leur nature et leur origine, l'est tout autant. Parmi les pathologies pouvant mener à une BHE lésée, de manière définitive ou temporaire, nous trouvons l'hypertension artérielle, le traumatisme crânien, l'ischémie cérébrale, les infections, ou encore certaines formes d'épilepsie. Mais les cas de lésions de BHE les plus étudiés restent ceux associés aux tumeurs cérébrales, qui sont le sujet de notre travail.

#### Les tumeurs cérébrales :

Il en existe de nombreux types, classés en fonction de leur localisation et de leur type cellulaire. Dans ce manuscrit, nous nous intéressons aux tumeurs intracérébrales et plus

précisément aux glioblastomes ou astrocytomes de grade IV. Ces tumeurs malignes sont les plus agressives et la médiane de survie chez l'homme, qui n'a pas évolué depuis 1980, est de 12 mois environ après le diagnostic (<sup>81</sup>Salcman, M. 1980; <sup>75</sup>Quigley, M.R. *et al.* 2007). Ces tumeurs ont un aspect irrégulier et sont souvent constituées de foyers nécrotiques et de zones d'œdème (Figure 1-III-3). Leur développement est rapide et lié à l'établissement d'une nouvelle vascularisation permettant de répondre aux besoins croissants des cellules en multiplication : c'est le phénomène d'angiogenèse. Cependant, ces néo-vaisseaux tumoraux sont instables et désorganisés (<sup>13</sup>Bergers, G. *et al.* 2003). Ils présentent des irrégularités de flux, de volume, de densité, ou encore de direction. Enfin, ces vaisseaux sont souvent dépourvus d'une BHE intègre.

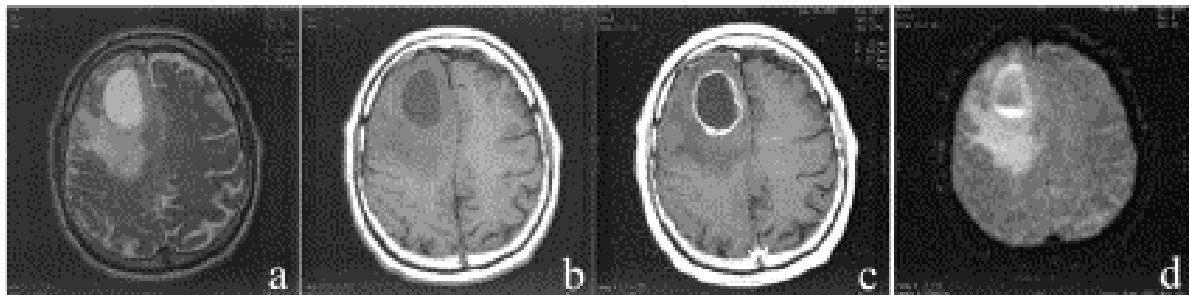


**Figure 1-III-3 :** IRM d'un gliome de haut grade chez un patient de 61 ans. Image pondérée T<sub>2</sub> (a), images pondérées T<sub>1</sub> avant et après injection de Dotarem® (b) et (c), et image pondérée diffusion (d). On note un rehaussement de signal en anneau sur l'image (c). D'après <sup>64</sup>Nadal Desbarats, L. *et al.* 2003.

Différents outils d'imagerie sont actuellement utilisés pour le diagnostic des tumeurs cérébrales. La tomodensitométrie (TDM) et la médecine nucléaire sont des techniques ionisantes, ayant chacune leurs avantages (présence de calcifications, information sur le métabolisme tumoral), mais ne permettant pas de répéter l'examen ou d'atteindre des résolutions spatiales aussi élevées que l'IRM. L'IRM reste donc la méthode de choix en matière de diagnostic des tumeurs cérébrales. En plus d'être une technique non ionisante, elle présente une grande sensibilité de contraste permettant une excellente différenciation des tissus mous constituant le cerveau, et une résolution spatiale élevée (de l'ordre du mm<sup>3</sup> chez l'homme, en clinique). A ces propriétés, s'ajoute le caractère multiparamétrique de l'IRM. Il est en effet possible de faire de l'imagerie anatomique qualitative (pondération T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>) mais aussi de l'imagerie à caractère fonctionnel grâce aux techniques de mesure de la perfusion, du volume sanguin, de l'index de taille des vaisseaux, de la diffusion ou encore de la perméabilité vasculaire (<sup>9</sup>Batchelor, T.T. *et al.* 2007).

L'utilisation de produits de contraste pour l'imagerie des lésions cérébrales apporte des informations sur l'intégrité de la BHE. En effet, lorsque la BHE est intacte, les AC ne sortent pas du compartiment vasculaire. Etant donné le VSC (environ 4%), leur présence n'affecte pas le contraste des images pondérée  $T_1$ . Cependant, en cas de BHE lésée et en fonction de la taille de l'AC utilisé, celui-ci peut passer dans le compartiment extravasculaire extracellulaire (*extravascular, extracellular space*, EES) et conduire à un rehaussement (répartition homogène de l'AC, cf. §II.3.b) du contraste au niveau de la lésion.

## III.2. Le concept de perméabilité vasculaire

### III.2.a. Définitions

Ce que l'on nomme perméabilité vasculaire est la perméabilité  $P$  de la paroi des vaisseaux sanguins à une substance donnée (pour notre application, il s'agira d'un AC). Habituellement, elle s'exprime en  $\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$  et elle est définie par :

$$P = \frac{J}{S(C_p - C_e)}, \quad 1\text{-III-1}$$

où  $J$  est le flux (en nombre de molécules par unité de temps) de l'AC à travers la surface  $S$  de la paroi vasculaire et où  $C_p$  et  $C_e$  sont respectivement les concentrations de l'AC dans les compartiments vasculaire (*i.e.* dans le plasma) et extravasculaire extracellulaire (EES), conventionnellement exprimée en  $\text{mmol/L}$  ( $\text{mM}$ ). Dans cette étude, nous utilisons un modèle dit "à deux compartiments". Dans chaque compartiment, on considère que la répartition des molécules est homogène. Soit  $n$  le nombre de molécules extravasées (qui ont franchi la paroi vasculaire) et  $V$  le volume où diffuse ces molécules. L'équation précédente devient :

$$J = \frac{dn}{dt} = PS(C_p - C_e), \quad \text{ou} \quad \frac{dC_e}{dt} = \frac{PS}{V}(C_p - C_e). \quad 1\text{-III-2}$$

La plupart des techniques de mesure de la perméabilité, dont les méthodes par IRM, vont en réalité fournir une information sur le produit  $PS/V$ . C'est donc de manière abusive que l'on parle de mesure de la perméabilité vasculaire, dans la littérature comme dans la suite de cette étude.

Soit  $k_{pe}$  la constante d'échange du plasma vers l'EES et  $k_{ep}$  la constante d'échange de l'EES vers le plasma, exprimées en  $\text{min}^{-1}$  (Figure 1-III-4). Ces deux constantes sont souvent considérées égales. Elles sont définies par la relation suivante :

$$\frac{dC_e(t)}{dt} = k_{pe} C_p(t) - k_{ep} C_e(t) . \quad 1\text{-III-3}$$

D'après les équations III-2 et III-3, nous pouvons établir que  $k_{pe} = PS/V$ .

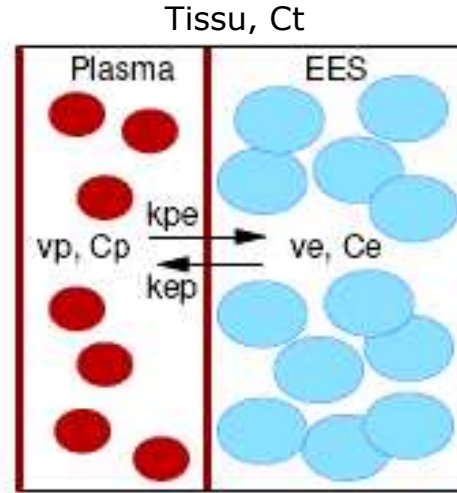


**Figure 1-III-4 :** Représentation du modèle à deux compartiments : plasma et EES, et des variables impliquées dans la modélisation de l'échange d'un AC entre ces deux compartiments.

Les solutions de l'équation différentielle du premier ordre (1-III-3) pour  $C_e(t)$ , sont de la forme  $A(t)\exp(-k_{ep}t)$ . La résolution de cette équation nous conduit à :

$$C_e(t) = k_{pe} \int_0^t C_p(\tau) e^{-k_{ep}(t-\tau)} d\tau . \quad 1\text{-III-4}$$

Maintenant, considérons un élément de volume du cerveau,  $V_t$ , qui pourrait correspondre à un voxel en imagerie. La concentration de molécules d'AC dans ce volume de tissu est notée  $C_t(t)$ . On peut écrire (Figure 1-III-4) :

$$C_t(t) = v_p C_p(t) + v_e C_e(t) , \quad 1\text{-III-5}$$

où  $v_p$  et  $v_e$  sont des fractions volumiques (comprises entre 0 et 1). Notons que  $(v_e + v_p)V_t$  correspond à l'ensemble de l'espace extracellulaire du voxel (en blanc sur la Figure 1-III-4), là où diffuse l'AC, et que  $V_t v_e = V$ . Dans le cerveau sain,  $v_e$  vaut environ 20%. Ainsi, nous arrivons à l'expression finale de la concentration de l'AC dans un volume de tissu,  $C_t(t)$ , tenant compte de la perméabilité vasculaire :

$$C_t(t) = v_p C_p(t) + K^{\text{trans}} \int_0^t C_p(\tau) e^{-k_{ep}(t-\tau)} d\tau , \quad 1\text{-III-6}$$

avec  $K^{\text{trans}} = k_{\text{pe}} v_e$ , définie comme la constante de transfert, en  $\text{min}^{-1}$ . Ce modèle est une extension du modèle de Tofts ( $^{87}\text{Tofts}$ , P.S. 1997), puisqu'il prend en compte le compartiment vasculaire (*i.e.*  $v_p C_p(t)$ ) dans l'expression de  $C_t(t)$ .

La variable  $K^{\text{trans}}$  est proportionnelle au produit  $PS/V_t$  et donc à la perméabilité. Cependant, en fonction des conditions de mesure, elle a des interprétations physiologiques différentes. En effet, les transferts de substances au niveau de l'endothélium sont régis par la perméabilité mais aussi par le flux du plasma dans les capillaires. Celui-ci doit être suffisant pour maintenir la concentration de l'AC dans les capillaires au niveau de la concentration artérielle. Ainsi, lorsque la mesure de  $C_p(t)$  est globale, dans les cas de perméabilité très importante, c'est le flux sanguin qui va limiter les échanges et  $K^{\text{trans}}$  sera proportionnelle à ce flux. A contrario, lorsque le flux n'est pas limitant, alors la constante de transfert est bien représentative de la perméabilité vasculaire ( $^{89}\text{Tofts}$ , P.S. *et al.* 1999).

La plupart des méthodes que nous allons étudier pour mesurer ce paramètre (cf. §III.3.b) ne nous permet pas de différencier les deux comportements que nous venons de décrire. D'après Tofts *et al.* ( $^{89}\text{Tofts}$ , P.S. *et al.* 1999) nous sommes confrontés à un mélange des deux situations dans l'étude des tumeurs, sauf dans les tumeurs cérébrales où la plupart des cas serait limitée par la perméabilité. Si le flux devient limitant, des équipes proposent d'augmenter la taille de l'agent de contraste, afin de rétablir une situation limitée par la perméabilité ( $^{26}\text{Daldrup}$ , H. *et al.* 1998;  $^{73}\text{Preda}$ , A. *et al.* 2004). Comme un grand nombre d'équipes, nous nous limiterons donc à la mesure de la constante de transfert  $K^{\text{trans}}$  et nous ne remonterons pas jusqu'aux valeurs de perméabilité  $P$ .

Enfin, notons que les définitions introduites ici ne sont pas propres à une application cérébrale. La notion de perméabilité est valable quelque soit l'endothélium considéré ( $^{88}\text{Tofts}$ , P.S. *et al.* 1995). De plus, le modèle introduit ici ne tient pas compte du mode de passage à travers la paroi vasculaire, et malgré un raisonnement inspiré de la loi de Fick, la diffusion n'est pas le seul mode de transport considéré.

### III.2.b. Les intérêts de la quantification

Le caractère "perméable" de la paroi vasculaire dans certaines lésions, et en particulier dans les tumeurs, suscite un intérêt croissant depuis une vingtaine d'années. Comme nous l'avons déjà évoqué en conclusion du chapitre traitant des agents de contraste (cf. §II), le simple rehaussement de contraste en IRM, synonyme, dans le cerveau, de lésions de la BHE, ne permet pas d'accéder à une caractérisation précise de la tumeur. Le recours à des

techniques d'analyse plus poussées a rapidement été opéré. L'une de ces techniques a pour but d'établir une quantification de la perméabilité. Les études réalisées ont alors montré une bien meilleure corrélation entre les résultats de mesure de la perméabilité et le diagnostic des tumeurs cérébrales (<sup>78</sup>Roberts, H.C. *et al.* 2001).

Bien que les considérations à venir s'appliquent à d'autres types de pathologies que les tumeurs, et à d'autres organes que le cerveau, nous préférons centrer la discussion sur la problématique liée aux tumeurs cérébrales.

Le principal intérêt de la quantification de la perméabilité vasculaire cérébrale, après le diagnostic, est lié à la thérapie. Le traitement des tumeurs cérébrales, et plus particulièrement les glioblastomes, fait appel à des thérapies combinées (<sup>32</sup>Frappaz, D. *et al.* 2003). La chirurgie et la radiothérapie n'étant pas à elles seules curatives, de nombreux efforts de recherche ont été faits du côté de la chimiothérapie. Or, dans le cas des tumeurs cérébrales, l'accès des médicaments à la tumeur est fortement limité du fait de la présence de la BHE, et ce, malgré la présence de lésions de la BHE dans certaines tumeurs. C'est à ce niveau qu'une quantification de la perméabilité devient intéressante.

Dans un premier temps, en déterminant le niveau de perméabilité de la tumeur, il est possible d'évaluer préalablement si la chimiothérapie peut s'avérer efficace. Si la BHE n'est pas lésée, des méthodes d'ouverture artificielles par des moyens chimiques ou au moyen d'ultrasons sont à l'étude (<sup>41</sup>Haluska, M. *et al.* 2004; <sup>24</sup>Choi, J.J. *et al.* 2007).

Dans un second temps, la quantification de la perméabilité permet d'évaluer la réponse à la thérapie. De nombreux traitements ont des mécanismes d'action antiangiogénique ou antivasculaire. Il est maintenant reconnu que la mesure de l'efficacité de ces agents chimiothérapiques passe par une caractérisation de la réponse microvasculaire (<sup>37</sup>Gossmann, A. *et al.* 2002; <sup>6</sup>Armitage, P.A. *et al.* 2007; <sup>9</sup>Batchelor, T.T. *et al.* 2007), l'anatomie de la tumeur étant modifiée tardivement lors d'une réponse positive au traitement (Figure 1-III-5). Que ce soit dans un contexte clinique ou de recherche, ce dernier point est primordial.

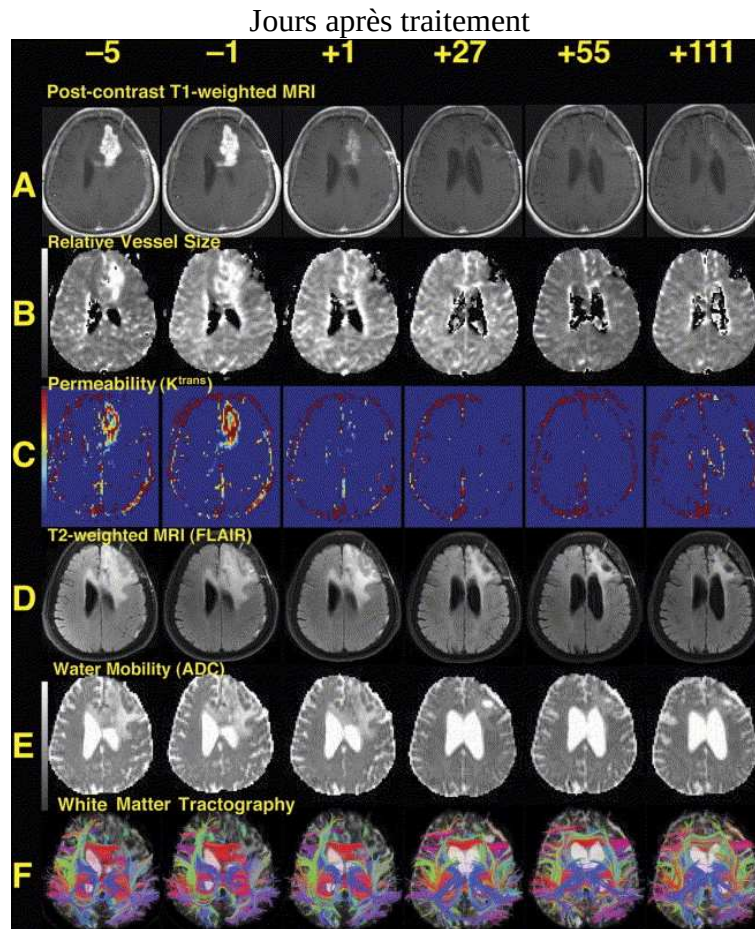


**Figure 1-III-5 :** Exemple clinique de caractérisation par IRM multiparamétrique de la réponse d'une tumeur cérébrale à un traitement chimique. On notera la rapidité de la réponse au niveau perméabilité vasculaire (**C**) par rapport à la réponse "anatomique" (**D**). D'après <sup>9</sup>Batchelor, T.T. *et al.* 2007.

### III.3. Mesure de la perméabilité vasculaire

Etant donné le contexte de l'étude, nous parlerons uniquement des techniques de mesure de la perméabilité réalisées *in vivo*. Toutes ces techniques sont basées sur l'étude de l'extravasation d'une substance (dont le poids moléculaire n'est pas trop élevé), du milieu vasculaire vers le milieu extravasculaire extracellulaire. C'est en étudiant cette cinétique qu'il sera possible d'accéder à la perméabilité.

Chaque méthode de mesure de la perméabilité vasculaire repose sur trois éléments :

- une technique d'acquisition des images,
- un AC,
- une méthode d'analyse des données.

Les deux premiers points seront traités simultanément, le choix de l'AC dépendant principalement de la technique d'acquisition des images, le troisième point sera abordé séparément, puisque les méthodes d'analyse des données sont, pour la plupart des points, communes aux différentes techniques d'imagerie.

### **III.3.a. Différentes techniques d'imagerie et leur AC**

#### **Microscopie de fluorescence :**

Différents travaux ont montré qu'il était possible d'accéder à une mesure de la perméabilité vasculaire en microscopie intravitale en suivant l'extravasation d'un marqueur fluorescent (la Sulforhodamine B, d'un poids moléculaire de 580 Da, par exemple). Ces techniques offrent une résolution spatiale incomparable (quelques microns) mais sont exclusivement expérimentales (modèles animaux), invasives (craniotomie) et les champs de vue et profondeur de pénétration sont fortement limités (<sup>100</sup>Vérant, P. 2006).

#### **Techniques ionisantes :**

Ces techniques regroupent la tomodensitométrie (par scanner X ou rayonnement synchrotron) et la médecine nucléaire (tomographie à émission de positron -TEP- et tomographie par émission monophotonique -TEMP-). En TDM, le suivi dynamique de l'extravasation d'un agent de contraste (iodé en général, le Iomeprol, de 777 Da, par exemple) permet d'accéder à une quantification de la perméabilité. Les concentrations d'AC dans les différents compartiments sont obtenues de manière directe, l'atténuation des rayons étant proportionnelle à la quantité de produit dans le tissu. En médecine nucléaire, la méthode ne diffère pas beaucoup. Des traceurs radioactifs peuvent être liés à des molécules vectrices ou diffuser librement (<sup>1</sup>Abbott, N.J. *et al.* 1999).

Bien que l'autoradiographie soit une technique *ex vivo*, elle constitue une de nos méthodes de référence. Après injection d'un AC radioactif dans le système vasculaire, l'animal est sacrifié et des coupes de tissus sont réalisées. Celles-ci sont placées au contact de films sensibles à l'activité radioactive (typiquement  $\beta^-$ ), qui sont développés et analysés par microdensitométrie.

#### **Techniques en IRM :**

L'appellation générale en IRM pour les techniques de mesure de la perméabilité est DCE-MRI pour *Dynamic Contrast Enhanced MRI*. Elles s'appuient sur l'étude dynamique de

l'extravasation d'un AC, un chélate de Gd en général (le Gd-DOTA a un poids moléculaire de 557 Da). C'est en mesurant l'évolution du temps de relaxation longitudinale  $T_1$  (qui varie par effet de relaxivité de l'AC) qu'est déterminée la quantité d'AC qui s'extravase. Des images pondérée  $T_1$  ou des cartes de  $T_1$  sont acquises avant, pendant et après l'injection de l'AC.

Toutes les techniques que nous avons répertoriées jusqu'à présent, utilisent un traceur exogène, *i.e.* qui n'appartient pas au corps. Mais l'IRM offre la possibilité de travailler avec un marqueur endogène : l'eau. Parmi les techniques référencées, nous trouvons les techniques de marquage de spin artériel qui permettent de réaliser des mesures de la perfusion de manière totalement non invasive (<sup>7</sup>Barbier, E.L. *et al.* 2001). Ces techniques consistent à modifier l'aimantation du sang au niveau d'une artère puis à regarder l'impact de l'arrivée de ces spins marqués sur le signal, au niveau du cerveau par exemple. Cette technique est également utilisée pour mesurer la perméabilité via une mesure de PS, F pouvant être déterminé de manière indépendante avec cette méthode. Cependant, bien que le caractère non invasif de la mesure et l'accès à la valeur de perméabilité (PS) de la BHE à l'eau indépendamment du flux soient extrêmement motivants, les résultats actuels ne permettent pas de parler du marquage de spin artériel comme une technique de référence dans le domaine de la mesure de la perméabilité, la précision et la reproductibilité n'étant pas encore au rendez-vous (<sup>68</sup>Parkes, L.M. *et al.* 2002; <sup>22</sup>Carr, J.P. *et al.* 2007).

### III.3.b. Méthodes de mesure de la perméabilité à un AC

Lorsque l'on étudie la perméabilité de la paroi vasculaire à un agent de contraste, et quel que soit le modèle, le but est d'établir la cinétique de l'extravasation, *i.e.* mesurer  $C_e(t)$  (cf. Equation 1-III-2). Etant donnée la résolution spatiale des techniques décrites ci-dessus, microscopie mise à part, par rapport à la résolution de la microvascularisation cérébrale, ce que l'on mesure correspond à  $C_t(t)$ , concentration du produit dans un volume de tissu. La méthodologie de la mesure comporte trois composantes majeures :

- la mesure de  $C_t(t)$ ,
- la mesure de  $C_p(t)$ ,
- l'équation décrivant le modèle physiologique.

#### Mesure de $C_t(t)$ :

La technique de détermination de la concentration en AC dépend de la méthode d'acquisition utilisée. Les méthodes ionisantes et la microscopie, conduisent à une relation

directe entre le signal des images et  $C_t(t)$ . En IRM, le signal dépend de façon non linéaire du  $T_1$  qui lui-même dépend de façon non linéaire de  $C_t(t)$ . Les paramètres vitesse de relaxation ( $1/T_1$ ) et concentration sont liés par la valeur de relaxivité de l'AC et, comme cela a été évoqué dans le paragraphe II.2.a, cette valeur dépend d'un grand nombre de paramètres et notamment de l'environnement de l'AC. Ainsi, certaines méthodes en IRM se limitent à des mesures de  $\Delta R_1$ , et ne remontent pas aux valeurs de concentration d'AC dans les tissus.

### Mesure de $C_p(t)$ :

$C_p(t)$  est l'évolution de la concentration artérielle de l'AC, ou AIF (*arterial input function*). L'évaluation de cette fonction est importante pour la suite du traitement. En effet, il a été montré qu'il existe une grande variabilité de l'AIF inter- et intra-individus, et une mauvaise détermination de l'AIF peut influencer les résultats de mesure de perméabilité (<sup>72</sup>Port, R.E. *et al.* 2001). L'évolution de la concentration plasmatique en AC comporte une partie croissante, correspondant à l'arrivée de l'AC dans le sang, et une partie décroissante, correspondant à la clairance plasmatique de l'agent. Cette dernière partie est généralement modélisée par une fonction bi-exponentielle décroissante dont les composantes rapide et lente correspondent respectivement à l'extravasation de l'AC dans l'EES (à travers tous les endothélia) et à l'élimination rénale. Les solutions méthodologiques proposées dans la littérature sont nombreuses. Nous trouvons d'une part les solutions de mesure sur les images acquises, et d'autre part les techniques par dosage de la quantité d'agent de contraste dans des échantillons de sang prélevés.

La méthode la plus intuitive consiste à déduire  $C_p(t)$  de la même manière que  $C_t(t)$ , en plaçant une région d'intérêt (ROI) sur une artère (<sup>33</sup>Fritz-Hansen, T. *et al.* 1996; <sup>2</sup>Adam, J.F. *et al.* 2005). Les principaux inconvénients de cette méthode sont :

- les effets de volume partiel, lorsque la résolution de l'image ou la taille des vaisseaux ne permettent pas de sélectionner des zones purement vasculaires (surtout en imagerie cérébrale du petit animal),
- les effets de saturation du signal (les concentrations mesurées étant souvent très élevées),
- la non linéarité de l'intensité du signal avec la concentration en AC (uniquement dans le cas de l'IRM),
- le manque de représentativité au niveau local, la concentration en AC pouvant être modifiée entre les niveaux artériel et capillaire.

Des techniques de détection automatique de l'AIF, par l'analyse du décours temporel du signal pour chaque voxel, ont aussi été développées (<sup>19</sup>Calamante, F. *et al.* 2004). Elles ont pour principal avantage de pouvoir déterminer des concentrations en AC locales et plus représentatives du comportement vasculaire dans les différentes régions étudiées. Cependant ces techniques ne sont pas encore utilisées pour les problématiques de mesure de la perméabilité. Enfin, de nombreuses équipes ont développé des méthodes utilisant des tissus de référence pour éviter de mesurer l'AIF (<sup>50</sup>Kovar, D.A. *et al.* 1998; <sup>105</sup>Yang, C. *et al.* 2004; <sup>107</sup>Yankeelov, T.E. *et al.* 2005).

Si l'analyse du signal ne peut conduire à l'obtention de l'AIF, la solution consiste à la mesurer "à la paillasse". A partir de prélèvements de sang artériel avec une résolution temporelle suffisante, on peut remonter à  $C_p(t)$ , après dosage de l'AC dans le sang. Ce dosage peut être réalisé en IRM (mesure compliquée du fait de la non linéarité entre le signal et la concentration en AC) ou par spectrométrie de masse, par exemple.

### **L'équation décrivant le modèle physiologique:**

Toutes les équations que l'on trouve dans la littérature proposent une relation entre  $C_t(t)$  et  $C_p(t)$ , à l'aide de différents paramètres dont la perméabilité. Les modèles physiologiques diffèrent par le nombre de compartiments considérés, la prise en compte ou non du volume vasculaire, le mode d'injection de l'AC et l'uni- ou bidirectionnalité des échanges à travers la membrane (<sup>70</sup>Patlak, C.S. *et al.* 1983; <sup>18</sup>Brix, G. *et al.* 1991; <sup>90</sup>Tofts, P.S. *et al.* 1991; <sup>51</sup>Larsson, H.B. *et al.* 1992; <sup>87</sup>Tofts, P.S. 1997).

La plupart des modèles cités ci-dessus peuvent être établis à partir de l'Equation 1-III-6, comme cela a été détaillé dans la revue de Tofts *et al.* (<sup>89</sup>Tofts, P.S. *et al.* 1999). Par exemple, lorsque le volume sanguin est faible (environ 4%), certains modèles estiment que la contribution du compartiment vasculaire au signal est négligeable : le terme  $v_p C_p(t)$  est donc retiré de l'équation. En réduisant le nombre de paramètres à déterminer (par ajustement de la fonction modèle sur  $C_t(t)$ ), la précision sur les paramètres restant à déterminer augmente.

### **III.3.c. Méthode de mesure utilisée**

Dans ce travail, nous nous intéressons à une mesure de la perméabilité de la BHE au Gd-DOTA, mesurée par IRM. Dans ce paragraphe, nous allons détailler les différentes étapes de la méthode de traitement des données que nous avons choisie. La Figure 1-III-6 montre la

procédure de ce traitement de données qui permet de passer des signaux RMN à une estimation des paramètres pharmacocinétiques.

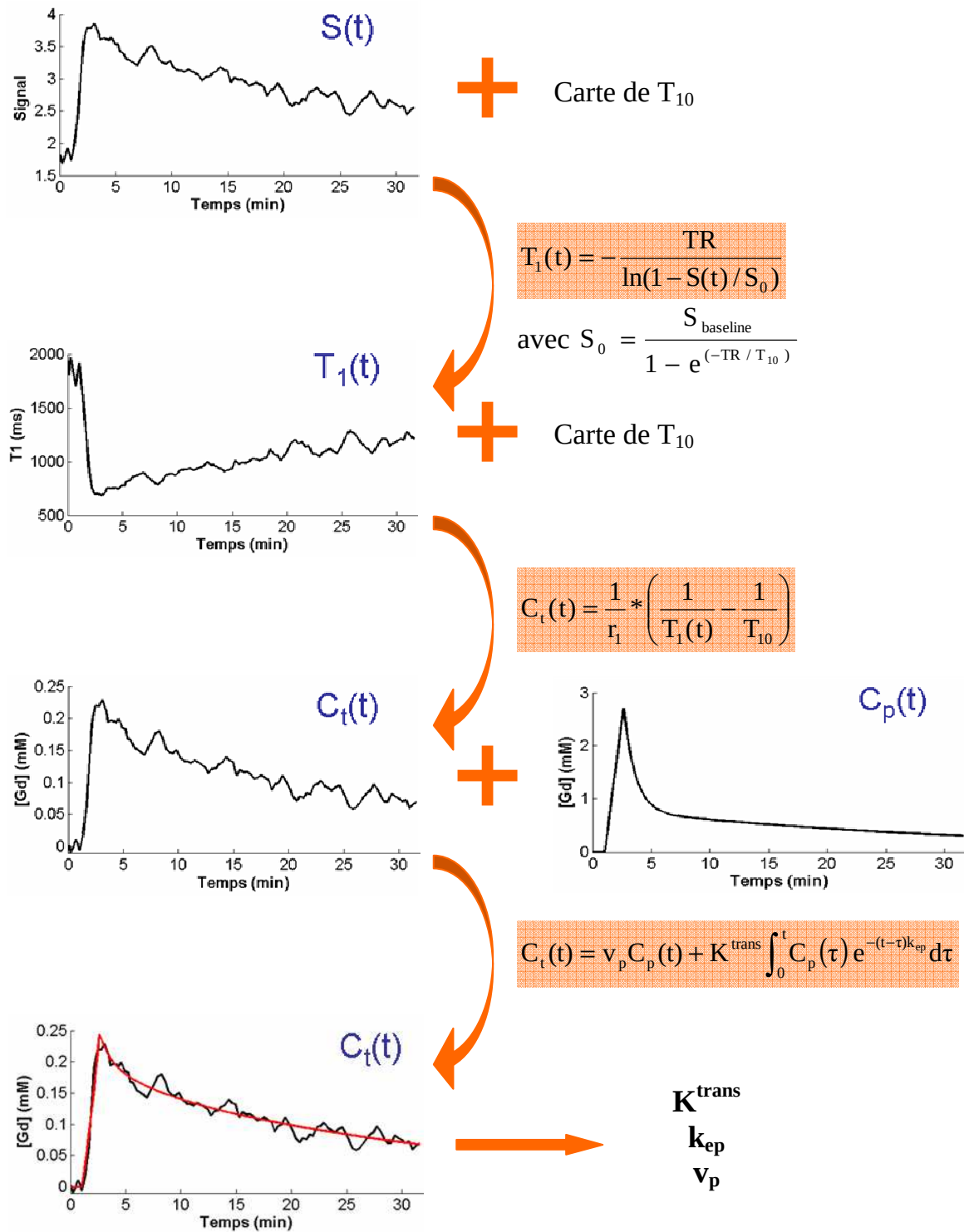


**Figure 1-III-6 :** Schéma récapitulatif des différentes étapes du traitement des signaux mesurés sur un voxel lors d'une expérience de DCE-MRI.

**Mesure de  $C_t(t)$  :**

Tout d'abord, rappelons l'Equation 1-II-1 :

$$\frac{1}{T_1(t)} = \frac{1}{T_{10}} + r_1[AC], \quad \text{soit} \quad \Delta R_1(t) = r_1[AC] = r_1 C_t(t). \quad 1\text{-III-7}$$

Notre mesure par IRM de  $C_t(t)$  comporte deux étapes : la détermination de la valeur de  $T_{10}$ , temps de relaxation longitudinale avant injection de l'AC (par réalisation d'une carte de  $T_1$  avec une technique d'inversion-récupération, cf. Chapitre 3 §I.1), et la mesure dynamique de  $T_1(t)$ . Afin d'accéder à la cinétique de l'extravasation de l'AC, il convient de faire des mesures avec une résolution temporelle élevée. Pour cela, nous avons choisi d'acquérir des images pondérées  $T_1$ , nos systèmes ne nous permettant pas de quantifier  $T_1$  à chaque temps de mesure. Dans notre cas,  $T_1(t)$  s'obtient facilement à partir du signal RMN,  $S(t)$ , acquis avec un TE court nous permettant de négliger les effets  $T_2$  et  $T_2^*$  :

$$\begin{aligned} S(t) &= S_0(1 - e^{-TR/T_1(t)}), \\ T_1(t) &= -\frac{TR}{\ln(1 - S(t)/S_0)}, \\ \text{avec } S_0 &= S_{\text{baseline}} / (1 - e^{-TR/T_{10}}), \end{aligned} \quad 1\text{-III-8}$$

$S_0$  est l'amplitude nominale du signal et  $S_{\text{baseline}}$  est l'amplitude du signal avant injection du produit de contraste. L'unité de volume est le voxel RMN : la surface d'un pixel par l'épaisseur de tranche. Chacune des valeurs évoquées ci-dessus est mesurée pour un voxel. On obtient ainsi une carte par paramètre et par temps.

**Mesure de  $C_p(t)$  :**

Nous avons choisi de mesurer l'AIF en dosant le Gd dans des prélèvements de sang, sur des rats différents de ceux pour lesquels est réalisée l'expérience de DCE-MRI. Cette étape a nécessité des développements méthodologiques spécifiques que nous n'aborderons pas à ce stade du manuscrit. Le détail de ce travail est exposé dans le Chapitre 3 : Mesure de la perméabilité de la BHE.

**Equation décrivant le modèle physiologique :**

Le modèle que nous avons adopté est très général dans le sens où nous avons utilisé l'Equation 1-III-6 sans la modifier. Le nombre de paramètres à déterminer par ajustement de cette équation sur nos données est donc au nombre de 3 :  $v_p$ ,  $K^{\text{trans}}$  et  $k_{ep}$ . Dans la suite, nous

avons fait l'hypothèse que les constantes d'échanges à travers la paroi vasculaire étaient égales ( $k_{ep} = k_{pe}$ ), nous avons pu également calculer le paramètre  $v_e = K^{trans}/k_{ep}$ .

Pour rendre compte de l'hétérogénéité des tumeurs cérébrales, une représentation sous forme de cartes paramétriques a été adoptée (Figure 1-III-7).

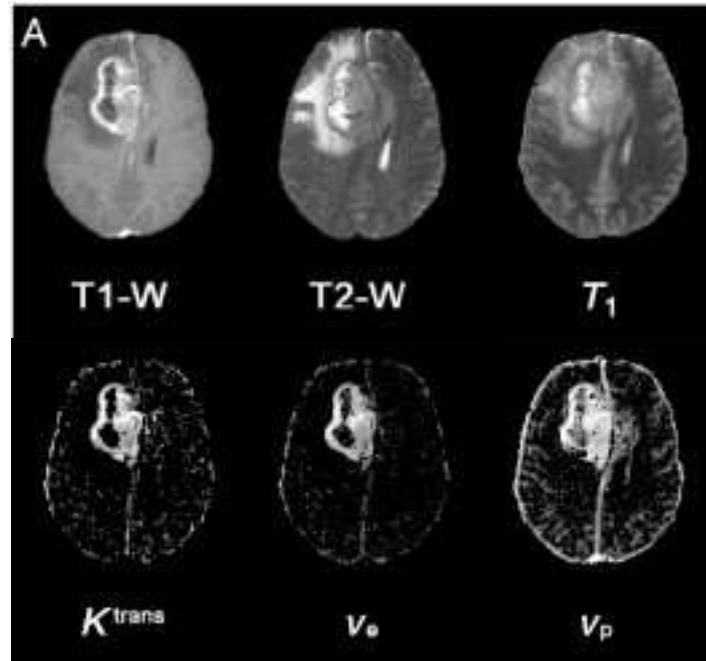


**Figure 1-III-7 :** Images acquises chez un homme porteur d'un glioblastome. **T1-W** : image pondérée  $T_1$  après injection de Gd-DTPA. **T2-W** : image pondérée  $T_2$ . **T1**: carte de  $T_{10}$ .  **$K^{trans}$** ,  **$v_e$**  (ici  $k_{ep} = k_{pe}$  soit  $v_e = K^{trans}/k_{ep}$ ) et  **$v_p$**  représentent les cartes pour chacun de ces paramètres. D'après <sup>6</sup>Armitage, P.A. et al. 2007.

Dans cette partie, nous avons introduit le concept de perméabilité vasculaire et nous avons décrit certaines méthodes qui permettent de la mesurer. La quantification de la perméabilité reste peu utilisée en clinique car l'interprétation des résultats est difficile. Nous avons vu qu'il n'était pas aisé de déterminer les phénomènes physiologiques et biologiques sous-jacents aux observations. De plus, nous sommes conscients que le modèle utilisé pour décrire l'évolution des concentrations d'AC dans les compartiments plasmatique et extravasculaire extracellulaire a des limites, la diffusion de l'AC dans l'espace d'extravasation n'étant pas prise en compte, par exemple.

Dans le chapitre suivant, nous allons voir que l'imagerie rapide spirale permet d'acquérir des images à temps d'écho très court (pour une pondération  $T_1$  et une minimisation des effets  $T_2^*$ ) avec une résolution temporelle élevée. Elle est parfaitement adaptée au protocole expérimental des mesures de perméabilité en IRM. Dans la suite de ce travail, nous avons utilisé l'imagerie rapide spirale pour des mesures de la perméabilité de la BHE au Gd-DOTA, par IRM, sur le rat porteur de tumeur cérébrale.

## IV. Problématique et objectifs de l'étude

Le sujet de cette thèse se situe dans un projet plus général de développement de l'imagerie RMN multiparamétrique dans le cadre de l'étude de la microvascularisation cérébrale saine et pathologique chez le petit animal. Les outils et techniques dont dispose actuellement le laboratoire de Neuroimagerie Fonctionnelle et Métabolique de Grenoble sont nombreux et confèrent à la Plate-forme IRM de Grenoble un statut privilégié pour l'étude de la microvascularisation. L'apport d'une technique de mesure de la perméabilité vasculaire s'inscrit donc parfaitement dans les motivations et les besoins de cet environnement de recherche.

L'objectif de ce travail est double : développement et mise en place. Dans un premier temps, il s'agit de développer les outils nécessaires à la réalisation d'une expérience de DCE-MRI. Comme cela a été introduit précédemment, cette technique de mesure s'appuie sur des acquisitions de séquences d'images RMN dynamiques et pondérées  $T_1$ . De plus, la présence dans le compartiment intravasculaire d'un USPIO va fortement réduire les  $T_2^*$  de nos tissus. Ces différentes exigences nous conduisent au développement d'une séquence d'imagerie rapide à temps d'écho court. Le choix se porte sur l'imagerie spirale. Les aspects du développement d'une telle technique sont multiples (génération de forme de gradients, reconstruction des images, mesure de la trajectoire de l'espace  $k...$ ) et vont contribuer pour moitié au travail réalisé pendant cette thèse. Bien entendu, les applications potentielles de l'imagerie spirale vont bien au-delà de l'imagerie de la perméabilité (<sup>45</sup>Hyacinthe, J.-N. 2004; <sup>99</sup>van de Looij, Y. 2006).

La seconde moitié de ce travail de thèse consiste à mettre en place la mesure de la perméabilité. Les principales étapes sont la mesure de la fonction d'entrée artérielle, la réalisation des algorithmes de traitement et la validation *in vivo*, sur des rats porteurs de tumeurs cérébrales. Dans le cadre d'une imagerie multiparamétrique, les différentes composantes du protocole doivent pouvoir être réalisées successivement et le plus rapidement, si possible. Le protocole auquel la mesure de perméabilité doit s'intégrer comprend une mesure du volume sanguin à l'état d'équilibre, qui utilise un agent de contraste superparamagnétique intravasculaire : le Sinerem<sup>®</sup>. Les expériences de DCE-MRI faisant appel à un AC paramagnétique, il convient de vérifier comment se comporte la mesure si elle fait suite à l'injection d'un USPIO. Ce travail de validation de la mesure en présence d'un

agent de contraste intravasculaire ouvre des perspectives quant à l'utilisation de la présence de ces particules d'oxyde fer dans le sang, en vue de développer un nouveau modèle de mesure de la perméabilité vasculaire.

Parallèlement aux travaux évoqués ci-dessus, deux projets ont été menés. Le premier était un projet soutenu par l'Inca (Institut national du cancer) regroupant des laboratoires lyonnais et grenoblois. Il s'agissait de l'étude d'un modèle de tumeurs cérébrales chimio-induites chez le rat. Le travail consistait à réaliser un suivi longitudinal en IRM afin de caractériser de manière quantitative les différents types de tumeurs rencontrés (volume sanguin, index de taille des vaisseaux, coefficient de diffusion, perméabilité). Le second se situe dans le cadre d'une collaboration avec les laboratoires Guerbet. Nous avons réalisé la caractérisation de quatre agents de contraste sur un modèle de tumeur humaine sur des rats *Nude*. Lors de ces expériences, nous avons utilisé le protocole de mesure de la perméabilité que nous avons développé. Les résultats de ces deux projets ne sont pas présentés dans ce manuscrit.

# Chapitre 2 : Développements méthodologiques : imagerie spirale et calibration de trajectoire

Dans ce chapitre, nous allons exposer les différents développements méthodologiques réalisés dans le cadre de cette thèse. Tout d'abord, nous traiterons des éléments de la mise en place de l'imagerie rapide spirale sur la Plate-forme IRM du Petit Animal de Grenoble. Ce travail nous a conduits à développer une nouvelle technique de calibration de la trajectoire dans l'espace  $k$ , qui fera l'objet de la deuxième partie de ce chapitre.

Tous les programmes (algorithmes et interfaces graphiques) mentionnés dans cette partie ont été réalisés avec le logiciel Matlab 7 (The MathWorks, Inc., Natick, NA).

## I. L'imagerie rapide spirale

### I.1. Introduction

Plusieurs techniques d'imagerie rapide sont présentées dans la littérature et aucune n'émerge comme idéale. Deux approches permettent de faire de l'imagerie rapide : enchaîner rapidement plusieurs impulsions RF avec un angle de basculement réduit, c'est le principe de la séquence FLASH (*Fast Low Angle Shot sequence*, <sup>40</sup>Haase, A. 1990), ou parcourir l'ensemble de l'espace  $k$  après une seule impulsion RF grâce à une trajectoire bien choisie, comme le font les séquences d'imagerie *Echo-Planar* (EPI, <sup>54</sup>Mansfield, P. 1977) et spirale. Il est également possible de combiner ces deux approches, comme dans la séquence GRASE (*Gradient- and Spin-Echo*, <sup>65</sup>Oshio, K. *et al.* 1991).

Notre choix s'est porté sur l'imagerie rapide spirale qui consiste à acquérir l'espace  $k$ , le long d'une trajectoire spirale (<sup>61</sup>Meyer, C.H. *et al.* 1992). Cette technique est largement employée dans les laboratoires pour les expériences d'imagerie cardiaque et d'imagerie

fonctionnelle (<sup>106</sup>Yang, Y. *et al.* 1998). De plus, l'imagerie spirale permet d'échantillonner l'ensemble de l'espace k avec un temps d'acquisition inférieur à l'imagerie FLASH. Elle est moins sensible aux effets de flux que la technique EPI. Enfin, nous pouvons nous appuyer sur de récents travaux réalisés en imagerie spectroscopique rapide au sein du laboratoire utilisant une technique d'acquisition spirale (<sup>42</sup>Hiba, B. *et al.* 2003; <sup>43</sup>Hiba, B. *et al.* 2004).

