



Comprendre le monde,
construire l'avenir®



UNIVERSITE PARIS-SUD
ÉCOLE DOCTORALE : *Sciences et Technologies de L'Information des
Télécommunications et des Systèmes*

Laboratoire de Résonance Magnétique Nucléaire de l'Institut de Myologie (AIM/CEA)

DISCIPLINE PHYSIQUE

SYNTHÈSE en FRANÇAIS
THÈSE DE DOCTORAT
Soutenu e le 06/05/2014

par

Ericky Caldas de Almeida Araujo

Des preuves de concept à la mise en œuvre de
méthodes de RMN quantitatives : Application
Clinique à la caractérisation des altérations du muscle
strié squelettique dans les pathologies neuro-musculaires

Composition du jury :

Directeur de thèse :	Pierre CARLIER	Directeur de Recherches (CEA)
Rapporteurs :	Kieren HOLLINGSWORTH Robert MULLER	Professeur (Newcastle University) Professeur (Université de Mons)
Examineurs :	Luc DARASSE Thomas VOIT	Directeur de Recherches CNRS (Université Paris SUD) Professeur (Faculté de Médecine, UPMC INSERM)
Co-encadrant :	Paulo L. de SOUSA	Ingénieur de recherche CNRS (Université de Strasbourg)

1. Introduction

1.1. Motivation

Au cours des dernières années, des techniques de résonance magnétique nucléaire (RMN) ont gagné un intérêt accru de la communauté scientifique dans le domaine des maladies neuromusculaires. Cela est dû au potentiel de leurs applications tel qu'outils d'investigation non-invasive pour l'étude de la composition chimique, physiologie et métabolisme du muscle squelettique. Le développement assez récent des méthodes d'imagerie par RMN (IRMN) quantitatives a offert la possibilité de déterminer des biomarqueurs qui pourront viabiliser le suivi de la progression de maladies et l'étude détaillée des essais thérapeutiques. L'objectif de ce travail de thèse a été d'adapter des méthodes quantitatives existantes et de mettre au point des nouvelles méthodes pour la caractérisation des altérations du muscle strié squelettique dans les pathologies neuromusculaires.

1.2. Contexte

Le corps humain adulte est principalement composé de l'eau (60-70 %) , protéines (15-25 %) et lipides (5-15 %). Ces composants sont répartis à différentes fractions selon chaque type de tissu. Les noyaux d'hydrogène sont présents dans toutes les molécules formant ces composants et c'est l'atome le plus abondant dans le corps humain, ce qui le rend le noyau de choix pour la plupart des applications d'IRMN. Dans la pratique, le signal de RMN provenant de l'hydrogène (proton) des protéines n'est pas observable avec les techniques habituelles de IRMN en raison de son très court temps de relaxation T2 (~ 10 μ s). Comme conséquence, Tout le signal qui est traité dans les techniques d'IRMN du proton provient de l'eau et des lipides.

La relaxation de l'eau dans le tissu est très différente de la relaxation de l'eau pure. Elle est en générale dominé par les interactions des molécules d'eau avec les macromolécules qui constituent le tissu et la structure du tissu. En conséquence, il y aura trois sources indépendantes de contraste dans les images de résonance magnétique : (i) la densité de protons détectables; (ii) la différence entre les paramètres de RMN intrinsèques qui caractérisent l'eau et les lipides ; et (iii) la différence entre les paramètres de RMN qui caractérisent le signal de l'eau de différentes tissus ; ces paramètres sont déterminées par la composition chimique et la structure du tissu.

Les différents tissus et structures identifiés dans IRMN clinique standard du muscle squelettique sont: les muscles, la graisse, le fascia et l'os cortical (Figure 1); les deux derniers sont identifiables par leur caractéristique absence de signal.

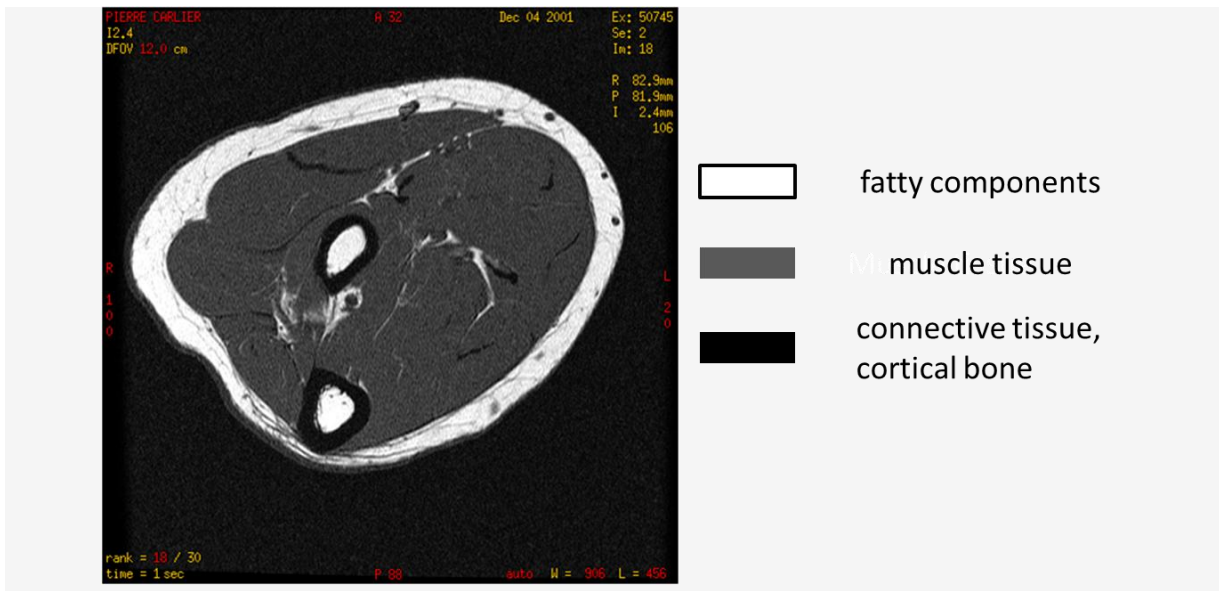


Figure 1 – Exemple d’une image d’RMN d’une coupe transversal pondérée en T1 de l’avant-bras d’un sujet sain.

