



HAL
open science

IRM multi-paramétrique du muscle squelettique dans le contexte de la sarcopénie et de la fragilité

Stéphane Loubrie

► **To cite this version:**

Stéphane Loubrie. IRM multi-paramétrique du muscle squelettique dans le contexte de la sarcopénie et de la fragilité. Médecine humaine et pathologie. Université de Bordeaux, 2020. Français. NNT : 2020BORD0320 . tel-03163955

HAL Id: tel-03163955

<https://theses.hal.science/tel-03163955>

Submitted on 9 Mar 2021

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.



UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE
LA SANTE
CENTRE DE RÉSONANCE MAGNÉTIQUE DES
SYSTÈMES BIOLOGIQUES - UMR 5536

Thèse présentée pour obtenir le grade de Docteur de
l'Université de Bordeaux

Spécialité: Bioimagerie

Stéphane LOUBRIE

IRM multi-paramétrique du muscle squelettique dans
le contexte de la sarcopénie et de la fragilité

Sous la direction d'**Isabelle BOURDEL-MARCHASSON**

Soutenue le 10/12/2020 devant le jury composé de:

Dr. Benoit GIANNESINI, Chargé de recherche, CRMBM, Université Aix-Marseille	Rapporteur
Dr. Christelle GUILLET, Maitre de Conférences, Université Clermont-Auvergne	Rapporteuse
Pr. Laurent BOSQUET, Professeur des Universités, Université de Poitiers	Président du jury
Dr. Gwénaëlle CATHELIN, Maitre de Conférences, INCIA, Université de Bordeaux	Invitée
Dr. Fabrice RANNOU, Praticien hospitalier, CHU Clermont-Ferrand	Invité
Pr. Isabelle BOURDEL-MARCHASSON, PU-PH, Université de Bordeaux	Directrice de thèse

Remerciements

Je souhaiterais commencer par remercier les membres du jury. Tout d'abord le Dr. Giannesini et le Dr. Guillet pour avoir pris le temps de lire et d'évaluer attentivement mon manuscrit et pour leurs remarques qui auront permis d'améliorer considérablement sa qualité. Les Dr. Catheline, Dr. Rannou ainsi que le Pr. Bosquet pour avoir examiné mes travaux au cours de la soutenance et pour leurs questions et critiques extrêmement pertinentes.

J'aimerais remercier également le Dr. Sylvain Miraux ainsi que le Pr. Isabelle Bourdel-Marchasson pour m'avoir offert l'opportunité de réaliser cette thèse au sein de Centre de Résonance Magnétique des Systèmes Biologiques.

Je remercie tous les membres du RMSB m'ayant encadré de près (William, Aurélien et Emeline) ou de loin (Benjamin) pour leur aide tout au long de ces 3 années. Je veux remercier chaleureusement tous les membres du RMSB, et je garderai une pensée émue des barbecues post-confinement chez nos tontons Marc et Philippe.

Cette thèse n'aurait pas été la même sans les autres étudiants du laboratoire, thésards prédécesseurs et futurs docteurs, que j'ai pu côtoyer au cours de cette période. Encore plus particulièrement Colleen, Coraline et Ursule. Nous sommes entrés et sortis en même temps du tunnel, et cela restera une expérience et des rencontres uniques. Je souhaite beaucoup de courage à mon disciple François, à qui je souhaite également de progresser en escalade...

Je veux remercier tous mes amis, qu'ils vivent près ou qu'ils vivent loin, sans qui je n'aurais probablement pas réussi à aller au bout. Je ne ferai pas de liste par pudeur et de crainte d'oublier quelqu'un, mais ils se reconnaîtront tous, à juste titre.

Enfin, Je veux clore ces remerciements en remerciant mes parents pour leur soutien quotidien et l'éducation que j'ai reçue, qui m'ont mené jusqu'ici et qui vont m'emmener poursuivre l'aventure sous le soleil de Californie...

Titre : IRM multi-paramétrique du muscle squelettique dans le contexte de la sarcopénie et de la fragilité

Résumé : Le syndrome gériatrique de fragilité est défini comme un état cliniquement reconnaissable de vulnérabilité accrue résultant du déclin associé au vieillissement. Bien que ce diagnostic soit délivré suite à des tests physiques, l'état des muscles n'est pas spécifiquement étudié alors qu'un des facteurs principaux de l'état de fragilité est la sarcopénie. Afin de poursuivre dans cette voie, il a été décidé d'étudier les muscles par Imagerie par Résonance Magnétique (IRM), méthode non-invasive favorisant les suivis longitudinaux et offrant de fortes résolutions spatiales. Étant donné la nécessité de développer de nouvelles méthodes IRM pour l'exploration des muscles, le choix s'est également porté sur l'utilisation de modèles animaux, et plus particulièrement le rat, car ils permettent de mimer de nombreuses pathologies humaines. Tout d'abord, un lit IRM-compatible a été développé afin de pouvoir placer le rat dans l'imageur, tout en permettant l'électrostimulation du muscle gastrocnémien. Ce lit possède également une pédale associée à un capteur de pression afin de mesurer la force exercée par la patte stimulée. S'ajoute à cela le développement d'une carte électronique permettant la synchronisation entre l'électrostimulateur et les séquences IRM. La mesure multi-paramétrique du muscle pendant l'effort a été réalisée grâce au développement d'une séquence Look-Locker à encodage radial, d'une séquence Multi-Slice Multi-Echo et l'utilisation de la spectroscopie du phosphore ^{31}P pour mesurer les temps de relaxation T_1 , T_2 et la consommation d'ATP/PCr. Grâce aux développements méthodologiques, aucun artefact de mouvement n'a été détecté sur les images, ce qui a permis d'appliquer ces séquences à une étude comparative de l'effort musculaire entre des rats jeunes et âgés. Les méthodes ont permis de montrer que, contrairement au T_1 , le T_2 varie en fonction de l'intensité de stimulation. La spectroscopie a également permis d'établir une corrélation entre les variations de T_2 avec la consommation de PCr. En parallèle, une étude clinique chez l'homme a permis de mesurer le T_2 du muscle de patients fragiles et de le corrélérer aux dégénérescences cognitives liées à l'âge.

Mots clés: sarcopénie ; fragilité ; IRM multiparamétrique ; muscle squelettique

Title: Multiparametric MRI of skeletal muscle in the context of sarcopenia and frailty

Summary: Geriatric Frailty Syndrome is defined as a clinically recognizable condition of increased vulnerability resulting from decline associated with aging. Although this diagnosis is set up following physical tests, the condition of the muscles is not specifically studied, whereas one of the main factors of the frailty condition is sarcopenia. In order to pursue in this direction, it was decided to study the muscles through Magnetic Resonance Imaging (MRI), a non-invasive method enabling longitudinal follow-up and offering high spatial resolutions. Given the need to develop new MRI methods for the exploration of muscles, animal models, and more particularly the rats, were studied as they enable to mimic many pathologies. First, an MRI-compatible bed was developed in order to place the rat in the scanner, while enabling the electrostimulation of the gastrocnemius muscle. This bed also contains a foot pedal associated with a pressure transducer in order to measure the force exerted by the stimulated hind limb. In addition, an electronic card enabling synchronization between the electrostimulator and the MRI sequences was developed. The multi-parametric measurement of muscle during exercise was carried out after the development of a radial-encoded Look-Locker sequence, a Multi-Slice Multi-Echo sequence and ^{31}P phosphorus spectroscopy to measure T_1 relaxation times, T_2 and ATP/PCr consumption. Due to these methodological developments, no movement artefact was detected on the images, which enabled to apply these sequences to a comparative study of muscular effort between young and old rats. These methods have shown that, unlike T_1 , T_2 varies with the intensity of stimulation. Spectroscopy also permitted to establish a correlation between the variations of T_2 with the consumption of PCr. Moreover, a clinical study in humans enabled to measure the T_2 of muscle in frailty patients and to assess correlations with age-related cognitive degenerations.

Keywords: sarcopenia; frailty; Multiparametric MRI; skeletal muscle

CRMSB UMR 5536 - CNRS, Université de Bordeaux, 33000 Bordeaux, France.

Table des Matières

1	Introduction	1
1.1	La sarcopénie	1
1.1.1	Définition	1
1.1.2	Conséquences domestiques	3
1.2	Le syndrome de fragilité	3
1.2.1	Diagnostic	3
1.3	Conséquences économiques liées à la fragilité	4
1.4	Muscle squelettique	4
1.4.1	Anatomie du muscle squelettique	5
1.4.2	Classification des fibres musculaires	6
1.5	Muscle gastrocnémien	7
2	Imagerie par résonance magnétique chez l'homme et le petit animal	9
2.1	Développements méthodologiques chez le petit animal	9
2.2	Choix de l'imagerie par résonance magnétique	9
2.3	Pré-requis d'imagerie par résonance magnétique	10
2.3.1	Principe de résonance magnétique	10
2.3.2	Acquisition cartésienne 2D en IRM et Espace de Fourier	12
2.3.2.1	Propriétés de l'espace de Fourier	12
2.3.3	Trajectoires d'encodage "non-cartésiennes"	13
2.3.3.1	Trajectoire spiralee 2D dans l'espace de Fourier	14
2.3.3.2	Trajectoire radiale 2D dans l'espace de Fourier	16
2.3.4	Reconstruction d'images non-cartésiennes	17
2.3.5	Méthodes de mesure du T_1	18
2.3.5.1	Séquence d'inversion-récupération	18
2.3.5.2	Séquence Look-Locker	19
2.3.6	Méthode de mesure du T_2	20
2.3.6.1	Séquence multi-écho de spin	20
2.3.6.2	Lissage de courbe avec correction du bruit	21
2.4	Spectroscopie du phosphore ^{31}P	22
2.4.1	Suivi métabolique anaérobie par spectroscopie du phosphore ^{31}P	23
2.4.2	Suivi du pH par déplacement chimique	24
2.4.3	Évaluation de la vitesse initiale de récupération de la PCr	25
2.5	IRM du muscle chez l'homme	25
2.6	IRM du muscle chez le petit animal	26
2.7	Objectifs de cette thèse	27

3	Développement d'un lit IRM-compatible pour étude du gastrocnemius du rat au repos et stimulé du rat	28
3.1	Contexte	28
3.2	Lit IRM-compatible	29
3.2.1	Principe	29
3.2.2	Pièce par pièce	29
3.3	Mesure de la pression exercée par la patte du rat lors de la stimulation .	33
3.4	Discussion	35
3.5	Conclusion du chapitre	37
4	Développement d'une carte électronique de synchronisation des séquences IRM avec l'électrostimulation	38
4.1	Contexte	38
4.2	Fonctionnement de l'électrostimulateur	39
4.3	Synchronisation et signal TTL	39
4.4	Carte électronique de synchronisation	41
4.5	Conclusion du chapitre	43
5	IRM multi-paramétrique du gastrocnémus du rat jeune et âgé à 4,7 et 7T au repos et stimulé	44
5.1	Contexte de l'étude	44
5.2	Optimisation et synchronisation d'une séquence Look-Locker 2D à encodage spiralé pour la mesure du T_1	46
5.3	Développement d'une séquence Look-Locker 2D à encodage radial synchronisé pour la mesure du T_1	48
5.4	Optimisation et synchronisation d'une séquence MSME pour la mesure du T_2	49
5.5	Optimisation et synchronisation d'acquisition de spectres par spectroscopie ^{31}P	50
5.6	Méthodes d'analyse des données	51
5.7	Résultats	52
5.7.1	Mesures de T_1 avec la séquence Look-Locker 2D à encodage spiralé	52
5.7.1.1	Monocoupe 2D	52
5.7.1.2	Multicoupe 2D	53
5.7.2	Mesures de T_1 avec la séquence Look-Locker 2D à encodage radial	54
5.7.2.1	Tests <i>in vitro</i>	54
5.7.2.2	Imagerie <i>in vivo</i> sur des rats jeunes	54
5.7.2.3	Imagerie <i>in vivo</i> sur des rats âgés	55
5.7.3	Mesures de T_2 sur des rats jeunes	56
5.7.3.1	Étude de la stimulation musculaire par T_2 , [PCr] et [Pi] chez de jeunes rats	57
5.7.3.2	Étude de la stimulation musculaire par T_2 , [PCr] et [Pi] chez des rats âgés	63
5.7.4	Mesures de T_2 à des fréquences de stimulation plus élevées	66
5.7.4.1	Principe	66
5.7.4.2	Résultats préliminaires	68
5.8	Discussion	70

5.9	Conclusion du chapitre	73
6	Muscle multi-parametric NMR Imaging Development in Aged people with Sarcopenia or frailty syndrome; CLINical study	102
6.1	Présentation de l'étude	102
6.2	Objectifs de l'étude	103
6.3	Détermination de la cohorte d'étude et protocole d'étude	104
6.4	IRM musculaire	105
6.4.1	Séquences d'acquisition des images	105
6.4.2	Segmentation semi-automatique des volumes	105
6.5	IRM cérébral	107
6.5.1	Séquences d'acquisition des images	107
6.5.2	Segmentation automatique des volumes cérébraux	108
6.6	Méthodes d'analyse des données	108
6.7	Résultats	110
6.8	Discussion	114
6.9	Conclusion du chapitre	116
7	Conclusion générale	117
	Bibliographie	120
	Annexes	133
A	Développement d'une carte électronique de synchronisation des séquences IRM avec l'électrostimulation	134
B	IRM multi-paramétrique du gastrocnémus du rat jeune et âgé à 4,7 et 7T au repos et stimulé	136
C	Protocole d'étude MIDAS-CLIN	141

Liste des Figures

1.1	Illustration de l'effet de la sarcopénie sur les muscles	1
1.2	Schéma de représentation de la composition du muscle strié squelettique.	5
1.3	Pourcentage et nature des fibres musculaires recrutées en fonction de l'intensité de l'effort (exprimé en pourcentage d'utilisation de la VO ₂ max).	7
1.4	Anatomie des muscles des muscles de l'extrémité distale des membres inférieurs chez l'homme et le rat	8
2.1	Principe de bascule de l'aimantation M	11
2.2	Mouvement de précession libre de l'aimantation M et courbes représentatives des relaxations longitudinales et transversales	12
2.3	Principe d'encodage de l'espace de Fourier et d'obtention d'une image . .	13
2.4	Répartition de l'information dans l'espace de Fourier	13
2.5	Description de 3 stratégies d'encodage de l'espace de Fourier communément utilisées	14
2.6	Chronogramme d'une séquence à encodage spiralé et représentation dans l'espace de Fourier	15
2.7	Chronogramme d'une séquence à encodage radial et représentation dans l'espace de Fourier	16
2.8	Principe de remaillage de l'espace de Fourier	17
2.9	Chronogramme de la séquence d'inversion-récupération	18
2.10	Exemple d'images acquises à différents temps d'inversion grâce à la séquence d'IR et de lissage de courbe associé pour la mesure du T ₁ en suivant l'évolution du signal dans la zone du muscle gastrocnémien. . . .	19
2.11	Comparaison entre la séquence d'inversion-récupération et la séquence Look-Locker.	19
2.12	Chronogramme de la séquence MSME	20
2.13	Différences entre les mesures de T ₂ par lissage de courbes utilisant une correction du bruit ou non.	21
2.14	Exemple d'images acquises à différents temps d'écho grâce à la séquence MSME et de lissage de courbe associé pour la mesure du T ₂ en suivant l'évolution du signal dans la zone du muscle gastrocnémien.	22
2.15	Exemple de spectre obtenu par spectroscopie du phosphore ³¹ P et sa décomposition en courbes de Lorentz	23
2.16	Principe énergétique de la contraction musculaire au cours d'un effort anaérobie.	23
2.17	Exemple de spectres acquis dans le gastrocnémien du rat au repos et au cours d'un effort anaérobie.	24

3.1	Imageur Bruker BioSpec 7T	28
3.2	Antenne volumique d'émission	29
3.3	Schéma du dispositif expérimental.	30
3.4	Berceau de repos du rat.	31
3.5	Support de l'antenne surfacique de réception et de la pédale.	31
3.6	Pédale de fixation de la patte du rat.	32
3.7	Antenne surfacique de réception du signal.	32
3.8	Schéma d'utilisation et photo du capteur de pression	33
3.9	Exemple de mesure de pression exercée par la patte du rat au cours d'une stimulation.	34
4.1	Électro stimulateur et schéma du cycle de stimulation.	38
4.2	Schéma de principe de synchronisation entre l'électrosimulateur et l'imageur.	40
4.3	Fonctionnement du signal TTL de l'IRM	40
4.4	Signal électrique délivré par l'électrostimulateur et signal TTL souhaité	41
4.5	Schéma électrique de la carte de synchronisation	42
4.6	Photo de la carte de synchronisation développée	42
5.1	Chronogramme de la séquence Look-Locker 2D à encodage spiralé synchronisée avec l'électrostimulation.	46
5.2	Chronogramme de la séquence Look-Locker 2D à encodage radial, synchronisée avec l'électrostimulateur.	48
5.3	Principe de synchronisation de la séquence MSME avec l'électrostimulateur.	49
5.4	Principe de synchronisation de la ^{31}P MRS avec l'électrostimulateur.	50
5.5	Images acquises durant une la stimulation du muscle gastrocnémien à différents temps d'inversion.	55
5.6	Cartes T_1 et R^2 acquises sur le muscle gastrocnémien du rat.	56
5.7	Images acquises durant une la stimulation du muscle gastrocnémien à différents temps d'écho.	56
5.8	Cartes T_2 et R^2 acquises sur le muscle gastrocnémien du rat.	57
5.9	Mesures de T_2 , PCr et Pi au cours des trois paradigmes de stimulation chez les jeunes rats.	58
5.10	Comparaison des valeurs de T_2 , PCr, Pi et pH entre les acquisitions obtenues au repos et pendant la stimulation chez les rats jeunes	59
5.11	Comparaison des valeurs de T_2 , PCr, Pi et pH entre les acquisitions obtenues durant chaque phase de repos et de stimulation au cours des trois paradigmes chez les rats jeunes	60
5.12	Étude des corrélations entre les valeurs de T_2 , PCr et Pi chez les rats jeunes	61
5.13	Mesures de T_2 , PCr et Pi au cours des trois paradigmes de stimulation chez les rats âgés.	62
5.14	Comparaison des valeurs de T_2 , PCr, Pi et pH entre les acquisitions obtenues au repos et pendant la stimulation chez les rats âgés.	63
5.15	Comparaison des valeurs de T_2 , PCr, Pi et pH entre les acquisitions obtenues durant chaque phase de repos et de stimulation au cours des trois paradigmes chez les rats âgés	64
5.16	Étude des corrélations entre les valeurs de T_2 , PCr et [Pi chez les rats âgés	65

5.17	Comparaison des valeurs de T_2 entre les rats jeunes et âgés au cours des 3 paradigmes de stimulation.	66
5.18	Exemple de la technique de segmentation de la mesure du T_2 pour une séparation en 3 segments.	67
5.19	Images obtenues avec la méthode de synchronisation utilisée tout au long de l'étude et avec la méthode de segmentation à différents temps d'écho.	68
5.20	Cartes T_2 et R^2 obtenues au repos, avec une stimulation à une fréquence de 3Hz sans segmentation de la mesure et avec segmentation de la mesure.	69
6.1	Délimitation du volume d'étude pour la segmentation.	106
6.2	Seuillage des images et placement des "bulles".	106
6.3	Image des volumes segmentés.	107
6.4	Exemple de résultats obtenus par le pipeline de segmentation volBrain1.0.	109
6.5	Différences entre les groupes fragile, pré-fragile et robuste selon les données d'observation patient et les données IRM.	111
6.6	Différences entre les groupes fragile versus pré-fragile et robuste selon les données d'observation patient et les données IRM.	112
6.7	Différences entre les groupes fragile pré-fragile versus robuste selon les données d'observation patient et les données IRM.	113
A.1	Code de synchronisation des séquences Arduino.	135

Liste des Tableaux

1.1	Différences entre les types de fibres musculaires	6
5.1	Table récapitulative des mesures de T_1 avec la séquence Look-Locker à encodage spiralé monocoupe 2D	52
5.2	Table récapitulative des mesures de T_1 avec la séquence Look-Locker à encodage spiralé multicoupe 2D	53
5.3	Table récapitulative des mesures de T_1 avec la séquence Look-Locker à encodage radial	54
6.1	Table récapitulative des mesures obtenues sur la cohorte de patients . . .	110
B.1	Table récapitulative des mesures réalisées sur les jeunes rats au repos et pendant la stimulation du muscle gastrocnémien, en fonction des 3 paradigmes proposés.	137
B.2	Table récapitulative des mesures réalisées sur les jeunes rats durant chaque phase de repos et de stimulation, en fonction des 3 paradigmes proposés.	138
B.3	Table récapitulative des mesures réalisées sur les rats âgés au repos et pendant la stimulation du muscle gastrocnémien, en fonction des 3 paradigmes proposés.	139
B.4	Table récapitulative des mesures réalisées sur les rats âgés durant chaque phase de repos et de stimulation, en fonction des 3 paradigmes proposés.	140
C.1	Protocole d'étude MIDAS complet	142

Liste des abréviations

³¹P MRS	Spectroscopie du phosphore ³¹ P
CGA	Evaluation gérotologique standardisée
DMD	Maladie de Duchenne
DTI	Diffusion tensor imaging
FF	Fat fraction
GP	Gradient d'encodage de phase
GR	Gradient de lecture
GS	Gradient de sélection de coupe
LL	Look-Locker
IRM	Imagerie par résonance magnétique
MMSE	Mini mental state examination
MNA	Mini nutritional assesment
MSME	Multi-slice multi-écho
MTR	Ratio de transfert d'aimantation
RF	Radiofréquence
RMN	Résonance magnétique nucléaire
SPPB	Short physical performance battery
TE	Temps d'écho
TR	Temps de répétition
TTL	Transistor transistor logic

Chapitre 1

Introduction générale

1.1 La sarcopénie

1.1.1 Définition

L'ÉTYMOLOGIE du mot sarcopénie provient du grec sarx signifiant « chair » et penia signifiant « manque ». La sarcopénie a été définie pour la première fois en 1989 par Irwin H. Rosenberg comme étant la diminution de la masse musculaire squelettique liée au vieillissement (Figure 1.1) [1]. Cette définition a récemment été réétudiée et redéfinie en 2010 par l'European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) [2] puis en 2018 [3]. Cette redéfinition a eu pour objectif de rajouter la baisse de force musculaire (dynapénie) et de performances à la diminution des volumes musculaires. Le processus dégénératif de la sarcopénie est également accéléré par la dénutrition, fréquente chez les personnes âgées isolées [4]. À ce jour, la sarcopénie est reconnue comme un élément central dans la physiopathologie du syndrome de fragilité.

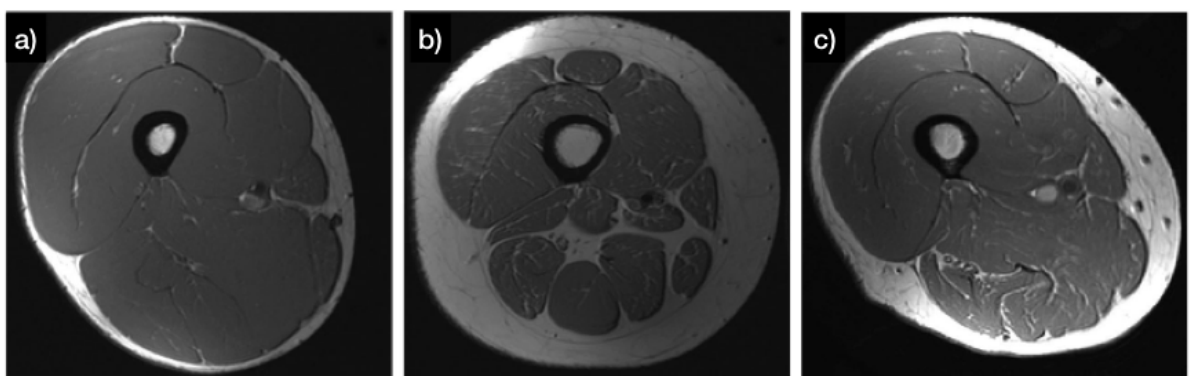


Figure 1.1: *Illustration de l'effet de la sarcopénie sur les muscles. Images pondérées T_2 de la cuisse d'un individu de 24 ans a), de 66 ans qui effectue en moyenne 3141 pas par jour b) et de 66 ans qui effectue en moyenne 12445 pas par jour c). D'après McLeod, 2015 [5]*

La sarcopénie est une maladie bien particulière, puisqu'elle touche tout le monde. Le pic de capacité musculaire est généralement atteint autour des 30 ans. Ensuite des changements mineurs, notamment de vitesse de contraction apparaissent entre 40 et 50 ans. Enfin, de grands changements de force musculaire commencent à partir de 60 ans. En effet, Porter et al. a montré une réduction d'entre 20 et 40% de la capacité de contraction musculaire chez des septuagénaires et octogénaires, voire jusqu'à 50% pour des personnes encore plus âgées [6]. Cette diminution de force musculaire est principalement due à la diminution du nombre de fibres musculaires [7] mais également à l'atrophie des fibres encore présentes [8]. Il existe deux types de fibres musculaires chez l'homme, dites I et II et ce sont les dernières citées les plus affectées par le vieillissement. Il s'agit des fibres dites "rapides", conférant les contractions musculaires les plus rapides.

La sarcopénie est un processus multifactoriel complexe. Les dimensions physiologiques et sociales à prendre en compte sont nombreuses et parfois difficiles à identifier chez le patient :

- Nutrition
 - Il est important de noter que le volume de nourriture consommé diminue de 25% entre 40 et 70 ans. Ainsi, beaucoup d'études ont été menées afin d'identifier les éléments importants dans la nutrition vis-à-vis de la sarcopénie [9]. Tout d'abord, des régimes riches en protéines ont abouti à une augmentation de la masse musculaire ainsi qu'une diminution de la masse grasse [10, 11], mais également à une augmentation des performances physiques [12]. Également, il a été montré une corrélation négative entre la sarcopénie et la quantité de vitamine D présente dans les régimes et surtout que des carences en vitamine D accélèrent l'effet de la sarcopénie [13, 14].
- Sédentarité et inactivité
 - L'activité physique quotidienne est essentielle pour limiter et contrer les effets de la sarcopénie [15]. Il est connu qu'une immobilisation d'un membre lié à une hospitalisation ou une fracture entraîne une atrophie rapide des muscles concernés [16, 17]. En revanche, il a également été montré que de l'exercice physique régulier permettait d'augmenter la masse musculaire, et ce même chez les seniors [18].
- Changements hormonaux
 - Chez les hommes principalement, le vieillissement entraîne une diminution du taux de testostérone. Cela induit une diminution de la synthèse protéique, et par conséquent une diminution de la masse musculaire ainsi que de la force [19]. Certaines hormones de croissance, notamment l'insulin-like growth factor 1 (IGF1), sont également importantes pour la synthèse protéique. L'IGF1 est moins synthétisée chez les personnes âgées, perturbant la régénération musculaire en particulier [20].
- Régénération musculaire

- La régénération musculaire est un processus primordial pour la santé des muscles. La dégradation de la régénération musculaire s'explique principalement par la diminution du nombre et de la qualité des cellules satellites. Ces cellules sont des cellules souches présentes dans le tissu musculaire et leur quantité diminue en vieillissant [21]. Un changement vers un état pré-sénescence de ces cellules, dû à l'autophagie, serait responsable de leur détérioration avec l'âge [22].

Ces facteurs influençant le processus sarcopénique ne sont que les principaux.

1.1.2 Conséquences domestiques

La dégradation de l'état des muscles a des conséquences importantes sur le quotidien. Plus la dégradation est importante, plus le risque de chute augmente et plus des gestes basiques nécessitant un peu de force sont compliqués, voire impossibles, à effectuer [23, 24]. Concernant les chutes, il est à noter que la solidité des os est directement liée à l'état des muscles [25]. En effet, les muscles exercent constamment une contrainte sur nos os. Ainsi, des muscles dégradés exerceront une plus faible contrainte et par conséquent les os seront moins denses et plus fragiles. Bien souvent on interprète une rupture du col du fémur, qui est classique chez les personnes âgées, comme conséquence d'une chute alors qu'en réalité la cassure du col du fémur peut entraîner la chute [26].

1.2 Le syndrome de fragilité

1.2.1 Diagnostic

La fragilité est théoriquement définie comme un état cliniquement reconnaissable de vulnérabilité accrue résultant du déclin associé au vieillissement. La fonction de plusieurs systèmes physiologiques est altérée, de sorte que la capacité à faire face aux facteurs de stress quotidiens est diminuée. Parmi ces systèmes, on compte les reins, les capacités cognitives, les appareils respiratoires et cardiaques et bien entendu la capacité musculaire. De manière générale, l'évaluation empirique de la fragilité cherche à saisir les déficiences physiologiques directement liées, ainsi que les déficiences connexes à un état fragile [27–29].

- Phénotype de Fried [30] :
 - Une des évaluations les plus classiques est l'approche phénotypique de Fried. Cette évaluation se base sur 5 critères : la perte de poids involontaire, la fatigabilité, une faible force musculaire, une faible vitesse de marche, une faible activité quotidienne. Si trois de ces critères sont évalués à un niveau "fragile" alors le patient est diagnostiqué comme tel. A contrario, si aucun de ces critères n'est retrouvé, le patient est déclaré comme "robuste". Entre les deux se trouve le stade de "pré-fragile".
- Indice de fragilité de Rockwood et Mitnitski [31] :

- Ici, un index de fragilité est calculé comme une accumulation de « déficits ». Ces déficits peuvent être des maladies, des dysfonctionnements physiques ou cognitifs et d'autres syndromes gériatriques autres que la fragilité [32].

Par conséquent, à ce jour, les outils diagnostics utilisés en clinique pour caractériser l'état de fragilité des personnes dépendent de paramètres physiologiques globaux. Beaucoup de facteurs doivent, et sont, pris en compte pour établir le diagnostic. Pourtant, comme expliqué plus haut, la sarcopénie est considéré comme l'élément central du syndrome de fragilité. Ces diagnostics permettent de conclure sur le fonctionnement global des muscles, mais en aucun cas sur leur composition intrinsèque ni leur organisation structurale.

1.3 Conséquences économiques liées à la fragilité

La sarcopénie et le syndrome de fragilité ont de nombreuses conséquences économiques, qu'elles soient directes ou indirectes. Hoogendijk et al. ont dressé une revue de la littérature étudiant le coût de ces conditions dans divers pays au cours de la dernière décennie [33]. En France tout d'abord, Sirven et Rapp ont noté l'augmentation de prises en charges ambulatoires liées à la fragilité et estimé le coût annuel de ces prises en charges à 1270€ par personne [34]. Des valeurs similaires ont été estimées en Espagne, avec des frais d'hospitalisation annuels de 1217€ pour les personnes âgées robustes contre 2476€ pour les personnes âgées fragiles [35]. Au Pays-Bas, une étude a montré une augmentation des coûts annuels de 15181€ liés à la santé pour les personnes fragiles [36]. Également, Gobbens et al. ont utilisé une autre technique de calcul de l'indice de fragilité et cela a mené à une corrélation entre l'indice de fragilité et les coûts liés à la santé dans ce pays [37]. Enfin, plusieurs études aux États-Unis concluent à un coût des frais médicaux globalement trois fois supérieur pour les personnes âgées fragiles [38, 39]. Ainsi, il apparaît que la sarcopénie et le syndrome de fragilité représentent un enjeu social et économique considérable. De nos jours, des campagnes de sensibilisation telles que « Mangez Bougez » incarnent la volonté de prendre le problème à la source à travers une activité quotidienne et une nutrition saine, visant clairement à améliorer la fonction musculaire. En revanche, il serait pertinent d'étudier le muscle dans sa structure et son fonctionnement, de façon plus précoce et plus approfondie qu'actuellement.

1.4 Muscle squelettique

Il existe trois différents types de tissus musculaires chez l'homme. Il s'agit des muscles lisses, des muscles cardiaques et des muscles squelettiques [40]. Les muscles lisses permettent d'assurer les fonctions les plus basiques du corps humain, qui sont d'une grande variété : ils permettent de favoriser la digestion, ils aident la vessie à éliminer les toxines et ils jouent également un rôle essentiel dans les veines et les artères car ils contrôlent la pression sanguine [41]. Le muscle cardiaque constitue la couche centrale du cœur. Il est contrôlé de manière autonome par le système nerveux et il assure la circulation sanguine [42]. Enfin, le troisième type de tissu musculaire, le muscle squelettique, permet les mouvements du corps. Il est relié aux os par des tendons et il est le seul tissu musculaire dont

la contraction est volontaire [40, 43]. Les muscles squelettiques représentent environ 40% de la masse totale du corps et contiennent entre 50 et 75% des protéines présentes dans le corps humain. Ils sont composés à 75% d'eau, à 20% de protéines et les 5% restants sont constitués de sels inorganiques, de minéraux, de graisse et de glucides [44].

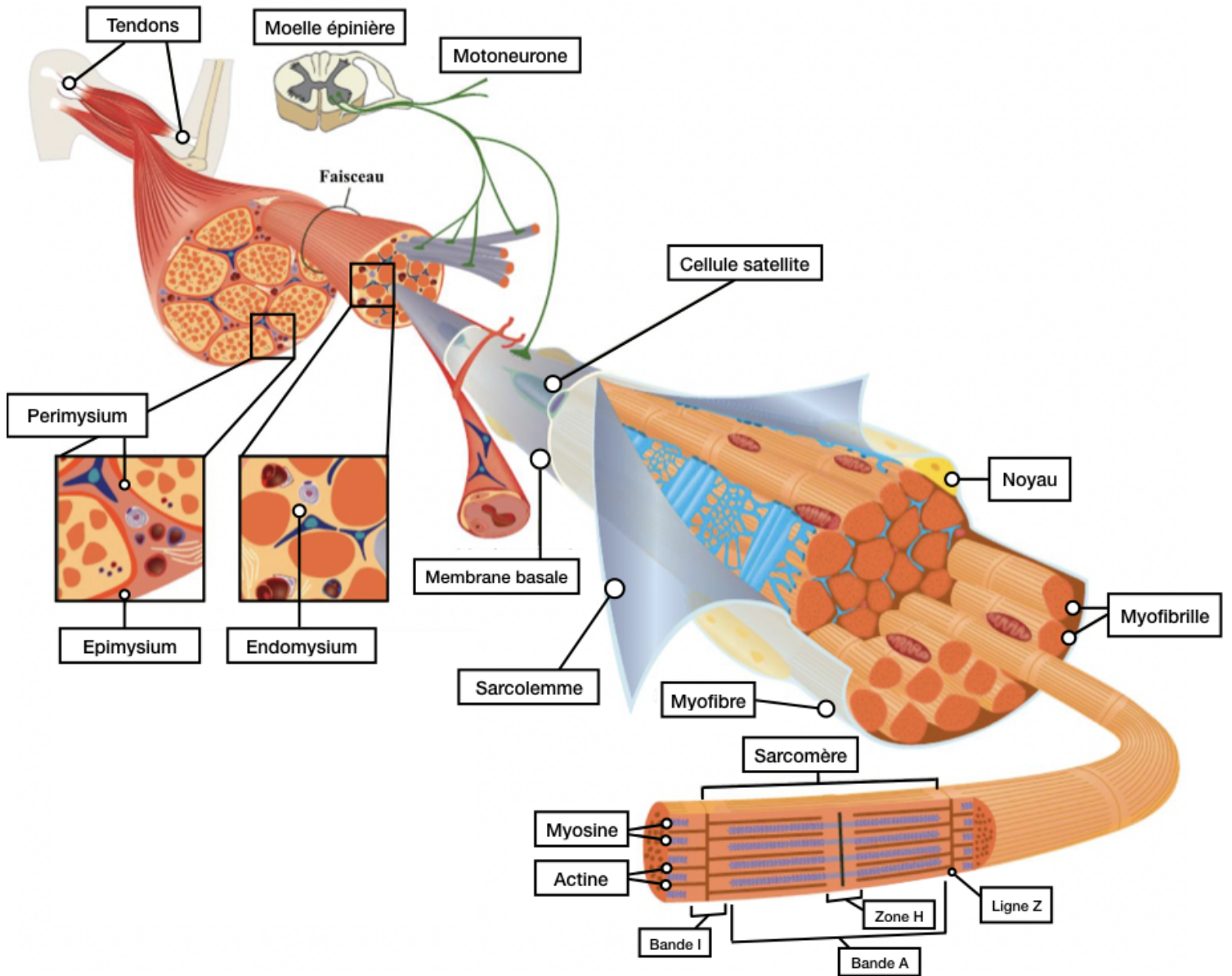


Figure 1.2: Schéma de représentation de la composition du muscle strié squelettique. Modifié d'après Tajbakhsh, 2009 [45].

1.4.1 Anatomie du muscle squelettique

L'anatomie du muscle strié squelettique est décrite sur la Figure 1.2 [45]. Il est composé de fibres dont la taille varie et il est entouré par l'epimysium, qui est un tissu conjonctif dense et irrégulier. Chaque fibre musculaire est contenue dans une fine enveloppe appelée

endomysium. Les fibres musculaires ainsi que leurs endomysiums sont regroupés en faisceaux et sont entourés du perimysium, un tissu conjonctif dense et régulier [46, 47]. Les tissus conjonctifs ont un rôle essentiel dans le fonctionnement du muscle. Ils assurent la transmission de la force aux tendons et aux articulations lors d'une contraction, ce qui permet de mettre le squelette en mouvement. De plus, ce sont eux qui contiennent les neurones permettant la réception des impulsions électriques déclenchant les contractions des muscles [47, 48]. Une seule fibre musculaire possède un diamètre d'environ $100\mu\text{m}$ pour une longueur approximant 1cm et est entourée d'une membrane cellulaire, le sarcolemme [45]. Les fibres musculaires, ou myofibrilles, sont composés de plusieurs myofibrilles qui sont la répétition de la plus petite séquence contractile du muscle, le sarcomère. Cette unité fonctionnelle est délimitée à chaque extrémité par la ligne Z. Il s'agit de la zone où les myofilaments fins d'un sarcomère sont connectés aux myofilaments fins du sarcomère suivant ou précédent. De part et d'autre de la ligne Z se trouvent des bande I, car isotropes. Ces bandes apparaissent claires en microscopie photonique car elles ne polarisent pas la lumière. Elles sont riches en filaments fins d'actine (environ 6nm de diamètre) mais sont en revanche pauvres en filaments épais de myosine (environ 13nm de diamètre). A contrario, au centre du sarcomère se trouve la zone H et la bande A. Cette bande est sombre en microscopie photonique et riche en filaments épais de myosine, elle est anisotrope et polarise la lumière. Les filaments épais de myosine sont connectés au centre de la zone H, au niveau de la ligne M.

Tableau 1.1: Différences entre les types de fibres musculaires

Type	Fibres I	Fibres IIA	Fibres IIX/IIB
Diamètre	Grand	Moyen	Petit
Couleur	Rouge	Rouge-rosée	Blanche
Vitesse de contraction	Lente (100 à 200ms)	Rapide	Rapide (50ms)
Force de contraction	Faible	Élevée	Élevée

1.4.2 Classification des fibres musculaires

Pour aller plus loin dans les mécanismes de la contraction musculaire, il faut rappeler la nature des différents types de fibres musculaires. Ils varient suivant leurs propriétés mécaniques, biochimiques et métaboliques. Ainsi, ils ont été classés en fonction de leur rapidité de contraction, leur endurance et fatigabilité. La fatigue musculaire étant un déclin temporaire de la force maximale développable par le muscle [49]. Cependant, le principal critère utilisé est l'expression des chaînes lourdes isoformes de myosine par une fibre musculaire seule [50]. Il existe quatre types de fibres musculaires chez les mammifères, les types I, IIA, IIX et IIB. Les fibres de type IIB ne sont pas exprimées chez l'homme, mais elles le sont chez le rat, le lapin et le chien [51]. Les caractéristiques inhérentes à chaque type sont résumées dans la Table 1.1.

Les fibres de type I sont dites lentes à cause de leur vitesse de contraction. En revanche, elles mettent nettement plus de temps à se fatiguer que les autres, elles sont

donc utilisées au cours d'efforts longs et de faible intensité, comme courir un marathon par exemple Figure 1.3. Ce sont les fibres de type II qui sont principalement touchées par la sarcopénie car elles sont plus sensibles à la dénervation que les fibres de type I, ce qui amplifie l'effet de la sarcopénie [8].

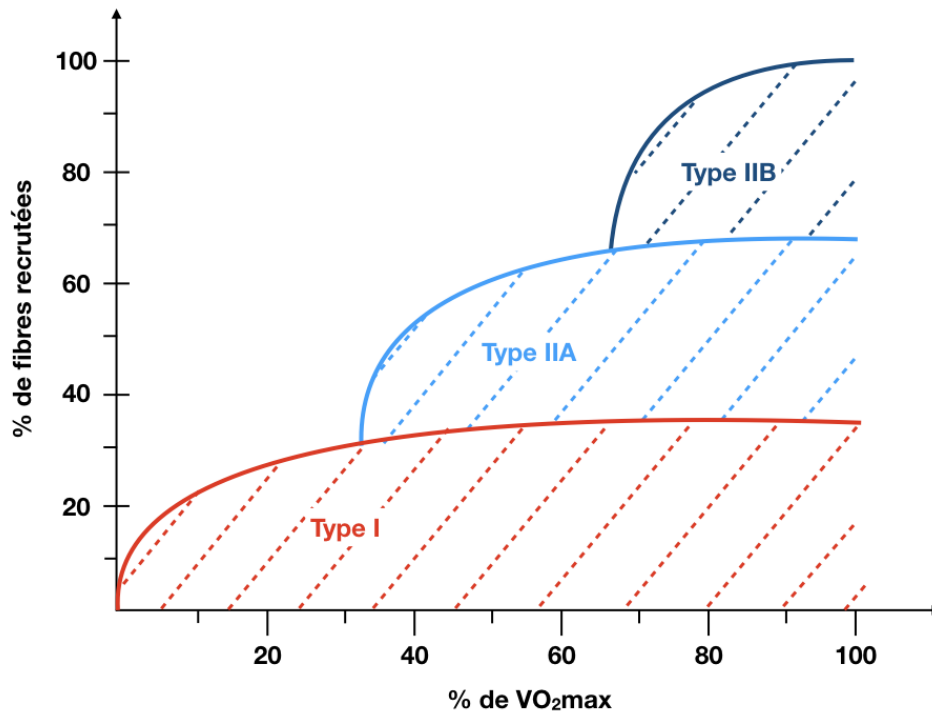


Figure 1.3: Pourcentage et nature des fibres musculaires recrutées en fonction de l'intensité de l'effort (exprimé en pourcentage d'utilisation de la VO_2max).

1.5 Muscle gastrocnémien

Le muscle jumeau externe, également appelé gastrocnemius, fait partie triceps sural communément appelé « mollet ». Il est situé avec le muscle soléaire et le jumeau externe dans la chaîne postérieure de la jambe. La tête latérale provient du condyle latéral du fémur, tandis que la tête médiale provient du condyle médial du fémur. Son autre extrémité forme un tendon commun avec le muscle soléaire, le tendon d'Achille, et s'insère sur la face postérieure du calcaneum, ou os du talon.

Étudier le gastrocnemius chez le rat possède plusieurs avantages. Premièrement, parmi les muscles des membres inférieurs, il est celui qui se rapproche le plus des muscles de l'homme (Figure 1.4). C'est également le muscle qui se trouve le plus en surface et à l'opposé des os. Ainsi, nous le verrons plus tard, ce muscle convient parfaitement à l'utilisation d'une antenne de réception surfacique dans le cadre d'un examen d'imagerie par résonance magnétique. Chez l'homme, la recherche clinique s'intéresse également souvent aux muscles des cuisses, cependant cette région anatomique est beaucoup plus

1.5. MUSCLE GASTROCNÉMIEN

délicate à imager chez le rat, c'est pourquoi le gastrocnemius a été choisi dans cette étude.

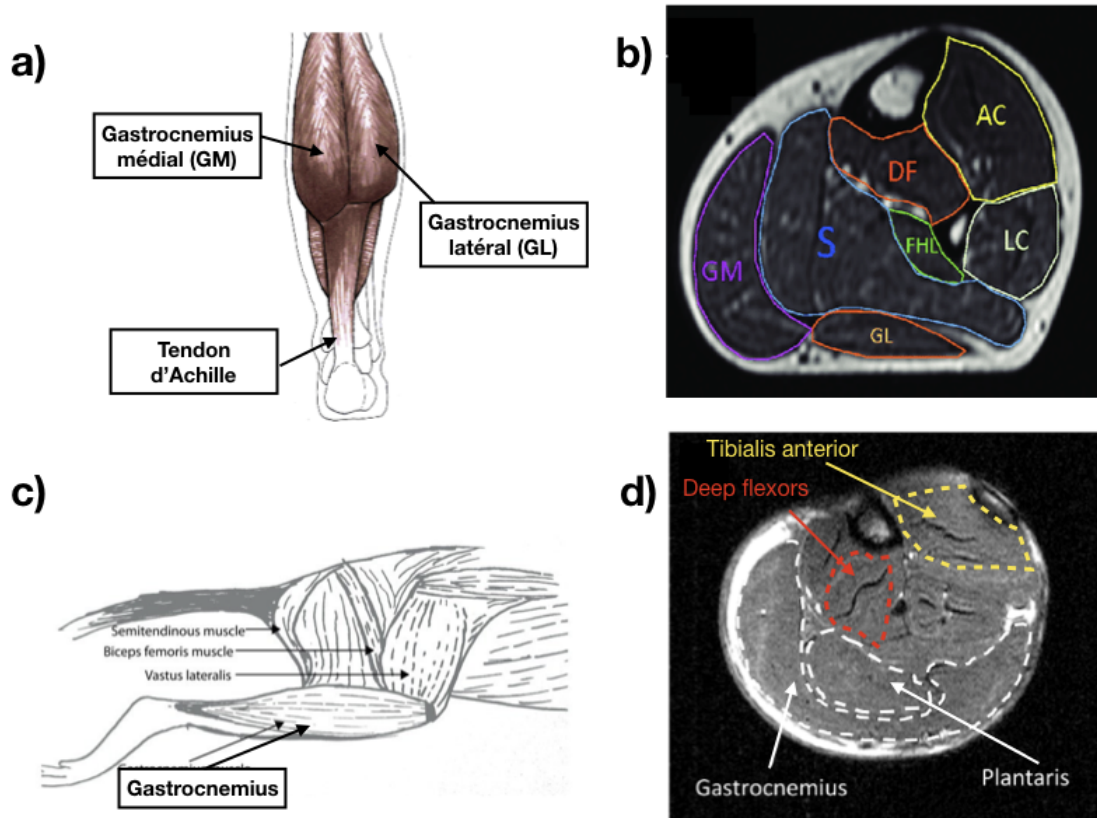


Figure 1.4: Anatomie des muscles de l'extrémité distale des membres inférieurs chez l'homme et le rat

Chapitre 2

Imagerie par résonance magnétique chez l'homme et le petit animal

CETTE thèse est décomposée en deux parties : premièrement des développements méthodologiques en imagerie par résonance magnétique (IRM) chez le petit animal, et deuxièmement une partie traitant de l'ostéo-articulaire chez l'homme. Dans cette première partie, nous allons expliquer pourquoi il a été choisi d'étudier le muscle par IRM, mais également pourquoi ces développements ont été réalisés chez le petit animal. Nous présenterons ainsi les bases de l'IRM et nous présenterons un contenu non exhaustif de ce qui a d'ores et déjà été développé et décrit en imagerie musculaire par IRM dans la littérature et ce qui est utilisé en clinique à ce jour. Enfin, les objectifs de cette thèse seront exposés.

2.1 Développements méthodologiques chez le petit animal

Depuis plusieurs années maintenant, le petit animal s'est révélé être une solution de choix pour les développements méthodologiques dans la recherche médicale. Au début des années 80, environ 300 articles ont été publiés utilisant des modèles sur petit animal, contre environ 4000 en 2019. Plusieurs raisons expliquent ce phénomène. Tout d'abord, les modèles animaux sont des ressources très disponibles et peu onéreuses en général. Ensuite, ils permettent des suivis longitudinaux et les modèles existants sont très nombreux (chirurgie, génétique...).

2.2 Choix de l'imagerie par résonance magnétique

Les performances physiques sont facilement mesurables. La force de la préhension est mesurée avec un dynamomètre à poignée qui n'est pas coûteux mais qui n'est pas inclus dans les outils cliniques habituels pour les praticiens médicaux. La vitesse de marche peut être facilement mesurée avec l'aide d'un chronomètre, tout comme le test de lever depuis une chaise. Cependant l'exploration musculaire pose plus de problèmes. L'évaluation de la masse squelettique est en effet beaucoup plus difficile à évaluer. L'absorptiométrie biphotonique à rayons X (DEXA) est actuellement utilisée comme la référence absolue

pour l'évaluation de la masse musculaire des membres en clinique, mais cet examen ne fournit qu'une évaluation anatomique et ne peut donner aucune information fonctionnelle. De plus l'exposition aux radiations réduit la possibilité de suivis longitudinaux. Grâce à son utilisation fréquente pour le diagnostic clinique de routine, la tomographie aux rayons X (Computed Tomography, CT) peut facilement s'adapter à l'évaluation de la masse musculaire. L'atténuation de la zone musculaire donne également un aperçu du contenu du muscle adipeux (myostéatose). Dans la pratique en oncologie, les sujets ont subi des examens CT-scans et un logiciel a été développé pour estimer un indice de masse musculaire squelettique à partir de la masse musculaire de la tranche abdominale au niveau de la vertèbre L3 [52]. Une étude a rapporté que le contenu adipeux du muscle fessier était plus élevé chez les personnes âgées ayant eu une chute que chez ceux n'étant pas tombés [53]. En effet, la teneur en lipides dans les muscles, plus que la masse musculaire, est associée à la fragilité chez les personnes âgées, notamment celles atteintes de cancer [54]. L'analyse qualitative doit être associée à une analyse quantitative chez les sujets plus âgés dont la fragilité est évaluée. L'architecture musculaire, les lipides et le contenu musculaire des tissus actifs doivent être mesurés. L'imagerie par résonance magnétique nucléaire (RMN) du proton peut être utilisée à cette fin. Outre la cartographie T_1 et T_2 (présentée par la suite), l'imagerie par résonance magnétique du tenseur de diffusion [55–57], la tractographie et le transfert magnétique ont le potentiel de mieux analyser le contenu musculaire. Une étude comparant des sujets robustes et pré-fragiles a démontré une anisotropie fractionnelle plus élevée dans les muscles de sujets [58]. D'autres études ont montré très peu de différences dans l'imagerie musculaire des sujets âgés robustes par rapport aux jeunes [59].

2.3 Pré-requis d'imagerie par résonance magnétique

2.3.1 Principe de résonance magnétique

Les muscles sont composés à 75% d'eau, ce qui signifie que les atomes d'hydrogène sont largement présents dans ces tissus. C'est de fait une raison pour laquelle l'IRM est une technique adaptée pour étudier les muscles, car ce sont les protons de l'eau qui sont à l'origine du « signal » en IRM. L'atome d'hydrogène est uniquement constitué d'un proton, qui est caractérisé par une propriété fondamentale appelée le spin. Pour la suite des explications, nous considérerons systématiquement un ensemble de spins soumis constamment au même champ magnétique. Lorsqu'un échantillon est plongé dans un champ magnétique \mathbf{B}_0 orienté selon un axe z , les spins contenus dans cet échantillon, tout en adoptant un mouvement de précession autour de \mathbf{B}_0 à la fréquence de Larmor, vont globalement s'aligner sur le champ magnétique et être à l'origine d'une aimantation macroscopique \mathbf{M} . Cette dernière est colinéaire à \mathbf{B}_0 et orientée dans le même sens que celui-ci. Cependant, l'intensité de l'aimantation macroscopique \mathbf{M} est bien plus faible que celle de \mathbf{B}_0 et par conséquent, \mathbf{M} reste inobservable tant qu'elle reste parallèle à \mathbf{B}_0 . Il est ainsi nécessaire de basculer cette aimantation \mathbf{M} pour pouvoir la mesurer. Cette bascule est permise par l'envoi d'une impulsion d'onde électromagnétique radio-fréquence (RF) dont la fréquence correspond à la fréquence de Larmor des spins protoniques de l'eau. Cela se traduit par l'apparition d'un champ magnétique \mathbf{B}_1 orthogonal à \mathbf{B}_0 et tournant autour de celui-ci à la fréquence de Larmor. L'aimantation \mathbf{M} va alors tourner

autour de \mathbf{B}_1 , ce dernier poursuivant sa rotation autour de \mathbf{B}_0 . Au terme de l'impulsion RF, l'aimantation \mathbf{M} se sera écartée d'un angle α rapport à \mathbf{B}_0 (Figure 2.1).

Une fois écartée de l'axe z , l'aimantation \mathbf{M} est alors décomposable en deux parties :

- Une composante M_z , parallèle à \mathbf{B}_0 .
- Une composante M_{xy} , appartenant au plan (xOy) , transverse à l'axe z .

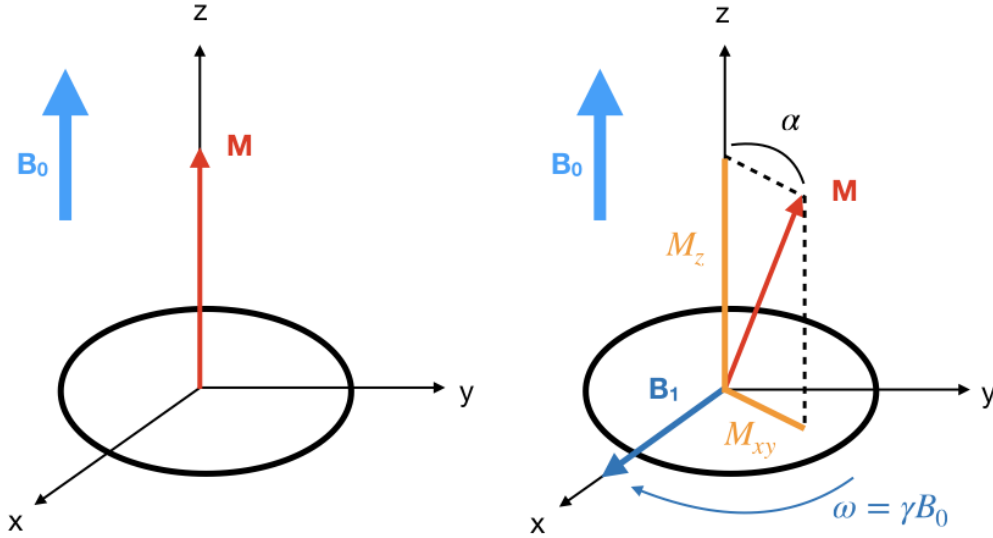


Figure 2.1: . Principe de bascule de l'aimantation \mathbf{M} . L'aimantation \mathbf{M} est à l'état d'équilibre (à gauche) puis bascule sous l'effet du champ tournant \mathbf{B}_1 .