L'information sur le contraste et la forme des objets, étudiés dans le cadre de notre travail, se situe dans les basses fréquences spatiales soit au centre de l'espace k. Les informations contenues en périphérie de l'espace k sont très peu nombreuses. Le fait que l'échantillonnage spiral ne permettent pas de récupérer les informations situées dans les coins de l'espace k a une incidence extrêmement faible sur la qualité de l'image (Figure 2-I-1a-d). Un des principaux intérêts des trajectoires spirales est de pouvoir échantillonner le centre de l'espace des fréquences au début de l'acquisition et donc de recueillir ces informations lorsque le signal de précession libre est maximum. Grâce à ces acquisitions à temps d'écho court, les effets "off-resonance" (conséquences des inhomogénéités locales de  $B_0$  dues aux déplacements chimiques, aux différences de susceptibilité...) sont diminués, ce qui est indispensable pour la qualité des images obtenues à haut champ. D'autre part, il est possible d'obtenir un contraste exempt de pondération  $T_2^*$ , ce qui présente un intérêt pour les techniques d'imagerie pondérées  $T_1$ .

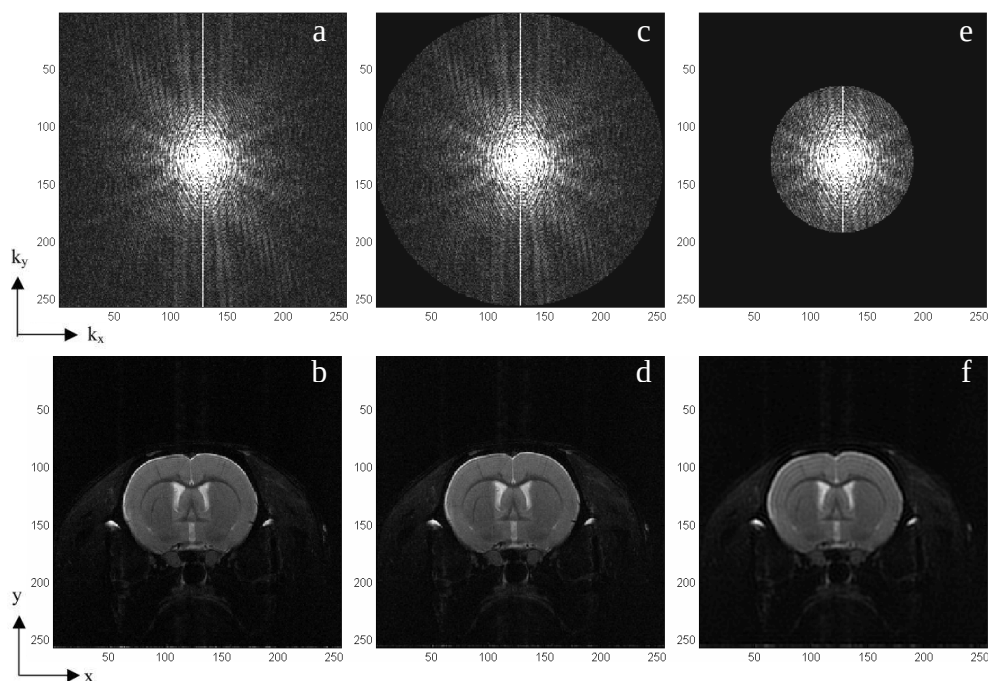


**Figure 2-I-1 :** L'image (b) est la TF des données de l'espace k, correspondant à un cerveau de rat, échantillonnées selon un schéma cartésien 256x256 (a). Lorsque les données situées en dehors d'un cercle de diamètre 256 (c) et 128 (e) sont mises à zéro, on obtient les images (d) et (f).

## I.2. Les spirales à densité variable

Les trajectoires spirales à densité variable (*Variable Density Spiral*, VDS) ont été introduites pour sur-échantillonner le centre de l'espace  $k$  par rapport à sa périphérie (<sup>93</sup>Tsai, C.M. *et al.* 2000). Dans cette technique, la vitesse radiale de la trajectoire spirale est fonction de la densité d'échantillonnage.

### I.2.a. Théorie

Pour calculer les formes de gradients, la solution analytique présentée par Kim *et al.* (<sup>49</sup>Kim, D.H. *et al.* 2003) a été choisie pour sa simplicité et sa flexibilité. Elle permet de prendre en compte les paramètres d'acquisition (champ de vue, taille de la matrice, densité d'échantillonnage...) en temps réel et elle s'adapte aux caractéristiques de l'instrument (amplitude et vitesse de commutation maximales des gradients). Il s'agit d'une extension de la description analytique des trajectoires spirales conventionnelles proposée par Glover (<sup>36</sup>Glover, G.H. 1999).

Une équation générale d'une trajectoire spirale dans l'espace  $k$  s'écrit :

$$k(\tau) = k_{\max} \tau^{\beta} e^{j\theta\tau}, \quad 2-I-1$$

avec :

- $\tau$ , fonction du temps, normalisée par rapport au temps d'acquisition soit  $0 \leq \tau \leq 1$ ,
- $k_{\max}$ , valeur maximale échantillonnée dans l'espace  $k$ , égale à  $N/(2 \times \text{FOV})$ , où  $N$  est la taille de la matrice sur laquelle est reconstruite l'image,
- $\beta$  est le paramètre "densité",
- $\theta$ , coordonnée angulaire de  $k$  défini en coordonnées polaires, est égale à  $2\pi n$ , où  $n$  est le nombre de tours de la spirale.

Notons que si  $\beta = 1$  (densité d'échantillonnage constante), alors  $k(\tau) = k_{\max} \tau e^{j\theta\tau}$ , comme défini par Glover.

Les calculs suivants consistent à déterminer la valeur de  $\tau$  en fonction du temps en respectant certaines conditions sur l'amplitude des gradients  $G(t)$  et leur vitesse de commutation (*slew-rate*)  $S(t)$ . Ces conditions sont imposées par les caractéristiques de l'instrument. Une fois l'expression de  $\tau(t)$  connue, on peut déterminer  $G_x(t)$  et  $G_y(t)$ ,

respectivement égaux aux dérivées des parties réelle et imaginaire de  $k(t)$  ( $k(t) = k_x(t) + jk_y(t)$ , Figure 2-I-2).

**Régime limité par l'amplitude maximale des gradients notée  $G_m$  :**

$$G(t) = \frac{1}{\gamma} \frac{dk}{d\tau} \frac{d\tau}{dt} = \frac{1}{\gamma} k_{\max} \theta \tau^\beta e^{j\theta\tau} \left( \frac{\beta}{\theta\tau} + j \right) \frac{d\tau}{dt},$$

$$G_m = |G(t)| = \frac{1}{\gamma} k_{\max} \theta \tau^\beta \sqrt{\left( \frac{\beta}{\theta\tau} \right)^2 + 1} \frac{d\tau}{dt}.$$
2-I-2

En supposant que  $\beta^2 \ll (\theta\tau)^2$ , on peut résoudre l'équation différentielle en  $\tau$ , en séparant les variables, et trouver la forme analytique notée  $\tau_a$  :

$$\tau_a(t) = \left[ \frac{\gamma G_m}{k_{\max} \theta} (1 + \beta) t \right]^{\frac{1}{1+\beta}}.$$
2-I-3

**Régime limité par la vitesse de commutation maximale des gradients notée  $S_m$  :**

On rappelle que  $S(t)$  correspond à la dérivée de  $G(t)$ , soit la dérivée seconde de  $k(t)$ .

$$S(t) = \frac{1}{\gamma} \left[ \frac{d^2k}{d\tau^2} \left( \frac{d\tau}{dt} \right)^2 + \frac{dk}{d\tau} \frac{d^2\tau}{dt^2} \right],$$

$$S_m = |S(t)| \approx \frac{1}{\gamma} k_{\max} \theta^2 \tau^\beta \left( \frac{d\tau}{dt} \right)^2.$$
2-I-4

$S_m$  est calculée à partir du premier terme de  $S(t)$ . On résout l'équation différentielle en  $\tau$ , en séparant les variables, et on trouve la forme analytique notée  $\tau_s$  :

$$\tau_s(t) = \left[ \sqrt{\frac{\gamma S_m}{k_{\max} \theta^2}} \left( 1 + \frac{\beta}{2} \right) t \right]^{\frac{1}{1+\frac{\beta}{2}}}.$$
2-I-5

Pour chacun des régimes, on calcule le temps pour lequel on atteint la fin de la trajectoire, *i.e.*  $\tau = 1$ , soit  $T_{ea}$  et  $T_{es}$  pour les régimes limités par l'amplitude et la vitesse de commutation, respectivement :

$$T_{ea} = \left[ \frac{\gamma G_m}{k_{\max} \theta} (1 + \beta) \right]^{-1} \quad \text{et} \quad T_{es} = \left[ \sqrt{\frac{\gamma S_m}{k_{\max} \theta^2}} \left( 1 + \frac{\beta}{2} \right) \right]^{-1}.$$
2-I-6

La technique VDS ayant été choisie pour faire de l'imagerie rapide, on cherche à minimiser le temps d'acquisition. Pour cela, on se place d'abord dans le régime limité par la vitesse de commutation puis dans le régime limité par l'amplitude, si le premier régime mène à  $G(t) \geq G_m$ . On évalue le temps  $T_{s2a}$  pour lequel, lors du régime limité par la vitesse de commutation, on atteint  $G(t) = G_m$  (Figure 2-I-2). Le changement de régime aura lieu si  $T_{s2a} < T_{es}$  :

$$T_{s2a} = \left[ \frac{\gamma G_m \left(1 + \frac{\beta}{2}\right)}{k_{\max} \theta \left[ \sqrt{\frac{\gamma S_m}{k_{\max} \theta^2}} \left(1 + \frac{\beta}{2}\right) \right]^{\frac{1+\beta}{2}}} \right]^{\frac{2+\beta}{\beta}} \quad 2-I-7$$

$$\tau(t) = \begin{cases} \tau_s(t) & \text{pour } 0 \leq t \leq \min(T_{es}, T_{s2a}) \\ \tau_a(t) & \text{pour } T_{s2a} \leq t \leq T_{ea} \end{cases} \quad 2-I-8$$

On ajoute, à la fin des formes de gradients, une forme calculée de manière à annuler l'aire accumulée sous les gradients pendant la durée du temps d'acquisition. Cela permet le retour à zéro de la trajectoire spirale et en même temps cela ramène les gradients à une valeur nulle.

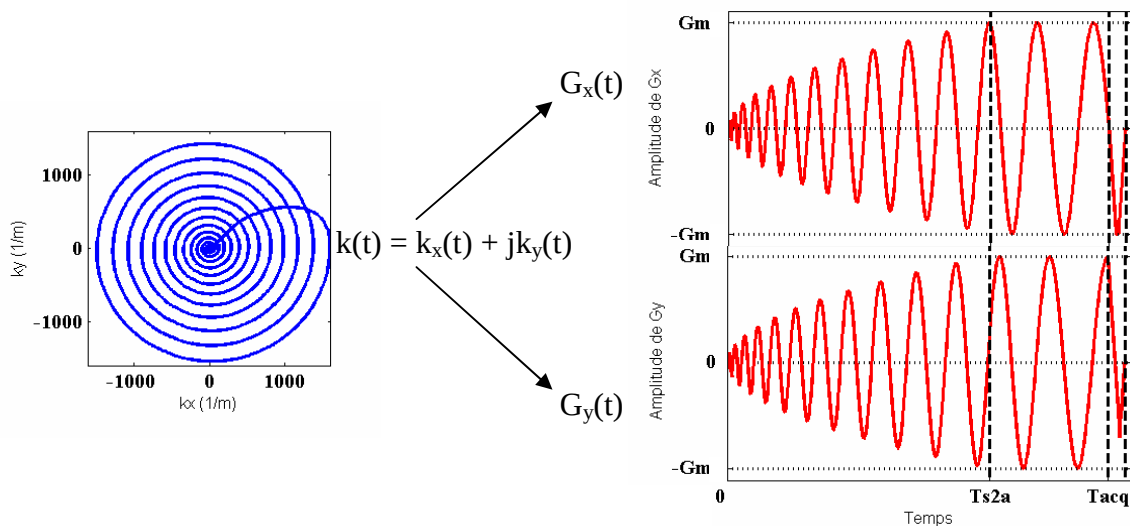


**Figure 2-I-2 :** Représentation des formes de gradients  $G_x(t)$  et  $G_y(t)$ , dérivées des parties réelle et imaginaire de la trajectoire  $k(t)$ . Lorsque le régime limité par la vitesse de commutation des gradients conduit les gradients à la valeur  $G_m$  (au temps  $T_{s2a}$ ), on passe à un régime limité par cette amplitude maximale des gradients, jusqu'à la fin du temps d'acquisition ( $T_{acq}$ ). Les formes d'onde à la fin de l'application des gradients permettent le retour à zéro de la trajectoire dans l'espace  $k$ .

Un dernier paramètre reste à déterminer : le nombre de tours de la spirale,  $n$ . La distance radiale séparant les deux derniers tours doit permettre d'échantillonner les fréquences spatiales en respectant le critère de Nyquist, d'où la relation :

$$k(1) - k\left(\frac{n-1}{n}\right) = \frac{1}{\text{FOV}} \Rightarrow n = \left[ 1 - \left( 1 - \frac{2}{N} \right)^{\frac{1}{\beta}} \right]^{-1} \quad 2-I-9$$

Cependant, afin de gagner en rapidité, on autorise un non respect du critère de Nyquist dans une partie de l'espace d'acquisition. Du fait de la forme des objets étudiés (généralement des formes cylindriques centrées dans l'image et en occupant une grande partie), le signal est extrêmement faible en périphérie de l'espace d'acquisition. Il a été observé, de manière empirique, que l'on pouvait se permettre de sous-échantillonner les bords de l'espace  $k$  (Figure 2-I-1c-f). La formule précédente devient donc :

$$k(1) - k\left(\frac{n-1}{n}\right) = \frac{1}{\text{FOV} * \text{nyquist}} \Rightarrow n = \left[ 1 - \left( 1 - \frac{2}{N * \text{nyquist}} \right)^{\frac{1}{\beta}} \right]^{-1} \quad 2-I-10$$

Si le paramètre nyquist est supérieur ou égal à 1, le critère de Nyquist est respecté. Sinon, l'extérieur de la spirale est sous-échantillonné. Lorsque la densité choisie nous le permet ( $\beta > 1$ ), nous travaillons avec  $\text{nyquist} = 2/3$ .

La méthode proposée ici fait en sorte que le schéma de gradients est optimisé en terme de rapidité de parcours de l'espace  $k$ , sans solliciter l'instrument au-delà de ses capacités. Cependant, elle ne prend absolument pas en compte les caractéristiques du signal et plus particulièrement les effets de relaxation transversale. Si le temps d'acquisition ( $T_{\text{acq}}$ ) est trop long (typiquement supérieur à  $T_2^*$ , cf. §I.3), le niveau de signal devient trop faible pour un RSB acceptable, en fin de fenêtre d'acquisition (*i.e.* en périphérie de l'espace  $k$ ) et une fonction de répartition spatiale correcte. Pour remédier à cela, nous réalisons des entrelacements. Une forme spirale moins "longue" est répétée avec un déphasage à l'origine afin que l'entrelacement de ces différentes spirales échantillonne l'espace  $k$  avec la même résolution que la spirale d'origine (Figure 2-I-3). Par contre, l'espace  $k$  n'est plus échantillonné en une seule fois et le temps total d'acquisition pour une image est égal au produit du nombre d'entrelacements et  $TR$ .

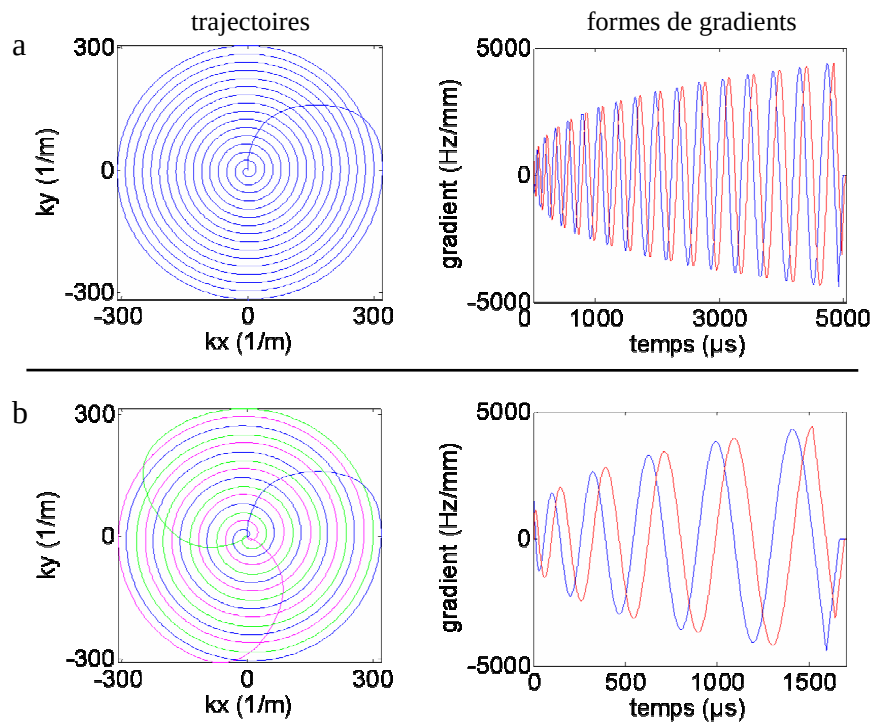


**Figure 2-I-3 :** (a) Exemple d'une trajectoire spirale dans l'espace  $k$  à densité uniforme et des deux formes de gradients correspondantes (courbes rouge et bleue sur la figure de droite). (b) Schéma d'échantillonnage de l'espace  $k$  équivalent à (a) mais réalisé avec trois spirales entrelacées. Les formes de gradients correspondant à un entrelacement (b) durent moins longtemps qu'en (a).

### I.2.b. Implémentation et interfaçage

Les algorithmes permettant la génération des formes de gradients pseudo sinusoïdales ont été implémentés. Afin de faciliter l'utilisation par le plus grand nombre, une interface graphique a été développée (Figure 2-I-4). Le calcul des formes de gradients est réalisé à partir de paramètres standard d'imagerie, renseignés par l'utilisateur. Ces paramètres sont :

- le champ de vue (FOV),
- la taille de la matrice, d'où la résolution spatiale (Matrix Size),
- la fréquence d'échantillonnage (Sample Period),
- le nombre de points en début de l'acquisition à éliminer (Nb of Discards),
- le délai entre deux valeurs différentes du gradient (Clock).

Le fait que l'on travaille avec une séquence de type spiral apparaît dans les paramètres suivants :

- la densité d'échantillonnage (Density), paramètre  $\beta$  dans l'équation de la trajectoire  $k(\tau)$  (Equation 2-I-1),
- le nombre d'entrelacements (Nb of Interleaves),

- le temps de montée des gradients (Slewrate).

L'interface comporte également des éléments informatifs. Pour chaque jeu de paramètres, une période d'échantillonnage maximale est déterminée. Au-delà de cette période, le critère de Nyquist n'est plus respecté entre deux points consécutifs le long de la trajectoire spirale. L'amplitude maximale du système de gradients utilisé, le nombre de points qui seront acquis et la durée de la fenêtre d'acquisition correspondante sont également indiqués.

L'utilisateur peut aussi choisir d'acquérir ou non les points constituant le retour à zéro des gradients.

Les paramètres renseignés et les formes de gradients générées sont enregistrés dans les fichiers dont les noms sont rentrés par l'utilisateur et dont le format est utilisable par le logiciel SMIS qui commande les consoles des spectromètres.

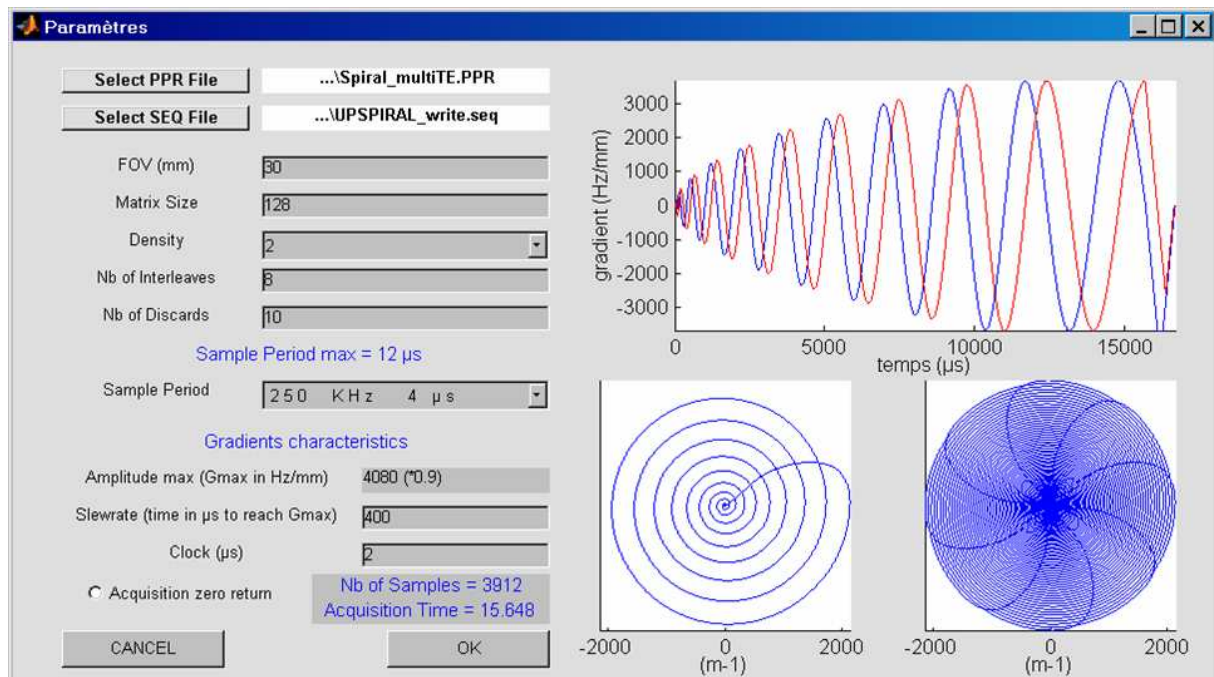


**Figure 2-I-4 :** Interface permettant le choix des paramètres d'acquisition d'une image.

## I.3. Optimisation des paramètres d'acquisition

### I.3.a. Problématique

Dès les premières images réalisées avec un échantillonnage spirale de l'espace  $k$ , nous nous sommes aperçu que le réglage des paramètres d'acquisition n'était pas intuitif et que les artefacts observés ne ressemblaient pas à ce que l'on trouve en imagerie cartésienne

conventionnelle. Quel est l'effet de la largeur de la bande passante sur le RSB ? S'agit-il d'artéfacts de repliement ? Pour répondre à ce type de questions, nous avons réalisé des simulations numériques.

La méthodologie et les résultats des simulations numériques décrits dans cette partie ont fait l'objet d'un poster présenté aux congrès ISMRM et ESMRMB en 2005 (<sup>11</sup>Beaumont, M. *et al.* 2005; <sup>12</sup>Beaumont, M. *et al.* 2005).

### I.3.b. Matériel et méthodes

Pour déterminer l'origine des artéfacts observés sur nos images et pour optimiser les conditions d'acquisition, nous avons procédé à une série de simulations numériques basée sur le modèle fréquentiel du fantôme de Shepp-Logan (Figure 2-I-5a). Ce fantôme est principalement utilisé pour les simulations de TDM. C'est une représentation du cerveau humain faisant apparaître les ventricules, le crâne, les substances blanche et grise, les niveaux de gris correspondent aux coefficients d'absorption des différents composants. Son emploi est également adapté à l'IRM, grâce à une version fréquentielle pouvant être échantillonnée selon n'importe quelle trajectoire de l'espace k (<sup>67</sup>Ouwekerk, R. 2002). Pour se rapprocher au maximum des conditions d'acquisition de nos données, la relaxation transversale (effet  $T_2^*$ ) et le bruit thermique sont ajoutés aux données fréquentielles correspondant au fantôme de Shepp-Logan (Figure 2-I-5b).

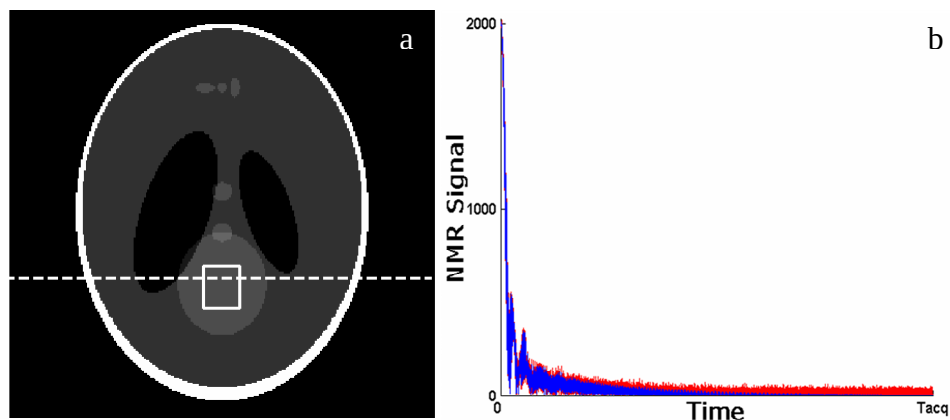


**Figure 2-I-5 :** (a) Fantôme de Shepp-Logan, le rectangle et le pointillé blancs définissent la ROI et la ligne de profil utilisées pour l'analyse des résultats. (b) Représentation du signal RMN, échantillonné le long d'une trajectoire spirale, produit par l'algorithme auquel est rajouté la relaxation transversale (courbe bleue) et le bruit thermique (courbe rouge).

L'échantillonnage VDS présente une densité d'échantillonnage variant radialement et tangentiellement. Nous avons effectué les simulations décrites ci-dessus sur des échantillonnages cartésiens et circulaires afin de juger des effets de la non uniformité de l'échantillonnage dans les directions radiale et tangentielle respectivement. Le pas d'échantillonnage  $\delta k$  respecte le critère de Nyquist s'il est inférieur ou égal à  $\text{FOV}^{-1}$ . Les 9 échantillonnages de l'espace  $k$  étudiés sont les suivants :

- Trois échantillonnages cartésien ou pseudo cartésiens : un sous-échantillonné dans la direction horizontale ( $\delta k_x = 3/2 \times \text{FOV}^{-1}$ ), un avec  $\delta k_x = \text{FOV}^{-1}$ , et un avec une densité d'échantillonnage variable selon cette même direction ( $1/2 \times \text{FOV}^{-1} \leq \delta k_x \leq 3/2 \times \text{FOV}^{-1}$ ) (Figure 2-I-6a-c). Le pas d'échantillonnage dans la direction verticale est  $\delta k_y = \text{FOV}^{-1}$ .
- Trois échantillonnages circulaires : les pas d'échantillonnage angulaires ont été choisis tels que le pas d'échantillonnage tangentiel le long du cercle extérieur  $\delta k_{\text{tang}} = 2 \times \text{FOV}^{-1}$ ,  $\delta k_{\text{tang}} = \text{FOV}^{-1}$ , et  $\delta k_{\text{tang}} = 1/4 \times \text{FOV}^{-1}$ , respectivement (Figure 2-I-6d-f). Le pas d'échantillonnage radial est  $\delta k_r = \text{FOV}^{-1}$ .
- Trois échantillonnages spiraux : le pas d'échantillonnage radial est choisi constant ( $\beta = 1$  et  $\delta k_r = \text{FOV}^{-1}$ , Figure 2-I-6g) et variable ( $\beta = 2$ ). Pour la densité 2, le nombre de tours est choisi tel que le pas d'échantillonnage radial entre les deux derniers tours soit  $\delta k_r = 3/2 \times \text{FOV}^{-1}$  et  $\delta k_r = \text{FOV}^{-1}$  (Figure 2-I-6h et i, respectivement).

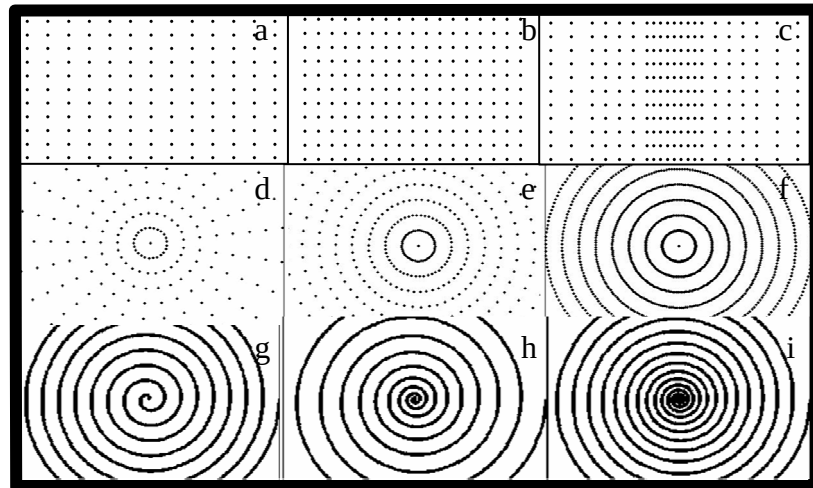


**Figure 2-I-6** : Représentation des 9 types d'échantillonnage de l'espace  $k$  utilisés pour les simulations.

Pour compléter ces simulations, nous avons déterminé les fonctions de répartition spatiale (*Point Spread Function*, PSF) des échantillonnages étudiés en associant à chaque point de l'espace  $k$  une même valeur d'intensité.

Toutes les images ont été reconstruites avec un algorithme de *gridding* utilisant le noyau de convolution Kaiser-Bessel (cf. §I.4.a), sur une matrice 128x128. D'après d'autres simulations (résultats non montrés ici), nous avons choisi une largeur de noyau de convolution de 3 pixels et un facteur de sur-échantillonnage de la grille cartésienne de 2.

La valeur de RSB, utilisée pour caractériser les images obtenues, est le rapport entre la moyenne des valeurs de la ROI définie sur la Figure 2-I-5a et l'écart type de ces mêmes valeurs (l'intensité homogène dans la ROI nous permet de procéder ainsi). La mesure est réalisée de cette manière afin de ne pas être gêné par les artefacts qui apparaissent sur certaines images, en périphérie du fantôme. Afin de faire apparaître ces artefacts, les niveaux de gris n'ont pas été normalisés entre les images. Le RSB peut également être évalué sur les profils et plus spécifiquement sur la zone centrale qui ne contient pas d'artefact majeur. Les PSF sont caractérisées par leur largeur à mi-hauteur (LMH), exprimée en nombre de pixels.

### I.3.c. Résultats

La Figure 2-I-7 montre les images du fantôme de Shepp-Logan obtenues avec chaque type d'échantillonnage (Figure 2-I-6) en absence de relaxation transversale et de bruit thermique.

Les images (g-i) et (m) présentent des artefacts sur les bords du champ de vue circulaire. Ces artefacts n'apparaissent pas sur les figures (n-o), pour lesquelles on a utilisé un échantillonnage spiral à densité variable. La figure (a) présente un artefact de repliement dans la direction sous-échantillonnée. Dans les cas où le critère de Nyquist n'est pas respecté mais que la densité d'échantillonnage est variable, les artefacts sont fortement réduits mais ne disparaissent pas totalement (images (c) et (n)). Les images (b) et (o) ne montrent pas d'artefact de type repliement ou lié au schéma d'échantillonnage.

Cependant un bruit de calcul, bien visible sur le plateau central des profils, apparaît sur toutes les images alors qu'il est absent lorsque l'on reconstruit un échantillonnage cartésien avec une simple TF (pas de *gridding*, résultats non montrés).

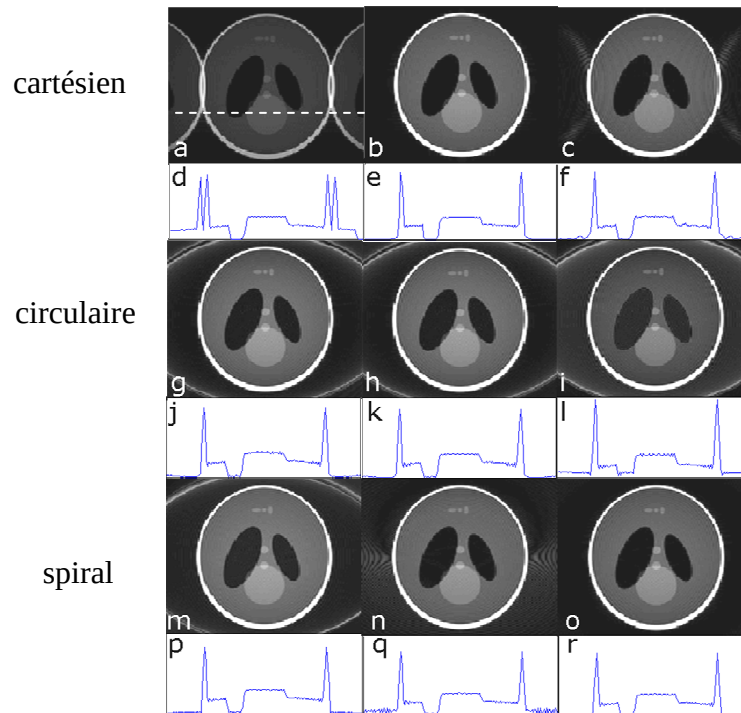


**Figure 2-I-7 :** Images du fantôme de Shepp-Logan (**a-c**, **g-i** et **m-o**), obtenues avec les 9 types d'échantillonnage (Figure 2-I-6a-i respectivement) et sans relaxation transversale ( $T_2^* = \infty$ ) et en absence de bruit thermique. Sous chaque image, les graphes **d-f**, **j-l** et **p-r** montrent les profils correspondants, pris le long de la ligne pointillée de l'image (**a**).

Maintenant que nous avons vu les effets du schéma d'échantillonnage sur l'image, nous allons étudier l'impact de la relaxation transversale, sur le RSB et la PSF.

Quel que soit le schéma d'échantillonnage, le RSB augmente avec le temps d'acquisition tant que le rapport  $T_{\text{acq}}/T_2^*$  reste inférieur à 1, après quoi le RSB décroît (Figure 2-I-8). Cela semble être dû à l'apparition d'un bruit de calcul, basse fréquence. A noter que, comme nous avons utilisé différentes fonctions de compensation de densité d'échantillonnage (cf. §I.4.a), la valeur absolue du RSB ne peut pas être comparée entre les différents types d'échantillonnage.

La Figure 2-I-9 montre les valeurs des LMH mesurées sur les PSF, en fonction du temps d'acquisition. Les PSF obtenues avec les échantillonnages cartésiens sont meilleures que celles obtenues avec les autres types d'échantillonnage (circulaire et spiral) pour les temps d'acquisition inférieurs à  $2T_2^*$ . Les trajectoires circulaires et spirales, qui sont très proches, conduisent à des PSF très similaires. Le respect du critère de Nyquist ne semble pas avoir d'influence sur la valeur de la LMH de la PSF (résultats non illustrés). Pour les temps d'acquisition longs, les trajectoires circulaires et spirales donnent de meilleures PSF que les trajectoires cartésiennes.

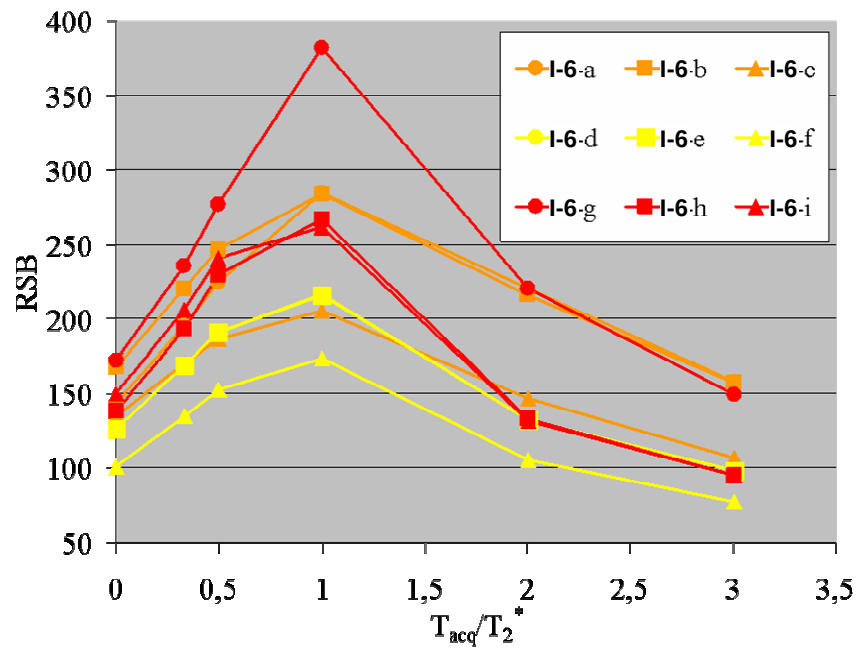


**Figure 2-I-8 :** Evolution du rapport signal sur bruit dans la ROI, en fonction de pour les 9 types d'échantillonnage. La valeur  $T_{acq}/T_2^* = 0$  correspond à une valeur de  $T_2^*$  infinie. Les noms de la légende correspondent aux indices des types d'échantillonnage de la Figure 2-I-6.

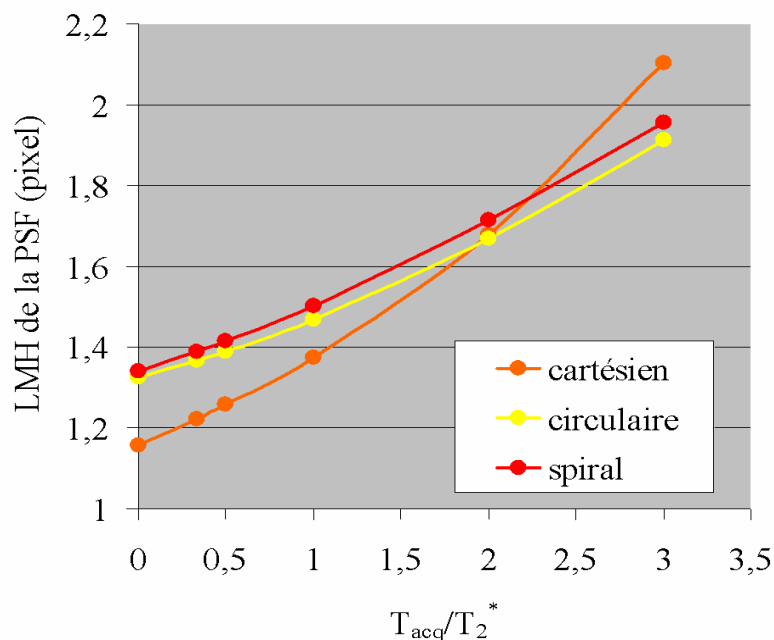


**Figure 2-I-9 :** Evolution de la largeur à mi-hauteur (LMH) de la PSF en fonction  $T_{acq}/T_2^*$  pour différents types d'échantillonnage. La valeur  $T_{acq}/T_2^* = 0$  correspond à une valeur de  $T_2^*$  infinie.

Nous allons maintenant évaluer l'influence du bruit thermique, en plus des effets de relaxation transversale sur le RSB.

La Figure 2-I-10 montre des images du fantôme de Shepp-Logan obtenues à partir des signaux échantillonnés le long d'une trajectoire spirale uniquement, avec relaxation transversale (a-c et g-i) et bruit thermique (g-i). Le temps d'acquisition varie de  $T_2^*/3$  à  $3T_2^*$ . Plus le temps d'acquisition augmente, plus les images sont floues, et l'artéfact haute fréquence, montré dans la Figure 2-I-7, disparaît (d-f). Le bruit thermique diminue lorsque la bande passante diminue, donc lorsque le temps d'acquisition augmente. Par conséquent le RSB augmente avec le temps d'acquisition (j-l).

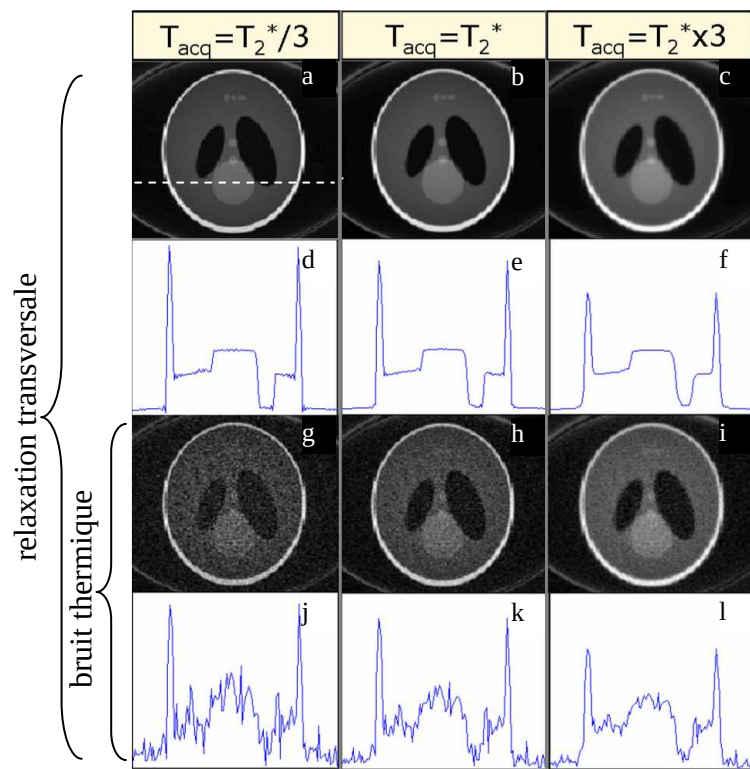


**Figure 2-I-10 :** Images du fantôme de Shepp-Logan obtenues avec un échantillonnage spiral (densité = 1), en prenant en compte la relaxation transversale. Le bruit thermique a été ajouté pour obtenir les images (g-i). Sous chaque image, les graphes (d-f) et (j-l) montrent les profils correspondants, pris le long de la ligne pointillée de la figure (a).

Contrairement à ce que l'on a pu voir sur la Figure 2-I-8, le RSB, en présence de bruit thermique, augmente strictement avec le temps d'acquisition, pour tous les types d'échantillonnage. Pour les échantillonnages cartésien et spiral, le RSB décroît entre les schémas d'échantillonnage à densité uniforme et variable, indépendamment du temps d'acquisition. Dans le cas circulaire, le RSB augmente quand la densité d'échantillonnage tangentielle est plus grande. Pour l'échantillonnage spiral à densité 2, le facteur NSF n'a pas d'influence sur la valeur du RSB.

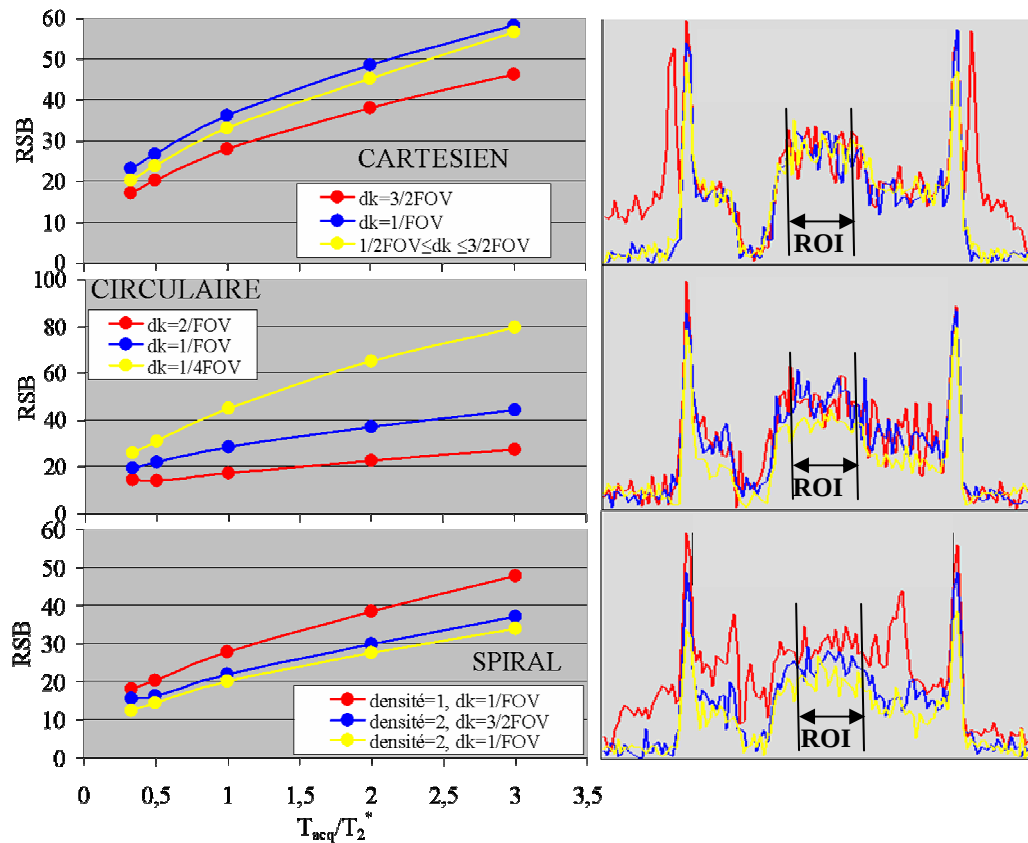


**Figure 2-I-11 :** Evolution du rapport signal sur bruit, dans la ROI, en fonction de  $T_{acq}/T_2^*$ , avec l'influence du bruit thermique. Les profils correspondants (pour  $T_{acq}/T_2^* = 2$ ) sont représentés sur la droite. Pour chaque type d'échantillonnage, l'amplitude nominale du bruit est différente.