Les principaux paramètres de RMN explorés dans les études actuelles du muscle squelettique sont : le déplacement chimique, qui quantifie les différentes fréquences de précession de l’aimantation des protons dans les molécules d’eau et de lipides; et les temps de relaxation T1 et T2. Les techniques d’IRMN peuvent être ajustées de manière à ce que le signal acquis soit plus ou moins dépendant des paramètres T1 ou T2 ; les images correspondantes seront dites pondérées en T1 ou T2, respectivement et leur contraste sera déterminé par les différences de relaxation du signal de chaque tissu. Tous ces paramètres peuvent être altérés par l’activité de maladies, ce qui rend les techniques d’IRMN sensibles à la pathologie tels que : l’œdème, l’inflammation, la nécrose, l’infiltration graisseuse et la fibrose. Cependant, les approches qualitatives, telles que l’imagerie pondérée T1/T2, sont subjective car ils dépendent de l’identification visuelle des altérations de contraste, ce qui résulte en manque de précision. En outre, l’intensité de l’image est déjà influencée par des imperfections techniques du système d’imagerie. Ces difficultés imposent la nécessité de développer des méthodes quantitatives qui puissent offrir des biomarqueurs objectifs pour la caractérisation précise des altérations des tissus.

La détection du signal provenant des structures de tissus conjonctives tels que les fascias, les tendons et la fibrose est un problème compliqué. Les paramètres d’RMN caractérisant le signal provenant des molécules d’eau en interaction avec la matrice de collagène qui forme ces structures sont modifiées. La détection de ce signal ne se fait qu’avec des techniques spéciales qui ont été exploités dans ce travail.

Des techniques pour la quantification de graisse sont bien établies, et ont démontré leurs capacités d’identifier des caractéristiques spécifiques à quelques maladies dans ce qui concerne quels muscles sont touchés et comment. Malgré la contribution de ces méthodes au diagnostic des maladies neuromusculaires, la dégénérescence graisseuse est caractéristique

d'un stage avancé des maladies. L'inflammation, l'œdème, la nécrose et la fibrose par contre, ces sont des signes d'activité de la maladie. Leur quantification et identification constitueraient ainsi des biomarqueurs de grande importance pour le suivi thérapeutique et la compréhension de l'évolution des maladies.

Actuellement, la caractérisation des sites inflammatoires repose sur la mesure des cartographies T2. La valeur de T2 a été montrée être élevée en présence de processus d'inflammation/nécrose/œdème. Par contre, en plus des difficultés techniques intrinsèques aux mesures du temps de relaxation T2, le signal de RMN du proton dans le muscle, principalement dans le muscle malade, contient une contribution importante provenant des lipides. Cela ajoute une difficulté pour la caractérisation du signal des protons de l'eau et entraîne des problèmes techniques importants qui doivent être soigneusement pris en compte pour assurer la précision des mesures.

Dans ce travail, nous présentons, dans un premier temps, deux méthodes différentes qui permettent d'extraire de cartographies T2 de l'eau dans le tissu. Deuxièmement, nous présentons une technique pour accéder aux informations sur la compartimentation anatomique l'eau tissulaire (intracellulaire, interstitiel et vasculaire), qui s'est montré un outil prometteur offrant la possibilité de déterminer les processus physiologiques à l'origine de l'augmentation du T2. Et en dernière, nous décrivons nos tentatives pour détecter et caractériser le signal d'RMN provenant du tissu conjonctif intramusculaire, dans l'espoir de pouvoir quantifier la fibrose musculaire.

2. Validation d'une méthode d'écho de spin pour la cartographie du T2 de l'eau dans le muscle squelettique infiltré par la graisse

Ce travail méthodologique a consisté dans le développement d'une méthode pour le traitement de données d'imagerie issues d'une séquence d'écho de spin du type CPMG, afin d'extraire une cartographie T2 de l'eau dans le muscle squelettique. Le signal de RMN du proton des lipides est caractérisé par une relaxation T2 plus lente que celle du signal provenant des protons de l'eau. Cela implique qu'une mesure mono-exponentielle du T2 dans un mélange de l'eau et lipides résulte dans une valeur qui ne représente la relaxation d'aucun des deux composants, particulièrement plus grande que la valeur de T2 de l'eau. La présence des lipides dans les muscles exige la séparation des signaux de l'eau et de lipides. Cela a été fait par exploitation de la différence de relaxation T2 entre ces deux composants.

2.1. Méthodologie

Un modèle tri-exponentielle a été ajusté à la courbe de décroissance T2 de l'amplitude du signal observée pour chaque voxel. Le modèle tri-exponentielle proposé est composé par la somme des signaux de lipides, qui nous avons modélisé par une décroissance bi-exponentielle, et de l'eau, qui nous avons modélisé par une décroissance mono-exponentielle. Les valeurs et les fractions relatives des deux composants T2 des lipides ont été estimés pour les voxels dans la graisse sous-cutanée et fixés pour les ajustements tri-exponentiels réalisés pour les voxels dans le muscle. Pour vérifier que le T2 extrait caractérisait le signal de l'eau, la fraction relative du signal des lipides dans chaque voxel a été mesurée par la méthode classique de Dixon 3 points (Dx3p) et confrontée à la valeur mesurée de T2. La méthode a été appliquée chez 48 patients atteints de différentes maladies neuromusculaires, et 20 sujets normaux. Les courbes de relaxation T2 de chaque voxel a été déterminé par les amplitudes des images acquises à 17 temps d'écho différents, avec un intervalle de 9.5 ms (9.5-161 ms).