Quand l'impulsion RF est stoppée, l'aimantation \mathbf{M} va progressivement revenir à son état d'équilibre suivant un mouvement de précession libre autour de l'axe z (Figure 2.2). Cela donne lieu à deux phénomènes simultanés :

- La repousse de la composante longitudinale le long de l'axe z .
- La disparition de la composante transversale du plan (xOy) due au déphasage des spins entre eux.

Ces deux phénomènes sont régis par les équations suivantes :

$$M_z = M_z(0) (1 - e^{-t/T_1}) \quad (2.1)$$

$$M_{xy} = M_{xy}(0)e^{-t/T_2} \quad (2.2)$$

Dans ces équations, T_1 représente la constante de relaxation longitudinale et correspond au temps au bout duquel la composante longitudinale M_z recouvre 63% de ce qu'il

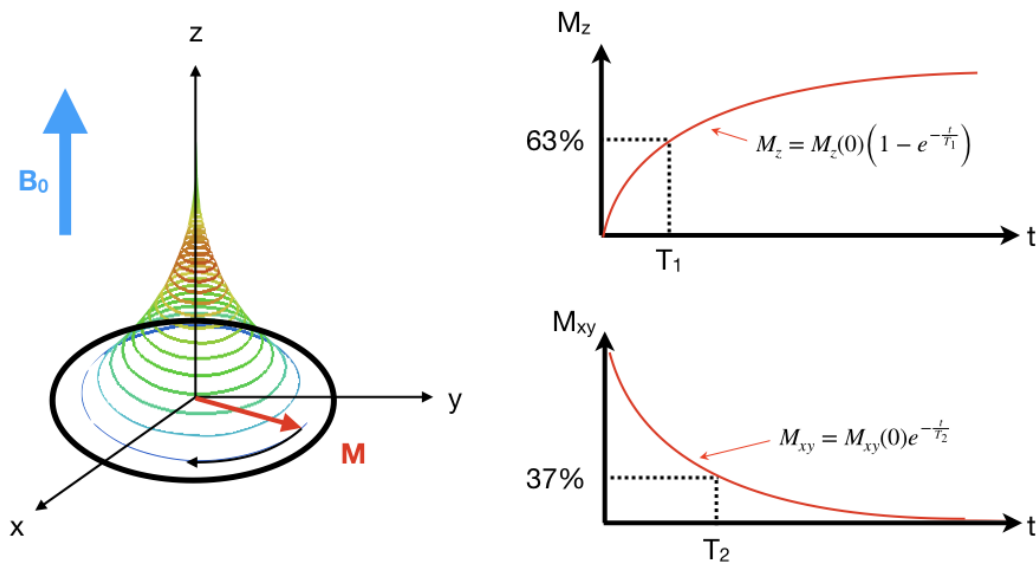


Figure 2.2: *Mouvement de précession libre de l'aimantation M (à gauche). Courbes représentatives de la relaxation longitudinale (en haut à droite) et de la relaxation transversale (en bas à droite).*

lui reste à parcourir pour revenir à sa position d'équilibre. T_2 représente quant à lui la constante de relaxation transversale et correspond au temps au bout duquel il ne reste que 37% de l'aimantation transversale M_{xy} induite à la fin de l'excitation.

2.3.2 Acquisition cartésienne 2D en IRM et Espace de Fourier

En IRM, le signal enregistré est issu de l'aimantation macroscopique de la coupe ou du volume d'imagerie et provient donc de la relaxation de l'ensemble des spins préalablement excités par l'impulsion d'onde RF. Cependant, aucune information spatiale sur ces spins n'est intrinsèquement disponible et il n'est donc pas possible de reconstruire une image à partir d'un seul signal de RMN enregistré. La solution est d'appliquer des gradients de champ magnétique à ces spins afin d'induire des déphasages qui permettront alors de les localiser spatialement. Ensuite, le signal est lu ligne par ligne de l'image souhaitée et enregistrée dans un espace symbolique appelé espace de Fourier ou espace-k. La lecture d'une ligne de l'image correspond à l'opération unitaire d'une acquisition complète et s'appelle répétition. Une fois que toutes les lignes ont été lues, la transformée de Fourier est appliquée aux données enregistrées afin de reconstruire une image (Figure 2.3).

2.3.2.1 Propriétés de l'espace de Fourier

L'ensemble des données recueillies sont stockées dans l'espace de Fourier, cependant la répartition des informations au sein de cet espace est hétérogène. En effet, il s'avère que les informations relatives au signal et au contraste sont situées au centre de l'espace de Fourier tandis que les informations relatives à la résolution spatiale ainsi que les détails se trouvent dans la périphérie de l'espace de Fourier (Figure 2.4).

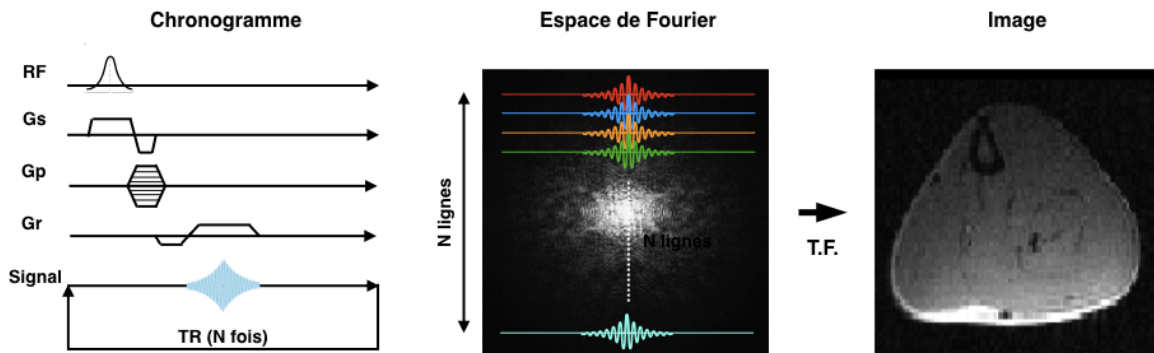


Figure 2.3: *Principe d'encodage de l'espace de Fourier et d'obtention d'une image. Le chronogramme (à gauche) décrit le déroulement d'une séquence IRM et l'ordre d'application des gradients afin de lire le signal et encoder des lignes dans l'espace de Fourier (au centre). Enfin, l'image est obtenue par transformée de Fourier 2D (à droite).*

2.3.3 Trajectoires d'encodage "non-cartésiennes"

Le principe général d'une acquisition IRM a été précédemment exposé avec un échantillonnage cartésien de l'espace de Fourier, le remplissage de cet espace s'effectuant alors ligne par ligne. Or, nous avons également vu que l'espace de Fourier n'est pas homogène dans tout son volume et possède des propriétés différentes en son centre et sa périphérie. Ainsi, il peut être préférable d'utiliser d'autres stratégies pour échantillonner l'espace de Fourier suivant les zones que l'on souhaite privilégier (Figure 2.5). Une première alternative dont nous parlerons dans ce manuscrit repose sur un échantillonnage « en spirale

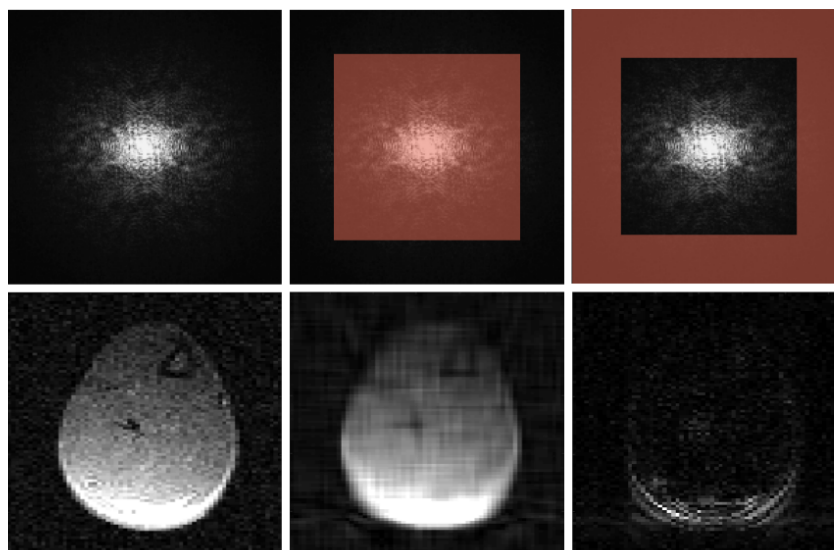


Figure 2.4: *Répartition de l'information dans l'espace de Fourier. 3 images sont reconstruites en utilisant l'espace-k entier (à gauche), le centre de l'espace-k uniquement (au centre) et enfin seulement la périphérie (à droite).*

entrelacées » de l'espace de Fourier [60]. L'application de gradients de champ magnétique sinusoïdaux permet en effet de parcourir l'espace de Fourier sous la forme d'une spirale partant de son centre et s'en éloignant progressivement. Un des premiers avantages de cette méthode de remplissage repose sur le sur-échantillonnage des basses fréquences au centre de l'espace-k ce qui diminue la sensibilité de la séquence aux mouvements. Par ailleurs, il est aussi techniquement possible de parcourir l'ensemble de l'espace de Fourier en une seule répétition et ainsi obtenir des temps d'acquisition très courts. Cependant, une trajectoire longue dans l'espace-k induit obligatoirement un temps de lecture plus long et les derniers points collectés contiennent peu de signal ; d'autre part on observe une plus forte sensibilité à différents types d'artefacts comme la sensibilité aux variations de champ magnétique.

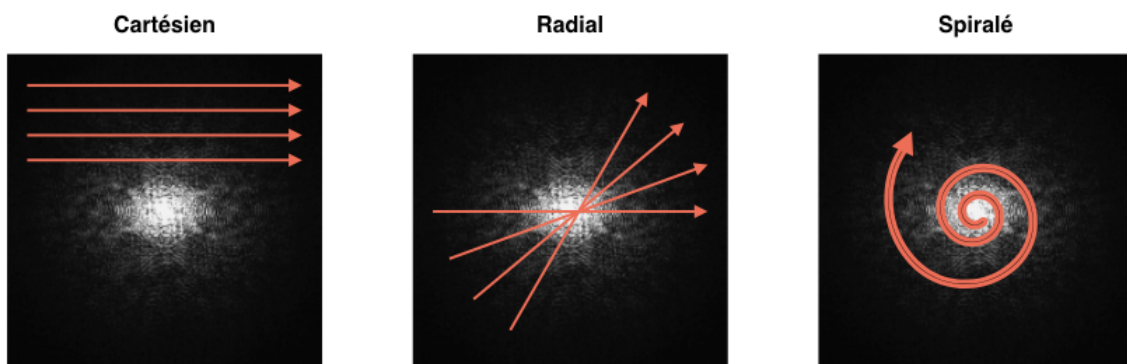


Figure 2.5: Description de 3 stratégies d'encodage de l'espace de Fourier communément utilisées. Il s'agit d'un encodage de lignes, dit cartésien (à gauche), de diamètres passant tous par le centre de l'espace-k, dit encodage radial (au centre), et enfin un encodage en spirales entrelacées (à droite).

Une deuxième alternative, également très utilisée, est l'imagerie radiale [61]. Le principe de cette technique repose sur l'acquisition de rayons ou de diamètres passant systématiquement par le centre de l'espace de Fourier. Un des avantages de l'imagerie radiale repose sur sa robustesse aux mouvements car cette méthode d'encodage, comme pour l'acquisition spiralée, assure un sur-échantillonnage du centre de l'espace de Fourier. En revanche, pour couvrir tout l'espace-k, il faut collecter de nombreux rayons/diamètres et ces séquences possèdent ainsi des temps d'acquisition longs qu'il faut impérativement prendre en compte pour de l'imagerie in vivo. Heureusement, en exploitant les propriétés de l'espace de Fourier, nous verrons qu'il est possible d'acquérir moins de rayons/diamètres tout en conservant des résolutions spatiales satisfaisantes.

2.3.3.1 Trajectoire spiralée 2D dans l'espace de Fourier

Il existe en réalité deux types d'encodage en spirale de l'espace de Fourier. Pour le premier encodage, appelé « spiral-out », l'acquisition de l'espace-k s'opère en partant du centre et en s'éloignant en spirale vers la périphérie. Pour le deuxième encodage, appelé « spiral-in », une combinaison de gradients de déphasage assure un déplacement

vers un point de la périphérie de l'espace-k, puis le remplissage s'opère en spirale en se rapprochant du centre. Dans cette thèse, seule la première méthode sera traitée. Les trajectoires « spiral-out » sont calculées grâce aux équations suivantes :

$$k_x(t) = A.\theta(t).\cos(\theta(t) + \phi_z(i)) \quad (2.3)$$

$$k_y(t) = A.\theta(t).\sin(\theta(t) + \phi_z(i)) \quad (2.4)$$

avec

$$\begin{cases} \phi_z(i) = \frac{2\pi i}{N}, i \in N \\ A = \frac{N\Delta k_{max}}{2\pi} \end{cases} \quad (2.5)$$

avec $k_x(t)$ et $k_y(t)$ représentant les coordonnées des points dans l'espace de Fourier le long des axes k_x et k_y respectivement, A un facteur caractérisant l'accroissement du module du vecteur $\mathbf{k}(t)$, $\theta(t)$ l'angle parcouru par le vecteur $\mathbf{k}(t)$, N le nombre de spirales acquises, $\phi_z(t)$ l'angle de décalage entre chaque spirale et i représentant l'indice de chaque spirale.

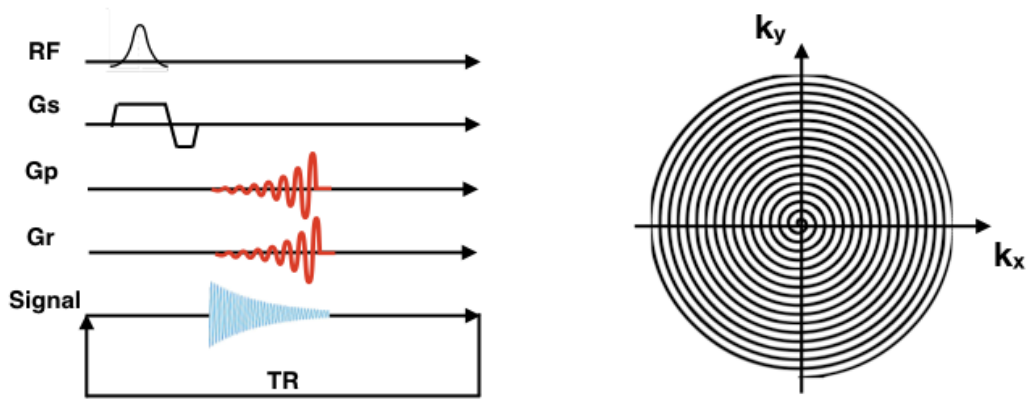


Figure 2.6: Chronogramme d'une séquence à encodage spiralé (à gauche) et représentation dans l'espace de Fourier (à droite).

Les limitations de cette séquence dues aux caractéristiques de la machine vont se répercuter dans la fonction $\theta(t)$. Les deux facteurs sont l'intensité maximale des gradients de champ magnétique G ainsi que la vitesse de montée des gradients S , qui sont définis suivant les deux équations suivantes :

$$\theta_S(t) = \beta t^2 \left(2 + 2 \left(\frac{2\beta}{3} \right)^{\frac{1}{6}} t^{\frac{1}{3}} + 2 \left(\frac{2\beta}{3} \right)^{\frac{2}{3}} t^{\frac{4}{3}} \right)^{-1} \quad (2.6)$$

$$\theta_G(t) = \sqrt{\phi_\tau^2 + 2\kappa(t - \tau)} \quad (2.7)$$

avec

$$\begin{cases} \beta = \frac{\gamma.S.FOV}{2\pi N} \\ \kappa = \frac{\gamma.G.FOV}{2\pi N} \end{cases} \quad (2.8)$$

où γ représente le rapport gyromagnétique du noyau, S la vitesse maximale de montée des gradients, G l'intensité maximale des gradients, ϕ_τ l'angle balayé pendant le temps τ et FOV le champ de vue.

Bien qu'une seule spirale suffise à « remplir » l'espace de Fourier (Figure 2.6), en acquérir plusieurs comporte certains avantages comme l'amélioration du rapport signal sur bruit. En revanche, les acquisitions avec un encodage en spirale sont très sensibles aux interfaces entre les différents tissus, en particulier entre le muscle et la graisse.

2.3.3.2 Trajectoire radiale 2D dans l'espace de Fourier

Le principe de trajectoires radiales dans l'espace de Fourier a été créé très tôt. Cependant la qualité des instruments de l'époque a mené à privilégier des séquences à encodage cartésien. Avec les progrès instrumentaux, l'intérêt pour les séquences radiales est revenu et elles sont maintenant beaucoup utilisées, particulièrement en imagerie cardiaque.

La trajectoire des projections dans l'espace de Fourier est donnée par les équations suivantes:

$$k_x(t) = \gamma.t.G.\cos(\theta) \quad (2.9)$$

$$k_y(t) = \gamma.t.G.\sin(\theta) \quad (2.10)$$

avec γ le rapport gyromagnétique du noyau, G l'intensité des gradients de champ magnétique appliqués et θ l'angle d'inclinaison entre l'axe k_x et la projection considérée.

Le chronogramme de cette séquence est détaillé sur la Figure 2.7. Un gradient de sélection de coupe peut être appliqué au début d'une répétition en même temps que

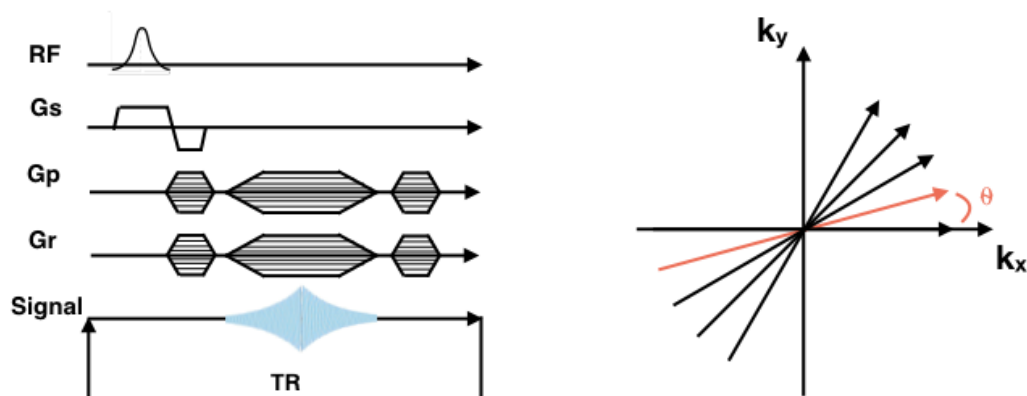


Figure 2.7: Chronogramme d'une séquence à encodage radial (à gauche) et représentation dans l'espace de Fourier (à droite).

l'impulsion RF pour sélectionner une tranche de l'échantillon imagé. Des gradients de codage de l'espace sont d'abord appliqués afin d'atteindre la périphérie de l'espace de Fourier. Ensuite les mêmes gradients sont appliqués avec une amplitude opposée afin de parcourir l'espace de Fourier dans le sens opposé. Enfin, des spoilers sont utilisés afin de se débarrasser de l'aimantation transversale résiduelle.

2.3.4 Reconstruction d'images non-cartésiennes

Les deux techniques présentées (imagerie à encodage radial et à encodage spirale) ont le point commun de ne pas aboutir à une distribution homogène des points dans l'espace de Fourier. Ainsi, il n'est pas possible d'appliquer tel quel la transformée de Fourier à des espaces-k. Dans cette thèse, c'est la technique du remaillage qui a été utilisée afin de se ramener à une distribution uniforme des points dans l'espace de Fourier. Cette technique consiste à venir appliquer une grille de points avec une répartition cartésienne sur les points acquis. Ensuite un noyau d'interpolation est utilisé sur chaque point pour calculer les valeurs de la nouvelle grille (2.8). Enfin, la transformée de Fourier utilisée classiquement est appliquée à la nouvelle grille et les images sont obtenues.

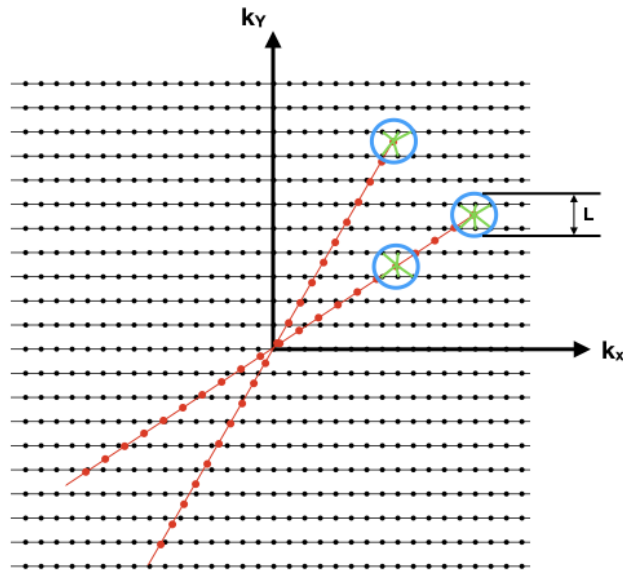


Figure 2.8: *Principe de remaillage de l'espace de Fourier. Un noyau de Kaiser-Bessel d'une largeur L est appliqué aux points composant les différentes projections et permettent de recalculer les points composant la grille cartésienne*

Le noyau d'interpolation utilisé est un noyau dit de Kaiser-Bessel. Mathématiquement, ce noyau est défini de la manière suivante :

$$K_{kb}(d) = \begin{cases} \frac{1}{L} I_0 \beta \sqrt{1 - \left(\frac{2d}{L}\right)^2} & \text{si } |d| \leq \frac{L}{2} \\ 0 & \text{si } |d| > \frac{L}{2} \end{cases} \quad (2.11)$$

2.3.5 Méthodes de mesure du T_1

2.3.5.1 Séquence d'inversion-récupération

La méthode de référence de mesure du T_1 est la séquence d'inversion-récupération [62] dont le chronogramme est décrit sur la Figure 2.9. Le principe de fonctionnement de cette séquence est le suivant : chaque acquisition de signal est précédée par une inversion de l'aimantation dans le volume d'imagerie et le signal est enregistré après un certain délai T_i , temps compris entre l'impulsion RF d'inversion et l'acquisition du signal. Cette opération est répétée autant de fois que nécessaire pour obtenir un espace de Fourier complet, et cet ensemble est également répété pour différentes valeurs de T_i , afin d'obtenir des mesures du signal pour un nombre de T_i choisi. Finalement, la valeur du T_1 est obtenue par lissage de courbe (Figure 2.10) grâce à l'équation:

$$M_i = M_0 \left(1 - 2e^{-\frac{T_i}{T_1}} \right) \quad (2.12)$$

L'inconvénient de cette séquence est sa durée. En effet, une acquisition complète demande de répéter l'opération décrite pour chaque ligne de chaque image. De plus, il faut attendre un temps suffisamment long entre deux inversions du signal afin que l'aimantation soit revenue à sa position d'équilibre. Prenons un exemple avec les paramètres suivants : $20 T_i$, 128 lignes par image et un temps de répétition (TR) de 7000ms. Il faut alors $20 \times 128 \times 7 = 17920$ s, soit 4h59min pour obtenir les données, ce qui n'est pas envisageable dans le cas de notre étude. Plusieurs méthodes, combinables, existent pour accélérer les mesures de T_1 , comme par exemple la séquence Look-Locker qui est présentée dans la partie suivante.

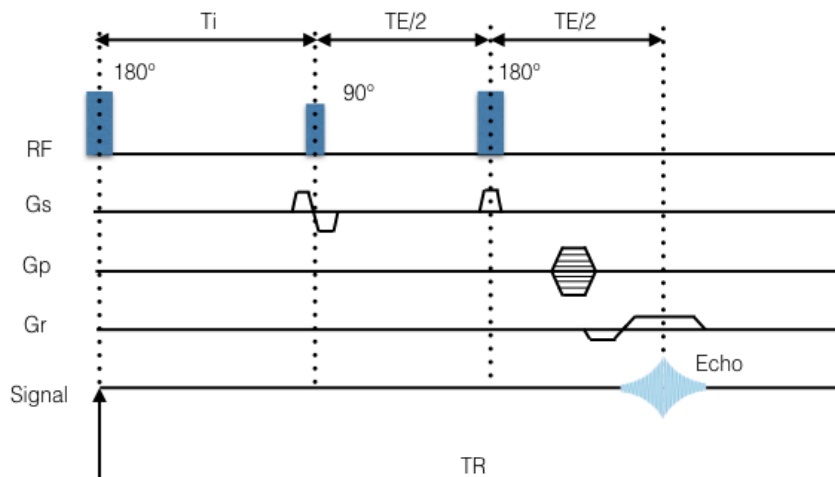


Figure 2.9: Chronogramme de la séquence d'inversion-récupération. L'acquisition de signal est précédée par une inversion de l'aimantation dans le volume d'imagerie et le signal est enregistré après un certain délai T_i , temps compris entre l'impulsion RF d'inversion et l'acquisition du signal. Cette opération est répétée autant de fois que nécessaire pour obtenir un espace de Fourier complet, et cet ensemble est également répété pour différentes valeurs de T_i , afin d'obtenir des mesures du signal pour un nombre de T_i choisi

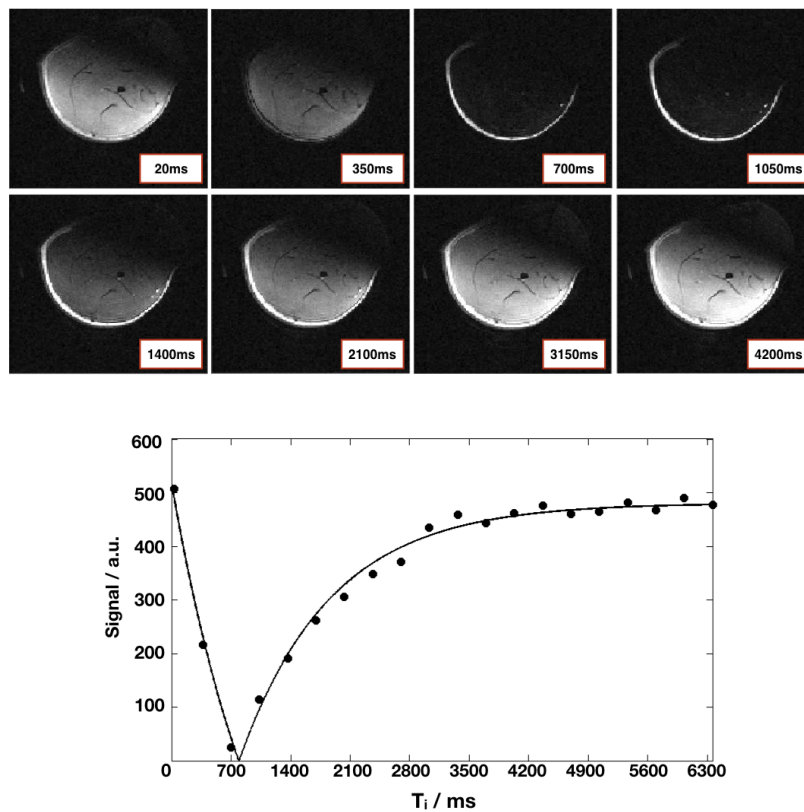


Figure 2.10: Exemple d'images acquises à différents temps d'inversion grâce à la séquence d'IR (en haut) et de lissage de courbe (en bas) associé pour la mesure du T_1 en suivant l'évolution du signal dans la zone du muscle gastrocnémien.

2.3.5.2 Séquence Look-Locker

Contrairement à la séquence d'inversion-récupération où de l'information concernant un seul T_i est obtenue, la séquence proposée par Look et Locker [63] permet d'acquérir de l'information pour plusieurs valeurs de T_i au cours de chaque TR (Figure 2.11).

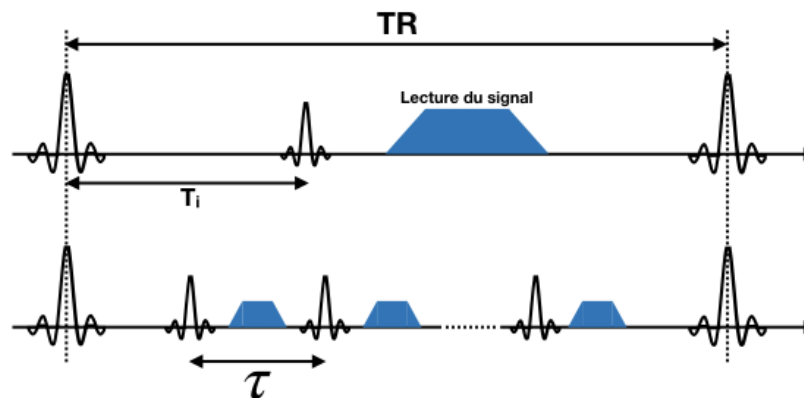


Figure 2.11: Comparaison entre la séquence d'inversion-récupération (en haut) et la séquence Look-Locker (en bas).

De plus, il n'est pas nécessaire d'attendre que l'aimantation soit revenue à sa position d'équilibre avant l'inversion suivante du signal avec cette méthode. Grâce à cela, le temps total d'acquisition se trouve grandement diminué. Cette méthode est particulièrement utilisée en imagerie cardiaque pour détecter des pathologies grâce aux rapides cartographies T_1 qu'elle permet d'obtenir [64]. La durée τ , correspondant à la durée entre deux T_i consécutifs, visible sur Figure 2.11 étant paramétrable, la méthode dite Look-Locker présente également l'avantage de pouvoir être synchronisée avec un rythme régulier comme le rythme cardiaque cité précédemment.

2.3.6 Méthode de mesure du T_2

2.3.6.1 Séquence multi-écho de spin

La séquence utilisée traditionnellement pour mesurer le temps T_2 est la séquence multi-slice multi-écho (MSME). Le chronogramme de la séquence est décrit sur la Figure 2.12. La séquence débute avec une impulsion à 90° afin de basculer l'aimantation dans le plan transverse. Les spins commencent à se déphaser entre eux sous l'effet de la relaxation T_2 puis une nouvelle impulsion RF de 180° est envoyée. Ainsi les spins se déphasant le plus rapidement se retrouvent « derrière » et les plus lents « devant ». Les plus rapides vont naturellement rattraper les plus lents et se retrouver tous rephasés. Le signal est lu à ce moment précis, c'est ce que l'on appelle un « écho ». Ce processus est répété plusieurs fois afin d'obtenir des images lors des échos successifs afin de pouvoir mesurer le temps de relaxation transversale.

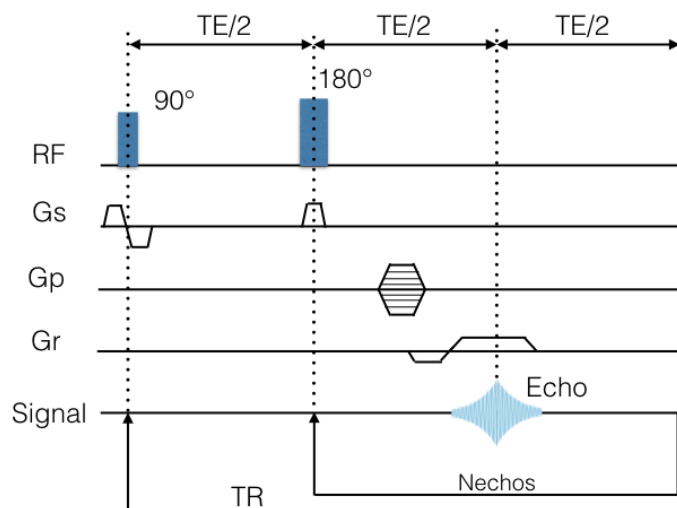


Figure 2.12: Chronogramme de la séquence MSME. La séquence débute avec une impulsion à 90° afin de basculer l'aimantation dans le plan transverse. Une nouvelle impulsion RF de 180° est envoyée. Ainsi les spins se déphasant le plus rapidement se retrouvent « derrière » et les plus lents « devant ». Les plus rapides vont naturellement rattraper les plus lents et se retrouver tous rephasés. Le signal est lu à ce moment précis. Ce processus est répété plusieurs fois afin d'obtenir des images lors des échos successifs afin de pouvoir mesurer le temps de relaxation transversale.

2.3.6.2 Lissage de courbe avec correction du bruit

Une fois les images acquises, les cartes T_2 ont été obtenues grâce à un lissage de courbe pour chaque voxel. La théorie dit que la décroissance du signal par l'effet du déphasage des spins est régit par l'équation **2.2**. En pratique, il est nécessaire de prendre en compte la présence du bruit sur les images obtenues. Ainsi, la décroissance T_2 a été ajustée en utilisant l'équation suivante qui prend en compte la correction du bruit [65]:

$$S_{corr}(i) = \sqrt{|S(i)|^2 + 2N_c \left(\frac{\sigma}{C_{N_c}} \right)^2} \quad (2.13)$$

avec les paramètres $S(i)$ étant l'amplitude du signal dans la i -ème image, $i \in [2, N_{echos}]$, $N_c = 1$ le nombre de bobines de réception, σ l'écart type du bruit et $C_{N_c} = 0,655$ un coefficient dépendant du nombre de bobines de réception tel que calculé par Henkelman [66]. La procédure d'ajustement a été développée et mise en œuvre dans MATLAB (MathWorks, Natick, MA, USA).

L'effet de cette correction est observable sur la Figure **2.13**. On peut voir le lissage obtenu en utilisant l'équation **2.13** en haut à gauche et celui obtenu avec la correction du bruit en bas à gauche. Également, le lissage a été effectué en utilisant un nombre d'échos de spins consécutifs allant de 2 à 90 échos, le T_2 a été mesuré à chaque fois ainsi que le R^2 associé. Il apparaît une nette différence des valeurs de T_2 et que la méthode de correction de bruit est moins sensible au choix du nombre d'échos.

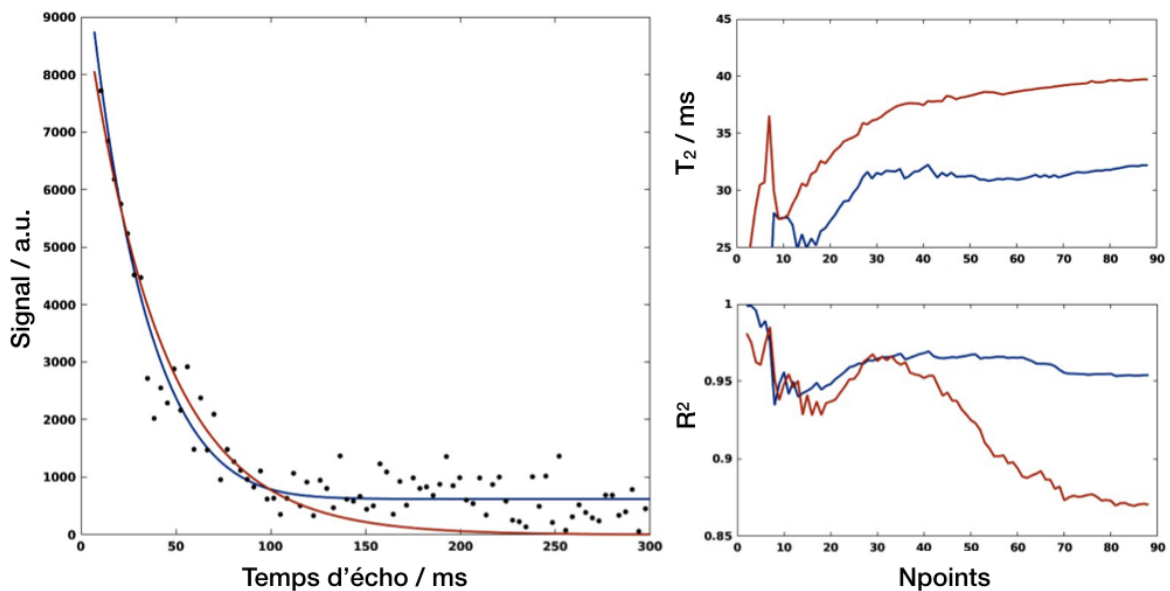


Figure 2.13: Différence de lissage de courbes entre les méthodes sans (en rouge) et avec (en bleu) correction du bruit (à gauche). Également, le T_2 a été mesuré à chaque fois ainsi que le R^2 associé en fonction du nombre d'échos.

Un exemple d'images obtenues à différents temps d'échos et un lissage de courbe à partir des valeurs du signal mesurées dans la zone du gastrocnémus sont montrés sur la

Figure 2.14. Dans ce cas particulier, le R^2 était de 0.97.

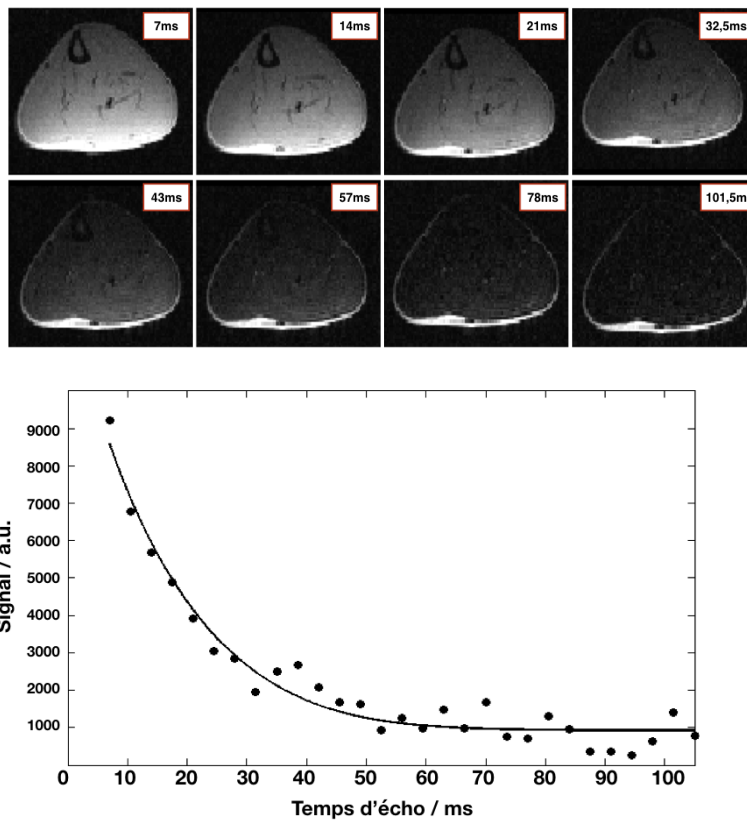


Figure 2.14: Exemple d'images acquises à différents temps d'écho grâce à la séquence MSME (en haut) et de lissage de courbe (en bas) associé pour la mesure du T_2 en suivant l'évolution du signal dans la zone du muscle gastrocnémien.

2.4 Spectroscopie du phosphore ^{31}P

Comme expliqué précédemment, en RMN le signal provient de la relaxation de l'ensemble des spins préalablement excités par l'onde RF. Le mouvement de précession libre résultant de l'arrêt de l'excitation dépend de la nature des atomes excités. Par conséquent, des échantillons biologiques de nature différentes vont induire des fréquences de précession libre différentes.

L'application de la transformée de Fourier au signal de précession libre obtenu permet de d'analyser le contenu fréquentiel de ce dernier. On obtient ainsi un spectre caractérisé par plusieurs raies lorentziennes dont les aires sont proportionnelles aux concentrations des espèces biochimiques auxquelles elles correspondent. Afin de déterminer avec précision la concentration musculaire de chacun des métabolites phosphorylés, l'aire de chacune des raies du spectre a été déterminée grâce à une décomposition numérique du spectre en une somme de lorentziennes (Figure 2.15).

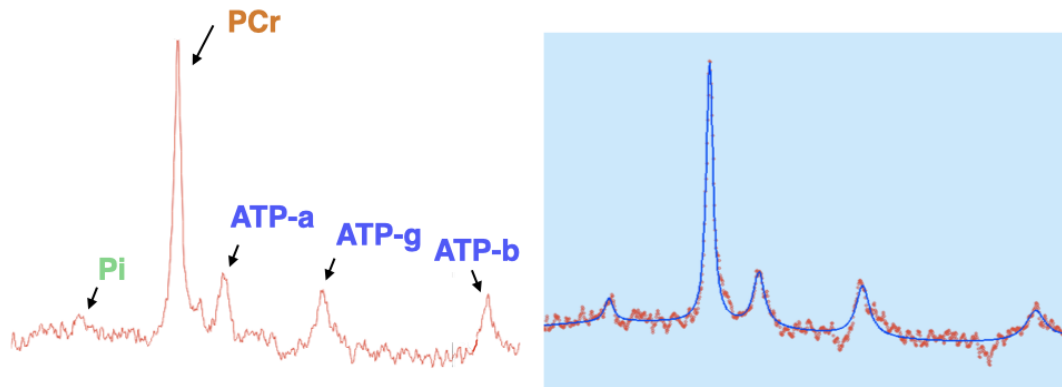


Figure 2.15: Exemple de spectre obtenu par spectroscopie du phosphore ^{31}P (à gauche) et sa décomposition en courbes de Lorentz (à droite)

2.4.1 Suivi métabolique anaérobie par spectroscopie du phosphore ^{31}P

Au cours d'un effort musculaire dit anaérobie, l'énergie permettant la contraction musculaire provient de l'hydrolyse de l'ATP. Cette hydrolyse est permise dans un premier temps par les réserves de phosphocréatine. Cette réaction possède un excellent rendement et permet une contraction efficace du muscle. Une fois les réserves de phosphocréatine vidées, l'hydrolyse est ensuite permise par la fermentation lactique. Il s'agit d'une réaction possédant un rendement nettement plus faible amenant à la production d'acide lactique. (Figure 2.16).

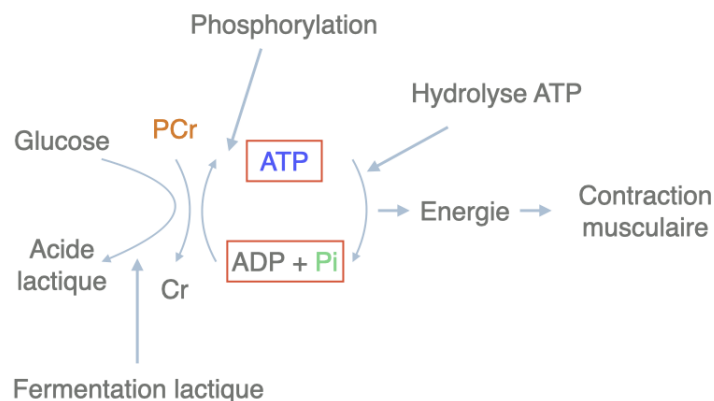


Figure 2.16: Principe énergétique de la contraction musculaire au cours d'un effort anaérobie. L'énergie permettant la contraction des muscles provient de l'hydrolyse de l'ATP, permise dans un premier temps par les réserves de phosphocréatine puis par la fermentation lactique.

La présence de composés phosphorylés permet de suivre efficacement ces échanges én-

ergétiques grâce à la spectroscopie du phosphore ^{31}P . La consommation de phosphocréatine ainsi que la production de phosphate inorganique peuvent être quantifiées. Sachant que la contraction d'ATP reste constante au cours d'un effort, les aires relatives de phosphocréatine et de phosphate inorganique permettent de retrouver les concentrations présentes (Figure 2.17).

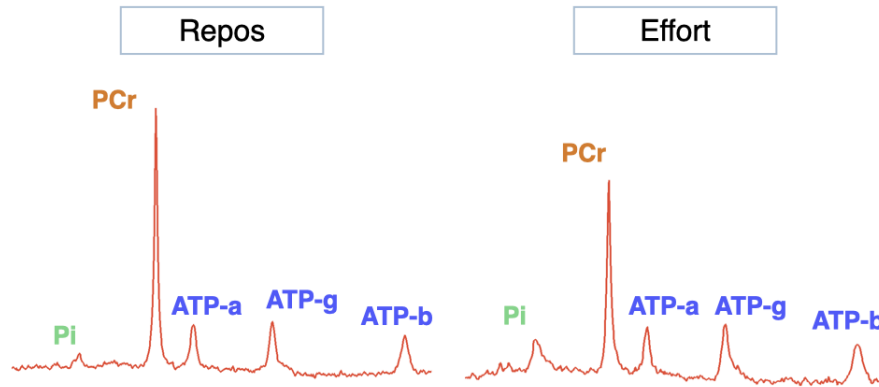


Figure 2.17: Exemple de spectres acquis dans le gastrocnémus du rat au repos et au cours d'un effort anaérobie. Le pic correspondant à la phosphocréatine rétrécit tandis que celui correspondant au phosphate inorganique grandit. Les trois pics d'ATP ne changent pas.

2.4.2 Suivi du pH par déplacement chimique

La détermination du pH intramusculaire par spectroscopie RMN du phosphore est rendue possible par le calcul du déplacement chimique du phosphate inorganique. En effet, le pool de phosphate inorganique (acide orthophosphorique) correspond à un équilibre dynamique, directement dépendant du pH cellulaire, entre les formes acides et basiques suivantes :



L'échange entre ces deux formes étant suffisamment rapide, le signal RMN résultant équivaut à un seul pic dont le déplacement chimique (δ_{obs}) correspond à la moyenne des déplacements chimiques de ces deux formes, pondérée de leur quantité respective. Le pH intramusculaire peut en conséquence être calculé par l'intermédiaire de l'équation suivante [67] :

$$pH = pK_a + \log \frac{\delta_{obs} - \delta_{\text{H}_2\text{PO}_4^-}}{\delta_{\text{HPO}_4^{2-}} - \delta_{obs}} \quad (2.15)$$

avec $pK_a=6,75$ la constante d'acidité logarithmique de la réaction, $\delta_{\text{H}_2\text{PO}_4^-}=3,27\text{ppm}$ et $\delta_{\text{HPO}_4^{2-}}=5,69\text{ppm}$ les déplacements chimiques du couple $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$.

2.4.3 Évaluation de la vitesse initiale de récupération de la PCr

La vitesse de récupération de la phosphocréatine dans le muscle a été mesurée par lissage de courbe comme proposé par Bourdel-Marchasson et al. [68], grâce à l'équation suivante:

$$PCr(t) = PCr_0 + A(1 - e^{-kt}) \quad (2.16)$$

avec PCr_0 la concentration de phosphocréatine juste à la fin des stimulations. La vitesse initiale de récupération est le coefficient directeur de la tangente en 0 et vaut donc:

$$V_{iPCr} = kA \quad (2.17)$$

2.5 IRM du muscle chez l'homme

Comme nous l'avons vu précédemment, les rayons X et les scans CT exposent les patients aux radiations sans pour autant présenter de bien meilleurs diagnostics que l'IRM. C'est pourquoi cette dernière technique est la plus utilisée en clinique à ce jour pour la détection de maladies neuromusculaires [69]. L'ultrason est également très utilisé, mais cette technique est moins efficace pour imager les tissus profonds. De plus, elle est beaucoup plus sensible à l'interprétation de l'opérateur que lors d'un examen IRM. Les séquences pondérées en T_1 permettent d'obtenir des images anatomiques avec une haute résolution spatiale (mm^3). La graisse sous-cutanée apparaît en signal intense sur des images T_1 , permettant facilement l'identification de myopathies où la graisse vient remplacer le muscle. En revanche, des altérations du muscle comme l'inflammation ou l'œdème ne seront pas visibles grâce aux séquences pondérées T_1 . Afin d'identifier ces altérations, on utilise classiquement en clinique des séquences pondérées T_2 avec saturation de graisse ou encore des séquences dites Short Tau Inversion Recovery (STIR). La saturation de graisse permet d'annuler le signal de la graisse sous-cutanée et les tissus spongieux apparaissent en hyper signal.

Des mesures quantitatives sont également accessibles. Il est possible de réaliser des mesures de volumes musculaires fiables. Sproule et al. ont mesuré les volumes des muscles de la cuisse à partir d'images pondérées T_1 et les ont comparées avec des mesures obtenues grâce à la DEXA, avec de très bons résultats [70]. De nouvelles méthodes émergent dans la recherche. La cartographie T_2 des muscles permet un suivi des pathologies et des dystrophies. Maillard et al. ont montré le rallongement du T_2 dans le muscle de la cuisse en rapport avec le degré d'inflammation chez des enfants atteints de dermatomyosite [71]. De la même manière, Willcocks et al. ont montré le lien entre le degré de sévérité de la maladie de Duchenne (Duchenne Muscular Dystrophy, DMD) et l'allongement du T_2 dans le muscle soléaire chez des enfants [61]. Chez les personnes âgées, le T_2 du muscle est également plus long. Cela serait dû d'une part à la diminution de la taille et du nombre des fibres musculaires à cause du vieillissement (principalement des fibres de type II), augmentant l'espace extra-cellulaire [72]. D'autre part, ce rallongement serait également dû au dépôt de graisse intramusculaire [58]. Le transfert d'aimantation permet la quantification de la graisse intramusculaire, Morrow et al. exposant le lien entre le taux de graisse (Fat Fraction, FF) et le taux de transfert d'aimantation (Magnetization Transfer Ratio, MTR) [73].

L'imagerie du tenseur de diffusion (Diffusion Tensor Imaging, DTI) apparaît également comme une piste prometteuse. L'organisation des fibres musculaires rend leur étude, et plus particulièrement leur désorganisation, par DTI pertinente dans le cadre de la myosite ou de la DMD par exemple [74]. Kakuda et al. ont étudié des cas de polyradiculonévrite inflammatoire démyélinisante chronique (Chronic Inflammatory Demyelinating Polyradiculoneuropathy, CIDP) grâce à de la DTI sur le mollet et notamment le nerf tibial, montrant que la fraction d'anisotropie (FA) était plus faible chez les patients atteints de CIDP [75]. Enfin, l'élastographie par IRM offre une perspective très riche d'étude de l'élasticité du muscle soumis à une déformation [76].

L'élastographie amène la question de l'effort musculaire. Quel effet produit un effort musculaire sur les biomarqueurs précédemment cités ? Avant toute chose, les premières études de l'effort musculaire ont été réalisées par spectroscopie du phosphore ^{31}P (^{31}P MRS). Cette technique permet en effet l'acquisition de données avant, pendant et après que le muscle se contracte [77]. Les concentrations de phosphocréatine, de phosphate inorganique et des trois adénosines triphosphates sont directement liées à l'intensité de l'effort produit. Grâce à cela, la fonction mitochondriale a pu être caractérisée dans des applications variées [78], et notamment la fragilité [79–81]. Plusieurs études ont été menées chez l'homme afin d'observer l'influence de l'effort physique sur le T_1 et le T_2 . Chez des patients sains, un allongement de ces deux temps de relaxation a été observé juste après l'exercice [82], mais également plusieurs heures après [83]. Le rallongement du T_2 suite à un effort serait dû à l'accumulation d'acide lactique dans le muscle [84]. Damon et al. ont montré que le T_2 dans la cuisse était non seulement plus élevé chez des enfants atteints de DMD, mais que cette valeur n'évoluait pas suite à un effort physique chez ces enfants, contrairement à une augmentation significative chez les enfants sains [85]. En revanche, la littérature ne renseigne pas sur des mesures de temps de relaxation T_2 et T_1 au cours d'un effort physique chez l'homme.

2.6 IRM du muscle chez le petit animal

De nombreuses études de spectroscopie du phosphore ^{31}P ont été menées chez le petit animal, et en particulier sur le muscle gastrocnémien. Grâce à cela, une compréhension accrue du processus de contrôle de la production d'énergie a été acquise. Gouspillou et al. ont pu étudier la fonction mitochondriale chez les rats jeunes et la comparer avec des rats âgés [86]. De nombreux modèles pathologiques ont été simulés, comme par exemple des ischémies des membres inférieurs [87, 88]. Également, la fonction musculaire en réponse à une stimulation a été observée [89, 90] et complétée par des mesures de T_2 pré et post stimulation, montrant un allongement de ce temps de relaxation en réponse à l'effort. Des modèles de rats présentant des lésions au niveau des tissus musculaires profonds ont aussi montré l'efficacité du T_2 comme biomarqueur. En comparaison, des mesures d'élastographie ont été obtenues et montrent une piste prometteuse pour l'étude structurelle des tissus musculaires [91]. Des modèles de souris sarcopéniques ont permis d'observer un rallongement du T_2 dans le muscle gastrocnémien par rapport à de jeunes souris saines [92]. Comme pour l'homme, la littérature ne renseigne pas d'informations concernant la mesure de T_2 au cours d'un effort ou d'une stimulation. De plus, peu d'informations sont disponibles concernant la mesure de T_1 dans le muscle chez le petit animal.

2.7 Objectifs de cette thèse

Il apparaît clairement que les structures composant les muscles sont complexes. Les mesures de temps de relaxation offrent des biomarqueurs intéressants, permettant de caractériser l'œdème, l'inflammation ou encore les dépôts de graisse. Ces mesures qualitatives permettent surtout d'identifier les zones touchées par une pathologie ou une blessure mais ne permettent a priori pas de statuer sur un niveau de sévérité pathologique. C'est pour ces raisons que nous avons choisi une approche multi-paramétrique pour étudier le muscle. Il semble crucial de combiner et recouper plusieurs mesures quantitatives pour correctement caractériser l'état d'un muscle. Nous avons choisi comme biomarqueurs le T_1 et le T_2 . Afin de quantifier l'effort métabolique fourni, ces valeurs seront comparées à des mesures de spectroscopie du phosphore ^{31}P . De plus, la fonction musculaire étant primordiale dans l'étude de la sarcopénie, nous avons décidé de réaliser ces mesures au cours d'un effort musculaire produit par électro-stimulation.