### I.3.d. Conclusion

Comme montré dans la Figure 2-I-7, le *gridding* avec le noyau de convolution Kaiser-Bessel introduit un bruit de calcul. Ce bruit de calcul peut être atténué avec un temps d'acquisition optimal (égal à  $T_2^*$ ), mais l'augmentation du temps d'acquisition conduit à l'apparition d'un bruit basse fréquence (Figure 2-I-8).

La densité d'échantillonnage a peu d'influence sur la PSF, mais les échantillonnages spiral et circulaire donnent de meilleures PSF pour les temps d'acquisition longs que l'échantillonnage cartésien (Figure 2-I-9).

Quand le bruit thermique est pris en compte, le RSB augmente avec le temps d'acquisition, pour tous les types d'échantillonnage (Figure 2-I-11). Dans les cas spiral et cartésien, on voit que la densité variable réduit le RSB. Cet effet est plus prononcé avec les spirales, peut être parce que les spirales présentent une densité d'échantillonnage radial variable dans toutes les directions et pas seulement selon  $k_x$  comme dans le cas cartésien. Le

sur-échantillonnage dans la direction tangentielle, comme on le voit dans le cas circulaire, semble être très bénéfique pour le RSB (Figure 2-I-11).

Toutes ces simulations montrent qu'il est très difficile de déterminer les effets de la densité variable dans les directions radiale et tangentielle dans le cas des spirales. Cependant nos résultats montrent que la densité variable dans la direction radiale est préjudiciable pour le RSB et apporte peu en terme de PSF. Mais la densité variable permet de générer des images sans artefact de repliement, et augmenter la densité tangentielle d'échantillonnage améliore le RSB, ce qui pourrait compenser les pertes dues à la densité variable. Une autre manière d'augmenter le RSB est d'augmenter le temps d'acquisition mais cela n'est pas favorable en présence d'inhomogénéités de champ magnétique.

## **I.4. Les techniques de reconstruction**

Du fait de la distribution non uniforme des points acquis dans l'espace  $k$  avec la technique spirale, on ne peut pas utiliser directement la transformée de Fourier rapide, habituellement utilisée pour la reconstruction des images en RMN. Il est nécessaire de redistribuer les points acquis sur une grille cartésienne. Cette étape est communément appelée *gridding*. Après *gridding*, l'image est obtenue par TF rapide.

Plusieurs techniques de *gridding* sont présentées dans la littérature. Les principes du *gridding* utilisant un noyau de convolution, très largement utilisé, seront introduits dans cette partie. De nombreuses autres techniques ont également été développées mais leurs utilisations demeurent isolées (<sup>80</sup>Rosenfeld, D. 1998; <sup>82</sup>Sarty, G.E. *et al.* 2001; <sup>34</sup>Gabr, R.E. *et al.* 2006). "Iterative Next-Neighbor Regridding" (INNG), qui est une de ces techniques émergentes, sera également présentée.

### **I.4.a. Le *gridding* avec noyau de convolution**

Cet algorithme de redistribution des données est traditionnellement associé à l'imagerie spirale puisqu'il fut employé par Craig H. Meyer *et al.* en 1992 (<sup>61</sup>Meyer, C.H. *et al.* 1992) pour reconstruire les données qui constituent aujourd'hui la référence pour les techniques d'acquisition spirale.

Les différentes étapes de ce traitement sont parfaitement illustrées par la Figure 2-I-12.

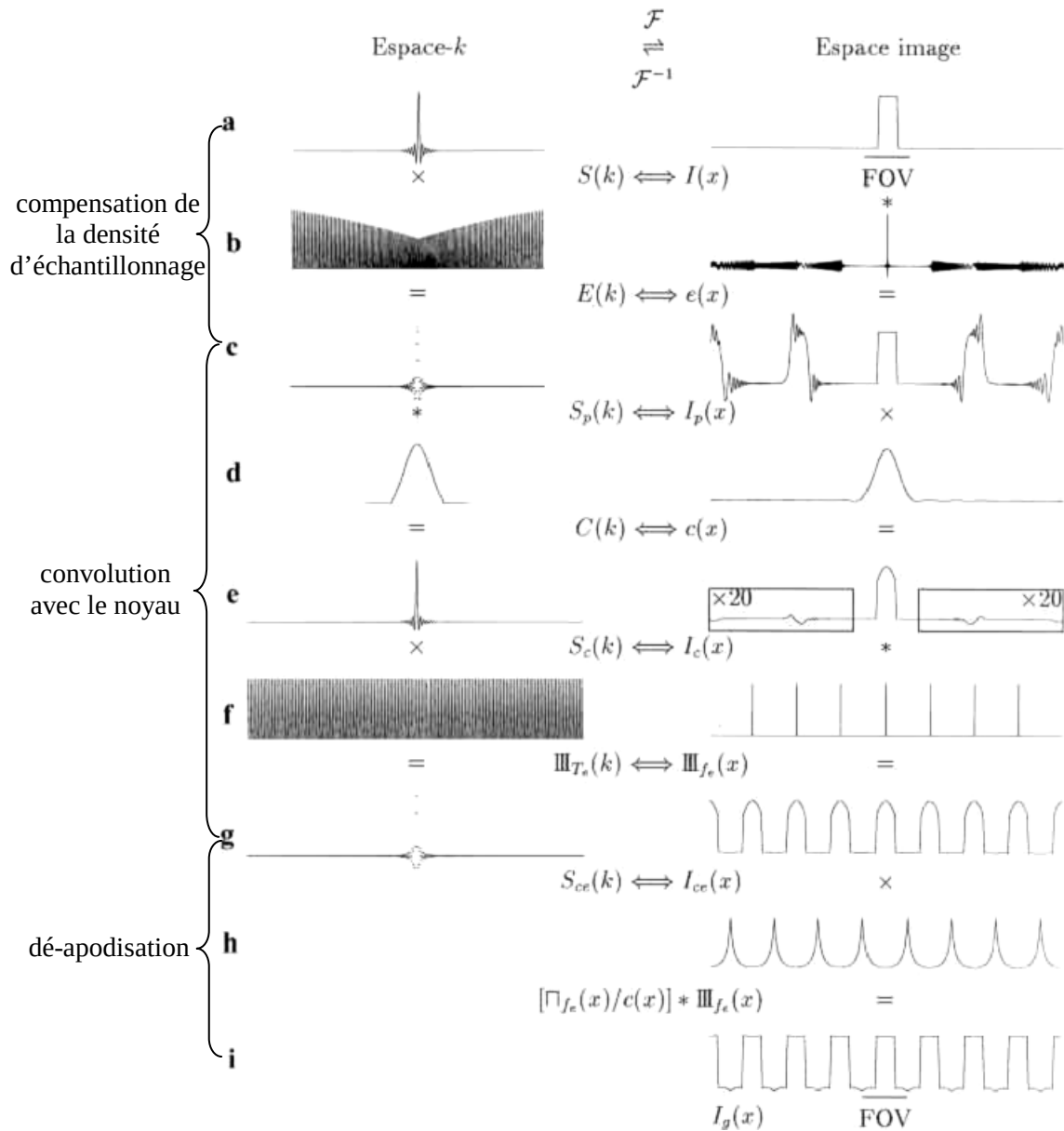


**Figure 2-I-12** : Illustration des étapes de l'algorithme de *gridding* avec noyau de convolution pour un signal à une dimension échantillonné irrégulièrement. Les étapes sont illustrées parallèlement dans l'espace  $k$  et dans l'espace image. D'après <sup>16</sup>Bourgeois, M. 1999.

Nous les regroupons en trois parties distinctes :

### Compenser la densité d'échantillonnage non uniforme (Figure 2-I-12a-c):

Les données sont multipliées par une fonction qui compense la densité d'échantillonnage non uniforme. Cette fonction de compensation de densité peut être réalisée de manière analytique, si l'équation de la trajectoire est connue (<sup>61</sup>Meyer, C.H. *et al.* 1992), ou de manière géométrique, en utilisant le diagramme de Voronoi (<sup>77</sup>Rasche, V. *et al.* 1999).

### Convolution avec un noyau (Figure 2-I-12c-g) :

La convolution avec un noyau (Jackson, Kaiser-Bessel, triangulaire, gaussien...) est réalisée en chaque point de la grille cartésienne (<sup>47</sup>Jackson, J.I. *et al.* 1991; <sup>85</sup>Schomberg, H. *et al.* 1995). Le noyau le plus utilisé est Kaiser-Bessel. La largeur du noyau de convolution et le facteur multiplicatif de la grille sur laquelle seront distribuées les données sont les deux paramètres modulables de la reconstruction. D'après Tsai *et al.* (<sup>93</sup>Tsai, C.M. *et al.* 2000), il faut que la densité des points cartésiens soit au moins égale à la plus grande densité d'échantillonnage de la spirale. D'autre part, il faut que la largeur du noyau couvre les plus grands espaces non échantillonnés. Le respect simultané de ces deux conditions est très coûteux en temps d'exécution, notamment pour les VDS où la densité est très importante au centre.

### Dé-apodisation (Figure 2-I-12g-i) :

La convolution dans l'espace  $k$  génère une modulation de l'intensité dans l'espace image. Elle peut être éliminée grâce à une multiplication de l'espace image par l'inverse de la TF du noyau de convolution.

## I.4.b. La méthode itérative (INNG)

Cette méthode consiste à redistribuer les données acquises sur une grille cartésienne plus grande, et à filtrer les artefacts qui apparaissent sur l'image correspondante. Elle n'utilise aucune pondération des valeurs (fonction de compensation de densité, convolution...).

- Les points acquis selon la trajectoire non cartésienne sont redistribués sur une grille cartésienne de dimensions  $sN \times sN$ , où  $N$  est la taille de la grille définie lors de l'acquisition et  $s$  est le facteur de sur-échantillonnage de la grille.
- Après TF inverse, on obtient une image de taille  $sN \times sN$ . La région centrale de l'image ( $N \times N$ ) est conservée tandis que tous les autres éléments sont mis à zéro.
- On applique alors une TF directe afin de récupérer les données fréquentielles de cette image modifiée. De cette TF, on ne conservera que les données apparues à des coordonnées de l'espace  $k$  où il y avait initialement une valeur nulle. Les données fréquentielles originales sont conservées aux mêmes emplacements.

Ce cycle est répété jusqu'à ce que la différence entre deux images consécutives devienne inférieure à une valeur préalablement fixée (Figure 2-I-13).

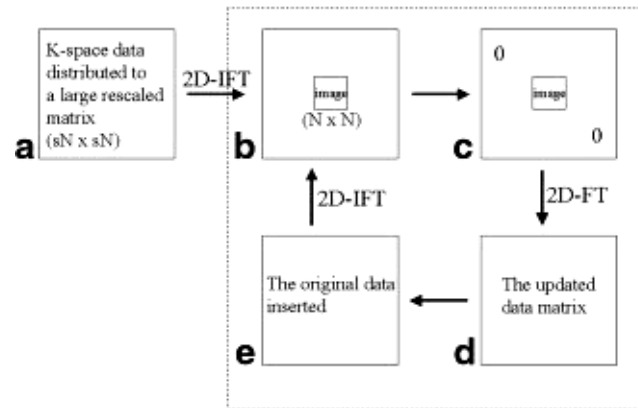


**Figure 2-I-13** : Schéma d'un cycle de l'algorithme INNG, <sup>62</sup>Moriguchi, H. *et al.* 2004.

D'après Moriguchi *et al.* (<sup>62</sup>Moriguchi, H. *et al.* 2004), plus le facteur d'échelle  $s$  est grand, meilleure est la qualité image. Cela implique un grand nombre de boucles (une trentaine). Afin d'augmenter la rapidité de la reconstruction, Moriguchi *et al.* proposent un algorithme "facilité" dans lequel le facteur d'échelle augmente progressivement.

#### I.4.c. Le *gridding* linéaire

Cette technique consiste en une interpolation linéaire des points de coordonnées spirales sur les emplacements cartésiens. La recherche des plus proches voisins se fait grâce à la technique de triangulation de Delaunay (<sup>102</sup>Watson, D.F. 1992), dual du diagramme de Voronoï. Par définition, le cercle circonscrit à un triangle de Delaunay ne contient aucun autre point que les sommets du triangle.

Lors de ce *gridding*, seuls les points cartésiens contenus dans un triangle de Delaunay seront considérés (les autres se verront assigner la valeur 0). La valeur associée à un point cartésien est la somme pondérée des données associées aux points de la trajectoire spirale constituant les sommets du triangle auquel il appartient (Figure 2-I-14). La pondération est inversement proportionnelle à la distance séparant le point de la trajectoire spirale (sommet du triangle) du point cartésien dont on cherche la valeur.

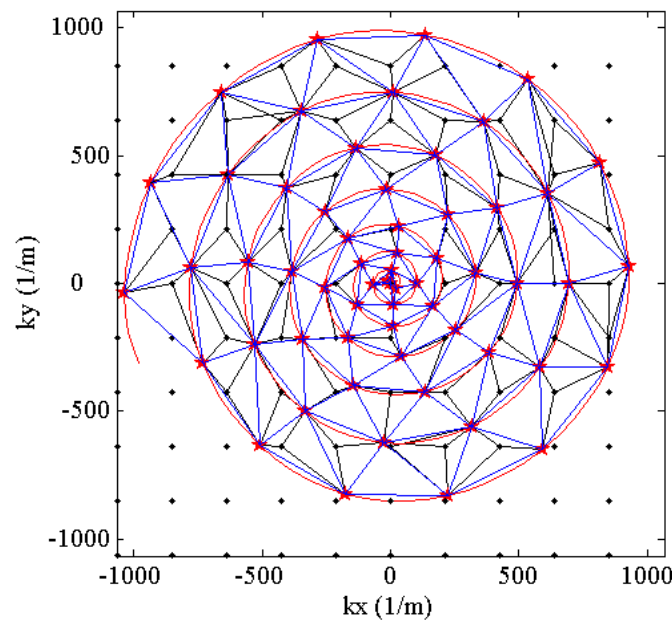


**Figure 2-I-14 :** Schéma du *gridding* linéaire. Chaque point cartésien (noir) présent à l'intérieur d'un triangle de Delaunay (traits bleus) aura pour valeur la somme, pondérée par l'inverse de la distance (traits noirs), des valeurs des sommets du triangle (étoiles rouges), qui correspondent à des points échantillonnés sur une trajectoire spirale (trait rouge).

#### I.4.d. Le choix d'une technique de reconstruction

Les différents programmes de reconstruction que nous avons testés (hormis le *gridding* linéaire) ont été construits à partir d'éléments obtenus sur internet ou par contact (<sup>48</sup>Khan, H. 2004; <sup>101</sup>Wang, W.-T. 2004). Certaines améliorations ont été apportées, comme le *zero-filling* ou un diagramme de Voronoi gérant les points situés en périphérie de la forme d'échantillonnage. Afin d'optimiser l'utilisation de ces différents programmes, nous avons développé une interface graphique (Figure 2-I-15).

Notre objectif étant de faire de l'imagerie quantitative (mesure de la perméabilité, du coefficient de diffusion, ...), notre principal critère de choix a été le respect de la distribution des intensités et le RSB sur les images RMN. Ces critères ont été évalués par des simulations numériques (fantôme de Shepp-Logan, Figure 2-I-16a) et par des expérimentations. A partir d'un jeu de données échantillonnées avec une trajectoire spirale (trajectoire réelle, mesurée à 2,35 T, cf. §II), nous testons nos différentes techniques de reconstruction. L'image RMN présentée sur la Figure 2-I-16c-e a été acquise à 2,35 T sur un fantôme d'eau présentant des éléments de détails, et est également reconstruite à partir de la trajectoire mesurée.

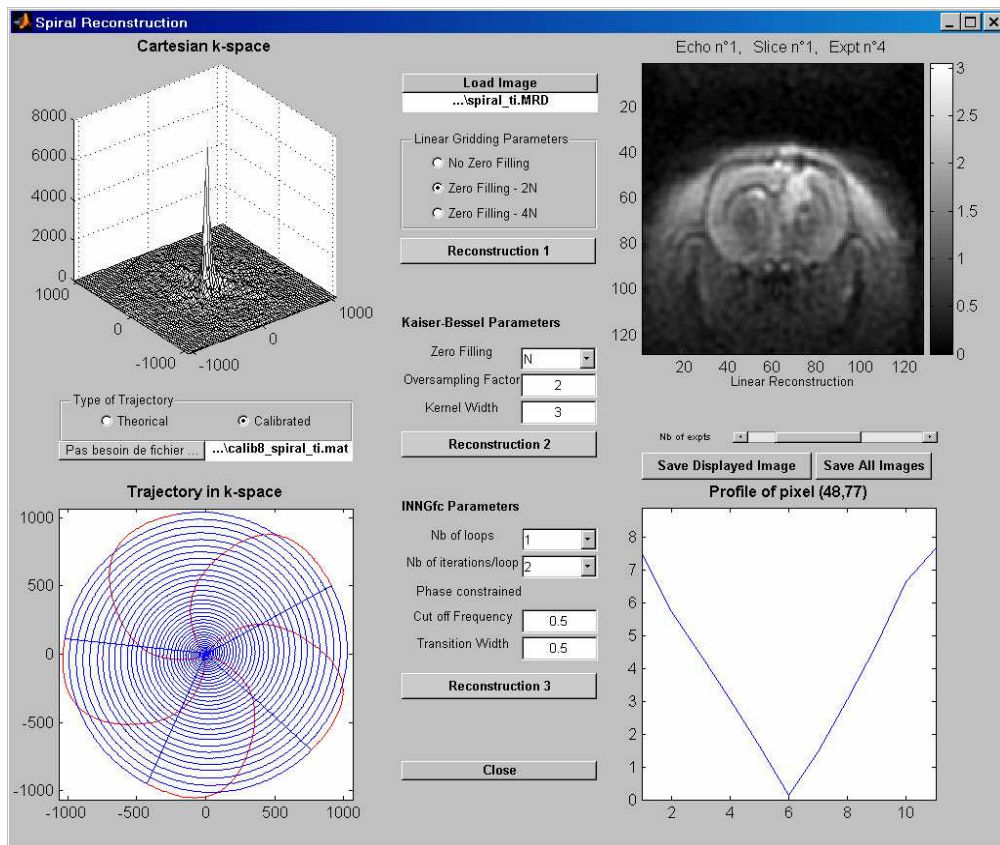


**Figure 2-I-15 :** Interface graphique permettant le choix de la technique de reconstruction, l'ajustement des différents paramètres de *gridding*, le choix de la trajectoire dans l'espace k, et gérant les différents affichages des données (espace fréquentiel et espace image)

La Figure 2-I-16b montre les profils tracés (le long du pointillé blanc sur la représentation du fantôme de la Figure 2-I-16, différent de celui utilisé en I.3) à partir des trois images correspondant aux trois méthodes de *gridding* présentées précédemment. Le profil de référence est également représenté. L'inspection visuelle de ces profils montre que seules les techniques de *gridding* linéaire et INNG respectent le profil d'intensité. La technique avec noyau de convolution Kaiser-Bessel fournit un profil non linéaire : il y a un effondrement de l'intensité sur les bords de l'objet, également visible sur les images RMN (Figure 2-I-16d). Les profils indiquent aussi que la technique présentant la PSF la plus étroite est la technique INNG. Enfin, les mesures de RSB réalisées sur les images de la Figure 2-I-16c-e, donnent des valeurs identiques pour les *griddings* linéaire et avec noyau de convolution (RSB = 21), ces valeurs sont supérieures à celle obtenue sur l'image reconstruite avec INNG (RSB = 18).

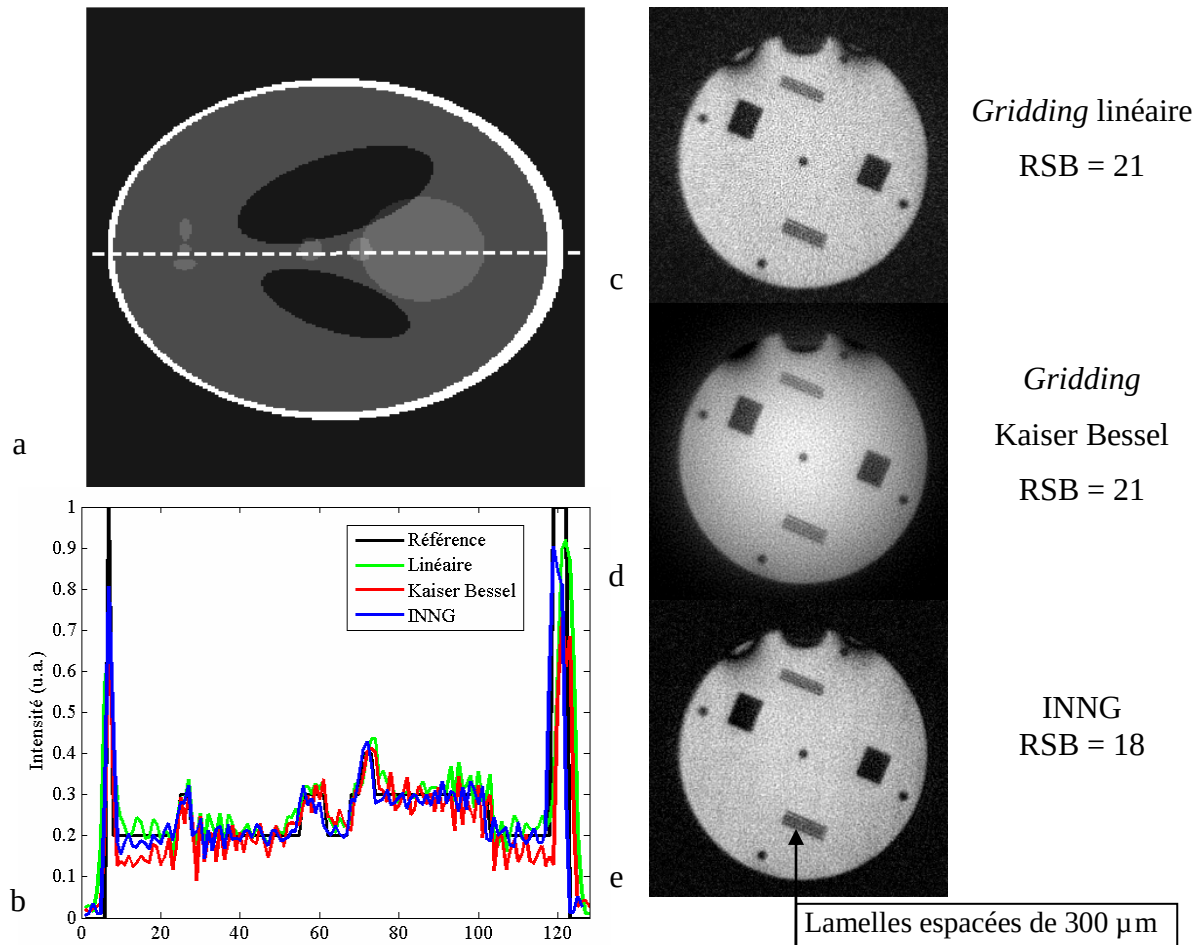


**Figure 2-I-16 :** (a) Fantôme de Shepp-Logan, le pointillé blanc définit la ligne sur laquelle est mesuré le profil d'intensité. (b) Intensité du profil le long du pointillé blanc pour l'image de référence (noir) et les images reconstruites avec les *griddings* linéaire (vert) et avec noyau de convolution (rouge) et INNG (bleu). (c-e) Image RMN, acquise à 2,35 T avec une résolution de  $273 \times 273 \times 1000 \mu\text{m}^3$  et avec 16 spirales entrelacées couvrant une matrice cartésienne  $256 \times 256$ , reconstruite avec les trois techniques précédemment mentionnées.

Ces résultats, en termes de linéarité d'intensités et de RSB, montrent que, parmi les algorithmes dont nous disposons, le plus adapté à notre travail est l'algorithme de *gridding* linéaire. Une mauvaise gestion de l'étape de d apodisation dans notre algorithme de *gridding* avec noyau de convolution explique certainement le fait que nous n'obtenions pas les résultats escomptés. Notons aussi que les calculs réalisés lors de ces opérations sont très coûteux en temps. L'algorithme de *gridding* linéaire présente ici un dernier avantage : il est respectivement 9 fois et 4 fois plus rapide que les algorithmes des techniques Kaiser-Bessel et INNG telles qu'elles sont implémentées (pas de compilation). Ce point est important car il est nécessaire de pouvoir reconstruire les images à la console, pour le bon déroulement de l'expérience.

## I.5. Spectromètres et séquences d'acquisition

La technique d'imagerie rapide spirale a été implémentée sur deux spectromètres horizontaux dont certaines caractéristiques sont répertoriées dans le Tableau 2-I-1.

|                                               |                                                |                    |
|-----------------------------------------------|------------------------------------------------|--------------------|
| Champ magnétique (T)                          | 2,35                                           | 7                  |
| Diamètre de l'aimant (cm)                     | 40                                             | 20                 |
| Constructeur aimant                           | Bruker<br>(Bruker, Wissenbourg, F)             | Magnex             |
| Diamètre du fourreau de gradients (cm)        | 20                                             | 12                 |
| Constructeur fourreau de gradients            | Magnex<br>(Magnex Scientific Ltd, Yarnton, GB) |                    |
| Blindage                                      | Autoblindé type III                            | Autoblindé type II |
| Amplitude maximale des gradients $G_m$ (mT/m) | 96                                             | 200                |
| $G_m$ de travail (mT/m)                       | 86                                             | 180                |
| Vitesse de commutation maximale $S_m$ (T/m/s) | 267                                            | 1587               |
| $S_m$ de travail (T/m/s)                      | 128                                            | 333                |
| Console de commande                           | SMIS<br>(SMIS Ltd, Guildford, GB)              |                    |

**Tableau 2-I-1** : Caractéristiques des imageurs à 2,35 T et 7 T.

Les formes de gradients permettant de réaliser un échantillonnage de l'espace  $k$  le long d'une trajectoire spirale ont été intégrées à deux types de séquences : une séquence type GE et une séquence type SE. Chacune de ces séquences que nous avons programmées est dotée de plusieurs options :

- acquisition multicoupes
- acquisition multitemps d'écho
- acquisitions multi-expériences
- module inversion récupération pour la mesure du  $T_1$
- réalisation de moyennes
- module de mesure de la trajectoire dans l'espace  $k$  (cf §II.2.b)

Et bien sûr, toutes les fonctionnalités intrinsèques aux formes de gradients proprement dites :

- variation de la densité d'échantillonnage
- variation du nombre d'entrelacements
- variation du FOV et de la résolution spatiale

Les travaux d'implémentation de l'imagerie rapide spirale nous ont conduits à explorer de nombreux champs d'investigation. Les simulations numériques nous ont permis d'établir quels sont les paramètres optimaux pour acquérir les images sur la base de critères de RSB et PSF. Nous nous sommes également penchés sur les particularités de cet échantillonnage non cartésien. La complexité et la diversité des techniques de reconstruction, nous ont également conduits à réaliser différents types de mesures afin de comprendre et de choisir une de ces techniques. Comme pouvait le laisser présager le nombre de techniques de reconstruction proposées dans la littérature, il n'existe pas de technique optimale, du moins parmi celles que nous avons testées. Mais une étude plus poussée des principes mathématiques mis en jeu serait nécessaire à une bonne appréhension du sujet et à une optimisation des techniques dont nous disposons. Un effort informatique est également à fournir pour compiler ces algorithmes et augmenter leur vitesse d'exécution.

## II. La calibration de trajectoire : développement d'une approche originale

Les développements méthodologiques décrits dans cette partie ont fait l'objet d'un article dans la revue *Magnetic Resonance in Medicine* (<sup>10</sup>Beaumont, M. *et al.* 2007).

### II.1. Introduction

Les images RMN sont obtenues à partir d'échantillons discrets obtenus dans le domaine des fréquences spatiales ou espace  $k$  (<sup>94</sup>Twieg, D.B. 1983). Si les coordonnées effectivement échantillonnées dans l'espace diffèrent des positions théoriques, les images résultantes présentent des artefacts (rotation de l'image, inhomogénéité dans la distribution des intensités...) (<sup>3</sup>Ahn, A.B. *et al.* 1991; <sup>15</sup>Block, K.T. *et al.* 2005). Les écarts entre parcours théorique et effectif peuvent être dus aux courants de Foucault ou à des écarts de durée dans les gestions des différents événements par le spectromètre (démarrer les gradients, démarrer l'acquisition, *group delay*...). Ces effets deviennent particulièrement problématiques en imagerie rapide, lorsque l'espace  $k$  peut être échantillonné lors d'une seule fenêtre d'acquisition. Pour obtenir un bon RSB et une PSF étroite, il est en effet important de collecter l'ensemble des données rapidement, notamment avant disparition du signal RMN (vitesse de disparition caractérisée par la constante de temps  $T_2^*$ , cf. §I.3). Réduire la durée d'acquisition permet également de réduire la sensibilité de la méthode d'imagerie aux effets "off-resonance". Pour obtenir ces durées d'acquisition courtes, de fortes intensités de gradient de champ magnétique et de grandes fréquences d'échantillonnages deviennent nécessaires. Cette demande est par ailleurs exacerbée par l'emploi en imagerie de champs magnétiques de plus en plus intenses et une demande de résolution spatiale de plus en plus grande. Avec l'augmentation croissante des intensités des gradients et des vitesses de commutation, il est de plus en plus probable de constater des écarts entre trajectoires théorique et effective, d'où un intérêt pour les techniques permettant de calibrer les trajectoires effectivement parcourues.

Nous avons été confrontés à ces problèmes lors de la mise en place de la technique d'imagerie spirale. En effet, ne disposant pas de matériel très performant du point de vue des gradients, les artefacts observés sur les images obtenues avec la méthode spirale nous ont

conduits à soupçonner des écarts de trajectoire. Plusieurs approches ont été proposées pour mesurer la trajectoire effective dans l'espace  $k$ . Toutes reposent sur la mesure de l'évolution de la phase d'un signal RMN mesuré pendant l'application du gradient et ce, à différentes positions dans l'aimant. La méthode proposée par Mason *et al.* (<sup>58</sup>Mason, G.F. *et al.* 1997) repose sur l'enregistrement de signaux provenant d'un fantôme placé à différents endroits de l'aimant. Cette méthode n'est pas très pratique puisqu'elle nécessite un déplacement manuel de l'échantillon. Alley *et al.* (<sup>5</sup>Alley, M.T. *et al.* 1998) ont proposé une technique d'auto-encodage dans laquelle un gradient de codage de phase, identique à ceux utilisés en imagerie Fourier traditionnelle, est appliqué avant l'acquisition du signal, signal recueilli pendant l'application du gradient d'intérêt. L'évolution de la position dans l'espace  $k$ , sur l'axe correspondant au gradient appliqué, est ensuite retrouvée en réalisant d'abord une TF sur les signaux recueillis à un instant du gradient pour les différents pas de codage de phase, puis en réalisant un ajustement linéaire sur la phase du signal obtenu après TF. On obtient ainsi une pente de la phase pour chaque instant du gradient. Cette pente de la phase correspond à une position sur l'axe de l'espace  $k$ . Zhang *et al.* (<sup>108</sup>Zhang, Y. *et al.* 1998) ont proposé une méthode dans laquelle on mesure une différence entre des évolutions de phase de signaux provenant de deux coupes positionnées à deux endroits différents dans la direction de l'axe du gradient d'intérêt (Figure 2-II-1). Cette dernière approche permet de réduire de façon importante la durée de mesure de la trajectoire par rapport à l'approche d'auto-encodage. C'est pour cette raison que nous avons choisi d'utiliser la méthode proposée par Zhang *et al.*

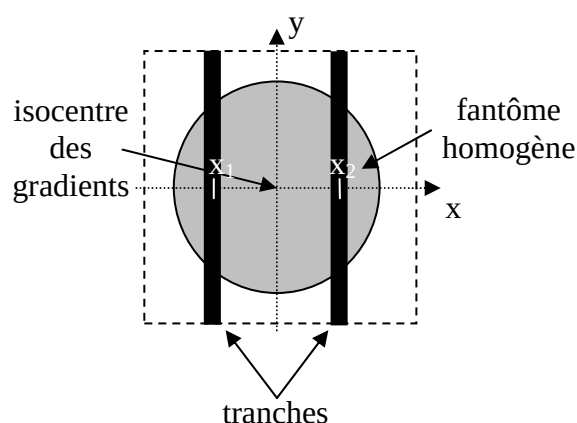


**Figure 2-II-1 :** Vue schématique du protocole de calibration de trajectoire dans l'espace  $k$  avec sélection de tranches (positionnées ici en  $x_1$  et  $x_2$  afin de calibrer la coordonnée  $k_x$ ).

En implémentant cette méthode sur le système petit animal du laboratoire, nous avons remarqué que les trajectoires mesurées présentaient des erreurs manifestes lorsque celles-ci

atteignaient de hautes fréquences spatiales (environ  $1000 \text{ m}^{-1}$  dans notre cas). Dans ce travail, nous illustrons et proposons une explication pour les erreurs observées. Nous proposons également une méthode pour s'affranchir de ce type de problème que nous illustrons sur la calibration de trajectoires spirales.

## II.2. Matériel et méthodes

### II.2.a. Eléments théoriques

L'approche théorique de la méthode de calibration de la trajectoire dans l'espace  $k$  qui repose sur l'acquisition de signaux provenant de deux coupes parallèles a été bien décrite par Zhang *et al.* (<sup>108</sup>Zhang, Y. *et al.* 1998). Brièvement, des signaux sont acquis à partir de deux coupes perpendiculaires à l'axe du gradient d'intérêt (axe  $x$ , par exemple), et positionnées en  $x_1$  et  $x_2$  (avec  $x_1 \neq x_2$ ). Les signaux sont acquis pendant l'application du gradient d'intérêt pendant que les autres voies de gradients restent muettes (hormis les niveaux nécessaires au shim). Si on néglige les effets de relaxation, le signal RMN  $S_i(k_x(t))$  peut s'écrire :

$$S_i(k_x(t)) = \int_{-\infty}^{+\infty} \rho_i(x) e^{-j(2\pi k_x(t)x + \phi(x,t))} dx, \quad 2-II-1$$

avec :

- $\rho_i(x)$  : densité d'aimantation transverse à la position  $x$ , modulé par le profil d'excitation correspondant à la coupe située à la position  $x_i$  ;
- $k_x(t)$  : évolution temporelle de la coordonnée dans l'espace  $k$ , c'est-à-dire ce que l'on souhaite déterminer ;
- $\phi(x,t)$  : phase accumulée, induite par les variations de  $B_0$  : temporelles d'une part et d'autre part spatiales non linéaires.

Dans le cas de tranches fines, bien shimmées, et proches, on peut négliger les variations spatiales non linéaires de  $B_0$ . De ce fait,  $\phi(x,t)$  devient  $\phi(t)$ . L'Equation 2-II-1 devient alors une relation de TF entre le signal  $S_i$  et une "densité effective d'aimantation", notée  $\rho_i(x)e^{-j\phi(t)}$ . En pratique, le terme de phase  $\phi(t)$  peut être négligé dans les calculs qui suivent (<sup>108</sup>Zhang, Y. *et al.* 1998). Pour un échantillon présentant une tranche homogène, la densité effective d'aimantation correspond au profil de coupe. En l'absence d'offset de position ( $x_i = 0$ , coupe centrée) et en supposant l'effet du gradient de sélection de tranche correctement compensé, le profil d'excitation est réel et pair. Sa TF,  $\hat{\rho}(k_x(t))$ , est donc

également réelle et paire. Si la coupe est décalée par rapport au centre du fourreau de gradient sur l'axe du gradient d'intérêt ( $x_i \neq 0$ ), l'Equation 2-II-1 peut s'écrire comme le produit de la TF de la coupe centrée par un terme de phase dépendant de la position  $x_i$  de la tranche :

$$S_i(k_x(t)) = \hat{p}(k_x(t))e^{-j2\pi k_x(t)x_i}. \quad 2-II-2$$

En désignant par  $\varphi_1(t)$  et  $\varphi_2(t)$  les phases des signaux complexes acquis à partir des tranches 1 et 2 respectivement, la coordonnée effective  $k_x(t)$  est obtenue, comme cela est d'ailleurs indiqué dans (<sup>108</sup>Zhang, Y. *et al.* 1998), en calculant :

$$k_x(t) = \frac{\varphi_2(t) - \varphi_1(t)}{2\pi(x_1 - x_2)}. \quad 2-II-3$$

Pour obtenir  $\varphi_i(t)$  à partir de  $S_i(k_x(t))$ , un déroulage temporel de la phase est nécessaire. Lorsque le RSB baisse, la détermination de la phase et le déroulage temporel de celle-ci deviennent tous deux problématiques (<sup>35</sup>Ghiglia, D.C. *et al.* 1998). De plus, on peut déduire de l'Equation 2-II-3 que l'écart type sur la détermination de la coordonnée dans l'espace  $k$  est directement proportionnel à l'écart type sur la détermination de la phase, écart type noté  $\sigma_\varphi$ . Dans l'hypothèse où le RSB n'est pas trop bas, cet écart type est donné par (<sup>39</sup>Haacke, E.M. *et al.* 1999) :

$$\sigma_\varphi = \frac{\sigma_{|\text{bruit}|}}{|S_i(k_x(t))|} = \text{RSB}^{-1}, \quad 2-II-4$$

avec  $\sigma_{|\text{bruit}|}$  l'écart type de l'amplitude du bruit dans le signal acquis,  $S_i(k_x(t))$ .

Dans cette expérience, la sélection de tranche est réalisée sur le même canal de gradient que celui utilisé pendant l'acquisition du signal. La trajectoire à déterminer couvre l'espace  $k$  en fonction des spécifications de FOV et de résolution spatiale associées à l'expérience d'imagerie à réaliser. Rappelons que  $k_{\max}$  est la plus haute fréquence spatiale à explorer.  $\Delta s$  représente l'épaisseur des tranches utilisées pour calibrer la trajectoire (cette épaisseur de tranche est totalement indépendante de l'épaisseur de tranche qui sera choisie pour l'imagerie).

Pour un profil de coupe idéal rectangulaire il est facile de montrer à partir de l'Equation 2-II-2 que le déphasage intracoupe, introduit par le gradient à calibrer, conduit à une modulation en amplitude de type sinus cardinal du signal en fonction de  $k_x$ , comme ceci est illustré sur la Figure 2-II-2a :

$$\hat{\rho}(k_x(t)) \propto \frac{\sin(\pi k_x(t)\Delta s)}{\pi k_x(t)\Delta s}. \quad 2-II-5$$

Le cas d'un profil idéal gaussien est également illustré Figure 2-II-2b. L'Equation 2-II-2 reste valide pour tout type de profil de coupe, et donc en particulier pour les profils de coupe non idéaux. Pour une valeur de  $k_{\max} \geq \Delta s^{-1}$ , des valeurs de signal nulles ou très faibles peuvent être obtenues lors de la collecte des données (Figure 2-II-2), et donc un RSB nul ou très faible. Pour améliorer le RSB, on peut moyenner les signaux soit en accumulant les signaux (<sup>28</sup>Duyn, J.H. *et al.* 1998) soit en augmentant le nombre de positions différentes de coupes (<sup>108</sup>Zhang, Y. *et al.* 1998). Mais aucune forme d'accumulation ne peut permettre d'augmenter le RSB aux instants où le signal est nul.

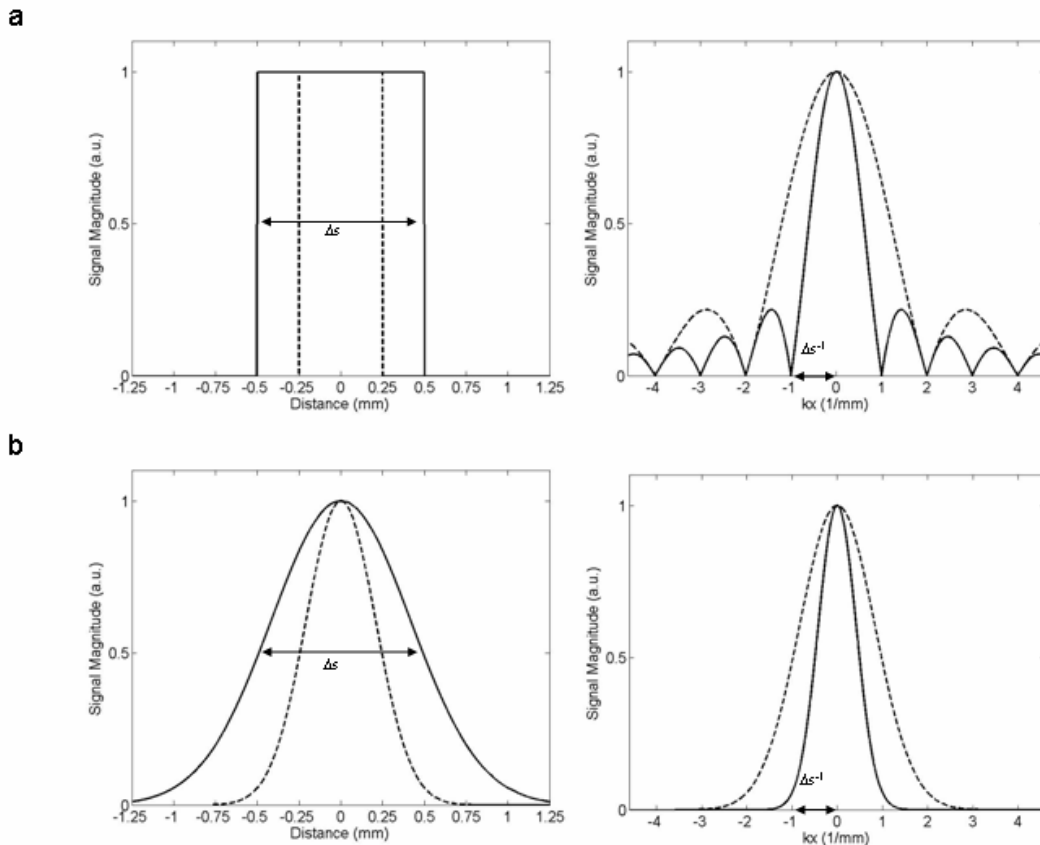


**Figure 2-II-2 :** Profils normalisés de l'amplitude du signal dans les dimensions spatiales (colonne de gauche) et fréquentielle (colonne de droite), correspondant à des tranches d'épaisseurs  $\Delta s=1,0$  mm et 0,5 mm (traits plein et pointillés respectivement). Les profils dans le domaine fréquentiel sont obtenus à partir (a) d'un profil de coupe idéal rectangulaire et (b) d'un profil de coupe idéal gaussien. Pour une valeur de  $k_{\max} \geq \Delta s^{-1}$ , des valeurs de signal nulles ou très faibles sont atteintes lors de l'acquisition des données.

Par contre, on peut choisir une valeur de  $\Delta s$  suffisamment petite par rapport à  $k_{\max}^{-1}$  et s'assurer ainsi que le signal ne s'annule jamais. Cette démarche se fait cependant aux dépens du RSB. Celui-ci pourra être rehaussé en moyennant et donc en augmentant la durée d'acquisition. Existe-t-il alors un moyen de conserver une épaisseur de coupe plus grande que la résolution spatiale de l'image que l'on souhaite acquérir, ce qui permettrait de conserver le rapport signal sur bruit tout en évitant de rencontrer des valeurs de signal nulles ?