2.2. Résultats et conclusions

La méthode proposée s'est montrée capable d'extraire des cartographies de T2 sensibles aux processus d'inflammation, œdème et nécrose, caractérisés par des valeurs de T2 élevées. Aucune corrélation n'a été trouvée entre les T2s et les fractions de lipides mesurées par la méthode Dx3p, ce qui démontre que les T2s mesurés caractérisent le signal de l'eau (Figure 2).

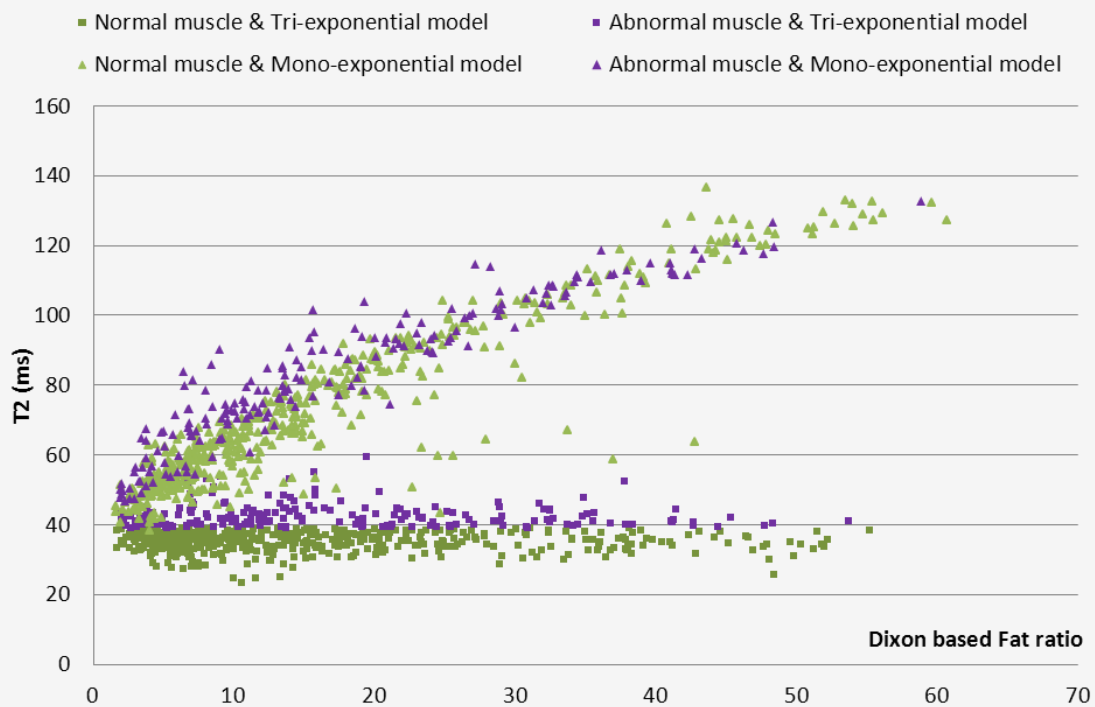


Figure 2 - Plots des valeurs du T2 de l'eau déterminées par la méthode proposée, et les valeurs de T2 globales obtenues par simple fit mono-exponentiel contre la fraction de graisse obtenue avec la méthode de Dixon 3 points. Une forte corrélation existe entre la valeur du T2 globale et la fraction graisseuse. En revanche, les valeurs de T2 de l'eau obtenues à partir du modèle tri-exponentielle ne présentent aucune corrélation avec la fraction de graisse. Muscles anormaux sont également identifiables par des de T2 globales élevées.

Les paramètres extraits du fit tri-exponentiel permettent aussi de calculer la fraction relative du signal des lipides. Nous avons pu vérifier une corrélation linéaire ($R^2 = 0.89$) entre ces fractions et les fractions mesurés avec la Dx3p, ce qui démontre que la méthode proposée offre en plus de la cartographie T2, la cartographie de graisse, ce qui permet d'identifier en plus de l'inflammation, des zones d'infiltration graisseuse fréquemment présentes dans les cas de maladies neuromusculaires. Ce travail a été l'objet d'un article publié dans le journal «*Journal of Magnetic Resonance Imaging*» (Azzabou, Sousa, Araujo, & Carlier, 2014. *Validation of a generic approach to muscle water T2 determination in fat-infiltrated skeletal muscle*. (In press). DOI 10.1002/jmri.24613).

La possibilité de quantifier le T2 de l'eau indépendamment du niveau d'infiltration graisseuse rend la méthode proposée un outil fiable qui peut suivre d'autres modifications structurelles liées à l'activité de la maladie dans le muscle. En outre, la méthodologie proposée a été validée comme un outil quantitatif pour l'évaluation de l'infiltration graisseuse.

3. Validation d'une méthode d'imagerie quantitative du T2 de l'eau dans le muscle squelettique infiltré par la

graisse basée sur des acquisitions 3D en état stationnaire.

Ce travail méthodologique a consisté dans la mise en place d'une deuxième méthodologie pour extraire des cartographies de T2 de l'eau du muscle squelettique. Cette méthode est basée sur une méthode proposée assez récemment (Bieri et al., 2011) de *partially Spoiled Steady State Free Precession* (pSSFP), qui dérive d'une séquence d'écho de gradient en état stationnaire 3D. L'absence de sélection de coupe rend la technique compatible avec des méthodes de sélection spectrale de l'eau, ce qui annule le signal provenant des lipides. Cette méthode présente des avantages par rapport à la méthode précédemment décrite : (i) une déposition d'énergie beaucoup plus petite, ce qui peut être un facteur limitant pour les méthodes du type CPMG ; (ii) l'acquisition 3D qui élimine la nécessité d'espacer les coupes ; (iii) La possibilité de corriger les mesures de T2 dans les zones d'importante inhomogénéité du champ de RF (B1+) ; et (iv) un traitement de données très simple, où la cartographie de T2 peut être calculée à partir de seulement deux images pSSFP. Cette méthode présente des avantages par rapport aux méthodes alternatives de cartographie T2 basées sur la *steady state free precession SSFP* : (i) beaucoup moins sensible aux inhomogénéités de B0 et au transfert d'aimantation (MT). Des limitations de cette méthode ont été discutées dans d'autres travaux (O. Bieri, Scheffler, & Ganter, 2010; de Sousa, Vignaud, Cabrol, & Carlier, 2010). Ces auteurs ont vérifié que si les angles de bascule (FA) ne sont pas assez grands ($\alpha \geq 70^\circ$) ou si

les tissus ne présentent pas des rapports T1/T2 assez grand, la valeur de T2 mesurée avec la T2-pSSFP est sous-estimée. Cette condition peut être exprimée par la relation (O.