En conséquence, une large partie de cette thèse sera consacrée à des développements méthodologiques permettant d'obtenir les mesures de T_1 et de T_2 ainsi que de spectroscopie du phosphore ^{31}P sur le muscle à l'état de repos ainsi qu'électro-stimulé. Ces développements doivent répondre à un certain nombre d'exigences. Tout d'abord des contraintes géométriques. En effet, l'animal doit pouvoir être placé correctement dans l'imageur et l'électro-stimulation du gastrocnémus doit être possible. Également, les biomarqueurs choisis nécessitent de travailler sous un champ magnétique le plus homogène possible, contraignant l'instrumentation ainsi que le placement de l'animal. Enfin, la stimulation du muscle provoque naturellement le mouvement de la patte de l'animal, ce qui risque d'être source d'artefacts. Une synchronisation entre les acquisitions et les stimulations doit donc être établie. Ces nouvelles méthodes seront testées et validées sur des rats jeunes et sains, puis les mesures seront comparées à celles obtenues sur une population de rats âgés.

Enfin, le dernier chapitre de cette thèse sera consacré à une étude clinique visant à identifier les corrélations entre les effets de la sarcopénie et de la fragilité sur le cerveau et les muscles. Cette étude n'est pas l'exportation à l'homme des développements méthodologiques de la première partie, mais un projet parallèle ambitieux mené simultanément. Des données physiques (test SPPB), cognitifs (Mini-mental state evaluation, dual-task), physiologiques (analyses sanguines) compléteront les examens IRM cérébraux et musculaires afin d'étudier des populations de patients fragiles, pré-fragiles et robuste au sens de Fried.

Chapitre 3

Développement d'un lit IRM-compatible pour l'étude du gastrocnemius du rat au repos et stimulé

3.1 Contexte

LES MESURES de temps de relaxation longitudinaux et transversaux ont été réalisés sur des imageurs Bruker BioSpec à 4.7 et 7T (Figure 3.1).



Figure 3.1: *Imageur Bruker BioSpec 7T*

Pour obtenir des mesures de temps de relaxation précises et répétables il est obligatoire de travailler avec un champ magnétique le plus homogène possible, c'est pourquoi une antenne d'émission-réception volumique a été utilisée en configuration émission seule couplée avec une antenne de réception surfacique située au centre de l'aimant, positionnée contre le gastrocnemius du rat. Cette configuration permet d'obtenir un champ

magnétique homogène ainsi qu'un rapport signal sur bruit optimal au niveau du muscle étudié. L'antenne volumique d'émission (Figure 3.2) possède un diamètre intérieur de 82mm, ce qui signifie que le rat doit pouvoir être installé, électro-stimulé et imagé tout en respectant ces contraintes géométriques.

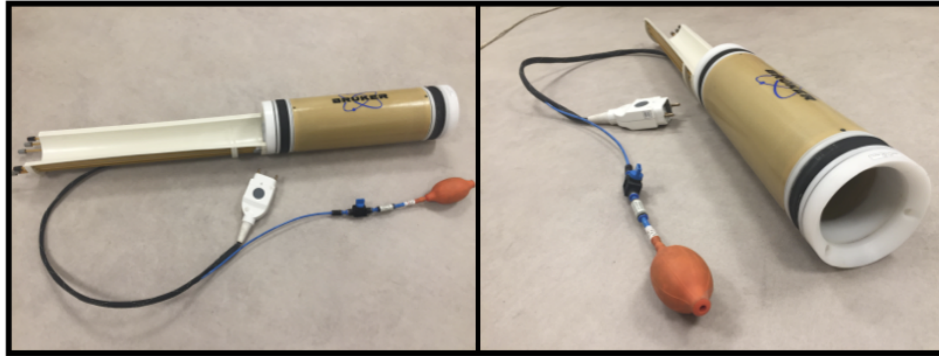


Figure 3.2: Antenne volumique d'émission. Le cylindre possède un diamètre intérieur de 82mm, ce qui pose les contraintes géométriques des développements.

3.2 Lit IRM-compatible

3.2.1 Principe

Tout d'abord, il a été nécessaire de fabriquer un lit IRM-compatible pour installer les animaux dans les conditions expérimentales souhaitées (Figure 3.3). Ce lit a été dimensionné grâce à un logiciel de conception 3D (FreeCAD, Ulm, Allemagne) puis imprimé grâce à une imprimante 3D (Formlabs, Sommerville, États-Unis).

Le rat est placé sur le dos durant la totalité de l'expérience. La patte qui sera imagée est placée contre une pédale. De cette manière son gastrocnemius est situé juste au-dessus de l'antenne de réception surfacique que l'on soit en configuration mesure de temps de relaxation des protons ou en spectroscopie du phosphore. La tête du rat est placée dans un masque par lequel le gaz anesthésiant arrive (isoflurane + air). Le masque est pourvu de trous pour que l'air puisse être renouvelé. La pédale est en contact avec un capteur de pression afin de pouvoir estimer la force de poussée du rat, ainsi que contrôler le bon déroulement de la stimulation et éviter les crampes ou la perte de contact entre la pédale et le capteur, ou entre les électrodes et la patte. Ces électrodes sont en contact avec l'animal au niveau du talon et juste au-dessus du genou pour pouvoir stimuler entièrement le gastrocnemius.

3.2.2 Pièce par pièce

- Berceau de repos du rat:

Le rat repose sur deux pièces identiques dont la forme épouse celle de l'antenne volumique d'émission (Figure 3.4). Le masque placé sur le museau du rat et

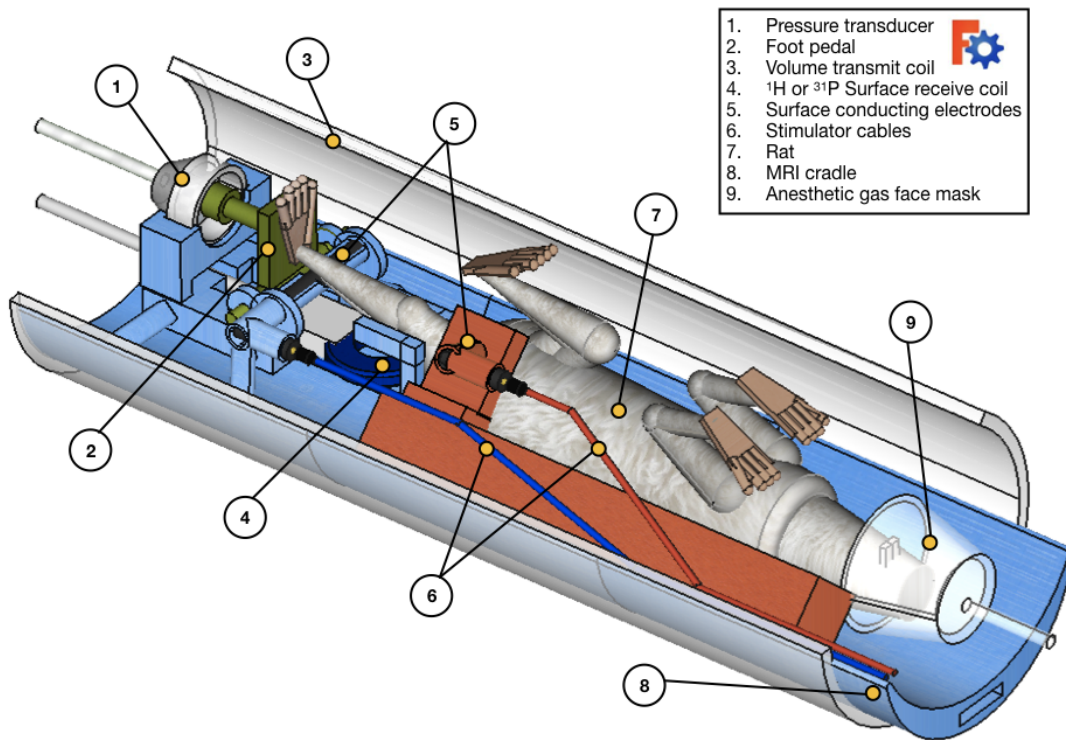


Figure 3.3: Schéma du dispositif expérimental. Le rat est allongé sur le dos et les électrodes de l'électro stimulateur sont placées au niveau du genou et du talon. L'antenne surfacique de réception se trouve placée juste en dessous du gastrocnemius. La stimulation de ce muscle provoque une pression de la patte sur le capteur.

permettant l'anesthésie de ce dernier est également en contact avec cette pièce. Les pièces sont également munies d'ergots qui permettent de les emboîter facilement et les maintenir solidaires.

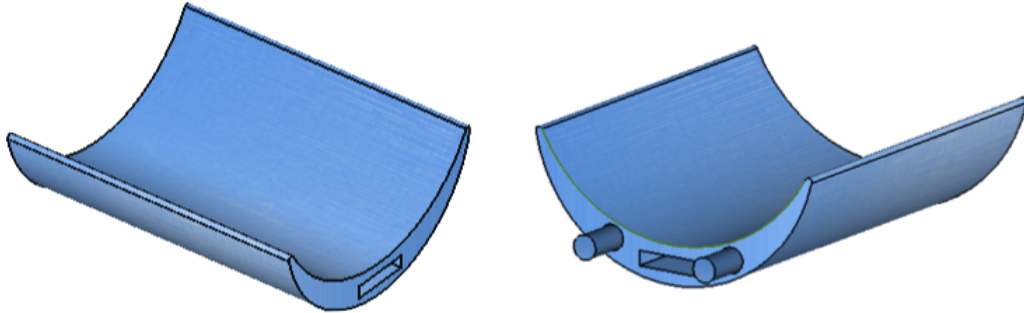


Figure 3.4: *Berceau de repos du rat.*

- Support de la pédale et de l'antenne:

La base de cette pièce est la même que pour les deux précédentes, seulement une partie a été rajoutée afin de pouvoir fixer les éléments nécessaires au bon déroulement de l'expérience (Figure 3.5).

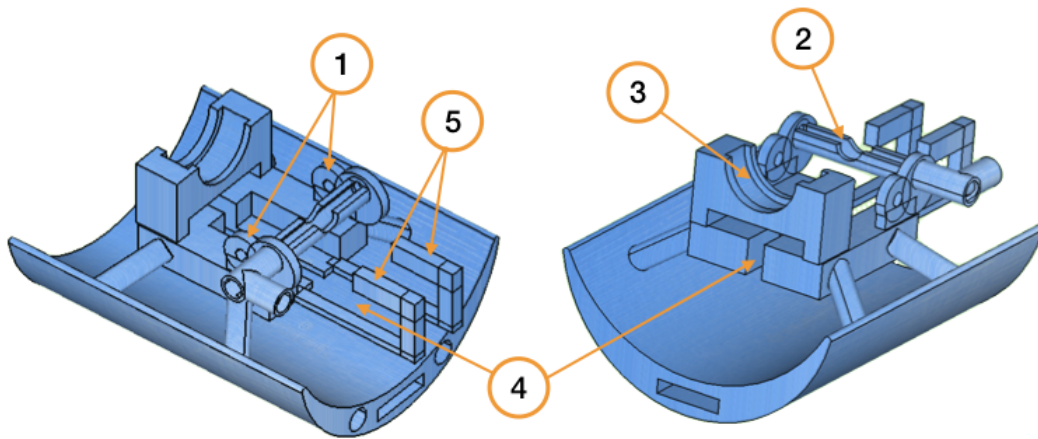


Figure 3.5: *Support de l'antenne surfacique de réception et de la pédale.*

Deux orifices (1) sont situés de part et d'autre de la pièce pour que l'axe de rotation de la pédale puisse y passer. Juste à côté se trouve une cavité (2) servant à accueillir l'électrode souple qui sera en contact avec le talon du rat durant l'expérience. Un coude a été placé au bout de cette cavité pour que le branchement de l'électro stimulateur dans cette électrode se fasse dans l'axe du tunnel de l'IRM et non

perpendiculairement. Cela est nécessaire pour que le système puisse rentrer dans l'antenne volumique d'émission. Une autre cavité (3), plus grosse, est placée en bout de chaîne du système pour y placer le capteur de pression, qui sera en contact avec la pédale. Une zone plate (4) a été dimensionnée pour y placer l'antenne surfacique de réception et un orifice a été prévu pour que le fil puisse passer. Enfin, deux pales (5) sont situées de chaque côté de la patte pour empêcher des mouvements latéraux parasites.

- Pédale:

Comme expliqué plus haut, dans les parties venant se fixer sur le support on trouve la pédale (Figure 3.6). La patte du rat est attachée contre afin de ne pas rompre le contact au cours de l'expérience. La pédale presse contre le capteur de pression quand la patte du rat est stimulée.

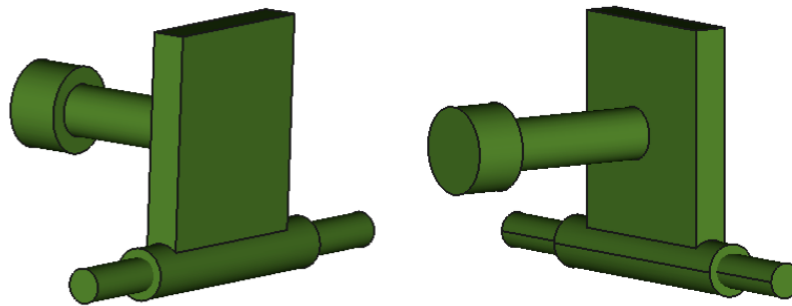


Figure 3.6: *Pédale de fixation de la patte du rat.*

- Antenne surfacique de réception:

Il s'agit d'une antenne provenant de chez RAPID Biomedical (Rimpar, Allemagne), le modèle « 1H miniflex coil » avec un diamètre de 2cm (Figure 3.7).

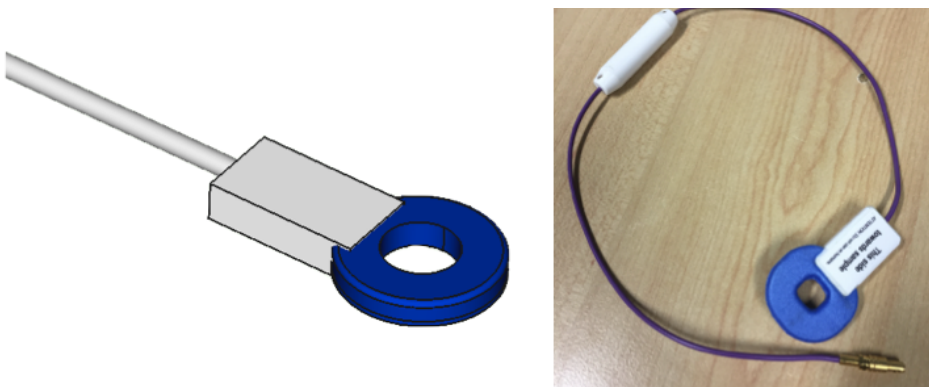


Figure 3.7: *Antenne surfacique de réception du signal.*

- Capteur de pression:

Le capteur de pression est un dôme possédant une membrane souple contre laquelle vient appuyer la pédale (Figure 3.8). Ces dômes sont produits par ADInstruments et la chaîne complète de mesure de pression est détaillée dans la partie suivante. Ils possèdent l'avantage d'être peu onéreux et sont très facilement changeables en cas d'usure. Cependant, les rats n'exercent pas des contraintes mécaniques extrêmes donc les capteurs s'usent très peu, ce qui rend leur utilisation très confortable.

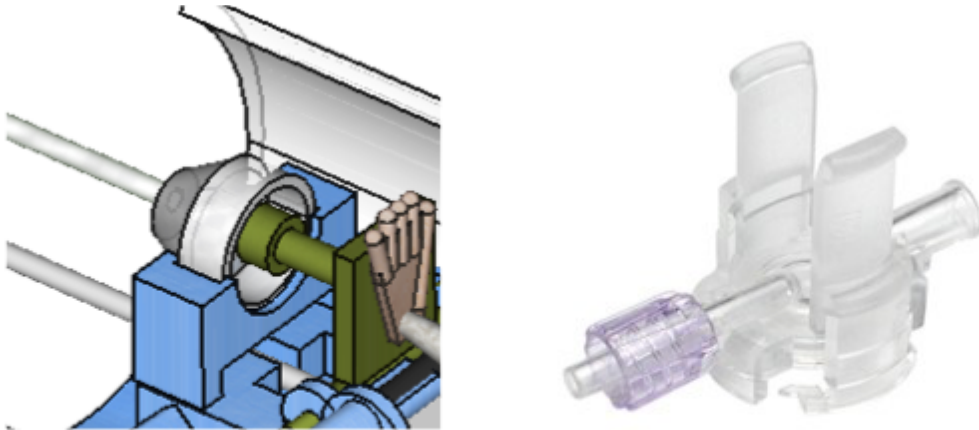


Figure 3.8: *Schéma d'utilisation (à gauche) et photo (à droite) du capteur de pression. La partie face vers le bas sur la photo est la partie contre laquelle la pédale vient appuyer.*

3.3 Mesure de la pression exercée par la patte du rat lors de la stimulation

Lorsque le rat exerce une force sur la pédale, et donc sur la membrane, cela a pour effet de comprimer un circuit d'eau. À l'autre extrémité de ce circuit se trouve un transducteur (MLT0699, ADInstruments) qui convertit cette pression en une tension électrique. Le transducteur est branché à un pré-ampli (BridgeAmp, ADInstruments), qui s'avère être un pont de Wheastone, lui-même branché à un amplificateur (PowerLab, ADInstruments). L'amplificateur est branché à l'ordinateur de l'utilisateur et les données sont acquises grâce au logiciel du constructeur (Lab Chart 7, ADInstruments). Les données sont acquises avec une fréquence d'échantillonnage de 1000Hz, et un filtre passe bas 20Hz est appliqué pour réduire le bruit dans les mesures (Figure 3.9).

3.3. MESURE DE LA PRESSION EXERCÉE PAR LA PATTE DU RAT LORS DE LA STIMULATION

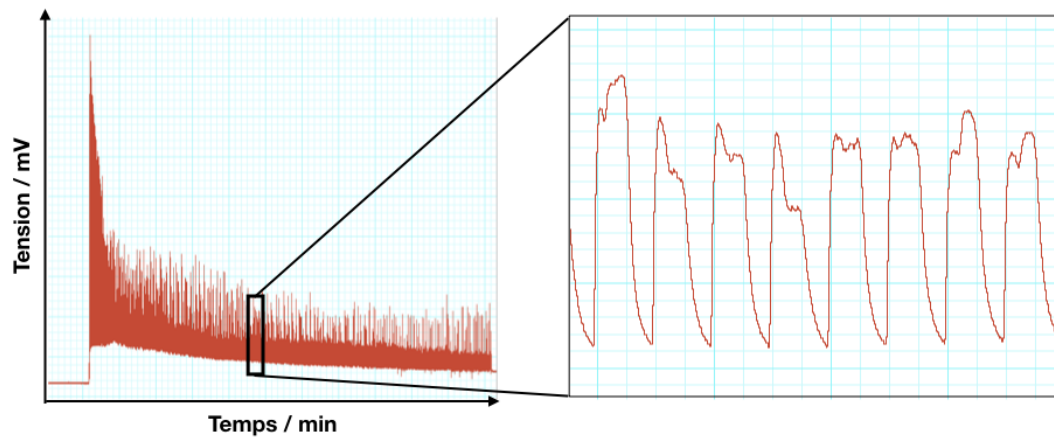


Figure 3.9: *Exemple de mesure de pression exercée par la patte du rat au cours d'une stimulation. La partie du gauche correspond à 13 minutes d'acquisition tandis que le zoom à droite correspond à 9 secondes d'acquisition.*

3.4 Discussion

Il est décrit ici un dispositif d'installation IRM-compatible permettant d'obtenir la contraction du gastrocnémus du rat par électrostimulation. Le premier point fort de ce dispositif est le caractère non-invasif de la méthode de stimulation. La contraction musculaire est produite par l'envoi d'un courant électrique à travers des électrodes de graphite placées au niveau du genou et du talon. La contraction obtenue est de très bonne qualité et très satisfaisante, en comparaison à l'envoi des stimulation directement sur le nerf (processus nécessitant chirurgie) [93, 94]. L'utilisation de processus chirurgicaux réduit considérablement la fréquence d'expérimentation envisageable et ne pourra pas être appliquée à l'homme. C'est pourquoi l'utilisation d'électrodes transcutanées est obligatoire. Dans ce cas là, les rats sont généralement rasés au niveau des zones où les électrodes sont en contact (genou et talon) [89, 95]. La présence de gel conducteur permet de s'affranchir du rasage et donne une contraction musculaire totalement satisfaisante.

Le point fort du développement de ce dispositif est son dimensionnement grâce à un logiciel de conception 3D. Dans la littérature, les dispositifs d'installation sont fabriqués *in situ* grâce à divers matériaux et par conséquent ils sont d'une part difficilement reproductibles à l'identique, et d'autre part difficilement modifiables. Dans le cas de l'utilisation du logiciel, les plans exacts sont accessibles et, sous condition malgré tout de posséder une imprimante 3D, le dispositif peut être imprimé à l'identique. Les plans peuvent facilement être adaptés pour des imageurs de marques diverses (la principale caractéristique à modifier étant la diamètre du cylindre dans lequel le dispositif s'insère). Une perspective intéressante serait un paramétrage des cotes depuis un tableur Excel grâce à des macros en langage Python. Ainsi les cotes pourraient être modifiées directement dans le tableur et le code recompilé modifierait les pièces en conséquence.

Dans le cas du dispositif développé au cours de cette thèse, les mouvements latéraux parasites de la patte du rat sont empêchés par deux armatures dimensionnées et imprimées avec le support de l'antenne surfacique de réception et de la pédale. Dans certaines études ces mouvements sont empêchés directement par l'antenne ^1H en bobine de Helmholtz [96]. L'utilisation de la bobine pour limiter les mouvements permet de gagner de l'espace en vue d'installer l'animal dans l'imageur, cependant cela verrouille le matériel utilisable. Le dispositif présenté ici permet d'utiliser n'importe quelle antenne surfacique d'émission-réception ou de réception seule et de la placer sous le gastrocnémus du rat. L'utilisation d'antennes multi-noyaux pourrait offrir d'intéressantes perspectives d'étude [97].

L'amélioration principale qui peut, et doit, être apportée à ce système concerne le capteur de pression. Le choix tardif du modèle et son incorporation dans le dispositif global ont empêché de réaliser un étalonnage précis et par conséquent il n'a pas été possible de réaliser des mesures quantitatives de force exercée par les animaux. Plusieurs capteurs ont été testés au cours des développements et ils n'ont pu être utilisés qu'à des fins de contrôle de la bonne stimulation du muscle gastrocnémien. Une des principales difficultés pour le choix du capteur de pression est qu'il doit être IRM-compatible [98, 99]. Les objectifs principaux de cette thèse concernent la possibilité d'acquérir des mesures du T_2 ainsi que des spectres du phosphore ^{31}P au cours de la stimulation du gastrocnémus, et en ce sens l'absence de mesures quantitatives de force développée n'empêche pas de les mener à bien. En revanche, cette amélioration apparaît primordiale dans l'objectif

d'étudier en profondeur les processus inhérents à la sarcopénie. Quelques améliorations esthétiques et ergonomiques sont envisageables également. Ce dispositif est voué à être largement partagé, et il sera fatalement utilisé en priorité par des utilisateurs d'imageurs Bruker puisqu'il a été développé sur un imageur de cette marque. Des améliorations ergonomiques en vue de rendre le dispositif assemblable sur les parties mobiles déjà existantes des IRMs Bruker permettraient de faciliter encore plus l'utilisation du dispositif.

3.5 Conclusion du chapitre

Dans cette partie, un dispositif IRM-compatible a été développé. Ce dispositif permet de répondre efficacement aux contraintes posées par le cahier des charges. Il s'insère dans le volume limité par l'antenne volumique d'émission. Le rat peut être installé sur le dos, avec le muscle gastrocnémien placé juste au-dessus de l'antenne surfacique de réception. Les électrodes conductrices sont en contact avec le talon et le genou de la patte qui sera simulée et l'électrostimulateur peut être branché dans ces électrodes. Ainsi, il est possible d'obtenir la stimulation de la patte à l'intérieur de l'imageur, sans provoquer de bruit électrique parasite. Le dispositif permet également l'anesthésie du rat tout au long de l'expérimentation. Enfin, un emplacement est prévu pour insérer un capteur de pression en face de la pédale de fixation et branché à un amplificateur afin de pouvoir enregistrer la force exercée par le rat au cours du protocole.

Chapitre 4

Développement d'une carte électronique de synchronisation des séquences IRM avec l'électrostimulation

4.1 Contexte

DANS cette partie, nous allons étudier le fonctionnement de l'électrostimulateur dans le but de s'en servir pour piloter les acquisitions IRM lors de la stimulation de la patte du rat. Nous verrons le déroulement d'un cycle de stimulation et comment adapter le signal électrique délivré afin qu'il soit exploitable pour la synchronisation des séquences.

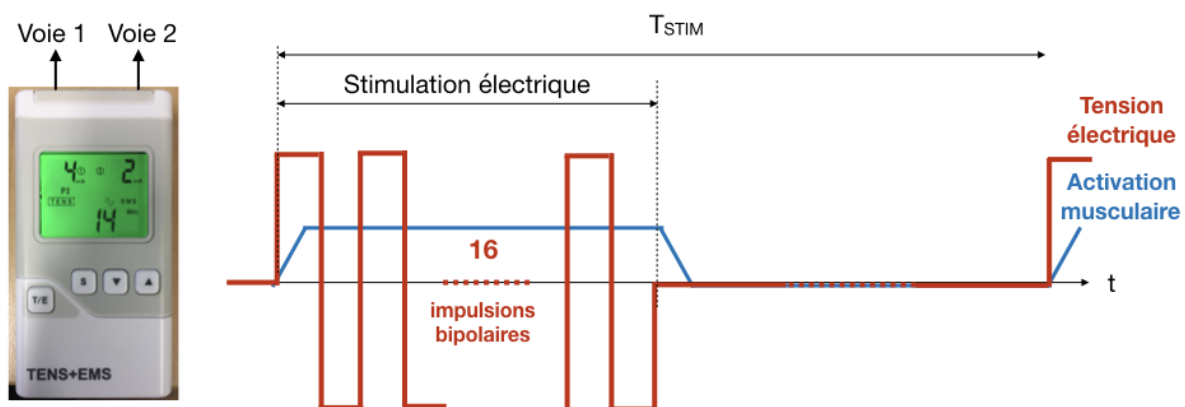


Figure 4.1: *Électro stimuleur et schéma du cycle de stimulation. L'électro stimuleur possède deux voies de sortie dont les programmes de stimulation sont identiques. Un train de 16 impulsions bipolaires est suivi d'un temps de repos avant de recommencer*

4.2 Fonctionnement de l'électrostimulateur

L'électro stimulation est produite par un électro stimulateur (QuiruMed, Grupo Bunzl, London, UK) programmable possédant deux sorties. L'objectif initial était de pouvoir également contrôler le déclenchement des acquisitions IRM grâce à la deuxième sortie de l'électro stimulateur. C'est pourquoi dans un premier temps, l'électro stimulateur a été branché à un oscilloscope afin d'observer le déroulement exact des programmes. Parmi les programmes disponibles, le plus simple a été choisi dans le but de limiter les degrés de liberté de l'étude. Un cycle de stimulation de ce programme, visible sur la Figure 4.1, se décompose de la façon suivante :

- Un train de 16 impulsions bipolaires est envoyé et provoque une contraction du muscle.
- À la fin de ce train d'impulsions le muscle retourne à son état de repos jusqu'au prochain train d'impulsions.

Le programme de stimulation est identique pour les deux sorties de l'électro stimulateur, seule l'intensité de chaque voie peut différer. Ce programme peut être modulé suivant 4 paramètres :

- La durée totale du programme
- L'intensité du courant qui est envoyé dans le muscle. Cette intensité peut aller de 1mA jusqu'à 10mA par pas de 1mA.
- La fréquence des stimulations du muscle. Les valeurs de fréquences disponibles vont de 0.1Hz jusqu'à 1Hz (par pas de 0.1Hz) puis de 2Hz à 5Hz par pas de 1Hz. Ce paramètre modifie donc la valeur de T_{STIM} dans la Figure 4.1.
- La durée de chacune des 16 impulsions bipolaires. Les valeurs utilisables vont de $50\mu s$ à $300\mu s$ par pas de $10\mu s$. Ce paramètre permet donc de rallonger ou raccourcir le temps de contraction du muscle sans toucher à la durée T_{STIM} .

4.3 Synchronisation et signal TTL

Comme dit dans la partie précédente, l'objectif est de contrôler la synchronisation des stimulations et des acquisitions IRM grâce à la deuxième sortie de l'électrostimulateur (Figure 4.2).

Le signal de communication et de synchronisation de l'IRM est un signal Transistor-Transistor-Logic (TTL) et fonctionne comme expliqué sur la Figure 4.3. Lorsque la tension envoyée est supérieure au seuil TTL, qui est de 1,5V, il ne se passe rien. En revanche, tant que la tension envoyée est inférieure au seuil TTL de la machine les acquisitions sont activées.

Le signal modifié souhaité, et obtenu, est visible sur la Figure 4.4. L'objectif est de concentrer les acquisitions dans la partie du cycle de stimulation où le muscle est au repos afin d'éviter les artefacts de mouvements sur les images. Le signal est par défaut à

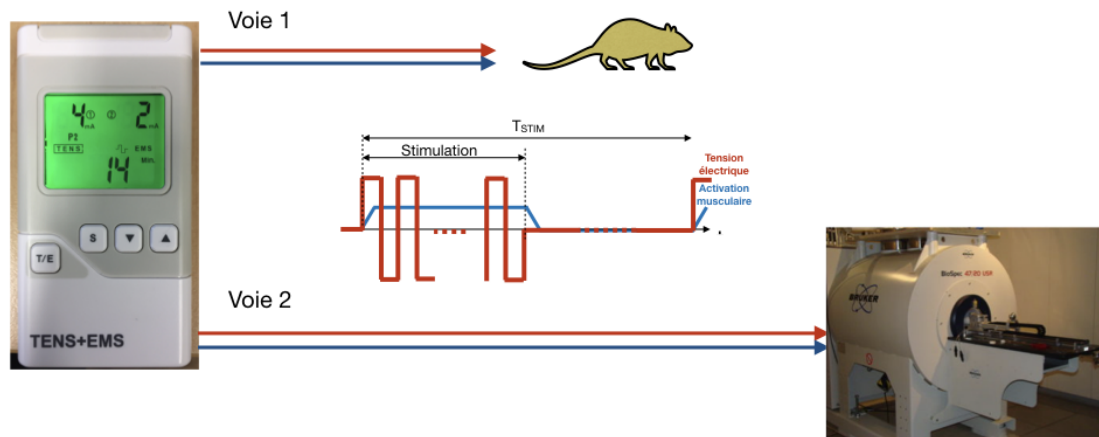


Figure 4.2: Schéma de principe de synchronisation entre l'électrostimulateur et l'imageur. L'électrostimulateur possède deux sorties délivrant des signaux électriques identiques, un servant à stimuler la patte du rat et l'autre servant à déclencher les séquences d'acquisition

une valeur supérieure au seuil TTL de 1,5V. La première impulsion bipolaire déclenche une temporisation d'une durée suffisamment longue pour que le muscle revienne à sa position de repos et court signal TTL d'une tension inférieure au seuil TTL est envoyée afin de déclencher l'acquisition IRM. La durée de l'impulsion TTL peut être modifiée suivant les besoins de l'acquisition. De nouveau après cette impulsion, le signal reprend tension d'une valeur supérieure au seuil TTL en attendant le prochain front montant du train d'impulsions bipolaires suivant.

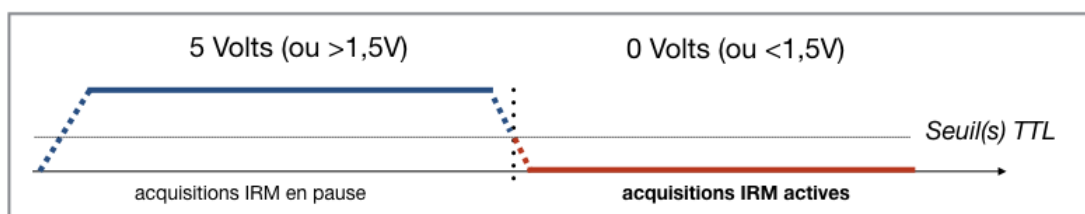


Figure 4.3: Fonctionnement du signal TTL de l'IRM

C'est pourquoi le signal électrique émis tel quel par l'électro stimulateur ne peut être utilisé pour le déclenchement des acquisitions IRM. Les impulsions bipolaires déclenchent des acquisitions durant la partie du cycle de stimulation où le muscle est en mouvement.

Par conséquent, il a été nécessaire de premièrement définir de quelle façon le signal devait être modifié, et également de trouver par quelle solution technologique cette modification allait pouvoir être réalisée.

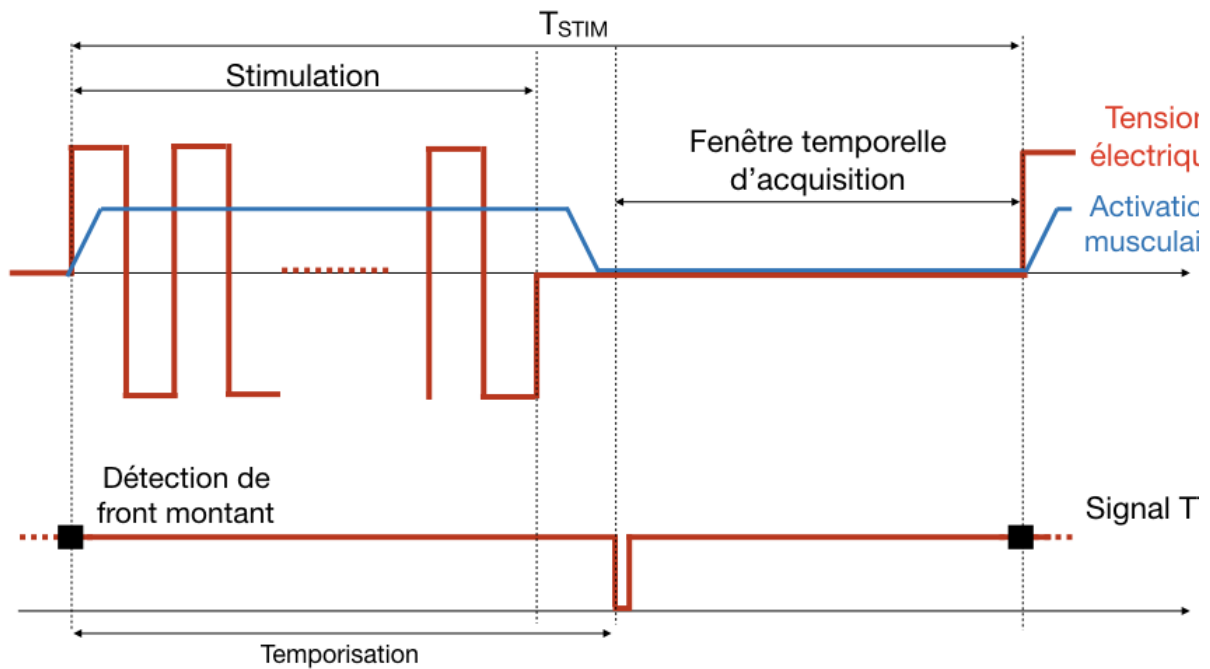


Figure 4.4: Signal électrique délivré par l'électrostimulateur (en haut) et signal TTL souhaité (en bas). L'objectif est d'envoyer un top permettant de déclencher un TR au moment où le muscle entre en phase de repos

4.4 Carte électronique de synchronisation

En conséquence, une carte électronique de synchronisation a été développée. Le schéma électrique est montré sur la Figure 4.5. La partie **a)** du montage permet de protéger le circuit. En effet, la tension d'entrée dépendant de l'intensité envoyée par l'électro stimulateur, il est possible d'envoyer une tension trop forte (positivement ou négativement) et par conséquent délétère pour le circuit, en particulier pour le micro-processeur Arduino. Avec ce montage, la tension positive ne peut dépasser 2 fois $V_F(D3) = 3,9V$ et la tension inverse ne peut descendre sous $V_F(D4) = -0,6V$. La partie **b)** est composée d'un micro-processeur Arduino Uno et d'un circuit logique 74LS07. Le micro-processeur permet de détecter le premier front montant correspondant à la première impulsion bipolaire et le programme implémenté à l'intérieur permet de gérer la suite des événements propres à l'acquisition IRM. Le programme est visible en Annexe **A.1)**. L'utilisateur peut modifier la valeur de la durée de temporisation ainsi que la durée de l'impulsion envoyée par l'Arduino Uno. Cependant, la tension de sortie d'un micro-processeur Arduino Uno n'est pas une tension TTL mais une tension Complementary Metal-Oxide-Semiconductor (CMOS). C'est pourquoi un circuit logique 74LS07 a été rajouté. Ce circuit logique permet de transformer un signal CMOS en une tension TTL. En conclusion, grâce à cette carte électronique il est possible de modifier les signaux en sortie de l'électro stimulateur afin de synchroniser les acquisitions IRM avec la partie des cycles de stimulation où le muscle est au repos et donc minimiser les artefacts de mouvement.

4.4. CARTE ÉLECTRONIQUE DE SYNCHRONISATION

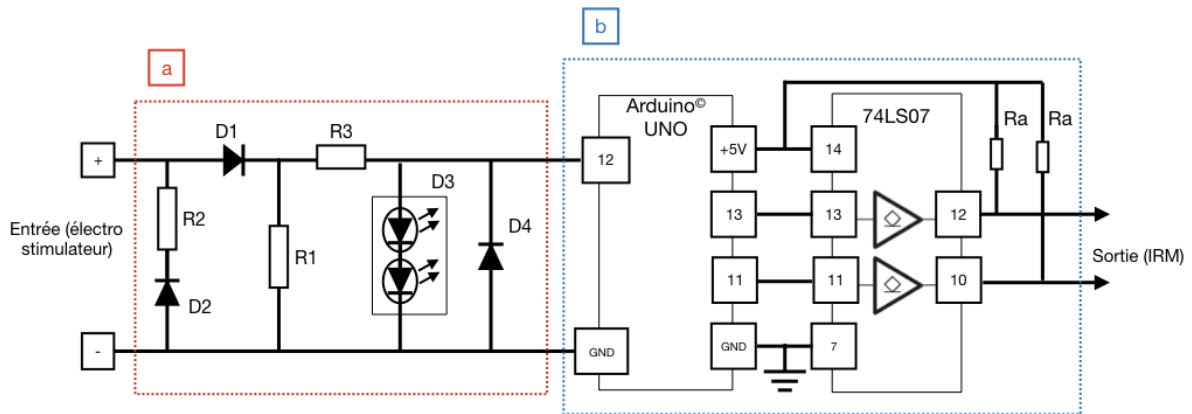


Figure 4.5: Schéma électrique de la carte de synchronisation. La partie a) permet de protéger le circuit des tensions trop fortes (positivement ou négativement). La partie b) composée d'un microprocesseur Arduino Uno et d'un circuit logique 74LS07 permet de modifier le signal électrique de l'électrostimulateur pour le transformer en signal souhaité.

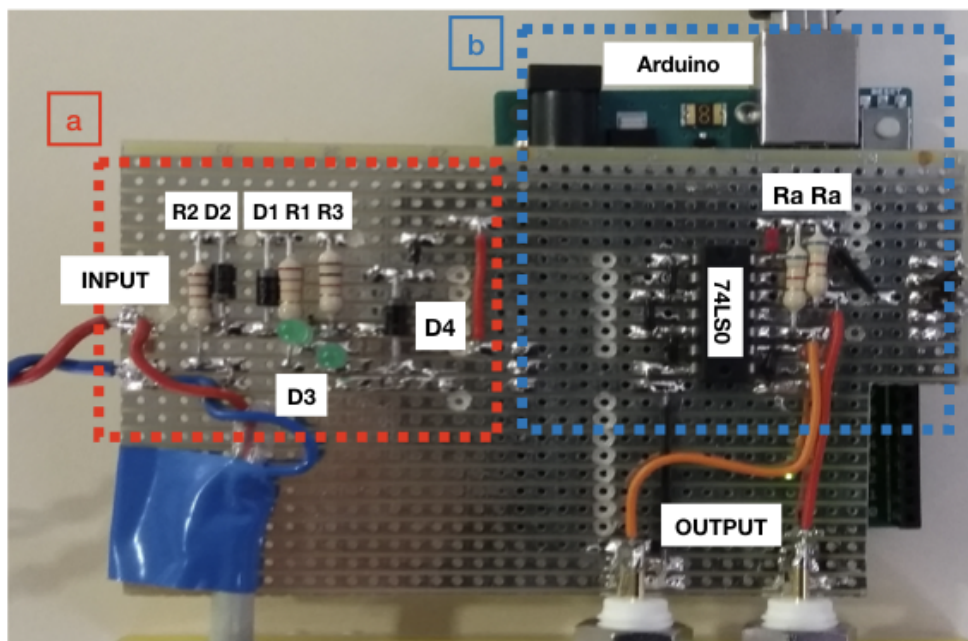


Figure 4.6: Photo de la carte de synchronisation développée

4.5 Conclusion du chapitre

Dans cette partie, nous avons examiné le fonctionnement de l'électrostimulateur, ainsi que sa compatibilité avec le système de synchronisation des séquences de l'imageur. Il est apparu qu'il n'était pas possible de synchroniser les séquences IRM avec les phases de repos des cycles de stimulation directement à partir du signal dérivé par l'électrostimulateur. Pour pallier ce problème, une carte électronique a été développée, servant d'intermédiaire avec la machine. La prochaine étape est maintenant de choisir et développer les séquences IRM appropriées pour l'exploration multi-paramétrique du muscle.

Chapitre 5

IRM multi-paramétrique du gastrocnémus du rat jeune et âgé à 4,7 et 7T, au repos et stimulé

5.1 Contexte de l'étude

EN IRM, les temps de relaxation longitudinaux et transversaux, respectivement T_1 et T_2 , se sont avérés être des biomarqueurs efficaces, en particulier dans les études musculaires [100]. Les maladies musculaires dégénératives, telles que l'inflammation, l'œdème, l'infiltration graisseuse ou même la fibrose, sont responsables de modifications conséquentes de la composition musculaire qui peuvent être évaluées grâce à ces biomarqueurs. Les zones touchées peuvent être identifiées à l'aide d'images pondérées en T_1 ou en T_2 , mais des mesures quantitatives sont également accessibles en utilisant la cartographie T_1 et T_2 des muscles. Il a été montré que T_1 s'allonge dans les régions où le muscle est enflammé, mais se raccourcit dans les muscles infiltrés de graisse [101]. T_2 s'allonge dans les régions enflammées et infiltrées de graisse [58]. Elle augmente également avec le vieillissement en raison de la réduction de la taille et du nombre de fibres musculaires [102] et de l'augmentation de l'espace extra-cellulaire [72].

De plus, la spectroscopie par résonance magnétique (MRS) du phosphore ^{31}P a été utilisée pour caractériser les échanges énergétiques dans le muscle [90]. Les modifications du métabolisme liées à l'effort musculaire et à la récupération peuvent être évaluées in vivo par quantification de la phosphocréatine (PCr) et du phosphate (Pi) chez l'homme [68, 103] et chez le petit animal [86, 89].

C'est pourquoi ces biomarqueurs semblent très prometteurs dans la perspective de l'évaluation de la sarcopénie mais la composition musculaire est complexe et, par conséquent, une IRM multi-paramétrique doit être réalisée. De plus, la sarcopénie n'est pas seulement la perte de masse musculaire, mais c'est aussi une altération de la fonction et de la force musculaire [3], ce qui implique que les mesures liées à l'effort doivent être effectuées en complément des informations sur l'état de repos.

Nous visons à présenter le développement de nouvelles techniques d'acquisition in vivo utilisant un modèle de rat afin d'obtenir rapidement des mesures quantitatives T_1 et T_2 , ainsi que la spectroscopie du phosphore ^{31}P , sur le muscle gastrocnémien au repos et stimulé. La configuration complète a ensuite été appliquée sur des modèles de rats

jeunes et plus âgés pour comparer les résultats de quantification, en utilisant différents paradigmes de stimulation.

5.2 Optimisation et synchronisation d'une séquence Look-Locker 2D à encodage spiralé pour la mesure du T_1

L'objectif est de remplir N espaces- k le long de la relaxation T_1 avec des spirales. La séquence commence avec l'envoi d'un premier signal TTL par la carte de synchronisation. Ce signal déclenche une temporisation calculée au préalable en fonction de la fréquence de stimulation afin d'attendre que le muscle revienne au repos. À la fin de cette temporisation, une impulsion d'inversion suivi par l'encodage d'un certain nombre de spirales dans le premier espace de Fourier. Ensuite, le prochain signal TTL envoyé par la carte de synchronisation déclenche l'acquisition du même nombre de spirales dans le deuxième espace de Fourier. Ce processus est répété pour les $N-2$ espaces- k restants. Enfin, quand le dernier train de spirales est encodé dans le N ème espace- k , la relaxation complète de l'aimantation est attendue. Cet enchaînement d'évènements correspond à une répétition de la séquence, et il est répété jusqu'à ce que le nombre souhaité de spirales soit encodé dans les espaces de Fourier.

La Figure 5.1 illustre un exemple de cette séquence ou les spirales sont acquises une par une.

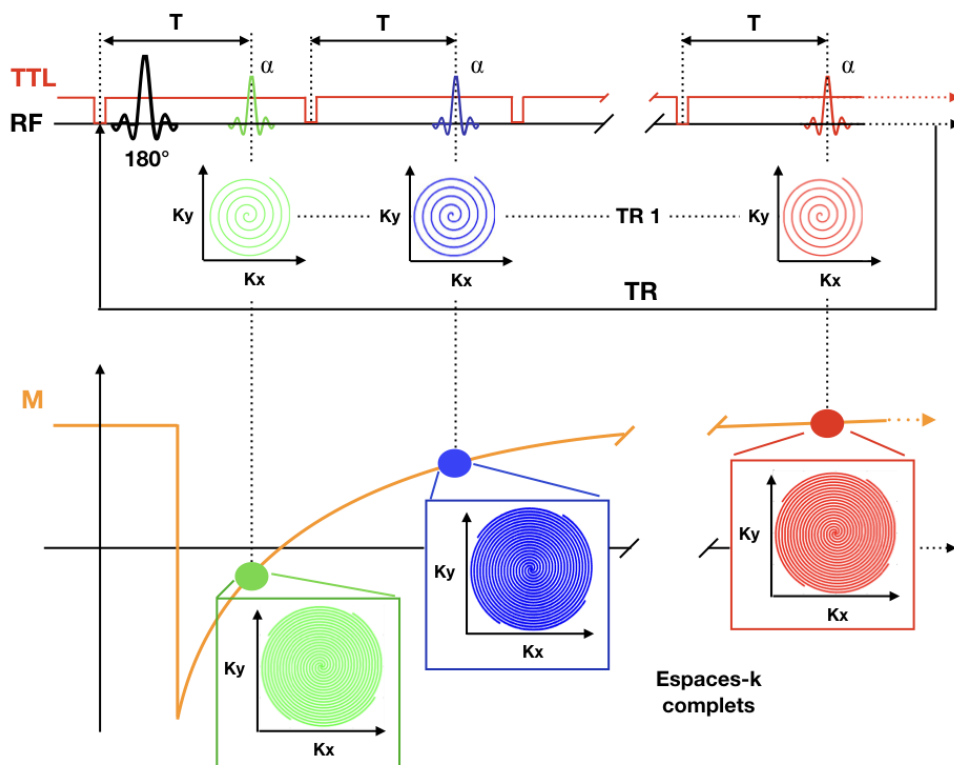


Figure 5.1: Chronogramme de la séquence Look-Locker 2D à encodage spiralé, synchronisée avec l'électrostimulation.

Le temps total d'acquisition pour une coupe 2D est calculé de la manière suivante :

$$T_{acq} = \frac{N_{SK}}{N_{STR}} TR \quad (5.1)$$

avec N_{SK} le nombre total de spirales contenues dans un espace-k complet, N_{STR} le nombre de spirales acquises dans chaque espace-k lors d'une répétition et TR le temps de répétition.

Il apparaît donc logiquement qu'acquérir plus de spirales lors d'un même TR réduit le temps total d'acquisition. Cependant cela pose deux problèmes :

- Premièrement il faut que toutes les spirales soient acquises durant la fenêtre temporelle d'acquisition afin que les images ne possèdent pas d'artefacts de mouvement dû à la contraction du muscle.
- Deuxièmement, plus le nombre de spirales acquises à la suite augmente, plus l'aimantation longitudinale est altérée et par conséquent la mesure du T_1 le sera également.

Une fois les images acquises, les cartes T_1 ont été obtenues par lissage de courbe dans chaque pixel. Dans un premier temps, un masque a été calculé de manière à ne procéder que des pixels dans la zone du muscle gastrocnémien. La courbe de signal T_1 a été lissée en utilisant les deux équations ci-dessous [104] :

Si est l'amplitude du signal du pixel considéré dans la i -ème image, l'amplitude du signal juste avant l'impulsion d'inversion suivante, l'angle de basculement, T_{STIM} le période d'une stimulation, n le nombre de projections acquises pendant chaque période de stimulation et T_1 le temps de relaxation longitudinale. La procédure d'ajustement a été développée et mise en œuvre dans MATLAB (MathWorks, Natick, MA, USA).

$$S_i = S_\infty - (1 + S_\infty) \left[\cos^n(\alpha) e^{-\frac{T_{STIM}}{T_1}} \right] \quad (5.2)$$

avec

$$S_\infty = \frac{1 - e^{-\frac{T_{STIM}}{T_1}}}{1 - \cos^n(\alpha) e^{-\frac{T_{STIM}}{T_1}}} \quad (5.3)$$

avec S_i la valeur de l'intensité du signal dans la i -ème image, S_∞ la valeur du signal juste avant l'inversion et n le nombre de spirales lues par TR .

Les cartes T_1 ont été obtenues en utilisant les paramètres d'acquisition suivants: TR/TE , 6,5/1,2ms; temps de relaxation, 7s ; impulsion d'inversion, Gauss 1ms; impulsion d'excitation, Hermite 1ms; FOV 25x25mm²; matrice 128x128; 20 T_i ; épaisseur de coupe, 1,2mm; T_{STIM} =333ms. Les coupes ont été placées en utilisant un localizer au niveau où le gastrocnémus est le plus large. Les paramètres concernant le nombre de projections acquises ont été déterminés dans la partie Résultats.

En conclusion, le choix des paramètres optimaux consiste en un compromis entre la qualité des images obtenues, la précision du T_1 mesuré en comparaison avec la méthode inversion-récupération de référence, et le temps total d'acquisition.

5.3 Développement d'une séquence Look-Locker 2D à encodage radial synchronisé pour la mesure du T_1

Le fonctionnement de cette nouvelle séquence est très semblable à la précédente. Le but est également de remplir N espaces de Fourier, mais avec des diamètres et non plus avec des spirales. En effet, les acquisitions radiales sont également robustes au mouvements, mais moins sensibles au artefacts du susceptibilité. Une première stimulation déclenche l'envoi d'un signal TTL par la carte de synchronisation. Ceci permet le déclenchement d'une impulsion d'inversion suivi par l'acquisition d'un certain nombre de diamètres dans le premier espace de Fourier. Les N-1 espaces de Fourier suivants sont remplis avec des diamètres de la même manière qu'ils l'étaient avec des spirales dans la séquence précédente puis la relaxation complète de l'aimantation est attendue. Ce processus est répété jusqu'à que le nombre souhaité de diamètres, ou projections, soient encodées dans les différents espaces-k. La valeur du T_1 est obtenu par lissage de courbe en utilisant également les équations 5.2 et 5.3. Seulement cette fois n correspond au nombre de diamètres lus par TR.

Les cartes T_1 ont été obtenues en utilisant les paramètres d'acquisition suivants: TR/TE, 6,5/1,2ms; temps de relaxation, 7s ; angle de bascule, 7° ; impulsion d'inversion, Gauss 1ms; impulsion d'excitation, Hermite 1ms; FOV 25x25mm²; matrice 128x128; 20 T_i ; épaisseur de coupe, 1,2mm; $T_{STIM}=333$ ms. Les coupes ont été placées en utilisant un localizer au niveau où le gastrocnémus est le plus large. Les paramètres concernant le nombre de projections acquises ont été déterminés dans la partie Résultats.

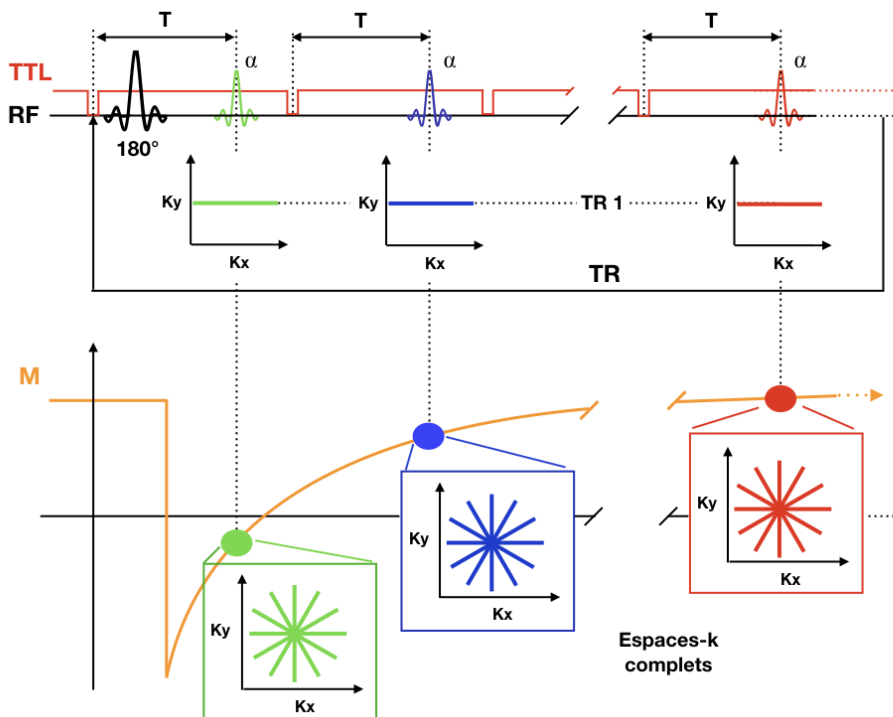


Figure 5.2: Chronogramme de la séquence Look-Locker 2D à encodage radial, synchronisée avec l'électrostimulateur.