Une alternative à la réduction de l'épaisseur de coupe est d'ajouter un gradient de déphasage, noté  $G$ , avant le gradient à mesurer. La présence d'un gradient de déphasage produit un offset  $k_G$  sur l'origine du parcours le long de l'axe  $k_x$  et décale ainsi la position du maximum de signal dans la fenêtre d'acquisition. Dans ce cas, les "zéros" se produisent à des instants différents de ceux obtenus en l'absence de gradient de déphasage. Le signal mesuré devient :

$$S_i^G(k_x(t)) = \hat{p}(k_x(t) + k_G) e^{-j2\pi k_x(t)x_i} e^{-j2\pi k_G x_i} . \quad 2-II-6$$

On peut remarquer que l'évolution du terme de phase,  $\phi_i(t) = -2\pi k_x(t)x_i$ , est indépendante de la présence ou non du gradient de déphasage. En supposant que l'application du gradient de déphasage n'introduit pas de courant de Foucault supplémentaire, ce gradient introduit seulement un offset de phase global (indépendant du temps) et une modification de l'amplitude (dépendante du temps). La moyenne arithmétique des signaux complexes, acquis avec différentes amplitudes du gradient de déphasage, donne un signal complexe dont l'évolution temporelle de la phase est celle que nous souhaitons déterminer :

$$\frac{1}{n} \sum_G S_i^G(k_x(t)) = \frac{1}{n} \sum_G (\hat{p}_i(k_x(t) + k_G) e^{-j2\pi k_G x_i}) e^{-j2\pi k_x(t)x_i} . \quad 2-II-7$$

Le gradient de déphasage peut être dimensionné pour décaler les maxima de signal aux temps correspondant aux points critiques.  $\hat{p}(k_x(t))$  étant paire, les points critiques sont positionnés sur l'axe  $k_x$  de façon symétrique par rapport à l'origine. Dans le cas d'une impulsion RF de forme sinus cardinal et en considérant  $1/\Delta s \leq k_{\max} < 2/\Delta s$ , le signal s'annule pour  $k_x(t) = \pm 1/\Delta s$ . Dans ce cas, trois signaux doivent être acquis pour chacune des coupes :  $S_i(t)$ ,  $S_i^G(t)$  et  $S_i^{-G}(t)$ . L'aire  $k_G$  du gradient de déphasage est ici définie par :

$$k_G = \frac{1}{\Delta s} . \quad 2-II-8$$

De plus, on remarquera que si les positions  $x_i$  des coupes sont des multiples de  $\Delta s$ ,  $e^{-j2\pi k_G x_i} = 1$ . Dans ces conditions,  $\varphi_i(t) = -2\pi k_x(t)x_i$  reste alors l'unique terme de phase de l'Equation 2-II-7. Le terme d'amplitude  $n^{-1} \sum_G \hat{\rho}_i(k_x(t) + k_G)$  produit un meilleur RSB à chaque temps du signal. Pour chaque valeur nulle du signal, il est possible de trouver un gradient de déphasage adapté permettant de décaler les instants où le signal est nul à d'autres points de la fenêtre d'acquisition.

### II.2.b. Séquence d'impulsions

La séquence d'impulsions utilisée est proche de celle employée par Zhang *et al.* Elle est composée d'une sélection de tranche suivie par le gradient d'intérêt pendant lequel le signal est acquis. Le gradient de déphasage est introduit juste avant le gradient à mesurer (Figure 2-II-3). Afin de conserver un temps d'écho court, les gradients de refocalisation de tranche et de déphasage peuvent être appliqués simultanément. La coordonnée dans l'espace  $k$  est mesurée pour chaque axe, les gradients sur les autres axes n'étant pas appliqués. Les deux sélections de tranches sont réalisées pendant le même temps de répétition (acquisition entrelacée des tranches).

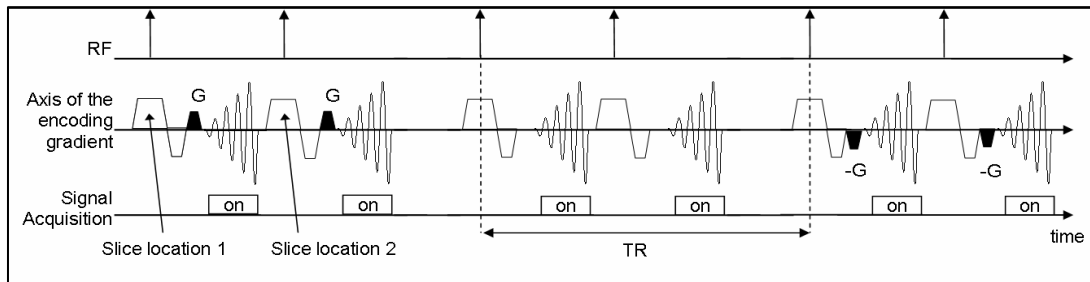


**Figure 2-II-3 :** Séquence d'impulsions utilisée pour mesurer une des deux coordonnées d'un entrelacement de la trajectoire spirale. Les deux mesures (aux deux positions) le long du gradient d'intérêt sont réalisées pendant le même temps de répétition. La durée totale de l'acquisition d'une coordonnée d'un entrelacement est dans le cas présent de  $3 \times TR$ . L'aire du gradient de phase additionnel est coloriée en noir sur cette figure.

### II.2.c. Expériences

Les expériences ont été réalisées sur l'aimant à 2,35 T. Les signaux ont été acquis à partir d'un cylindre de 56 mm de diamètre rempli d'eau. Nous avons caractérisé des gradients générant des trajectoires spirales, à densité variable ( $\beta = 2$ ) comprenant 16 entrelacements et couvrant l'équivalent d'une matrice cartésienne de  $160 \times 160$  points, sur un champ de vue de

70 mm (c'est-à-dire une résolution spatiale de  $438 \mu\text{m}$  ou  $k_{\text{max}} = 1143 \text{ m}^{-1}$ ). La durée de l'acquisition d'un entrelacement était de 9,1 ms. Les autres paramètres d'acquisition étaient :  $\text{TR} = 1000 \text{ ms}$ ,  $\text{TE} = 5 \text{ ms}$ ,  $\alpha = 90^\circ$  obtenu avec une impulsion RF modulée par un  $\text{sin}_c$  à 5 lobes d'une durée de 4 ms, bande passante d'acquisition de 250 kHz. Après shim, la largeur à mi-hauteur du module du pic de l'eau était de 10 Hz. Pour obtenir la coordonnée dans l'espace  $k$ , les signaux ont été mesurés à partir de deux coupes de 1 mm d'épaisseur et positionnées à -6 mm et +6 mm de l'isocentre du fourreau de gradient (soit  $\Delta s = 1 \text{ mm}$  et  $x_i = \pm 6\Delta s$ ).

Quatre expériences ont été réalisées :

- i. Acquisition selon la méthode décrite par Zhang *et al.*, durée totale de l'acquisition : 16TR.
- ii. Répétition de l'expérience (i) avec 4 accumulations temporelles, durée totale de l'acquisition : 64TR.
- iii. Répétition de l'expérience (ii) en utilisant des tranches d'épaisseur 0,5 mm, durée totale de l'acquisition : 64TR.
- iv. Répétition de l'expérience (i) plus deux acquisitions réalisées avec un gradient de déphasage de  $\pm 8,6 \text{ mT/m}$ , d'une durée de 1360  $\mu\text{s}$  (correspondant à  $k_G = \Delta s^{-1}$ ), durée totale de l'acquisition : 48TR.

Pour chaque position de coupe, nous obtenons différents signaux complexes correspondant aux différentes amplitudes du gradient de déphasage. Pour déterminer l'évolution de la coordonnée dans l'espace  $k$  en utilisant l'Equation 2-II-3, on calcule la moyenne arithmétique des signaux acquis pour une position de coupe donnée. Cette moyenne arithmétique peut être calculée car l'évolution temporelle relative de la phase est la même pour chaque signal, quelle que soit l'aire du gradient de déphasage appliqué (Equations III-5 et III-6). Ensuite, un algorithme de déballage de phase est appliqué à la phase du signal moyen, en faisant l'hypothèse que la différence de phase entre deux points consécutifs n'excède pas  $\pi$  (échantillonnage respectant le critère de Nyquist). Les principales étapes de l'algorithme de traitement sont illustrées sur la Figure 2-II-4.

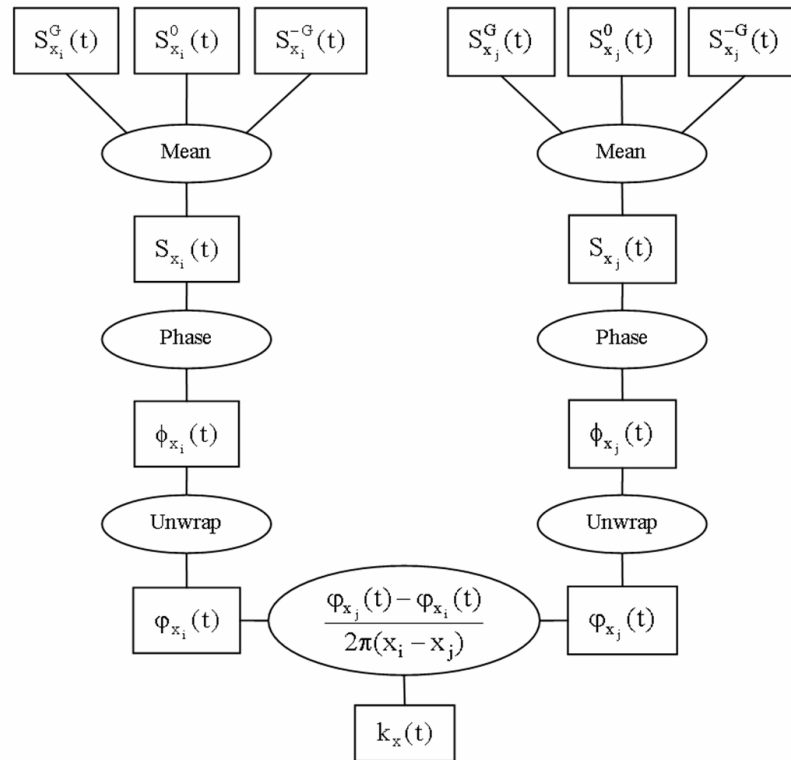


**Figure 2-II-4 :** Diagramme en blocs de l'algorithme utilisé pour mesurer une coordonnée de la trajectoire dans l'espace  $k$  (ici  $k_x$ ). Les signaux RMN sont mesurés à partir de deux coupes positionnées en  $x_i$  et  $x_j$ , avec trois amplitudes différentes du gradient de déphasage (-G, 0 et G). Les ellipses symbolisent les opérations mathématiques, et les rectangles représentent les variables.

Une mesure de profil de coupe est réalisée en utilisant un gradient d'encodage de phase placé avant la fenêtre d'acquisition. Les profils de coupes ont également été obtenus par simulation à partir des équations de Bloch en utilisant Matpulse 2.4 (<sup>59</sup>Matson, G.B. 1994).

### II.3. Résultats et discussion

La Figure 2-II-5 présente le module des trois signaux acquis pendant l'expérience (iv). Les coordonnées correspondantes sur l'axe  $x$  de l'espace  $k$ , obtenues à partir des expériences (i) et (iv) sont représentées sur la même figure. L'expérience (iv) montre que l'ensemble de gradients de déphasage utilisé est efficace pour maximiser le signal aux instants où celui-ci était nul auparavant (Figure 2-II-5a). Les coordonnées de l'espace  $k$  obtenues avec le gradient de déphasage ne présentent pas les artefacts observés sur les trajectoires obtenues avec l'approche originelle (Figure 2-II-5b). Nous observons que les erreurs sur la phase du signal conduisent à une estimation erronée des coordonnées dans l'espace  $k$  quand le rapport signal sur bruit est inférieur à  $\sim 40$  (zoom sur la Figure 2-II-5b).

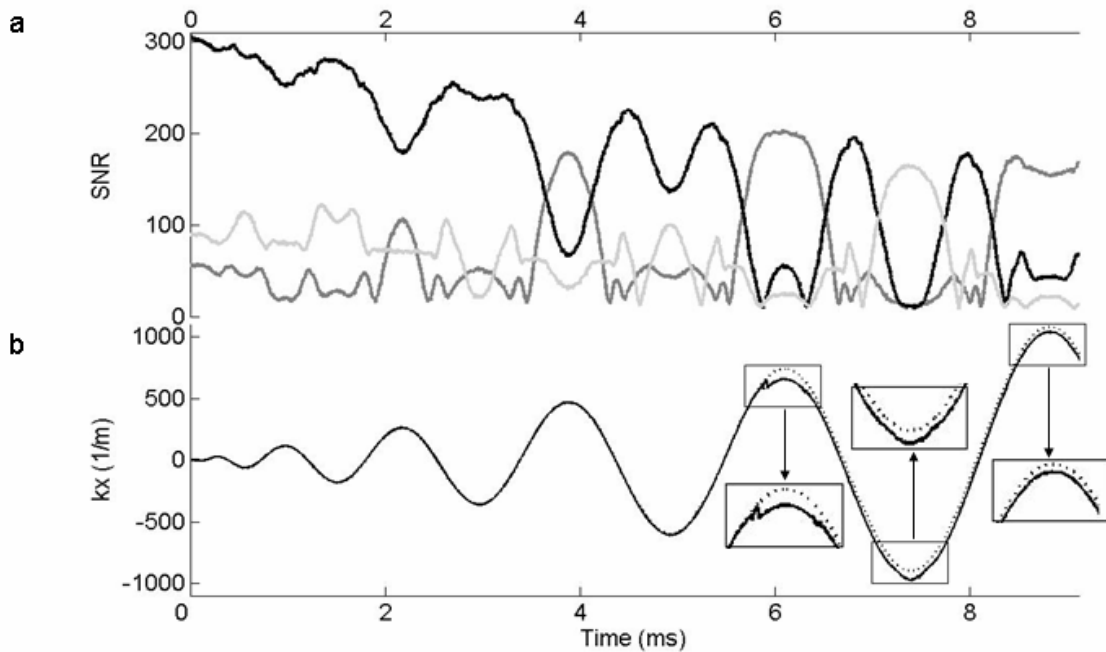


**Figure 2-II-5 :** (a) Rapport signal sur bruit du signal acquis après une sélection de tranche seule (courbe noire, expérience (i)) comparé à ceux des signaux acquis après une sélection de tranche suivi d'un gradient de déphasage (courbes grises, expériences (iv)) dont les amplitudes sont  $-G$  et  $+G$ . (b) Evolutions de la coordonnée  $k_x$  mesurées avec la méthode de Zhang (trait plein) et la nouvelle méthode (trait pointillé). Les inserts représentent des zooms sur des portions particulièrement bruitées (cf. (a)) de  $k_x(t)$ .

La Figure 2-II-6 montre les estimations de trajectoires dans l'espace  $k$  obtenues à partir des signaux acquis lors des expériences (i) à (iv). Lorsque l'épaisseur de tranche est supérieure à  $k_{\max}^{-1}$ , les estimations de trajectoires obtenues avec la méthode proposée ici (Figure 2-II-6d) sont plus représentatives du comportement réel du système de gradients que les trajectoires mesurées avec l'approche originelle "multitranches" (Figure 2-II-6a-b). On peut également observer que l'accumulation de signal améliore l'estimation de la trajectoire (lorsque ces erreurs résultent du faible niveau de signal) mais ne permet pas d'éliminer toutes les erreurs sur les trajectoires. En effet, comme ceci a été décrit dans la partie théorique, les annulations de signal se produisent toujours aux mêmes endroits de l'espace  $k$ . Lorsque des tranches plus fines sont employées ( $\Delta s < k_{\max}^{-1}$ ), l'estimation de la trajectoire dans l'espace  $k$  ne présente pas d'erreur majeure, mais les valeurs obtenues en périphérie de la trajectoire sont plus bruitées que celles obtenues avec notre méthode, et ce malgré l'accumulation de signal (Figure 2-II-6c-d). Dans ce dernier cas, la qualité des estimations de trajectoire dans l'espace  $k$  peut être augmentée en accumulant davantage, mais aux dépens de la durée globale d'acquisition.

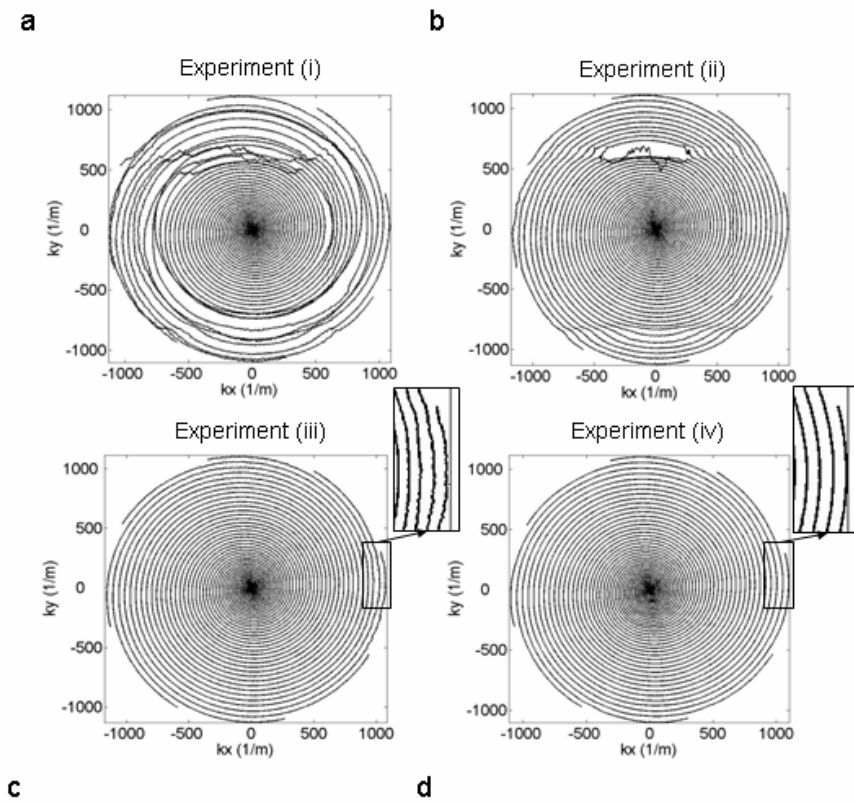


**Figure 2-II-6 :** Trajectoires obtenues avec les expériences (i) à (iv). **(a)** Tranches de 1,0 mm, 1 accumulation. **(b)** idem mais avec 4 accumulations. **(c)** comme **(b)** mais avec des tranches de 0,5 mm. **(d)** comme **(a)** mais avec deux acquisitions supplémentaires incluant un gradient de déphasage dont l'aire vaut  $\Delta s^{-1}$ . Les inserts correspondent à des zooms sur des portions bruitées des trajectoires **(c)** et **(d)**. Par souci de clarté, seul un entrelacement sur deux a été représenté.

On peut également observer que les artefacts se produisent lorsque les valeurs de signal sont très faibles ou nulles, mais ne sont pas exactement aux endroits attendus, c'est-à-dire pour les coordonnées  $k$  égales à  $\pm \Delta s^{-1}$ . Ceci est dû aux imperfections des profils de tranche. Comme cela est illustré sur la Figure 2-II-7, le profil de tranche déterminé expérimentalement diffère de celui simulé (équations de Bloch). Les premiers lobes secondaires sont décalés vers le centre de l'espace  $k$ . Ainsi, même pour des tranches pour lesquelles  $\Delta s^{-1} < k_{\max}$ , des erreurs sur l'estimation de la trajectoire dans l'espace  $k$  peuvent se produire. En appliquant des gradients de déphasage dont l'aire est proche de  $\Delta s^{-1}$ , on a la garantie d'obtenir des estimations de trajectoires sans artefact. Ceci est également utile pour les cas où d'autres formes d'impulsions RF sont employées, comme par exemple les profils gaussiens qui ne présentent pas de zéro périodique mais de très faibles valeurs de signal dans le domaine fréquentiel à proximité et au-delà de  $\Delta s^{-1}$ .

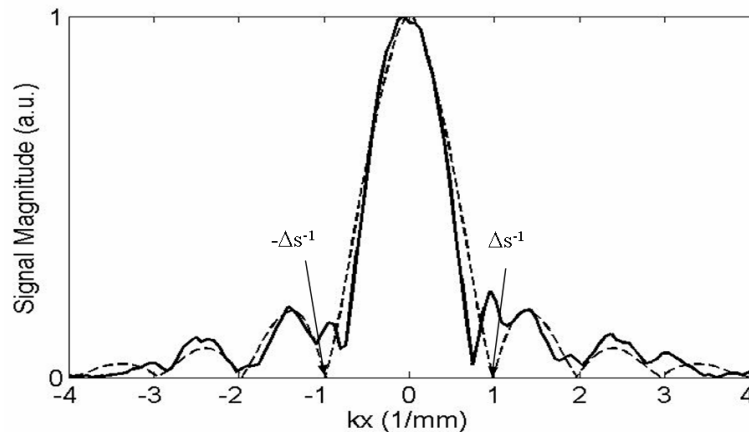


**Figure 2-II-7 :** Amplitude du profil de tranche dans l'espace  $k$  (épaisseur de tranche  $\Delta s = 1$  mm). Ce profil de tranche a été utilisé pour l'ensemble des expériences. Le trait plein correspond au profil mesuré et le trait pointillé au profil attendu.

Nos résultats montrent que toutes les trajectoires mesurées présentent un délai de  $52 \mu s$  par rapport au code de la séquence d'impulsions. Ce délai entre la génération des formes de gradients et le début de l'acquisition conduit à une rotation de l'image lorsqu'elle est reconstruite sans prendre en compte la trajectoire calibrée (Figure 2-II-8).

La trajectoire mesurée présente également une amplitude atténuée (atténuation d'au maximum 2% de la valeur théorique). Cette atténuation peut être due à une calibration imprécise de notre système de gradients et/ou à des courants de Foucault résiduels. En effet, le jeu de valeurs de préemphasis, que nous avons utilisé pour ce travail, n'était pas optimisé pour l'emploi de gradients de forme spirale.

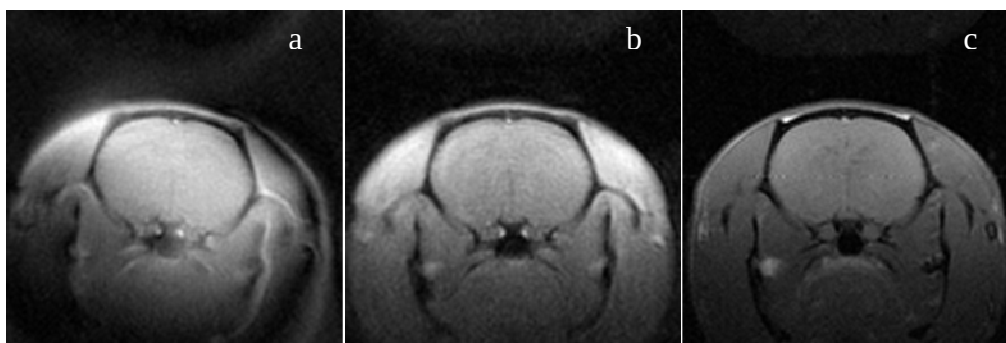


**Figure 2-II-8 :** Coupes coronales de cerveau de rat acquises à 2,35 T, FOV = 30 mm, épaisseur de tranche = 2 mm, matrice =  $128 \times 128$ , TR = 1000 ms. **(a)** et **(b)** sont des acquisitions spirales (densité 2, 16 entrelacements, TE = 1,6 ms) reconstruites avec la trajectoire théorique et la trajectoire calibrée avec notre méthode, respectivement. **(c)** est une image acquise en SE (TE = 14 ms), utilisée à titre de comparaison.

La reproductibilité de notre méthode a été évaluée en répétant l'expérience (iv) dans le temps, au cours de la même journée et sur plusieurs mois. De même, nous avons vérifié que la

modification de l'emplacement des deux tranches, en gardant  $x_i$  multiple de  $\Delta s$ , n'affectait pas la trajectoire obtenue. La variation a été évaluée pour chaque axe de l'espace  $k$  séparément et pour chaque point temporel, en utilisant le rapport entre écart type des mesures et moyenne des mesures. Nous avons observé moins de 1,5% de variation sur les positions dans l'espace  $k$  pour l'ensemble des expériences, quel que soit l'axe de gradient considéré.

Avec la méthode que nous proposons, et dans le cas décrit plus haut, la durée d'acquisition est trois fois plus importante que celle de l'approche originelle (<sup>108</sup>Zhang, Y. *et al.* 1998). Notre méthode produit toujours des mesures de qualité sans avoir recours à l'accumulation de signaux supplémentaires. Notre méthode est par ailleurs insensible aux imperfections de l'impulsion de sélection de tranche. Dans tous les cas, l'absence de signal aux points critiques de l'acquisition est compensée par les signaux acquis après application d'un gradient de déphasage, gradient appliqué avant le gradient à calibrer. Cette méthode est maintenant appliquée en routine pour calibrer les trajectoires spirales en imagerie du petit animal.



### III. Conclusion

La mise en place de la technique des spirales à densité variable sur les deux spectromètres de la Plate-forme IRM du Petit Animal de Grenoble permet de réaliser de nombreuses applications *in vivo* requerrant une séquence d'imagerie rapide (perfusion, perméabilité, ...). Grâce à un jeu d'interfaces Matlab, cet outil est convivial et robuste.

Les nombreuses étapes de ce travail méthodologique nous ont amenés à faire des choix. Concernant les techniques de reconstruction d'images, nous disposions de programmes de *gridding* que nous avons pris en main, utilisés et comparés. Nous en avons retenu un, le *gridding* linéaire, malgré ses faiblesses, les efforts de réduction du temps de calcul étant estimés trop coûteux en temps pour le gain en qualité. Par contre, pour une configuration similaire, notre approche a été différente pour la calibration de trajectoire. Les deux techniques dont nous disposions ne nous satisfaisant pas (erreurs de mesures ou durée de la mesure), nous avons pris le parti de consacrer un temps de recherche à l'optimisation de cette technique, le gain en qualité image étant dans ce cas indéniable. Ce travail a porté ses fruits et nous disposons d'une technique rapide et efficace.

L'ensemble de ces développements méthodologiques a été utilisé dans la suite du travail de cette thèse, mais constitue également un outil important pour différents projets réalisés sur la Plate-forme IRM de Grenoble.



# Chapitre 3 : Mesure de la perméabilité de la BHE

Dans ce chapitre, nous présentons la méthode de mesure de la perméabilité vasculaire que nous avons mise en œuvre et appliquée à des tumeurs expérimentales cérébrales. Après une description des différents choix méthodologiques et de nos objectifs, nous décrivons les protocoles suivis pour valider notre méthode de mesure. Les résultats des différentes expériences seront exposés et discutés. Est-il possible d'apporter des éléments de caractérisation du comportement du système vasculaire dans les modèles de tumeurs étudiés ? La présence d'un AC superparamagnétique dans la circulation sanguine nuit-elle à la mesure de la perméabilité au Gd-DOTA ?

## I. Choix méthodologiques et objectifs

### I.1. Mesure du $T_1$ par la technique inversion-récupération

En appliquant une impulsion RF de  $180^\circ$ , l'aimantation à l'équilibre prend comme valeur  $-M_0$ . Soumise au phénomène de relaxation longitudinale, cette aimantation retourne à sa position d'équilibre. C'est pendant ce phénomène de récupération que l'on applique une impulsion à  $90^\circ$  afin de pouvoir mesurer cette aimantation longitudinale. Soit TI (temps d'inversion), le temps entre l'impulsion à  $180^\circ$  et l'impulsion à  $90^\circ$ . L'aimantation que l'on mesure s'exprime par :

$$M(TI) = M_0(1 - 2Be^{-TI/T_1}), \quad 3-I-1$$

où B reflète la qualité de l'inversion ( $B < 1$  si le  $180^\circ$  est imparfait,  $B = 1$  sinon). En répétant l'expérience avec un TR suffisamment long (pour que l'aimantation ait le temps de reprendre sa valeur d'équilibre) pour plusieurs TI et en supposant que les effets de relaxation transversale ne varient pas au cours de ces mesures, on est capable de remonter à la valeur de  $T_1$  (Figure 3-I-1).

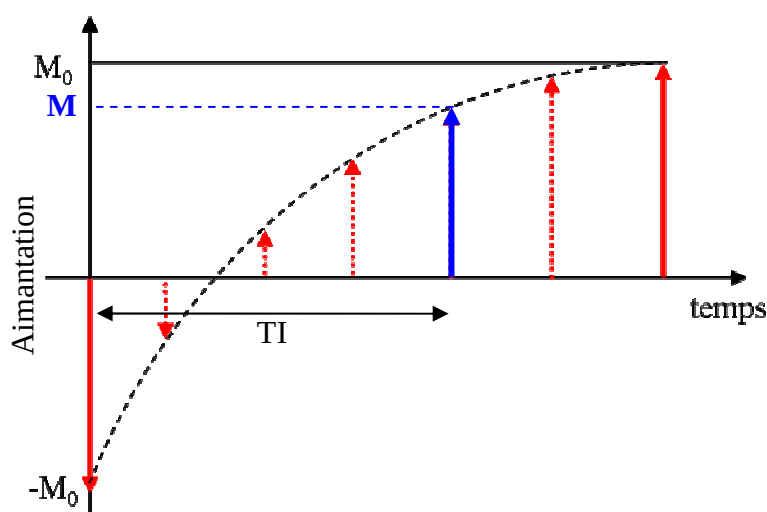


**Figure 3-I-1 :** Comportement de l'aimantation longitudinale lors d'une séquence d'inversion-récupération : elle varie de  $-M_0$  à  $M_0$  (flèches rouges pleines).  $TI$  est le temps qui sépare le moment de l'inversion et l'impulsion à  $90^\circ$  (flèche bleue). En réalisant des mesures à différents  $TI$ , on peut échantillonner le retour à l'équilibre de l'aimantation  $M$  (flèches rouges en pointillé) et déterminer  $T_1$ .

## I.2. Choix d'une méthode de mesure de l'AIF

Notre contexte de travail ne nous permet pas de réaliser des mesures d'AIF directement sur les images RMN. En effet, étant donnés les diamètres des artères cérébrales du rat et la résolution spatiale de nos IRM, nous sommes confrontés à des effets de volume partiel, et potentiellement à des phénomènes de saturation/chute du signal (cf. Chapitre 1 §III.3.b). Nous nous sommes donc tournés vers une mesure en dehors de l'imageur.

Les mesures ont été réalisées sur des animaux différents de ceux qui ont été intégrés à l'étude sur les tumeurs, et le sang a été prélevé au niveau fémoral. Ces deux éléments constituent *a priori* les principaux inconvénients de ce choix méthodologique. Comme nous avons choisi d'évaluer la concentration plasmatique en Gd par RMN, le problème de la quantification de la concentration en AC dans des volumes de sang n'excédant pas  $20 \mu\text{L}$  (limitation liée à la résolution temporelle souhaitée) s'est ajouté. Ces petits volumes ne permettent pas l'emploi de la centrifugation pour isoler le plasma, le volume résultant étant trop petit. Pour obtenir suffisamment de signal RMN, nous avons décidé de diluer nos échantillons. Le protocole de préparation des échantillons est décrit dans le paragraphe II.1.c.

La moyenne des résultats de ces expériences a servi à déterminer une AIF de référence qui a été ensuite adaptée à chacun des animaux étudiés pour les expériences de DCE-MRI. Nous présentons les détails de la méthode dans le paragraphe II.3.f.

### I.3. Intégration à un protocole de mesure du VS et de l'ITV

La méthode de mesure de la perméabilité que nous voulons mettre en place doit s'intégrer à un protocole expérimental existant de mesure du volume sanguin (VS) et de l'index de taille des vaisseaux (ITV).

La mesure du VS en IRM s'appuie généralement sur l'utilisation d'un AC para- ou superparamagnétique intravasculaire. Certaines techniques utilisent l'effet de relaxivité longitudinale des AC et donc des approches pondérées  $T_1$  (<sup>71</sup>Perles-Barbacaru, A.T. *et al.* 2007). D'autres techniques s'appuient sur la différence de susceptibilité magnétique entre les compartiments intra- et extravasculaires. Enfin, la technique VASO (*vascular space occupancy*, <sup>53</sup>Lu, H. *et al.* 2003) propose une mesure de variation du VS sans emploi d'AC. Elle utilise une impulsion RF pour inverser l'aimantation longitudinale. La mesure est alors réalisée après un temps TI tel qu'il n'y ait plus de signal provenant du sang. Cette technique est généralement associée à des mesures d'IRM dite "fonctionnelle" (activation cérébrale focale).

Parmi les techniques utilisant des mesures pondérées  $T_2^*$ , l'approche DSC-MRI (*dynamic susceptibility contrast MRI*) consiste à suivre le passage d'un AC dans le sang injecté sous forme de bolus (<sup>66</sup>Ostergaard, L. *et al.* 1996). Ce type d'expérience ne fournit qu'une valeur relative du VS et est extrêmement sensible aux erreurs dans la détermination de l'AIF (<sup>20</sup>Calamante, F. *et al.* 2006). Dans une approche alternative, on réalise des mesures de  $R_2^*$  avant et après injection de l'AC, à l'état stationnaire. Aucune mesure d'AIF n'est alors nécessaire et il est ainsi plus aisé d'accéder à une mesure absolue de la fraction volumique du VS. La technique permet également d'accéder, via la mesure de  $\Delta R_2$ , à l'index de taille des vaisseaux (ITV, <sup>92</sup>Troprès, I. *et al.* 2001). Ce paramètre représente le rayon moyen pondéré par la distribution des rayons des vaisseaux dans le voxel.

C'est ce type de protocole (VS/ITV) que nous avons choisi de compléter par une mesure de la perméabilité.

### I.4. Objectifs de l'étude

#### I.4.a. Faisabilité de l'emploi de deux AC

La principale originalité de ce travail réside dans l'utilisation consécutive de deux AC, dans un intervalle de temps court, chez le même animal. Tout d'abord, notons qu'il n'était pas

possible de réaliser les deux mesures avec le même agent : la mesure de VS à l'état stationnaire nécessite un AC intravasculaire tandis que la mesure de perméabilité nécessite un AC qui s'extravase.

D'un point de vue méthodologique, nous avons choisi d'effectuer la mesure de la perméabilité après la mesure du VS, la demi-vie plasmatique du Sinerem<sup>®</sup> étant bien plus élevée que celle du Dotarem<sup>®</sup> (4 h 30 min et 26 min, respectivement). Nous pouvions alors considérer la concentration de Sinerem<sup>®</sup> constante pendant l'expérience de DCE-MRI (d'une durée de 30 min), approximation qui n'était pas valable pour le Dotarem<sup>®</sup>, s'il était injecté avant l'expérience de mesure du VS.

Enfin, pour évaluer les effets de la présence d'un agent intravasculaire sur la mesure de la perméabilité de la BHE, nous avons réalisé l'expérience de DCE-MRI seule (le matin) puis l'expérience de DCE-MRI précédée de la mesure du VS (l'après-midi). Nous avons réalisé les deux expériences sur le même animal dans la même journée pour que la croissance tumorale n'influe pas sur les résultats, et en prenant soin d'attendre que l'organisme élimine le Gd injecté lors de la première expérience, avant de poursuivre.

#### **I.4.b. Caractérisation de la perméabilité dans deux modèles de tumeurs**

Nous avons réalisé nos expériences sur des rats porteurs d'une tumeur cérébrale. Nous avons choisi d'étudier deux modèles de gliomes (C6 et RG2), connus pour présenter des comportements vasculaires différents (<sup>97</sup>Valable, S. *et al.* 2006), afin d'évaluer la mesure de perméabilité de la BHE. De plus, des données sur la mesure de la perméabilité sur ces modèles, par des techniques d'autoradiographie, sont disponibles dans la littérature.

#### **I.4.c. Le Sinerem<sup>®</sup> est-il intravasculaire dans les tumeurs ?**

La technique de mesure du VS à l'état stationnaire s'appuie sur le caractère intravasculaire des particules d'oxyde de fer, pendant la durée des séquences IRM. Cependant, il est connu que les USPIO sont captés par les macrophages et peuvent donc "sortir" du compartiment vasculaire au niveau cérébral (<sup>25</sup>Corot, C. *et al.* 2004). De plus, nous avons déjà observé du Sinerem<sup>®</sup> extravasé au niveau de la tumeur dans les modèles C6 et RG2, 24 h après injection (résultats non montrés). Nous avons donc voulu vérifier le caractère intravasculaire du Sinerem<sup>®</sup> dans le cerveau à l'échelle de temps d'une expérience de DCE-MRI, sur les deux modèles de tumeurs étudiés. Pour cela, nous avons procédé à une mesure

de la perméabilité de la BHE au Sinerem<sup>®</sup>, à l'aide d'un protocole de type DCE-MRI, utilisé pour évaluer l'extravasation du Gd-DOTA.



## II. Matériel et méthodes

### II.1. Modèles animaux et protocoles biologiques

Toutes les expérimentations animales ont été menées sous les autorisations n° 380521 pour le chercheur impliqué, A3851610004 pour les locaux d'expérimentation et B3851610003 pour les locaux d'animalerie.

Toutes les manipulations d'animaux sont réalisées sous anesthésie. L'induction est pratiquée avec 5% d'isoflurane dans un mélange d'air et d'O<sub>2</sub> (FiO<sub>2</sub> = 40%). Que ce soit pour l'implantation des tumeurs, la pose d'un cathéter ou les protocoles d'imagerie, l'animal est maintenu sous anesthésie au masque avec 2% d'isoflurane dans le même mélange que précédemment. La température rectale est maintenue à 37,0±0,5°C au moyen d'une couverture chauffante électrique ou d'un circuit d'eau chauffant lorsque l'animal est dans l'imageur.

#### II.1.a. Implantation et croissance des tumeurs cérébrales

Les modèles de gliomes C6 et RG2 (<sup>8</sup>Barth, R.F. 1998) sont les deux modèles de tumeurs orthotopiques utilisés pour cette étude. Ces lignées cellulaires sont implantées chez des rats de souche Wistar pour les C6 (n = 14, 175-200 g), et Fischer pour les RG2 (n = 6\*, 150-175 g). L'animal est placé dans un cadre stéréotaxique dans lequel deux barres d'oreilles et une barre à dents permettent l'immobilisation parfaite de la tête. La voûte crânienne est dégagée par une incision longitudinale au scalpel. Un trou de 1 mm de diamètre est pratiqué dans l'os du crâne, à 3 mm à droite du bregma. La préparation des cellules pour l'implantation se fait comme décrit dans la thèse de Sonja Zoula (<sup>109</sup>Zoula, S. 2002). La suspension de cellules (1.10<sup>5</sup> cellules, pour les C6, et 5.10<sup>3</sup> cellules, pour les RG2, dans 5 µL de milieu de croissance (D-MEM) complété avec 2% de glutamine et 1% de pénicilline streptomycine) est injectée en 5 min avec une seringue Hamilton, dans le noyau caudé droit, *i.e.* à 5,5 mm sous l'os. L'aiguille est retirée avec soin, 5 min après injection, et la craniotomie est rebouchée avec de la cire végétale. La peau est refermée par suture.

\* Initialement, 12 rats Fischer (modèle RG2) ont été implantés. Cependant, un lot de 6 rats a reçu une quantité insuffisante de cellules (10<sup>3</sup> cellules) et n'ont pas pu être inclus à l'étude.

Pour les deux modèles, les rats sont imagés 14 jours après implantation. La taille des tumeurs avoisine alors  $40 \text{ mm}^3$  (<sup>97</sup>Valable, S. *et al.* 2006). Au moment de l'imagerie, la présence de la tumeur n'a pas encore entraîné de perte de poids chez les animaux.

### **II.1.b. Pose d'un cathéter dans la veine de la queue**

L'animal est placé en décubitus latéral et la queue est fixée sur le plan de travail par papier adhésif. Une entaille longitudinale de la peau (1 cm) au niveau d'une des deux veines de la queue est réalisée à un niveau le plus distal possible (pour permettre la répétition ultérieure du geste). La veine est dégagée puis incisée pour permettre l'introduction d'un cathéter (tube de polyéthylène de 0,58 mm de diamètre interne, étiré par chauffage (flamme) et monté sur une aiguille de 23G). Le cathéter, préalablement purgé avec du sérum physiologique, est introduit puis avancé sur 2 ou 3 cm délicatement pour ne pas léser la veine. Le cathéter est fixé sur la queue avec du papier adhésif et un pansement est appliqué au niveau de l'entaille. Le cathéter peut être retiré avec une brève compression au point de ponction. Des points de suture sont alors réalisés pour refermer la peau et la zone est nettoyée à la bétadine.

C'est grâce à ce dispositif que sont effectuées toutes les injections de produits de contraste, injections dites en intraveineuse (IV).

J'ai appris à réaliser ce protocole afin d'être autonome sur les expériences de mesures de perméabilité. Les autres gestes chirurgicaux (implantation de tumeur, pose de cathéter artériel) ont été réalisés par d'autre personnel du laboratoire.

### **II.1.c. Echantillonnage de l'AIF**

Ce protocole ne concerne que 4 rats. Les prélèvements sont effectués dans des tubes Eppendorf. Après avoir introduit  $5 \mu\text{L}$  d'héparine, chaque tube est pesé puis fixé avec un adhésif sur un portoir horizontal.

L'animal est en décubitus dorsal, équipé d'un cathéter dans la veine de la queue (pour injection de l'AC) et d'un cathéter placé dans l'artère fémorale (tube de polyéthylène de 0,28 mm de diamètre interne, pour les prélèvements de sang). La longueur du cathéter artériel n'est que d'une dizaine de centimètres, pour limiter le volume mort et donc l'introduction d'un décalage temporel entre la fonction réelle et la fonction mesurée. L'animal est positionné en hauteur par rapport au plan de chirurgie afin de pouvoir faire glisser le portoir de tubes sous l'animal (Figure 3-II-1). Avant les prélèvements, l'animal reçoit une injection de sérum

physiologique contenant de l'héparine, afin de prévenir la formation d'un caillot au niveau du cathéter artériel.

Après avoir prélevé quelques échantillons de sang servant de référence, le Dotarem<sup>®</sup> est injecté, de la même manière que lors des expériences de DCE-MRI (cf. §II.2.d), et les prélèvements se poursuivent. Pendant 5 min, ils sont réalisés de manière continue. Le flux de sang artériel est ainsi échantillonné toutes les 10 s (environ 10 à 20  $\mu$ L de sang par tube). Puis les prélèvements sont opérés de manière discontinue pour limiter le volume total de sang prélevé. Le cathéter est alors rebouché entre chaque prélèvement par une seringue à insuline et le volume mort de sang est repoussé dans le rat (pour éviter la formation de caillots et un décalage temporel). Le temps entre deux prélèvements varie alors de 0,5 à 2 min. La durée totale de l'expérience est d'environ 90 min, ce qui représente une cinquantaine de prélèvements et un volume cumulé de sang prélevé moyen de 1,46 mL (soit environ 6% du volume de sang total de l'animal).

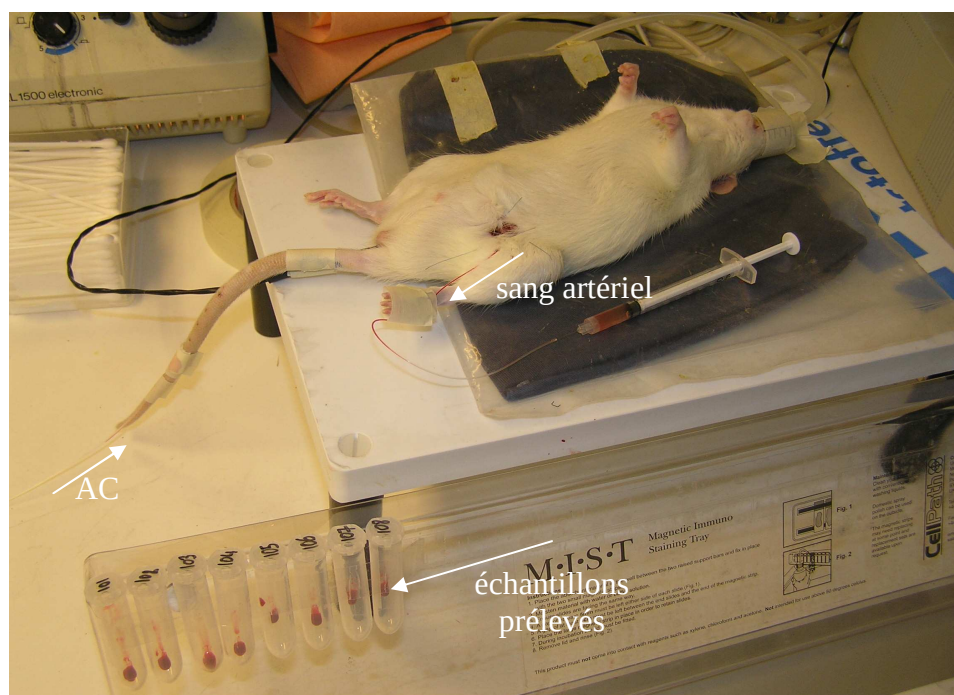


**Figure 3-II-1** : Installation de l'animal pour le protocole d'échantillonnage de l'AIF.

En fin d'expérience, les tubes sont repesés, afin de déterminer le volume de sang contenu dans chaque tube (densité du sang : 1,06), puis complétés avec 250  $\mu$ L d'eau distillée pour réaliser une hémolyse. Les tubes sont congelés (une nuit) une première fois à -20°C pour faire "éclater" les dernières cellules. Après décongélation, les tubes sont centrifugés à

3000 tr.min<sup>-1</sup> pendant 10 min. Les 200 µL de surnageant prélevés (par tube) pour l'analyse sont conservés à -20°C. Les étapes de ce protocole sont résumées sur la Figure 3-II-4.