$$\frac{T_2}{T_1} \ll \tan^2 \frac{\alpha}{2}$$

Bieri et al., 2009). Une solution à ce problème a été proposée (Oliver Bieri et al., 2011), ce qui a donné plus de flexibilité au choix de FA. Par contre une telle méthode est itérative, ce qui rend très difficile l'analyse de l'impact des différents paramètres de la séquence et du tissu dans la mesure. Cela fini pour rendre l'ajustement de la méthode à des applications spécifiques très compliqué.

3.1. Méthodologie

Dans un premier temps nous avons développé une approche plus simple qui permet de corriger la sous-estimation dans la valeur du T2-pSSFP quand la relation n'est

$$\frac{T_2}{T_1} \ll \tan^2 \frac{\alpha}{2}$$

pas respectée. Dans un deuxième temps nous avons vérifié l'importance de l'exactitude de la valeur effective de FA sur les mesures et nous avons démontré expérimentalement une

méthode simple pour la correction des erreurs dans les mesures de T2-pSSFP. La méthode a été vérifiée sur des échantillons et des sujets sains et malades.

3.2. Résultats et conclusions

Une démonstration pratique de notre technique a été donnée dans l'imagerie du muscle squelettique à 3T. Dans les muscles sains, les valeurs de T2 obtenues à partir d'expériences pSSFP présentèrent bon accord avec les valeurs de la littérature. La correction des valeurs de FA par la mesure du champ B1 et le rapport signal à bruit relativement élevé résultèrent dans des mesures très précises du T2 de l'eau.

Des expériences in vivo ont démontré que T2-pSSFP était suffisamment sensible pour détecter des altérations du T2 à longue durée et le motif sélectif des variations de T2 après un exercice excentrique, connu pour être une cause de dégénérescence tissulaire suivi par une réaction inflammatoire réparatrice.

T2-pSSFP a également été utilisé pour évaluer les dégâts de muscle dans une forme sévère de la myopathie nécrosante. Régions marquées par une inflammation sévère et/ou œdèmes, qui ont bien été détectés l'imagerie pondérée en T2 avec suppression de graisse, ont été confirmées par la cartographie T2-pSSFP. Toutefois, d'autres zones dans le muscle, dans lequel T2-pSSFP a signalé des augmentations significatives du T2, n'ont pas été détectées dans les images pondérées en T2. Il s'agit ici d'un exemple typique de nombreuses situations où l'évaluation quantitative du T2 offre plus de sensibilité dans la détection d'une lésion musculaire que l'évaluation subjective des images en T2.

En résumé, nous avons effectué une analyse complète de la méthode T2-pSSFP. L'impact de chaque paramètre expérimental et tissulaire sur l'estimation du T2 a été identifié, ce qui permet l'optimisation de la séquence pour des applications in vivo. La technique T2-pSSFP a démontré sa robustesse vis-à-vis des inhomogénéités B0 et la possibilité de correction efficace des erreurs de FA, deux caractéristiques essentielles pour l'imagerie quantitative à haut champ (≥ 3 T).

4. Elucidation de la compartimentation du muscle strié squelettique révélé par la relaxométrie T2 in vivo

Malgré le fait de permettre la détection des sites d'activité de maladies, la mesure mono-exponentielle du T2 de l'eau par imagerie reste non-spécifique vis-à-vis des processus physiologiques à l'origine de l'augmentation du T2. Depuis plus de 40 ans la relaxation T2 du muscle squelettique a été montrée être caractérisée par une décroissance multi-exponentielle. Cela est actuellement interprété comme une conséquence de la compartimentation anatomique de l'eau tissulaire (intracellulaire, interstitielle et vasculaire). Un outil donnant accès à ces informations, pourrait assurer la spécificité aux mesures de T2 par imagerie. Pour attaquer ce problème, nous avons mis au point une méthode pour l'acquisition localisée de données CPMG. Cette technique permet l'acquisition de courbes de décroissance avec un échantillonnage temporel et un rapport signal à bruit beaucoup plus importants que dans les techniques d'imagerie. Cela offre la possibilité de réaliser des traitements multi-exponentielle précis. Ce travail nous a permis d'établir pour la première fois un modèle de compartimentation qui explique parfaitement la relaxation T2 dans le muscle. Ce travail a été l'objet d'un article publié dans le « *Biophysical Journal* » (Araujo, Fromes & Carlier 2014. *New Insights on skeletal muscle tissue compartments revealed by T2 NMR relaxometry*. (In press)).

4.1. Méthodologie

Une technique pour l'acquisition localisée de courbes de relaxation a été mise au point en combinant la séquence de spectroscopie CPMG avec la méthode de localisation *Image-Selected In vivo Spectroscopy* (ISIS). Chaque série de données était constituée avec 1000 échos acquis avec un intervalle de 1 ms. Seuls les échos pairs étaient traités résultant dans des courbes de relaxation avec un échantillonnage temporel de 500 Hz.

Des courbes de relaxation T2 ont été extraites d'un volume d'intérêt (VOI) rectangulaire localisée dans le soléaire droit de 8 volontaires sains (âge $36,5 \pm 11,6$ années). Les acquisitions ont été répétées dans 3 conditions de préparation vasculaires différentes, attendues de modifier strictement le volume d'eau extracellulaire.