5.4 Optimisation et synchronisation d'une séquence MSME pour la mesure du T_2

Comme pour les mesures T_1 , le début d'un cycle de contraction déclenche une temporisation dans la carte de synchronisation, dont la durée est calculée en fonction de la longueur des impulsions carrées bipolaires, pour attendre que le muscle revienne à sa position de repos. À la fin de cette pause, la carte envoie un signal TTL qui déclenche un train d'échos qui doit se terminer avant le prochain cycle de contraction (Figure 5.3).

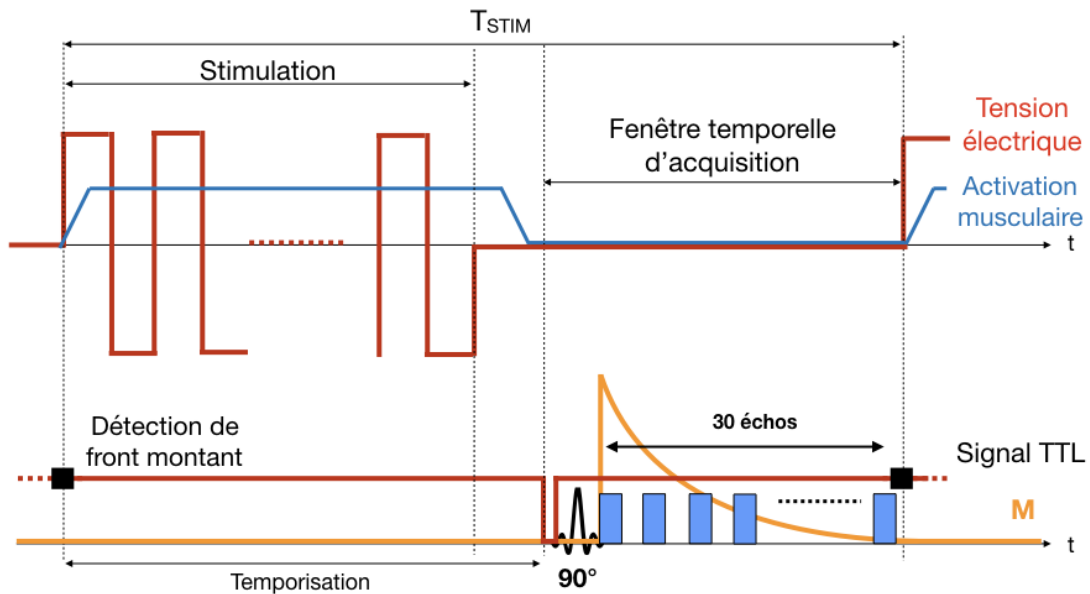


Figure 5.3: *Principe de synchronisation de la séquence MSME avec l'électrostimateur.*

Afin d'avoir une durée de repos suffisamment longue pour acquérir la décroissance T_2 , il a été décidé de stimuler le muscle à une fréquence de 2 Hz ou moins. Un ensemble de paradigmes de stimulation a été étudié pour évaluer les changements de T_2 dans le muscle gastrocnémien.

- Pour évaluer l'influence de l'intensité de la contraction, la fréquence de stimulation a été fixée à 1Hz et la longueur des impulsions bipolaires a été fixée à 100us. Ensuite, des images ont été acquises sur le même rat de la manière suivante : 3 cartes avec stimulation 2mA, 3 cartes avec stimulation 6mA, 3 cartes avec stimulation 10mA, chaque stimulation entrelacée avec 3 cartes au repos. Ce protocole complet a duré 1h25min
- Pour évaluer l'influence de la fréquence, l'intensité des impulsions a été réglée à 6mA et la longueur des impulsions bipolaires à 100 us. Ensuite, les images ont été acquises de la manière suivante : 3 cartes avec stimulation 0,5Hz, 3 cartes avec stimulation 1Hz, 3 cartes avec stimulation 2Hz, chaque stimulation entrelacée avec 3 cartes au repos. Ce protocole complet a duré 1h25min.

- Pour évaluer l'influence de la longueur des impulsions bipolaires, la fréquence de contraction a été réglée à 1Hz et l'intensité à 6mA. Ensuite, les images ont été acquises de la manière suivante : 3 cartes avec stimulation par impulsions $50\mu\text{s}$, 3 cartes avec stimulation par impulsions $100\mu\text{s}$, 3 cartes avec stimulation $200\mu\text{s}$, chaque simulation entrelacée avec 3 cartes au repos. Le protocole complet a duré 1h25min.

Les cartes T_2 ont été obtenues en utilisant les paramètres d'acquisition suivants: TR/TE, 3500/3,5ms; impulsion d'inversion, Hermite 1,5ms; impulsion de refocus, Hermite 1ms; FOV $25\times 20\text{mm}^2$; matrice 96×64 ; 30 échos; 6 coupes axiales au repos; 1 coupe axiale en stimulation; épaisseur de coupe, 1mm; temps total d'acquisition, 3min44s. Les coupes ont été placées en utilisant un localizer au niveau où le gastrocnémus est le plus large.

5.5 Optimisation et synchronisation d'acquisition de spectres par spectroscopie ^{31}P

Afin de contrôler l'effort métabolique au niveau du muscle et les corrélérer aux mesures de T_2 , des mesures de spectroscopie ^{31}P ont été réalisées en suivant les mêmes paradigmes de stimulation. Que ce soit au repos ou pendant la stimulation, les signaux de précessions libres ont été acquis avec les paramètres suivants : impulsion rectangulaire $100\mu\text{s}$; angle de bascule, 90° ; temps de relaxation, 2800ms ; taille du voxel, $20\times 20\times 20\text{mm}^3$ (placé pour contenir tout le gastrocnémus du rat) largeur spectrale, 3,3kHz ; points, 1024 ; accumulations, 80 ; temps d'acquisition total, 3min44s.

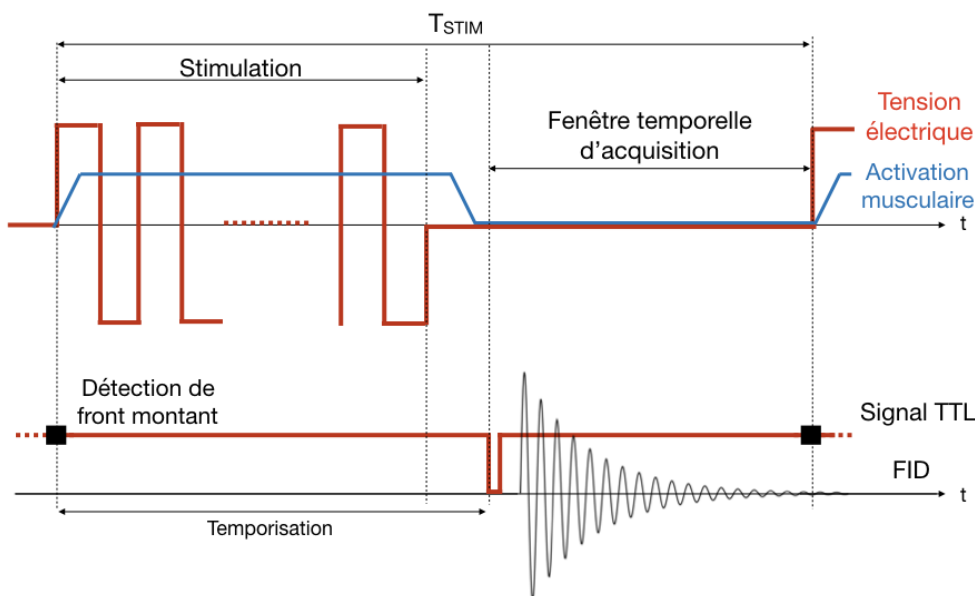


Figure 5.4: *Principe de synchronisation de la ^{31}P MRS avec l'électrostimulation.*

L'acquisition des spectres a été réalisée sur un imageur Bruker BioSpec 7T pour

des raisons matérielles. La spectroscopie a été synchronisée aux stimulations selon un principe similaire que pour les mesures de T_2 (Figure 5.4). La première stimulation détectée déclenche une temporisation dont la durée a été préalablement calculée en fonction de la fréquence des stimulations. À la fin de cette temporisation, un signal TTL de niveau bas est envoyé à l'IRM afin de lancer un temps de répétition. Ceci permet qu'une partie importante du signal de précession libre soit mesuré lorsque le muscle n'est pas en mouvement.

La transformée de Fourier a été appliquée sur les spectres, puis ils ont été déconvolués en courbes de Lorentz grâce au logiciel Igor Pro (Igor Pro 8, WaveMetrics, Lake Oswego, OR, USA). Le PCr, Pi et les différentes aires des images d'ATP ont été calculés et convertis en concentrations en utilisant $[ATP] = 8,2\text{mM}$. Le pH intracellulaire a été mesuré en utilisant la merde chimique de Pi par rapport à PCr.

5.6 Méthodes d'analyse des données

Après le calcul des cartes T_1 et T_2 , les régions d'intérêt (ROI) ont été placées manuellement au centre du muscle gastrocnémien, dont l'emplacement a été déterminé à partir d'une image anatomique. Cette dernière image était respectivement le premier écho lors de la cartographie T_1 ou le deuxième écho pour la cartographie T_2 . L'écart-type de chaque ROI a été mesuré pour estimer la variabilité intra-individuelle. De plus, pour chaque paradigme de stimulation, l'écart-type entre chaque animal a été calculé pour évaluer également la variabilité interindividuelle.

L'indépendance des distributions des valeurs de T_1 et T_2 , ainsi que [PCr], [Pi] et pH, dans chaque groupe au repos ou stimulé a été évaluée par un test ANOVA-1. Les différences entre les modèles de rats jeunes et vieux ont été comparées avec la même méthode. De plus, les corrélations entre T_2 , [PCr] et [Pi] ont été étudiées par calcul de covariance en utilisant les valeurs moyennes pour chaque paradigme et la variabilité interindividuelle.

5.7 Résultats

5.7.1 Mesures de T_1 avec la séquence Look-Locker 2D à encodage spiralé

5.7.1.1 Monocoupe 2D

Il a été nécessaire de valider la séquence dans un premier temps. Pour cela elle a été testée sur un fantôme composé de 4 tubes contenant différentes concentrations de gadolinium. Les résultats obtenus sont montrés sur le Tableau 5.1.

Tableau 5.1: Table récapitulative des mesures de T_1 avec la séquence Look-Locker à encodage spiralé monocoupe 2D

1 int/stim								
	16 int		32 int		64 int		IR	
[Gd]/mM	T_1 /ms	R2	T_1	R2	T_1	R2	T_1	R2
50	1792±69	0,99	1850±50	1,0	1861±58	0,99	1623±55	1,0
75	1590±31	1,0	1603±35	1,0	1645±28	1,0	1426±33	1,0
100	1356±25	1,0	1364±35	1,0	1394±18	1,0	1230±36	1,0
125	1174±33	0,99	1174±23	1,0	1213±24	1,0	1064±53	1,0
Err moy	11,1%		12,4%		15,0%			
Tacq	1'12'		2'24''		4'48''		8h	
2 int/stim								
[Gd]	T_1	R2	T_1	R2	T_1	R2	T_1	R2
50	1834±80	0,99	1860±51	0,99	1894±11	0,99	1623±55	1,0
75	1639±70	1,0	1648±50	1,0	1685±42	1,0	1426±33	1,0
100	1378±30	1,0	1383±28	1,0	1406±31	1,0	1230±36	1,0
125	1188±38	0,99	1186±35	0,99	1224±31	1,0	1064±53	1,0
Err moy	13,8%		14,5%		17,1%			
Tacq	36''		1'12''		2'24''		8h	

Les paramètres qui ont été testés sont le nombre de spirales dans un espace de Fourier complet ainsi que le nombre de spirales acquises durant chaque stimulation. Les paramètres fixes d'acquisition ont été les suivants : temps de relaxation, 7s ; TR/TE, 6,5/1,2ms ; impulsion d'inversion, Gauss, 1ms ; impulsion d'excitation, Hermite 1ms ; matrice, 128x128 ; FOV, 30x30mm² ; épaisseur de coupe, 1,2mm. Le tableau du haut

présente les résultats obtenus en encodant les spirales une par une. Les valeurs sont comparées à celles obtenues par la méthode d'inversion-récupération. Des espaces de Fourier contenant 16, 32 et 64 spirales au total ont été considérées. Le tableau du bas quant à lui montre les résultats obtenus en encodant les spirales deux par deux. Les erreurs moyennes vont de 11,1% à 17,1% et les temps d'acquisition vont de 36s jusqu'à 4min48s. Dans tous les cas, le lissage de courbe a été possible avec un R2 valant en moyenne 0.997 ± 0.001 .

5.7.1.2 Multicoupe 2D

Ensuite, la séquence a été testée en multi-coupe. Les paramètres de séquences sont restés les mêmes mais 5 coupes ont été imagées et les T_1 ont été mesurés sur la coupe centrale. Le Tableau 5.2 résume les résultats obtenus en considérant des espaces de Fourier contenant 16, 32 et 64 spirales remplis respectivement avec 2 et 4 spirales par TR.

Tableau 5.2: Table récapitulative des mesures de T_1 avec la séquence Look-Locker à encodage spiralé multicoupe 2D

2 int/stim								
	16 int		32 int		64 int		IR	
[Gd]/mM	T_1 /ms	R2	T_1	R2	T_1	R2	T_1	R2
50	1575±102	0,98	1587±47	1,0	1612±35	1,0	1623±55	1,0
75	1428±27	1,0	1434±22	1,0	1427±20	1,0	1426±33	1,0
100	1193±20	1,0	1190±32	1,0	1188±16	1,0	1230±36	1,0
125	1047±25	1,0	1050±22	1,0	1045±22	1,0	1064±53	1,0
Err moy	2,0%		2,1%		1,5%			
Tacq	4'40"		9'20"		18'40"		8h	
4 int/stim								
[Gd]	T_1	R2	T_1	R2	T_1	R2	T_1	R2
50	1713±121	0,98	1723±45	0,99	1726±55	0,99	1623±55	1,0
75	1507±52	1,0	1510±40	1,0	1523±43	1,0	1426±33	1,0
100	1221±25	1,0	1210±23	1,0	1198±18	1,0	1230±36	1,0
125	1058±41	0,99	1170±32	1,0	1058±23	1,0	1064±53	1,0
Err moy	4,2%		4,5%		4,9%			
Tacq	2'20		4'40"		9'20"		8h	

Le tableau du haut montre les résultats obtenus en encodant les spirales 2 par 2, tandis

que le tableau du bas expose les résultats obtenus en encodant les spirales 4 par 4. Les temps d'acquisition vont de 18min40s pour le plus long, à 2min20s pour le plus court. Les erreurs moyennes vont quant à elles de 4,9% à 1,5%

5.7.2 Mesures de T_1 avec la séquence Look-Locker 2D à encodage radial

5.7.2.1 Tests *in vitro*

Tout d'abord, l'évaluation du nombre optimal de projections qui devraient être acquises dans chaque espace de Fourier et pendant chaque temps de répétition LL (TR) a été réalisée. Le Tableau 5.3 montre les valeurs T_1 mesurées dans les deux configurations qui ont donné les meilleurs résultats compte tenu du pourcentage d'erreur avec la séquence d'inversion-récupération (IR). Toutes les configurations ont donné des erreurs inférieures à $5,2 \pm 1,4\%$ par rapport à l'IR. Le cas le plus défavorable a donné un R^2 de $0,986 \pm 0,02$. Les deux configurations sont 128 projections par k-espace avec 8 projections acquises par TR et 256 projections par k-espace avec 8 projections acquises chaque TR. Les deux configurations ont donné respectivement une erreur de $3,8 \pm 1,3\%$ et $3,9 \pm 1,4\%$ par rapport à l'IR. Le R^2 moyen était respectivement de $0,990 \pm 0,01$ et $0,988 \pm 0,02$. Ces deux configurations ont permis de mesurer des valeurs T_1 similaires mais la seconde prend deux fois plus de temps. Ainsi, les expériences *in vivo* ont été réalisées en utilisant 128 projections par espace k complet et 8 projections ont été acquises dans chaque espace k par TR.

Tableau 5.3: Table récapitulative des mesures de T_1 avec la séquence Look-Locker à encodage radial

[Gd]/mM	128-8		256-8		IR	
	T_1 /ms	R^2	T_1	R^2	T_1	R^2
75	1368 ± 33	0,99	1371 ± 31	0,99	1433 ± 2	1,0
100	1162 ± 4	0,99	1166 ± 7	0,99	1184 ± 9	1,0
135	940 ± 13	0,99	940 ± 11	0,99	982 ± 4	1,0
215	772 ± 12	0,99	772 ± 13	0,99	810 ± 9	1,0
Err moy	3,8%		3,9%			
Tacq	1'54"		3'48"		8h	

5.7.2.2 Imagerie *in vivo* sur des rats jeunes

Des images *in vivo* du muscle gastrocnémien ont ensuite été obtenues avec la configuration précédemment choisie et des cartes T_1 ont été calculées. Que ce soit au repos ou pendant la stimulation, les paramètres suivants ont été utilisés: TR/TE, 6,5/1,2ms ;

temps de relaxation, 7s ; angle de bascule, 7° ; impulsion d'inversion, Gauss 1ms ; impulsion d'excitation, Hermite 1ms ; FOV $25 \times 25 \text{mm}^2$; matrice 128×128 ; 20 Ti ; épaisseur de coupe, 1,2mm ; $T_{STIM}=333\text{ms}$; 128 projections par espace-k ; 8 projections acquises par TR ; temps d'acquisition 1min52s.

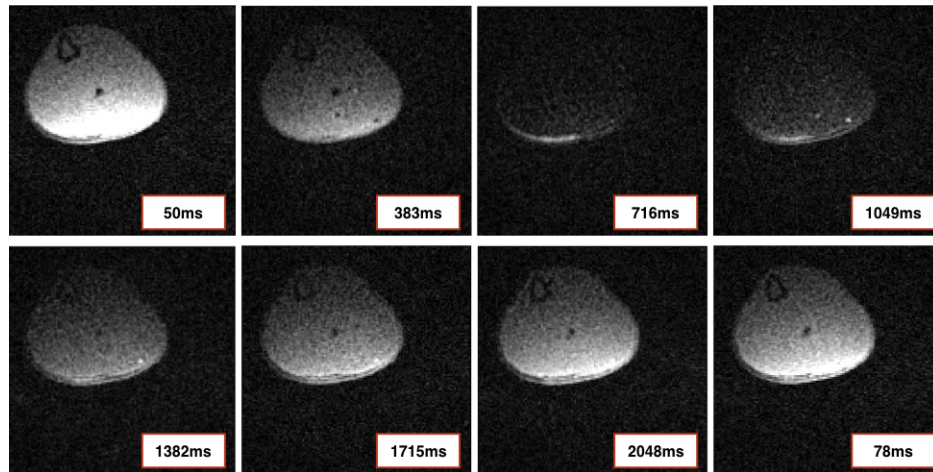


Figure 5.5: *Images acquises durant une la stimulation du muscle gastrocnémien à différents temps d'inversion. Le muscle était stimulé avec les paramètres suivants: fréquence 3Hz ; intensité, 6mA ; taille des pulses, 100 μ s).*

La Figure 5.6 montre les cartes T_1 et R^2 qui ont été calculées sur les données acquises au repos et pendant la stimulation. Les cartes T_1 calculées avec des images obtenues pendant la stimulation musculaire ne présentent aucun signe d'artefacts de mouvement ou de flou. Le T_1 moyen et l'écart type pour chaque région d'intérêt mesurés au repos et pendant la stimulation étaient respectivement de $1457 \pm 105\text{ms}$ et $1456 \pm 116\text{ms}$ pour les quatre jeunes rats. De plus, la valeur R^2 au repos était de $0,97 \pm 0,02$ et elle n'a pas chuté de manière significative pendant la stimulation où R^2 était de $0,96 \pm 0,02$. La variabilité interindividuelle moyenne était de 25ms au repos et de 43ms pendant la stimulation. Les distributions T_1 au repos et pendant la stimulation n'ont montré aucune différence statistique significative ($p > 0,05$).

5.7.2.3 Imagerie *in vivo* sur des rats âgés

Chez les rats plus âgés ($N = 4$), le T_1 mesuré dans la région d'intérêt au repos et pendant la stimulation était respectivement de $1518 \pm 75\text{ms}$ et $1500 \pm 107\text{ms}$. Les distributions T_1 au repos et pendant la stimulation n'ont montré aucune différence statistique significative ($p > 0,05$). De plus, aucune différence statistique significative n'a été estimée entre les rats jeunes et plus âgés au repos, ou entre les rats jeunes et plus âgés pendant la stimulation ($p > 0,05$ pour chaque cas).

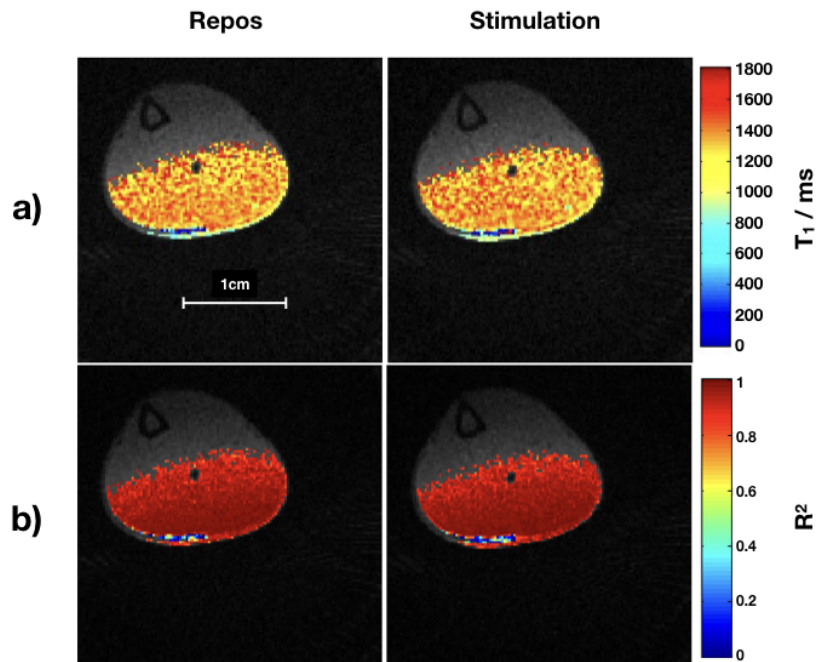


Figure 5.6: Cartes T_1 a) et R^2 b) acquises sur le muscle gastrocnémien du rat. Les cartes de la colonne de gauche ont été obtenues au repos tandis que les cartes de droite ont été obtenues pendant la stimulation avec les paramètres suivants : fréquence 3Hz, intensité 6mA et 100 μ s pour la longueur des impulsions.

5.7.3 Mesures de T_2 sur des rats jeunes

La nouvelle carte d'acquisition et de synchronisation a permis d'exécuter et d'imager les trois paradigmes de stimulation qui ont été définis. Des images acquises au cours de la stimulation sont visibles sur la Figure 5.7.

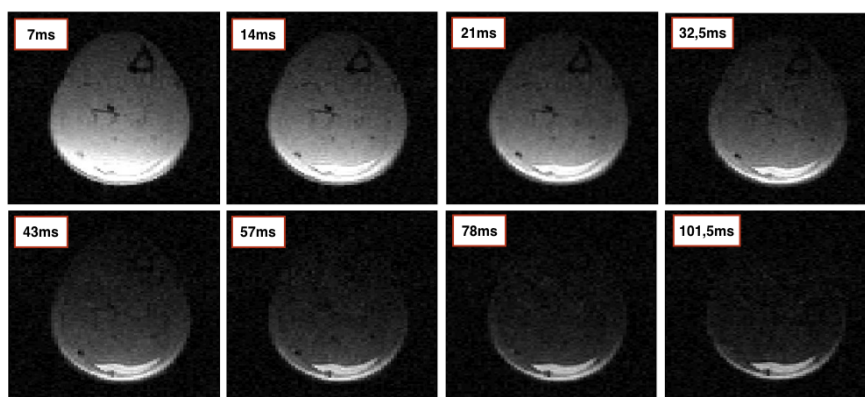


Figure 5.7: Images acquises durant la stimulation du muscle gastrocnémien à différents temps d'écho. Le muscle était stimulé avec les paramètres suivants: fréquence 1Hz ; intensité, 6mA ; taille des pulses, 100 μ s.

De plus, la Figure 5.9 montre des exemples de cartes T_2 et R^2 qui ont été obtenus

sur de jeunes rats au repos et pendant la stimulation avec les paramètres suivants : fréquence 1Hz, intensité 6 mA et longueur des impulsions $100\mu\text{s}$. Dans cet exemple particulier, T_2 s'est allongé de $27,6 \pm 3,8\text{ms}$ à $33,3 \pm 2,9\text{ms}$ lorsqu'il est stimulé. Les valeurs R^2 correspondantes étaient de $0,929 \pm 0,063\text{ms}$ et de $0,956 \pm 0,046$. Quant à la cartographie T_1 , il n'y avait aucun signe d'artefact de mouvement ou de flou sur l'image qui a été acquise pendant la stimulation. Toutes les cartes T_2 qui ont été calculées avaient un R^2 allant de $0,887 \pm 0,06$ à $0,990 \pm 0,04$.

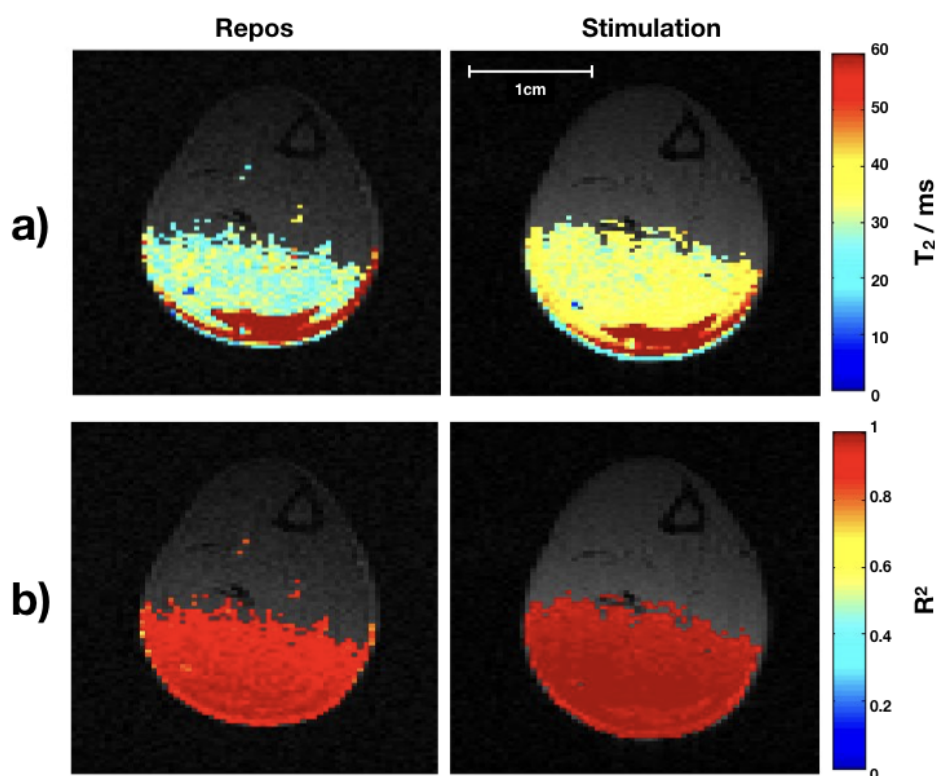


Figure 5.8: Cartes T_2 a) et R^2 b) acquises sur le muscle gastrocnémien du rat. Les cartes de la colonne de gauche ont été obtenues au repos tandis que les cartes de droite ont été obtenues pendant la stimulation avec les paramètres suivants : fréquence 1Hz, intensité 6mA et $100\mu\text{s}$ pour la longueur des impulsions.

5.7.3.1 Étude de la stimulation musculaire par T_2 , [PCr] et [Pi] chez de jeunes rats

Les trois paradigmes de stimulation ont d'abord été conduits pour la mesure de T_2 ($N = 3$ pour chaque paradigme). Ensuite, ils ont été appliqués sur les rats pour les mesures de [PCr] et [Pi] ($N = 3$ pour chaque paradigme). Les valeurs moyennes et la variabilité intra-individu moyenne sont présentées sur la Figure 5.9.

Le graphique en a) montre les résultats obtenus en faisant varier l'intensité des stimulations, tandis que les graphiques en b) et c) montrent les résultats obtenus en faisant varier la longueur des impulsions et la stimulation fréquences, respectivement. La stimulation allonge le T_2 et augmente le [Pi], tandis que la [PCr] diminue. Les extrêmes sont

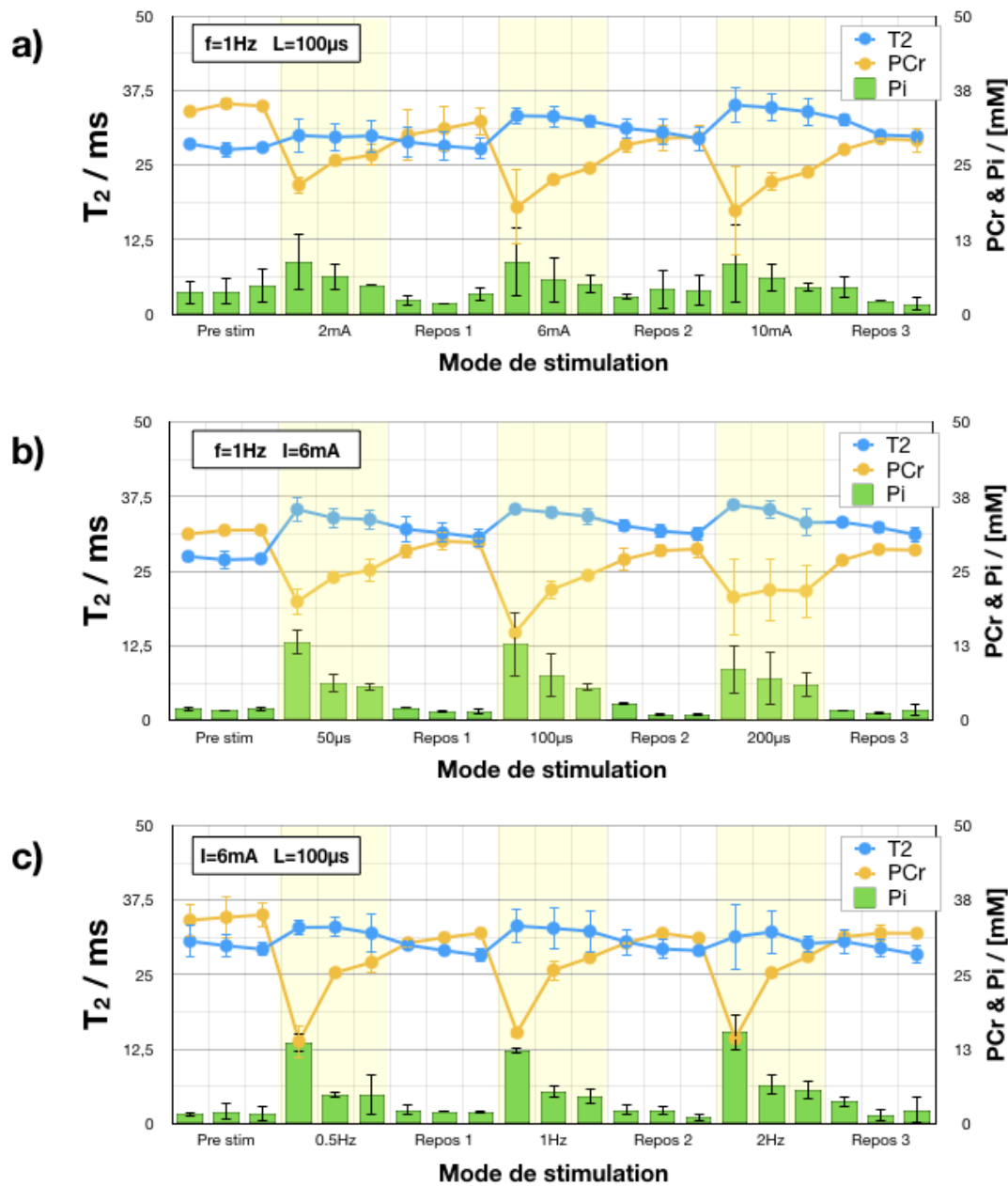


Figure 5.9: Mesures de T_2 , $[PCr]$ et $[Pi]$ au cours des trois paradigmes de stimulation chez les jeunes rats. Les graphiques a), b) et c) montrent les résultats en faisant varier respectivement les intensités de stimulation, la longueur des impulsions et la fréquence de stimulation. Pendant l'expérience a), la fréquence est fixée à 1Hz et la longueur des impulsions est réglée sur $100\mu s$. Pendant l'expérience b), la fréquence de stimulation est fixée sur 1 Hz et l'intensité sur 6 mA. Enfin, en c), les longueurs d'impulsions sont réglées à $100\mu s$ et l'intensité de la stimulation est fixée à 6 mA. Les barres d'erreur représentent l'écart-type interindividuel.

atteints dès le début des stimulations, c'est-à-dire lors de la première acquisition après le début de la stimulation. Ensuite, lors des deux acquisitions suivantes, chaque niveau a eu tendance à revenir à ses valeurs d'état de repos. Les valeurs maximales de T_2 pendant les stimulations étaient similaires lors de l'exécution des paradigmes **b)** et **c)**. Plus précisément, les valeurs du T_2 dans le muscle gastrocnémien étaient de $35,4 \pm 3,0$ ms, $35,4 \pm 2,2$ ms et $36,2 \pm 2,2$ ms pour des stimulations avec des impulsions de stimulation de 50, 100 et 200 μ s respectivement. La variabilité interindividuelle était respectivement de 2,2, 0,8 et 0,7ms. De plus, lorsqu'ils sont stimulés avec des fréquences croissantes (de 0,5 à 1 Hz et à 2 Hz, les valeurs de T_2 maximales dans le muscle étaient respectivement de $32,9 \pm 2,4$ ms, $33,2 \pm 2,2$ ms et $31,4 \pm 2,9$ ms en **c)**. La variabilité interindividuelle était de 1,3 à 2,9 et 5,6ms respectivement. En revanche, les valeurs maximales de T_2 semblent augmenter avec l'intensité de la stimulation (paradigme A). Le T_2 s'est allongé de $30,0 \pm 2,4$ ms, à $33,3 \pm 2,9$ ms et à $35,1 \pm 2,5$ ms lorsque les intensités ont augmenté de 2 à 6 et à 10 mA. La variabilité interindividuelle était respectivement de 2,9, 1,5 et 3,1ms.

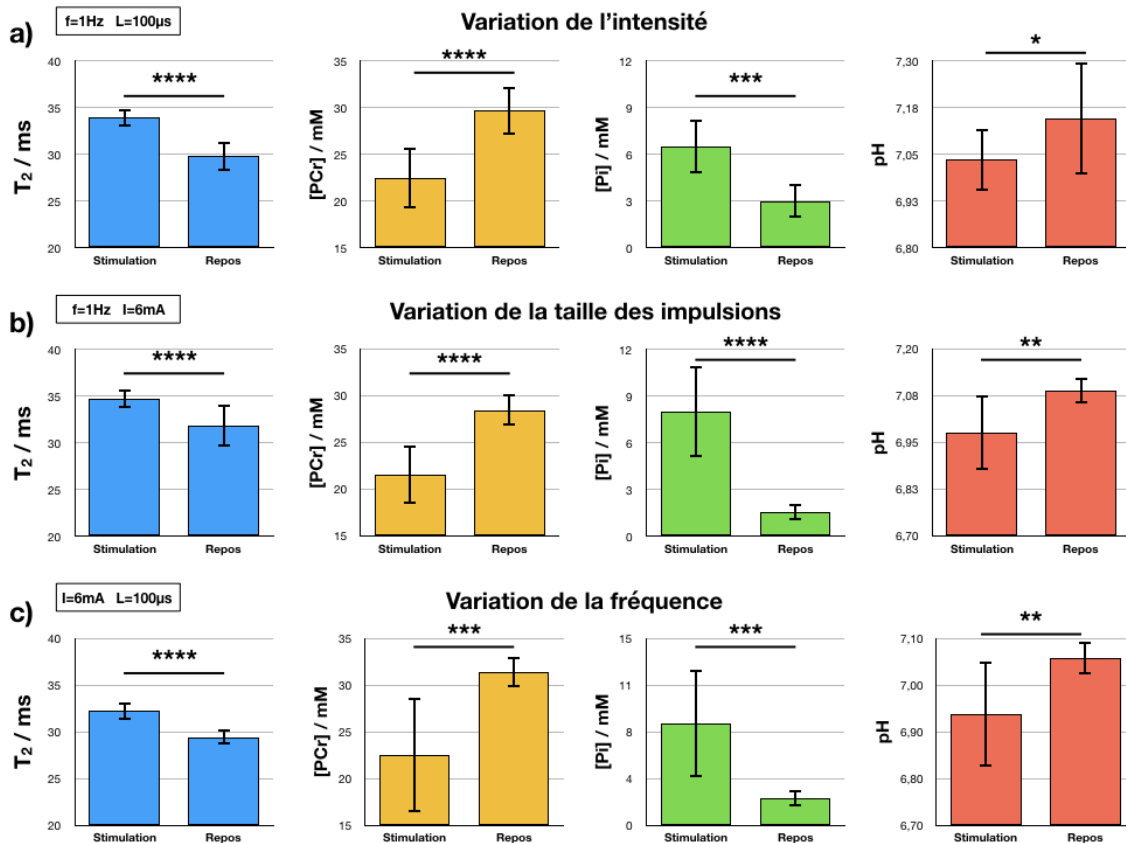


Figure 5.10: Comparaison des valeurs de T_2 , [PCr], [Pi] et pH entre les acquisitions obtenues au repos et pendant la stimulation chez les rats jeunes. Les lignes **a)**, **b)** et **c)** représentent respectivement les paradigmes où varie l'intensité, la taille des impulsions d'excitation et la fréquence des stimulations. Les barres d'erreur représentent la variabilité interindividuelle. Des différences significatives apparaissent entre tous les groupes (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; **** $p < 0.0001$).

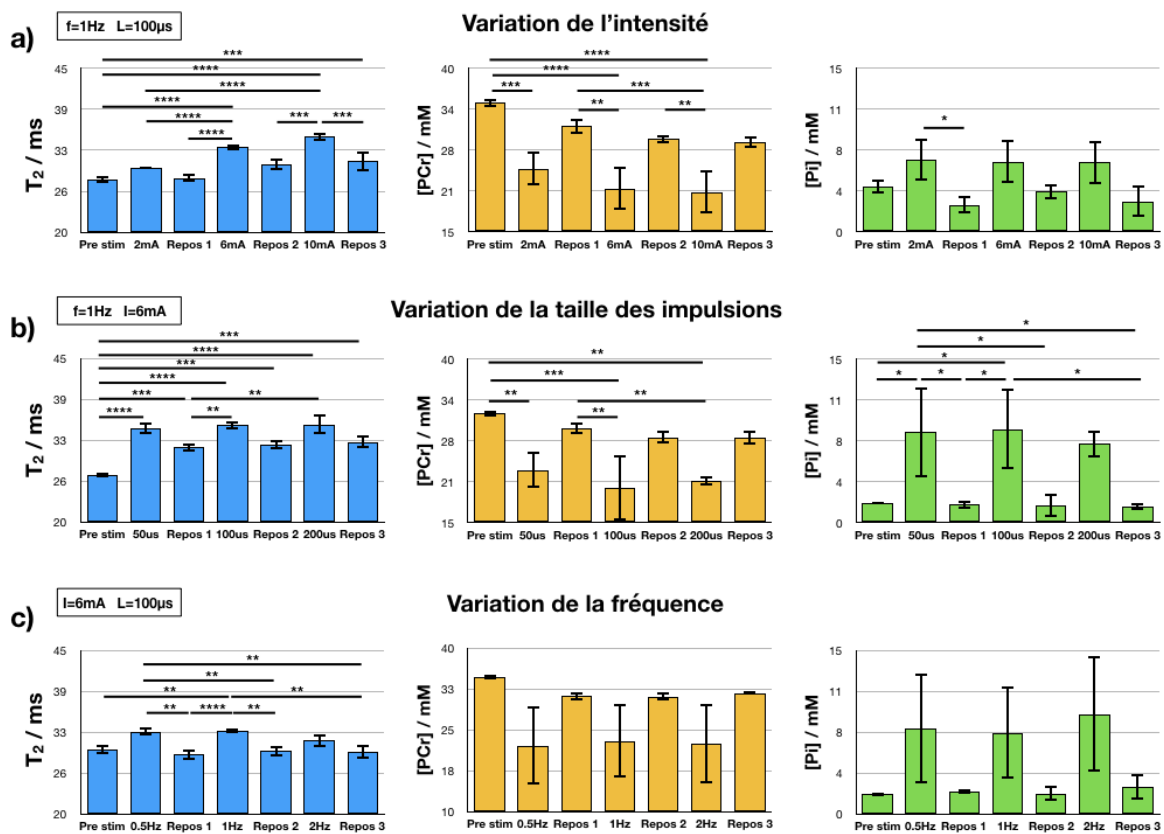


Figure 5.11: Comparaison des valeurs de T_2 , $[PCr]$, $[Pi]$ et pH entre les acquisitions obtenues durant chaque phase de repos et de stimulation au cours des trois paradigmes chez les rats jeunes. Le pH n'est plus représenté car il n'a pas présenté de différences significatives. Les lignes **a)**, **b)** et **c)** représentent respectivement les paradigmes où varient l'intensité, la taille des impulsions d'excitation et la fréquence des stimulations. Les barres d'erreur représentent la variabilité interindividuelle. Des différences significatives apparaissent entre les groupes, particulièrement parmi les mesures de T_2 (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; **** $p < 0.0001$).

Afin d'évaluer l'allongement du T_2 avec stimulation, une comparaison entre l'état de repos et les stimulations a été réalisée (Figure 5.10 et Tableau B.1 (Annexe)). Les distributions des valeurs de T_2 , $[PCr]$ et $[Pi]$ ont été significativement modifiées par chaque paradigme de stimulation. Plus précisément, le T_2 s'est allongé de 10,8% tandis que le muscle était stimulé. En outre, $[Pi]$ a augmenté de 263,1% tandis que $[PCr]$ a diminué de 25,5%.

Ensuite, les mesures ont été approfondies en évaluant les évolutions de T_2 , $[PCr]$ et $[Pi]$ avec les trois conditions différentes testées dans chaque paradigme (Figure 5.11 et Tableau B.2 (Annexe)). Cela a permis de mettre en évidence que les mesures variaient non seulement entre les conditions de repos et d'effort, mais aussi entre les conditions de stimulation dans un même paradigme et même entre les phases de repos. En effet, les valeurs de $[PCr]$ ont diminué significativement entre les états de repos et les conditions

de stimulation, sauf lors du paradigme où la fréquence de stimulation a été modifiée. Les valeurs de $[Pi]$ ont augmenté de manière significative en passant de l'état de repos à la stimulation uniquement lorsque la longueur d'impulsion a été modifiée. La mesure a montré des écarts-types élevés en raison de l'évolution rapide de ces valeurs pendant la stimulation. Cela a empêché de voir toute évolution avec les intensités, la longueur d'impulsion ou les fréquences de la stimulation. La prise en compte uniquement de la 1ère acquisition lors de chaque stimulation n'a pas non plus donné de différence statistique.

Les valeurs T_2 sont différentes entre les états de repos et les stimulations, quel que soit le paradigme utilisé. Les mesures T_2 ont augmenté de 7,2%, 20,0% et 19,1% avec l'intensité de la stimulation. Cependant, les mesures T_2 n'ont pas été affectées par les modifications de la longueur d'impulsion pendant la stimulation. De même, les valeurs T_2 n'ont pas changé avec la fréquence de la stimulation. Plus de différences de distributions et de groupes sont distinguables en observant les valeurs de T_2 , par rapport aux valeurs de $[PCr]$ et $[Pi]$, montrant des informations complémentaires.

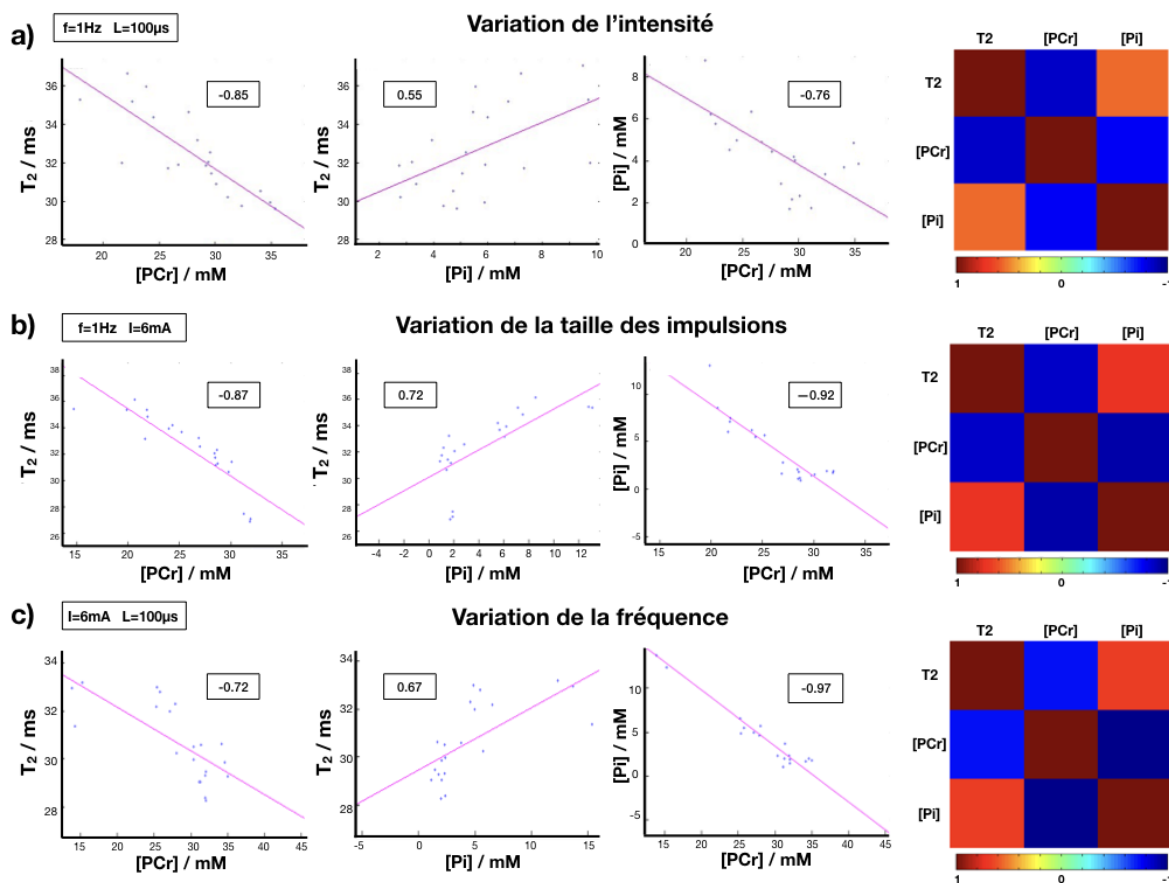


Figure 5.12: Étude des corrélations entre les valeurs de T_2 , $[PCr]$ et $[Pi]$ chez les rats jeunes. Les lignes **a)**, **b)** et **c)** représentent respectivement les paradigmes où varient l'intensité, la taille des impulsions d'excitation et la fréquence des stimulations. Dans les 3 cas, les régressions linéaires ainsi que les coefficients de corrélations sont représentés à gauche. Les résultats sont résumés sur les matrices de corrélations (à droite).

Enfin, les corrélations entre T_2 , [PCr] et [Pi] ont été étudiées. Pour chaque paradigme de stimulation, trois distributions de points sont présentées (Figure 5.12), le T_2 en fonction de la [PCr], le T_2 en fonction du [Pi] et le [Pi] en fonction de la [PCr]. Le T_2 a montré une corrélation moyenne de $-0,81 \pm 0,08$ avec [PCr] et de $0,65 \pm 0,09$ avec [Pi] sur les trois paradigmes.

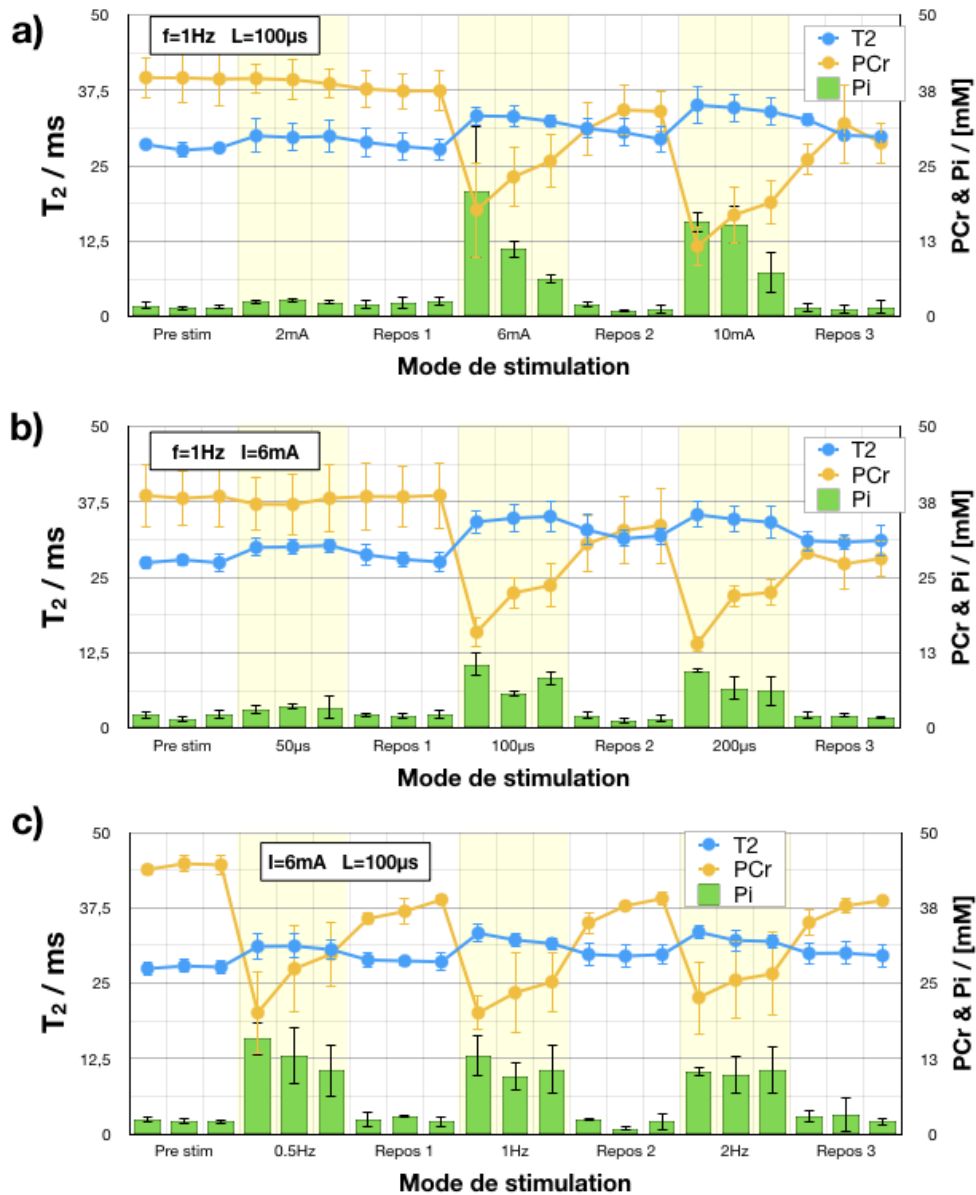


Figure 5.13: Mesures de T_2 , [PCr] et [Pi] au cours des trois paradigmes de stimulation chez les rats âgés. Les graphiques a), b) et c) montrent les résultats en faisant varier respectivement les intensités, la longueur des impulsions et la fréquence de stimulation. Pendant l'expérience a), la fréquence est fixée à 1 Hz et la longueur des impulsions sur 100 μs . Pendant b), la fréquence de stimulation est fixée sur 1Hz et l'intensité sur 6 mA. Enfin, en c), les longueurs d'impulsions sont réglées à 100 μs et l'intensité de la stimulation à 6mA. Les barres d'erreur représentent l'écart-type interindividuel.

5.7.3.2 Étude de la stimulation musculaire par T_2 , [PCr] et [Pi] chez des rats âgés

Les trois paradigmes conduits sur de jeunes rats ont ensuite été testés sur des rats plus âgés. Comme avec les jeunes rats, ils ont d'abord été utilisés pour la cartographie T_2 ($N = 4$ pour chaque paradigme) puis pour les mesures de [PCr] et [Pi] ($N = 3$ pour chaque paradigme). Les résultats obtenus sont présentés sur la Figure 5.13.

Tout d'abord, il est à noter que les valeurs de [PCr] étaient différentes chez les rats jeunes et âgés avant les stimulations, respectivement de $33,7 \pm 2,0$ mM et $39,5 \pm 4,5$ mM ($p < 0,0001$). Au contraire, les concentrations de [Pi] au repos chez les rats jeunes et âgés étaient similaires, respectivement $2,6 \pm 1,6$ mM et $1,9 \pm 0,6$ mM ($p > 0,05$). De même, les valeurs de T_2 au repos étaient respectivement de $28,4 \pm 1,3$ ms et $27,8 \pm 0,4$ ms chez les rats jeunes et âgés ($p > 0,05$).