### **II.1.d. Histologie**

Les 20 rats porteurs d'une tumeur sont sacrifiés, à la fin des deux expériences de DCE-MRI, par injection IV d'une solution de chlorure de potassium à 2 M. Le cerveau est prélevé, congelé dans un bain d'isopentane et conservé à -80°C.

Des coupes coronales de 10 µm sont réalisées. On sélectionne les coupes pour lesquelles la surface tumorale est la plus importante. On réalise environ huit lames par rat contenant chacune 4 coupes.

L'ensemble des coupes est coloré à l'hématoxyline et à l'érythrosine (HE, coloration des noyaux et du cytoplasme respectivement) pour une observation en fond clair. Une première série de lames subit un double marquage immunohistologique en fluorescence avec un anticorps dirigé contre le collagène IV (constituant de la lame basale des vaisseaux) et un anticorps dirigé contre un antigène de la BHE. Cet antigène de la BHE est constitué d'un triplet protéique situé dans la lumière des vaisseaux mais sa fonction est inconnue. La deuxième série de marquages immunohistologiques comprend un anticorps dirigé contre un récepteur membranaire présent sur les membranes des lysosomes et des macrophages (CD68) et du DAPI (molécule fluorescente s'intercalant dans l'ADN : marquage des noyaux). Le marquage des macrophages est observé par immunofluorescence et en visible.

## **II.2. Protocoles d'IRM**

Toutes les expériences décrites ci-dessous ont été réalisées avec un aimant horizontal à 2,35 T (cf. Chapitre 2 §I.5).

### **II.2.a. Dosage du gadolinium**

Pour ces expériences, réalisées à température ambiante, nous travaillons avec une antenne de volume polarisée linéairement pour l'émission et la réception (RAPID Biomedical GmbH, Rimpf, Allemagne).

Une gamme de dilutions de sang est réalisée pour mesurer le paramètre  $s_{\text{sang}}$  (cf. §II.3.d). Six tubes, contenant 0, 10, 20, 30, 40 et 50 µL de sang, sont préparés comme décrit

dans le paragraphe II.1.c (*i.e.* 5  $\mu$ L d'héparine, 250  $\mu$ L d'eau, congélation, décongélation, centrifugation).

Une deuxième gamme est réalisée pour mesurer les relaxivités du Gd-DOTA. Vingt-deux tubes, contenant de 0 à 3,5 mM de Gd dans 250 mL d'eau distillée, sont préparés comme ci-dessus.

Sur chaque tube (deux gammes et quatre séries de prélèvements de sang), on réalise une mesure de  $T_2$  grâce à une séquence Carr Purcell Meiboom Gill (CPMG, 400 échos, espacement entre échos successifs : 8 ms) non localisée. On effectue également plusieurs fois cette mesure sur un tube vide, en vue de son utilisation lors du traitement des données. Une mesure de  $T_1$  est réalisée sur la gamme de concentrations de Gd, avec une séquence d'imagerie FLASH, munie d'un module d'inversion récupération (IR) (cf. §II.2.d).

## **II.2.b. Initialisation des protocoles IRM sur le petit animal**

Les expériences sur le petit animal sont réalisées avec une antenne de volume polarisée linéairement pour l'émission et une antenne de surface de même polarisation pour la réception, les deux antennes étant découplées géométriquement et activement (RAPID Biomedical GmbH, Rimpf, Allemagne).

L'animal est installé dans un berceau et sa tête est maintenue par des barres d'oreilles et une barre à dents. Des acquisitions FLASH réalisées en continu et dans les trois directions, permettent d'imager le positionnement de l'animal en temps réel. L'image du cerveau peut ainsi être positionnée par l'opérateur dans des contours préalablement dessinés (Figure 3-II-2). Le "shim" est réglé de manière automatique grâce à une séquence de type FASTMAP (<sup>38</sup>Gruetter, R. 1993). Une séquence SE pondérée  $T_2$  est utilisée pour faire le repérage de la coupe d'intérêt (TR/TE = 2000/80 ms, 19 tranches coronales de 1 mm, FOV = 30 mm, matrice = 256x192). La coupe retenue est celle présentant le volume tumoral homogène le plus important.

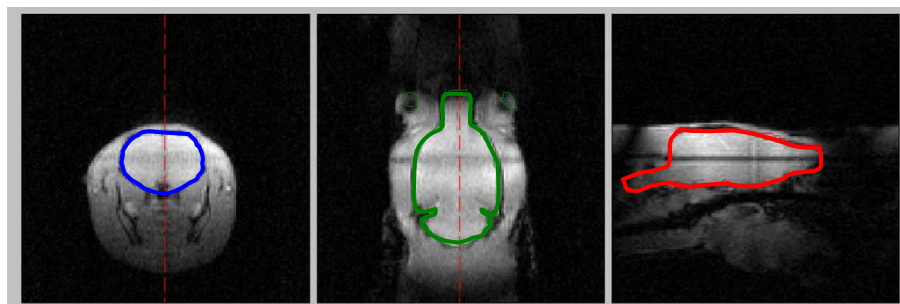


**Figure 3-II-2** : Illustration de ce que voit l'opérateur lors du positionnement en temps réel du rat dans l'aimant grâce à des contours prédéfinis (bleu, vert et rouge).

### II.2.c. Mesures du VS et de l'ITV

Une séquence multi-écho de gradient - écho de spin (*Multi Gradient-Echoes Spin-Echo*, MGESE) est utilisée pour cette mesure (Figure 3-II-3). Après une première acquisition avec cette séquence, on injecte le Sinerem<sup>®</sup>, à raison de 200  $\mu\text{mol}$  de Fe/kg (soit environ 167  $\mu\text{L}$  de produit pour un rat de 300 g). Le cathéter est rincé avec 600  $\mu\text{L}$  de sérum physiologique. Après un délai de trois minutes (homogénéisation de la concentration de Fe dans le sang), on effectue une seconde acquisition avec la séquence MGESE. Les paramètres de la MGESE sont les suivants : TR = 6000 ms, 7 TE de 6 à 42 ms pour les échos de gradient, et TE = 102 ms pour l'écho de spin, une tranche coronale de 2 mm d'épaisseur (correspondant à la coupe retenue) et une matrice de 128x66 sur un FOV de 30 mm. L'acquisition comprend deux accumulations.

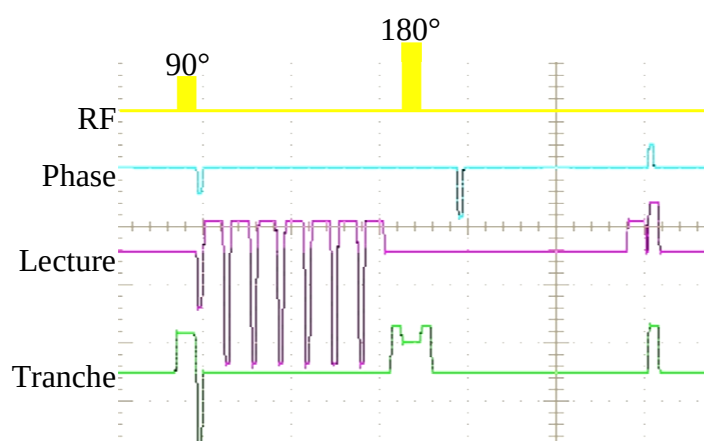


**Figure 3-II-3** : Chronogramme de la séquence MGESE utilisée pour la mesure du VS et de l'ITV.

## II.2.d. Mesure de la perméabilité

### Carte de $T_{10}$ :

La carte de  $T_{10}$  est acquise avec une séquence spirale à densité variable ( $\beta = 2$ ) précédée d'un module d'IR comportant 11 TI. Les paramètres de la séquence sont :  $TR/TE = 4400/1,6$  ms,  $T_{acq} = 11,7$  ms,  $\alpha = 90^\circ$ . La bande passante est de 250 kHz. La couverture de l'espace k est réalisée avec 5 entrelacements, la matrice cartésienne équivalente est  $64 \times 64$ . La mesure est réalisée sur la tranche coronale de 2 mm d'épaisseur et de 30 mm de FOV, identique à celle décrite dans le paragraphe précédent. Les données reconstruites sont interpolées sur une grille  $128 \times 128$ .

### Cas particulier de la faisabilité :

Afin de valider les mesures de  $T_1$  réalisées avec la séquence spirale, nous avons effectué des mesures de  $T_1$  sur six échantillons contenant des concentrations de Gd dans de l'eau connues et pour lesquels le  $T_1$  peut être calculé. Cette mesure a également été réalisée avec une séquence IR-FLASH, dont les paramètres sont  $TR/TE = 4400/100$  ms, matrice  $64 \times 64$  et bande passante 20 kHz. La tranche utilisée est identique à celle de la séquence spirale. Pour une meilleure détermination des valeurs de  $T_1$ , le nombre de TI est de 20, le même jeu de valeurs de TI étant utilisé pour tous les tubes et pour les deux séquences (FLASH et spirale).

### DCE-MRI :

La séquence dynamique pondérée  $T_1$  est acquise sur la même tranche que la carte de  $T_{10}$  mais avec une meilleure résolution spatiale : 16 entrelacements pour une matrice cartésienne équivalente de  $128 \times 128$  (densité  $\beta = 2$ ). Le temps de répétition est diminué ( $TR/TE = 600/1,6$  ms), la résolution temporelle de la séquence est donc de 9,6 s par image. Dans un souci de limiter le volume de données, la résolution temporelle est réduite d'un facteur de 2 au bout de 5 min d'acquisition. L'injection du produit de contraste débute après l'acquisition de 5 images pour la ligne de base (*i.e.* 1 min 40 s après le début de la séquence). La dose de Gd est  $200 \mu\text{mol/kg}$  (soit environ  $120 \mu\text{L}$  de Dotarem<sup>®</sup> pour un rat de 300 g), et elle est délivrée au moyen d'un pousse-seringue à 12 mL/h (soit 30 s d'injection pour un rat de 300 g). Cette durée d'injection a été choisie de manière à pouvoir correctement échantillonner la fonction d'entrée artérielle. La durée totale des acquisitions spirales est d'un

peu plus de 30 min, ce qui correspond à un volume de 116 images. Le temps associé à chaque image correspond au moment de l'acquisition de la moitié de l'image.

| Protocole IRM                                                                                                             |                                                                                                                           | Paramètres des séquences                                                                                                                                                                 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Matin                                                                                                                     | Après-midi                                                                                                                |                                                                                                                                                                                          |
|                                                                                                                           | MDEFT                                                                                                                     | TR/TE = 15/5 ms<br>TI = 605 ms, $\alpha = 22^\circ$<br>matrice = 90x90x60<br>FOV = 40x40x30mm <sup>3</sup>                                                                               |
|                                                                                                                           | MGESE                                                                                                                     | TR/TE = 6000/6-42 et 102 ms<br>matrice = 128x66<br>FOV = 30 mm<br>épaisseur de tranche 2 mm                                                                                              |
|                                                                                                                           | Injection de Sinerem <sup>®</sup>                                                                                         |                                                                                                                                                                                          |
|                                                                                                                           | MGESE                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                          |
|                                                                                                                           | <b>VS</b><br><b>ITV</b>                                                                                                   |                                                                                                                                                                                          |
| MDEFT                                                                                                                     | MDEFT                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                          |
| Carte de T <sub>10</sub> - SPIRAL                                                                                         | Carte de T <sub>10</sub> - SPIRAL                                                                                         | TR/TE = 4400/1,6ms, 11 TI<br>5 entrelacements,<br>matrice = 64x64<br>FOV = 30 mm<br>épaisseur de tranche 2 mm                                                                            |
| Injection de Dotarem <sup>®</sup>                                                                                         | Injection de Dotarem <sup>®</sup>                                                                                         |                                                                                                                                                                                          |
| DCE-MRI - SPIRAL                                                                                                          | DCE-MRI - SPIRAL                                                                                                          | TR/TE = 600/1,6 ms<br>16 entrelacements,<br>matrice = 128x128<br>FOV = 30 mm<br>épaisseur de tranche 2 mm<br>durée = 30min :<br>10s/image pendant 5 min puis<br>20s/image jusqu'à la fin |
| MDEFT                                                                                                                     | MDEFT                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                          |
| <b>v<sub>p</sub> SPIO-</b><br><b>v<sub>e</sub> SPIO-</b><br><b>K<sup>trans</sup> SPIO-</b><br><b>k<sub>ep</sub> SPIO-</b> | <b>v<sub>p</sub> SPIO+</b><br><b>v<sub>e</sub> SPIO+</b><br><b>K<sup>trans</sup> SPIO+</b><br><b>k<sub>ep</sub> SPIO+</b> |                                                                                                                                                                                          |

**Tableau 3-II-1 :** Protocole IRM pour la mesure de perméabilité seule (matin, SPIO-) et intégrée au protocole de mesure du VS et de l'ITV (après-midi, SPIO+). Les variables obtenues après les traitements des données IRM sont notées en rouge. Les paramètres de chacune des séquences utilisées sont indiqués dans la colonne de droite.

#### Cas particulier du Sinerem<sup>®</sup> :

L'expérience de DCE-MRI menée avec le Sinerem<sup>®</sup> est identique à celle qui vient d'être décrite. La seule modification réside dans le fait qu'elle est réalisée sur une durée de 2 h au lieu de 30 min. Cette expérience est pratiquée sur quatre rats, deux par modèle de tumeur étudié\*.

\* Les rats porteurs du modèle C6 sont imagés 18 jours après implantation, tandis que les rats porteurs du modèle RG2 sont imagés 14 jours après implantation.

**Images anatomiques 3D :**

Des images anatomiques pondérées  $T_1$  ont également été acquises, avec une séquence MDEFT-3D (*Modified Driven Equilibrium Fourier Transform*) ( $TI = 605$  ms,  $\alpha = 22^\circ$ ,  $TR/TE = 15/5$  ms,  $FOV = 40 \times 40 \times 30 \text{ mm}^3$ , matrice =  $90 \times 90 \times 60$ ), avant et après l'injection de chaque AC. Ces images nous permettent de juger, de manière qualitative, de la modification du signal de l'image suite à l'injection d'un AC.

Le protocole global (sur une journée, pour un animal) regroupant l'ensemble de ces séquences est représenté dans le Tableau 3-II-1. Par jour, trois rats ont été étudiés.

**II.3. Traitements des données**

Tous les traitements exposés ici ont été réalisés avec le logiciel Matlab 7 (The MathWorks, Inc., Natick, NA). Toute les images spirales ont été reconstruites avec l'algorithme de *gridding* linéaire en utilisant des trajectoires spirales mesurées avec notre méthode de calibration (cf. Chapitre 2 §I.4.c et §II). La calibration de la trajectoire a été réalisée sur un fantôme homogène, contenant du sérum physiologique, en utilisant la même configuration d'antennes que pour les expériences sur l'animal.

**II.3.a. Détermination de  $T_1$** 

Après reconstruction des images spirales (une par temps d'inversion), on ajuste une fonction modèle aux données d'intensité du signal en fonction du TI, pixel par pixel. La fonction à ajuster est décrite par l'Equation 3-I-1. TI est alors un vecteur de 11 ou 20 valeurs.  $M_0$ , B et  $T_1$  sont les résultats de l'ajustement. La méthode d'ajustement utilisée est l'algorithme de Levenberg-Marquardt (<sup>57</sup>Marquardt, D.W. 1963). Notons que seuls les pixels dont l'intensité (sur la première image) est supérieure à 15% de l'intensité maximale de l'image sont traités. Les pixels non traités, ainsi que tous les pixels pour lesquels le  $T_1$  obtenu est négatif, se voient assigner une valeur de  $T_1$  nulle et sont ainsi systématiquement écartés des analyses ultérieures (moyenne, écart type...).

Dans le cas des mesures de  $T_1$  sur les tubes réalisées avec une séquence d'imagerie, la valeur de  $T_1$  retenue est la moyenne des  $T_1$  des pixels à l'intérieur d'une ROI tracée manuellement sur chaque tube.

### II.3.b. Détermination de $T_2$

La moyenne des mesures CPMG réalisées sur des tubes vides est soustraite aux mesures CPMG réalisées sur les tubes pleins, temps d'écho par temps d'écho. Ceci permet d'éliminer les contributions aux signaux des composés plastiques mesurées aux TE courts. Une exponentielle décroissante de la forme  $A \exp(-TE/T_2)$  est ajustée aux données. TE étant ici un vecteur de 400 valeurs, et A est l'amplitude du signal. Comme pour l'estimation de  $T_1$ , nous utilisons l'algorithme de Levenberg-Marquardt.

### II.3.c. Détermination des relaxivités $r_1$ et $r_2$

Des ajustements linéaires sont réalisés sur les données  $1/T_1$  en fonction de [Gd] et les données  $1/T_2$  en fonction de [Gd]. Les pentes des droites obtenues correspondent aux relaxivités  $r_{1Gd}$  et  $r_{2Gd}$ , respectivement.

De même, un ajustement linéaire des données  $1/T_2$  en fonction du facteur de dilution du sang dans l'eau, est réalisé. La pente de cette droite est appelée  $s_{sang}$  et s'exprime en  $s^{-1}$ .

La détermination de  $r_{1Gd}$  nous permet d'accéder à la concentration de Gd dans le cadre des expériences de DCE-MRI, tandis que la détermination de  $r_{2Gd}$  et  $s_{sang}$  nous permet de calculer la concentration de Gd dans le sang, pour la détermination de l'AIF.

### II.3.d. Détermination de la concentration en Gd

#### A partir des données CPMG, détermination de l'AIF de référence :

Nous avons considéré que la valeur du  $T_2$  du contenu de chaque tube résultait des effets de la concentration d'AC et de la quantité de sang sur l'eau distillée contenue dans chaque tube. Nous avons donc établi la relation suivante :

$$\frac{1}{T_2} = \frac{1}{T_{20}} + r_{2Gd}[Gd] + s_{sang}f_{sang} \quad 3-II-1$$

où  $f_{sang}$  est la fraction volumique du sang et  $T_{20}$  est la valeur du  $T_2$  d'un tube ne contenant que de l'eau distillée (ni sang ni Gd).  $f_{sang}$  étant connue pour chaque tube (cf. §II.1.c), la concentration en AC est issue de la relation :

$$[Gd] = \left( \left( \frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_{20}} \right) - s_{sang}f_{sang} \right) / r_{2Gd} \quad 3-II-2$$

Il est alors possible de remonter à la concentration en AC dans le sang :  $[Gd]_{sang} = [Gd]/f_{sang}$ .

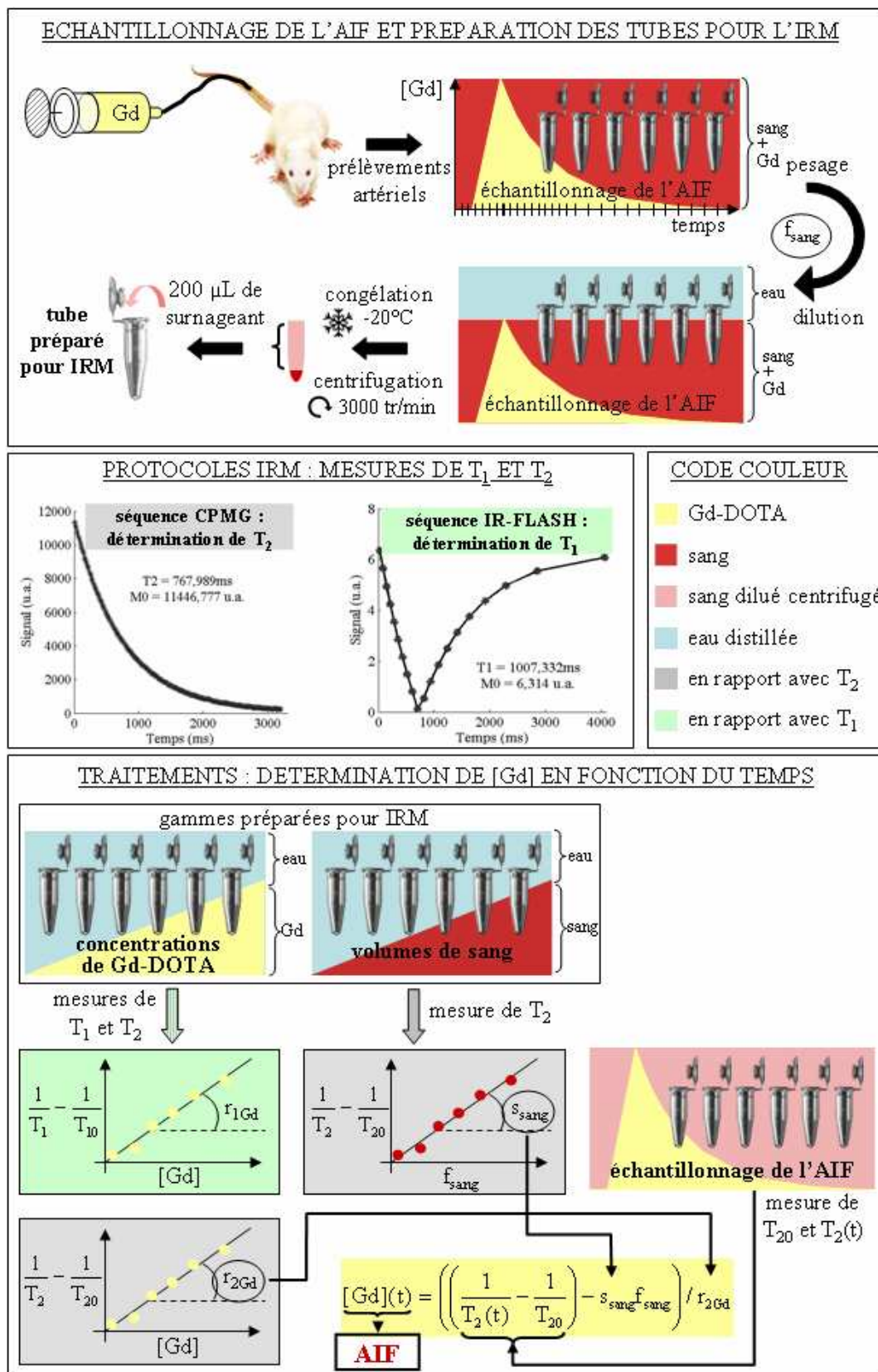


**Figure 3-II-4 :** Schéma du protocole de la mesure de l'AIF : des prélèvements sanguins à la concentration en Gd. Notons que la détermination de  $r_{1Gd}$  ne sert pas pour la mesure de l'AIF mais plus tard, pour la détermination des cartes de  $[Gd]$ .

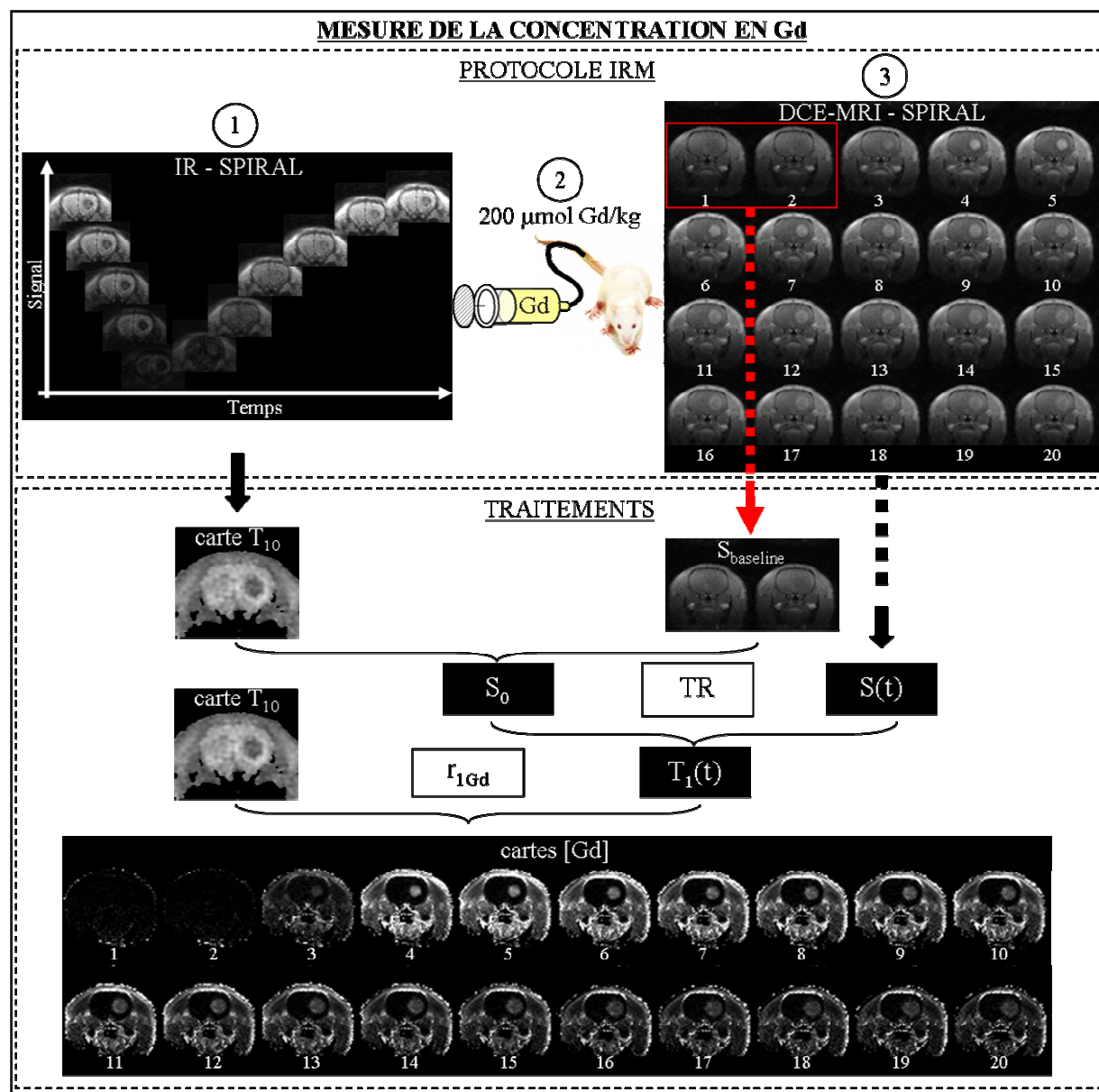


**Figure 3-II-5 :** Schéma du protocole de détermination de la concentration de Gd à partir des données d'une expérience de DCE-MRI. Pour les images de DCE-MRI et les cartes de [Gd] correspondantes, nous n'avons représenté qu'une image sur six (il y a 116 images par expérience).

#### A partir des données de DCE-MRI, calculs des cartes de [Gd] :

Les décours temporels des pixels, lorsqu'ils sont considérés indépendamment, sont bruités. On applique une moyenne glissante, sur 3 points, pour réduire le bruit sur la courbe et notamment pour limiter les pics non significatifs, avant de procéder au traitement. Les étapes de ce traitement (Figure 3-II-5) ont été décrites dans l'introduction générale (cf Chapitre 1 §III.3.c), nous les rappelons brièvement :

- détermination du signal de la ligne de base,  $S_{\text{baseline}}$ , moyenne des signaux des points de la ligne de base (environ 10 images),

- détermination de  $S_0$ , à partir de  $T_{10}$  et  $S_{\text{baseline}}$ ,
- conversion de  $S(t)$  en valeur de  $T_1$  (avec  $S_0$  et  $TR$ ),
- conversion de  $T_1$  en  $C_i(t)$ , grâce à la connaissance de  $T_{10}$  et  $r_{1Gd}$ .

### II.3.e. Détermination du VS et de l'ITV

Les calculs décrits dans ce paragraphe sont réalisés pixel par pixel, pour chaque rat, à partir des images acquises avec la séquence MGESE, avant et après injection de Sinerem<sup>®</sup>.

Dans un premier temps, on calcule les cartes de  $T_2^*$  à partir des 7 images en GE, soit une carte avant et une carte après injection de Sinerem<sup>®</sup>. La fonction  $A\exp(-TE/T_2^*)$  est ajustée à l'intensité du signal en fonction du TE (7 points), avec l'algorithme de Levenberg-Marquardt. A (amplitude du signal) et  $T_2^*$  sont les paramètres issus de l'ajustement. Les critères de rejet des résultats de l'ajustement sont les mêmes que dans le cas de la détermination de  $T_1$  (cf. §II.3.a). De ces deux cartes, on obtient la carte de  $\Delta R_2^*$  ( $1/T_2^*$  après -  $1/T_2^*$  avant).

Dans un second temps, on calcule la carte de  $\Delta R_2$  à partir des échos de spin, avant ( $S_{\text{avant}}$ ) et après ( $S_{\text{après}}$ ) injection :

$$\Delta R_2 = \frac{1}{TE} \ln \left( \frac{S_{\text{avant}}}{S_{\text{après}}} \right) \quad \text{II-3}$$

De ces cartes, nous pouvons obtenir les cartes de VS et ITV, comme décrit par Troprès *et al.* :

$$\begin{cases} VS = \frac{3}{4\pi} \frac{\Delta R_2^*}{\gamma \Delta \chi B_0} \\ ITV = 0,424 \left( \frac{CDA}{\gamma \Delta \chi B_0} \right)^{1/2} \left( \frac{\Delta R_2^*}{\Delta R_2} \right)^{3/2} \end{cases} \quad \text{3-II-4}$$

où  $\Delta \chi$  est l'augmentation de la susceptibilité magnétique du sang due à l'injection du produit de contraste, et CDA est le coefficient de diffusion apparent de l'eau. Etant donnée la durée des protocoles d'imagerie, ces deux valeurs n'ont pas été déterminées pour chaque expérience et pour chaque animal. Nous utilisons donc des valeurs issues d'expériences préalablement réalisées dans le laboratoire, soit  $\Delta \chi = 0,57 \cdot 10^{-6}$  unité CGS et  $CDA = 700 \mu\text{m}^2/\text{s}$  (<sup>96</sup>Vaeth, A. 1998; <sup>91</sup>Troprès, I. 1999). Cette dernière valeur est obtenue sur tissu sain.

L'ensemble des étapes du traitement des données IRM est représenté sur la Figure 3-II-6.

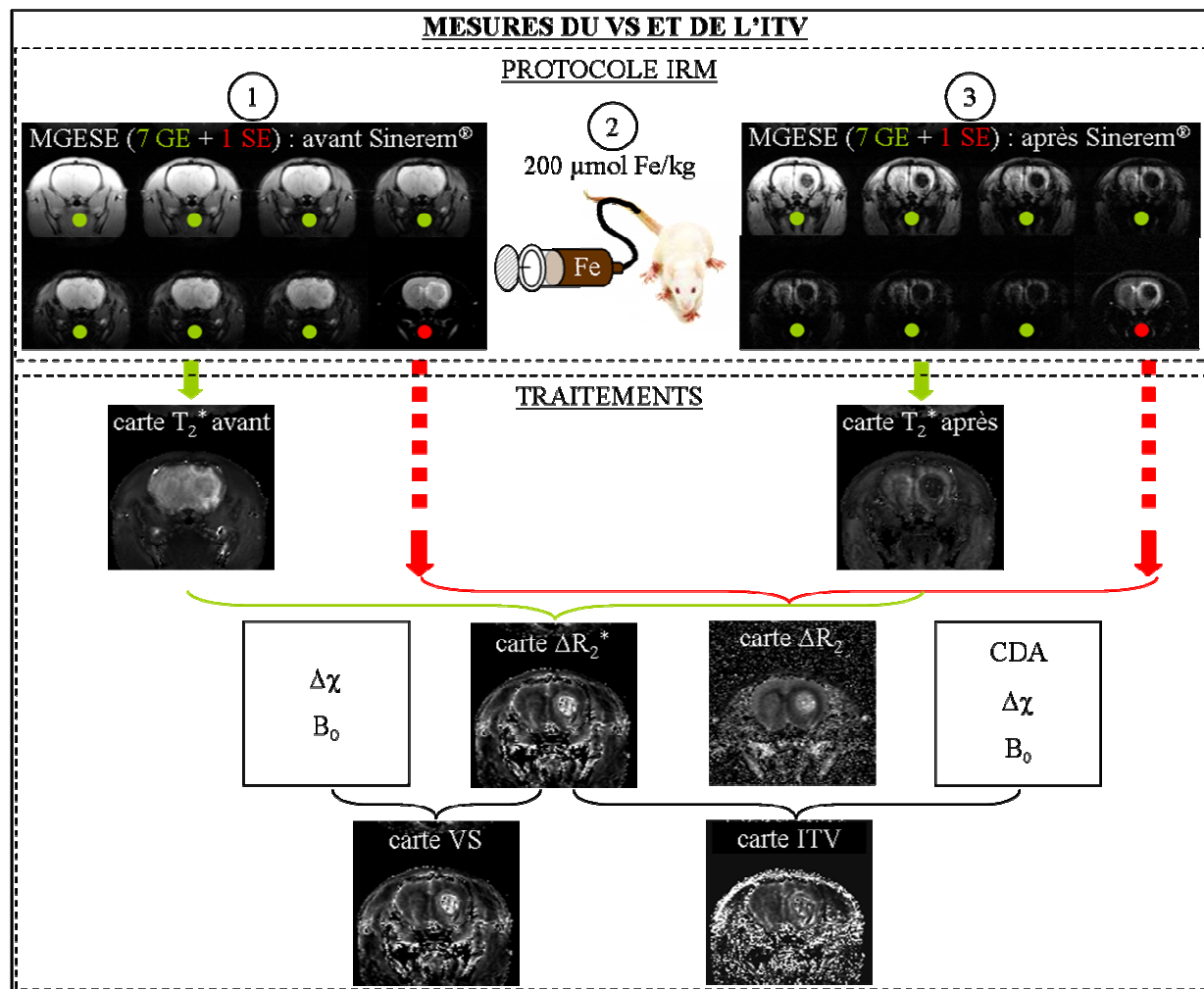


Figure 3-II-6 : Schéma du protocole de mesure du VS et de l'ITV

### II.3.f. Adaptation de l'AIF de référence à chaque mesure de perméabilité

L'AIF de référence est l'évolution moyenne de la concentration plasmatique de Gd en fonction du temps, obtenue à partir de l'échantillonnage dans des tubes et du dosage par IRM de l'AIF de quatre rats (cf. §II.1.c). A partir de ces données, nous déterminons un temps d'arrivée de l'AC dans le sang ( $t_A$ ), qui correspond au début de la phase croissante (que nous considérons linéaire) de l'AIF. Cette phase prend fin au temps du pic de concentration ( $t_P$ ). Elle est suivie de la partie décroissante de l'AIF, sur laquelle nous ajustons une fonction bi-exponentielle décroissante  $A_1 \exp(-t/B_1) + A_2 \exp(-t/B_2)$ . L'AIF de référence a pour équation :

$$\begin{cases} C_p(t) = 0, \text{ pour } 0 \leq t \leq t_A \\ C_p(t) = \frac{A_1 + A_2}{t_p - t_A}(t - t_A), \text{ pour } t_A < t \leq t_p . \\ C_p(t) = A_1 e^{-tB_1} + A_2 e^{-tB_2}, \text{ pour } t_p < t \end{cases} \quad 3-II-5$$

Les paramètres  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $B_1$  et  $B_2$  de l'équation de l'AIF de référence, déterminée à partir de 4 rats, sont utilisés pour le traitement des données de DCE-MRI de chaque animal. Nous avons adapté les paramètres  $t_A$  et  $t_p$  au comportement de chaque animal étudié.

Pour chaque animal, les décours temporels des pixels qui ont été analysés (*i.e.*  $T_{10} > 0$ ),  $C_t(t)$ , sont moyennés. Sur ce décours moyen, il est aisé de déterminer le temps d'arrivée du produit de contraste dans le sang (les points précédents constituant donc la ligne de base). En effet, cette approche permet d'augmenter le RSB qui nous limitait fortement dans le cas d'une analyse pixel par pixel. Pour chaque animal, une AIF provisoire est créée à partir cette valeur de  $t_A$  et des autres paramètres issus de l'équation de l'AIF de référence. A ce stade du traitement, nous considérons que l'intervalle de temps  $t_p - t_A$  (déterminé sur l'AIF de référence) est constant. Nous cherchons maintenant à affiner les valeurs de  $t_A$  et  $t_p$ .

Pour chaque animal et pour chaque pixel, on calcule le coefficient de corrélation entre  $C_t(t)$  et l'AIF provisoire de l'animal. On obtient donc une matrice de coefficients de corrélation. Cette étape est répétée en faisant varier  $t_A$  autour de la valeur déterminée précédemment. Nous obtenons une matrice de corrélation par  $t_A$ . Pour chacune de ces matrices, nous évaluons le nombre de pixels pour lesquels le coefficient de corrélation est supérieur à 0,85. Nous retenons comme valeur finale de  $t_A$  le temps pour lequel nous avons trouvé le plus grand nombre de pixels avec un coefficient de corrélation supérieur à 0,85.

Parmi ces pixels, nous conservons les dix "meilleurs", ceux dont les coefficients de corrélation sont les plus élevés. Leurs décours temporels sont moyennés. De cette moyenne, on extrait la valeur finale de  $t_p$ . Nous disposons alors de tous les éléments pour définir l'AIF adaptée au comportement de l'animal, c'est-à-dire  $C_p(t)$  :  $t_A$  et  $t_p$  obtenus pour chaque rat et  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $B_1$  et  $B_2$  mesurés à la paillasse, communs à tous les rats (Figure 3-II-7).

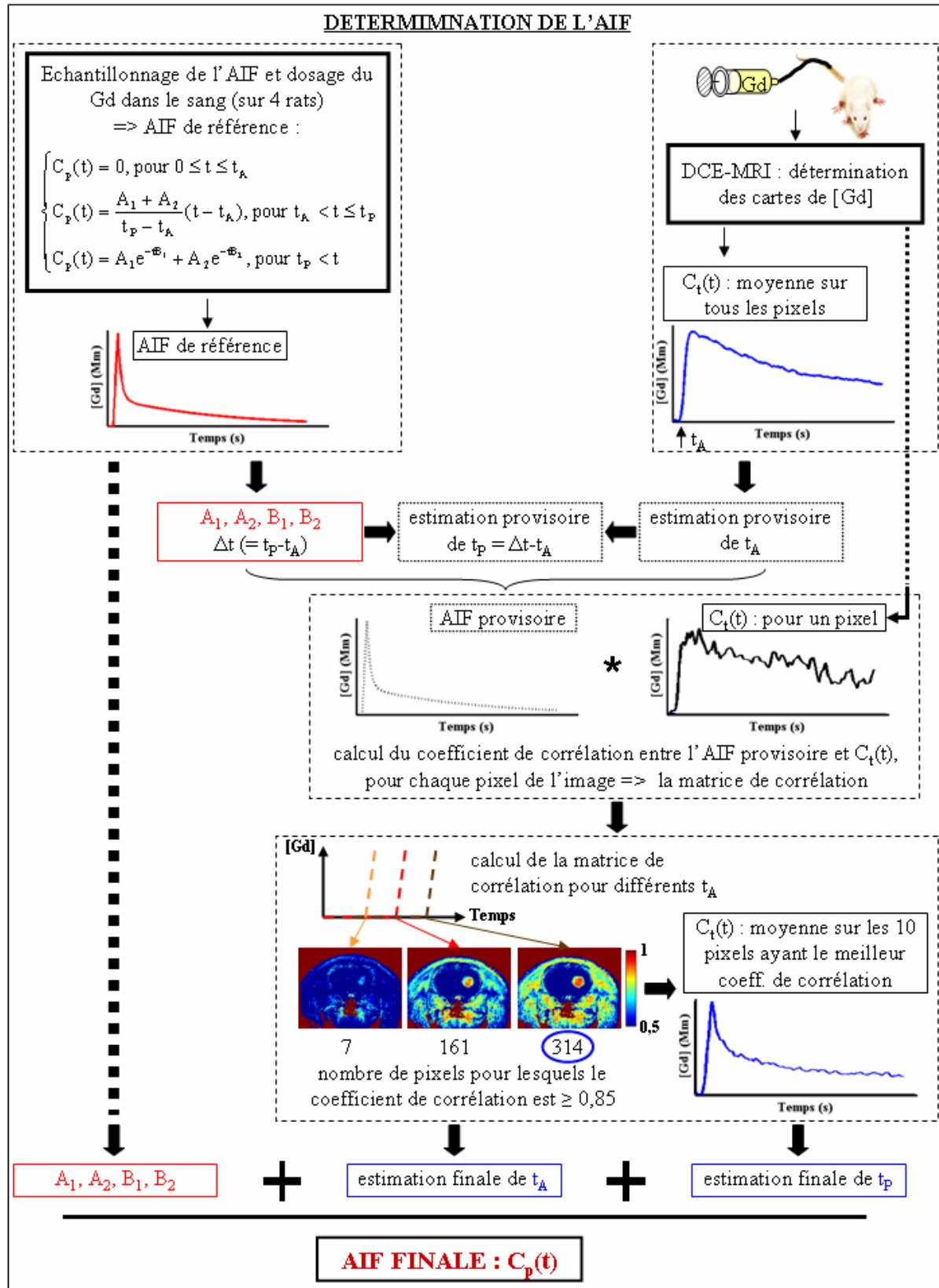


**Figure 3-II-7 :** Schéma du protocole de détermination de l'AIF pour chaque rat.

- $t_A$  : temps d'arrivée de l'AC dans le sang
- $t_p$  : temps de la concentration pic

### II.3.g. Détermination des paramètres pharmacocinétiques

Connaissant  $C_p(t)$ , nous sommes désormais en mesure d'ajuster la fonction :

$$C_t(t) = v_p C_p(t) + K^{\text{trans}} \int_0^t C_p(\tau) e^{-k_{ep}(t-\tau)} d\tau, \quad 3-II-6$$

sur les données  $C_t(t)$ . L'ajustement, toujours avec l'algorithme de Levenberg-Marquardt, est effectué pour les décours temporels des pixels pour lesquels  $T_{10} > 0$ , en prenant en compte notre échantillonnage temporel irrégulier de  $C_t(t)$ . Les paramètres issus de l'ajustement,  $v_p$ ,  $K^{\text{trans}}$  et  $k_{ep}$ , sont mis sous la forme de cartes paramétriques. La carte de  $v_e (= K^{\text{trans}}/k_{ep})$  est également calculée.

### II.3.h. Analyse des résultats

Trois zones, centrées sur la tumeur, le tissu controlatéral et le muscle temporal, sont définies manuellement (Figure 3-II-8), à partir des cartes de concentrations de Gd. Pour chaque ROI, nous calculons la moyenne et l'écart type des valeurs (en excluant les valeurs aberrantes), issues des cartes paramétriques. Les pixels pour lesquels un des paramètres ne respecte pas les critères décrits dans Tableau 3-II-2 sont exclus de l'analyse.

|            | VS (%) | ITV ( $\mu\text{m}$ ) | $T_{10}$ (ms) | $K^{\text{trans}}$ ( $\text{min}^{-1}$ ) | $k_{ep}$ ( $\text{min}^{-1}$ ) | $v_p$ | $v_e$ |
|------------|--------|-----------------------|---------------|------------------------------------------|--------------------------------|-------|-------|
| <b>min</b> | 0      | 0                     | 0             | -1                                       | -1                             | 0     | 0     |
| <b>max</b> | 13,4   | 50                    | -             | 1                                        | 1                              | 1     | 1     |

**Tableau 3-II-2 :** Intervalles de valeurs dans lesquels les différents paramètres sont inclus dans l'analyse.

Le test t de Student a été utilisé pour comparer les valeurs des paramètres mesurées entre les deux modèles de tumeurs étudiés. Pour comparer les valeurs entre ROI ou les valeurs entre les expériences de DCE-MRI précédées ou non d'une injection de Sinerem<sup>®</sup>, nous avons utilisé le test t de Student apparié. Pour faciliter la lecture des résultats, les paramètres pharmacocinétiques mesurés en absence de Sinerem<sup>®</sup> ont été marqués SPIO-, ceux mesurés après une injection de Sinerem<sup>®</sup> ont été marqués SPIO+ (e.g.  $K^{\text{trans}}$  SPIO+,  $v_p$  SPIO-...).