La déconvolution T2 pour l'extraction de distributions T2 a été réalisée avec une méthode d'inversion régularisée. La connaissance à priori des taux d'échange moyens d'eau entre les différents compartiments anatomiques (intracellulaire/interstitiel/vasculaire) dans un muscle strié squelettique normal sain ont rendu possible l'analyse des distributions T2 par des modèles de compartimentation différents. Un fit mono-exponentiel des données a été réalisé pour étudier l'impact du volume de l'eau extracellulaire sur la mesure mono-exponentielle du T2.

4.2. Résultats et conclusions

Des exemples de courbes de T2 obtenues sur un sujet pour chaque préparation de remplissage vasculaire sont présentées dans la Figure 3. Les lignes continues passant par les points correspondent aux ajustements par l'inversion régularisée des courbes de décroissance (Figure 3 a). **Error! Reference source not found.** b présente les distributions T2 correspondantes.

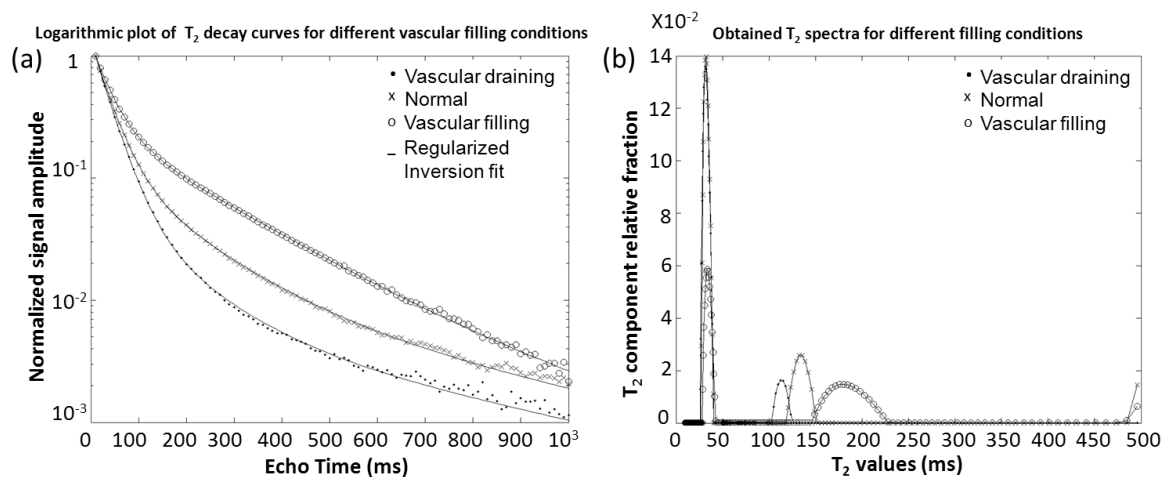


Figure 3 - (a) Plot of T2-decay curves obtained for a subject under different vascular filling conditions. The lines passing through the points correspond to the fitted curves resulting from the regularized inversion solution, and (b) presents the corresponding obtained T2-spectra.

Les valeurs de T2 mono-exponentielles ont montré une augmentation systématique des suivant le remplissage vasculaire progressif. Ce résultat confirme l'importance de la teneur en eau extracellulaire sur la valeur de relaxation T2 du muscle mesurée par des approches mono-exponentielles comme en imagerie.

Les distributions de T2 obtenues avec le procédé d'inversion régularisée ont présenté systématiquement deux composantes T2 avec de valeurs fractions relatives qui correspondent aux composantes dites "intermédiaire" et "longue" également observé dans des études antérieures. Ceci démontre la reproductibilité de la méthode.

Les préparations de remplissage vasculaire ont affecté exclusivement la composante *longue*, dont la fraction et la valeur relative augmentèrent systématiquement suite à l'augmentation progressive de l'espace extracellulaire. Ce sont de fortes évidences en faveur de l'hypothèse de compartimentation anatomique.

Les résultats de l'analyse des distributions T2 par des modèles de compartimentation ont montré que un modèle à deux compartiments en échange, soit intra-/extracellulaire ne peut pas prédire les observations pour les taux d'échange membranaires connus. Par contre un modèle à trois compartiments, vasculaire-interstitiel-intracellulaire, arrive à prédire parfaitement la relaxation observée dans le tissu musculaire.

Ce travail nous a amené aux conclusions suivantes :

I – Le comportement bi-exponentielle de la relaxation T2 des signaux des protons de l'eau observé dans le muscle strié squelettique reflète une compartimentation anatomique de l'eau tissulaire.

II – La teneur d'eau dans l'espace vasculaire a des contributions significatives aux valeurs de T2 mesurées par des approches mono-exponentielles.

III – un modèle à deux compartiments représentant les espaces intra- et extracellulaires ne peut pas expliquer la relaxation T2 du muscle. En revanche, un modèle à deux compartiments représentant les espaces extra- et intravasculaires peut expliquer la relaxation T2 dans le muscle.

IV – Un modèle à trois compartiments représentant la compartimentation de l'eau dans les espaces intracellulaire, interstitielle et vasculaire, explique parfaitement les observations pour les valeurs de taux d'échange connus à priori pour le muscle sain.

V – Pour le muscle strié squelettique sain, la composante T2 *intermédiaire* représente la relaxation T2 des signaux de l'eau dans les compartiments intracellulaire et interstitiel, pendant que la composante *longue* représente la relaxation T2 de l'eau dans l'espace vasculaire.