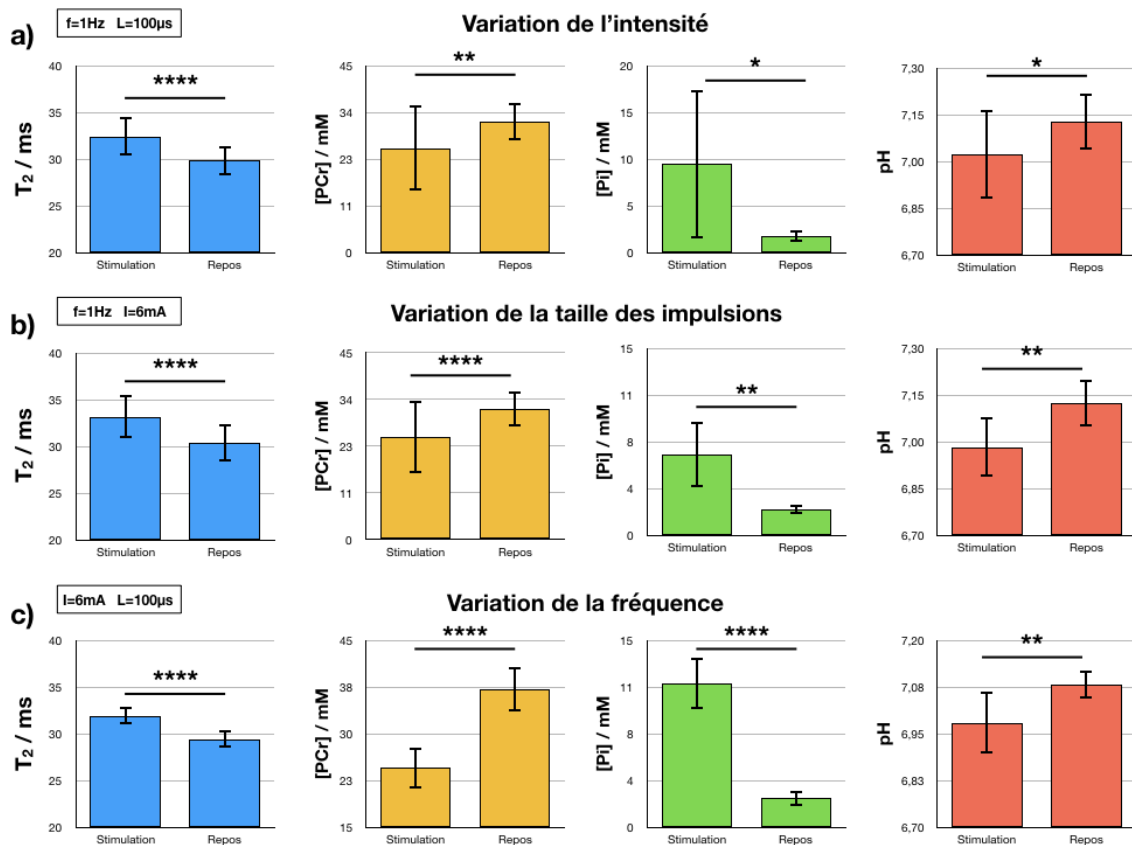


Figure 5.14: Comparaison des valeurs de T_2 , [PCr], [Pi] et pH entre les acquisitions obtenues au repos et pendant la stimulation chez les rats âgés. Les lignes a), b) et c) représentent respectivement les paradigmes où varie l'intensité, la taille des impulsions d'excitation et la fréquence des stimulations. Les barres d'erreur représentent la variabilité interindividuelle. Des différences significatives apparaissent entre tous les groupes (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$).

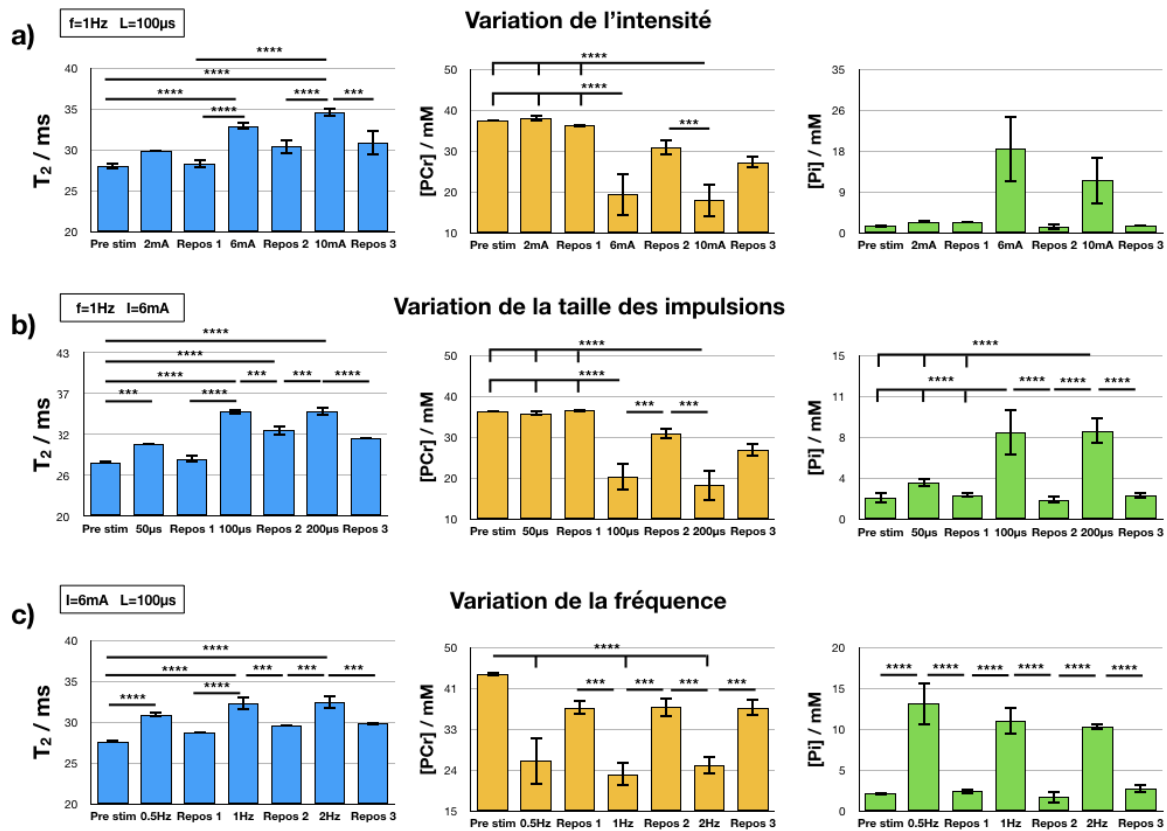


Figure 5.15: Comparaison des valeurs de T_2 , $[PCr]$, $[Pi]$ et pH entre les acquisitions obtenues durant chaque phase de repos et de stimulation au cours des trois paradigmes chez les rats âgés. Le pH n'est plus représenté car il n'a pas présenté de différences significatives. Les lignes **a)**, **b)** et **c)** représentent respectivement les paradigmes où varie l'intensité, la taille des impulsions d'excitation et la fréquence des stimulations. Les barres d'erreur représentent la variabilité interindividuelle. Des différences significatives apparaissent entre les groupes, particulièrement parmi les mesures de T_2 (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; **** $p < 0.0001$).

Contrairement aux jeunes rats, la Figure 5.14 ne montre aucune modification de $[PCr]$ et $[Pi]$ (mais toujours un allongement du T_2) pendant la première condition de stimulation en **a)** et **b)**. Cela correspond à des stimulations avec les paramètres suivants : 2mA, 100 μ s et 1Hz en **a)** et 6mA, 50 μ s et 1Hz en **b)**. De plus, la diminution moyenne de la $[PCr]$ chez les rats âgés après une transition de l'état de repos à la stimulation était de 54,1% alors qu'elle était de 45,2% chez les jeunes rats. De même, l'augmentation moyenne de $[Pi]$ chez les rats âgés était de 758% alors qu'elle était de 565% chez les jeunes rats. Comme expliqué, chaque série de stimulation de 12 minutes était suivie de 12 minutes de repos (répétées 3 fois au cours de chaque paradigme). La récupération moyenne de $[PCr]$ chez les jeunes rats était de 91,2% et 95,3% après 4 minutes et 12 minutes de repos, respectivement. Chez les rats plus âgés, la récupération moyenne de $[PCr]$ était de 83,9% et 90,1% après 4 minutes et 12 minutes de repos, respectivement.

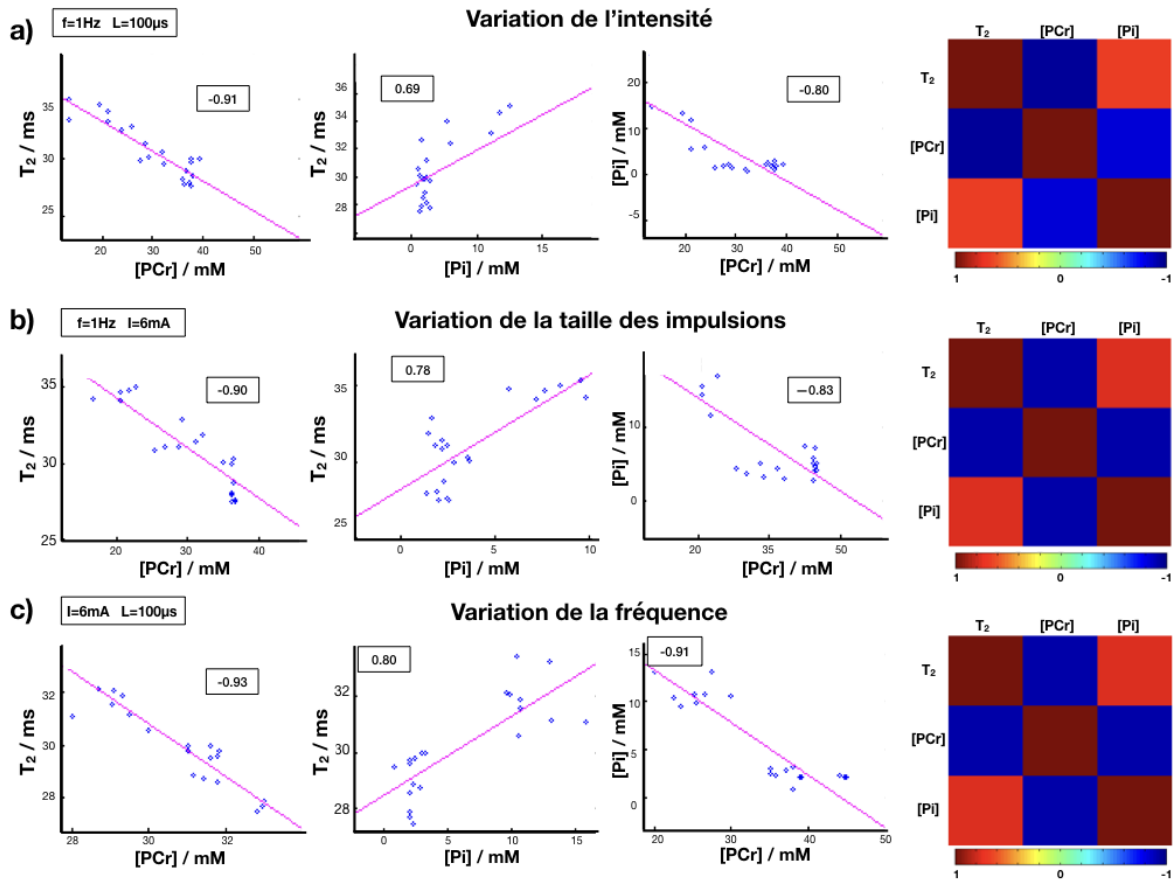


Figure 5.16: Étude des corrélations entre les valeurs de T_2 , $[PCr]$ et $[Pi]$ chez les rats âgés. Les lignes a), b) et c) représentent respectivement les paradigmes où varient l'intensité, la taille des impulsions d'excitation et la fréquence des stimulations. Dans les 3 cas, les régressions linéaires ainsi que les coefficients de corrélations sont représentés à gauche. Les résultats sont résumés sur les matrices de corrélations (à droite).

De plus, la moyenne de $[PCr]$ à la toute fin de chaque paradigme était 10,1% inférieure à ce qu'elle était au tout début de chaque paradigme chez les jeunes rats, alors qu'elle était de 23,3% plus faible chez les rats âgés.

Comme pour les rats jeunes, des différences sont observées entre le repos et la stimulation pour le T_2 , les concentrations de $[PCr]$ et de $[Pi]$ et pour le pH (5.14 et Tableau B.3 (Annexe)). On constate également beaucoup de différences entre les différentes conditions de repos et de stimulation au sein d'un même paradigme pour les mesures de T_2 (Figure 5.15 et Tableau B.4 (Annexe)). Enfin, chez les rats âgés, Le T_2 a montré une corrélation moyenne de $-0,91 \pm 0,01$ avec $[PCr]$ et de $0,76 \pm 0,05$ avec $[Pi]$ sur les trois paradigmes (Figure 5.16).

L'évolution des valeurs T_2 dans le muscle le long des trois paradigmes de stimulation était similaire chez les aînés et chez les jeunes rats, sauf pour les 12 premières minutes de stimulation dans le paradigme b) où la valeur T_2 maximale différait de 15,3% entre les deux groupes. Les autres valeurs maximales de T_2 pendant les séries de stimulation de 12 minutes n'étaient différentes que de 2,9% lors de la comparaison des deux groupes. Par

rapport à avant le début des ensembles de stimulation, les valeurs T_2 étaient plus élevées de 8,1% et 3,6% après respectivement 4 min et 12 min de repos chez les jeunes rats. Chez les rats âgés, les valeurs T_2 étaient plus élevées de 7,8% et 4,8% respectivement (Figure 5.17).

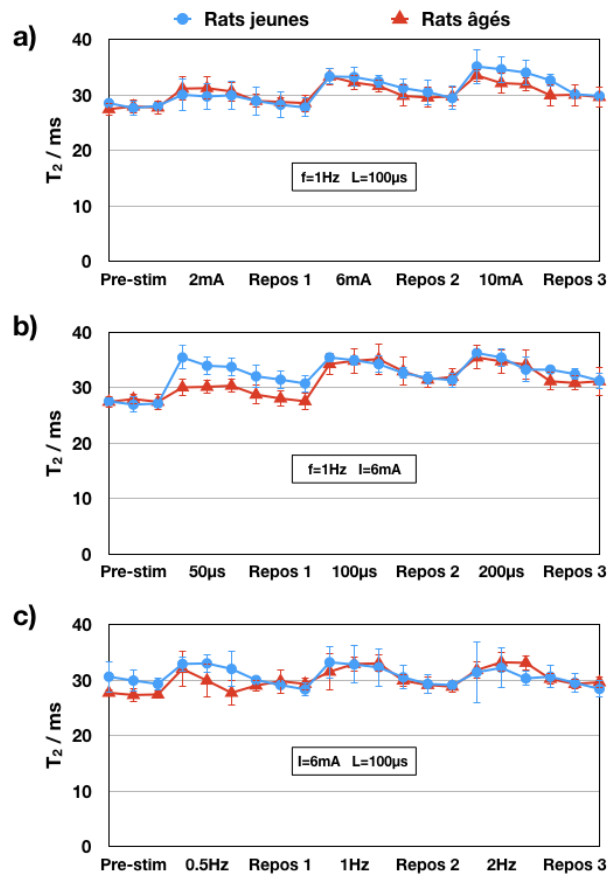


Figure 5.17: Comparaison des valeurs de T_2 entre les rats jeunes et âgés au cours des 3 paradigmes de stimulation.

5.7.4 Mesures de T_2 à des fréquences de stimulation plus élevées

Nous avons précédemment spécifié que la fréquence des stimulations était limitée à 2Hz afin d'avoir un laps de temps suffisant pour acquérir la décroissance T_2 du signal. En complément, une méthode de mesure segmentée du T_2 a été développée dans le but de pouvoir mesurer des T_2 à des fréquences de stimulation supérieures à 2Hz.

5.7.4.1 Principe

La séquence était la même que celle utilisée dans l'étude précédente. Elle a ensuite été modifiée pour mesurer la décroissance T_2 en plusieurs TR, afin de s'affranchir des artefacts de mouvements dus à la stimulation.

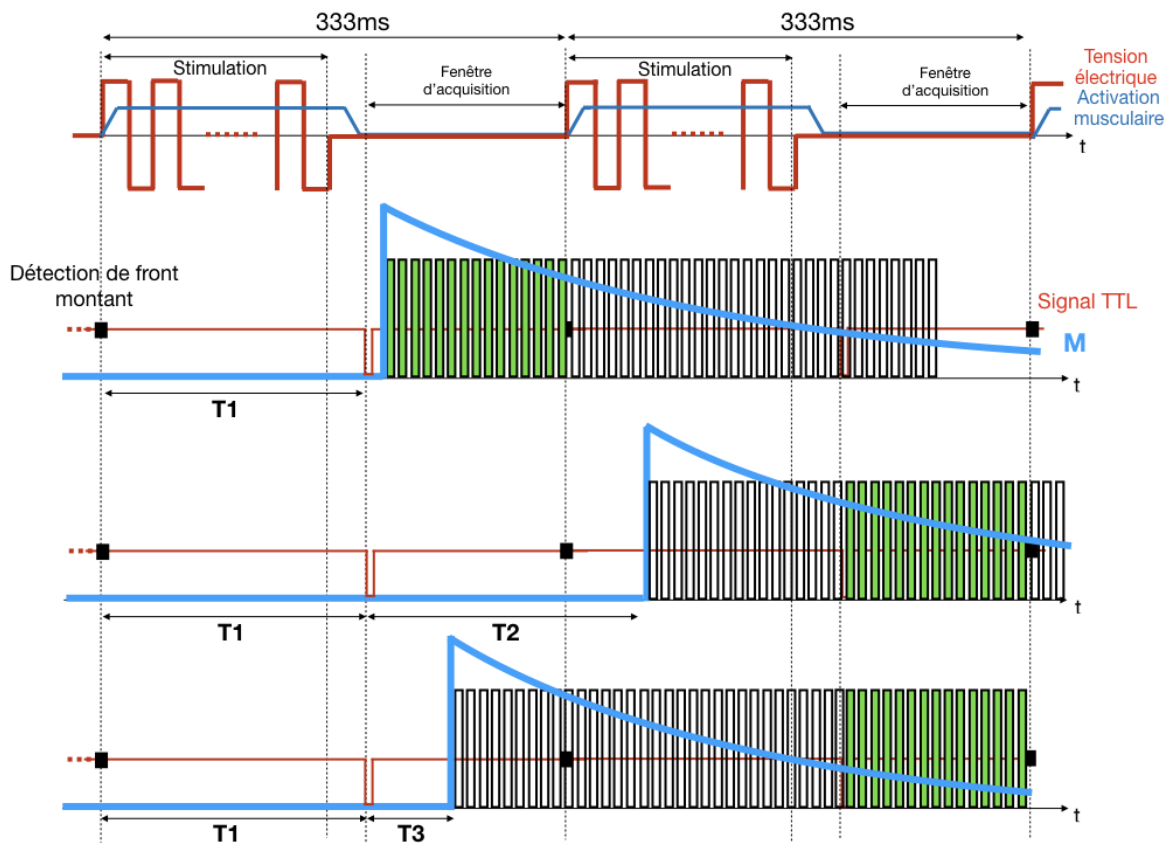


Figure 5.18: *Exemple de la technique de segmentation de la mesure du T_2 pour une séparation en 3 segments. Les échos en vert correspondent à ceux qui sont lus et les échos laissés transparents ne le sont pas. Le premier tiers des échos est lu comme dans la partie précédente. En revanche, pour les deux tiers suivants, la détection de front montant par la carte de synchronisation permet de caler la lecture des échos dans la partie de repos du cycle de stimulation suivant.*

Il est important de noter que le nombre de segment est directement déterminé par fréquence de stimulation. En effet, plus la fréquence de stimulation augmente et plus la fenêtre temporelle d'acquisition diminue. L'électro stimulateur ne pouvant stimuler à une fréquence supérieure à 5Hz, les découpes possibles sont donc 3 segments à 3Hz, 4 segments à 4Hz et 5 segments à 5Hz. Ensuite, la difficulté est de réussir à caler chaque segment dans la fenêtre d'acquisition correspondant au moment où le muscle est au repos. Pour l'acquisition de chaque segment, il est important que les inversions de l'aimantation utilisées pour obtenir les échos de spin soient non-sélectives. En effet, à partir du deuxième segment, les échos acquis lors du segment précédent sont refocalisés pendant que le muscle est stimulé, donc en mouvement. Prenons l'exemple d'une stimulation à une fréquence de 3Hz, où la mesure de la décroissance T_2 se fait en 3 segments (Figure 5.18). Suite à la première stimulation électrique, Le premier tiers des échos est lu et les deux tiers suivants ne le sont pas. Ce premier tiers est calé dans l'intervalle de temps où le muscle est au repos. Pour acquérir le deuxième segment, la détection du front montant

par la carte de synchronisation déclenche l'envoi du signal. Ce signal TTL déclenche alors une nouvelle temporisation, mais cette fois seulement dans la séquence IRM afin de commencer l'acquisition de manière anticipée. Cette nouvelle temporisation est calculée de telle manière que les échos correspondant au deuxième segment soient obtenus et lus au moment où le muscle est au repos. Enfin, la lecture du dernier segment est obtenue par la même méthode, seulement cette fois la temporisation utilisée dans la séquence IRM sera plus courte afin que les échos soient lus à la fin de la décroissance T_2 du signal. D'une manière générale, les temporisations utilisées dans la séquence IRM sont calculées par l'équation :

$$Tempo(i) = T_{STIM} - (i - 1) \frac{N_{echo} T_E}{N_{segm}} \quad (5.4)$$

avec $i \in [[2, N_{segm}]]$, N_{segm} le nombre de segments de découpe de la mesure, N_{echo} le nombre total d'échos de mesure de la décroissance T_2 , T_{stim} la période des stimulations et T_E le temps d'écho de la séquence.

Le défaut majeur de cette séquence est sa durée. En effet, une décomposition en N_{segm} de la mesure du T_2 implique directement une multiplication du temps d'acquisition par ce même facteur N_{segm} .

5.7.4.2 Résultats préliminaires

Des résultats préliminaires ont pu être obtenus grâce à cette méthode sur des rats jeunes. Des images acquises au cours d'une stimulation à 3Hz par la méthode utilisée durant l'étude précédente et avec la méthode de segmentation de la mesure sont montrées sur la Figure 5.19.

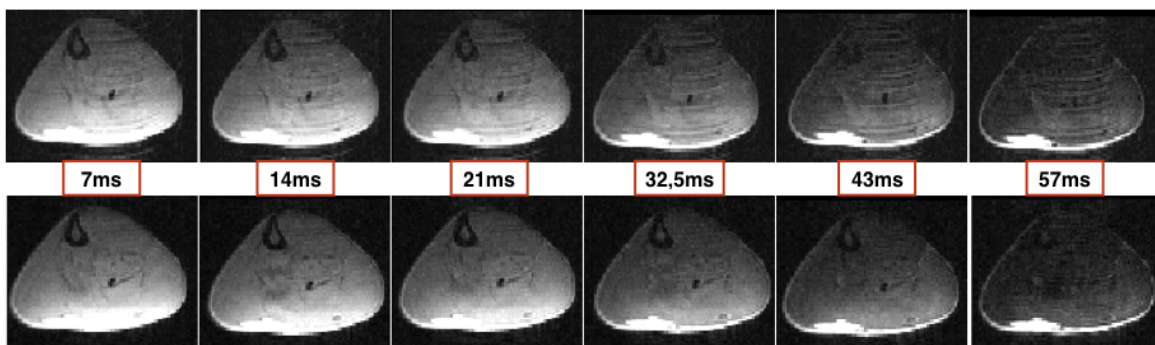


Figure 5.19: Images obtenues avec la méthode de synchronisation utilisée tout au long de l'étude (en haut) et avec la méthode de segmentation à différents temps d'écho (en bas).

Les cartes T_2 associées sont quant à elles visibles sur la Figure 5.20. Il apparaît clairement que la découpe de la séquence réduit nettement les artefacts de mouvement. Les valeurs de T_2 obtenues sont de $26,1 \pm 2,3\text{ms}$, $33,4 \pm 5,3\text{ms}$ et $30,5 \pm 2,6\text{ms}$ respectivement au repos, avec une stimulation à une fréquence de 3Hz sans découpe de la mesure et avec une stimulation à une fréquence de 3Hz et une mesure segmentée. Il est

important de noter la plus faible déviation standard quand les mesure du T_2 est segmentée. De plus, sur les rats jeunes, les valeurs de T_2 semblaient décroître alors que la fréquence augmentait ($32,8 \pm 0,4$ à 1Hz, $31,3 \pm 1,0$ à 2Hz) et par conséquent les valeurs mesurées grâce à la séquence segmentée apparaissent plus cohérents.

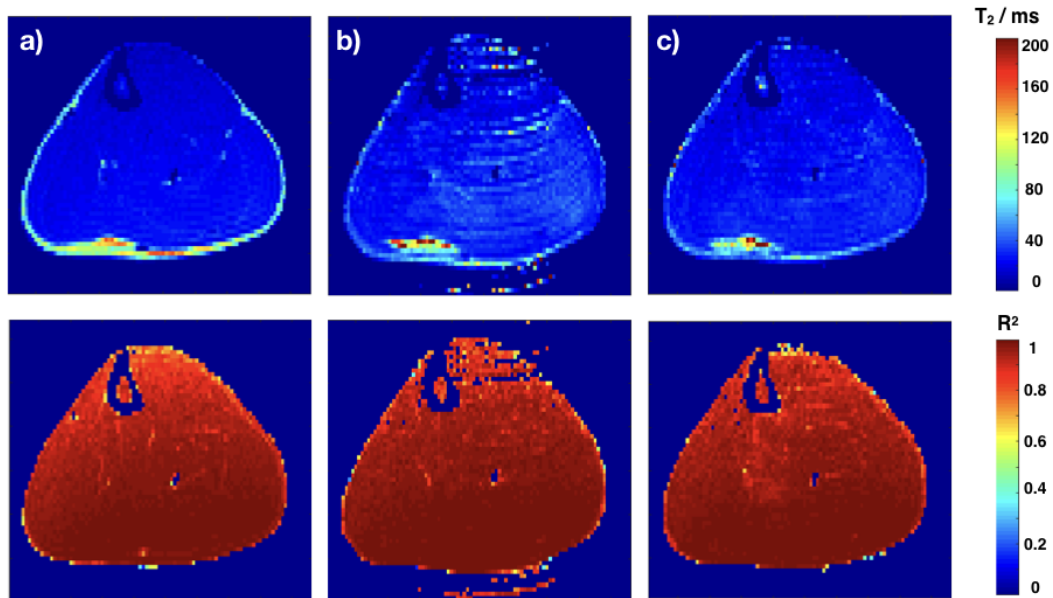


Figure 5.20: Cartes T_2 et R^2 obtenues au repos **a)**, avec une stimulation à une fréquence de 3Hz sans segmentation de la mesure **b)** et avec segmentation de la mesure **c)**

5.8 Discussion

Dans cette étude, un dispositif complet IRM-compatible permettant l'électrostimulation du muscle gastrocnémien du rat et l'acquisition d'images par IRM du proton ainsi que de spectres par spectroscopie du phosphore ^{31}P est présentée. Une carte électronique permettant la synchronisation entre l'électro-stimulateur et le scanner IRM a également été développée. Ce dispositif combiné à la carte de synchronisation a permis d'obtenir des cartes T_1 , des cartes T_2 et des spectres ^{31}P du gastrocnémien de rat à la fois au repos et électro-stimulé avec une forte reproductibilité. Les études *in vitro* et *in vivo* n'ont montré aucun artefact de mouvement lors de l'électrostimulation, ce qui valide le système de synchronisation et les séquences associées. Le lit de positionnement du rat présenté ici peut être utilisé avec n'importe quelle antenne de réception surfacique. L'ensemble de la configuration répond à plusieurs contraintes techniques. Premièrement, il s'insère complètement à l'intérieur de l'aimant et ne provoque pas de bruit électrique. La combinaison d'une antenne volumique d'émission avec une antenne de réception surfacique donne une homogénéité remarquable du champ magnétique dans la région du muscle gastrocnémien, ce qui est primordial pour les mesures des temps de relaxation. Les électrodes permettent d'activer spécifiquement le gastrocnémus grâce à un positionnement robuste. En outre, les plans de dimensionnement 3D des différentes pièces composant le lit de positionnement du rat peuvent être facilement modifiés. Les pièces peuvent être adaptées à d'autres spécifications géométriques et de nouvelles pièces peuvent être rapidement imprimées et adaptées à n'importe quel aimant préclinique.

Une séquence à encodage radial a été choisie pour plusieurs raisons. Premièrement, ces séquences sont connues pour être robustes au mouvement [105]. De plus, elles permettent un sous-échantillonnage des projections tout en conservant une résolution d'image satisfaisante, ce qui est un atout pour raccourcir le temps d'acquisition [106]. Concernant les mesures T_2 , l'acquisition multi-coupe a été réalisée au repos, au cas où le muscle ne serait pas parfaitement revenu à sa position initiale. Durant la stimulation, des impulsions d'inversion et de refocalisation ont été appliquées sur toute la jambe, empêchant la possibilité d'acquisitions multi-coupe. De plus, la fenêtre temporelle d'acquisition après chaque stimulation avec des fréquences supérieures à 2Hz n'est pas assez longue pour les mesures T_2 . C'est pourquoi une méthode de mesure T_2 segmentée est en cours de développement, montrant une réduction prometteuse des artefacts de mouvement. Le principal inconvénient de cette méthode est l'allongement du temps total d'acquisition. Une accélération de l'acquisition grâce à la technique du Compressed-Sensing serait particulièrement intéressante à développer [107]. Une autre amélioration du protocole multi-paramétrique utilisé ici concerne la spectroscopie, qui pourrait être implémentée pour obtenir des spectres localisés dans la région du muscle gastrocnémien. L'antenne utilisée pour la spectroscopie à 7T étant accordée à 121 et 298MHz, il est possible d'acquérir une image permettant de placer le voxel d'intérêt dans le gastrocnémus. Cependant, la réduction du volume risque de diminuer le rapport signal sur bruit.

Les temps de relaxation T_1 ont été mesurés à 3T chez le rat dans le muscle gastrocnémien du rat par Baron et al. et ont été estimés à $1264 \pm 190\text{ms}$ au repos [108], ce qui va dans le sens des valeurs T_1 mesurées ici en tenant compte du champ magnétique plus élevé à 4,7T. De plus, le T_1 mesuré ici n'a montré aucune différence significative entre l'état de repos et la stimulation, que ce soit chez les rats jeunes ou plus âgés. Il n'y a pas non plus

montré de différence significative entre les rats jeunes et plus âgés, ce qui semble être conforme à la littérature [109]. Chez les rats jeunes et plus âgés, les valeurs T_2 étaient plus longues pendant et après la stimulation, ce qui est conforme à la littérature chez les petits animaux [89, 93, 110] et chez l'homme [72, 82, 111, 112]. Au contraire, aucune différence n'a été trouvée entre les rats jeunes et âgés. Chez l'homme cependant, le T_2 semble s'allonger avec l'âge, et encore plus avec les effets du syndrome de fragilité [58, 109].

Néanmoins, le principal facteur d'augmentation du T_2 chez les personnes âgées est l'atrophie des fibres musculaires et la réduction de leur nombre, conduisant à une augmentation de l'eau extra-cellulaire. Notre modèle de rats âgés ne semblait pas avoir d'atrophie musculaire significative et pouvait donc expliquer pourquoi les valeurs T_2 étaient similaires à celles des jeunes rats. Les modifications T_2 ont montré des corrélations plus élevées avec l'intensité des stimulations qu'avec les autres paramètres. Il a augmenté progressivement à mesure que l'intensité était augmentée dans le paradigme a) à la fois chez les rats jeunes et plus âgés. En revanche, chez les jeunes rats, les valeurs maximales de T_2 étaient similaires pendant les trois stimulations en b) et c) chez les jeunes rats. Le même phénomène a pu être observé chez les rats âgés, sauf pour la première stimulation en a) et b) où la stimulation n'a pas provoqué de réponse métabolique. Les mesures T_2 ont montré de nombreuses différences entre les conditions stimulées et de repos et ont permis de distinguer plus de réponses musculaires que les observations [PCr] et [Pi]. Ceci offre une perspective prometteuse pour l'exploration musculaire, et la cartographie T_2 permet d'obtenir des informations en 2 dimensions.

Concernant les trois paradigmes de stimulation et la spectroscopie, la différence majeure entre les rats jeunes et âgés est la première condition des paradigmes a) et b) de la Figure 5.13. [PCr] n'a pas baissé et [Pi] n'a pas augmenté chez les rats plus âgés. Avec le vieillissement, les motoneurones sont altérés et leur nombre diminue chez le rat [113, 114] et chez l'homme [115, 116]. Une piste concernant la non-réponse métabolique pourrait être que le courant électrique envoyé à travers le muscle ne circulait pas assez bien en raison de cette perte de motoneurones.

La concentration de base de PCr était significativement plus élevée chez les rats âgés que chez les jeunes rats, ce qui semble être conforme à la littérature humaine [117]. En outre, la récupération de la PCr était plus longue chez les vieux rats même si leur ViPCr était plus rapide, la vitesse de récupération ralentissant rapidement. Varadhan et al. a montré que chez les personnes âgées, et en particulier chez les personnes fragiles, la récupération de la PCr est plus lente [118]. [PCr] est souvent associée à la fatigue musculaire [119, 120] et les concentrations étaient proportionnellement plus faibles à la fin de chaque paradigme chez les vieux rats. Cela signifierait que les vieux rats auraient besoin de plus de temps pour récupérer après avoir subi le même effort. Cependant, les valeurs de T_2 n'étaient pas plus longues à la fin des paradigmes par rapport au tout début, ce qui pourrait signifier une récupération complète ou quasi-complète.

La principale limite de cette étude est qu'un nombre limité d'animaux ont été inclus car il n'est pas possible d'acheter directement de vieux rats (> 18 mois). Néanmoins, les données des vieux rats ont montré une reproductibilité suffisante pour valider la configuration et comparer avec les jeunes rats.

Une autre limitation est liée à l'équipement et aux matériaux disponibles. En effet, la spectroscopie ^{31}P n'était possible que sur un scanner 7T, alors que l'antenne de réception

^1H était réglée à 200Mhz. Ce problème nous a en fait permis de valider la compatibilité du dispositif sur plusieurs scanners et de démontrer sa large utilisation possible pour n'importe quel équipement Bruker.

Les objectifs futurs seront d'effectuer des suivis longitudinaux sur des rats présentant différents degrés de sarcopénie pour mieux comprendre les mécanismes de cette pathologie. Les rats diagnostiqués avec des conditions de fragilité et de pré-fragilité pourraient faire de l'exercice quotidien (à l'aide d'une roue d'exercice) pour voir comment le muscle évolue. Le dispositif permettrait une cartographie T_1 et T_2 des membres inférieurs, et les concentrations de PCr et Pi pourraient être mesurés. De plus, une séquence de cartographie T_2^* synchronisée avec l'électro-stimulation pourrait être adaptée, fournissant des informations complémentaires. Une antenne surfacique de réception de multi-noyaux $^1\text{H} / ^{31}\text{P}$ pourrait être utilisée pour pallier la nécessité de changer d'imageur ou d'antenne. La sarcopénie étant censée être réversible [121], l'efficacité d'un traitement pourrait être évaluée. Aussi, notre mise en place pourrait permettre d'évaluer les reconstructions structurelles musculaires après injection de cellules souches [16]. De plus, le système pourrait également être utilisé sur des modèles de rat de dystrophies musculaires.

5.9 Conclusion du chapitre

Nous avons vu dans cette partie la concrétisation de tous les développements méthodologiques effectués. Le lit IRM-compatible, la carte de synchronisation ainsi que les séquences de mesure de T_1 , T_2 et ^{31}P RMS ont permis l'étude du muscle gastrocnémien chez des jeunes et des rats âgés de façon robuste. Des différences entre ces deux groupes ont ainsi pu être observées. Ce système s'adapte à n'importe quel imageur Bruker et est adapté pour l'étude de nombreux modèles pathologiques chez le rat.

New setup for multi-parametric MRI in young and old rat gastrocnemius at 4.7&7T during muscle stimulation

S. Loubrie¹, A. Trotier¹, E. Ribot¹, P. Massot¹, W. Lefrançois¹, E. Thiaudière¹, B. Dallaudière^{1,2}, S. Miraux¹,
I. Bourdel-Marchasson^{1,3}

¹ Centre de Résonance Magnétique des Systèmes Biologiques (CRMSB) – UMR 5536 CNRS

² Centre d'Imagerie Ostéo-articulaire, Clinique du Sport de Bordeaux-Mérignac

³ Pôle de gériatrie clinique, Hôpital Xavier Arnoz,

Key words: Experimental setup; Multi-parametric MRI; Rat; Gastrocnemius; Muscle stimulation

Abbreviations: Transistor-Transistor-Logic (TTL), Complementary Metal Oxide Semiconductor (CMOS),
Multi-Slice Multi-Echo (MSME)

Word count: 5121 (without abstract and references)

SUBMISSION IN *NMR IN BIOMEDICINE*

ABSTRACT

T_1 and T_2 relaxation times combined with ^{31}P spectroscopy have been proven efficient for muscular diseases characterization as well as for pre- and post- muscle stimulation measurements. Even though ^{31}P can already be performed during muscle exercise, no method for T_1 and T_2 measurement enables this possibility. In this project, a complete setup and protocol for multi-parametrical MRI of the rat gastrocnemius before, during and after muscle stimulation at 4.7 and 7T is presented. The setup is fully MRI-compatible and is composed of a cradle, an electro-stimulator and an electronic card in order to synchronize MRI sequences with muscle stimulation. Also, a 2D triggered radial-encoded Look-Locker sequence was developed and enabled T_1 measurements in less than 2min on stimulated muscle. A MSME sequence was adapted and synchronized for T_2 measurements as well as ^{31}P spectroscopy acquisitions in less than 4min in both cases on stimulated muscle. Methods were validated on young rats using different stimulation paradigms. Then, it was applied on older rats to compare quantification results, using the different stimulation paradigms, and allowed to observe metabolic changes related to aging with good reproducibility. The robustness of the whole setup shows wide application opportunities.

INTRODUCTION

Magnetic Resonance Imaging (MRI) is sensitive to various physical parameters which include longitudinal and transversal relaxation times, respectively T_1 and T_2 that have been proven to be relevant biomarkers, especially in muscle studies¹. Degenerative muscle diseases, such as inflammation, edema, fatty infiltration or even fibrosis are responsible for consequent modifications of muscle composition that can be evaluated through changes in relaxations times. Affected areas in muscle can be identified using T_1 or T_2 -weighted images, but quantitative measurements are welcome using T_1 and T_2 mapping. It has been shown that T_1 increases in regions where the muscle is inflamed, but shortens in fat-infiltrated muscles². Conversely T_2 lengthens in both inflamed and fat-infiltrated regions³. It also increases with aging due to the reduction of the size and the number of muscle fibers⁴ and an increase of extra-cellular space⁵. In addition, ^{31}P Magnetic Resonance Spectroscopy (MRS) has been used to characterize energy flux in contracting muscle⁶. Metabolic modifications related to muscular effort and recovery can be evaluated *in vivo* through phosphocreatine (PCr), adenosine triphosphate (ATP) and phosphate (Pi) quantification in humans^{7,8} and in small animals^{9,10}. More specifically metabolic assessment appears to be very promising in the perspective of the evaluation of sarcopenia but muscle composition is complex and, consequently, multi-parametrical MRI needs to be performed. Moreover, sarcopenia is not only the loss of muscle mass, but it is also the impairment of muscle function and strength¹¹, which implies that effort-related measurements should be performed in complement to resting-state information. Several studies quantified T_1 and T_2 during muscle effort. It was reported that T_1 increased in stimulated human muscles¹² and T_2 appears to be longer a few minutes after voluntary exercise or stimulation⁹ as well. This increase was attributed to osmotically driven shifts of fluid in muscle cells¹³. However, information of relaxation times during muscular work is lacking. A more comprehensive view on muscle function, metabolism and disorders, *e.g.* sarcopenia in elderly people, would greatly benefit from combined multiparametric measurements of relaxation times and phosphorylated metabolites both in the course of effort and recovery. In the frame of translational development, preclinical validation is obviously suitable prior to clinical studies on elderly patients.

The following study aims at presenting the development of an *in vivo* acquisition setup and muscle stimulation protocols using a rat model in order to generate quantitative T_1 and T_2 measurements, as well as ^{31}P spectra, on resting and stimulated gastrocnemius muscle. The full setup was then applied on models of young and older rats using different stimulation paradigms. Results are discussed in terms of structural and metabolic changes related to aging.

MATERIAL & METHODS

Animals

Two groups of female Wistar rats (Charles River, France) were used in this study, one group of young rats (12-20 weeks, weight=240-270g, N=8) and one group of older female rats (90-96 weeks, weight=320-470g, N=4).

For each group, T_1 and T_2 measurements were performed first, then ^{31}P spectroscopy was conducted at least 1 week later, for the rats to recover from the prolonged anesthesia. All experimental procedures were approved by the Animal Care and Use Institutional ethics committee of Bordeaux, France (approval n° APAFIS#21079-20190613135622010).

MRI setup

A home-made MRI cradle was used for non-invasive muscle examination using ^1H MRI and ^{31}P MRS. The cradle was designed with a computer aided design software (FreeCAD, Ulm, Germany) and its parts were printed with a 3D printer (Formlabs, Sommerville, USA). The cradle was designed to fit inside an 82mm volume transmit coil that is common for small animal-MRI scanner (**Figure 1**). It was composed of a bed to install the animal in the supine position, and a holder for the ^1H or ^{31}P coil. The foot was attached to a pedal using surgical adhesive tape. This set up enabled to locate the gastrocnemius and closest surrounding muscles in the immediate vicinity of the receiver coil. The pedal was designed to be in contact with a homebuilt pressure transducer which was connected to an amplifier (PowerLab, ADInstruments, Dunedin, New Zealand). The pressure applied on the pedal due to muscle contraction was recorded on a computer (LabChart, ADInstruments, Dunedin, New Zealand). To induce muscle contraction, graphite conducting surface electrodes were fit inside apertures in the cradle, in order to generate an electric current throughout the whole muscle, from the top (near the knee level) to the bottom (near the heel level). The leg was not shaved but ultra-sound gel was applied between the skin and the electrodes. An electro-stimulator (QuiruMed, Grupo Bunzl, London, UK) was directly plugged to the other end of the electrodes, and placed outside the magnet room near the operating console, so as to both avoid RF perturbation. The stimulator had two output duplicate signals. The first output was connected to the conducting surface electrodes and the second output was connected to an electronic card that was also developed here in order to synchronize the electrostimulator with the MRI sequences.

Muscle Stimulation & electronic synchronization card

Plantar flexor muscles of rats in supine position were stimulated directly with transcutaneous surface electrodes located at knee and heel levels. The pattern of the stimulation cycles was assessed on an oscilloscope. Sixteen bipolar square pulses were produced to induce one muscle contraction, followed by a

delay where the muscle stayed at rest before the next cycle. The stimulation could be modified through 3 parameters: current value (0-10mA); contraction frequency (0.

5Hz to 5Hz; bipolar pulse length (10 μ s to 200 μ s). MR acquisitions needed to be synchronized to the contraction in order to avoid motion artifacts. Hence, a simple electronic triggering card was developed (**Figure 2**). This card was composed of three parts: the first part protected the electronic circuit and especially the microprocessor. The applied voltage range was limited to -0.6V to +4V; the second part produced the waveform of the stimulator voltage in order to have +4V when the muscle is stimulated and 0V when the muscle is at rest. The last part is a microprocessor (Arduino Uno, Arduino) which detects rising voltage switching combined with a logical circuit. This detection triggers a temporization that is set by the operator and which duration depends on the frequency of the contractions and the length of the square bipolar pulses. At the end of this temporization, the microprocessor generated a Complementary Metal Oxide Semiconductor (CMOS) signal, which was transformed in a Transistor-Transistor-Logic (TTL) signal by the logical circuit 74LS07. This signal was used by the MRI console to trigger acquisitions.

Magnets and gradient systems

T₁ and T₂ measurements were performed on a 4.7T 47/40 Bruker BioSpec system (Ettlingen, Germany) equipped with a gradient system capable of 660mT/m maximum strength and 110 μ s rise-time. Excitation profiles were obtained with a Bruker ¹H transmit-receive volume coil with active detuning and with an inner diameter of 82mm used in transmit mode only. The volume coil was coupled to a RAPID Biomedical (Rimpar, Germany) mini flex surface receive coil with a diameter of 20mm for proton imaging.

³¹P spectroscopy was performed on a 7T 70/20 Bruker BioSpec system (Ettlingen, Germany) equipped with a gradient system capable of 660mT/m maximum strength and 110 μ s rise-time, due to the lack of ³¹P coil at 4.7T. Acquisitions were obtained with a 20mm ¹H/³¹P surface transmit/receive coil (Bruker, Ettlingen, Germany) tuned at 298MHz and 121MHz.

MR Acquisitions

2D T₁ mapping

In order to obtain T₁ maps of the rat gastrocnemius, a triggered radial-encoded Look-Locker sequence¹⁴ was adapted from a spiral-encoded Look-Locker sequence¹⁵ (**Figure 3a**). The global objective was to fill 20 k-spaces along the T₁ relaxation with radial projections. To do so, the first TTL triggered an inversion pulse followed by a train of 128 projections recorded in the first k-space. Then, the next TTL signal coming from the second stimulation triggered a second train of projections recorded in the second k-space. The same process occurred for the following k-spaces. Then, the system waited for the end of the recovery time. This was repeated until the n k-spaces were filled with the total number of projections set by the operator. The

sequence was first validated *in vitro* on a phantom composed of vials with different concentrations of gadolinium before *in vivo* application. The following parameters were chosen first: 3Hz stimulation at 6mA with bipolar pulses, each lasting 100 μ s. The temporization was set to 200ms to trigger acquisitions during the resting-state period, which allowed approximately 130ms time-window for MR acquisition.

Both resting and stimulated muscles were imaged with the following parameters: recovery time=7s; TR/TE=6.5/1.2ms; inversion pulse: gaussian, 1ms; excitation pulse: hermit, 1ms; flip angle=7 $^{\circ}$; Matrix 128x128; FOV 30x30 mm, 1 slice of 1.2mm; 128 projections per k-space; 8 projections per stimulation; T_{stim}=333ms (3Hz stimulation conditions), 20 k-spaces, acquisition time: 1min52s. The axial slice was positioned using 3 orthogonal scout views at the largest part of the gastrocnemius.

2D T₂ mapping

T₂ maps were acquired using a standard cartesian multi-slice multi-echo (MSME) sequence. The following acquisition parameters were used: TR/TE: 3500/3.5ms; inversion pulse: Hermite, 1.5ms; refocusing pulse: Hermite, 1ms; FOV 25x20; matrix 96x64; 30 echoes; 6 axial slices at rest, 1 axial slice during stimulations; acquisition time, 3min44s.

As for T₁ measurements, the beginning of a contraction cycle triggered a temporization, which length was calculated as a function of the length of the bipolar square pulses, to wait for the muscle to go back to its resting position. At the end of this pause, the card triggered a train of echoes that had to end before the next contraction cycle. A set of stimulation paradigms was investigated to assess T₂ changes in the muscle (**Figure 3b**).

- To assess the influence of stimulation current, the stimulation frequency was set at 1Hz and the length of the bipolar pulses was set at 100 μ s. Then images were acquired on the same rat as follows: 3 maps with 2mA stimulation, 3 maps with 6mA stimulation, 3 maps with 10mA stimulation, each stimulation interleaved with 3 maps at rest. This complete protocol lasted 1h25min.
- To assess the influence of frequency, the pulse intensity was set at 6mA and the length of the bipolar pulses was set at 100 μ s. Then images were acquired the following way: 3 maps with 0.5Hz stimulation, 3 maps with 1Hz stimulation, 3 maps with 2Hz stimulation, each stimulation interleaved with 3 maps at rest. This complete protocol lasted 1h25min.
- To assess the influence of the length of the bipolar pulses, the contraction frequency was set at 1Hz and the intensity was set to 6mA. Then images were acquired the following way: 3 maps with 50 μ s pulses stimulation, 3 maps with 100 μ s pulses stimulation, 3 maps with 200 μ s stimulation, each simulation interleaved with 3 maps at rest. The complete protocol lasted 1h25min.

³¹P spectroscopy

³¹P spectroscopy was performed at each level of stimulation. At rest, non-localized ³¹P FIDs were acquired with the following parameters: 100μs rectangular pulse; flip angle: 90°; repetition time, 2800ms; voxel size, 20x20x20mm³ (placed to enclose the whole leg of the rat) spectral width: 3.3kHz; data points: 1024; Number of excitation (Nex): 80; acquisition time: 3min44s. Of note, Nex was set to generate an acquisition duration similar with T₂ measurements.

Spectroscopy on stimulated muscles was synchronized and triggered exactly the same way as for T₂ acquisitions (**Figure 3c**). The same simulations paradigms were tested.

Data analysis

T₁ Fitting procedure

The T₁ maps were calculated by curve fitting of magnetization time-course in each pixel. First a mask was calculated so as to only proceed pixels in the gastrocnemius zone. The T₁ signal curve was fitted using equations [1] & [2] where S_i is the signal magnitude of the considered pixel in the i-th image, S_∞ the magnitude of the signal just before the next inversion pulse, α the flip angle, T_{stim} the period of a stimulation, n the number of projections acquired during each stimulation period and T₁ the longitudinal relaxation time¹⁵. The fitting procedure was developed and implemented in MATLAB (MathWorks, Natick, MA, USA).

$$S_i = S_\infty - (1 + S_\infty) \left[\cos^n \alpha e^{-\frac{T_{stim}}{T_1}} \right] \#(1)$$

with

$$S_\infty = \frac{1 - e^{-\frac{T_{stim}}{T_1}}}{1 - \cos^n \alpha e^{-\frac{T_{stim}}{T_1}}} \#(2)$$

The mean T₁ values were calculated as the mean T₁ of all the voxels within regions of interest (ROI) and the standard deviation was measured similarly.

T₂ Fitting procedure

The T₂ maps were generated similarly using the following equation which takes into account noise correction¹⁷:

$$S_{corr(i)} = \sqrt{|S(i)|^2 + 2N_c \left(\frac{\sigma}{C_{N_c}} \right)^2} \#(3)$$

where $S(i) = M_0 e^{-\frac{TE_i}{T_2}}$, $i \in \llbracket 2; N \rrbracket$, is the signal magnitude in the i -th image, $N_c=1$ the number of receiving coils, σ the standard deviation of the noise and $CN_c=0.655$ a coefficient depending on the number of receiving coils (here 1) as calculated by Henkelman¹⁸. The fitting procedure was developed and implemented in MATLAB (MathWorks, Natick, MA, USA).

³¹P spectroscopy quantification

Spectra were processed as the sum of Lorentzian lines in Igor Pro (Igor Pro 8, WaveMetrics, Lake Oswego, OR, USA). The PCr, P_i and different ATP peak areas were calculated and converted into concentrations using [ATP]=8.2mM. Intracellular pH was measured using the chemical shift of P_i relative to PCr.

Post-exercise recovery rate was evaluated by curve fitting as in Bourdel-Marchasson et al.⁸ using the following equation:

$$PCr(t) = PCr_0 + A(1 - e^{-kt}) \quad \#(4)$$

with PCr₀ the [PCr] at the end of the stimulation.

Data analysis

After calculation of T₁ and T₂ maps, regions of interest (ROIs) were manually placed at the center of the gastrocnemius, which location was confirmed from an anatomical image. This latter image was respectively the first echo-image during T₁ mapping or the second echo-image for T₂ mapping. Standard deviation of each ROI was measured for precision and intra-individual variability assessment. Moreover, for each stimulation paradigm, standard deviation between each animal was calculated to assess inter-individual variability as well.

Independence of T₁ and T₂ distributions, and [PCr], [P_i] and pH as well, in each and every resting or stimulated group was assessed by one-way ANOVA test. Differences between young and old rat models were compared with the same method.

Moreover, correlations between T₂, [PCr] and [P_i] were studied through covariance calculation using mean values for each paradigm and inter-individual variability.

RESULTS

T₁ mapping

Phantom imaging

First, the assessment of the optimal number of projections that should be acquired in each k-space and during each LL repetition time (TR) was performed. **Suppl Table 1** shows T₁ values measured in the two configurations that gave the best results considering the error percentage with the gold-standard inversion-recovery (IR) sequence. The two configurations were either 128 projections per k-space with 8 projections acquired per TR or 256 projections per k-space with 8 projections acquired each TR. The two configurations gave respectively an error of $3.8 \pm 1.3 \%$ and $3.9 \pm 1.4\%$ compared to IR. Mean R² were 0.990 ± 0.01 and 0.988 ± 0.02 , respectively. The two best configurations enabled to measure similar T₁ values but the second one takes twice as much time. Thus, the *in vivo* experiments were performed using 128 projections per full k-space and 8 projections were acquired in each k-space per TR.

In vivo imaging in young rats

In vivo images of the rat gastrocnemius were then obtained with the configuration previously chosen and T₁ maps were calculated. **Figure 4** shows T₁ and R² maps that were calculated on the data acquired in resting-state and during stimulation. T₁ maps that were calculated with images obtained during muscle stimulation presented no sign of motion artifacts or blurring. The mean T₁ and standard deviation for each region of interest were respectively $1457 \pm 105\text{ms}$ and $1456 \pm 116\text{ms}$, at rest and during stimulation for the four young rats. Moreover, the R² value at rest was 0.97 ± 0.02 and it did not drop significantly during stimulation (R² was 0.96 ± 0.02). The mean inter-individual variability was 25ms at rest and 43ms during stimulation. T₁ distributions at rest and during stimulation showed no difference ($p>0.05$).

In vivo imaging in older rats

In older rats (N=4), the T₁ measured at rest and during stimulation were $1518 \pm 75\text{ms}$ and $1500 \pm 107\text{ms}$, respectively. T₁ distributions at rest and during stimulation showed no difference ($p>0.05$). Moreover, no difference was estimated between young and older rats at rest, or between young and older rats during stimulation ($p>0.05$ for each case).