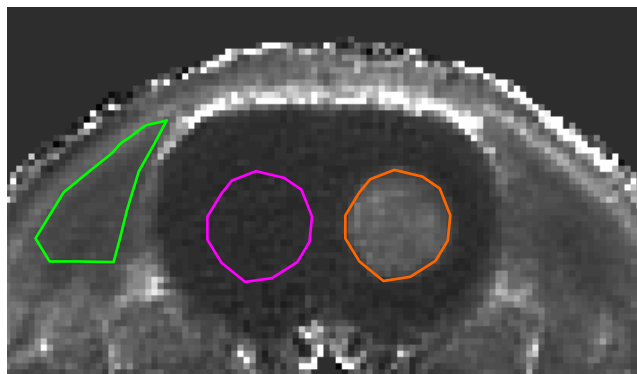


**Figure 3-II-8 :** Représentation des ROI centrées sur la tumeur, le tissu controlatéral et le muscle temporal (orange, rose et vert, respectivement), tracées manuellement sur chacun des rats pour l'analyse des résultats.

### III. Résultats

Les résultats que nous présentons dans cette partie ont été obtenus sur des tubes (mesure des relaxivités du Dotarem<sup>®</sup> et mesure de l'AIF de référence) et sur des animaux. Concernant les résultats sur animaux, nous avons trois groupes :

- le groupe de quatre rats ayant servi pour la mesure de l'AIF de référence,
- le groupe de 20 rats (14 rats Wistar porteurs d'une tumeur de type C6 et 6 rats Fischer porteurs d'une tumeur de type RG2) sur lesquels nous avons réalisé des mesures de VS, d'ITV et de perméabilité au Gd-DOTA,
- le groupe de 4 rats (2 C6 et 2 RG2) utilisé pour évaluer l'extravasation du Sinerem<sup>®</sup>.

Pour le groupe de 20 animaux, nous présentons les résultats des expériences de DCE-MRI réalisées en absence et en présence de Sinerem<sup>®</sup> dans le sang.

#### III.1. Mesure des relaxivités du Gd-DOTA

Le Tableau 3-III-1 regroupe quelques valeurs de temps de relaxation mesurées à 2,35 T et 20°C, sur de l'eau distillée contenant du Gd à différentes concentrations.

| [Gd] (mM)           | 0    | 0,17 | 0,18 | 0,22 | 0,25 | 0,32 |
|---------------------|------|------|------|------|------|------|
| T <sub>1</sub> (ms) | 2831 | 918  | 844  | 927  | 719  | 577  |
| T <sub>2</sub> (ms) | 2331 | 798  | 776  | 774  | 637  | 521  |
| [Gd] (mM)           | 0,39 | 0,58 | 0,88 | 1,17 | 1,75 | 3,50 |
| T <sub>1</sub> (ms) | 536  | 390  | 276  | 197  | 143  | 68   |
| T <sub>2</sub> (ms) | 463  | 345  | 248  | 180  | 132  | 65   |

**Tableau 3-III-1 :** Valeurs de T<sub>1</sub> et T<sub>2</sub> mesurées sur 12 des 22 échantillons d'eau distillée contenant différentes concentrations de Gd (20°C).

La variation des vitesses de relaxation avec la concentration en Gd est linéaire, comme l'indique la relation  $\Delta R_i = r_i[AC]$ . Les valeurs des relaxivités  $r_1$  et  $r_2$  du Dotarem<sup>®</sup> déterminées à 2,35 T, dans de l'eau et à 20°C sont respectivement de 4,02 et 4,25 mM<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup> (Figure 3-III-1), valeurs en accord avec les données des laboratoires Guerbet.

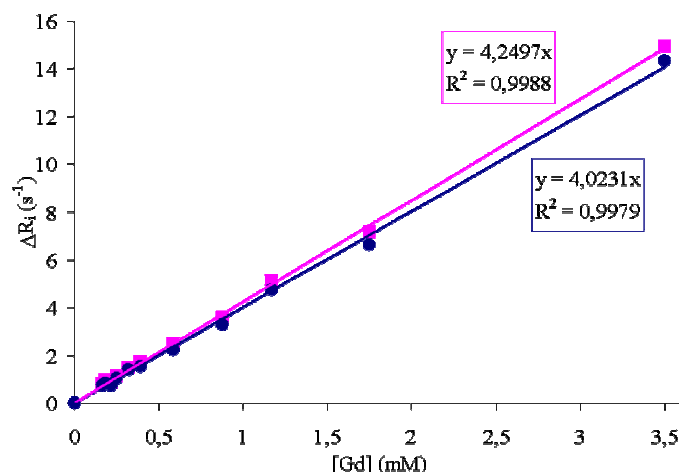


**Figure 3-III-1 :** Mesures des variations des vitesses de relaxation longitudinale ( $\Delta R_1$ , ronds bleus) et transversale ( $\Delta R_2$ , carrés roses) en fonction de la concentration en Gd-DOTA dans de l'eau distillée. Les ajustements linéaires et les cadres des équations correspondants sont également représentés avec le même code couleur.

## III.2. Mesure de l'AIF de référence

### III.2.a. Effet du sang sur la mesure de $T_2$

La Figure 3-III-2 présente la variation de vitesse de relaxation transversale mesurée sur une solution eau-sang (préparée comme décrit dans le paragraphe II.1.c) et la fraction volumique de sang dans cette solution, pour la gamme de dilutions étudiée. Cette figure présente les résultats de la moyenne sur trois mesures et leurs écarts types. Les valeurs des écarts types montrent que la mesure est reproductible.

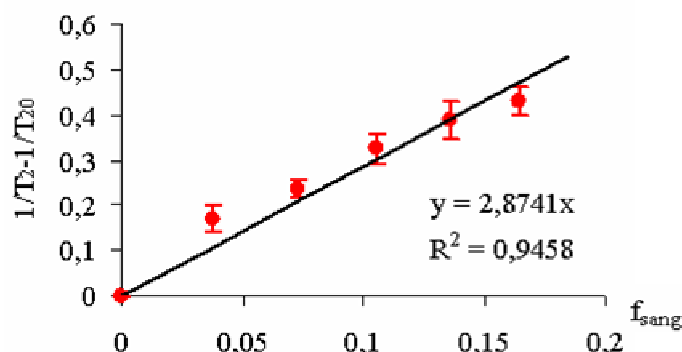


**Figure 3-III-2 :** Relation entre la variation de vitesse de relaxation transversale et la fraction volumique de sang contenue dans de l'eau distillée. La mesure a été réalisée trois fois : le graphe fait apparaître la moyenne et l'écart type des mesures de vitesses de relaxation pour chaque valeur de dilution (ronds et barres d'erreur rouges). Ligne noire : ajustement linéaire passant par l'origine.

Nous avons réalisé un ajustement linéaire sur ces données, passant par l'origine. Nous obtenons une valeur de  $s_{\text{sang}} = 2,87 \text{ s}^{-1}$ . L'ajustement linéaire ne semble toutefois pas le plus adapté.

### III.2.b. Dosage de Gd dans le sang : AIF de référence

En utilisant l'Equation 3-II-2 (avec  $s_{\text{sang}} = 2,87 \text{ s}^{-1}$  et  $r_{2\text{Gd}} = 4,25 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ), nous avons converti la valeur de  $T_2$  mesurée avec la séquence CPMG, en concentration de Gd pour chacun des tubes de sang prélevés avant, pendant et après injection de Gd-DOTA, et ceci pour 4 rats différents. Les quatre évolutions temporelles de  $[\text{Gd}]$  sont représentées sur la Figure 3-III-3a. Comme le montre cette figure, nous avons trouvé des concentrations de Gd négatives. Le nombre d'échantillons pour lesquels  $[\text{Gd}] < 0$  nous indique qu'il ne s'agit pas simplement d'un bruit de calcul. Nous avons décidé d'adapter notre modèle de conversion des valeurs de  $T_2$  en valeurs de  $[\text{Gd}]$  afin de trouver des valeurs positives et respectant la valeur de la clairance du Gd-DOTA chez le rat (4 h 30, donnée Guerbet). Notre détermination de  $r_{2\text{Gd}}$  étant en accord avec les données des laboratoires Guerbet, c'est le paramètre  $s_{\text{sang}}$  qui a été ajusté, manuellement. La valeur finale est  $2,36 \text{ s}^{-1}$ . Les AIF correspondantes sont représentées Figure 3-III-3b.

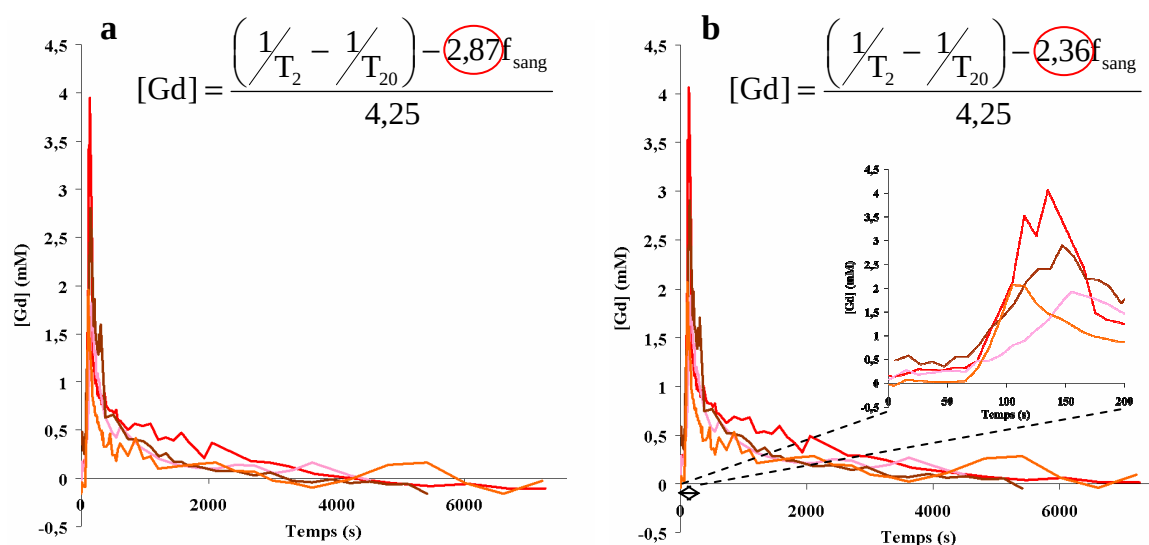


**Figure 3-III-3 :** Représentation de la première estimation des quatre AIF, échantillonnées sur quatre rats différents, avec  $s_{\text{sang}} = 2,87 \text{ s}^{-1}$  (a) et de leur estimation finale, avec  $s_{\text{sang}} = 2,36 \text{ s}^{-1}$  (b). L'insert dans la figure (b) représente l'évolution des quatre AIF durant les 200 premières secondes.

Pour chacune des AIF mesurées, nous avons déterminé  $\Delta t = t_P - t_A$ . La valeur moyenne de la durée de la phase ascendante de la courbe, entre l'arrivée de l'AC dans le sang et le temps de la concentration pic, est de  $72 \pm 17 \text{ s}$ . Les temps des prélèvements étant différents

pour chacun des échantillonnages, nous n'avons pas pu réaliser la moyenne des 4 courbes point par point. Nous avons réalisé l'ajustement de la partie décroissante par une fonction bi-exponentielle décroissante ( $A_1 \exp(-t/B_1) + A_2 \exp(-t/B_2)$ ) pour chacune des AIF. Les résultats sont présentés dans le Tableau 3-III-2. Nous avons utilisé les valeurs moyennes de ces résultats pour définir les paramètres de l'équation de l'AIF de référence (Figure 3-III-4). Ce sont ces valeurs moyennes ( $A_1$ ,  $A_2$ ,  $B_1$ ,  $B_2$ ) qui ont été utilisées pour l'analyse de chacun des rats.

| rat n°         | $A_1$ (Mm)  | $B_1$ (min <sup>-1</sup> ) | $A_2$ (Mm)  | $B_2$ (min <sup>-1</sup> ) |
|----------------|-------------|----------------------------|-------------|----------------------------|
| 1              | 1,68        | 0,57                       | 1,00        | 0,05                       |
| 2              | 1,39        | 0,45                       | 0,54        | 0,02                       |
| 3              | 1,58        | 0,92                       | 0,53        | 0,02                       |
| 4              | 3,10        | 2,12                       | 1,00        | 0,03                       |
| <b>moyenne</b> | <b>1,94</b> | <b>1,01</b>                | <b>0,76</b> | <b>0,03</b>                |

**Tableau 3-III-2 :** Résultats des ajustements bi-exponentiels décroissants réalisés sur les 4 AIF mesurées à la paillasse. La dernière ligne présente les paramètres de l'AIF de référence.

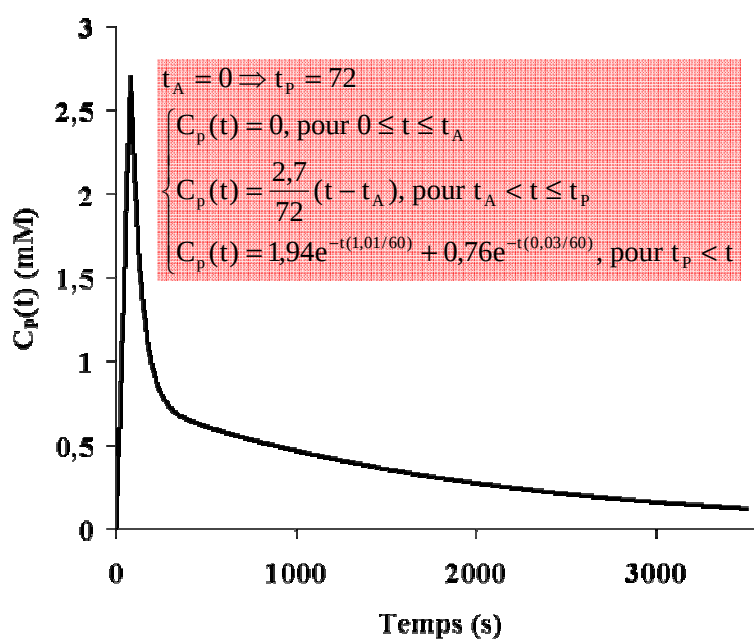


**Figure 3-III-4 :** Représentation de l'AIF de référence et de son équation. Notons qu'ici, les concentrations sont exprimées en mM et le temps en secondes.

### III.3. Mesures du VS et de l'ITV

Les résultats des mesures du volume sanguin et de l'index de taille des vaisseaux sont présentés dans le Tableau 3-III-3 et présentés sous forme d'histogrammes dans la Figure 3-III-5.

Les deux modèles de tumeurs étudiés présentent des différences uniquement au niveau de la tumeur. Le modèle RG2 présente un VS au niveau de la tumeur supérieur à celui des C6, ce dernier n'étant pas significativement différent du VS mesuré dans le cerveau sain. Le VS de la tumeur RG2 est près du double de celui du côté controlatéral (~2%).

La tendance est inversée en ce qui concerne l'ITV. Le modèle C6 a une valeur moyenne d'ITV tumorale supérieure à celle mesurée sur les tumeurs RG2. Cependant, les deux modèles ont des valeurs d'ITV au niveau de la tumeur supérieures à celles du côté controlatéral (~5  $\mu\text{m}$ ).

Hormis le modèle C6, qui présente un VS au niveau du cerveau sain légèrement supérieur à celui du muscle, les valeurs d'ITV et de VS mesurées dans le muscle et le cerveau sain ne sont pas différentes.

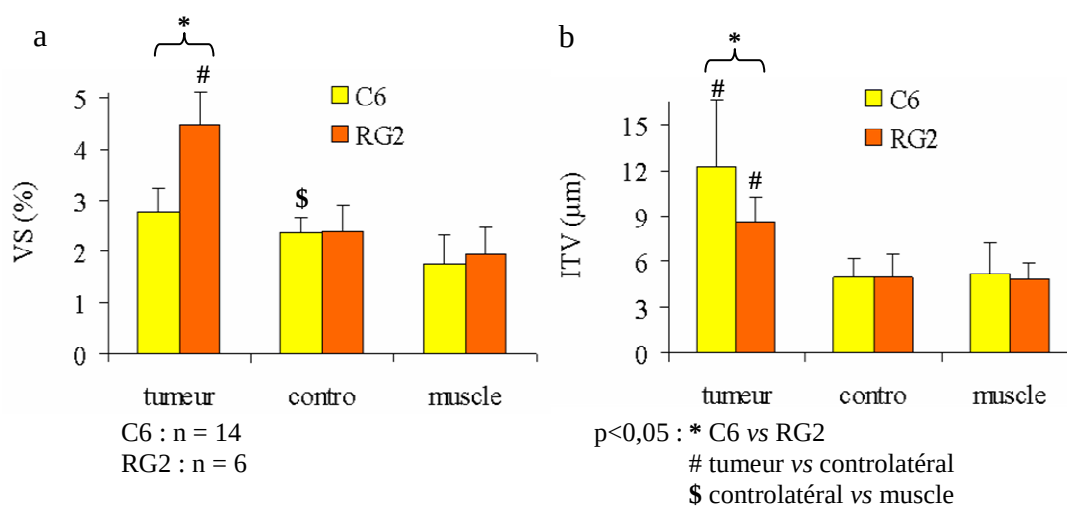


**Figure 3-III-5 :** Histogrammes des valeurs moyennes du VS **(a)** et de l'ITV **(b)**, mesurées sur les deux modèles de tumeurs C6 (jaune) et RG2 (orange), sur les trois ROI. La figure comprend une légende des tests statistiques réalisés sur les données.

|                      | VS (%)          |                      | ITV ( $\mu\text{m}$ ) |                      |
|----------------------|-----------------|----------------------|-----------------------|----------------------|
|                      | C6              | RG2                  | C6                    | RG2                  |
| <b>tumeur</b>        | $2,7 \pm 0,6^*$ | $4,5 \pm 0,6^{* \#}$ | $11,7 \pm 4,7^{* \#}$ | $8,6 \pm 1,7^{* \#}$ |
| <b>controlatéral</b> | $2,4 \pm 0,3\$$ | $2,4 \pm 0,5$        | $4,0 \pm 1,2$         | $5,0 \pm 1,5$        |
| <b>muscle</b>        | $1,8 \pm 0,6$   | $2,0 \pm 0,5$        | $5,3 \pm 2,0$         | $4,8 \pm 1,1$        |

C6 : n = 14      p<0,05 :      \* C6 vs RG2  
 RG2 : n = 6      # tumeur vs controlatéral, \$ controlatéral vs muscle

**Tableau 3-III-3** : Valeurs moyennes et écarts types du VS et de l'ITV, mesurés sur les deux modèles de tumeurs C6 et RG2, et sur les trois ROI, avec les résultats des tests statistiques.

Les marquages histologiques du collagène IV (lame basale des vaisseaux) montrent que l'architecture de la microvascularisation de la tumeur est nettement différente de la microvascularisation saine, quel que soit le modèle de tumeur (Tableau 3-III-4).

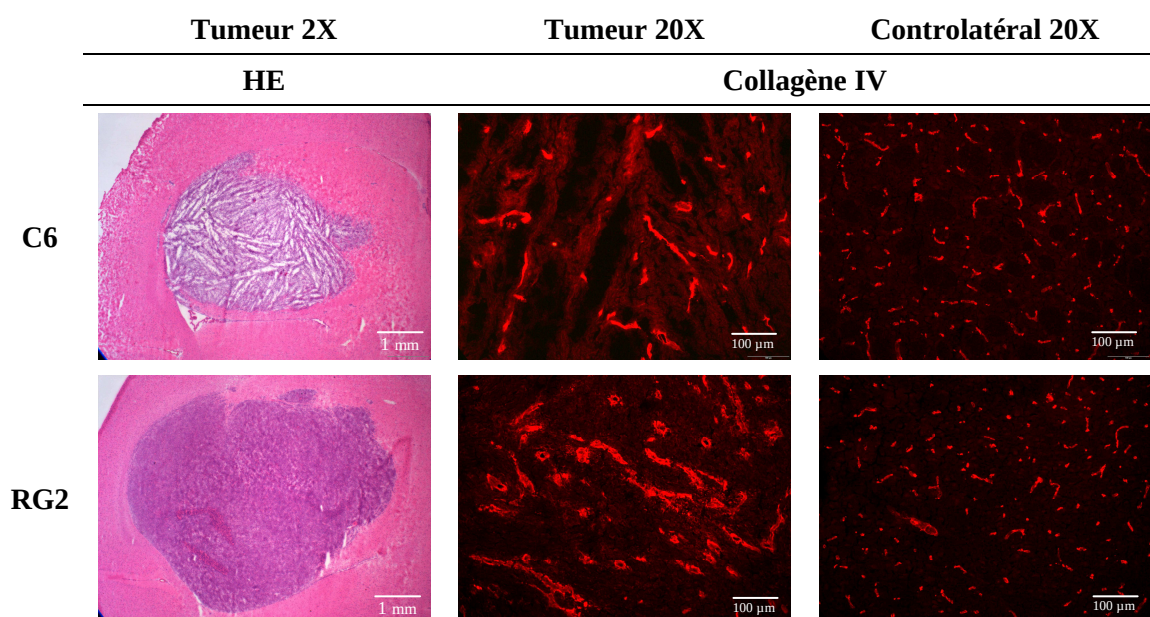


**Tableau 3-III-4** : Photos de coupes de cerveau marquées à l'anticorps anti-collagène IV et au HE, réalisées sur un rat porteur d'une tumeur du modèle C6 (ligne du haut) et sur un rat porteur d'une tumeur de type RG2 (ligne du bas). Pour les deux types de tumeurs, nous sommes 14 jours après implantation.

## III.4. Mesure de la perméabilité

### III.4.a. Faisabilité

Le premier critère de faisabilité de notre expérience de DCE-MRI est la prise de contraste lorsque l'injection du Dotarem<sup>®</sup> est précédée d'une injection de Sinerem<sup>®</sup>. Comme

le montrent les images RMN de la Figure 3-III-6, la présence d'USPIO intravasculaire permet d'observer un rehaussement de signal dû à l'extravasation du Gd-DOTA dans la tumeur. Notons que ces images (MDEFT) ont été acquises avec un TE de 5 ms alors que les images spirales ont été réalisées avec un TE de 1,6 ms.

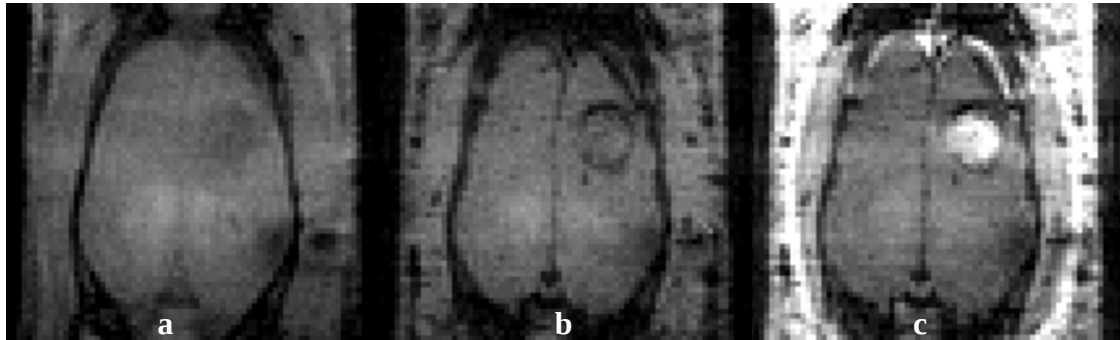


**Figure 3-III-6 :** Images pondérées  $T_1$ , acquises avec la séquence MDEFT, (a) sans agent de contraste, (b) après injection du Sinerem<sup>®</sup> et (c) après les injections de Sinerem<sup>®</sup> et Dotarem<sup>®</sup>.

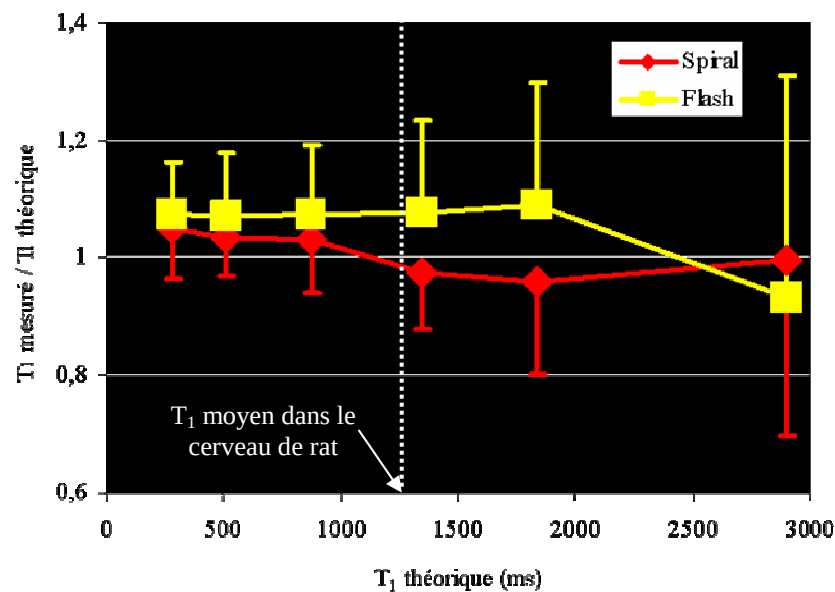


**Figure 3-III-7 :** Validation de la mesure de  $T_1$  avec les séquences FLASH et spirale (courbes jaune et rouge respectivement). Evolution du rapport de la valeur du  $T_1$  mesurée (avec les deux techniques) et de la valeur du  $T_1$  théorique, calculée à partir de  $[Gd]$  du tube et de  $r_{1Gd}$ , en fonction du  $T_1$  théorique. Les barres d'erreurs représentent l'écart type sur la valeur de  $T_1$  dans la ROI.

Le second critère est la validation de la mesure de  $T_1$  avec la séquence d'imagerie spirale munie du module d'inversion récupération. Les mesures ont été réalisées sur des échantillons dont les valeurs de  $T_1$  pouvaient être déterminées de manière analytique ( $[Gd]$  et  $r_{1Gd}$  connues). Pour chaque échantillon, nous avons calculé la valeur moyenne et l'écart type des valeurs de  $T_1$  contenues dans une ROI centrée sur l'échantillon. Les résultats montrent

que quelle que soit la séquence utilisée (FLASH ou spirale), l'écart entre les deux valeurs (mesurée et théorique) de  $T_1$  n'excède pas 10% (Figure 3-III-7). Dans le cas de la séquence spirale, la valeur de  $T_1$  est déterminée avec une précision de  $\pm 5\%$  par rapport à la valeur théorique. Notons que dans le cas de mesures *in vivo* (sur le rat sain) à 2,35 T, nous avons mesuré un  $T_1$  moyen, sur une ROI contenant l'ensemble du cerveau (tranche de 2 mm), de  $1248 \pm 173$  ms. Cette mesure de  $T_1$  a également été réalisée après une injection de Sinerem<sup>®</sup>. La valeur moyenne de  $T_1$  est réduite d'environ 8% par rapport à une mesure sans AC. La mesure du  $T_1$  par une technique d'inversion récupération étant insensible aux effets  $T_2^*$ , cette diminution du  $T_1$  moyen du tissu cérébral est due à un effet de relaxivité du Sinerem<sup>®</sup>.

### III.4.b. Décours temporels : $C_t(t)$

Des données de DCE-MRI converties en concentrations de Gd sont présentées sur la Figure 3-III-8. Il s'agit des valeurs moyennes de [Gd] sur chacune des trois ROI, pour les deux modèles de tumeurs et les deux expériences de DCE-MRI (absence et présence de Sinerem<sup>®</sup> intravasculaire).

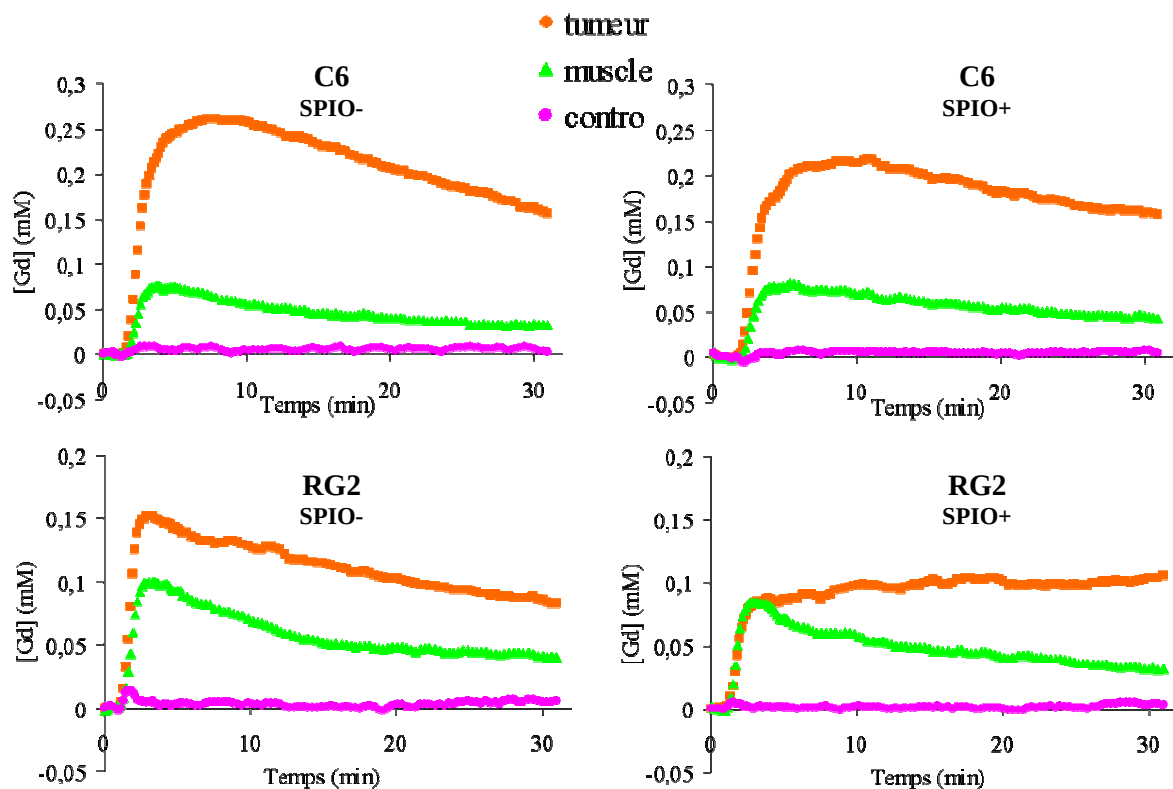


**Figure 3-III-8 :** Exemple d'évolutions temporelles de la concentration de Gd dans les trois ROI, pour les deux modèles de tumeurs et pour les deux expériences de DCE-MRI.

Pour les deux animaux présentés ici, les courbes  $C_t(t)$  dans le muscle et dans le tissu sain semblent avoir des comportements identiques et des valeurs proches, peu influencés par la présence de Sinerem<sup>®</sup>.

Les concentrations tumorales sont plus élevées pour le modèle C6 que pour le modèle RG2. Ce dernier présente un profil d'évolution temporel plus vasculaire que la tumeur C6 : la concentration pic est atteinte en 3 min contre 7 min pour le C6. Dans les deux cas, les concentrations en Gd mesurées en présence de Sinerem<sup>®</sup> sont inférieures à celles mesurées pour l'expérience SPIO-. Le comportement de la courbe, spécialement sur la partie décroissante, semble modifié par la présence de Sinerem<sup>®</sup> : la constante de temps est plus grande. Notons que dans le cas RG2, la courbe ne présente plus de phase décroissante : [Gd] SPIO+ semble augmenter sur toute la durée de l'expérience.

### III.4.c. Cartes paramétriques

Les traitements des données d'une expérience de DCE-MRI conduisent à des cartes paramétriques. Tout d'abord, nous calculons une carte de concentration de Gd par temps d'acquisition, soit 116 cartes. La Figure 3-III-9, qui ne présente qu'une carte sur cinq, est un exemple de ce qu'on obtient sur un rat porteur d'une tumeur de type RG2. Les images en (a) sont les données brutes (signal RMN) et les images en (b) sont les cartes de [Gd] correspondantes. Les deux premières cartes, issues des données acquises avant l'injection de l'AC, sont, au bruit près, à un niveau de concentration nulle. L'évolution du contraste des zones où le Gd s'est extravasé suit une croissance rapide, puis une décroissance lente reflétant l'élimination du produit. On note que, dans le cerveau, seule la tumeur présente des valeurs de concentrations non nulles : le Gd ne s'extravase pas dans le tissu sain.

Après détermination des paramètres pharmacocinétiques à partir de l'évolution temporelle de [Gd] et de l'AIF (Figure 3-III-10), nous disposons d'une carte par paramètre, par rat et par expérience. Sur la

Figure 3-III-11, nous avons représenté ces cartes pour un rat par modèle de tumeur étudié (1 Wistar avec C6 et 1 Fischer avec RG2) et pour les expériences de DCE-MRI SPIO- et SPIO+. Pour chaque paramètre, les quatre cartes (2 rats x 2 expériences) sont représentées avec la même échelle afin de pouvoir les comparer, de manière qualitative.

Concernant la mesure de perméabilité seule (SPIO-) et au niveau du cerveau sain, les données sont comparables entre les deux rats, quel que soit le paramètre considéré. On note des valeurs fortement bruitées pour  $k_{ep}$ . Pour le muscle, seule la valeur de  $k_{ep}$  semble plus élevée chez le rat Wistar que chez le rat Fischer. En ce qui concerne les tumeurs, nous observons des différences :  $v_p$  apparaît nettement plus élevé dans la tumeur RG2 tandis que les valeurs de  $K^{trans}$  au niveau de la tumeur C6 sont supérieures à celles de la tumeur RG2. Les cartes de  $v_e$  et de  $k_{ep}$  ne présentent pas de différence majeure entre les deux rats.

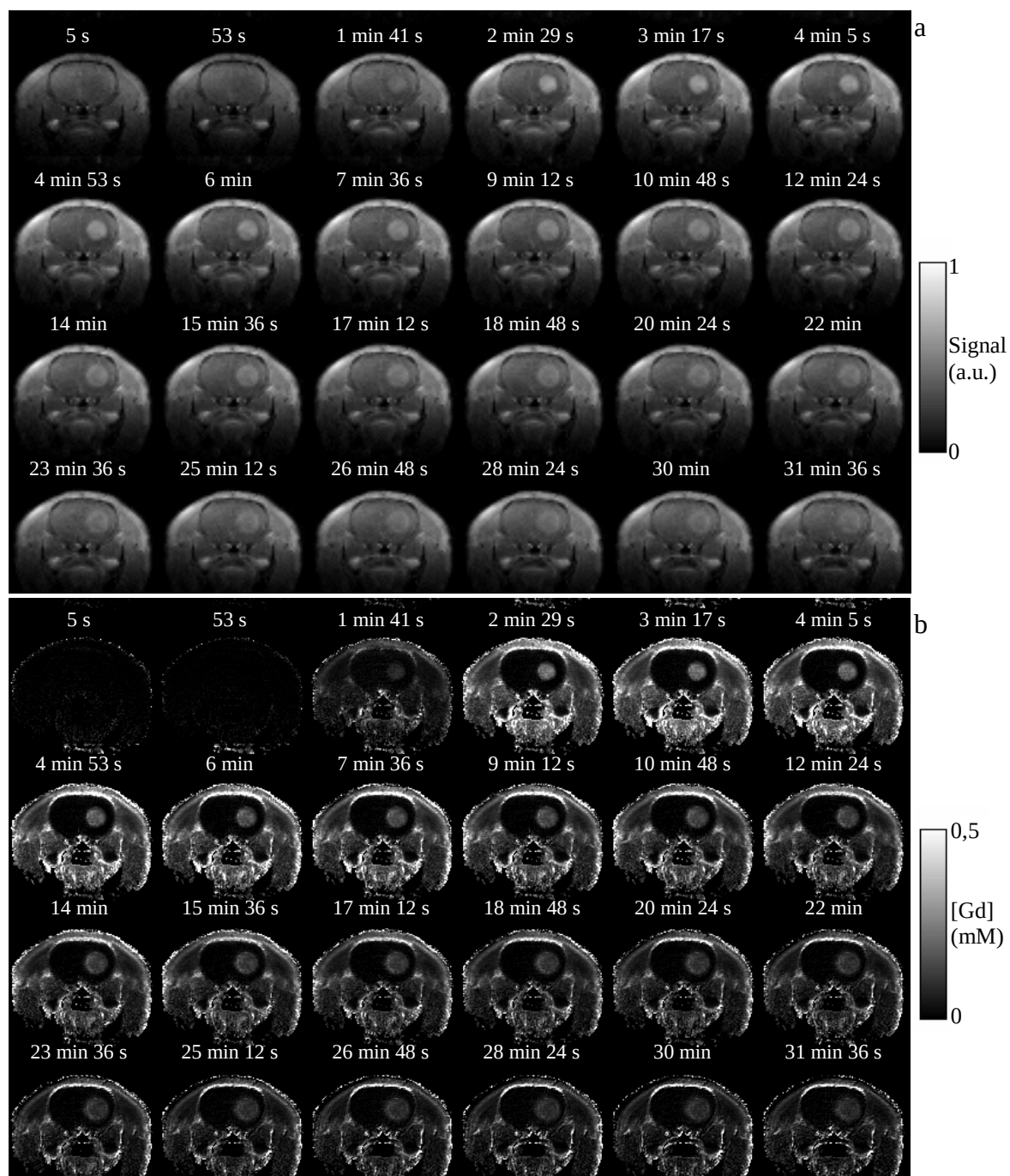


**Figure 3-III-9 :** (a) 24 des 116 images acquises au cours du temps lors d'une expérience de DCE-MRI SPIO- (une images sur cinq). (b) Cartes de concentration de Gd correspondantes. Ces données ont été obtenues sur un rat porteur d'une tumeur de type RG2.

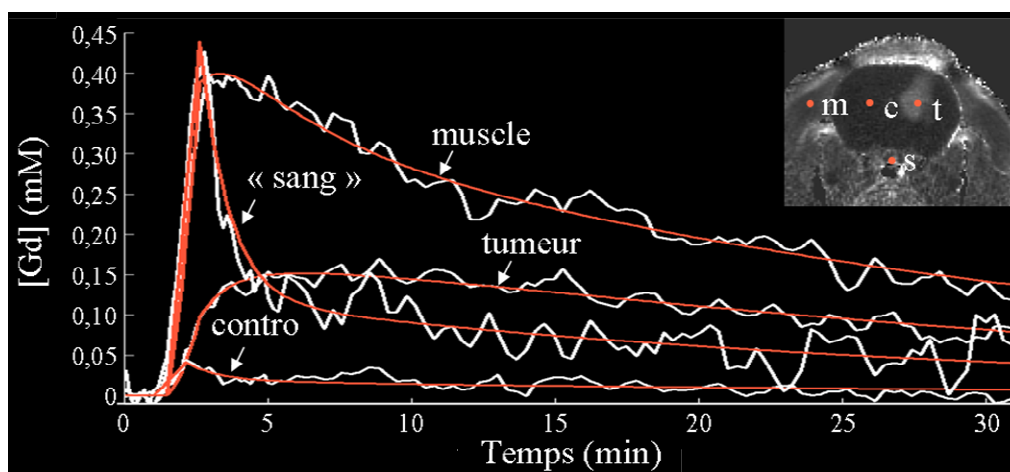


**Figure 3-III-10 :** Quatre exemples d'ajustement de la fonction modèle (orange) sur les décours temporels  $C_i(t)$  (blanc), issus de quatre pixels représentant des comportements caractéristiques : les tissus cérébraux sains et tumoraux, le muscle et le "sang". La localisation des pixels est indiquée sur la carte de [Gd].

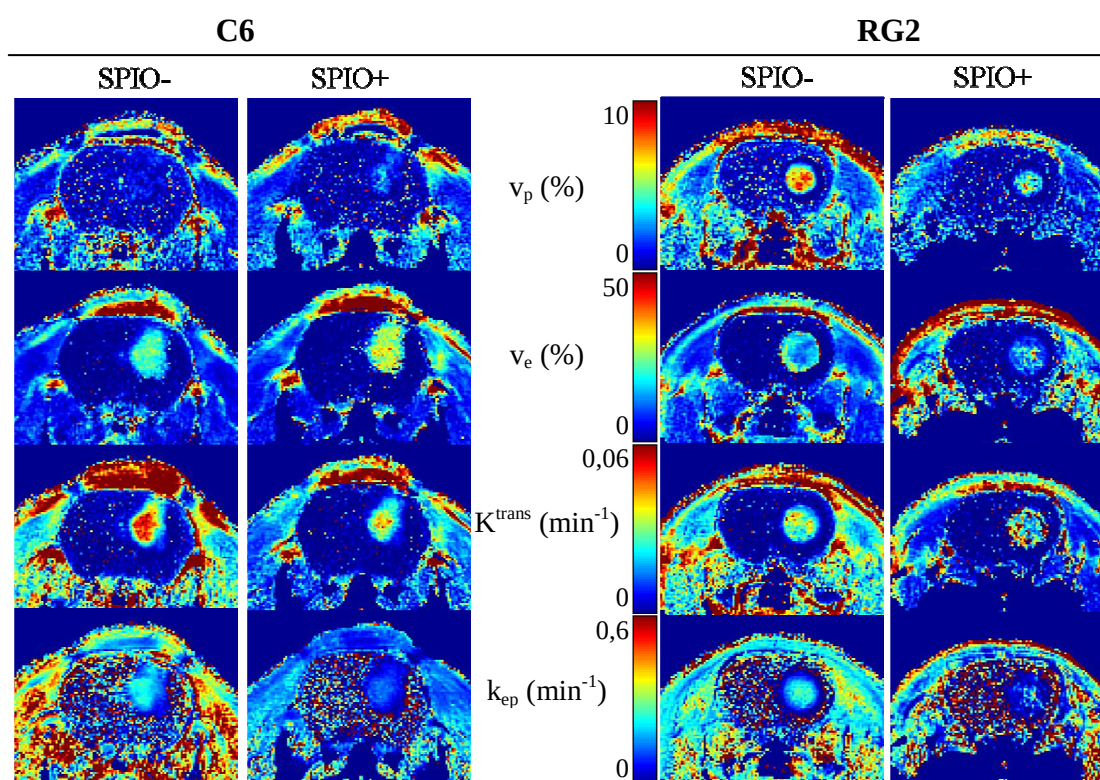


**Figure 3-III-11 :** Exemple de cartes paramétriques obtenues sur un rat porteur d'une tumeur de type C6 (gauche) et d'un rat porteur d'une tumeur de type RG2 (droite). Pour chacun des paramètres représentés ( $v_p$ ,  $v_e$ ,  $K^{trans}$  et  $k_{ep}$ , de haut en bas) les cartes SPIO- et SPIO+ sont présentées.

Les cartes SPIO+ ont, d'une manière générale, moins de pixels non nuls : la présence du Sinerem<sup>®</sup> diminue le RSB des données brutes, par conséquent, un plus grand nombre de pixels est exclu du traitement. On constate également que les cartes sont plus hétérogènes et

en particulier au niveau des tumeurs. L'analyse quantitative est présentée dans le paragraphe III.4.d.

Précisons que toutes les observations réalisées ici sont issues de la comparaison de deux animaux extraits du groupe de 20. Les résultats présentés par la suite sont des moyennes sur des groupes d'animaux et, bien que les deux animaux que nous venons de décrire soient représentatifs de chacun des types de tumeurs, il est possible que les résultats soient modifiés.

#### **III.4.d. Comparaison des deux modèles de tumeurs**

Les résultats des mesures des différents paramètres pharmacocinétiques sont présentés sous forme de tableau (Tableau 3-III-5) et sous forme d'histogrammes (Figure 3-III-12), pour les deux groupes d'animaux étudiés.

Comme nous l'avons déjà vu pour la mesure du VS et de l'ITV, les deux modèles de tumeurs étudiés présentent des différences uniquement au niveau de la tumeur. La différence de valeur de  $K^{\text{trans}}$  au niveau de la ROI controlatérale est probablement due à un bruit de calcul, les valeurs étant quasiment nulles.