5. Application des méthodes d'imagerie à temps d'écho ultra-court pour l'étude des composants à T2 court dans le muscle strié squelettique

Dans certaines maladies neuromusculaires, nous pouvons observer une accumulation excessive de tissu conjonctif fibreux dans la matrice extracellulaire, révélant un épaissement de l'endomysium, observées dans des analyses histologiques (Figure 1). Bien que l'étiologie et la physiopathologie de ce mécanisme sont encore étudiées et débattues, il est actuellement admis que la nature chronique de la réponse inflammatoire à la dégénérescence du tissu qui se déroule dans les muscles malades est un élément clé de la formation de la fibrose. Cela implique que la quantification de la distribution de tissu conjonctif intramusculaire (TCIM) constituerait un nouveau biomarqueur pour la caractérisation de l'évolution de maladies et pour le suivi thérapeutique.

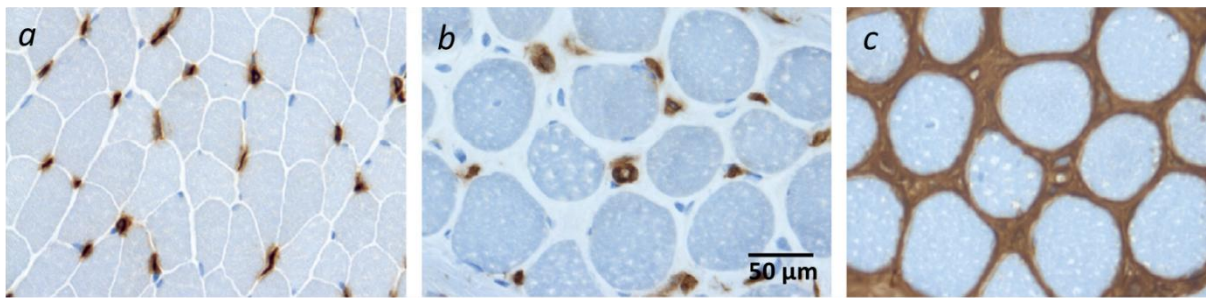


Figure 1 – Comparaison des caractéristiques morphologiques de l'histologie d'un muscle sain, (a), et d'un muscle atteint dans un cas de la myopathie de Duchenne (MD), (b, c). Notez que dans le contrôle (a) de la section transversale des fibres musculaires (texture bleu clair) présentent une forme plutôt polygonale et elles occupent presque la totalité du volume tissulaire; les capillaires sont colorés (marron) et peuvent être identifiés dans les coins des fibres musculaires. Dans le muscle atteint (b, c) la section transversale des fibres musculaires est plutôt arrondie; à la différence de (a), les distances entre les capillaires et les fibres sont plus importantes (b). En (c) l'immunomarquage du collagène I met en évidence les couches de l'endomysium, qui sont anormalement épais dans le tissu dystrophique.

5.1. Détection et caractérisation d'une composante à T2 court dans le muscle strié squelettique

Une séquence UTE 3D a été appliquée pour imagier le mollet d'un sujet sain à plusieurs temps d'échos : TE = 0.2, 0.4, 0.6, 1, 2.46, 5, 10, 15 ms. Une technique d'excitation binomiale (1-1) a été utilisée pour l'excitation sélective de l'eau. L'évolution de l'amplitude

du signal provenant des régions d'intérêt tracées dans les muscles et dans les fascia ont été ajustée à un modèle bi-exponentiel.

Une composante à T2 court a été systématiquement observée dans le muscle. Sa valeur de T2 (~ 500 μ s) a été la même que celle observée dans les fascias.

Ces résultats ont confirmé la présence d'une composante à T2 très court dans le muscle et suggèrent qu'elle représente du TCIM.

5.2. Description d'une méthode pour l'imagerie des composantes à T2 court dans le muscle strié squelettique

Bien que les séquences UTE permettent d'acquérir du signal de structures caractérisées par un T2 très court, le signal provenant de chaque voxel aura contributions des tissus à T2 à la fois court et long. Par conséquent, les composantes à T2 court ne sont pas directement identifiées dans les images UTE à cause du manque de contraste. Des différentes méthodes ont été proposées pour mettre en évidence le signal provenant de tissus à T2 court, tels que l'application des impulsions RF sélectives en T2 pour supprimer les contributions de tissus à T2 long, ou des techniques de post-traitement pour isoler les contributions des tissus à T2 court. Pourtant toutes ces méthodes échouent quand la fraction du composant à T2 court est très petites (< 5%), comme s'attend pour le TCIM.

Nous avons implémenté une méthode de post-processing pour extraire une cartographie de la fraction des composants à T2 court. Pour cela 7 images de la même coupe ont été acquises à des temps d'écho différents, TE = 0.2, 2.5, 3.5, 5, 6, 12, 25 ms, avec une séquence UTE d'acquisition 2D. La fraction de graisse et le T2* pour chaque voxel ont été extraits à partir d'un traitement IDEAL sur les images acquises à TE \geq 2.5 ms ; Ce traitement est basé sur l'ajustement du modèle défini par l'Eq 1 ci-dessous à l'évolution du signal complexe.

$$S(t) = (W + Ff(t))e^{i\psi t} \quad (1)$$

où W et F sont des variables complexes représentant l'aimantation de l'eau et de la graisse juste après l'excitation ($t = 0$), $f(t) \equiv \sum_k \rho_k e^{i\omega_k t}$ détermine le spectre de fréquence de la graisse, et $\psi \equiv \omega_0 + \frac{i}{T_2^*}$ contient l'information sur l'inhomogénéité du champ B0 et T2*.

Avec les cartographies de la fraction graisseuse, F , et du T2*, la fraction relative de la composante à T2 court, S_f , a été extraite à partir des images, $S(t)$, acquises à $t_0 = 0.2$ ms and $t_1 = 2.5$ ms par

$$S_f = \frac{|S(t_0)|e^{\frac{t_0}{T_2^*}} - |S(t_1)|e^{\frac{t_1}{T_2^*}} - F|S(t_0)|(f_0 - f_1)}{S(t_0)e^{\frac{t_0}{T_2^*}}} \quad (2)$$

La Figure 2 présente un exemple de cartographie de la fraction relative de composante à T2 court extraite à partir de l'Eq. 2.