T₂ mapping

The new setup and synchronization card allowed to image the muscle during the three stimulation paradigms used. **Figure 5** shows typical T₂ and R² maps that were obtained on young rats at rest and during stimulation with the following parameters: 1Hz frequency, 6mA and 100us pulses length. As for T₁ mapping, there was

no noticeable artifact or blurring on the image that was acquired during the stimulation. In that particular example, T_2 lengthened from $27.6 \pm 3.8\text{ms}$ to $33.3 \pm 2.9\text{ms}$ when stimulated. Corresponding R^2 values were 0.929 ± 0.063 and 0.956 ± 0.046 . All T_2 maps that were calculated in the following experiments had R^2 ranging from 0.887 ± 0.06 to 0.990 ± 0.04 .

Effect of Muscle stimulation on T_2 , [PCr] and [Pi] in young rats

The three stimulation paradigms were first conducted for T_2 measurement (N=3 for each paradigm). Then they were applied on rats for [PCr] and [Pi] measurements (N=3 for each paradigm). Mean values and mean intra-experiment variability are shown in **Figure 6**. The plot in **a)** shows results obtained when varying the current, whereas plots in **b)** and **c)** show results obtained when varying pulses lengths and stimulation frequencies, respectively. Stimulation lengthens T_2 and increases [Pi], while [PCr] decreases. The largest changes in T_2 , [PCr] and [Pi] occurred as soon as the stimulations started, i.e. during the first MR acquisition after the beginning of the stimulation. Then for the following two acquisitions, each parameter tended to return to their resting-state values. Maximum T_2 values during stimulations stood similar while performing paradigms **b)** and **c)**. More precisely, the T_2 values of the gastrocnemius were $35.4 \pm 3.0\text{ms}$, $35.4 \pm 2.2\text{ms}$ and $36.2 \pm 2.2\text{ms}$ for stimulations with stimulation pulses of 50, 100 and 200 μs , respectively. Inter-individual variability was 2.2, 0.8 and 0.7ms, respectively. Also, in case of increasing frequencies (from 0.5 to 1Hz and to 2Hz), the gastrocnemius muscle maximum T_2 values were $32.9 \pm 2.4\text{ms}$, $33.2 \pm 2.2\text{ms}$ and $31.4 \pm 2.9\text{ms}$ respectively (Figure 6 **c)**). Inter-individual variability was 1.3, 2.9 and 5.6ms, respectively.

Maximum T_2 values appeared to increase along with the current of the stimulation (paradigm A). T_2 lengthened from $30.0 \pm 2.4\text{ms}$, to $33.3 \pm 2.9\text{ms}$ and to $35.1 \pm 2.5\text{ms}$ for currents ranging from 2 to 6 and to 10mA. Inter-individual variability was 2.9, 1.5 and 3.1ms, respectively.

In order to evaluate the lengthening of T_2 with stimulation, comparison between resting-state vs stimulations was performed (**Suppl Figure 1**, **Suppl Table 2**). T_2 , [PCr] and [Pi] distributions were significantly modified by every stimulation paradigm, e.g. T_2 lengthened by 10.8% while the muscle was stimulated. Also, [Pi] increased by 260% while [PCr] decreased by 25%.

Then, measurements were further investigated by assessing the evolutions of T_2 , [PCr] and [Pi] with the three different conditions tested in each paradigm (**Figure 7**, **Suppl Table 3**). This enabled to highlight that the measurements varied not only between resting and effort conditions, but also between stimulation conditions along one paradigm and even between resting phases. Indeed, [PCr] decreased significantly between the resting-states and the stimulation conditions, except when the frequency of stimulation was modified. [Pi] increased significantly from resting-state to stimulation only when the pulse length was modified. [Pi] measurement showed high standard deviations because of the rapid evolution of these values

during the stimulation. This limited to see any significant evolution with the intensities, pulse length or frequencies of the stimulation. Taking into account only the 1st acquisition during each stimulation did not give any statistical difference as well.

T₂ values were different between the resting-states and the stimulations, whatever the paradigm used. T₂ measurements increased by 7.2%, 20.0% and 19.1% with the current of the stimulation. However, T₂ measurements were not affected by modifications of the pulse length during stimulation. Similarly, the T₂ values did not change with the frequency of the stimulation. More differences of distributions and groups could be distinguished due to T₂ values, compared to [PCr] and [Pi], showing complementary information.

Finally, correlations between T₂, [PCr] and [Pi] were investigated. For each stimulation paradigm, three points distributions are shown (**Suppl Figure 2**), T₂ as a function of [PCr], T₂ as a function of [Pi] and [Pi] as a function of [PCr]. T₂ showed a mean correlation of -0.81 ± 0.08 with [PCr] and of 0.65 ± 0.09 with [Pi] over the three paradigms.

Muscle stimulation study through T₂, [PCr] and [Pi] in older rats

The three paradigms conducted on young rats were then tested on older rats. As for young rats, they were first conducted for T₂ mapping (N=4 for each paradigm) and then for [PCr] and [Pi] measurements (N=3 for each paradigm). The results obtained are shown on **Figure 8**. First of all, it is notable that [PCr] were different in young and older rats prior to stimulations, respectively of 33.7 ± 2.0 mM and 39.5 ± 4.5 mM ($p < 0.0001$). On the contrary, [Pi] at rest in young and older rats were similar, 2.6 ± 1.6 mM and 1.9 ± 0.6 mM, respectively ($p > 0.05$). Likewise, T₂ values at rest were respectively of 28.4 ± 1.3 ms and 27.8 ± 0.4 ms in young and older rats ($p > 0.05$).

Contrarily to young rats, **Figure 8** shows no modifications of [PCr] and [Pi] (but still a T₂ lengthening) during the first stimulation condition in **a**) and **b**) in older rats. This corresponds to stimulations with the following parameters: 2mA, 100 μ s and 1Hz in **a**) and 6mA, 50 μ s and 1Hz in **b**). Furthermore, the mean decrease of [PCr] in older rats after a transition from resting-state to stimulation was of $54.1 \pm 7.7\%$ whereas it was of $45.2 \pm 10.1\%$ in young rats, but were not significantly different ($p > 0.05$).

The mean [PCr] recovery after each 12min stimulation period in young rats was 91% and 95% after 4min and 12min rest, respectively. In older rats, the mean [PCr] recovery was 84% and 90% after 4min and 12min of resting, respectively. Moreover, the mean [PCr] at the very end of each paradigm was 10.1% lower than it was at the very beginning of each paradigm in young rats, while it was 23.3% lower in elder rats, meaning

that young rats almost fully recovered [PCr] from the stimulation whereas older rats did not. However, $V_i\text{PCr}$ was $27.1 \pm 7.8 \mu\text{mol/s}$ and $54.3 \pm 14.4 \mu\text{mol/s}$ in young and older rats, respectively.

The evolution of T_2 values in the muscle along the three stimulation paradigms were similar in older and in young rats, except for the first 12min of stimulation in paradigm **b)** where maximal T_2 value differed by 15.3% between the two groups. Other maximum T_2 values during the 12min stimulation sets were only different by 2.9% while comparing the two groups. In comparison to before the beginning of the stimulation sets, T_2 values were higher of 8.1% and 3.6% after respectively 4min and 12min of resting in young rats. In older rats, T_2 values were higher by 7.8% and 4.8% respectively.

DISCUSSION

In the current study, a compatible setup for rat gastrocnemius electrostimulation and MRI/MRS is presented. An electronic card enabling synchronization between the electro stimulator and the MRI scanner was also developed. This setup combined with the synchronization card enabled to obtain T_1 maps, T_2 maps and ^{31}P spectrums of the rat gastrocnemius both at rest and electro-stimulated with strong reproducibility. In vitro and in vivo studies did not show any motion artifact during electrostimulation which validates the synchronization system and the triggered sequences. The cradle presented here can be used with any receive surface coil. The whole setup answers several technical constraints. First, it completely fits inside the magnet and does not provoke electrical noise. The combination of a volume transmit coil with a surface receive coil gives remarkable magnetic field homogeneity in the gastrocnemius region, which is primordial for relaxation times measurements. The position of the electrodes allows to specifically activate the gastrocnemius due to the robust positioning. Also, 3D plans can easily be modified to be adapted to other geometric specification and new pieces can be quickly printed and adapted to any preclinical magnet.

A radial-encoded sequence was chosen because of several reasons. First, these sequences have proven to be robust to motion artifacts. Also, they enable under-sampling of projections while keeping satisfying image resolution, which is an asset to shorten acquisition time. Concerning T_2 measurements, multi-slicing was performed at rest in order to reposition the next stimulated axial slice in case of displacement provoked by the stimulations, but not during stimulations. Inversion and refocusing pulses were then applied on the whole leg, impeding multi-slicing possibility. Moreover, the time-window for acquisition after each stimulation with frequencies higher than 2Hz is not long enough for T_2 measurements. That is why a segmented T_2 measurement method is being developed, showing promising reduction of motion artifacts. The main drawback of this method being the lengthening of total acquisition time. Another challenging improvement could be localized spectroscopy in the region of the gastrocnemius.

T_1 relaxation times have been measured at 3T in the rat gastrocnemius by Baron et al. and were estimated at $1264 \pm 190\text{ms}$ at rest¹⁶, which supports the T_1 values measured here taking into account the higher magnetic field at 4.7T. Also, the T_1 measured here showed no significant difference between resting-state and stimulation whether it was in young or in older rats. It didn't show any significant difference between young and older rats as well, which seems to be in accordance with literature¹⁹.

In young and older rats, T_2 values were longer during and after being stimulated, which is in accordance with the literature in small animals^{9,13,20} and in humans^{5,12,21,22}. On the contrary, no differences were found between young and older rats. In humans however, T_2 appears to lengthen with age, and even more with the

effects of the frailty syndrome^{3,19}. Nevertheless, the main factor of T_2 increase in older people is the atrophy of muscle fibers and the reduction of their numbers, leading to an augmentation of extracellular water. Our model of older rats did not seem to have a significant muscular atrophy and thus could explain why T_2 values were similar to young rats. T_2 modifications showed higher correlations with the current of the stimulations than with the other parameters. It rose progressively as the current was increased in the paradigm **a)** both in young and older rats. On the other hand, in young rats, maximum T_2 values were similar during the three stimulations in **b)** and **c)** in young rats. The same phenomenon could be observed in elder rats, except for the first stimulation in **a)** and **b)** where the stimulation did not provoke metabolic response. T_2 measurements showed many differences between stimulated and resting conditions and enabled to distinguish more muscle responses than [PCr] and [Pi] observations (**Figure 7**). It offers a promising perspective for muscle exploration, plus T_2 mapping enables 2-dimensional information.

Concerning the three paradigms of stimulation and spectroscopy, extremum values under stimulation conditions were reached during the first measurement, but started to go back to resting-state values during the two next measurements. The explanation to this phenomenon is that the setup was tested under extreme movement conditions to see its limitations, using intense muscle contractions. Muscle could not keep up with the stimulations and reach steady-state. The setup was controlled with stimulations as in Arzac et al.⁶ and gave similar results (**Supp. Figure 3**). Moreover, the major difference between young and older rats is the first condition of paradigms **a)** and **b)** in the **Figure 8**. [PCr] did not drop and [Pi] did not increase in older rats. With aging, motoneurons are impaired and their number decreases in rats^{23,24} and in humans^{25,26}. One lead concerning the metabolic non-response could be that the electric current sent through the muscle did not circulate well enough because of this loss of motoneurons.

The [PCr] baseline was significantly higher in old rats than in young rats, which seems to be in accordance with literature in humans^{27,28}. Also, PCr recovery was longer in old rats even though their ViPCr was faster, recovery speed rapidly slowing down. Varadhan et al. showed that in older people, and especially in frailty people, PCr recovery is slower²⁹. [PCr] is often associated with muscle fatigue^{30,31} and concentrations were proportionally lower at the end of each paradigm in old rats. This would mean that old rats would need more time to recover after going through the same effort. However, T_2 were not longer at the end of the paradigms than at the very beginning, which could mean complete recovery.

The major limitation of this study is that only few animals were included in this study because it is not possible to directly purchase older rats (>18 months). Nevertheless, the data from the old rats showed enough reproducibility to validate the set-up and to compare with young rats.

Another limitation is related to available equipment and materials. Indeed, the ^{31}P was only available on a 7T scanner, whereas the ^1H receive coil was tuned at 200MHz. This issue actually enabled us to validate the set-up on multiple scanners, and demonstrate its large use for any Bruker equipment.

Future goals will be to longitudinally follow-up rats with different conditions of sarcopenia to better understand the mechanisms of this pathology. Rats diagnosed with frailty and pre-frailty conditions could go through daily exercise (using an exercise wheel) to see how the muscle evolves. The setup would allow T_1 and T_2 mapping of the legs, and [PCr] and [Pi] could be measured. Moreover, a triggered T_2^* mapping sequence could be adapted, providing complementary information. A multi-nuclei $^1\text{H}/^{31}\text{P}$ surface receive coil could be used to prevent changing magnets. Force output could be also examined due to the pressure transducer. As sarcopenia is supposed to be reversible³², the efficiency of treatment could be evaluated. Also, our set up could assess muscular structural reconstructions³³ after stem cells injection. Moreover, the system could be used on rat models of muscular dystrophies as well.

CONCLUSION

In this project, a complete setup and protocol for multi-parametrical MRI of the rat gastrocnemius before, during and after muscle stimulation at 4.7 and 7T was presented. T_1 and T_2 relaxation times measurements, as well as ^{31}P MRS, were performed before, during and after muscle stimulation. The setup was validated on young rat models with good reproducibility. The protocol was then applied on older rat model and metabolic differences were observed in comparison to young rats. The setup can be modified and adapted to any pre-clinical magnet and therefore offers a wide range of application possibilities.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by a public grant from the Nouvelle-Aquitaine region.

DATA AVAILABILITY

The full setup is open-source and can be found at https://github.com/CRMSB/NMRBiomed_Loubrie_setup. The repository contains FreeCAD design plans as well as Arduino Uno synchronization code and T_1 -mapping compiled sequence. Cartesian and non-cartesian images reconstruction and fitting procedures Matlab codes can also be found.

REFERENCES

1. Li K, Dortch RD, Welch EB, et al. Multi-parametric MRI Characterization of Healthy Human Thigh Muscles at 3.0T - Relaxation, Magnetization Transfer, Fat/Water, and Diffusion Tensor Imaging. *NMR Biomed.* 2014;27(9):1070-1084. doi:10.1002/nbm.3159
2. Park JH, Olsen NJ, Jr LK, et al. Use of magnetic resonance imaging and p-31 magnetic resonance spectroscopy to detect and quantify muscle dysfunction in the amyopathic and myopathic variants of dermatomyositis. *Arthritis Rheum.* 1995;38(1):68-77. doi:10.1002/art.1780380111
3. Melville DM, Mohler J, Fain M, et al. Multi-parametric MR imaging of quadriceps musculature in the setting of clinical frailty syndrome. *Skeletal Radiol.* 2016;45(5):583-589. doi:10.1007/s00256-015-2313-3
4. Giannesini B, Cozzone PJ, Bendahan D. In vivo MR investigation of skeletal muscle function in small animals. *Magn Reson Mater Phys Biol Med.* 2004;17(3):210-218. doi:10.1007/s10334-004-0080-6
5. Hatakenaka M, Ueda M, Ishigami K, Otsuka M, Masuda K. Effects of aging on muscle T2 relaxation time: difference between fast- and slow-twitch muscles. *Invest Radiol.* 2001;36(12):692-698. doi:10.1097/00004424-200112000-00003
6. Arsac LM, Beuste C, Miraux S, et al. In vivo modular control analysis of energy metabolism in contracting skeletal muscle. *Biochem J.* 2008;414(3):391-397. doi:10.1042/BJ20080280
7. Allen PS, Matheson GO, Zhu G, et al. Simultaneous 31P MRS of the soleus and gastrocnemius in Sherpas during graded calf muscle exercise. *Am J Physiol.* 1997;273(3 Pt 2):R999-1007. doi:10.1152/ajpregu.1997.273.3.R999
8. Bourdel-Marchasson I, Biran M, Dehail P, et al. Muscle phosphocreatine post-exercise recovery rate is related to functional evaluation in hospitalized and community-living older people. *J Nutr Health Aging.* 2007;11(3):215-221.
9. Giannesini B, Vilmen C, Le Fur Y, Dalmaso C, Cozzone PJ, Bendahan D. A strictly noninvasive MR setup dedicated to longitudinal studies of mechanical performance, bioenergetics, anatomy, and muscle recruitment in contracting mouse skeletal muscle. *Magn Reson Med.* 2010;64(1):262-270.
10. Gousspillou G, Bourdel-Marchasson I, Rouland R, et al. Mitochondrial energetics is impaired in vivo in aged skeletal muscle. *Aging Cell.* 2014;13(1):39-48. doi:10.1111/accel.12147
11. Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, et al. Sarcopenia: Revised European consensus on definition and diagnosis. *Age Ageing.* 2019;48(1):16-31. doi:10.1093/ageing/afy169
12. Varghese J, Scandling D, Joshi R, et al. Rapid Assessment of Quantitative T1, T2, and T2* in Lower Extremity Muscles in Response to Maximal Treadmill Exercise. *NMR Biomed.* 2015;28(8):998-1008. doi:10.1002/nbm.3332
13. Prior BM, Ploutz-Snyder LL, Cooper TG, Meyer RA. Fiber type and metabolic dependence of T2

- increases in stimulated rat muscles. *J Appl Physiol Bethesda Md 1985*. 2001;90(2):615-623. doi:10.1152/jappl.2001.90.2.615
14. Look DC, Locker DR. Time Saving in Measurement of NMR and EPR Relaxation Times. *Rev Sci Instrum*. 1970;41(2):250-251. doi:10.1063/1.1684482
 15. Castets C, Ribot E, Lefrançois W, et al. Fast and robust 3D T1 mapping using spiral encoding and steady RF excitation at 7 T: application to cardiac manganese enhanced MRI (MEMRI) in mice. *NMR Biomed*. 2015;28(7):881-889. doi:10.1002/nbm.3327
 16. Baron K, Neumayer B, Amerstorfer E, et al. Time-Dependent Changes in T1 during Fracture Healing in Juvenile Rats: A Quantitative MR Approach. Wallace JM, ed. *PLOS ONE*. 2016;11(11):e0164284. doi:10.1371/journal.pone.0164284
 17. Raya JG, Dietrich O, Horng A, Weber J, Reiser MF, Glaser C. T2 measurement in articular cartilage: Impact of the fitting method on accuracy and precision at low SNR. *Magn Reson Med*. 2010;63(1):181-193. doi:10.1002/mrm.22178
 18. Henkelman RM. Measurement of signal intensities in the presence of noise in MR images. *Med Phys*. 1985;12(2):232-233. doi:10.1118/1.595711
 19. Morrow JM, Sinclair CDJ, Fischmann A, et al. Reproducibility, and age, body-weight and gender dependency of candidate skeletal muscle MRI outcome measures in healthy volunteers. *Eur Radiol*. 2014;24(7):1610-1620. doi:10.1007/s00330-014-3145-6
 20. Marqueste T, Giannesini B, Fur YL, Cozzone PJ, Bendahan D. Comparative MRI analysis of T2 changes associated with single and repeated bouts of downhill running leading to eccentric-induced muscle damage. *J Appl Physiol Bethesda Md 1985*. 2008;105(1):299-307. doi:10.1152/japplphysiol.00738.2007
 21. Le Rumeur E, Carré F, Bernard AM, Bansard JY, Rochcongar P, De Certaines JD. Multiparametric classification of muscle T1 and T2 relaxation times determined by magnetic resonance imaging. The effects of dynamic exercise in trained and untrained subjects. *Br J Radiol*. 1994;67(794):150-156. doi:10.1259/0007-1285-67-794-150
 22. Bourne MN, Williams MD, Opar DA, Al Najjar A, Kerr GK, Shield AJ. Impact of exercise selection on hamstring muscle activation. *Br J Sports Med*. 2017;51(13):1021-1028. doi:10.1136/bjsports-2015-095739
 23. Fogarty MJ, Gonzalez Porras MA, Mantilla CB, Sieck GC. Diaphragm neuromuscular transmission failure in aged rats. *J Neurophysiol*. 2019;122(1):93-104. doi:10.1152/jn.00061.2019
 24. Fogarty MJ, Omar TS, Zhan W-Z, Mantilla CB, Sieck GC. Phrenic motor neuron loss in aged rats. *J Neurophysiol*. 2018;119(5):1852-1862. doi:10.1152/jn.00868.2017
 25. Webber SC, Porter MM, Gardiner PF. Modeling age-related neuromuscular changes in humans. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2009;34(4):732-744. doi:10.1139/H09-052

26. Drey M, Krieger B, Sieber CC, et al. Motoneuron Loss Is Associated With Sarcopenia. *J Am Med Dir Assoc*. 2014;15(6):435-439. doi:10.1016/j.jamda.2014.02.002
27. Tevald MA, Foulis SA, Lanza IR, Kent-Braun JA. Lower energy cost of skeletal muscle contractions in older humans. *Am J Physiol-Regul Integr Comp Physiol*. 2010;298(3):R729-R739. doi:10.1152/ajpregu.00713.2009
28. Rawson ES, Clarkson PM, Price TB, Miles MP. Differential response of muscle phosphocreatine to creatine supplementation in young and old subjects. *Acta Physiol Scand*. 2002;174(1):57-65. doi:10.1046/j.1365-201x.2002.00924.x
29. R. Varadhan, D.W. Russ, R.E. Gabr, et al. Relationship of physical frailty to phosphocreatine recovery in muscle after mild exercise stress in the oldest-old women. Published online 2019. doi:10.14283/JFA.2019.21
30. Cooke R, Pate E. The effects of ADP and phosphate on the contraction of muscle fibers. *Biophys J*. 1985;48(5):789-798. doi:10.1016/S0006-3495(85)83837-6
31. Cooke R, Franks K, Luciani GB, Pate E. The inhibition of rabbit skeletal muscle contraction by hydrogen ions and phosphate. *J Physiol*. 1988;395(1):77-97. doi:10.1113/jphysiol.1988.sp016909
32. Montero-Fernández N, Serra-Rexach JA. Role of exercise on sarcopenia in the elderly. *Eur J Phys Rehabil Med*. 2013;49(1):131-143.
33. Wosczyzna MN, Rando TA. A Muscle Stem Cell Support Group: Coordinated Cellular Responses in Muscle Regeneration. *Dev Cell*. 2018;46(2):135-143. doi:10.1016/j.devcel.2018.06.018

CAPTIONS

Figure 1. Schematic representation of the non-invasive setup. The rat is placed in supine position. Its foot is attached to the pedal and the heel and the knee are in contact with surface conducting electrodes. The cables of the stimulator are directly plugged in

Figure 2. Electronic synchronization card. **a)** Schematic representation of the card. Part a) limited positive tension to 3.9V and negative tension to -0.6V so as to protect the microprocessor. Part b) detected the beginning of the bipolar square pulses and sent a TTL signal to the MRI in order to trigger acquisition during the time when the muscle did not move. **b)** Picture of the synchronization card. Different parts are outlined.

Figure 3. Relaxation times and spectroscopy triggering principles. **a)** shows the triggered 2D radial-encoded Look-Locker sequence. The first TTL signal triggers the inversion pulse followed by two radial projections in the first k -space. The next TTL signals triggers the acquisition of two radial projections in the respective k -spaces. This process is repeated until k -spaces are full. **b)** shows the triggered MSME sequence. The TTL signal triggers the 90° pulse which is followed by 30 echoes. Then the system waits for the first TTL signal after the end of the repetition time. Finally, **c)** shows the triggering of the ^{31}P spectroscopy. The TTL signal triggers the FID in the time windows when the muscle is resting. Then the system waits for the first TTL signal after the end of the repetition time.

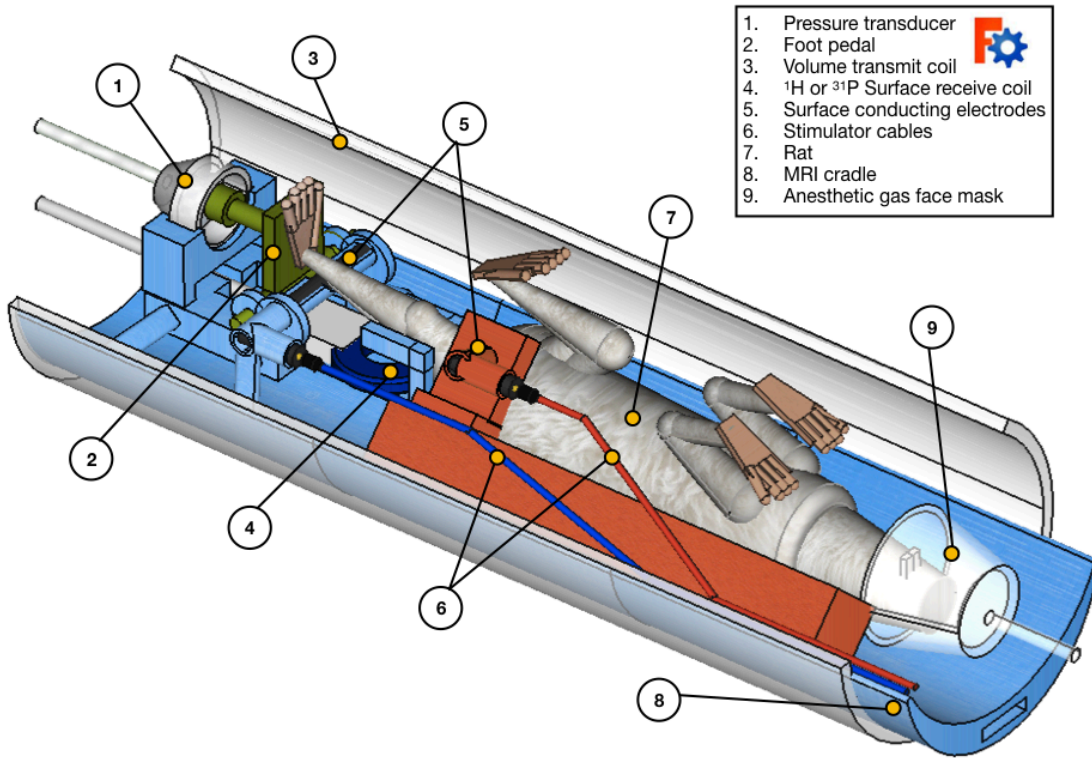
Figure 4. Rat gastrocnemius T_1 (a) and R^2 (b) maps. Maps were obtained during resting-state (left) and during stimulation with the following parameters: 3Hz frequency, 6mA current and 100 μs for the pulses length (right).

Figure 5. Rat gastrocnemius T_2 (a) and R^2 (b) maps. Maps were obtained during resting-state (left) and during stimulation with the following parameters: 1Hz frequency, 6mA current and 100 μs for the pulses length (right).

Figure 6. T_2 , [PCr] and [Pi] measurements during the three stimulation paradigms in young rats. Plots **a)**, **b)** and **c)** show results when varying respectively stimulation intensities, pulses length and frequencies. During experiment **a)**, the frequency is set to 1Hz and the pulses length are set to 100 μs . During experiment **b)** the stimulation frequency is set to 1Hz and the current is set to 6mA. Finally, in **c)**, the pulses lengths are set to 100 μs and the current of the stimulation is set to 6mA. Error bars stand for inter-individual standard deviation.

Figure 7. Significance of differences of distributions for T_2 , [PCr] and [Pi] measurements in every group in every stimulation paradigm in young rats. $p\text{H}$ was not showed because it had no significant differences between groups. * Significant difference between two groups (* $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$; **** $p<0.0001$)

Figure 8. T_2 , [PCr] and [Pi] measurements during the three stimulation paradigms in older rats. Plots **a)**, **b)** and **c)** show results when varying respectively stimulation intensities, pulses length and frequencies. During experiment **a)**, the frequency is set to 1Hz and the pulses length are set to 100 μs . During experiment **b)** the stimulation frequency is set to 1Hz and the current is set to 6mA. Finally, in **c)**, the pulses lengths are set to 100 μs and the current of the stimulation is set to 6mA. Error bars stand for inter-individual standard deviation.



1. Pressure transducer
2. Foot pedal
3. Volume transmit coil
4. ^1H or ^{31}P Surface receive coil
5. Surface conducting electrodes
6. Stimulator cables
7. Rat
8. MRI cradle
9. Anesthetic gas face mask

FIGURE 1

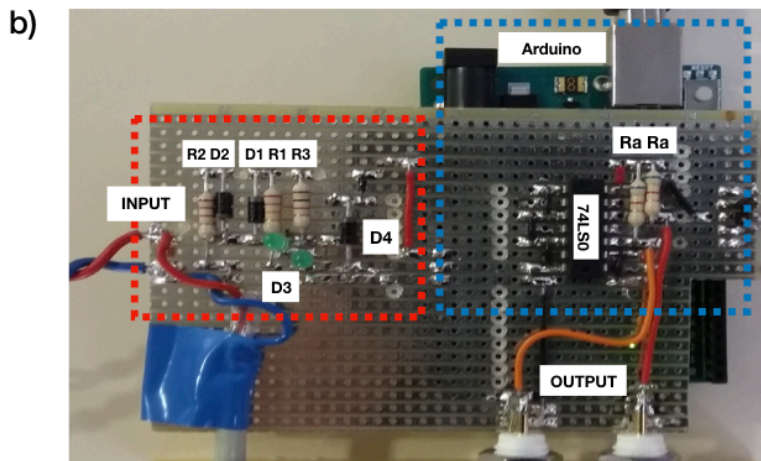
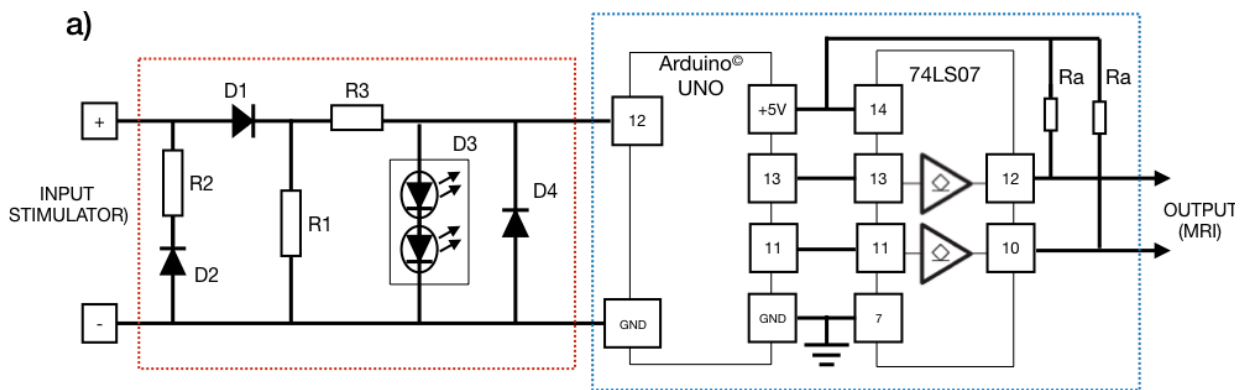


FIGURE 2

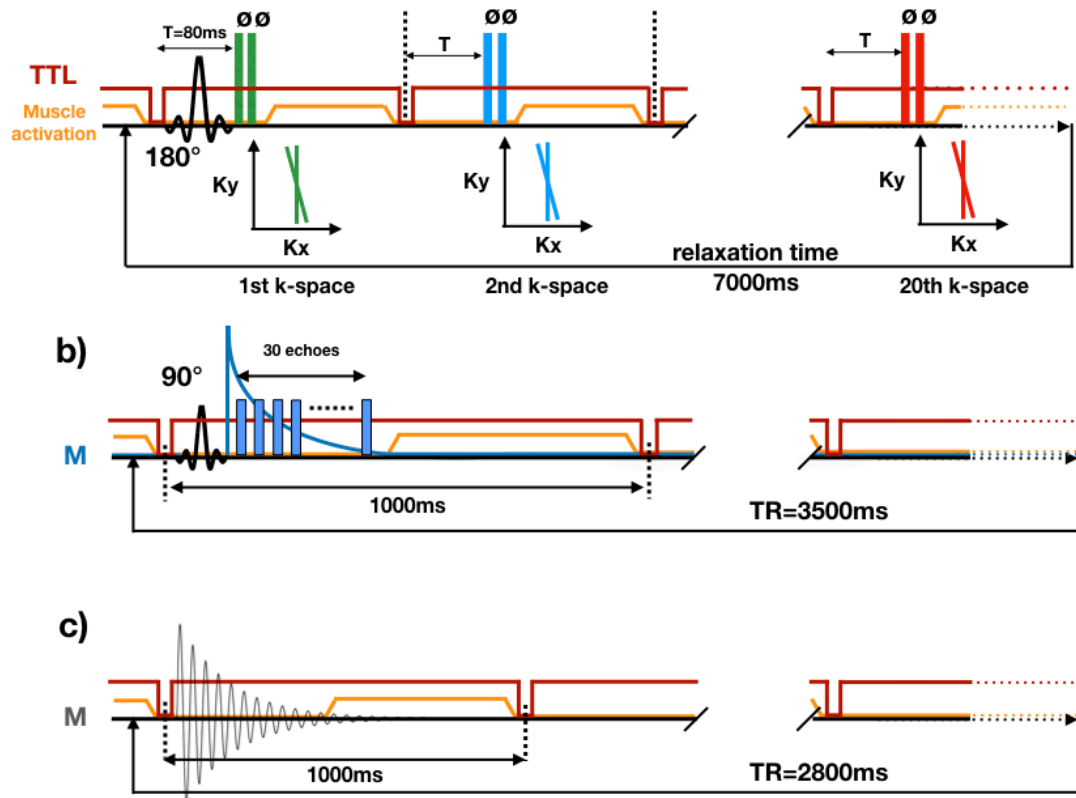


FIGURE 3

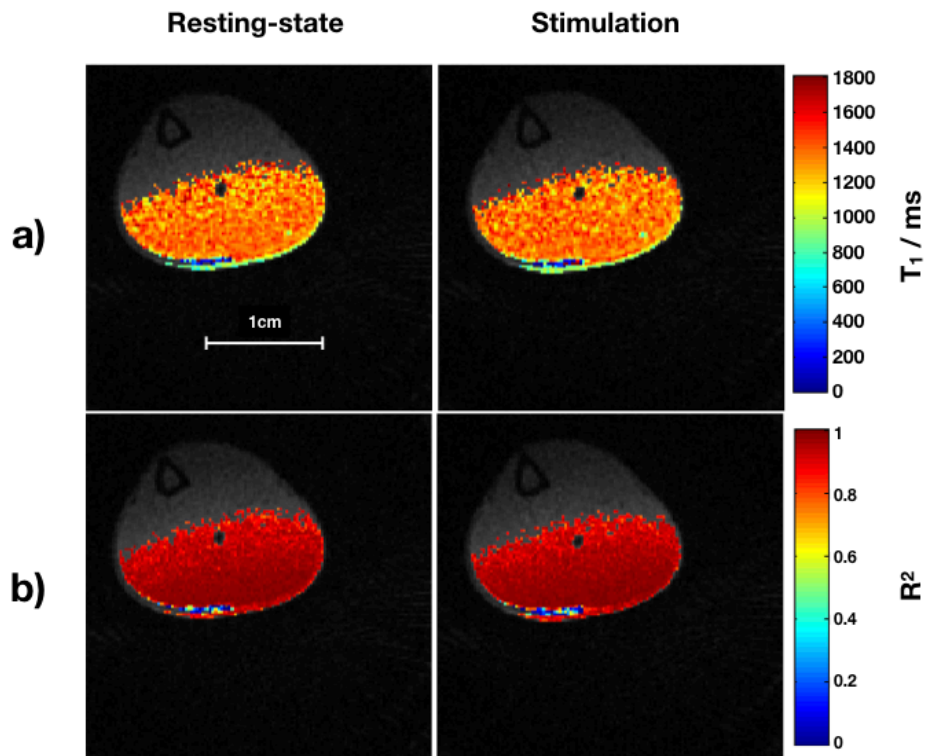


FIGURE 4

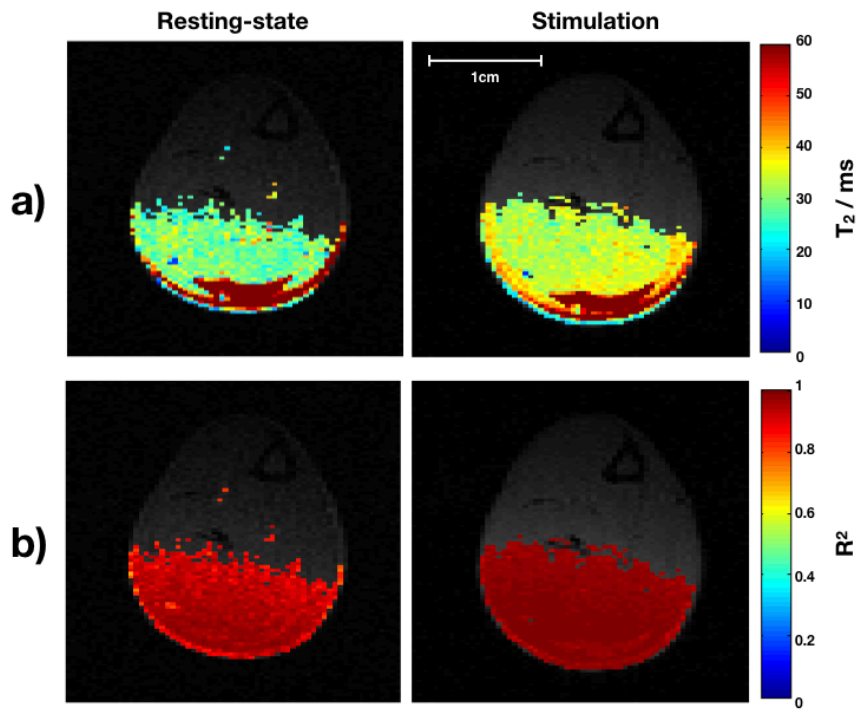


FIGURE 5

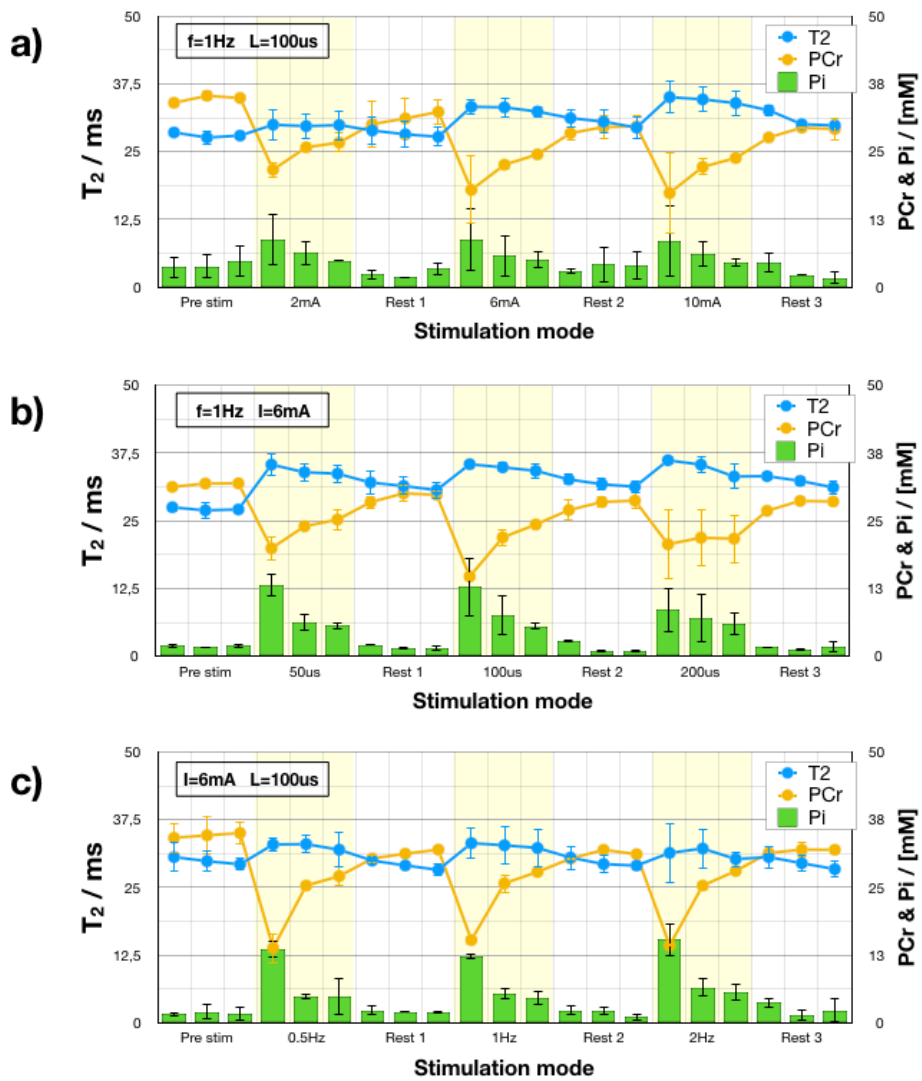


FIGURE 6

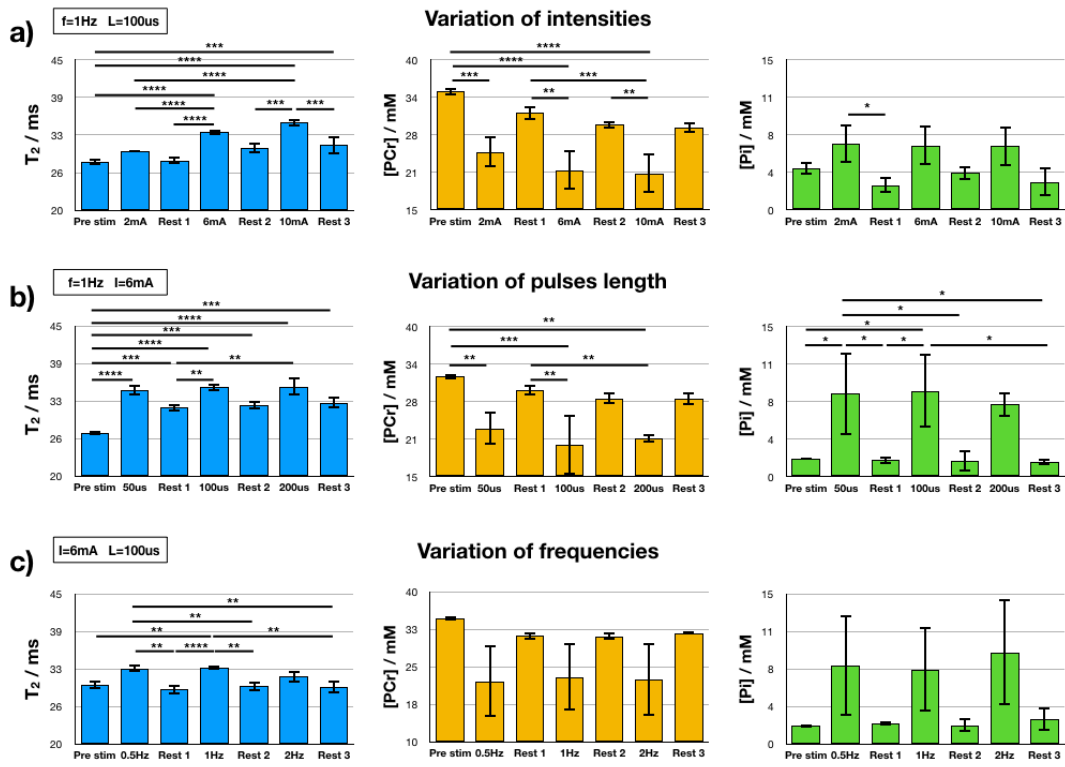


FIGURE 7

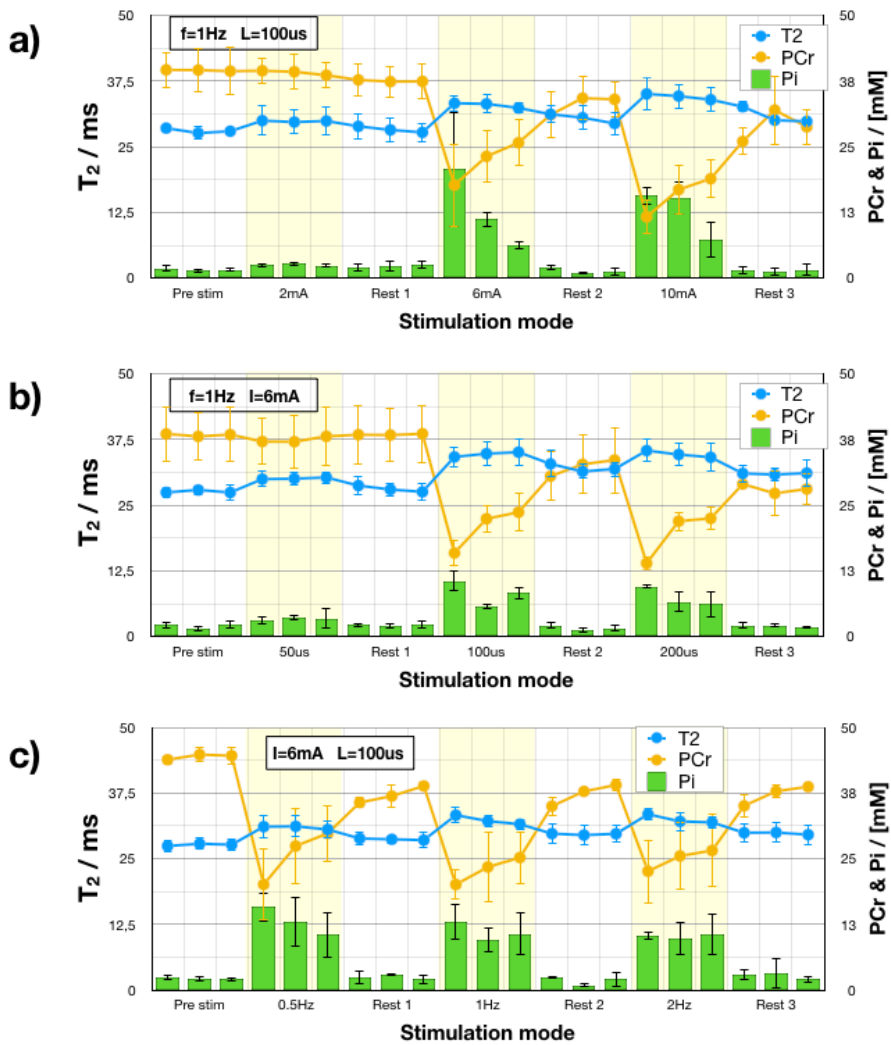


FIGURE 8

Supplementary material

[Gd] / mM	128ø - 8ø per TR		256ø - 8ø per TR		IR	
	T ₁ / ms	R ²	T ₁	R ²	T ₁	R ²
75	1368 ± 33	0.99	1371 ± 31	0.99	1433 ± 2	0.99
100	1162 ± 4	0.99	1166 ± 7	0.99	1184 ± 9	0.99
135	940 ± 13	0.99	940 ± 11	0.99	982 ± 4	0.99
215	772 ± 12	0.99	772 ± 13	0.99	810 ± 9	0.99
Mean r1 / mM ⁻¹ s ⁻¹	8.06 ± 0.08		8.05 ± 0.09		7.76 ± 0.01	
Mean err %	3.8 ± 1.3		3.9 ± 1.4			
Tacq	1'54''		3'48''		8h	

Supp. Table 1 - T₁ measurements of Gd phantom obtained with the inversion-recovery sequence and the radial-encoded Look-Locker method.

	Variation of intensities			Variation of pulses			Variation of frequencies		
	T ₂ / ms	[PCr] / mM	[Pi] / mM	T ₂	[PCr]	[Pi]	T ₂	[PCr]	[Pi]
Rest	29.8 ± 1.5	29.7 ± 2.6	3.0 ± 1.1	31.8 ± 2.2	28.5 ± 1.7	1.6 ± 0.5	29.4 ± 0.8	31.4 ± 1.6	2.2 ± 0.6
Stim	33.9 ± 0.9	22.5 ± 3.2	6.5 ± 1.7	34.7 ± 1.0	21.6 ± 3.1	8.0 ± 2.9	32.2 ± 0.9	22.6 ± 6.1	8.2 ± 4.3

Supp. Table 2 – Resting-state and during stimulation T₂, [PCr], [Pi] measurements in young rats. Means and standard deviations were calculated using the points composing each group.

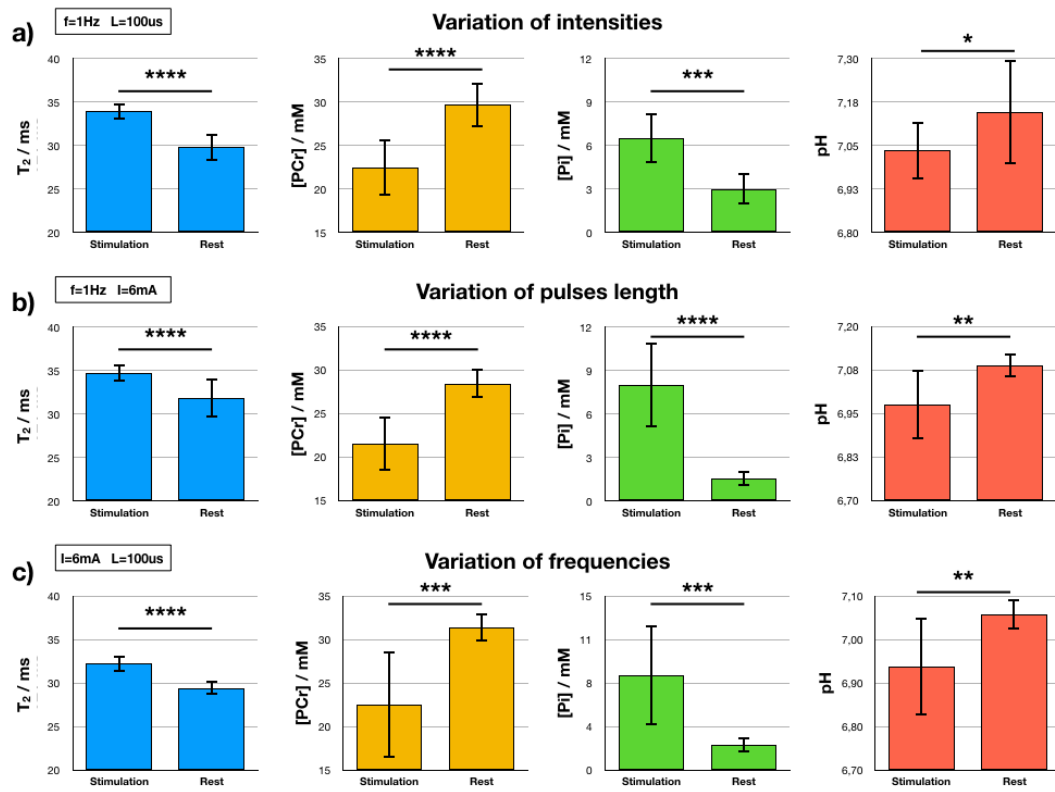
	Variation of intensities			Variation of pulses			Variation of frequencies				
	T ₂	[PCr]	[Pi]	T ₂	[PCr]	[Pi]	T ₂	[PCr]	[Pi]		
Pre-stim	28.0 ± 0.5	34.7 ± 0.7	4.2 ± 0.6	Pre-stim	27.2 ± 0.3	31.7 ± 0.3	1.8 ± 0.1	Pre-stim	29.9 ± 0.7	34.6 ± 0.4	1.8 ± 0.2
2mA	29.9 ± 0.1	24.7 ± 2.7	6.7 ± 1.9	50μs	34.3 ± 0.9	23.0 ± 2.8	8.3 ± 4.1	0.5Hz	32.6 ± 0.6	22.1 ± 7.2	7.8 ± 5.1
Rest 1	28.3 ± 0.6	31.2 ± 1.1	2.5 ± 0.8	Rest 1	31.4 ± 0.7	29.4 ± 0.9	1.7 ± 0.3	Rest 1	29.1 ± 0.8	31.2 ± 0.8	2.1 ± 0.2
6mA	33.0 ± 0.5	21.7 ± 3.4	6.5 ± 1.9	100μs	34.8 ± 0.6	20.3 ± 5.0	8.6 ± 3.7	1Hz	32.8 ± 0.4	23.0 ± 6.7	7.5 ± 4.2
Rest 2	30.4 ± 0.9	29.2 ± 0.7	3.7 ± 0.7	Rest 2	31.9 ± 1.5	28.0 ± 0.9	1.6 ± 1.1	Rest 2	29.6 ± 0.8	31.1 ± 0.8	1.9 ± 0.7
10mA	34.6 ± 0.6	21.1 ± 3.4	6.4 ± 2.0	200μs	34.9 ± 1.5	21.4 ± 0.6	7.2 ± 1.2	2Hz	31.3 ± 1.0	22.6 ± 7.3	9.2 ± 5.3
Rest 3	30.8 ± 1.6	28.7 ± 1.0	2.8 ± 1.5	Rest 3	32.2 ± 1.0	28.0 ± 1.0	1.5 ± 0.3	Rest 3	29.5 ± 1.1	31.8 ± 0.3	2.5 ± 1.2

Supp. Table 3 – T₂, [PCr], [Pi] measurements for each each group in every stimulation paradigm in young rats. Means and standard deviations were calculated using the three points composing each group.