Au niveau de la tumeur, le paramètre  $v_p$  se comporte comme le VS : celui des tumeurs RG2 est supérieur à celui des tumeurs C6. Dans les deux modèles de tumeurs, le volume plasmatique est supérieur au volume mesuré dans le tissu sain. Cependant, le tissu sain présente une valeur de  $v_p$  bien inférieure aux valeurs de la littérature ou aux valeurs de VS. Enfin, le muscle qui présente des valeurs identiques pour les deux modèles de rats, montre un volume plasmatique supérieur à celui mesuré dans les tumeurs. Toutes ces tendances sont inversées avec la mesure de  $v_e$  : elle est plus grande pour les C6 que pour les RG2 et les valeurs dans les deux types de tumeurs sont supérieures à celles du muscle. Seule la valeur de  $v_e$  au niveau du cerveau sain reste anormalement faible.

Les paramètres caractérisant la cinétique des transferts à travers la BHE,  $K^{\text{trans}}$  et  $k_{ep}$ , ont des comportements opposés pour les tumeurs C6 et RG2. La constante de transfert des tumeurs C6 est supérieure à celle des tumeurs RG2, (les moyennes ne sont cependant pas significativement différentes) et, dans les deux cas, les valeurs largement supérieures au côté controlatéral indiquent l'aspect perméable de ces tumeurs. Le paramètre  $k_{ep}$  est plus élevé pour les RG2. Une nouvelle fois, le tissu sain présente une valeur de  $k_{ep}$  inattendue, non nulle. Les valeurs de ces deux paramètres trouvées pour le muscle reflètent le caractère perméable de la paroi des vaisseaux non cérébraux.

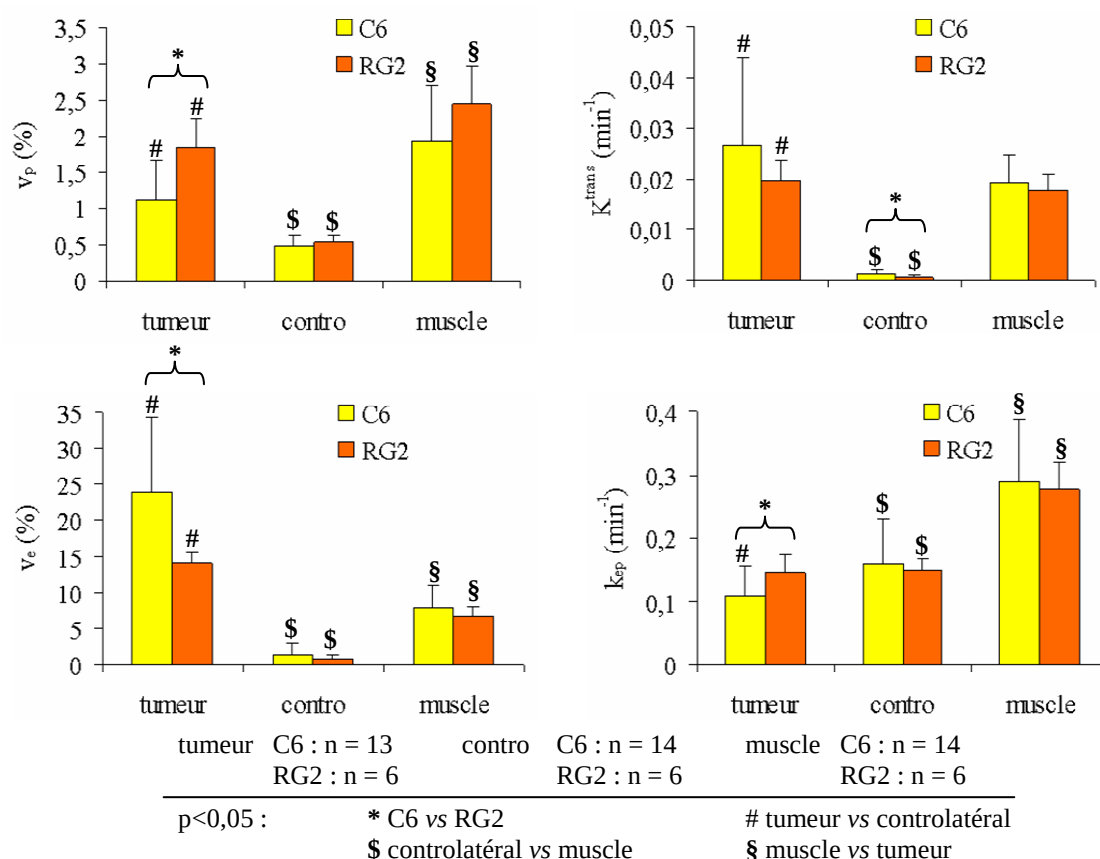


**Figure 3-III-12 :** Valeurs des paramètres  $v_p$ ,  $v_e$ ,  $K^{trans}$  et  $k_{ep}$  mesurées sur les modèles de tumeurs C6 (jaune) et RG2 (orange), pour les trois ROI. Les valeurs sont représentées sous la forme de moyennes et d'écarts types.

|                            | C6                                                                                                | RG2         | C6                             | RG2           |
|----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|--------------------------------|---------------|
|                            | $v_p$ (%)                                                                                         |             | $v_e$ (%)                      |               |
| tumeur                     | 1,1 ± 0,6*#                                                                                       | 1,8 ± 0,4*# | 24,0 ± 10,3*#                  | 14,0 ± 1,6*#  |
| controlatéral              | 0,5 ± 0,2\$                                                                                       | 0,5 ± 0,1\$ | 1,2 ± 1,7\$                    | 0,7 ± 0,5\$   |
| muscle                     | 1,9 ± 0,8§                                                                                        | 2,4 ± 0,5§  | 7,7 ± 3,4                      | 6,7 ± 1,3     |
|                            | $K^{trans}$ ( $10^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$ )                                                   |             | $k_{ep}$ ( $\text{min}^{-1}$ ) |               |
| tumeur                     | 2,7 ± 1,7#                                                                                        | 2,0 ± 0,4#  | 0,11 ± 0,05*#                  | 0,15 ± 0,03*  |
| controlatéral              | 0,1 ± 0,1\$                                                                                       | 0,0 ± 0,0\$ | 0,16 ± 0,07\$                  | 0,15 ± 0,02\$ |
| muscle                     | 1,9 ± 0,3§                                                                                        | 1,8 ± 0,3§  | 0,29 ± 0,1§                    | 0,28 ± 0,04§  |
| C6 : n = 14<br>RG2 : n = 6 | p<0,05 : * C6 vs RG2<br># tumeur vs controlatéral, \$ controlatéral vs muscle, § muscle vs tumeur |             |                                |               |

**Tableau 3-III-5 :** Valeurs moyennes et écarts types des paramètres  $v_p$ ,  $v_e$ ,  $K^{trans}$  et  $k_{ep}$  mesurés sur les modèles de tumeurs C6 et RG2, sur les trois ROI, avec les résultats des tests statistiques.

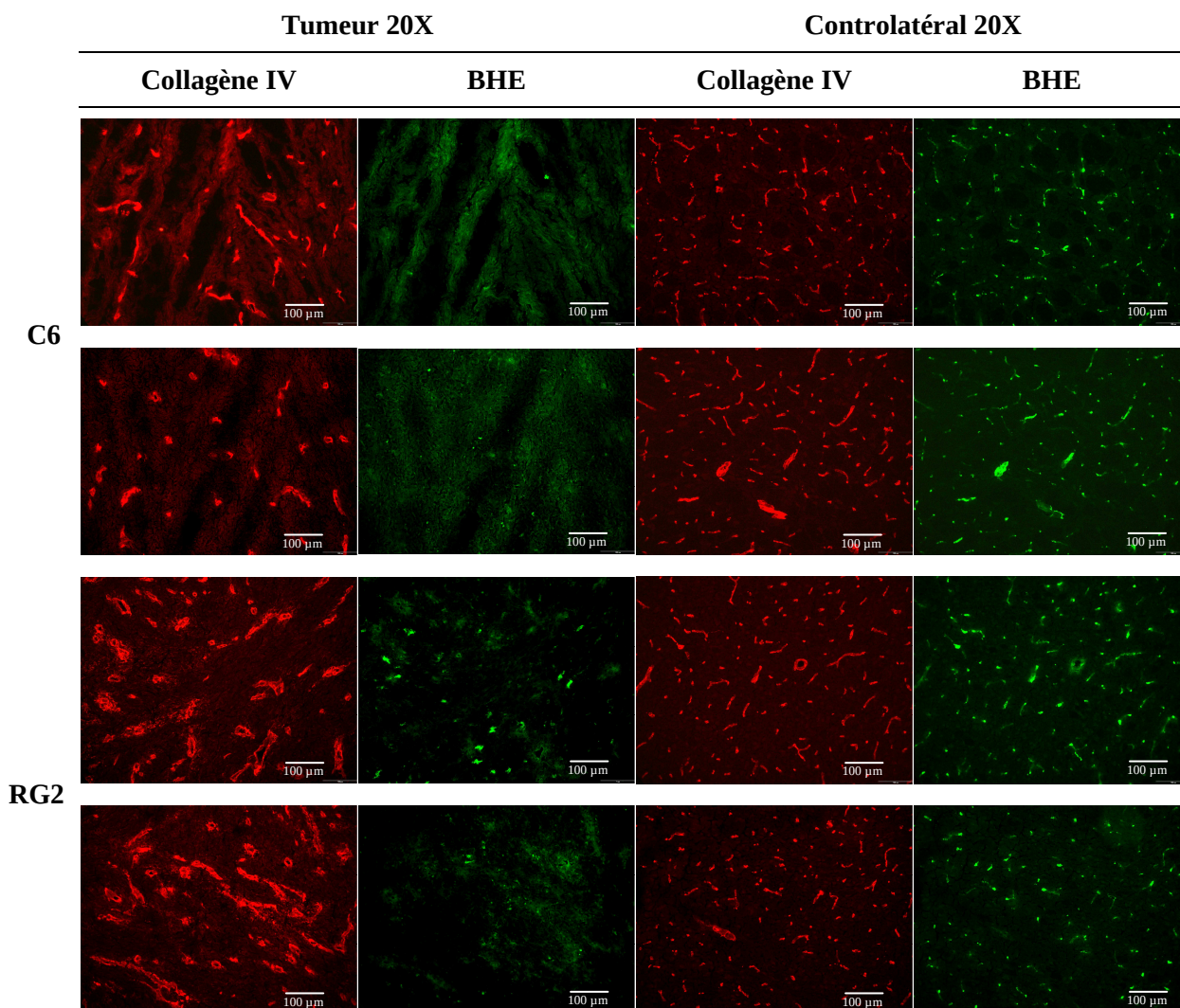


**Figure 3-III-13 :** Photos de coupes de cerveau avec des marquages du collagène IV (rouge) et de la BHE (vert), réalisées sur des rats porteurs d'une tumeur du modèle C6 (deux lignes du haut) et sur des rats porteurs d'une tumeur de type RG2 (deux lignes du bas). On note une présence du marquage de la BHE dans les tumeurs RG2 plus importante que dans les tumeurs C6.

Les photos des coupes où sont marqués le collagène IV (lame basale) et des protéines de la BHE montrent une parfaite concordance spatiale dans le cerveau sain. Dans les zones tumorales où les vaisseaux sont fortement déstructurés, le marquage de la BHE est peu ou pas présent. Les tumeurs RG2 présentent néanmoins plus de spots marqués BHE que les tumeurs C6, mais ils ne sont quasiment jamais colocalisés avec un marquage du collagène IV. Des photos des zones saines et tumorales sont présentées dans la Figure 3-III-13 pour 4 rats (deux pour chaque modèle de tumeur).

### III.4.e. Influence du Sinerem<sup>®</sup> sur la mesure

Les résultats des expériences de DCE-MRI SPIO- et SPIO+ sont présentés, pour les 20 animaux (C6 et RG2 confondus), sous forme de graphes (SPIO+ en fonction de SPIO-) et d'histogrammes (Figure 3-III-14). Pour chaque paramètre pharmacocinétique, nous avons réalisé un ajustement linéaire des données SPIO+ en fonction des données SPIO-. Les résultats de ces ajustements pour chaque ROI et pour chaque modèle de tumeur sont présentés dans le Tableau 3-III-6.

Comme le montrent les coefficients directeurs des ajustements linéaires des données SPIO+ en fonction de SPIO-, la tendance générale est une diminution de la valeur déterminée en présence de Sinerem<sup>®</sup> (quel que soit le paramètre et la ROI considérés) par rapport à la valeur originelle. Lorsque que l'ajustement est réalisé sur un grand nombre d'animaux ( $n = 20$ ) et sur l'ensemble des ROI, le coefficient de détermination est relativement bon, si on exclue le cas de  $k_{ep}$  ( $R^2 = 0,07$ ). La meilleure valeur est obtenue pour la constante de transfert  $K^{trans}$  ( $R^2 = 0,85$ ), où l'on trouve  $K^{trans}_{SPIO+} = 0,76 \times K^{trans}_{SPIO-}$ .

Si l'on regarde les deux modèles de tumeurs séparément, les ajustements linéaires réalisés sur l'ensemble des valeurs des trois ROI présentent de bons coefficients de détermination pour les paramètres  $v_p$ ,  $v_e$  et  $K^{trans}$ . On remarque que si la valeur de  $R^2$  dans le cas de  $k_{ep}$  reste la plus faible, elle s'est améliorée. Le paramètre  $K^{trans}$  reste le paramètre qui affiche la meilleure corrélation entre les données SPIO- et les données SPIO+. Les résultats ROI par ROI sont dans l'ensemble moins précis ( $R^2$  diminue). Ceci pourrait être dû au fait que le nombre de points permettant de réaliser l'ajustement est fortement diminué.

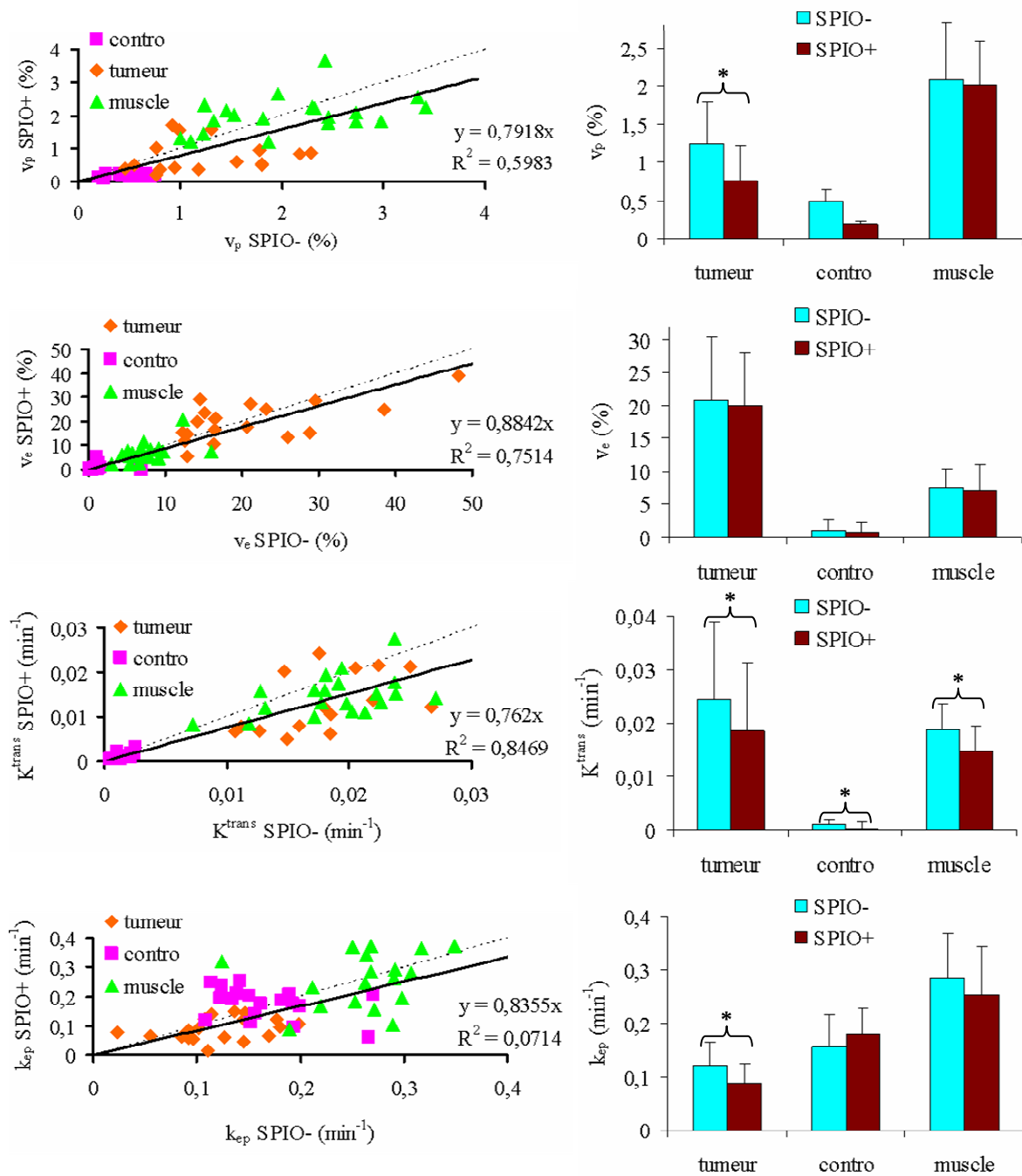


**Figure 3-III-14 :** Pour chacun des paramètres  $v_p$ ,  $v_e$ ,  $K^{trans}$  et  $k_{ep}$  :

- un graphe représentant les valeurs mesurées lors des expériences SPIO+ en fonction des valeurs SPIO-, pour l'ensemble des animaux ( $n = 20$ ) et pour chacune des ROI. La droite pointillée est la droite identité, celle en trait plein est le résultat de l'ajustement linéaire sur l'ensemble des points.
- un histogramme des valeurs moyennes et écarts types mesurés lors des expériences SPIO- (bleu) et SPIO+ (marron), sur les trois ROI, sur l'ensemble des animaux. Les étoiles (\*) indiquent les résultats significativement différents entre SPIO+ et SPIO-.

|             |     | 3 ROI ensemble |                | ROI Tumeur |                | ROI Controlatérale        |                | ROI Muscle               |                |
|-------------|-----|----------------|----------------|------------|----------------|---------------------------|----------------|--------------------------|----------------|
|             |     | équation       | R <sup>2</sup> | équation   | R <sup>2</sup> | équation                  | R <sup>2</sup> | équation                 | R <sup>2</sup> |
| $v_p$       | C6  | 0,87x          | 0,68           | 0,86x      | 0,11           | 0,05x                     | 0,03           | 0,34x+1,24               | 0,32           |
|             | RG2 | 0,69x          | 0,52           | 0,37x      | 0,54           | -0,26x-0,34               | 0,23           | -0,22x+2,83              | 0,03           |
| $v_e$       | C6  | 0,85x          | 0,80           | 0,49x+9,84 | 0,47           | -0,04x+0,97               | 0,00           | 0,92x                    | 0,27           |
|             | RG2 | 1,13x          | 0,66           | 1,18x      | 0,06           | 0,27x                     | 0,03           | 0,13x+5,45               | 0,00           |
| $K^{trans}$ | C6  | 0,80x          | 0,87           | 0,81x      | 0,79           | 0,81x                     | 0,64           | 0,41x+8.10 <sup>-3</sup> | 0,24           |
|             | RG2 | 0,60x          | 0,76           | 0,51x      | 0,42           | -0,11x-1.10 <sup>-3</sup> | 0,02           | 0,32x+7.10 <sup>-3</sup> | 0,06           |
| $k_{ep}$    | C6  | 0,38x+0,1      | 0,22           | 0,44x+0,05 | 0,35           | -0,27x+0,22               | 0,12           | -0,06x+0,27              | 0,01           |
|             | RG2 | 0,48x+0,08     | 0,25           | 0,28x+0,05 | 0,11           | -0,29x+0,22               | 0,11           | 0,02x+0,25               | 0,00           |

**Tableau 3-III-6 :** Résultats des ajustements linéaires réalisés sur les données SPIO+ en fonction de SPIO-, pour chacun des paramètres  $v_p$ ,  $v_e$ ,  $K^{trans}$  et  $k_{ep}$ , et pour les deux groupes de rats (C6 et RG2). Les ajustements ont été réalisés sur tous les points de chaque groupe et sur les points de chacune des trois ROI. Pour chaque équation, le coefficient de détermination  $R^2$  est indiqué. Pour chaque ensemble de points, nous avons réalisé un ajustement linéaire passant par l'origine et un ajustement linéaire simple. Le résultat affiché correspond à l'ajustement présentant le meilleur  $R^2$ . Si les  $R^2$  sont égaux, nous avons choisi l'ajustement passant par l'origine.

### III.5. Extravasation du Sinerem<sup>®</sup>

Les résultats du traitement des expériences de DCE-MRI avec du Sinerem<sup>®</sup> sont exprimés en valeurs de  $\Delta R_1$ , afin de pouvoir être comparé aux résultats obtenus avec le Dotarem<sup>®</sup>. Les paramètres pharmacocinétiques n'ont pas été déterminés car nous ne disposons pas de l'AIF de référence pour le Sinerem<sup>®</sup>.

L'évolution de la valeur moyenne dans une ROI de  $\Delta R_1$  en fonction du temps a été tracée pour chacune des trois ROI et pour chacun des 4 rats (Figure 3-III-15). Les comportements des tissus musculaire et controlatéral sont identiques pour les deux modèles de tumeurs. Au moment du passage du bolus, on note une augmentation de  $R_1$  dans le muscle, c'est-à-dire une diminution de  $T_1$ . Après le passage du bolus, la valeur de  $T_1$  reste constante : le Sinerem<sup>®</sup> ne s'extravase pas. Dans le tissu cérébral sain, on observe une diminution du  $\Delta R_1$  au moment du passage du bolus. Dans ce cas, il s'agit d'un effet de susceptibilité, et donc d'une chute du  $T_2^*$ , qui induit une diminution du signal. Comme pour le muscle, la valeur de  $R_1$  reste stable dans la suite de l'expérience ce qui montre que le Sinerem<sup>®</sup> est intravasculaire.

Dans les tumeurs, l'évolution de  $R_1$  est différente. Dans le cas des tumeurs RG2, on observe un rehaussement progressif du signal et donc de  $\Delta R_1$ , caractéristique d'une cinétique d'extravasation de l'AC. Les deux rats étudiés présentent des comportements différents. La variabilité dans la quantité d'USPIO injectée peut être une des raisons de cette observation.

Pour le modèle C6, ce rehaussement existe mais son amplitude est extrêmement faible par rapport au cas RG2.

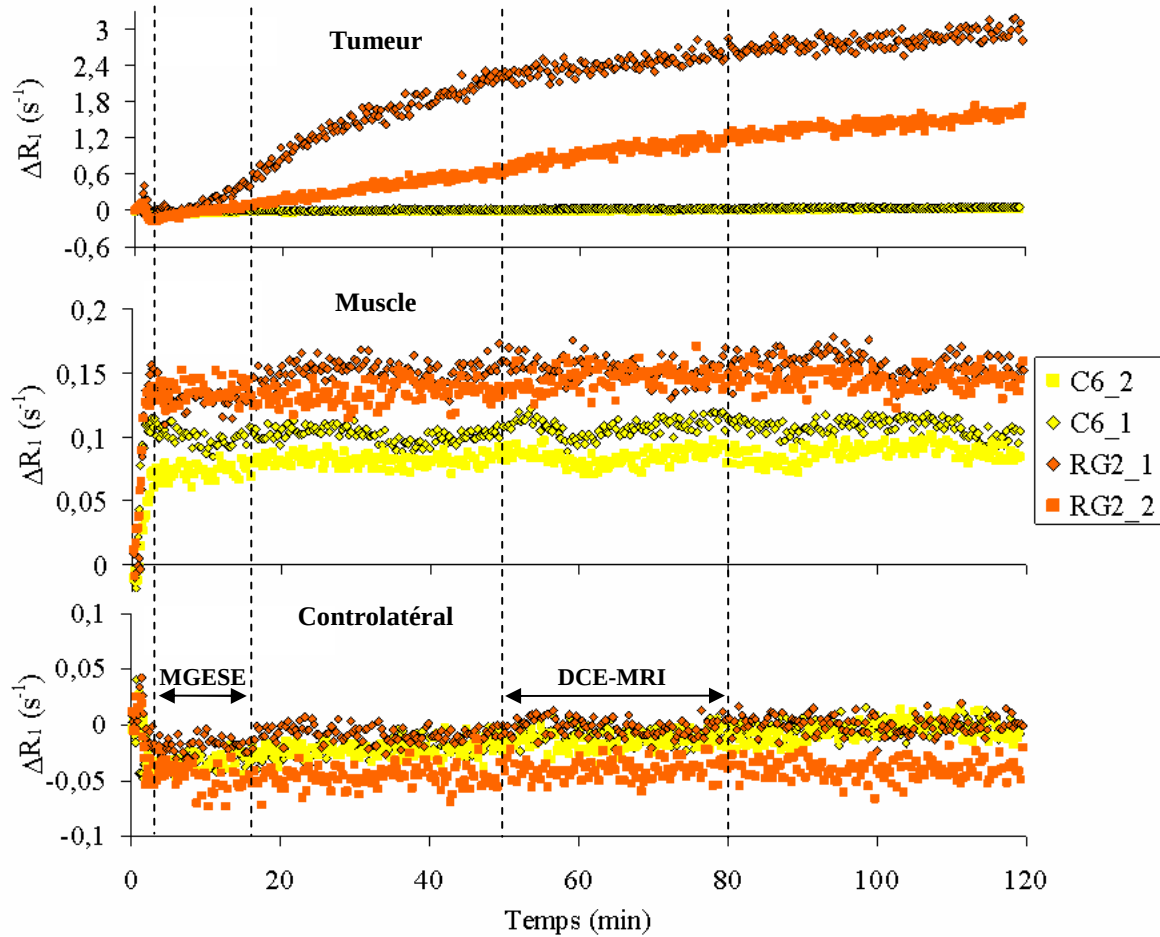


**Figure 3-III-15 :** Variations des vitesses de relaxation longitudinale au cours du temps lors d'une expérience de DCE-MRI avec injection de Sinerem<sup>®</sup>. Les mesures ont été effectuées sur les trois ROI, pour 2 rats porteurs d'une tumeur C6 (courbes jaunes) et 2 rats porteurs d'une tumeur RG2 (courbes orange). Les pointillés indiquent les périodes pendant lesquelles se déroulent la deuxième séquence MGESE et l'expérience de DCE-MRI SPIO+.

Les observations des marquages des macrophages, que ce soit en visible ou en fluorescence, montrent que les tumeurs présentent un nombre élevé de macrophages par rapport au tissu sain et périphérique (Figure 3-III-16). Toutefois, on note que leur répartition est inégale dans le cas des tumeurs C6. Les macrophages sont présents sur les bords de la tumeur sous forme d'amas, tandis que le centre n'est quasiment pas marqué. Dans le cas des RG2, la présence de macrophages semble plus importante et uniforme sur toute la tumeur.

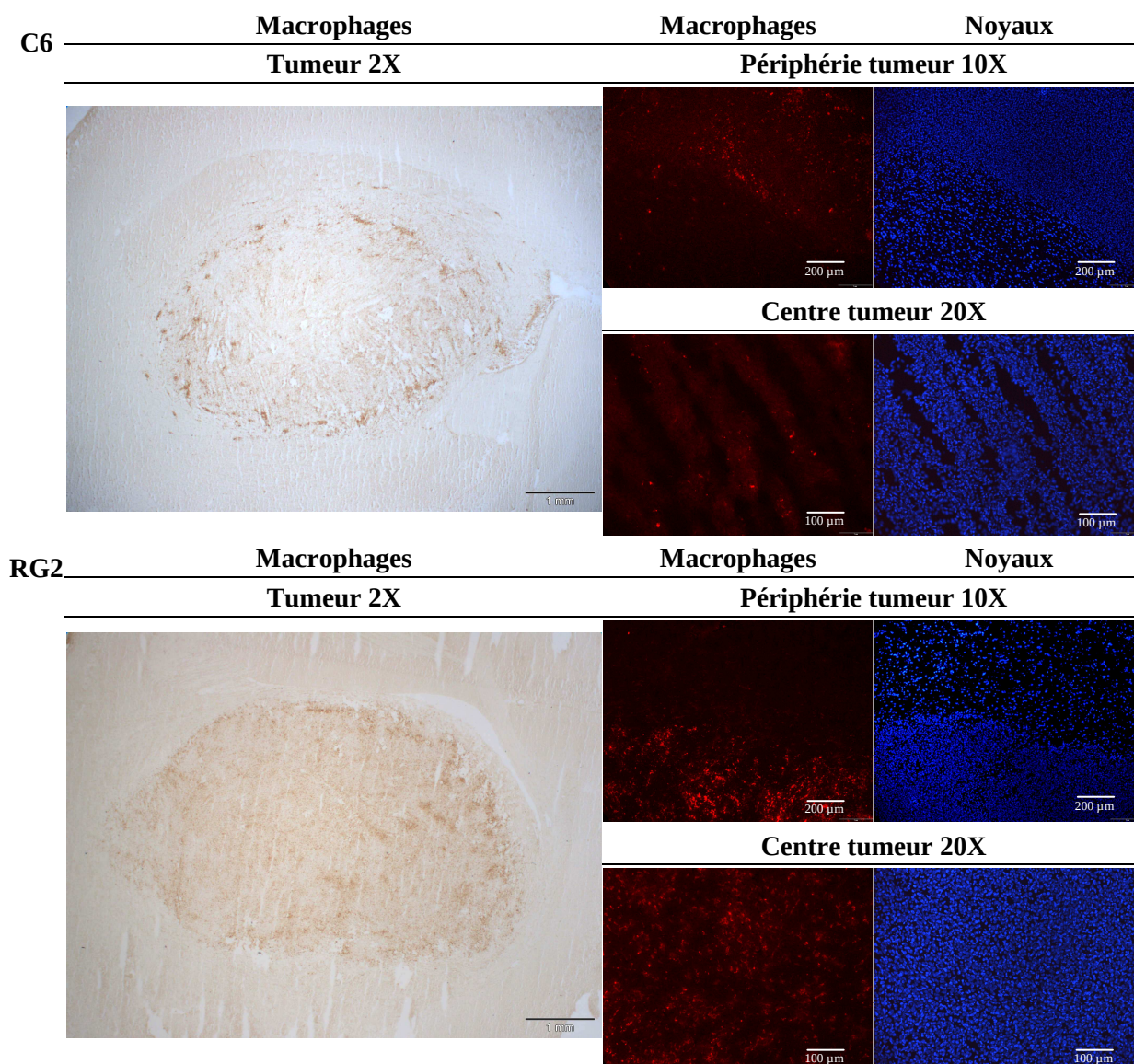


**Figure 3-III-16** : Photos de coupes de cerveau avec des marquages des macrophages (visible et rouge) et des noyaux (bleu), réalisées sur un rat porteur d'une tumeur du modèle C6 (haut) et sur un rat porteur d'une tumeur de type RG2 (bas).

## IV. Discussion et conclusion

Les résultats montrent qu'il est possible d'ajouter une mesure de la perméabilité de la BHE au protocole de mesure de VS et d'ITV. La détermination de l'AIF reste ardue et l'hypothèse sur le caractère intravasculaire du Sinerem<sup>®</sup> est à creuser. Les mesures de perméabilité sur les modèles de gliomes C6 et RG2 étayent l'idée que chacun des modèles possède un comportement vasculaire particulier.

Les valeurs de relaxivité du Dotarem<sup>®</sup> obtenues à 2,35 T et à température ambiante ont été utilisées pour déterminer les concentrations de Gd dans des tubes et chez l'animal. Pour les mesures sur les tubes, les valeurs de relaxivité mesurées étaient parfaitement adaptées puisque les mesures ont été réalisées sur des échantillons dilués avec de l'eau et à température ambiante. Pour les mesures chez l'animal, l'utilisation de ces valeurs de relaxivité est plus discutable (<sup>86</sup>Stanisz, G.J. *et al.* 2000). En effet, comme nous l'avons souligné dans le chapitre d'introduction générale, ces valeurs sont sensibles à la température et au milieu dans lequel se trouve l'AC. S'il était envisageable de réaliser une mesure de relaxivité  $r_{1Gd}$  à 37°C, nous n'avions aucun moyen expérimental pour déterminer les valeurs exactes de relaxivité dans chacun des tissus du cerveau. L'impact de cette incertitude reste toutefois limité puisque notre objectif n'était pas de réaliser une quantification absolue du Gd dans le cerveau mais d'étudier l'évolution temporelle relative de la concentration en AC afin de déterminer les paramètres pharmacocinétiques et d'évaluer la perméabilité au Gd-DOTA. Enfin, notons que la valeur de  $r_{1Gd}$  utilisée est très proche de ce qu'on trouve dans la littérature (à 37°C et à 2,35 T, <sup>31</sup>Fonchy, E. *et al.* 2001) et en accord avec celle des laboratoires Guerbet (à 37°C et à 2,35 T).

Pour la mesure de l'AIF, point sensible des techniques de mesure de perméabilité, nous avons proposé une nouvelle méthode. La détermination de l'AIF de référence, à partir de mesures effectuées sur quatre animaux différents, a fourni les paramètres d'amplitude et les constantes de temps caractérisant la partie décroissante de la fonction  $C_p(t)$ , commune à tous les rats. Par contre, la partie croissante de  $C_p(t)$ , correspondant à l'arrivée de l'AC dans le sang, a été déterminée individuellement pour chacun des 20 rats. Ainsi, pour chaque rat, l'AIF utilisée était un mélange de données provenant du rat étudié et de l'AIF de référence.

Nos résultats ont montré que l'approche que nous souhaitions utiliser pour mesurer la concentration de Gd dans le sang par IRM n'était pas satisfaisante. Nous avons toutefois

conservé nos résultats pour obtenir l'AIF de référence. Nous n'avons pas trouvé de résultats de mesure d'AIF sur le petit animal dans la littérature. Les informations dont nous disposons concernent des mesures réalisées par IRM au niveau d'une veine (<sup>103</sup>Weidensteiner, C. *et al.* 2006, <sup>60</sup>McIntyre, D.J. *et al.* 2004). Le Tableau 3-IV-1 montre que les résultats sont assez hétérogènes, mais, pour chacun des jeux de paramètres, la dose, le mode d'injection et la technique de mesure sont différents.

|                             | Lieu de la mesure | A <sub>1</sub> (mM) | B <sub>1</sub> (min <sup>-1</sup> ) | A <sub>2</sub> (mM) | B <sub>2</sub> (min <sup>-1</sup> ) |
|-----------------------------|-------------------|---------------------|-------------------------------------|---------------------|-------------------------------------|
| McIntyre <i>et al.</i>      | veine de la queue | 1,23                | 2,10                                | 0,59                | 0,05                                |
| Weidensteiner <i>et al.</i> | veine jugulaire   | 0,5                 | 0,82                                | 0,60                | 0,05                                |
| Notre étude                 | artère fémorale   | 1,94                | 1,01                                | 0,76                | 0,03                                |

**Tableau 3-IV-1 :** Comparaison des paramètres de la partie bi-exponentielle de l'AIF, ou assimilé, chez le rat.

Si nous avons travaillé dans l'hypothèse d'invariabilité interanimal des paramètres A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, B<sub>1</sub> et B<sub>2</sub> (hypothèse qui reste à vérifier), nous avons pris soin d'adapter l'AIF à chaque animal en termes de temps d'arrivée et temps du pic. Etant donnée la variabilité interanimal de la dose injectée et de la longueur du cathéter utilisée (volume mort), ces adaptations nous ont permis de diminuer les erreurs qu'une détermination imparfaite de l'AIF introduit dans le traitement des données de DCE-MRI.

Nous n'allons pas rediscuter ici des résultats et des limitations de la technique de mesure de VS et d'ITV. Notons simplement que nos résultats pour ces mesures sur les modèles C6 et RG2 sont en parfait accord avec les résultats d'expériences similaires réalisées au laboratoire (<sup>98</sup>Valable, S. *et al.* 2007). Ces expériences avaient montré une bonne corrélation entre les résultats IRM et histologiques, concernant la comparaison tumeur vs tissu controlatéral. De plus, les mesures de VS et d'ITV renseignent sur un paramètre lié à notre problématique : la surface vasculaire, S. En effet, la surface vasculaire varie comme la valeur du VS et/ou la valeur de l'ITV. Dans les deux modèles de tumeurs étudiés, nous nous trouvons avec des surfaces vasculaires possiblement modifiées au niveau de la tumeur par rapport au tissu sain.

Dans un premier temps, nous nous intéressons aux résultats des mesures de perméabilité au niveau du tissu sain, les deux modèles étudiés ne présentant à ce niveau aucune différence. L'AC ne s'extravasant pas en présence d'une BHE intègre, nous nous

attendions à trouver des valeurs de constantes de transfert et d'échange ( $K^{\text{trans}}$  et  $k_{\text{ep}}$ ) nulles. Si la mesure de  $K^{\text{trans}}$  est cohérente, celle de  $k_{\text{ep}}$  ne l'est pas. De plus, les deux fractions volumiques ( $v_p$  et  $v_e$ ) sont très sous-estimées par rapport aux valeurs qui leur sont généralement attribuées (4 et 20% respectivement). L'ensemble de ces données souligne les limitations de la méthode à déterminer les paramètres pharmacocinétiques dans les tissus où l'AC ne s'extravase pas. On trouve plusieurs raisons pour expliquer ce dysfonctionnement :

- Les variations de  $C_t(t)$  pour un pixel sélectionné dans le tissu sain ne sont dues qu'à la présence du Gd dans le sang, qui ne représente que 4% du volume environ. Dans ces conditions, le RSB diminue. Il est alors difficile de détecter le pic de [Gd].
- Le temps d'arrivée et le temps du pic de l'AIF sont déterminés à partir des pixels qui présentent un fort coefficient de corrélation avec l'AIF de référence. Pour la raison évoquée au point précédent, il s'agit rarement de pixels du tissu sain. Il est donc possible que l'adaptation de l'AIF ne soit pas tout à fait exacte.
- Le rehaussement de signal dû à l'effet de relaxivité de l'AC est peut-être partiellement masqué par un effet de susceptibilité au moment du passage du bolus.
- La fonction à ajuster sur les données modélise un comportement d'extravasation : le nombre de paramètres à ajuster est trop important pour caractériser un comportement de type vasculaire.

Etant donné que notre méthode n'est pas adaptée aux tissus où l'AC ne s'extravase pas, nous avons choisi d'étudier le comportement du muscle temporal, où la paroi vasculaire n'interdit pas l'extravasation du Gd, afin d'avoir une référence commune entre les deux modèles. Les mesures de VS ont également été réalisées sur le muscle mais nous ne disposons pas dans ce cas là de corrélation histologique. Notons, toutefois, que l'évaluation de l'extravasation du Sinerem<sup>®</sup> a montré que celui-ci restait intravasculaire au niveau du muscle, validant l'hypothèse d'état d'équilibre nécessaire à notre technique de mesure du VS. Nous ne pouvons cependant pas affirmer qu'il n'existe pas d'orientation préférentielle des vaisseaux dans le muscle squelettique, ce qui influencerait sur la mesure du VS et de l'ITV. Néanmoins, les résultats de VS et d'ITV montrent que le muscle présente des valeurs proches du tissu cérébral sain.

Nous discutons à présent des résultats de la mesure de perméabilité sur les tumeurs. Les rats porteurs d'une tumeur C6 présentent un volume sanguin tumoral inférieur à celui des RG2. Quel que soit le modèle,  $v_p$  vaut 40% de VS dans la tumeur. Ainsi le rapport des

fractions volumiques plasmatiques entre C6 et RG2 est constant et égal à 0,6. Le fait que  $v_p$  soit inférieur à VS peut s'expliquer par un effet différent de l'hématocrite dans les deux méthodes de mesure. Mais pour autant que la mesure de VS dans le muscle soit valable, nous ne retrouvons pas ce rapport entre  $v_p$  et VS : dans le muscle, les deux mesures ne présentent pas de différence. Il nous est alors très difficile de juger de la pertinence de la mesure de  $v_p$ .

Le paramètre  $k_{ep}$  est plus élevé chez les RG2 que chez les C6. Dans les deux cas, la valeur mesurée est inférieure à celle mesurée dans le muscle. L'augmentation de l'espace intervasculaire, et donc de l'espace de diffusion de l'AC, dans les tumeurs par rapport au muscle, suggérée par les résultats de VS et d'ITV, peut expliquer ces différences de valeurs.

Enfin, la fraction volumique de l'EES chez les C6 ( $v_e = 24\%$ ) est supérieure à celle chez les RG2 ( $v_e = 14\%$ ). Dans les deux cas,  $v_e$  est plus grande que dans le muscle. Les résultats histologiques en HE montrent clairement une forte densité de cellules au niveau de la tumeur. On note également un marquage plus inhomogène chez les C6 que chez les RG2. Des zones d'oedème pourraient être à l'origine de ces différents résultats. Rappelons toutefois que le paramètre  $v_e$  est un résultat indirect de l'ajustement ( $v_e = K^{trans}/k_{ep}$ ). Il fait simplement écho aux variations de  $K^{trans}$  et  $k_{ep}$ .

La mesure du paramètre  $K^{trans}$  ne présente pas de différence significative entre les deux modèles de tumeurs mais, en valeurs moyennes, la constante de transfert est plus grande chez les C6 que chez les RG2. Uehara *et al.* avait mesuré par autoradiographie des constantes de transfert pour le  $[^{67}\text{Ga}]\text{-DTPA}$  trois fois plus grande chez les rats C6 que chez les RG2 ( $^{95}\text{Uehara, H. et al. 1997}$ ). La mesure avait été réalisée 12 jours après implantation de  $5.10^5$  cellules, quel que soit le modèle. Les résultats des marquages histologiques de la BHE, analysés de manière qualitative, tendent à appuyer ces données puisque le marquage est quasiment absent des tumeurs C6 alors que l'on trouve des marquages de BHE intègre chez les RG2.

D'autre part, les travaux de Ferrier *et al.* ( $^{30}\text{Ferrier, M.C. et al. 2007}$ ) ont mis en évidence une corrélation entre les valeurs de perméabilité mesurées par IRM (DCE-MRI) et par autoradiographie sur des rats porteurs de tumeurs RG2. Les expériences IRM ont été réalisées avec le Gd-DTPA (547 Da) et sont donc comparables à nos valeurs obtenues avec le Gd-DOTA (Tableau 3-IV-2). Les différences que nous pouvons noter sur les valeurs des paramètres mesurées peuvent peut-être s'expliquer par le fait que le nombre de cellules implantées est plus important chez Ferrier *et al.* que dans notre étude ( $10^5$  vs  $5.10^3$ ) et donc que les croissances tumorales ne sont pas comparables, mais aussi parce que l'AIF utilisée est

différente. Néanmoins, les valeurs sont dans l'ensemble très proches. Nous ne disposons pas de données équivalentes pour le modèle C6.

|                       | $v_p$ (%) | $v_e$ (%) | $K^{trans}$ ( $\text{min}^{-1}$ ) | $k_{ep}$ ( $\text{min}^{-1}$ ) |
|-----------------------|-----------|-----------|-----------------------------------|--------------------------------|
| Ferrier <i>et al.</i> | 3,5       | 11,1      | 0,026                             | 0,24                           |
| Notre étude           | 1,8       | 14,0      | 0,020                             | 0,15                           |

**Tableau 3-IV-2 :** Comparaison des paramètres pharmacocinétiques obtenus à partir d'expériences de DCE-MRI sur des rats porteurs de tumeurs RG2. Les valeurs de Ferrier *et al.* présentées ici sont la moyenne des valeurs pour un seuil de détection de 25%.

Quelles que soient les études, et étant donné que nous avons utilisé une mesure de la concentration plasmatique en AC globale, le  $K^{trans}$  ne traduit réellement une perméabilité (ou plus précisément le produit PS) que si le débit sanguin dans la tumeur est suffisant (<sup>89</sup>Tofts, P.S. *et al.* 1999). Il faudrait cartographier le débit sanguin pour chaque animal afin d'approfondir l'analyse des résultats.