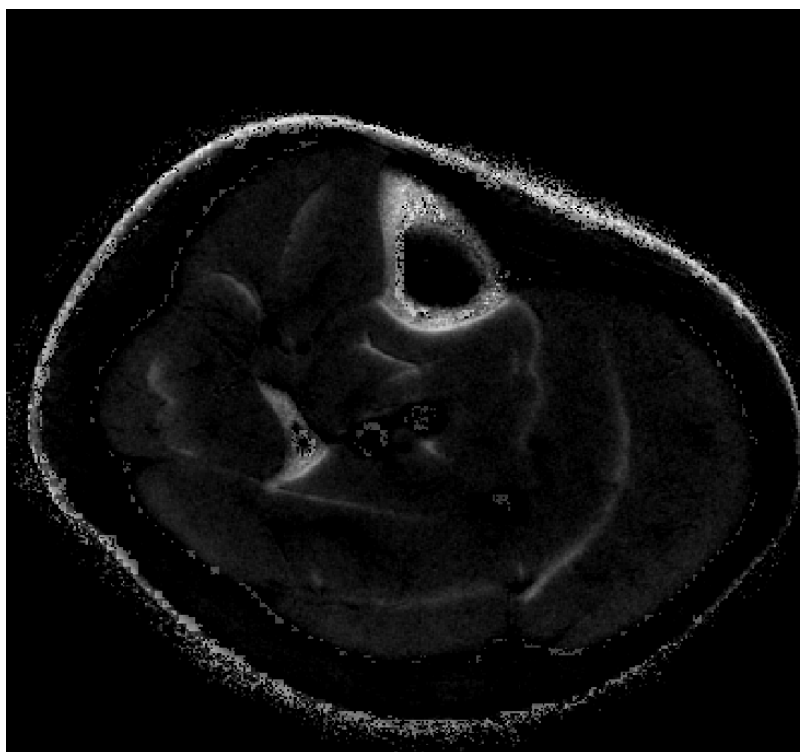


Figure 2 – Cartographie de la fraction relative de la composante à T2 court sur une coupe transversale du mollet d'un sujet sain.

La Figure 3 présente l'histogramme de la fraction relative, S_f , correspondant à la cartographie présentée en Figure 2.

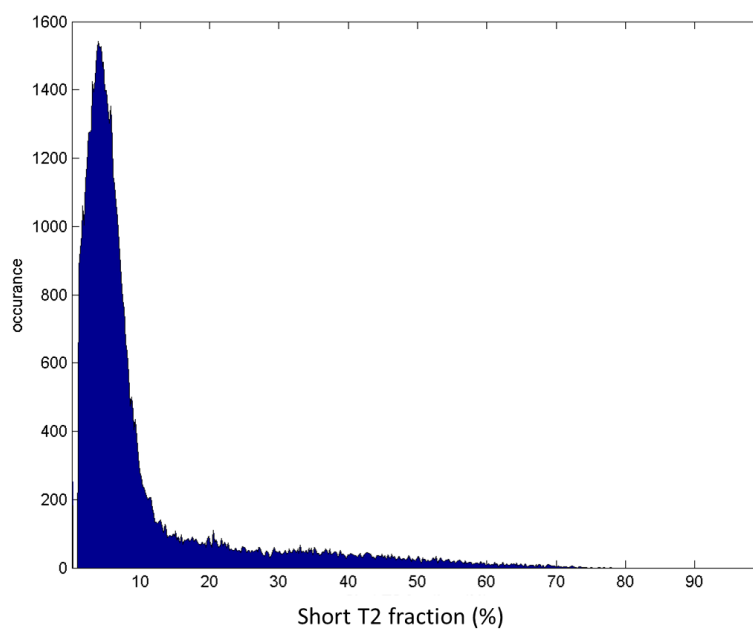


Figure 3 – Histogramme de la fraction relative de la composante à T2 court, S_f , correspondant à la cartographie présentée en Figure 2.

6. Conclusions et perspectives

L'objectif de cette thèse était d'adapter et implémenter des techniques de RMN et des procédés de post-traitement des données de RMN au niveau d'outils cliniquement applicables pour la quantification des variables sensibles/spécifiques à des altérations pathologiques du muscle strié squelettique, tels que l'inflammation, œdème, nécrose et la fibrose. La quantification de l'infiltration graisseuse observée aux stades avancés de la maladie est actuellement bien effectuée par des techniques de séparation spectrales d'eau et graisse et, de ce fait, n'a pas été d'abord traité dans cette thèse.

Inflammation, œdème et nécrose sont des signes d'activité de maladies, et ont été montré être caractérisé par des valeurs de T2 élevées, évalué visuellement dans des images pondérées en T2 avec saturation du signal de graisse. Toutefois, une telle approche visuelle qualitative repose sur la détection subjective de contraste entre les tissus sains et les tissus supposés œdémateux et enflammée. Cette différence de contraste est fortement sensible aux imperfections du système au niveau de l'inhomogénéité des champs de transmission et réception de signaux. La mesure réelle de la valeur T2 offre une plus grande sensibilité aux altérations tissulaires et une plus petite sensibilité aux imperfections du système. Elle est actuellement proposée comme une solution aux problèmes liés à la caractérisation précise de l'inflammation.