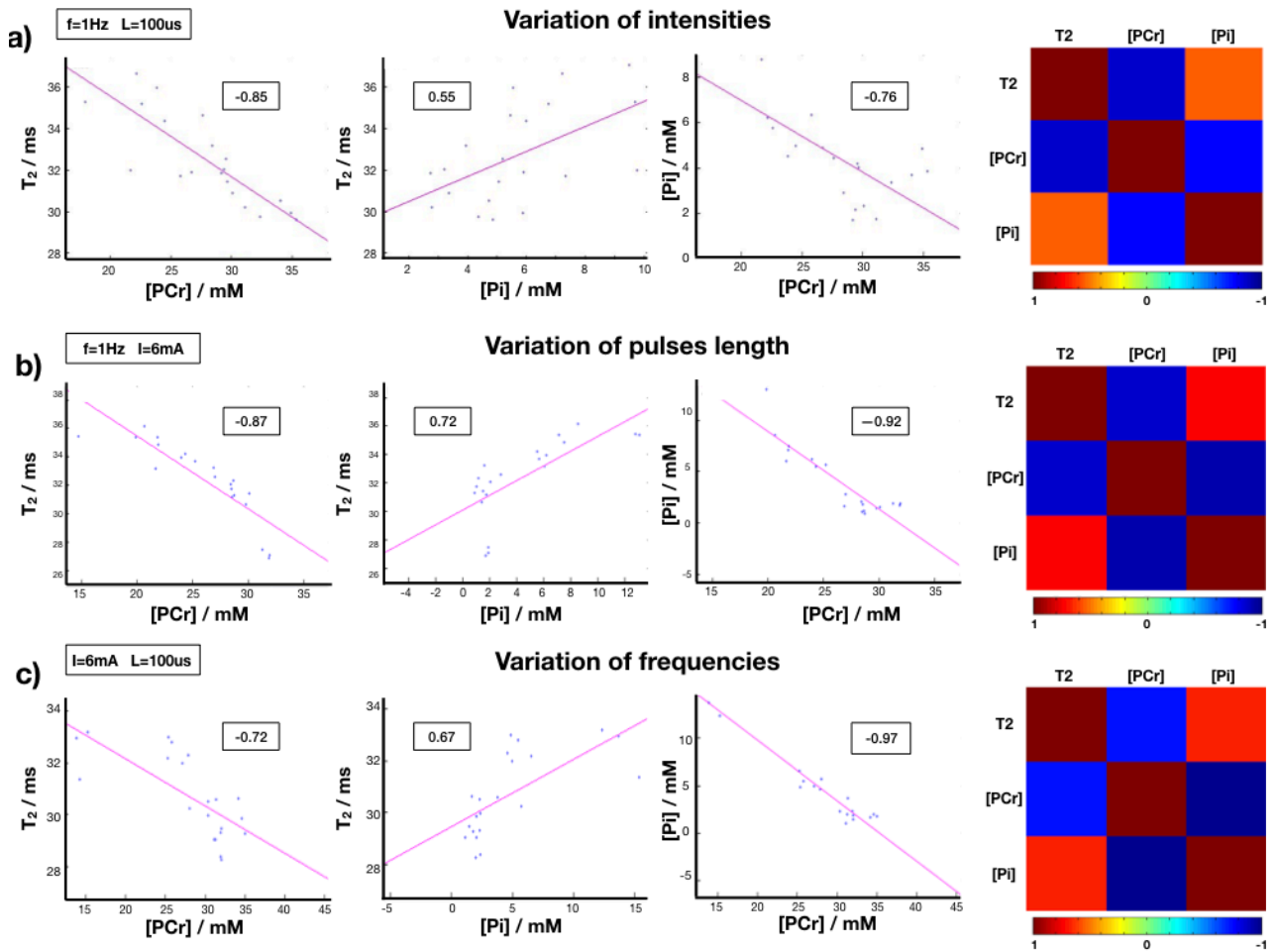
Supp. Figure 1 - Differences of T₂, [PCr], [Pi] and pH between resting-state and stimulated-state in young rats.

Supp. Figure 2 – Correlations plots and matrixes between T₂, [PCr] and [Pi] using measurements on young rats along the three stimulation paradigms.

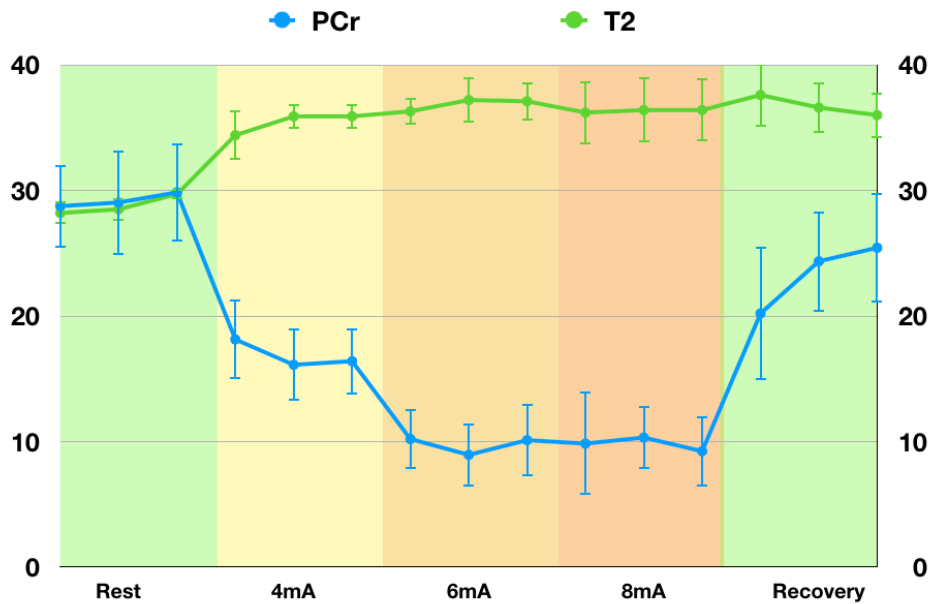
Supp. Figure 3 – T₂ and [PCr] measurements using a stimulation control paradigm. Gastrocnemius was stimulated at 3Hz using a single pulse of 220μs. Intensity was progressively increased at 4mA, 6mA and 8mA before a recovery state. 3 measurements were performed during each condition.



SUPP. FIGURE 1



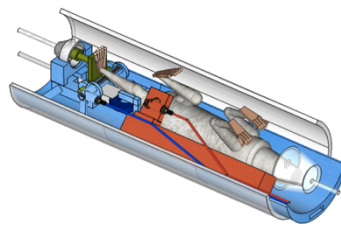
SUPP. FIGURE 2



SUPP. FIGURE 3

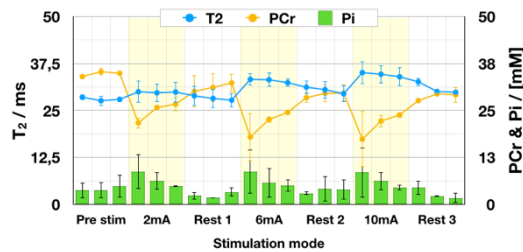
Graphical abstract

The rat is placed in supine position, its foot attached to a pedal, with the gastrocnemius above the receive coil and is fully anesthetized during the experiment. T_1 , T_2 and ^{31}P MRS measurements can then be performed prior to, during and after muscle stimulation with good reproducibility. The setup can easily be modified to fit on any Bruker MRI and offers a wide range of application opportunities for muscular studies.



New setup for multi-parametric MRI in young and old rat gastrocnemius at 4.7&7T during muscle stimulation

S. Loubrie, A. Trotier, E. Ribot, P. Massot, W. Lefrançois, E. Thaudière, B. Dallaudière, S. Miraux and I. Bourdel-Marchasson



Chapitre 6

Muscle multi-parametric NMR Imaging Development in Aged people with Sarcopenia or frailty syndrome; CLINical study

6.1 Présentation de l'étude

LE CONCEPT de fragilité a été créé pour dépister les personnes âgées à risque de dépendance et proposer une intervention préventive. Selon le concept, l'état de fragilité est un état réversible. La fonction musculaire et les symptômes dépressifs, interprétés dans les critères de Fried comme des symptômes de fragilité, ont non seulement des effets supplémentaires, mais peuvent être inclus dans la même succession longitudinale d'événements induisant la fragilité [122]. La fonction musculaire est cependant au centre du concept et la majorité des interventions proposées pour inverser ou prévenir la fragilité ont ciblé la fonction physique [123].

Cependant, les parties respectives de la sarcopénie, de la malnutrition et des altérations cognitives / sociales et leurs interactions dans l'état de fragilité restent à mieux définir.

Une capacité réduite à effectuer des activités de mobilité exigeantes en attention, telles que l'exécution simultanée de deux tâches (physique + cognitive), également appelée double tâche, pourrait être un nouveau marqueur de fragilité physique et cognitive. De nombreuses activités de la vie quotidienne impliquent l'exécution de plusieurs tâches à la fois, créant des demandes concurrentes de ressources attentionnelles qui remettent en question les fonctions motrices et cognitives [124]. En plus des capacités cognitives, les capacités musculaires semblent affecter les performances motrices lors de la marche à deux tâches. Une masse de tissu musculaire de la jambe plus élevée peut atténuer l'impact d'une tâche cognitive sur la performance. En effet, dans l'exemple d'un test de marche simultanée avec une tâche cognitive, une masse musculaire plus élevée induit une marche plus stable [125], moins sensible à l'interférence cognitive. De plus, une faible capacité de performance de deux tâches simultanées est associée à une déficience cognitive et à un risque élevé de chute [126, 127]. Les changements cérébraux sont également associés à la fragilité. En particulier, les sujets fragiles ont des taux plus élevés d'hyperintensité de la

substance blanche (WMH) et des plus grands volumes de WMH par rapport aux non-fragiles. Des participants fragiles ont présenté des modifications du tenseur de diffusion dans de vastes zones de substance blanche [128]. Il a également été montré dans un groupe de personnes âgées atteintes de diabète qu'une évaluation fonctionnelle telle que le SPPB était positivement liée à la force des fléchisseurs de la hanche et à la zone du droit fémoral maximal [129]. Le score MNA (Mini Nutritional Assessment) était corrélé à la force des fléchisseurs de la hanche et à la matière grise globale mais pas au SPPB. La force des fléchisseurs de la hanche était corrélée aux zones de matière grise responsables du contrôle moteur. L'étude des changements structuraux par examen d'IRM cérébral pourrait mieux expliquer le processus de fragilité.

La structure musculaire et les altérations fonctionnelles et anatomiques du cerveau / muscle chez les personnes âgées fragiles atteintes de diabète n'ont pas été étudiées en référence aux indicateurs de l'évaluation gériatrique standardisée (CGA) et d'inflammation. L'inflammation chronique de bas grade est associée à (et pourrait être un mécanisme causal) des maladies liées au vieillissement et au déclin fonctionnel. Ce processus « inflammatoire » implique des complexes protéiques intracellulaires, appelés « inflammasomes », qui stimulent la production de la cytokine pro-inflammatoire interleukine-1 (IL-1) et IL-18 [130, 131]. La comparaison avec des personnes âgées non diabétiques mais aussi avec une forte proportion de personnes fragiles ou pré-fragiles est intéressante pour explorer les possibilités de l'imagerie IRM cérébrale / musculaire pour comprendre la voie physiopathologique menant à la fragilité.

Nous avons émis l'hypothèse que l'évaluation par IRM multiparamétrique combinée à la CGA et à l'évaluation biologique de routine de l'inflammation chez un échantillon de personnes âgées avec et sans diabète permettrait d'explorer d'un côté les possibilités de l'imagerie multi-paramétrique musculaire et cérébrale pour décrire les corrélats de la fragilité. Également, nous espérons pouvoir décrire les différentes altérations musculaires / cérébrales dues au diabète dans la fragilité. Le diabète est ici étudié comme modèle de maladie induisant la fragilité ; c'est la raison pour laquelle la moitié de l'échantillon est diabétique.

Nous espérons identifier les séquences IRM les plus utiles pour diagnostiquer la fragilité et plusieurs corrélats IRM de la fragilité. Nous prévoyons également d'identifier des corrélats spécifiques de la fragilité avec le diabète ou avec l'inflammation. Cela peut être utile pour construire des stratégies préventives spécifiques. Les sujets ne recevront aucun traitement (médicamenteux ou non médicamenteux) et bénéficieront des soins habituels après les évaluations. Dans cette étude, les évaluations sont inoffensives : tests cognitifs et physiques ; imagerie sans injection de produit de contraste. L'analyse biologique sera réduite à des échantillons de sang <25 ml.

6.2 Objectifs de l'étude

L'objectif principal de ce projet est d'identifier les liens entre le déclin de la fonction musculaire et le déclin des fonctions cognitives. Ceci dans une population de plus de 70 ans avec au moins 25% de sujets fragiles et 25% pré-fragiles et aucun avec un niveau élevé de dépendance au quotidien.

Les objectifs secondaires sont de parvenir à décrire les liens entre le déclin musculaire et cognitif ainsi qu'évaluer leur sensibilité vis-à-vis du syndrome de fragilité (au sens de

Fried) dans dans une population de plus de 70 ans répondant à un critère supplémentaire. Ces critères sont:

- Soit ayant un diabète sucré
- Soit présentant une inflammation chronique de bas ou moyen grade (HsCRP > 3mg/L)
- Soit subissant un évènement de chute domestique ou une hospitalisation non prévue au cours du suivi de 6 mois

Une population présentant un des critères sera comparée au reste de la cohorte, et ce pour chacun des critères.

6.3 Détermination de la cohorte d'étude et protocole d'étude

La cohorte d'étude a été établie en suivant les critères suivants :

- Critères d'inclusion
 - Hommes et femmes
 - Âges entre 70 et 90 ans
 - Robuste ou fragile ou pré-fragile avec au moins 25% de fragilité et 25% de pré-fragilité selon les critères de Fried
 - Indice de Barthel < 60/100
 - Avec ou sans diabète sucré, 45 à 55% avec un diabète sucré connu
 - Sans contre-indication à passer un examen IRM
- Critères d'exclusion
 - Âge < 70 ans ou > 90 ans
 - Ne veut pas participer
 - Incapable de donner son consentement éclairé ou de comprendre les instructions de base en raison d'un problème (sensoriel, éducatif, linguistique)
 - Sans assurance sociale
 - Avec une protection juridique
 - Avec altération cognitive significative (MMSe < 21/30 ou en cas de faible alphabétisation < 19/30)
 - Avec un évènement sévère récent (période de 2 mois) : hospitalisation, septicémie, accident vasculaire cérébral même avec guérison complète, traumatisme
 - Avec séquelles d'AVC (moteur, parole)

- Critères de non-inclusion pour les mesures IRM qui sont principalement liés à la présence d'implants métalliques chez un patient.

L'étude commence par une première visite de pré-inclusion afin de voir si le patient correspond aux attentes de l'étude. Si le patient est inclus, une deuxième visite est programmée afin de recueillir les informations cliniques nécessaires ainsi que la prise de sang en vue des analyses prévues dans l'étude. Ensuite, une semaine plus tard, une nouvelle visite est effectuée où les patients passent le SPPB ainsi que l'examen d'IRM musculaire et cérébral. Toutes les acquisitions IRM ont été réalisées sur une machine Siemens Prisma 3T de recherche clinique. Enfin, deux appels de suivi sont programmés un mois et 6 mois plus tard. L'ensemble de l'étude est résumée sur le Tableau **C.1** (Annexe).

6.4 IRM musculaire

6.4.1 Séquences d'acquisition des images

Les séquences d'acquisitions qui ont été utilisées pour l'imagerie des muscles sont les suivantes :

- Une image 3D pondérée T_1 Dixon haute résolution. Les paramètres utilisés sont TR/TE, 4,08ms/1,33ms ; FOV, 410x410x187mm³ ; Résolution, 1,281x1,281x1,3mm³ ; Mat, 320x320x144 ; Temps d'acquisition, 3min36s.
- image 3D pondérée T_2 Dixon turbo spin-echo. Les paramètres sont TR/TE, 6100ms/74ms ; FOV, 400x262x150mm³ ; Résolution, 1,25x1,25x7,5mm³ ; Mat, 320x210x20 ; Temps d'acquisition, 1min55s.
- Une carte T_2 . TR/TE, 500ms/1,4ms33ms ; FOV, 400x258x48mm³ ; Résolution, 2,083x2,083x9,5mm³ ; Mat, 192x124x5 ; Temps d'acquisition, 3min36s.

6.4.2 Segmentation semi-automatique des volumes

La segmentation des données a été réalisée avec le logiciel ITK-SNAP dont l'interface se présente comme sur la Figure **6.1**. Tout d'abord, comme les images ont été acquises à l'aide d'une antenne de réception surfacique, un filtre de correction de l'intensité du signal a été appliqué grâce au logiciel ANTs. Le processus de segmentation commence en déterminant un volume fixe maximal, visible en pointillés rouges sur la Figure **6.1**.

Ceci permet que les parties extérieures du volume défini ne soient pas prises en compte durant la segmentation. Il faut ensuite définir un seuil et choisir si l'on veut récupérer les zones dont l'intensité du signal est inférieure ou supérieure à ce seuil. L'étape suivante consiste à placer des « bulles » dans les zones adéquates, afin qu'elles gonflent jusqu'à remplir tout le volume souhaité. De cette manière, les volumes de muscle, de graisse et d'os ont pu être mesurés.

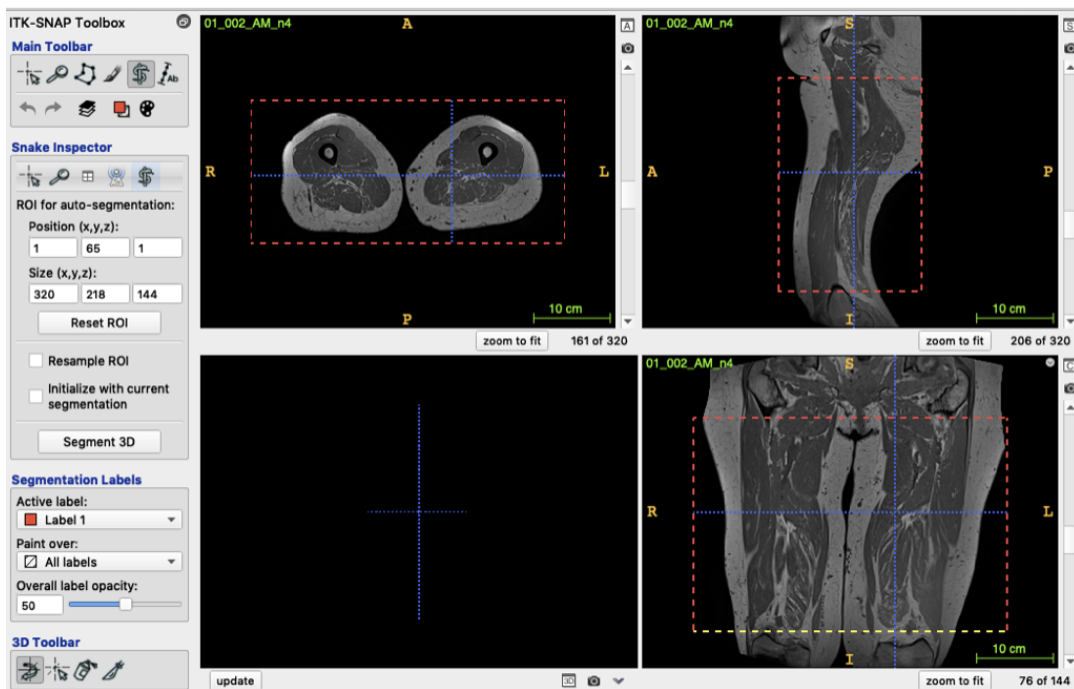


Figure 6.1: Délimitation du volume d'étude pour la segmentation (délimitée par les pointillés rouges).

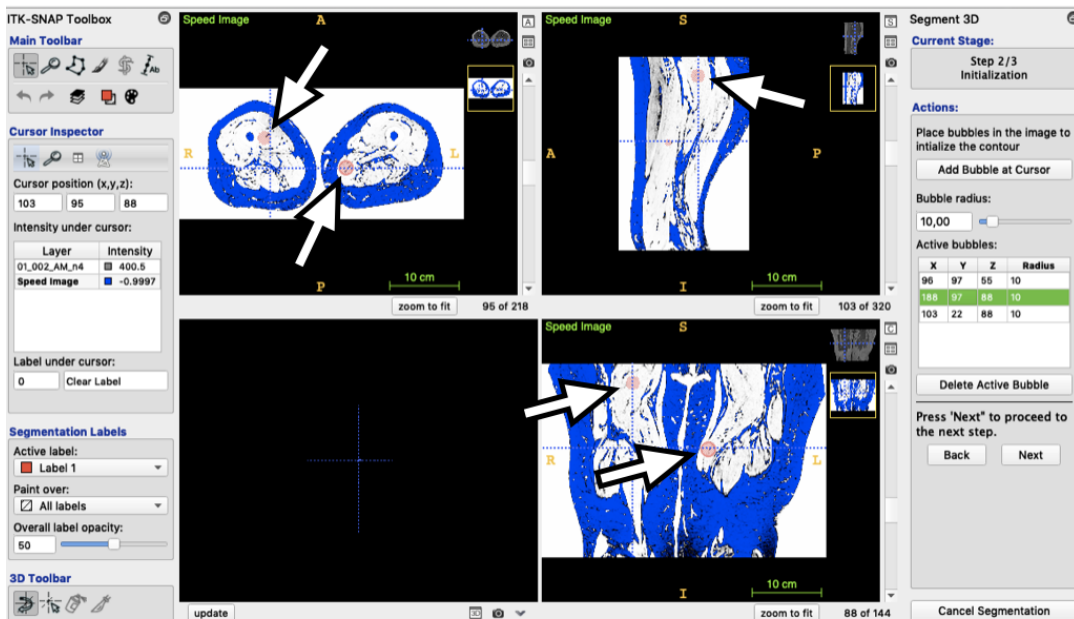


Figure 6.2: Seuillage des images et placement des "bulles" (en rouge, pointées par les flèches). Le seuil permet de définir les parties qui ne seront pas segmentées (en bleu).

La méthode d'obtention des volumes avec des « bulles » qui viennent remplir l'espace en fonction des intensités de signal présente en revanche l'inconvénient de pouvoir « déborder » de la zone souhaitée. Afin de pallier ce problème, un mode opératoire s'en affranchissant au maximum a été mis en place. Tout d'abord, le seuil est fixé afin que seule la partie de l'image en dehors du patient soit remplie et un label est affecté à cette zone. Le logiciel présente l'avantage de pouvoir labelliser de nouvelles zones grâce aux bulles sans réécrire sur les voxels ayant déjà été labellisés. Ainsi, d'abord les volumes des os sont obtenus après la zone extérieure. Ensuite le muscle, car ce volume est plus simple à obtenir avec la méthode des « bulles ». Enfin, la graisse sous cutanée et l'infiltrât graisseux est obtenu en remplissant les cuisses en entier, ce qui ne posera pas de problème puisque les voxels des os et du muscle ont déjà leurs labels. Cependant, la segmentation n'est pas infaillible et doit parfois être légèrement reprise à la main. Une fois la segmentation terminée, les images segmentées peuvent être enregistrées. En complément aux mesures de volumes, le T_2 dans le muscle a également été évalué. Une région d'intérêt est placée dans la cuisse dans la carte T_2 obtenue grâce à la séquence correspondante.

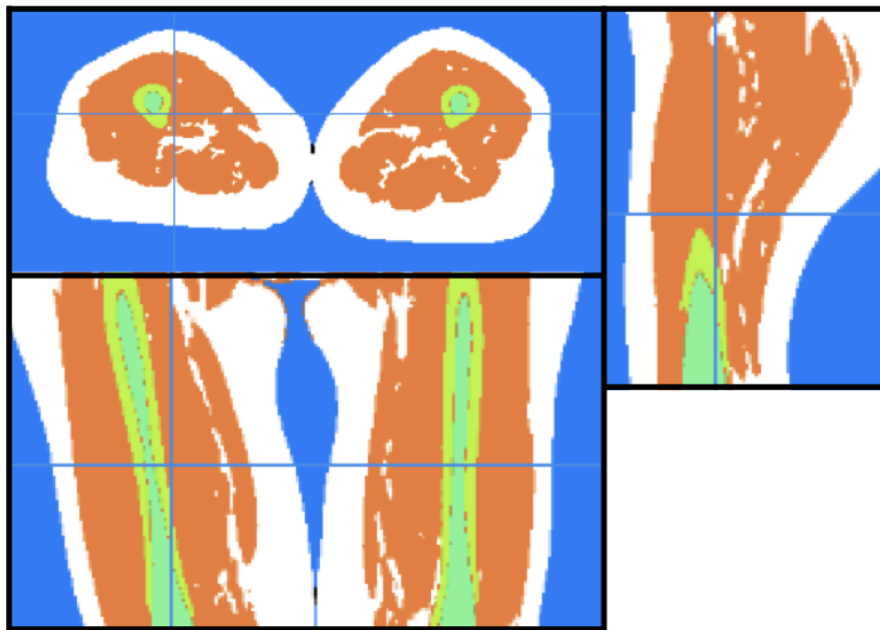


Figure 6.3: Image des volumes segmentés. Le volume musculaire est représenté en orange, la graisse en blanc, l'os en et son volume intérieur en tons de vert et la partie extérieure au patient en bleu.

6.5 IRM cérébral

6.5.1 Séquences d'acquisition des images

Les séquences d'acquisition qui ont été utilisées pour l'imagerie du cerveau sont les suivantes :

- Une image 3D pondérée T_1 . Les paramètres utilisés sont TR/TE/Ti, 2120ms/2,35ms/1070ms ; FOV, 256x256x192mm³ ; Résolution, 0,8x0,8x0,8mm³ ; Mat, 320x320x240 ; Temps d'acquisition, 6min19s.
- Une carte B_1 obtenue avec les paramètres suivants : FOV, 218x218x180mm³ ; Résolution, 1,703x1,703x7,2mm³ ; Mat, 128x128x25 ; Temps d'acquisition, 54s.
- Une image de diffusion acquise avec les paramètres suivants : FOV, 221x221x168mm³ ; Résolution, 1,7x1,7x1,7mm³ ; Mat, 130x130x99 ; Temps d'acquisition, 8min26s.
- Une séquence d'IRM fonctionnelle acquise avec les paramètres suivants : FOV, 210x210x90mm³ ; Résolution, 2,5x2,5x2,5mm³ ; Mat, 84x84x60 ; Temps d'acquisition, 8min.

6.5.2 Segmentation automatique des volumes cérébraux

Les volumes de matière grise, matière blanche et de liquide céphalo rachidien ont pu être obtenus grâce à la plate-forme en ligne volBrain (<https://volbrain.upv.es/>) [132]. Cette plate-forme se définit comme étant « un système de volumétrie cérébrale IRM en ligne. Il vise à aider les chercheurs du monde entier à obtenir automatiquement des informations volumétriques sur le cerveau à partir de leurs données IRM sans avoir besoin d'une infrastructure sur leurs sites locaux. ». Du point de vue de l'utilisateur, il s'agit d'une boîte noire. Il faut choisir un pipeline de traitement parmi ceux disponibles.

Pour ce projet, le pipeline volBrain1.0 a été choisi. Il permet de mesurer les volumes de matière grise, de matière blanche et de LCR comme souhaité. Il mesure également le volume intracrânien total, et des macrostructures comme les deux hémisphères ainsi que le cervelet. Enfin, ce protocole renseigne également sur les volumes de certaines structures subcorticales telles que l'hippocampe et le thalamus. Le choix de l'utilisation de cette plate-forme, se justifie d'une part par sa fiabilité, elle a notamment déjà été utilisée dans le cadre d'études sur le volume du thalamus et de l'hippocampe qui ont été publiées [133]. D'autre part, la segmentation manuelle complète des IRM cérébraux représente un travail chronophage.

6.6 Méthodes d'analyse des données

Dans le but de comprendre la progression de la sarcopénie et du syndrome de fragilité, 3 groupes distincts ont été directement déterminés à partir du critère de Fried : Robuste (score = 0) ; Pré-fragile (score = 1 ou 2) et fragile (score > 2). De plus, 2 groupes supplémentaires ont été créés, un groupe Fragile + Pré-fragile ainsi qu'un groupe Pré-fragile + Robuste, soit 5 groupes d'étude au total.

Les mesures étudiées se distinguent en deux parties. Une partie « IRM » composée des volumes musculaires, de graisse apparente, de matière blanche, de matière grise, de liquide céphalo-rachidien et enfin du T_2 du muscle. Une partie « observations patients » composée de l'indice de masse corporelle (IMC), du score SPPB, du score MMSE, du score MNA et enfin du ratio entre la force maximale des fléchisseurs de la hanche et du poids. Les volumes calculés dans la cuisse sont exprimés en pourcentage du volume

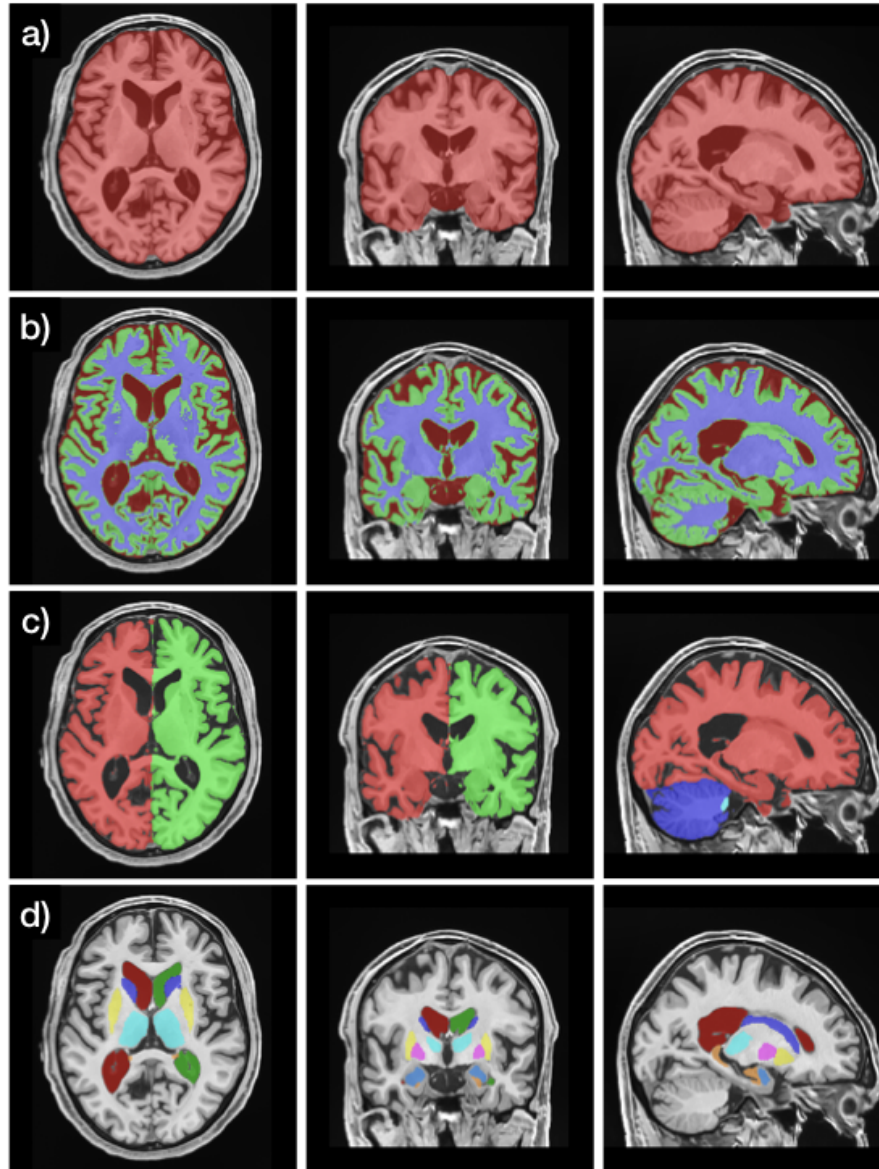


Figure 6.4: Exemple de résultats obtenus par le pipeline de segmentation *volBrain1.0*. Sur la ligne A, on peut voir la mesure du volume intracrânien total. En dessous, sur la ligne B, il s'agit de la matière grise (en bleu), de la matière blanche (en vert) et du LCR (en rouge). Sur la ligne C, les hémisphères gauche et droit, respectivement en rouge et vert, sont représentés avec le cervelet en bleu. Enfin, sur la ligne D, on peut voir les structures subcorticales.

total de la cuisse. Les volumes cérébraux sont exprimés en pourcentage du volume total intracrânien. Les différences statistiques entre les différents groupes ont été déterminées par test de la somme des rangs de Wilcoxon.

6.7 Résultats

À ce jour, il a été possible d'inclure 24 patients (dont 11 femmes) dans le protocole, mais seulement 20 ont pu effectuer l'examen IRM complet. Les données sont résumées dans la Table 6.1.

Tableau 6.1: Table récapitulative des mesures obtenues sur la cohorte de patients

		Fragile	Fragile + Pré-fragile	Pré-fragile	Pré-fragile + Robuste	Robuste
Obs	CVF/poids	1,5 ± 0,5	1,9 ± 0,7	2,3 ± 0,8	2,3 ± 0,8	2,3 ± 0,8
	SPPB	7,6 ± 2,9	9,1 ± 2,3	10,7 ± 1,7	11,0 ± 1,3	11,4 ± 0,9
	IMC	30,2 ± 5,8	28,5 ± 3,9	26,8 ± 2,0	27,4 ± 2,4	28,0 ± 4,9
	MNA	22,2 ± 3,8	23,7 ± 3,2	25,2 ± 2,6	26,4 ± 2,4	27,6 ± 2,2
	MMSE	5,2 ± 4,1	26,3 ± 3,1	27,3 ± 2,1	28,0 ± 1,6	28,6 ± 1,2
IRM	%Vmuscle	41,0 ± 14,8	47,5 ± 13,7	54,1 ± 12,6	53,5 ± 12,4	53,0 ± 12,3
	%Vgraisse	55,0 ± 13,7	48,8 ± 13,4	42,5 ± 13,1	43,1 ± 12,9	43,6 ± 12,8
	T ₂ / ms	34,2 ± 1,0	33,1 ± 2,1	32,0 ± 3,3	32,4 ± 3,8	32,8 ± 4,2
	%VMB	30,1 ± 7,4	30,9 ± 5,4	31,7 ± 3,3	32,7 ± 2,8	33,8 ± 2,2
	%VMG	47,0 ± 3,9	46,5 ± 3,4	45,9 ± 3,0	46,2 ± 2,3	46,5 ± 1,5
	%VLCR	22,9 ± 4,7	22,7 ± 2,9	22,4 ± 1,2	21,1 ± 1,9	19,8 ± 2,6

Dans un premier temps, seuls les groupes issus directement du critère de Fried ont été comparés. Les différences provenant des « observations patient » sont visibles sur la Figure 6.5 en haut et les différences provenant des données « IRM » sont visibles sur la Figure 6.5 en bas. Des différences ont été constatées grâce aux « observations patient » mais pas grâce aux données « IRM ». Le ratio entre la CVF et le poids permet d'isoler les patients fragiles des patients pré-fragiles et des patients robustes ($p < 0,05$ dans les deux cas). Le score du test MNA a montré une plus forte différence entre les patients fragiles et les patients robustes ($p < 0,01$).

Les différences entre le groupe combinant patients fragiles et pré-fragile versus le groupe de patients robustes ainsi que les différences entre le groupe fragile versus le groupe combinant patients pré-fragiles et robustes ont ensuite été observées. Les différences issues des mesures « observation patient » sont visibles sur la Figure 6.6 et

les différences issues des mesures « IRM » sont visibles sur la Figure 6.6. Comme précédemment, le score au test MNA permet de distinguer les groupes. En revanche, aucune différence n'est notable à partir des données « IRM ».

Le nombre de patients diabétiques (9), de patients ayant eu une chute ou hospitalisation non prévue dans les mois suivants le protocole (2), et de patients présentant de l'inflammation (5) étant trop faible, il n'a pas été possible d'analyser ces groupes.

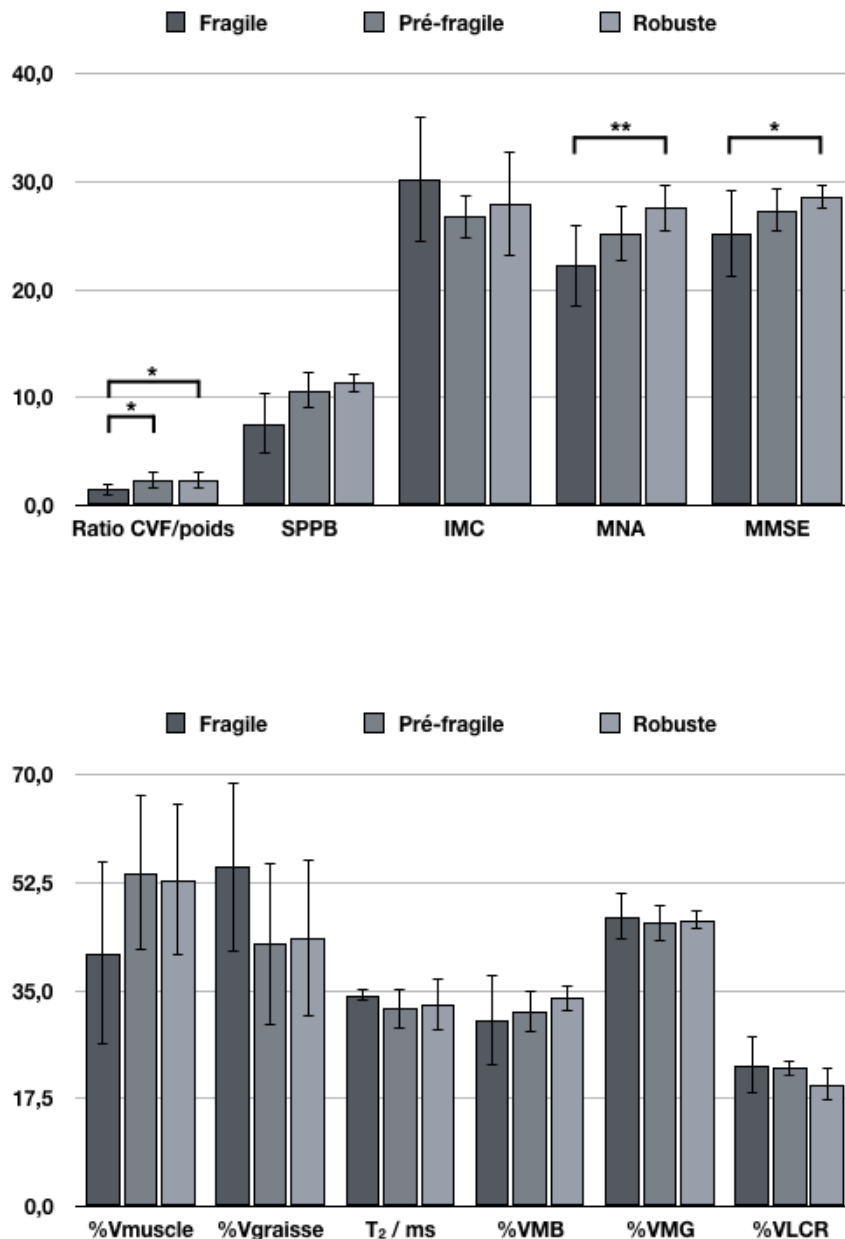


Figure 6.5: Différences entre les groupes fragile, pré-fragile et robuste selon les données d'observation patient (en haut) et les données IRM (en bas).

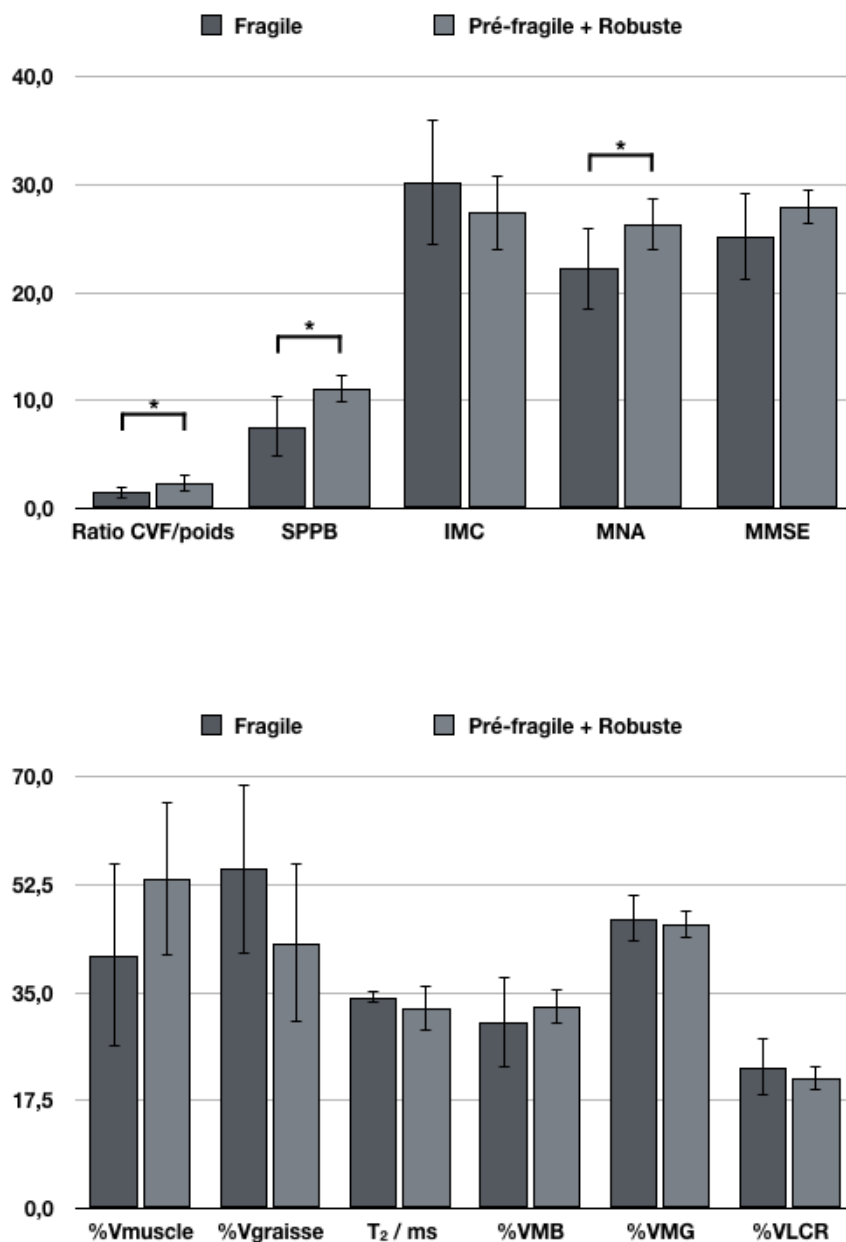


Figure 6.6: Différences entre les groupes fragile versus pré-fragile et robuste selon les données d'observation patient (en haut) et les données IRM (en bas).

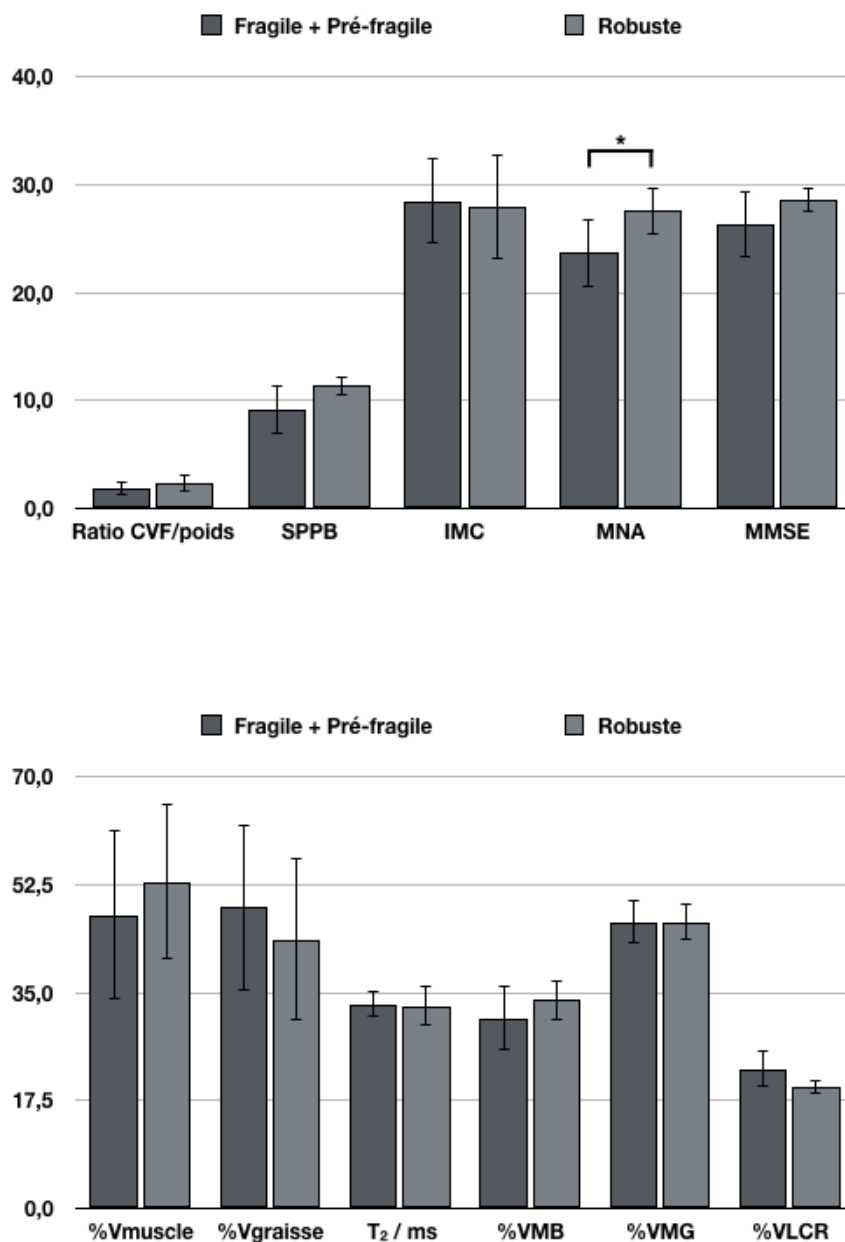


Figure 6.7: Différences entre les groupes fragile et pré-fragile versus robuste selon les données d'observation patient (en haut) et les données IRM (en bas).

6.8 Discussion

Tout d'abord, il est important de noter qu'il s'agit de résultats préliminaires. Seulement un tiers de la cohorte prévue a pu être inclus, en grande partie à cause de la crise sanitaire. C'est pourquoi les objectifs d'analyse de la fragilité en lien avec la présence de diabète chez le patient, en lien avec l'inflammation de bas ou moyen grade ou encore en lien avec des événements de chute ou d'hospitalisation non prévue se sont pas encore atteignables. De plus, le nombre réduit de participants, et notamment de patients fragiles, influence la déviation standard des mesures. On constate particulièrement la disparité entre les participants dans l'estimation des volumes musculaires et des volumes de graisse apparente. Les données « observations patient » ont tout de même pu permettre d'identifier des différences entre les groupes, surtout entre les patients fragiles et les patients robustes. Le score MNA a montré la plus forte corrélation avec le critère de Fried parmi les grandeurs mesurées, confirmant la pertinence de ce test dans le cadre de la fragilité [134] et soulignant le rôle crucial de la nutrition. Le ratio entre la force de contraction maximale des fléchisseurs de hanche et le poids du patient a également permis de discriminer certains groupes, et les différences semblent surtout montrer un détachement des patients les plus fragiles par rapport aux autres. Ceci illustre l'importance de la fonction musculaire altérée dans le syndrome gériatrique de fragilité [135] et que l'étude des volumes musculaires seuls ne sont pas suffisants. À ceci s'ajoute la différence statistique des scores au SPPB entre le groupe fragile et le groupe composé des patients pré-fragiles et robustes.

Bien que les déviations standards ne permettent pas de conclure, une tendance semble se dégager concernant les volumes musculaires et les volumes de graisse apparente. Le volume musculaire semble diminuer quand le degré de fragilité augmente et l'effet inverse semble se produire pour le volume de graisse apparente, ce qui serait logique compte tenu de l'effet de la sarcopénie sur les muscles [136]. Également, une faible tendance non significative est observable pour les mesures de T_2 avec un rallongement chez les patients les plus fragiles, effet déjà observé dans la littérature [58].

De même, les volumes mesurés sur les structures cérébrales n'ont pas dégagé de différences significatives, mais des tendances sont notables. Le volume de liquide céphalo-rachidien semble augmenter avec le degré de fragilité, traduisant une atrophie du cerveau. L'atrophie du cerveau liée à l'âge est un phénomène connu [137]. Gallucci et al. ont mis en avant que même si le volume total du cerveau ne diminue pas significativement avec le degré de fragilité, certaines zones sont quant à elles significativement atrophiées [138]. Enfin, on peut observer une légère diminution du volume de matière blanche avec l'augmentation du degré de fragilité. Cette tendance a déjà été observée dans la littérature sans pour autant constater une différence significative des volumes liée à la fragilité [139].

L'avancement du projet MIDAS est pour le moment suspendu, cependant il est nécessaire de poursuivre l'inclusion des patients pour obtenir des résultats significatifs. Il est difficile d'inclure des patients fragiles et le protocole IRM est particulièrement contraignant pour eux. L'ensemble de l'examen IRM dure une heure et il est difficile de maintenir la position allongée, sans bouger, sans causer des douleurs difficilement supportables liées à l'âge et la fragilité des patients.

Une des principales perspectives de ce projet pourrait être l'utilisation d'un dispositif

de stimulation pour l'homme compatible IRM [140]. D'une part des mesures de T_1 et de T_2 dans le muscle pourraient être effectuées pendant la stimulation. D'autre part, l'étude des capacités cognitives pourrait également être approfondies avec de l'IRM fonctionnel, toujours pendant la stimulation. Enfin, il est possible que certaines mesures soient affectées par la mode de transport de patients. L'activité musculaire liée à la marche peut générer une légère hypertrophie musculaire liée à l'afflux sanguin et également perturber les valeurs de T_2 mesurées. Il serait peut-être judicieux de faire observer un repos obligatoire aux patients avant de pratiquer l'examen IRM. Également, une amélioration du processus de segmentation semi-automatique des volumes musculaires est envisageable. D'une part les mesures sont actuellement opérateur-dépendant compte tenu des étapes de seuillage des intensités. D'autre part, parvenir à un processus complètement automatisé d'identification des volumes d'une qualité comparable au pipeline utilisé pour le traitement des IRM cérébraux serait remarquable. Ceci pourrait ouvrir la porte au machine learning et à la classification automatisée des patients, bien que cela nécessite une population d'apprentissage conséquente.

6.9 Conclusion du chapitre

Dans ce chapitre la mise en place du protocole d'étude MIDAS-CLIN. Des résultats préliminaires ont pu être obtenus sur une partie réduite de la cohorte initialement prévue. Ces résultats n'ont pas permis d'identifier beaucoup de différences entre les patients robustes, pré-fragiles et fragiles. Cependant, ils ont pu mettre en avant l'importance de la nutrition vis-à-vis de la fragilité et ont permis de dégager quelques tendances concernant les volumes mesurés grâce aux IRM cérébraux et musculaires.

Chapitre 7

Conclusion générale et perspectives

L'imagerie par résonance magnétique du muscle squelettique est aujourd'hui en plein essor. Historiquement, les développements méthodologiques se sont d'abord, logiquement, tournés vers l'étude d'organes vitaux comme le coeur ou le cerveau. L'oncologie occupe également une place primordiale en IRM. Un constat général de la recherche médicale actuelle, hors crise sanitaire COVID-19, montre la priorité donnée à la mise en place de traitements contre le cancer, la prévention de maladies neurodégénératives ou cardiovasculaires. À juste titre, la médecine s'est tournée vers ces problématiques en réaction aux défis confrontés par les populations. Ces progrès considérables ont eu pour conséquence indirecte un vieillissement global de la population. Il n'est donc pas étonnant que la sarcopénie et le syndrome gériatrique de fragilité soient des problématiques relativement récentes. Le but n'est plus uniquement de maintenir les gens en vie, on pourrait écrire de manière provocatrice, mais de permettre aux personnes de vivre pleinement leur vie le plus longtemps possible, avec les conséquences économiques positives que cela représente.

En conséquence, l'utilisation de l'IRM pour le muscle squelettique en clinique devient particulièrement intéressante et courante. Cependant, les images restent principalement anatomiques, sans information sur l'activité musculaire. Pourtant, l'accès à des informations sur la fonctionnalité musculaire et surtout ses altérations apparaît essentiel, en particulier vis-à-vis du syndrome de fragilité.

Le premier enjeu de cette thèse a été par conséquent de permettre un système d'activation musculaire à l'intérieur d'un IRM pour ensuite mesurer des caractéristiques physiques. Les biomarqueurs choisis sont le T_1 et le T_2 , ainsi que la spectroscopie du phosphore ^{31}P . Pour les quantifier, l'homogénéité du champ magnétique au niveau du muscle étudié, le muscle gastrocnémien du rat, était une contrainte importante. L'utilisation d'une antenne volumique d'émission couplée à une antenne surfacique de réception, avec un placement précis et reproductible du muscle au centre de l'imageur a permis d'obtenir des mesures robustes et reproductibles. Les plans 3D de ce lit IRM-compatible sont en accès open source et peuvent facilement être adaptés ou modifiés pour permettre de nouvelles études. L'électro-stimulation au sein de l'imageur a été rendue possible, et contrôlable depuis le poste d'acquisition des images IRM, grâce à la construction d'une carte électronique permettant une communication entre l'électro-stimulateur et l'acquisition des images. Cette carte électronique s'est avérée très efficace pour la synchronisation des séquences avec la stimulation. L'avantage de la transformation du signal par le microprocesseur Arduino est la possibilité de considérer une synchronisation

avec de nombreux programmes de stimulation, adaptés à l'étude (étude de la fatigue, intensité de l'effort...).

Il existe des modèles de stimulation musculaire IRM-compatible chez l'homme, et il semble légitime de penser adapter une carte électronique comme celle-ci pour réaliser des mesures semblables. La partie instrumentation ne sera pas le frein principal à une exportation chez l'homme, mais les séquences IRM devront être modifiées pour permettre la synchronisation des acquisitions.