Maintenant que nous avons analysé le comportement de chacun des modèles de tumeurs étudiés, nous pouvons regarder l'effet de la présence du Sinerem<sup>®</sup> sur la mesure de la perméabilité au Gd-DOTA. Nos résultats montrent que les valeurs des paramètres déterminées à partir des expériences de DCE-MRI SPIO+ sont inférieures à celles des paramètres SPIO-. La diminution de la valeur de  $v_p$  indique que la fraction volumique détectée est inférieure lorsque du Sinerem<sup>®</sup> est présent dans la circulation sanguine. Ce résultat est tout à fait cohérent avec le fait que, même à TE très court, les USPIO agissent par effet de susceptibilité sur le signal et diminuent fortement la contribution du compartiment vasculaire au signal RMN mesuré. De plus, cet effet de susceptibilité s'étend à l'environnement proche des vaisseaux. Ainsi, le Gd qui s'extravase ne sera "visible" qu'une fois qu'il aura diffusé hors de l'espace avoisinant les vaisseaux et pour lequel le  $T_2^*$  est fortement diminué. Ce phénomène peut expliquer la diminution apparente de la constante de transfert  $K^{trans}$  et pourrait être mis à profit pour atteindre la diffusion du Gd dans l'EES.

Les résultats concernant  $k_{ep}$  présentent une très mauvaise corrélation entre les valeurs SPIO+ et SPIO-. Mais la plupart des analyses de corrélation ont été réalisées en incluant les données de la ROI controlatérale. Or, comme le montraient les cartes paramétriques de  $k_{ep}$  (

Figure 3-III-11), les données étaient fortement bruitées dans la zone controlatérale. Ainsi, si on exclut ces données controlatérales, le coefficient  $R^2$  passe de 0,07 à 0,36. De la même manière que pour  $K^{\text{trans}}$ , la diminution de la valeur de  $k_{\text{epSPIO+}}$  caractérise un ralentissement apparent des échanges à travers la paroi vasculaire. La présence du Sinerem<sup>®</sup> intravasculaire, qui "masque" le signal autour des vaisseaux, pourrait être à l'origine de cette observation. De plus, les expériences d'évaluation de l'extravasation du Sinerem<sup>®</sup> ont montré que ce dernier s'extravasait dans le tissu tumoral des RG2. L'expérience menée sur deux heures ne faisait pas apparaître la phase d'efflux du Sinerem<sup>®</sup> extravasé. Ainsi, et ce dans le cas des RG2, l'extravasation lente du Sinerem<sup>®</sup> peut conduire à des observations sur la perméabilité au Gd erronées.

Enfin, les diminutions respectives de  $K^{\text{trans}}$  et  $k_{\text{ep}}$  conduisent à des valeurs de  $v_e$  quasiment identiques entre les expériences SPIO+ et SPIO-. Le fait que les diminutions se compensent est cohérent avec l'idée qu'elles ont pour origine le même phénomène, à condition que le Sinerem<sup>®</sup> ne s'extravase pas.

Un des résultats surprenant de cette étude est le comportement du Sinerem<sup>®</sup> dans les tumeurs. Nous avons montré qu'il s'extravasait dans les tumeurs RG2, pendant les deux premières heures après injection, et quasiment pas dans les tumeurs C6, sur la même durée. Rappelons qu'à 24 h, du sinerem<sup>®</sup> extravasé a été observé dans les deux types de tumeurs. Les

tissus sain et musculaire ne présentent pas de marque d'extravasation à ces temps. La première conséquence de cette observation est la remise en question de l'hypothèse d'état d'équilibre pour la mesure de VS et d'ITV dans les tumeurs RG2. Néanmoins, étant donné le protocole de mesure, l'hypothèse n'a besoin d'être vérifiée que pendant la durée de la deuxième séquence MGESE, soit pendant environ 16 min après injection du Sinerem<sup>®</sup>. Nous avons évalué que la quantité de Sinerem<sup>®</sup> extravasée pendant cette période n'excédait pas 2% de la quantité intravasculaire. Ainsi, nous considérons que l'hypothèse est vérifiée.

La seconde conséquence est qu'il devient très difficile d'évaluer l'extravasation d'un AC, le Dotarem<sup>®</sup>, quand deux AC s'extravasent en même temps. Les résultats des coefficients de corrélation du Tableau 3-III-6 illustrent parfaitement ce propos. Dans le cas des C6, les très bonnes valeurs de  $R^2$  (toujours en excluant le cas de  $k_{ep}$ ) de la première colonne montrent que l'influence du Sinerem<sup>®</sup> sur la mesure est invariante par rapport à la nature du tissu. De plus, l'atténuation de la valeur due à la présence de Sinerem<sup>®</sup> est presque identique pour les paramètres  $v_p$ ,  $v_e$  et  $K^{trans}$  (16% d'atténuation en moyenne). Dans le cas des RG2, le fait que le Sinerem<sup>®</sup> s'extravase implique que les concentrations plasmatique et tissulaire varient pendant la durée de l'expérience de DCE-MRI (30 min). L'amplitude des variations dans ce cas, et surtout pour la concentration tissulaire, n'est plus négligeable. Les faibles valeurs de  $R^2$  reflètent cette instabilité du système, l'impact du Sinerem<sup>®</sup> sur la mesure de perméabilité au Gd est alors difficilement définissable. Nous avons tenté de soustraire l'influence de l'extravasation de l'USPIO sur la mesure de la perméabilité au Gd-DOTA. Pour cela, nous avons soustrait la variation moyenne (mesurée sur 2 rats) de vitesse de relaxation  $R_1$  due au Sinerem<sup>®</sup> sur la durée d'une expérience de DCE-MRI (30 min) à la variation moyenne (mesurée sur 6 rats) de vitesse de relaxation  $R_1$  à 30 min lors d'une expérience SPIO+ (en présence de Sinerem<sup>®</sup> et Dotarem<sup>®</sup>). Cette opération nous a conduits à un  $\Delta R_1$  négatif. Ce calcul est fortement discutable puisqu'il est effectué sur des valeurs moyennes, les expériences n'ayant pas été réalisées sur les mêmes animaux.

Enfin, il est intéressant de constater que le Sinerem<sup>®</sup> (30 nm de diamètre) ne s'extravase que dans les tumeurs RG2 alors que la mesure de perméabilité au Gd-DOTA (environ 1 nm de diamètre) donne des résultats similaires (notre étude) voire plus importants dans les C6 que dans les RG2 (<sup>95</sup>Uehara, H. *et al.* 1997). Les profils d'extravasation du Gd dans les tumeurs, C6 ou RG2, sont correctement analysés par le modèle pharmacocinétique, ce qui suggère un transport passif, suivant le gradient de concentration, du Gd à travers la paroi vasculaire. Dans le cas du Sinerem<sup>®</sup>, la réponse très tardive (de l'extravasation par rapport à l'injection) ne peut s'expliquer par un simple transport passif. Le sinerem<sup>®</sup> pourrait

être transporté par les cellules endothéliales (endocytose). Nous n'avons toutefois pas d'information sur les activités pinocytiques des cellules endothéliales dans les tumeurs C6 et RG2. De plus, le passage via les cellules endothéliales aurait probablement également lieu au niveau du muscle or, dans le muscle, aucune extravasation du Sinerem<sup>®</sup> n'a été observée. Par ailleurs, les marquages histologiques ont révélé un nombre de macrophages dans la tumeur plus important dans le cas des RG2 que dans les C6. La phagocytose du Sinerem<sup>®</sup> par les macrophages est un phénomène connu mais qui, jusqu'à présent, n'a été observé que plusieurs heures après injection de l'USPIO (<sup>25</sup>Corot, C. *et al.* 2004). Nous n'excluons pas que ce phénomène soit à l'origine de nos observations.

Dans ce chapitre, nous avons présenté les différentes expériences réalisées pour la mise en place d'une méthode de mesure de la perméabilité au Gd-DOTA, intégrée aux mesures du VS et de l'ITV utilisant le Sinerem<sup>®</sup>.

Les résultats obtenus avec cette approche originale de mesure de la perméabilité, testée sur deux modèles de gliomes, ont montré qu'elle était adaptée à la caractérisation des tissus tumoraux. Le modèle montre cependant des limites pour l'étude de tissus tels que le tissu cérébral sain, où la BHE empêche l'extravasation de l'AC. La mesure des paramètres pharmacocinétiques permet également de compléter la caractérisation de la microvascularisation tumorale réalisée avec les paramètres VS et ITV. Cependant, la durée d'acquisition totale d'un tel protocole reste un facteur limitant pour un emploi en suivi longitudinal, sur des groupes d'animaux.

La réalisation de la mesure de perméabilité au Gd-DOTA en présence d'un AC superparamagnétique intravasculaire était un des principaux défis de ce travail. Nous avons montré que les résultats de ces mesures étaient différents de ceux obtenus en absence d'USPIO mais que leur corrélation était très bonne, particulièrement pour le paramètre  $K^{trans}$ . Ceci suggère que ces mesures de perméabilité resteraient adaptées à l'étude de l'efficacité de thérapies anti-tumorales. Cependant des précautions restent à prendre puisque nous avons montré que le Sinerem<sup>®</sup> pouvait s'extravaser dans les tumeurs de type RG2 sur des échelles de temps comparables à celles de mesure de la perméabilité. Pour limiter ce phénomène, la durée du protocole expérimental pourrait être diminuée, afin de réduire l'incidence de l'extravasation du Sinerem<sup>®</sup> sur la mesure de la perméabilité. Etant donnée la spécificité du phénomène, l'utilisation d'un autre agent de contraste superparamagnétique pourrait également être une solution.





## Conclusion générale et perspectives

L'ensemble de ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre de la recherche méthodologique en imagerie médicale et plus particulièrement en IRM. Nous avons travaillé à différents niveaux du développement méthodologique : de l'acquisition d'images à la production de données d'intérêt physiologique.

Afin de disposer d'une technique d'imagerie rapide, nous avons mis en place la technique d'acquisition utilisant des spirales à densité variable sur les imageurs de la Plate-Forme IRM du Petit Animal de Grenoble. L'outil dont est maintenant équipé l'ensemble des spectromètres est robuste et convivial. Dans le souci d'améliorer la qualité de nos images, nous avons développé une technique de mesure de la trajectoire dans l'espace  $k$ .

Possédant une technique d'acquisition rapide d'images, nous avons mis en place une méthode de mesure de la perméabilité en IRM. L'originalité de notre travail repose sur le fait que nous travaillons dans une optique intégrative. Ainsi, nous avons montré qu'un protocole de mesure de la perméabilité de la BHE au Dotarem<sup>®</sup> pouvait être réalisé conjointement au protocole de mesure du volume sanguin et de l'index de taille des vaisseaux utilisant le Sinerem<sup>®</sup>.

L'ensemble de ces travaux ouvre bien évidemment sur de nombreuses perspectives, d'autant plus que certains des facteurs limitants que nous avons rencontrés durant nos expériences devraient disparaître avec l'arrivée de nouveaux imageurs sur le site de la Plate-forme IRM de Grenoble. Ceci est particulièrement valable en imagerie rapide où les caractéristiques du *hardware* (notamment pour les gradients) jouent un rôle prédominant.

Néanmoins, un effort certain reste à fournir concernant l'optimisation des algorithmes de reconstruction que nous utilisons. L'augmentation de leur vitesse d'exécution et l'intégration de cartes de champ font partie des pistes privilégiées pour l'amélioration de la reconstruction des images. Les séquences d'imagerie spirale se prêtent, de par leur caractère rapide, à de nombreuses applications. Nous disposons déjà des séquences spirales permettant la mesure du  $T_1$ , de la perméabilité, de la diffusion, et il serait intéressant d'apporter de nouveaux modules afin de réaliser des mesures de perfusion par exemple. Afin que l'analyse

des données soit facilitée, il devient nécessaire que les images acquises avec différentes séquences, de type spiral ou autre, se superposent parfaitement. Ce dernier point, qui nous a fait défaut, constitue également une perspective de travail.

La mesure de la perméabilité est un outil pour la caractérisation de la microvascularisation cérébrale. Cependant, sa mise en oeuvre demeure délicate du fait de la difficulté que constitue la mesure de la fonction d'entrée artérielle. De plus, le volume plasmatique issu de l'analyse de l'extravasation du Gd n'est pas cohérent avec les données IRM et histologiques obtenues.

Pour ces différentes raisons, il y aurait un grand intérêt à intégrer les données de volume sanguin obtenues avec le protocole de mesure utilisant le Sinerem<sup>®</sup>. La détermination de  $v_p$  serait alors inutile et les paramètres  $K^{trans}$  et  $k_{ep}$  gagneraient en précision. Pour la fonction d'entrée artérielle, une approche multi-antennes permettrait de réaliser la mesure pour chaque animal. L'IRM offre la possibilité de réaliser de nombreuses mesures fonctionnelles, et c'est de l'analyse simultanée de ces données que nous obtenons les informations les plus pertinentes pour l'étude des pathologies et le suivi d'efficacité de traitements. Cependant, plus le nombre de paramètres est élevé plus l'analyse des résultats devient compliquée. Le développement d'outils statistiques est alors nécessaire.

D'autre part, la présence dans le compartiment vasculaire de particules superparamagnétiques, pendant la mesure de la perméabilité, a des conséquences sur le signal mesuré. Des acquisitions multi-échos permettraient de mieux comprendre l'origine des différentes contributions au signal et, avec une modélisation adaptée, l'analyse des données pourrait être approfondie et renseigner sur la diffusion de l'agent de contraste. Enfin, la prise en compte des phénomènes de diffusion de l'eau dans l'analyse des données est également une perspective intéressante pour une meilleure compréhension des phénomènes physiologiques.

Pour finir, notre étude a également soulevé des questions par rapport à l'extravasation de Sinerem<sup>®</sup> dans certaines tumeurs. Si l'hypothèse de la captation des particules de fer par les macrophages est avancée, celle-ci reste à vérifier. Des progrès sont à réaliser au niveau du marquage du fer en histologie afin de corroborer nos résultats IRM et des expériences utilisant d'autres techniques d'imagerie (*e.g.* microscopies électrique et ionique) sont nécessaires pour une compréhension des mécanismes cellulaires intervenants dans le transport des agents de contraste.

En conclusion, ce travail a permis d'apporter au laboratoire une technique d'imagerie rapide opérationnelle et performante et un outil supplémentaire pour la caractérisation de la microvascularisation cérébrale. Il met en évidence que l'analyse des phénomènes liés à l'utilisation simultanée de deux agents de contraste est complexe mais peut conduire à des résultats intéressants. Enfin, d'un point de vue biologique, il confirme que les tumeurs C6 et RG2 présentent des comportements vasculaires différents.



# Références

- 1 - Abbott, N.J., Chugani, D.C., Zaharchuk, G., Rosen, B.R. and Lo, E.H. (1999).**  
Delivery of imaging agents into brain.  
*Advance Drug Delivery Reviews* **37**(1-3): 253-277.
- 2 - Adam, J.F., Nemoz, C., Bravin, A., Fiedler, S., Bayat, S., Monfraix, S., Berruyer, G., Charvet, A.M., Le Bas, J.F., Elleaume, H. and Esteve, F. (2005).**  
High-resolution blood-brain barrier permeability and blood volume imaging using quantitative synchrotron radiation computed tomography: study on an F98 rat brain glioma.  
*Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* **25**(2): 145-53.
- 3 - Ahn, A.B. and Cho, Z.H. (1991).**  
Analysis of the eddy-current induced artifacts and the temporal compensation in nuclear magnetic resonance imaging.  
*IEEE transactions on medical imaging* **10**(1): 47-52.
- 4 - Aime, S. and Nano, R. (1988).**  
Factors determining the proton T<sub>1</sub> relaxivity in solutions containing Gd-DTPA.  
*Investigative Radiology* **23**(1): 264-266.
- 5 - Alley, M.T., Glover, G.H. and Pelc, N.J. (1998).**  
Gradient characterization using a Fourier-transform technique.  
*Magnetic Resonance in Medicine* **39**(4): 581-587.
- 6 - Armitage, P.A., Schwindack, C., Bastin, M.E. and Whittle, I.R. (2007).**  
Quantitative assessment of intracranial tumor response to dexamethasone using diffusion, perfusion and permeability magnetic resonance imaging.  
*Magnetic Resonance Imaging* **25**(3): 303-10.
- 7 - Barbier, E.L., Lamalle, L. and Decorps, M. (2001).**  
Methodology of brain perfusion imaging.  
*Journal of Magnetic Resonance Imaging* **13**(4): 496-520.
- 8 - Barth, R.F. (1998).**  
Rat brain tumor models in experimental neuro-oncology: the 9L, C6, T9, F98, RG2 (D74), RT-2 and CNS-1 gliomas.  
*Journal of Neuro-oncology* **36**(1): 91-102.
- 9 - Batchelor, T.T., Sorensen, A.G., di Tomaso, E., Zhang, W.T., Duda, D.G., Cohen, K.S., Kozak, K.R., Cahill, D.P., Chen, P.J., Zhu, M., Ancukiewicz, M., Mrugala, M.M., Plotkin, S., Drappatz, J., Louis, D.N., Ivy, P., Scadden, D.T., Benner, T., Loeffler, J.S., Wen, P.Y. and Jain, R.K. (2007).**  
AZD2171, a Pan-VEGF Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor, Normalizes Tumor Vasculature and Alleviates Edema in Glioblastoma Patients.  
*Cancer Cell* **11**(1): 83-95.
- 10 - Beaumont, M., Lamalle, L., Segebarth, C. and Barbier, E.L. (2007).**  
Improved *k*-space trajectory measurement with signal shifting.  
*Magnetic Resonance in Medicine* **58**(1): 200-205.
- 11 - Beaumont, M., Segebarth, C. and Barbier, E.L. (2005).**

Disentangling the Effects of Varying Radial and Tangential Sampling Densities in Variable Density Spiral Imaging.

*Miami, Proceedings of the 13th ISMRM*

**12 - Beaumont, M., Segebarth, C. and Barbier, E.L. (2005).**

Disentangling the Effects of Varying Radial and Tangential Sampling Densities in Variable Density Spiral Imaging.

*Basel, Proceedings of the 22nd ESMRMB*

**13 - Bergers, G. and Benjamin, L.E. (2003).**

Angiogenesis: Tumorigenesis and the angiogenic switch.

*Nature Reviews Cancer* **3**(6): 401-410.

**14 - Bloch, F. (1946).**

Nuclear induction.

*Physical Review* **70**(7): 460-474.

**15 - Block, K.T. and Frahm, J. (2005).**

Spiral imaging: a critical appraisal.

*Journal of Magnetic Resonance Imaging* **21**(6): 657-68.

**16 - Bourgeois, M. (1999).**

Corrections des mouvements intra-image en imagerie d'activation cérébrale par résonance magnétique.

Thèse de doctorat. *Université Claude Bernard, Lyon.*

**17 - Bousquet, J.C., Saini, S., Stark, D.D., Hahn, P.F., Nigam, M., Wittenberg, J. and Ferrucci, J.T., Jr. (1988).**

Gd-DOTA: characterization of a new paramagnetic complex.

*Radiology* **166**(3): 693-8.

**18 - Brix, G., Semmler, W., Port, R., Schad, L.R., Layer, G. and Lorenz, W.J. (1991).**

Pharmacokinetic parameters in CNS Gd-DTPA enhanced MR imaging.

*Journal of Computer Assisted Tomography* **15**(4): 621-8.

**19 - Calamante, F., Mørup, M. and Hansen, L.K. (2004).**

Defining a local arterial input function for perfusion MRI using independent component analysis.

*Magnetic Resonance in Medicine* **52**(4): 789-797.

**20 - Calamante, F., Willats, L., Gadian, D.G. and Connelly, A. (2006).**

Bolus delay and dispersion in perfusion MRI: implications for tissue predictor models in stroke.

*Magnetic Resonance in Medicine* **55**(5): 1180-5.

**21 - Carr, D.H. (1984).**

The use of iron and gadolinium chelates as NMR contrast agents: animal and human studies.

*Physiological chemistry and physics and medical NMR* **16**(2): 137-144.

**22 - Carr, J.P., Buckley, D.L., Tessier, J. and Parker, G.J. (2007).**

What levels of precision are achievable for quantification of perfusion and capillary permeability surface area product using ASL?

*Magnetic Resonance in Medicine* **58**(2): 281-9.

**23 - Chambon, C., Clement, O., Le Blanche, A., Schouman-Claeys, E. and Frija, G. (1993).**

Superparamagnetic iron oxides as positive MR contrast agents: in vitro and in vivo evidence.

*Magnetic Resonance Imaging* **11**(4): 109-119.

**24 - Choi, J.J., Pernot, M., Small, S.A. and Konofagou, E.E. (2007).**

Noninvasive, transcranial and localized opening of the blood-brain barrier using focused ultrasound in mice.

*Ultrasound in Medicine & Biology* **33**(1): 95-104.

- 25 - Corot, C., Petry, K.G., Trivedi, R., Saleh, A., Jonkmanns, C., Le Bas, J.F., Blezer, E., Rausch, M., Brochet, B., Foster-Gareau, P., Baleriaux, D., Gaillard, S. and Dousset, V. (2004).**  
Macrophage imaging in central nervous system and in carotid atherosclerotic plaque using ultrasmall superparamagnetic iron oxide in magnetic resonance imaging.  
*Investigative Radiology* **39**(10): 619-25.
- 26 - Daldrup, H., Shames, D.M., Wendland, M., Okuhata, Y., Link, T.M., Rosenau, W., Lu, Y. and Brasch, R.C. (1998).**  
Correlation of dynamic contrast-enhanced MR imaging with histologic tumor grade: comparison of macromolecular and small-molecular contrast media.  
*American Journal Roentgenology* **171**(4): 941-949.
- 27 - Damadian, R. (1971).**  
Tumor detection by nuclear magnetic resonance.  
*Science* **171**(3976): 1151-1153.
- 28 - Duyn, J.H., Yang, Y., Frank, J.A. and van der Veen, J.W. (1998).**  
Simple correction method for k-space trajectory deviations in MRI.  
*Journal of Magnetic Resonance* **132**(1): 150-3.
- 29 - Earnest 4th, F., Kelly, P.J., Scheithauer, B.W., Kall, B.A., Cascino, T.L., Ehman, R.L., Forbes, G.S. and Axley, P.L. (1988).**  
Cerebral astrocytomas: histopathologic correlation of MR and CT contrast enhancement with stereotactic biopsy.  
*Radiology* **166**(3): 823-827.
- 30 - Ferrier, M.C., Sarin, H., Fung, S.H., Schatlo, B., Pluta, R.M., Gupta, S.N., Choyke, P.L., Oldfield, E.H., Thomasson, D. and Butman, J.A. (2007).**  
Validation of dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging-derived vascular permeability measurements using quantitative autoradiography in the RG2 rat brain tumor model.  
*Neoplasia* **9**(7): 546-55.
- 31 - Fonchy, E., Lahrech, H., Francois-Joubert, A., Dupeyre, R., Benderbous, S., Corot, C., Farion, R., Rubin, C., Decorps, M. and Remy, C. (2001).**  
A new gadolinium-based contrast agent for magnetic resonance imaging of brain tumors: kinetic study on a C6 rat glioma model.  
*Journal of Magnetic Resonance Imaging* **14**(2): 97-105.
- 32 - Frappaz, D., Chinot, O., Bataillard, A., Hassel, M.B., Capelle, L., Chanalet, S., Chatel, M., Figarella-Branger, D., Guegan, Y., Guyotat, J., Hoang-Xuan, K., Jouanneau, E., Keime-Guibert, F., Laforêt, C., Linassier, C., Loiseau, H., Menel, P., Rousmans, S., Sanson, M. and Sunyach, M.-P. (2003).**  
Standards, Options et Recommandations 2002 pour la prise en charge des patients atteints de gliomes intracrâniens de l'adulte.  
*Bulletin du cancer* **90**(10): 873-886.
- 33 - Fritz-Hansen, T., Rostrup, E., Larsson, H.B., Sondergaard, L., Ring, P. and Henriksen, O. (1996).**  
Measurement of the arterial concentration of Gd-DTPA using MRI: a step toward quantitative perfusion imaging.  
*Magnetic Resonance in Medicine* **36**(2): 225-31.
- 34 - Gabr, R.E., Aksit, P., Bottomley, P.A., Youssef, A.B. and Kadah, Y.M. (2006).**  
Deconvolution-interpolation gridding (DING): Accurate reconstruction for arbitrary k-space trajectories.  
*Magnetic Resonance in Medicine* **56**(6): 1182-1191.
- 35 - Ghiglia, D.C. and Pritt, M.D. (1998).**  
Introduction to phase unwrapping.  
*Two-dimensional phase unwrapping*.  
Ghiglia, D.C. and Pritt, M.D. New York, Wiley-Liss: 1-30.
- 36 - Glover, G.H. (1999).**

Simple analytic spiral K-space algorithm.

*Magnetic Resonance in Medicine* **42**(2): 412-5.

**37 - Gossmann, A., Helbich, T.H., Kuriyama, N., Ostrowitzki, S., Roberts, T.P.L., Shames, D.M., van Bruggen, N., Wendland, M.F. and Brasch, R.C.** (2002).

Dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging as a surrogate marker of tumor response to anti-angiogenic therapy in a xenograft model of glioblastoma multiforme.

*Journal of Magnetic Resonance Imaging* **15**(3): 233-240.

**38 - Gruetter, R.** (1993).

Automatic, localized in vivo adjustment of all first- and second-order shim coils.

*Magnetic Resonance Imaging* **29**(6): 804-11.

**39 - Haacke, E.M., Brown, R.W., Thompson, M.R. and Venkatesan, R.** (1999).

Signal, contrast and noise.

*Magnetic resonance imaging: physical principles and sequence design.*

Haacke, E.M., Brown, R.W., Thompson, M.R. and Venkatesan, R. New York, Wiley-Liss: 331-380.

**40 - Haase, A.** (1990).

Snapshot FLASH MRI. Applications to T1, T2, and chemical-shift imaging.

*Magnetic Resonance in Medicine* **13**(1): 77-89.

**41 - Haluska, M. and Anthony, M.L.** (2004).

Osmotic blood-brain barrier modification for the treatment of malignant brain tumors.

*Clinical journal of oncology nursing* **8**(3): 263-7.

**42 - Hiba, B., Faure, B., Lamalle, L., Decorps, M. and Ziegler, A.** (2003).

Out-and-in spiral spectroscopic imaging in rat brain at 7 T.

*Magnetic Resonance in Medicine* **50**(6): 1127-33.

**43 - Hiba, B., Serduc, R., Provent, P., Farion, R., Remy, C. and Ziegler, A.** (2004).

2D J-resolved spiral spectroscopic imaging at 7 T: application to mobile lipid mapping in a rat glioma.

*Magnetic Resonance in Medicine* **52**(3): 658-62.

**44 - Huber, J.D., Egleton, R.D. and Davis, T.P.** (2001).

Molecular physiology and pathophysiology of tight junctions in the blood-brain barrier.

*Trends in Neurosciences* **24**(12): 719-25.

**45 - Hyacinthe, J.-N.** (2004).

Développements méthodologiques en RMN du  $^{129}\text{Xe}$  hyperpolarisé en vue d'applications à la mesure de la perfusion cérébrale chez le petit animal.

Thèse de doctorat. Université Joseph Fourier, Grenoble.

**46 - Ito, H., Takahashi, K., Hatazawa, J., Kim, S.-G. and Kanno, I.** (2001).

Changes in human regional cerebral blood flow and cerebral blood volume during visual stimulation measured by positron emission tomography.

*Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* **21**(5): 608-612.

**47 - Jackson, J.I., Meyer, C.H., Nishimura, D.G. and Macovski, A.** (1991).

Selection of a Convolution Function for Fourier Inversion Using Gridding.

*IEEE Trans Med Imaging* **10**(3): 473-478.

**48 - Khan, H.** (2004).

regrid.m.

Oxford.

**49 - Kim, D.H., Adalsteinsson, E. and Spielman, D.M.** (2003).

Simple analytic variable density spiral design.

*Magnetic Resonance in Medicine* **50**(1): 214-9.

- 50 - Kovar, D.A., Lewis, M. and Karczmar, G.S. (1998).**  
A new method for imaging perfusion and contrast extraction fraction: input functions derived from reference tissues.  
*Journal of Magnetic Resonance Imaging* **8**(5): 1126-34.
- 51 - Larsson, H.B. and Tofts, P.S. (1992).**  
Measurement of blood-brain barrier permeability using dynamic Gd-DTPA scanning--a comparison of methods.  
*Magnetic Resonance in Medicine* **24**(1): 174-6.
- 52 - Lauterbur, P.C. (1973).**  
Image formation by induced local interactions: examples employing nuclear magnetic resonance.  
*Nature* **242**(5394): 190-191.
- 53 - Lu, H., Golay, X., Pekar, J.J. and Van Zijl, P.C. (2003).**  
Functional magnetic resonance imaging based on changes in vascular space occupancy.  
*Magnetic Resonance in Medicine* **50**(2): 263-74.
- 54 - Mansfield, P. (1977).**  
Multi-planar image formation using NMR spin echoes.  
*Journal of Physics C: Solid State Physics* **10**(3): 55-58.
- 55 - Mansfield, P., Pykett, I.L. and Morris, P.G. (1978).**  
Human whole body line-scan imaging by NMR.  
*British Journal of Radiology* **51**(611): 921-922.
- 56 - Mansson, S. and Bjonerud, A. (2001).**  
Application of contrast agents in MRI.  
*The chemistry of contrast agents in medical magnetic resonance imaging.*  
Merbach, A.E. and Toth, E. Chichester, John Wiley & Sons, Ltd: 33-43.
- 57 - Marquardt, D.W. (1963).**  
An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters.  
*Society for Industrial and Applied Mathematics* **11**(2): 431-441.
- 58 - Mason, G.F., Harshbarger, T., Hetherington, H.P., Zhang, Y., Pohost, G.M. and Twieg, D.B. (1997).**  
A method to measure arbitrary k-space trajectories for rapid MR imaging.  
*Magnetic Resonance in Medicine* **38**(3): 492-6.
- 59 - Matson, G.B. (1994).**  
An integrated program for amplitude-modulated RF pulse generation and re-mapping with shaped gradients.  
*Magnetic Resonance Imaging* **12**(8): 1205-25.
- 60 - McIntyre, D.J., Ludwig, C., Pasan, A. and Griffiths, J.R. (2004).**  
A method for interleaved acquisition of a vascular input function for dynamic contrast-enhanced MRI in experimental rat tumours.  
*NMR in Biomedicine* **17**(3): 132-43.
- 61 - Meyer, C.H., Hu, B.S., Nishimura, D.G. and Macovski, A. (1992).**  
Fast spiral coronary artery imaging.  
*Magnetic Resonance in Medicine* **28**(2): 202-13.
- 62 - Moriguchi, H. and Duerk, J.L. (2004).**  
Iterative Next-Neighbor Regridding (INNG): improved reconstruction from nonuniformly sampled k-space data using rescaled matrices.  
*Magnetic Resonance in Medicine* **51**(2): 343-52.
- 63 - Muller, R.N., vander Elst, L., Rinck, P.A., Vallet, P., Maton, F., Fischer, H., Roch, A. and van Haverbeke, Y. (1988).**  
The importance of nuclear magnetic relaxation dispersion (NMRD) profiles in MRI contrast media development.

*Investigative Radiology* **23**(1): 229-231.

**64 - Nadal Desbarats, L., Herlidou, S., de Marco, G., Gondry-Jouet, C., Le Gars, D., Deramond, H. and Idy-Peretti, I.** (2003).

Differential MRI diagnosis between brain abscesses and necrotic or cystic brain tumors using the apparent diffusion coefficient and normalized diffusion-weighted images.

*Magnetic Resonance Imaging* **21**(6): 645-650.

**65 - Oshio, K. and Feinberg, D.A.** (1991).

GRASE (Gradient- and spin-echo) imaging: a novel fast MRI technique.

*Magnetic Resonance in Medicine* **20**(2): 344-9.

**66 - Ostergaard, L., Weisskoff, R.M., Chesler, D.A., Gyldensted, C. and Rosen, B.R.** (1996).

High resolution measurement of cerebral blood flow using intravascular tracer bolus passages. Part I: Mathematical approach and statistical analysis.

*Magnetic Resonance in Medicine* **36**(5): 715-25.

**67 - Ouwekerk, R.** (2002).

mriphantom.m.

Baltimore, MD.

**68 - Parkes, L.M. and Tofts, P.S.** (2002).

Improved accuracy of human cerebral blood perfusion measurements using arterial spin labeling: accounting for capillary water permeability.

*Magnetic Resonance in Medicine* **48**(1): 27-41.

**69 - Paschal, C.B. and Morris, H.D.** (2004).

K-space in the clinic.

*Journal of Magnetic Resonance Imaging* **19**(2): 145-59.

**70 - Patlak, C.S., Blasberg, R.G. and Fenstermacher, J.D.** (1983).

Graphical evaluation of blood-to-brain transfer constants from multiple-time uptake data.

*Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* **3**(1): 1-7.

**71 - Perles-Barbacaru, A.T. and Lahrech, H.** (2007).

A new Magnetic Resonance Imaging method for mapping the cerebral blood volume fraction: the rapid steady-state T1 method.

*J Cereb Blood Flow Metab* **27**(3): 618-31.

**72 - Port, R.E., Knopp, M.V. and Brix, G.** (2001).

Dynamic contrast-enhanced MRI using Gd-DTPA: interindividual variability of the arterial input function and consequences for the assessment of kinetics in tumors.

*Magnetic Resonance in Medicine* **45**(6): 1030-8.

**73 - Preda, A., Novikov, V., Möglich, M., Turetschek, K., Shames, D.M., Brasch, R.C., Cavagna, F.M. and Roberts, T.P.L.** (2004).

MRI monitoring of Avastin<sup>TM</sup> antiangiogenesis therapy using B22956/1, a new blood pool contrast agent, in an experimental model of human cancer.

*Journal of Magnetic Resonance Imaging* **20**(5): 865-873.

**74 - Purcell, E.M., Torrey, H.C. and Pound, R.V.** (1946).

Resonance absorption by nuclear magnetic moments in solid.

*Physical Review* **69**(1): 37-38.

**75 - Quigley, M.R., Post, C. and Ehrlich, G.** (2007).

Some speculation on the origin of glioblastoma.

*Neurosurgical Review* **30**(1): 16-21.

**76 - Rabi, I.I., Zacharias, J.R., Millman, S. and Kusch, P.** (1938).

A new method for measuring nuclear magnetic moments.

*Physical Review* **53**(4): 318.

**77 - Rasche, V., Proksa, R., Sinkus, R., Bornert, P. and Eggers, H.** (1999).

Resampling of data between arbitrary grids using convolution interpolation.  
*IEEE Trans Med Imaging* **18**(5): 385-92.

**78 - Roberts, H.C., Roberts, T.P., Bollen, A.W., Ley, S., Brasch, R.C. and Dillon, W.P.** (2001).

Correlation of microvascular permeability derived from dynamic contrast-enhanced MR imaging with histologic grade and tumor labeling index: a study in human brain tumors.  
*Academic Radiology* **8**(5): 384-91.

**79 - Rosen, B.R., Belliveau, J.W., Vevea, J.M. and Brady, T.J.** (1990).

Perfusion imaging with NMR contrast agents.  
*Magnetic Resonance in Medicine* **14**(2): 249-65.

**80 - Rosenfeld, D.** (1998).

An optimal and efficient new gridding algorithm using singular value decomposition.  
*Magn Reson Med* **40**(1): 14-23.

**81 - Salcman, M.** (1980).

Survival in glioblastoma: historical perspective.  
*Neurosurgery* **7**(5): 435-439.

**82 - Sarty, G.E., Bennett, R. and Cox, R.W.** (2001).

Direct reconstruction of non-Cartesian k-space data using a nonuniform fast Fourier transform.  
*Magnetic Resonance in Medicine* **45**(5): 908-15.

**83 - Scheffler, K.** (1999).

A pictorial description of steady-states in rapid magnetic resonance imaging.  
*Concepts in Magnetic Resonance* **11**(5): 291-304.

**84 - Schenck, J.F.** (1996).

The role of magnetic susceptibility in magnetic resonance imaging: MRI magnetic compatibility of the first and second kinds.  
*Medical Physics* **23**(6): 815-850.

**85 - Schomberg, H. and Timmer, J.** (1995).

The gridding method for image reconstruction by fourier transformation.  
*IEEE Trans Med Imaging* **14**(3): 596-607.

**86 - Stanisiz, G.J. and Henkelman, R.M.** (2000).

Gd-DTPA relaxivity depends on macromolecular content.  
*Magnetic Resonance in Medicine* **44**(5): 665-667.

**87 - Tofts, P.S.** (1997).

Modeling tracer kinetics in dynamic Gd-DTPA MR imaging.  
*Journal of Magnetic Resonance Imaging* **7**(1): 91-101.

**88 - Tofts, P.S., Berkowitz, B. and Schnall, M.D.** (1995).

Quantitative analysis of dynamic Gd-DTPA enhancement in breast tumors using a permeability model.  
*Magnetic Resonance in Medicine* **33**(4): 564-8.

**89 - Tofts, P.S., Brix, G., Buckley, D.L., Evelhoch, J.L., Henderson, E., Knopp, M.V., Larsson, H.B., Lee, T.Y., Mayr, N.A., Parker, G.J., Port, R.E., Taylor, J. and Weisskoff, R.M.** (1999).

Estimating kinetic parameters from dynamic contrast-enhanced T(1)-weighted MRI of a diffusable tracer: standardized quantities and symbols.  
*Journal of Magnetic Resonance Imaging* **10**(3): 223-32.

**90 - Tofts, P.S. and Kermode, A.G.** (1991).

Measurement of the blood-brain barrier permeability and leakage space using dynamic MR imaging. 1. Fundamental concepts.

*Magnetic Resonance in Medicine* **17**(2): 357-67.

**91 - Troprès, I.** (1999).

Imagerie RMN de la microvascularisation cérébrale chez le rat -applications-.

Thèse de doctorat. *Université Joseph Fourier*, Grenoble.

**92 - Troprès, I., Grimault, S., Vaeth, A., Grillon, E., Julien, C., Payen, J.F., Lamalle, L. and Decorps, M.** (2001).

Vessel size imaging.

*Magnetic Resonance in Medicine* **45**(3): 397-408.

**93 - Tsai, C.M. and Nishimura, D.G.** (2000).

Reduced aliasing artifacts using variable-density k-space sampling trajectories.

*Magnetic Resonance in Medicine* **43**(3): 452-8.

**94 - Twieg, D.B.** (1983).

The k-trajectory formulation of the NMR imaging process with applications in analysis and synthesis of imaging methods.

*Medical Physics* **10**(5): 610-21.

**95 - Uehara, H., Miyagawa, T., Tjuvajev, J., Joshi, R., Beattie, B., Oku, T., Finn, R. and Blasberg, R.** (1997).

Imaging experimental brain tumors with 1-aminocyclopentane carboxylic acid and alpha-aminoisobutyric acid: comparison to fluorodeoxyglucose and diethylenetriaminepentaacetic acid in morphologically defined tumor regions.

*Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* **17**(11): 1239-53.

**96 - Vaeth, A.** (1998).

Imagerie du volume sanguin cérébral -applications-.

Thèse de doctorat. *Université Joseph Fourier*, Grenoble.

**97 - Valable, S., Lemasson, B., Farion, R., Segebarth, C., Remy, C. and Barbier, E.L.** (2006).

In vivo longitudinal assessment of the changes in microvasculature of brain tumors in rats.

*Proceedings ESMRMB, 23rd annual meeting, 2006, Varsovie (Poland), #248.*

**98 - Valable, S., Lemasson, B., Farion, R., Segebarth, C., Remy, C. and Barbier, E.L.** (2007).

Characterization of the microvasculature evolution in 2 rat glioma models: relation of MRI data with the expression of the main angiogenic factors.

*Berlin, Proceedings of the joint annual meeting ISMRM-ESMRMB*

**99 - van de Looij, Y.** (2006).

Imagerie spirale du tenseur de diffusion à 7 T : application au cerveau de rat traumatisé.

Thèse de doctorat. *Université Joseph Fourier*, Grenoble.

**100 - Vérant, P.** (2006).

Imagerie intravital par microscopie biphotonique : application à l'étude des effets de la radiothérapie synchrotron par microfaisceaux sur la microvascularisation corticale de la souris.

Thèse de doctorat. *Université Joseph Fourier*, Grenoble.

**101 - Wang, W.-T.** (2004).

INNGfc.m.

Charlottesville, VA.

**102 - Watson, D.F.** (1992).

CONTOURING - A guide to the analysis and display of spatial data.

*Computer Methods in the Geosciences* **10** Oxford, Pergamon Press.

**103 - Weidensteiner, C., Rausch, M., McSheehy, P.M.J. and Allegrini, P.R.** (2006).

Quantitative dynamic contrast-enhanced MRI in tumor-bearing rats and mice with inversion recovery TrueFISP and two contrast agents at 4.7 T.

*Journal of Magnetic Resonance Imaging* **24**(3): 646-656.

**104 - Yablonskiy, D.A. and Haacke, E.M. (1994).**

Theory of NMR signal behavior in magnetically inhomogeneous tissues: The static dephasing regime.

*Magnetic Resonance in Medicine* **32**(6): 749-763.

**105 - Yang, C., Karczmar, G.S., Medved, M. and Stadler, W.M. (2004).**

Estimating the arterial input function using two reference tissues in dynamic contrast-enhanced MRI studies: fundamental concepts and simulations.

*Magnetic Resonance in Medicine* **52**(5): 1110-7.

**106 - Yang, Y., Glover, G.H., van Gelderen, P., Patel, A.C., Mattay, V.S., Frank, J.A. and Duyn, J.H. (1998).**

A comparison of fast MR scan techniques for cerebral activation studies at 1.5 tesla.

*Magnetic Resonance in Medicine* **39**(1): 61-7.

**107 - Yankeelov, T.E., Luci, J.J., Lepage, M., Li, R., Debusk, L., Lin, P.C., Price, R.R. and Gore, J.C. (2005).**

Quantitative pharmacokinetic analysis of DCE-MRI data without an arterial input function: a reference region model.

*Magnetic Resonance Imaging* **23**(4): 519-29.

**108 - Zhang, Y., Hetherington, H.P., Stokely, E.M., Mason, G.F. and Twieg, D.B. (1998).**

A novel k-space trajectory measurement technique.

*Magnetic Resonance in Medicine* **39**(6): 999-1004.

**109 - Zoula, S. (2002).**

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.

Thèse de doctorat. *Université Joseph Fourier*, Grenoble.









## RESUME

---

Ce travail présente les résultats obtenus dans le cadre de développements méthodologiques en imagerie par résonance magnétique. Tout d'abord, la mise en place de la technique d'imagerie rapide utilisant un échantillonnage de l'espace k le long d'une trajectoire spirale à densité variable est exposée. L'optimisation des paramètres d'acquisition et la comparaison de différentes techniques de reconstruction ont été menées via des simulations numériques. Une approche originale de la calibration de la trajectoire dans l'espace k est proposée. L'imagerie spirale a été utilisée pour mettre en œuvre une méthode de mesure de la perméabilité de la BHE au Gd-DOTA. Ce protocole a été intégré aux mesures de volume sanguin et d'index de taille des vaisseaux utilisant le Sinerem<sup>®</sup>. Les résultats obtenus montrent des différences au niveau des paramètres de la microvascularisation sur les modèles de tumeurs C6 et RG2. La présence du Sinerem<sup>®</sup> conduit à une diminution des valeurs de constante d'échange à travers la paroi vasculaire ( $K^{\text{trans}}$ ) dans la tumeur de 24% en moyenne. Cette étude a également mis en évidence l'extravasation du Sinerem<sup>®</sup>, pendant les deux premières heures après injection du produit, uniquement dans les tumeurs RG2.

## MOTS CLES

---

Imagerie par résonance magnétique nucléaire ; imagerie spirale ; mesure de trajectoire ; espace k ; rat ; tumeur cérébrale ; microvascularisation ; perméabilité ; barrière hémato-encéphalique ; agent de contraste

## ABSTRACT

---

The results presented in this work were obtained as part of methodological developments in magnetic resonance imaging. First of all, the setting of the rapid imaging technique using a k-space sampling scheme along a variable density spiral is described. Numerical simulations were used to optimize the acquisitions parameters and to compare different reconstruction techniques. An original approach to calibrate the k-space trajectory was proposed. Then, spiral imaging was used to implement a method to measure the blood brain barrier permeability to Gd-DOTA. This protocol was combined to blood volume and vessel size index measurements using Sinerem<sup>®</sup>. The results obtained highlighted differences between the microvascular parameters measured on C6 and RG2 tumor models. The presence of Sinerem<sup>®</sup> induces a mean decrease of the transfer constant across the vascular wall ( $K^{\text{trans}}$ ), in the tumor, of 24%. This study also showed extravasation of the Sinerem<sup>®</sup>, during the first two hours after the product injection, only in the RG2 tumors.

## KEY WORDS

---

Nuclear magnetic resonance imaging ; spiral imaging ; trajectory measurement ; k-space ; rat ; brain tumor ; microvasculature ; permeability ; blood brain barrier ; contrast agent