Dans les chapitres 3 et 4, nous avons présenté deux méthodes permettant l'extraction de cartographies T2 de l'eau qui sont insensibles aux contributions du signal de lipides, ce qui est fondamental pour la caractérisation appropriée des muscles infiltrés de graisse, fréquemment observés dans les maladies neuro-musculaires. Le post-traitement qui a été mis au point dans le chapitre 3 permet la quantification simultanée du T2 et de la fraction graisseuse en utilisant une séquence de multi-écho de spin, qui est disponible sur la plupart des systèmes de d'imagerie cliniques. Bien que l'idée d'exploiter les différences entre la relaxation T2 de l'eau et des lipides avait déjà été proposé, notre méthode permet d'améliorer la précision de sur les valeurs T2 de référence, ce qui est essentiel pour assurer la discrimination des muscles atteints. Bien que la méthode décrite dans le chapitre 4 n'offre pas la possibilité d'extraire des cartographies de la fraction graisseuse, elle présente un post-traitement simple et surmonte certaines difficultés de la méthode décrite dans le CH. 3, telles que des limitations d'inhomogénéité B1 et une couverture dense de l'espace 3D. Les deux procédés ont démontré être sensibles à des altérations tissulaires provoquées soit par des microtraumatismes directe ou de l'activité de la maladie telles qu'une inflammation, un œdème ou une nécrose.

Les modifications observées en T2 reflétant l'activité de la maladie sont censés être provoquée par une augmentation de la teneur en eau du tissu. Cependant, le tissu a une structure compartimentée et la teneur en eau peut varier différemment à l'intérieur des compartiments

individuels en fonction des mécanismes sous-jacents aux altérations induites par la pathologie. La relaxation T2 dans le muscle squelettique a longtemps été connue pour être multi-exponentielle. Ce comportement est actuellement assumé comme une conséquence de cette compartimentation. Il s'ensuit que le T2 mono-exponentielle, tel que mesuré par des techniques d'imagerie par RMN, caractérise une relaxation apparente et non-spécifique au mécanisme pathophysiologique sous-jacent.

Extraction de distributions T2 à partir des données de relaxation est un problème mathématique mal posé et les résultats dépendent fortement du rapport signal à bruit (RSB). Cela impose des contraintes à l'ensemble de données, telles que RSB élevé (> 1000) et de l'échantillonnage temporel des courbes de décroissance (~ 1kHz) afin de diminuer la sensibilité au bruit et permettre l'extraction de distributions T2 reproductibles. Ces contraintes ne sont pas respectées par des séquences IRMN classiques, et des études de relaxométrie T2 multi-exponentielle se font avec la séquence de spectroscopie CPMG. L'interprétation des distributions T2 observées dans le muscle est encore un problème en ouvert. Bien que la plupart des travaux présentés à ce jour appuient l'hypothèse de la compartimentation anatomique, ils ont conduit à des théories non-consensuelles concernant l'attribution des différentes composantes T2 observées à des compartiments anatomiques spécifiques.

Dans le chapitre 5, nous avons abordé la question relative à l'interprétation de la relaxation T2 multi-exponentielle observée dans le muscle squelettique. Cette étude constitue la contribution la plus importante de cette thèse. Tout d'abord, nous avons proposé des preuves expérimentales solides de la compartimentation anatomique de l'eau tissulaire. Ensuite, nous avons démontré que un modèle compartimental à trois sites (3S2X), décrivant les espaces intracellulaire, interstitielle et vasculaire est capable d'expliquer les données expérimentales pour les taux d'échange physiologiques connus. En outre, nos résultats suggèrent fortement que les composantes T2 "intermédiaire" et "longue" observés dans des études de relaxométrie T2 dans le tissu musculaire normal sont attribués aux espaces extra- et intravasculaires respectivement, et invalident le modèle généralement admis intra- et extracellulaire. Enfin, nous avons vérifié expérimentalement la sensibilité de la méthode à des altérations tissulaires induites par la pathologie. Le rapport entre la relaxation T2 du tissu et sa compartimentation structurel peut être exploitée par des méthodes de RMN multidimensionnelles, qui peuvent être classés en corrélation ou échange. Dans les méthodes de corrélation, des paramètres de RMN indépendants caractérisant le tissu peuvent être corrélées afin de caractériser mutuellement l'un à l'autre, offrant l'information complémentaire qui permet de valider et optimiser le modèle compartimental. Dans les méthodes d'échange, les mesures d'un même paramètre sont répétées et espacés par différents temps de mélange; les molécules d'eau qui n'échangent pas pendant le temps de mélange présenteront la même valeur de paramètre entre les différentes mesures et apparaîtront comme pics en diagonale dans la distribution bi-dimensionnelle, alors que les protons qui échangent pendant le temps de mélange exposeront

différents paramètres des valeurs pour chaque mesure et apparaîtra pics comme hors-diagonales. Ces méthodes permettront de confirmer nos suppositions.

En Ch. 6, nous avons abordé le problème lié à la détection et la caractérisation du TCIM par des méthodes de RMN. Une technique de IRMN, dénommé UTE, qui permet l'acquisition de signaux de protons caractérisés par T2 très court ($T2 \geq 10 \mu s$) a été montré capable d'imager et de caractériser les structures à T2 court telles que les tendons, le cartilage, l'os cortical, etc. Nous avons appliqué cette technique pour étudier le muscle strié squelettique. Nos résultats ont révélé une composante à une valeur de T2* d'environ 400 μs et nous avons pu recueillir des indices à ce que cet élément pourrait représenter le TCIM. En outre, nous avons proposé une méthode qui a permis d'imager, pour la première fois, une composante à T2 court diffuse dans le tissu. Nos résultats ne nous permettent pas de déterminer l'origine de cette composante à T2 court. Le signal de protons de l'eau qui se caractérisent par T2 valeurs courtes observées dans les tissus SKM est généralement accepté de l'eau qu'hydrate les macromolécules. Toutefois il n'existe aucune étude décrivant la répartition anatomique de ces bassins d'eau d'hydratation, et le signal observé peut provenir d'eau d'hydratation des macromolécules de l'appareil contractile (intracellulaire), ainsi que des macromolécules constituant la matrice extracellulaire.

L'application de la méthodologie développée dans ce travail pour étudier des muscles présentant des altérations spécifiques de la teneur en collagène, confirmés par l'analyse histologique, et la confrontation avec d'autres méthodes qui offrent une détection indirecte de la distribution de tissu fibreux, tels que le rehaussement tardif après injection de gadolinium doit aider à élucider cette question.