Concernant les acquisitions de T_1 , l'imagerie radiale a confirmé sa robustesse au mouvement. Cette technique est très utilisée en imagerie cardiaque où le mouvement est encore plus rapide. L'environnement du triceps sural possède des interfaces os/muscle ainsi que muscle/graisse ce qui génère des artefacts de sensibilité avec un encodage en spiral. Ces artefacts n'étaient en revanche pas présents sur les acquisitions radiales. Les mesures de T_2 se sont montrées également très robustes. Un problème qui pourrait se présenter dans le transfert à l'homme concerne l'amplitude des mouvements. Une grande amplitude augmente le risque de déplacement du muscle au cours de l'acquisition. Une solution serait de fixer la jambe au niveau de la cheville tout en permettant la rotation du pied, ce qui ne gênerait pas la contraction, tout en conservant la position du muscle dans l'espace. Une autre solution serait d'adapter en temps réel la position de la coupe d'imagerie, comme ce qui est en cours de développement sur l'imagerie cardiaque au laboratoire. Cela impliquerait des reconstructions d'images extrêmement rapides, ce qui est rendu possible par le logiciel Gadgetron, déjà installé sur la machine IRM de l'UMS3767 (sur laquelle a été réalisée l'imagerie humaine de cette thèse).

L'ensemble des méthodes mises en place ont permis de réaliser des mesures sur deux populations de rats, une population jeune et une population âgée. Des différences ont pu être observées avec des résultats robustes et reproductibles, confirmant l'efficacité du dispositif. Des expériences complémentaires pourraient être menées grâce au dispositif, afin d'obtenir des informations sur modèle murin de la sarcopénie. Par exemple, une sarcopénie avancée par immobilisation du muscle pourrait être obtenue. De plus, des traitements (via une activité musculaire intense provoquée par l'ajout d'une roue dans la cage ou par une alimentation optimisée par exemple) pourraient être évalués.

Enfin, la dernière partie traitée dans cette thèse concerne l'étude clinique MIDAS-CLIN. Bien qu'une partie réduite de la cohorte initiale ait pu être imagée, quelques résultats préliminaires ont pu être obtenus, et des tendances se sont dégagées. Il apparaît que les individus pré-fragiles au sens de Fried semblent être plus proches des individus robustes que des individus fragiles. De plus, il ressort l'influence importante de la nutrition vis à vis du syndrome de fragilité. D'un point de vue technique, le protocole de segmentation semi-automatique des volumes musculaires est prometteur, et une automatisation complète et robuste, à l'instar de la segmentation des volumes cérébraux, ouvrirait la porte à des méthodes de « Machine Learning » intéressantes. Il est à espérer une reprise prochaine du protocole MIDAS-CLIN afin de dégager plus d'informations, concernant le lien cerveau-muscle.

Cette thèse représente un travail très pluridisciplinaire. Les développements méthodologiques présentés font appel à des champs de compétences relativement

éloignés telles que la conception 3D, le développement de séquences IRM, l'ingénierie, l'électronique et bien d'autres. Ces différentes parties, bien que complémentaires, qui composent le dispositif complet d'étude du gastrocnémus du rat ont dû être développées en parallèle. Ceci nécessite par conséquent un fonctionnement itératif, avec des progrès conditionnés par l'avancement des autres parties. La principale conséquence de ce fonctionnement est une impression de stagnation assez prégnante. Il aura fallu 2 années de développements avant de pouvoir les appliquer à une étude *in vivo*. De plus, une étude clinique a été mise en place et les premières inclusions ont été réalisées. Les deux projets abordés dans cette thèse apparaissent donc comme complémentaires, mais disjoints d'un point de vue de la réalisation technique, ce qui ajoute de la difficulté supplémentaire pour mener à bien chacun d'entre eux. La crise sanitaire COVID-19 a parachevé de compliquer ce sujet, empêchant l'inclusion de patients pour le projet MIDAS-CLIN et l'expérimentation sur le petit animal. En revanche, les connaissances acquises sont considérables, tant dans les techniques utilisées que dans l'aspect humain. Également, le sujet a permis de travailler sur tout le pipeline de l'imagerie par résonance magnétique, allant de la fabrication de composants et la programmation de séquences d'acquisition, passant par l'inclusion de patients ou l'expérimentation animale et aboutissant au post-traitement des images acquises. Cette vision globale d'un projet est un atout considérable pour le futur, permettant de mettre en perspectives les attentes possibles pour chaque maillon de la chaîne.

Bibliographie

- [1] I. H. Rosenberg. “Summary comments”. In: *The American Journal of Clinical Nutrition* 50.5 (Nov. 1, 1989). Publisher: Oxford Academic, pp. 1231–1233. DOI: 10.1093/ajcn/50.5.1231.
- [2] A. J. Cruz-Jentoft, J. P. Baeyens, J. M. Bauer, Y. Boirie, T. Cederholm, F. Landi, et al. “Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People”. In: *Age and Ageing* 39.4 (July 2010), pp. 412–423. DOI: 10.1093/ageing/afq034.
- [3] A. J. Cruz-Jentoft, G. Bahat, J. Bauer, Y. Boirie, O. Bruyère, T. Cederholm, et al. “Sarcopenia: Revised European consensus on definition and diagnosis”. In: *Age and Ageing* 48.1 (2019). Publisher: Oxford University Press, pp. 16–31. DOI: 10.1093/ageing/afy169.
- [4] S. D. Anton, A. Hida, R. Mankowski, A. Layne, L. M. Solberg, A. G. Mainous, et al. “Nutrition and Exercise in Sarcopenia”. In: *Current Protein & Peptide Science* 19.7 (2018), pp. 649–667. DOI: 10.2174/1389203717666161227144349.
- [5] M. McLeod, L. Breen, D. L. Hamilton, and A. Philp. “Live strong and prosper: the importance of skeletal muscle strength for healthy ageing”. In: *Biogerontology* 17.3 (June 2016), pp. 497–510. DOI: 10.1007/s10522-015-9631-7.
- [6] M. M. Porter, A. A. Vandervoort, and J. Lexell. “Aging of human muscle: structure, function and adaptability”. In: *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* 5.3 (Jan. 30, 2007), pp. 129–142. DOI: 10.1111/j.1600-0838.1995.tb00026.x.
- [7] K. Keller. “Sarcopenia”. In: *Wiener Medizinische Wochenschrift* 169.7 (May 2019), pp. 157–172. DOI: 10.1007/s10354-018-0618-2.
- [8] J. Lexell, C. C. Taylor, and M. Sjöström. “What is the cause of the ageing atrophy?” In: *Journal of the Neurological Sciences* 84.2 (Apr. 1988), pp. 275–294. DOI: 10.1016/0022-510X(88)90132-3.
- [9] B. Abiri and M. Vafa. “Nutrition and sarcopenia: A review of the evidence of nutritional influences”. In: *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 59.9 (May 15, 2019), pp. 1456–1466. DOI: 10.1080/10408398.2017.1412940.
- [10] E. L. Dillon. “Nutritionally essential amino acids and metabolic signaling in aging”. In: *Amino Acids* 45.3 (Sept. 2013), pp. 431–441. DOI: 10.1007/s00726-012-1438-0.

-
- [11] M. Vafa, B. Abiri, and M. Dehghani. “The Association of Food Intake and Physical Activity with Body Composition, Muscle Strength, and Muscle Function in Postmenopausal Women”. In: *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)* 2138 (2020), pp. 363–371. DOI: 10.1007/978-1-0716-0471-7_26.
- [12] E. Børsheim, Q.-U. T. Bui, S. Tissier, H. Kobayashi, A. A. Ferrando, and R. R. Wolfe. “Effect of Amino Acid Supplementation on Muscle Mass, Strength and Physical Function in Elderly”. In: *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)* 27.2 (Apr. 2008), pp. 189–195. DOI: 10.1016/j.clnu.2008.01.001.
- [13] M. Visser, D. J. H. Deeg, P. Lips, and Longitudinal Aging Study Amsterdam. “Low vitamin D and high parathyroid hormone levels as determinants of loss of muscle strength and muscle mass (sarcopenia): the Longitudinal Aging Study Amsterdam”. In: *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 88.12 (Dec. 2003), pp. 5766–5772. DOI: 10.1210/jc.2003-030604.
- [14] D. Scott, L. Blizzard, J. Fell, C. Ding, T. Winzenberg, and G. Jones. “A prospective study of the associations between 25-hydroxy-vitamin D, sarcopenia progression and physical activity in older adults”. In: *Clinical Endocrinology* 73.5 (Nov. 2010), pp. 581–587. DOI: 10.1111/j.1365-2265.2010.03858.x.
- [15] J. E. Morley, R. N. Baumgartner, R. Roubenoff, J. Mayer, and K. Nair. “Sarcopenia”. In: *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 137.4 (Apr. 2001), pp. 231–243. DOI: 10.1067/mlc.2001.113504.
- [16] S.-F. Zhang, Y. Zhang, B. Li, and N. Chen. “Physical inactivity induces the atrophy of skeletal muscle of rats through activating AMPK/FoxO3 signal pathway”. In: *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 22.1 (2018), pp. 199–209. DOI: 10.26355/eurrev_201801_14118.
- [17] N. T. Theilen, N. Jeremic, G. J. Weber, and S. C. Tyagi. “TFAM overexpression diminishes skeletal muscle atrophy after hindlimb suspension in mice”. In: *Archives of Biochemistry and Biophysics* 666 (2019), pp. 138–147. DOI: 10.1016/j.abb.2018.12.015.
- [18] A. M. Martone, F. Lattanzio, A. M. Abbatecola, D. L. Carpia, M. Tosato, E. Marzetti, et al. “Treating sarcopenia in older and oldest old”. In: *Current Pharmaceutical Design* 21.13 (2015), pp. 1715–1722. DOI: 10.2174/1381612821666150130122032.
- [19] J. E. Morley. “Hormones and Sarcopenia”. In: *Current Pharmaceutical Design* 23.30 (Nov. 28, 2017). DOI: 10.2174/1381612823666161123150032.
- [20] P. Sgrò, M. Sansone, A. Sansone, S. Sabatini, P. Borriero, F. Romanelli, et al. “Physical exercise, nutrition and hormones: three pillars to fight sarcopenia”. In: *The Aging Male* 22.2 (Apr. 3, 2019), pp. 75–88. DOI: 10.1080/13685538.2018.1439004.
- [21] P. Sousa-Victor and P. Muñoz-Cánoves. “Regenerative decline of stem cells in sarcopenia”. In: *Molecular Aspects of Medicine* 50 (Aug. 2016), pp. 109–117. DOI: 10.1016/j.mam.2016.02.002.

- [22] T. Snijders and G. Parise. “Role of muscle stem cells in sarcopenia”. In: *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care* 20.3 (May 2017), pp. 186–190. DOI: 10.1097/MCO.0000000000000360.
- [23] M. A. Perez-Sousa, L. C. Venegas-Sanabria, D. A. Chavarro-Carvajal, C. A. Cano-Gutierrez, M. Izquierdo, J. E. Correa-Bautista, et al. “Gait speed as a mediator of the effect of sarcopenia on dependency in activities of daily living”. In: *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle* 10.5 (Oct. 2019), pp. 1009–1015. DOI: 10.1002/jcsm.12444.
- [24] K. Takahashi, A. Kubo, K. Ishimura, T. Fukui, and T. Tamura. “Correlation among sarcopenia, malnutrition and activities of daily living in patients with vertebral compression fractures: a comparison based on admission and discharge parameters evaluating these conditions”. In: *Journal of Physical Therapy Science* 30.12 (2018), pp. 1401–1407. DOI: 10.1589/jpts.30.1401.
- [25] C. Tagliaferri, Y. Wittrant, M.-J. Davicco, S. Walrand, and V. Coxam. “Muscle and bone, two interconnected tissues”. In: *Ageing Research Reviews* 21 (May 2015), pp. 55–70. DOI: 10.1016/j.arr.2015.03.002.
- [26] D. Cotton, C. Whitehead, S. Vyas, C. Cooper, and E. Patterson. “Are hip fractures caused by falling and breaking or breaking and falling? Photoelastic stress analysis”. In: *Forensic Science International* 65.2 (Mar. 1994), pp. 105–112. DOI: 10.1016/0379-0738(94)90265-8.
- [27] Q.-L. Xue. “The Frailty Syndrome: Definition and Natural History”. In: *Clinics in Geriatric Medicine* 27.1 (Feb. 2011), pp. 1–15. DOI: 10.1016/j.cger.2010.08.009.
- [28] N. de Vries, J. Staal, C. van Ravensberg, J. Hobbelen, M. Olde Rikkert, and M. Nijhuis-van der Sanden. “Outcome instruments to measure frailty: A systematic review”. In: *Ageing Research Reviews* 10.1 (Jan. 2011), pp. 104–114. DOI: 10.1016/j.arr.2010.09.001.
- [29] K. T. Khan, K. Hemati, and A. L. Donovan. “Geriatric Physiology and the Frailty Syndrome”. In: *Anesthesiology Clinics* 37.3 (Sept. 2019), pp. 453–474. DOI: 10.1016/j.anclin.2019.04.006.
- [30] L. P. Fried, C. M. Tangen, J. Walston, A. B. Newman, C. Hirsch, J. Gottdiener, et al. “Frailty in Older Adults: Evidence for a Phenotype”. In: *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences* 56.3 (Mar. 1, 2001), pp. M146–M157. DOI: 10.1093/gerona/56.3.M146.
- [31] K. Rockwood and A. Mitnitski. “Frailty in Relation to the Accumulation of Deficits”. In: *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences* 62.7 (July 1, 2007), pp. 722–727. DOI: 10.1093/gerona/62.7.722.
- [32] S. Leng, X. Chen, and G. Mao. “Frailty syndrome: an overview”. In: *Clinical Interventions in Aging* (Mar. 2014), p. 433. DOI: 10.2147/CIA.S45300.
- [33] E. O. Hoogendijk, J. Afilalo, K. E. Ensrud, P. Kowal, G. Onder, and L. P. Fried. “Frailty: implications for clinical practice and public health”. In: *The Lancet* 394.10206 (Oct. 2019), pp. 1365–1375. DOI: 10.1016/S0140-6736(19)31786-6.

-
- [34] N. Sirven and T. Rapp. “The cost of frailty in France”. In: *The European journal of health economics: HEPAC: health economics in prevention and care* 18.2 (Mar. 2017), pp. 243–253. DOI: 10.1007/s10198-016-0772-7.
- [35] I. García-Nogueras, I. Aranda-Reneo, L. M. Peña-Longobardo, J. Oliva-Moreno, and P. Abizanda. “Use of Health Resources and Healthcare Costs associated with Frailty: The FRADEA Study”. In: *The Journal of Nutrition, Health & Aging* 21.2 (2017), pp. 207–214. DOI: 10.1007/s12603-016-0727-9.
- [36] L. L. Peters, J. G. M. Burgerhof, H. Boter, B. Wild, E. Buskens, and J. P. J. Slaets. “Predictive validity of a frailty measure (GFI) and a case complexity measure (IM-E-SA) on healthcare costs in an elderly population”. In: *Journal of Psychosomatic Research* 79.5 (Nov. 2015), pp. 404–411. DOI: 10.1016/j.jpsychores.2015.09.015.
- [37] R. J. J. Gobbens, M. A. L. M. van Assen, K. G. Luijkx, and J. M. G. A. Schols. “The Predictive Validity of the Tilburg Frailty Indicator: Disability, Health Care Utilization, and Quality of Life in a Population at Risk”. In: *The Gerontologist* 52.5 (Oct. 1, 2012). Publisher: Oxford Academic, pp. 619–631. DOI: 10.1093/geront/gnr135.
- [38] K. E. Ensrud, A. M. Kats, J. T. Schousboe, B. C. Taylor, P. M. Cawthon, T. A. Hillier, et al. “Frailty Phenotype and Healthcare Costs and Utilization in Older Women”. In: *Journal of the American Geriatrics Society* 66.7 (2018), pp. 1276–1283. DOI: 10.1111/jgs.15381.
- [39] T. N. Robinson, D. S. Wu, G. V. Stieglmann, and M. Moss. “Frailty predicts increased hospital and six-month healthcare cost following colorectal surgery in older adults”. In: *American Journal of Surgery* 202.5 (Nov. 2011), pp. 511–514. DOI: 10.1016/j.amjsurg.2011.06.017.
- [40] D. Heeransh D., M. Shook, and M. Varacallo. “Anatomy, Skeletal Muscle”. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2020.
- [41] B. B. Hafen, M. Shook, and B. Burns. “Anatomy, Smooth Muscle”. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2020.
- [42] A. Saxton, M. A. Tariq, and B. Bordoni. “Anatomy, Thorax, Cardiac Muscle”. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2020.
- [43] N. J. Campbell and C. V. Maani. “Histology, Muscle”. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2020.
- [44] W. R. Frontera and J. Ochala. “Skeletal muscle: a brief review of structure and function”. In: *Calcified Tissue International* 96.3 (Mar. 2015), pp. 183–195. DOI: 10.1007/s00223-014-9915-y.
- [45] S. Tajbakhsh. “Skeletal muscle stem cells in developmental versus regenerative myogenesis”. In: *Journal of Internal Medicine* 266.4 (2009). _eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1365-2796.2009.02158.x>, pp. 372–389. DOI: 10.1111/j.1365-2796.2009.02158.x.

- [46] F. Trovato, R. Imbesi, N. Conway, and P. Castrogiovanni. “Morphological and Functional Aspects of Human Skeletal Muscle”. In: *Journal of Functional Morphology and Kinesiology* 1.3 (July 22, 2016), pp. 289–302. DOI: 10.3390/jfmk1030289.
- [47] P. P. Purslow. “Muscle fascia and force transmission”. In: *Journal of Bodywork and Movement Therapies* 14.4 (Oct. 2010), pp. 411–417. DOI: 10.1016/j.jbmt.2010.01.005.
- [48] P. P. Purslow. “The Structure and Role of Intramuscular Connective Tissue in Muscle Function”. In: *Frontiers in Physiology* 11 (2020), p. 495. DOI: 10.3389/fphys.2020.00495.
- [49] J. R. Potvin and A. J. Fuglevand. “A motor unit-based model of muscle fatigue”. In: *PLOS Computational Biology* 13.6 (June 2, 2017). Ed. by A. M. Haith, e1005581. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1005581.
- [50] R. Qaisar, S. Bhaskaran, and H. Van Remmen. “Muscle fiber type diversification during exercise and regeneration”. In: *Free Radical Biology and Medicine* 98 (Sept. 2016), pp. 56–67. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.03.025.
- [51] S. Schiaffino and C. Reggiani. “Fiber Types in Mammalian Skeletal Muscles”. In: *Physiological Reviews* 91.4 (Oct. 2011), pp. 1447–1531. DOI: 10.1152/physrev.00031.2010.
- [52] L. Martin, L. Birdsell, N. Macdonald, T. Reiman, M. T. Clandinin, L. J. McCargar, et al. “Cancer cachexia in the age of obesity: skeletal muscle depletion is a powerful prognostic factor, independent of body mass index”. In: *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology* 31.12 (Apr. 20, 2013), pp. 1539–1547. DOI: 10.1200/JCO.2012.45.2722.
- [53] M. Inacio, A. S. Ryan, W.-N. Bair, M. Prettyman, B. A. Beamer, and M. W. Rogers. “Gluteal muscle composition differentiates fallers from non-fallers in community dwelling older adults”. In: *BMC geriatrics* 14 (Mar. 25, 2014), p. 37. DOI: 10.1186/1471-2318-14-37.
- [54] G. R. Williams, A. M. Deal, H. B. Muss, M. S. Weinberg, H. K. Sanoff, E. J. Guerdard, et al. “Frailty and skeletal muscle in older adults with cancer”. In: *Journal of Geriatric Oncology* 9.1 (2018), pp. 68–73. DOI: 10.1016/j.jgo.2017.08.002.
- [55] A. Boss, P. Martirosian, K. Küper, G. Fierlbeck, C. D. Claussen, and F. Schick. “Whole-body magnetization transfer contrast imaging”. In: *Journal of magnetic resonance imaging: JMRI* 24.5 (Nov. 2006), pp. 1183–1187. DOI: 10.1002/jmri.20754.
- [56] C. D. J. Sinclair, R. S. Samson, D. L. Thomas, N. Weiskopf, A. Lutti, J. S. Thornton, et al. “Quantitative magnetization transfer in in vivo healthy human skeletal muscle at 3 T”. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 64.6 (Dec. 2010), pp. 1739–1748. DOI: 10.1002/mrm.22562.
- [57] C. J. Galbán, S. Maderwald, K. Uffmann, A. de Greiff, and M. E. Ladd. “Diffusive sensitivity to muscle architecture: a magnetic resonance diffusion tensor imaging study of the human calf”. In: *European Journal of Applied Physiology* 93.3 (Dec. 2004), pp. 253–262. DOI: 10.1007/s00421-004-1186-2.

- [58] D. M. Melville, J. Mohler, M. Fain, A. E. Muchna, E. Krupinski, P. Sharma, et al. “Multi-parametric MR imaging of quadriceps musculature in the setting of clinical frailty syndrome”. In: *Skeletal Radiology* 45.5 (May 1, 2016), pp. 583–589. DOI: 10.1007/s00256-015-2313-3.
- [59] T. W. Buford, D. J. Lott, E. Marzetti, S. E. Wohlgemuth, K. Vandenborne, M. Pahor, et al. “Age-related differences in lower extremity tissue compartments and associations with physical function in older adults”. In: *Experimental Gerontology* 47.1 (Jan. 2012), pp. 38–44. DOI: 10.1016/j.exger.2011.10.001.
- [60] C. B. Ahn, J. H. Kim, and Z. H. Cho. “High-speed spiral-scan echo planar NMR imaging-I”. In: *IEEE transactions on medical imaging* 5.1 (1986), pp. 2–7. DOI: 10.1109/TMI.1986.4307732.
- [61] P. C. Lauterbur. “Image Formation by Induced Local Interactions: Examples Employing Nuclear Magnetic Resonance”. In: *Nature* 242.5394 (Mar. 1973). Number: 5394 Publisher: Nature Publishing Group, pp. 190–191. DOI: 10.1038/242190a0.
- [62] G. M. Bydder and I. R. Young. “MR imaging: clinical use of the inversion recovery sequence”. In: *Journal of Computer Assisted Tomography* 9.4 (Aug. 1985), pp. 659–675.
- [63] D. C. Look and D. R. Locker. “Time Saving in Measurement of NMR and EPR Relaxation Times”. In: *Review of Scientific Instruments* 41.2 (Feb. 1970), pp. 250–251. DOI: 10.1063/1.1684482.
- [64] P. Haaf, P. Garg, D. R. Messroghli, D. A. Broadbent, J. P. Greenwood, and S. Plein. “Cardiac T1 Mapping and Extracellular Volume (ECV) in clinical practice: a comprehensive review”. In: *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance* 18.1 (Jan. 2017), p. 89. DOI: 10.1186/s12968-016-0308-4.
- [65] J. G. Raya, O. Dietrich, A. Horng, J. Weber, M. F. Reiser, and C. Glaser. “T2 measurement in articular cartilage: Impact of the fitting method on accuracy and precision at low SNR”. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 63.1 (2010). _eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/mrm.22178>, pp. 181–193. DOI: 10.1002/mrm.22178.
- [66] R. M. Henkelman. “Measurement of signal intensities in the presence of noise in MR images”. In: *Medical Physics* 12.2 (1985). _eprint: <https://aapm.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1118/1.595711>, pp. 232–233. DOI: 10.1118/1.595711.
- [67] D. J. Taylor, P. J. Bore, P. Styles, D. G. Gadian, and G. K. Radda. “Bioenergetics of intact human muscle. A 31P nuclear magnetic resonance study”. In: *Molecular Biology & Medicine* 1.1 (July 1983), pp. 77–94.
- [68] I. Bourdel-Marchasson, M. Biran, P. Dehail, T. Traissac, F. Muller, J. Jenn, et al. “Muscle phosphocreatine post-exercise recovery rate is related to functional evaluation in hospitalized and community-living older people”. In: *The Journal of Nutrition, Health & Aging* 11.3 (June 2007), pp. 215–221.
- [69] N. G. Simon, Y.-i. Noto, and C. M. Zaidman. “Skeletal muscle imaging in neuromuscular disease”. In: *Journal of Clinical Neuroscience* 33 (Nov. 2016), pp. 1–10. DOI: 10.1016/j.jocn.2016.01.041.

- [70] D. M. Sproule, M. Punyanitya, W. Shen, S. Dashnaw, B. Martens, M. Montgomery, et al. “Muscle Volume Estimation by Magnetic Resonance Imaging in Spinal Muscular Atrophy”. In: *Journal of Child Neurology* 26.3 (Mar. 2011), pp. 309–317. DOI: 10.1177/0883073810380457.
- [71] S. M. Maillard. “Quantitative assessment of MRI T2 relaxation time of thigh muscles in juvenile dermatomyositis”. In: *Rheumatology* 43.5 (Jan. 27, 2004), pp. 603–608. DOI: 10.1093/rheumatology/keh130.
- [72] M. Hatakenaka, M. Ueda, K. Ishigami, M. Otsuka, and K. Masuda. “Effects of aging on muscle T2 relaxation time: difference between fast- and slow-twitch muscles”. In: *Investigative Radiology* 36.12 (Dec. 2001), pp. 692–698. DOI: 10.1097/00004424-200112000-00003.
- [73] J. M. Morrow, C. D. J. Sinclair, A. Fischmann, P. M. Machado, M. M. Reilly, T. A. Yousry, et al. “MRI biomarker assessment of neuromuscular disease progression: a prospective observational cohort study”. In: *The Lancet Neurology* 15.1 (Jan. 2016), pp. 65–77. DOI: 10.1016/S1474-4422(15)00242-2.
- [74] S. Ponrartana, L. Ramos-Platt, T. A. L. Wren, H. H. Hu, T. G. Perkins, J. M. Chia, et al. “Effectiveness of diffusion tensor imaging in assessing disease severity in Duchenne muscular dystrophy: preliminary study”. In: *Pediatric Radiology* 45.4 (Apr. 2015), pp. 582–589. DOI: 10.1007/s00247-014-3187-6.
- [75] T. Kakuda, H. Fukuda, K. Tanitame, M. Takasu, S. Date, K. Ochi, et al. “Diffusion tensor imaging of peripheral nerve in patients with chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: a feasibility study”. In: *Neuroradiology* 53.12 (Dec. 2011), pp. 955–960. DOI: 10.1007/s00234-010-0833-z.
- [76] M. B. McCullough, Z. J. Domire, A. M. Reed, S. Amin, S. R. Ytterberg, Q. Chen, et al. “Evaluation of muscles affected by myositis using magnetic resonance elastography: Myositis and MRE”. In: *Muscle & Nerve* 43.4 (Apr. 2011), pp. 585–590. DOI: 10.1002/mus.21923.
- [77] G. Layec, J. R. Gifford, J. D. Trinity, C. R. Hart, R. S. Garten, S. Y. Park, et al. “Accuracy and precision of quantitative ^{31}P -MRS measurements of human skeletal muscle mitochondrial function”. In: *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 311.2 (Aug. 1, 2016), E358–E366. DOI: 10.1152/ajpendo.00028.2016.
- [78] G. J. Kemp and G. K. Radda. “Quantitative interpretation of bioenergetic data from ^{31}P and ^1H magnetic resonance spectroscopic studies of skeletal muscle: an analytical review”. In: *Magnetic Resonance Quarterly* 10.1 (Mar. 1994), pp. 43–63.
- [79] F. St-Jean-Pelletier, C. H. Pion, J.-P. Leduc-Gaudet, N. Sgarioto, I. Zovilé, S. Barbat-Artigas, et al. “The impact of ageing, physical activity, and pre-frailty on skeletal muscle phenotype, mitochondrial content, and intramyocellular lipids in men”. In: *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle* 8.2 (2017). Publisher: Wiley Online Library, pp. 213–228.

-
- [80] P. A. Andreux, M. P. J. van Diemen, M. R. Heezen, J. Auwerx, C. Rinsch, G. J. Groeneveld, et al. “Mitochondrial function is impaired in the skeletal muscle of pre-frail elderly”. In: *Scientific Reports* 8.1 (Dec. 2018), p. 8548. DOI: 10.1038/s41598-018-26944-x.
- [81] R. M. Morrow, M. Picard, O. Derbeneva, J. Leipzig, M. J. McManus, G. Gouspillou, et al. “Mitochondrial energy deficiency leads to hyperproliferation of skeletal muscle mitochondria and enhanced insulin sensitivity”. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114.10 (2017). Publisher: National Acad Sciences, pp. 2705–2710.
- [82] J. Varghese, D. Scandling, R. Joshi, A. Aneja, J. Craft, S. V. Raman, et al. “Rapid Assessment of Quantitative T1, T2, and T2* in Lower Extremity Muscles in Response to Maximal Treadmill Exercise”. In: *NMR in biomedicine* 28.8 (Aug. 2015), pp. 998–1008. DOI: 10.1002/nbm.3332.
- [83] J. Hata, K. Endo, O. Tsuji, S. Arakawa, M. Sato, K. Yagi, et al. “Analysis of skeletal-muscle condition after excessive loading of the lower legs by sequential magnetic resonance imaging”. In: *Journal of Orthopaedic Science* 24.5 (Sept. 2019), pp. 873–880. DOI: 10.1016/j.jos.2019.01.016.
- [84] B. M. Damon, C. D. Gregory, K. L. Hall, H. J. Stark, V. Gulani, and M. J. Dawson. “Intracellular acidification and volume increases explain R2 decreases in exercising muscle”. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 47.1 (Jan. 2002), pp. 14–23. DOI: 10.1002/mrm.10043.
- [85] P. Garrood, K. G. Hollingsworth, M. Eagle, B. S. Aribisala, D. Birchall, K. Bushby, et al. “MR imaging in Duchenne muscular dystrophy: Quantification of T₁-weighted signal, contrast uptake, and the effects of exercise”. In: *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 30.5 (Nov. 2009), pp. 1130–1138. DOI: 10.1002/jmri.21941.
- [86] G. Gouspillou, I. Bourdel-Marchasson, R. Rouland, G. Calmettes, M. Biran, V. Deschodt-Arsac, et al. “Mitochondrial energetics is impaired in vivo in aged skeletal muscle”. In: *Aging Cell* 13.1 (Feb. 2014), pp. 39–48. DOI: 10.1111/ace1.12147.
- [87] S. Morikawa, C. Kido, and T. Inubushi. “Observation of rat hind limb skeletal muscle during arterial occlusion and reperfusion by ³¹P MRS and ¹H MRF”. In: *Magnetic Resonance Imaging* 9.3 (Jan. 1991), pp. 269–274. DOI: 10.1016/0730-725X(91)90411-E.
- [88] J. A. Balschi, J. A. Bittl, C. S. Springer, and J. S. Ingwall. “³¹P and ²³Na NMR spectroscopy of normal and ischemic rat skeletal muscle. Use of a shift reagent in vivo”. In: *NMR in Biomedicine* 3.2 (Apr. 1990), pp. 47–58. DOI: 10.1002/nbm.1940030202.
- [89] B. Giannesini, C. Vilmen, Y. Le Fur, C. Dalmaso, P. J. Cozzone, and D. Bendahan. “A strictly noninvasive MR setup dedicated to longitudinal studies of mechanical performance, bioenergetics, anatomy, and muscle recruitment in contracting mouse skeletal muscle”. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 64.1 (2010). Publisher: Wiley, pp. 262–70.

- [90] L. M. Arzac, C. Beuste, S. Miraux, V. Deschodt-Arsac, E. Thiaudiere, J.-M. Francini, et al. “In vivo modular control analysis of energy metabolism in contracting skeletal muscle”. In: *Biochemical Journal* 414.3 (Sept. 15, 2008). Publisher: Portland Press, pp. 391–397. DOI: 10.1042/BJ20080280.
- [91] J. L. Nelissen, L. de Graaf, W. A. Traa, T. J. L. Schreurs, K. M. Moerman, A. J. Nederveen, et al. “A MRI-Compatible Combined Mechanical Loading and MR Elastography Setup to Study Deformation-Induced Skeletal Muscle Damage in Rats”. In: *PLOS ONE* 12.1 (Jan. 11, 2017). Ed. by C. Egles, e0169864. DOI: 10.1371/journal.pone.0169864.
- [92] A. Esposito, L. Campana, A. Palmisano, F. De Cobelli, T. Canu, F. Santarella, et al. “Magnetic Resonance Imaging at 7T Reveals Common Events in Age-Related Sarcopenia and in the Homeostatic Response to Muscle Sterile Injury”. In: *PLoS ONE* 8.3 (Mar. 12, 2013). Ed. by A. Musaro, e59308. DOI: 10.1371/journal.pone.0059308.
- [93] B. M. Prior, L. L. Ploutz-Snyder, T. G. Cooper, and R. A. Meyer. “Fiber type and metabolic dependence of T2 increases in stimulated rat muscles”. In: *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 90.2 (Feb. 2001), pp. 615–623. DOI: 10.1152/jappl.2001.90.2.615.
- [94] B. Roszek, G. C. Baan, and P. A. Huijing. “Decreasing stimulation frequency-dependent length-force characteristics of rat muscle”. eng. In: *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 77.5 (Nov. 1994), pp. 2115–2124. DOI: 10.1152/jappl.1994.77.5.2115.
- [95] C. Ju, E. Park, T. Kim, T. Kim, M. Kang, K.-S. Lee, et al. “Effectiveness of electrical stimulation on nerve regeneration after crush injury: Comparison between invasive and non-invasive stimulation”. In: *PLoS ONE* 15.5 (May 2020). DOI: 10.1371/journal.pone.0233531.
- [96] B. Giannesini, M. Izquierdo, Y. Le Fur, P. J. Cozzone, J. Fingerle, J. Himber, et al. “New experimental setup for studying strictly noninvasively skeletal muscle function in rat using 1H-magnetic resonance (MR) imaging and 31P-MR spectroscopy”. eng. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 54.5 (Nov. 2005), pp. 1058–1064. DOI: 10.1002/mrm.20637.
- [97] G. Madelin, F. Poidevin, A. Makrymallis, and R. R. Regatte. “Classification of sodium MRI data of cartilage using machine learning”. eng. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 74.5 (Nov. 2015), pp. 1435–1448. DOI: 10.1002/mrm.25515.
- [98] T. Stieglitz, M. Schuettler, A. Schneider, E. Valderrama, and X. Navarro. “Non-invasive measurement of torque development in the rat foot: measurement setup and results from stimulation of the sciatic nerve with polyimide-based cuff electrodes”. eng. In: *IEEE transactions on neural systems and rehabilitation engineering: a publication of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society* 11.4 (Dec. 2003), pp. 427–437. DOI: 10.1109/TNSRE.2003.819793.
- [99] K. Yamane and F. Mitsumori. “Optical isometric force transducer for measurement of rat skeletal muscle contraction in the NMR spectrometer”. eng. In: *NMR in biomedicine* 10.6 (Sept. 1997), pp. 292–295. DOI: 10.1002/(sici)1099-1492(199709)10:6<292::aid-nbm486>3.0.co;2-6.

-
- [100] K. Li, R. D. Dortch, E. B. Welch, N. D. Bryant, A. K. Buck, T. F. Towse, et al. “Multi-parametric MRI Characterization of Healthy Human Thigh Muscles at 3.0T - Relaxation, Magnetization Transfer, Fat/Water, and Diffusion Tensor Imaging”. In: *NMR in biomedicine* 27.9 (Sept. 2014), pp. 1070–1084. DOI: 10.1002/nbm.3159.
- [101] J. H. Park, N. J. Olsen, L. K. Jr, T. Vital, R. Buse, S. Kari, et al. “Use of magnetic resonance imaging and p-31 magnetic resonance spectroscopy to detect and quantify muscle dysfunction in the amyopathic and myopathic variants of dermatomyositis”. In: *Arthritis & Rheumatism* 38.1 (1995). _eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/art.1780380111>, pp. 68–77. DOI: 10.1002/art.1780380111.
- [102] B. Giannesini, P. J. Cozzone, and D. Bendahan. “In vivo MR investigation of skeletal muscle function in small animals”. In: *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine* 17.3 (Dec. 1, 2004), pp. 210–218. DOI: 10.1007/s10334-004-0080-6.
- [103] P. S. Allen, G. O. Matheson, G. Zhu, D. Gheorgiu, R. S. Dunlop, T. Falconer, et al. “Simultaneous 31P MRS of the soleus and gastrocnemius in Sherpas during graded calf muscle exercise”. In: *The American Journal of Physiology* 273.3 (Sept. 1997), R999–1007. DOI: 10.1152/ajpregu.1997.273.3.R999.
- [104] C. Castets, E. Ribot, W. Lefrançois, A. Trotier, E. Thiaudière, J.-M. Franconi, et al. “Fast and robust 3D T 1 mapping using spiral encoding and steady RF excitation at 7 T: application to cardiac manganese enhanced MRI (MEMRI) in mice”. In: *NMR in Biomedicine* 28.7 (July 2015). Publisher: Wiley, pp. 881–889. DOI: 10.1002/nbm.3327.
- [105] J. E. Park, Y. H. Choi, J.-E. Cheon, W. S. Kim, I.-O. Kim, Y. J. Ryu, et al. “Three-Dimensional Radial VIBE Sequence for Contrast-Enhanced Brain Imaging: An Alternative for Reducing Motion Artifacts in Restless Children”. In: *AJR. American journal of roentgenology* 210.4 (Apr. 2018), pp. 876–882. DOI: 10.2214/AJR.17.18490.
- [106] A. J. Trotier, W. Lefrançois, E. J. Ribot, E. Thiaudiere, J.-M. Franconi, and S. Miraux. “Time-resolved TOF MR angiography in mice using a prospective 3D radial double golden angle approach”. In: *Magnetic Resonance in Medicine* 73.3 (Mar. 2015), pp. 984–994. DOI: 10.1002/mrm.25201.
- [107] N. Wang, G. Cofer, R. J. Anderson, Y. Qi, C. Liu, and G. A. Johnson. “Accelerating quantitative susceptibility imaging acquisition using compressed sensing”. In: *Physics in Medicine and Biology* 63.24 (Dec. 10, 2018), p. 245002. DOI: 10.1088/1361-6560/aaf15d.
- [108] K. Baron, B. Neumayer, E. Amerstorfer, E. Scheurer, C. Diwocky, R. Stollberger, et al. “Time-Dependent Changes in T1 during Fracture Healing in Juvenile Rats: A Quantitative MR Approach”. In: *PLOS ONE* 11.11 (Nov. 10, 2016). Ed. by J. M. Wallace, e0164284. DOI: 10.1371/journal.pone.0164284.

- [109] J. M. Morrow, C. D. J. Sinclair, A. Fischmann, M. M. Reilly, M. G. Hanna, T. A. Yousry, et al. “Reproducibility, and age, body-weight and gender dependency of candidate skeletal muscle MRI outcome measures in healthy volunteers”. In: *European Radiology* 24.7 (July 2014), pp. 1610–1620. DOI: 10.1007/s00330-014-3145-6.
- [110] T. Marqueste, B. Giannesini, Y. L. Fur, P. J. Cozzone, and D. Bendahan. “Comparative MRI analysis of T2 changes associated with single and repeated bouts of downhill running leading to eccentric-induced muscle damage”. In: *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 105.1 (July 2008), pp. 299–307. DOI: 10.1152/jappphysiol.00738.2007.
- [111] E. Le Rumeur, F. Carré, A. M. Bernard, J. Y. Bansard, P. Rochcongar, and J. D. De Certaines. “Multiparametric classification of muscle T1 and T2 relaxation times determined by magnetic resonance imaging. The effects of dynamic exercise in trained and untrained subjects”. In: *The British Journal of Radiology* 67.794 (Feb. 1994), pp. 150–156. DOI: 10.1259/0007-1285-67-794-150.
- [112] M. N. Bourne, M. D. Williams, D. A. Opar, A. Al Najjar, G. K. Kerr, and A. J. Shield. “Impact of exercise selection on hamstring muscle activation”. In: *British Journal of Sports Medicine* 51.13 (July 2017), pp. 1021–1028. DOI: 10.1136/bjsports-2015-095739.
- [113] M. J. Fogarty, M. A. Gonzalez Porras, C. B. Mantilla, and G. C. Sieck. “Diaphragm neuromuscular transmission failure in aged rats”. In: *Journal of Neurophysiology* 122.1 (July 1, 2019), pp. 93–104. DOI: 10.1152/jn.00061.2019.
- [114] M. J. Fogarty, T. S. Omar, W.-Z. Zhan, C. B. Mantilla, and G. C. Sieck. “Phrenic motor neuron loss in aged rats”. In: *Journal of Neurophysiology* 119.5 (May 1, 2018), pp. 1852–1862. DOI: 10.1152/jn.00868.2017.
- [115] M. Drey, B. Krieger, C. C. Sieber, J. M. Bauer, S. Hettwer, T. Bertsch, et al. “Motoneuron Loss Is Associated With Sarcopenia”. In: *Journal of the American Medical Directors Association* 15.6 (June 2014), pp. 435–439. DOI: 10.1016/j.jamda.2014.02.002.
- [116] S. C. Webber, M. M. Porter, and P. F. Gardiner. “Modeling age-related neuromuscular changes in humans”. In: *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* 34.4 (Aug. 2009), pp. 732–744. DOI: 10.1139/H09-052.
- [117] E. S. Rawson, P. M. Clarkson, T. B. Price, and M. P. Miles. “Differential response of muscle phosphocreatine to creatine supplementation in young and old subjects”. In: *Acta Physiologica Scandinavica* 174.1 (Jan. 2002), pp. 57–65. DOI: 10.1046/j.1365-201x.2002.00924.x.
- [118] R. Varadhan, D. Russ, R. Gabr, J. Huang, R. Kalyani, Q.-L. Xue, et al. “Relationship of physical frailty to phosphocreatine recovery in muscle after mild exercise stress in the oldest-old women”. In: (2019). Publisher: The Journal of Frailty and Aging (JFA) Version Number: 1. DOI: 10.14283/JFA.2019.21.
- [119] R. Cooke and E. Pate. “The effects of ADP and phosphate on the contraction of muscle fibers”. In: *Biophysical Journal* 48.5 (Nov. 1985), pp. 789–798. DOI: 10.1016/S0006-3495(85)83837-6.


-
- [120] R. Cooke, K. Franks, G. B. Luciani, and E. Pate. “The inhibition of rabbit skeletal muscle contraction by hydrogen ions and phosphate.” In: *The Journal of Physiology* 395.1 (Jan. 1, 1988), pp. 77–97. DOI: 10.1113/jphysiol.1988.sp016909.
- [121] N. Montero-Fernández and J. A. Serra-Rexach. “Role of exercise on sarcopenia in the elderly”. In: *European Journal of Physical and Rehabilitation Medicine* 49.1 (Feb. 2013), pp. 131–143.
- [122] P. J. Brown, D. Badreddine, S. P. Roose, B. Rutherford, H. N. Ayonayon, K. Yaffe, et al. “Muscle fatigability and depressive symptoms in later life”. In: *International Journal of Geriatric Psychiatry* 32.12 (2017), e166–e172. DOI: 10.1002/gps.4678.
- [123] E. M. Reijnierse, M. C. Trappenburg, G. J. Blauw, S. Verlaan, M. A. E. de van der Schueren, C. G. M. Meskers, et al. “Common Ground? The Concordance of Sarcopenia and Frailty Definitions”. In: *Journal of the American Medical Directors Association* 17.4 (Apr. 1, 2016), 371.e7–12. DOI: 10.1016/j.jamda.2016.01.013.
- [124] P. Plummer, L. A. Zukowski, C. Giuliani, A. M. Hall, and D. Zurakowski. “Effects of Physical Exercise Interventions on Gait-Related Dual-Task Interference in Older Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis”. In: *Gerontology* 62.1 (Feb. 19, 2015), pp. 94–117. DOI: 10.1159/000371577.
- [125] R. Beurskens, T. Muehlbauer, and U. Granacher. “Association of dual-task walking performance and leg muscle quality in healthy children”. In: *BMC Pediatrics* 15 (Feb. 5, 2015), p. 2. DOI: 10.1186/s12887-015-0317-8.
- [126] O. Beauchet, C. Annweiler, Y. Lecordroch, G. Allali, V. Dubost, F. R. Herrmann, et al. “Walking speed-related changes in stride time variability: effects of decreased speed”. In: *Journal of Neuroengineering and Rehabilitation* 6 (Aug. 5, 2009), p. 32. DOI: 10.1186/1743-0003-6-32.
- [127] K. A. Faulkner, M. S. Redfern, J. A. Cauley, D. P. Landsittel, S. A. Studenski, C. Rosano, et al. “Multitasking: association between poorer performance and a history of recurrent falls”. In: *Journal of the American Geriatrics Society* 55.4 (Apr. 2007), pp. 570–576. DOI: 10.1111/j.1532-5415.2007.01147.x.
- [128] J. A. Avila-Funes, A. Pelletier, C. Meillon, G. Catheline, O. Periot, I. Trevin O-Frenk, et al. “Vascular Cerebral Damage in Frail Older Adults: The AMImage Study”. In: *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences* 72.7 (July 1, 2017), pp. 971–977. DOI: 10.1093/gerona/glw347.
- [129] I. Bourdel-Marchasson, G. Catheline, S. Regueme, M. Danet-Lamasou, E. Barse, F. Ratsimbazafy, et al. “Frailty and Brain-Muscle Correlates in Older People With Type 2 Diabetes: A structural-MRI Explorative Study”. In: *The Journal of Nutrition, Health & Aging* 23.7 (2019), pp. 637–640. DOI: 10.1007/s12603-019-1229-3.
- [130] I. Bourdel Marchasson, J. Doucet, B. Bauduceau, G. Berrut, J. F. Blikle, P. Brocker, et al. “Key priorities in managing glucose control in older people with diabetes”. In: *The Journal of Nutrition, Health & Aging* 13.8 (Oct. 2009), pp. 685–691. DOI: 10.1007/s12603-009-0198-3.
-

- [131] D. Furman, J. Chang, L. Lartigue, C. R. Bolen, F. Haddad, B. Gaudilliere, et al. “Expression of specific inflammasome gene modules stratifies older individuals into two extreme clinical and immunological states”. In: *Nature Medicine* 23.2 (Feb. 2017), pp. 174–184. DOI: 10.1038/nm.4267.
- [132] J. V. Manjón and P. Coupé. “volBrain: An Online MRI Brain Volumetry System”. In: *Frontiers in Neuroinformatics* 10 (2016), p. 30. DOI: 10.3389/fninf.2016.00030.
- [133] E. Næss-Schmidt, A. Tietze, J. U. Blicher, M. Petersen, I. K. Mikkelsen, P. Coupé, et al. “Automatic thalamus and hippocampus segmentation from MP2RAGE: comparison of publicly available methods and implications for DTI quantification”. In: *International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery* 11.11 (Nov. 2016), pp. 1979–1991. DOI: 10.1007/s11548-016-1433-0.
- [134] A. Valentini, M. Federici, M. A. Cianfarani, U. Tarantino, and A. Bertoli. “Frailty and nutritional status in older people: the Mini Nutritional Assessment as a screening tool for the identification of frail subjects”. In: *Clinical Interventions in Aging* Volume 13 (July 2018), pp. 1237–1244. DOI: 10.2147/CIA.S164174.
- [135] L. B. d. R. Orssatto, M. J. Wiest, and F. Diefenthaler. “Neural and musculotendinous mechanisms underpinning age-related force reductions”. In: *Mechanisms of Ageing and Development* 175 (Oct. 2018), pp. 17–23. DOI: 10.1016/j.mad.2018.06.005.
- [136] B. T. Wall, M. L. Dirks, and L. J. C. van Loon. “Skeletal muscle atrophy during short-term disuse: implications for age-related sarcopenia”. In: *Ageing Research Reviews* 12.4 (Sept. 2013), pp. 898–906. DOI: 10.1016/j.arr.2013.07.003.
- [137] E. Ghione, N. Bergsland, M. G. Dwyer, J. Hagemeyer, D. Jakimovski, I. Paunkoski, et al. “Aging and Brain Atrophy in Multiple Sclerosis”. In: *Journal of Neuroimaging: Official Journal of the American Society of Neuroimaging* 29.4 (2019), pp. 527–535. DOI: 10.1111/jon.12625.
- [138] M. Gallucci, C. Piovesan, and M. E. Di Battista. “Associations between the Frailty Index and Brain Atrophy: The Treviso Dementia (TREDDEM) Registry”. In: *Journal of Alzheimer’s disease: JAD* 62.4 (2018), pp. 1623–1634. DOI: 10.3233/JAD-170938.
- [139] M. Maltais, P. de Souto Barreto, S. Y. Moon, Y. Rolland, and B. Vellas. “Prospective association of white matter hyperintensity volume and frailty in older adults”. In: *Experimental Gerontology* 118 (Apr. 2019), pp. 51–54. DOI: 10.1016/j.exger.2019.01.007.
- [140] A. Akbari, C. P. Rockel, D. A. Kumbhare, and M. D. Noseworthy. “Safe MRI-Compatible electrical muscle stimulation (EMS) system: Concurrent MRI and Electrical Stimulation”. In: *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 44.6 (Dec. 2016), pp. 1530–1538. DOI: 10.1002/jmri.25316.

Annexes

Annexes A

Développement d'une carte électronique de synchronisation des séquences IRM avec l'électrostimulation



```
trigIRM
int bouton = 12;

void setup() {
  pinMode(bouton, INPUT);
  pinMode(LED_BUILTIN, OUTPUT);
  digitalWrite(LED_BUILTIN, HIGH);
  int etat=LOW;
}

void loop() {
  int etat=digitalRead(bouton);
  if (etat==HIGH)
  {
    digitalWrite(LED_BUILTIN, HIGH);
    delay(650);
    digitalWrite(LED_BUILTIN, LOW);
    delay(7);
    digitalWrite(LED_BUILTIN, HIGH);
    delay(200);
  }
  if (etat==LOW)
  {
    digitalWrite(LED_BUILTIN, HIGH);
  }
}
```

Figure A.1: *Code de synchronisation des séquences Arduino.*

Annexes B

IRM multi-paramétrique du
gastrocnémus du rat jeune et âgé à 4,7
et 7T, au repos et stimulé

Tableau B.1: Table récapitulative des mesures réalisées sur les jeunes rats au repos et pendant la stimulation du muscle gastrocnémien, en fonction des 3 paradigmes proposés.

	Variation des intensités			Variation des pulses			Variation des fréquences		
	T2	[PCr]	[Pi]	T2	[PCr]	[Pi]	T2	[PCr]	[Pi]
Repos	29.8±1.5	29.7±2.6	3.0±1.1	31.8±2.2	28.5±1.7	1.6±0.5	29.4±0.8	31.4±1.6	2.2±0.6
Stim	33.9±0.9	22.5±3.2	6.5±1.7	34.7±1.0	21.6±3.1	8.0±2.9	32.2±0.9	22.6±6.1	8.2±4.3

Tableau B.2: Table récapitulative des mesures réalisées sur les jeunes rats durant chaque phase de repos et de stimulation, en fonction des 3 paradigmes proposés.

	Variation des intensités			Variation des pulses			Variation des fréquences				
	T2	[PCr]	[Pi]	T2	[PCr]	[Pi]	T2	[PCr]	[Pi]		
Pre-stim	28.0±0.5	34.7±0.7	4.2±0.6	Pre-stim	27.2±0.3	31.7±0.3	1.8±0.1	Pre-stim	29.9±0.7	34.6±0.4	1.8±0.2
2mA	29.9±0.1	24.7±2.7	6.7±1.9	50µs	34.3±0.9	23.0±2.8	8.3±4.1	0.5Hz	32.6±0.6	22.1±7.2	7.8±5.1
Repos ₁	28.3±0.6	31.2±1.1	2.5±0.8	Repos ₁	31.4±0.7	29.4±0.9	1.7±0.3	Repos ₁	29.1±0.8	31.2±0.8	2.1±0.2
6mA	33.0±0.5	21.7±3.4	6.5±1.9	100µs	34.8±0.6	20.3±5.0	8.6±3.7	1Hz	32.8±0.4	23.0±6.7	7.5±4.2
Repos ₂	30.4±0.9	29.2±0.7	3.7±0.7	Repos ₂	31.9±0.7	28.0±0.9	1.6±1.1	Repos ₂	29.6±0.8	31.1±0.8	1.9±0.7
10mA	34.6±0.6	21.1±3.4	6.4±2.0	200µs	34.9±1.5	21.4±0.6	7.2±1.2	2Hz	31.3±1.0	22.6±7.3	9.2±5.3
Rest ₃	30.8±1.6	28.7 ±1.0	2.8±1.5	Rest ₃	32.2±1.0	28.0±1.0	1.5±0.3	Rest ₃	29.5±1.1	31.8±0.3	2.5±1.2

Tableau B.3: Table récapitulative des mesures réalisées sur les rats âgés au repos et pendant la stimulation du muscle gastrocnémien, en fonction des 3 paradigmes proposés.

	Variation des intensités			Variation des pulses			Variation des fréquences		
	T2	[PCr]	[Pi]	T2	[PCr]	[Pi]	T2	[PCr]	[Pi]
Repos	29,5±1.5	31,6±4,4	1,8±0,6	30,4±2,0	31,4±4,3	21±1,7	29.2±0.8	37,2±3,6	2.3±0.6
Stim	32,5±2,1	25,2±10,3	9,5±7,9	33,2±2,3	24,8±8,7	6,5±2,7	31,9±1,0	24,5±3,3	11,5±2,6

Tableau B.4: Table récapitulative des mesures réalisées sur les rats âgés durant chaque phase de repos et de stimulation, en fonction des 3 paradigmes proposés.

	Variation des intensités			Variation des pulses			Variation des fréquences				
	T2	[PCr]	[Pi]	T2	[PCr]	[Pi]	T2	[PCr]	[Pi]		
Pre-stim	28,5±0,5	37,6±0,3	4,2±0,6	Pre-stim	27,6±0,3	36,4±0,2	2,0±0,6	Pre-stim	27,7±0,4	44,4±0,5	2,2±0,2
2mA	30,1±0,3	38,2±0,9	2,5±0,4	50us	30,1±0,2	35,9±0,7	3,4±0,4	0.5Hz	30,9±0,3	25,8±5,1	13,2±2,6
Repos ₁	28,6±0,6	36,3±0,4	2,4±0,3	Rest 1	28,1±0,5	36,5±0,2	2,3±0,3	Rest 1	28,7±0,2	37,2±1,8	2,4±0,4
6mA	33,0±0,5	19,5±5,3	18,0±7,1	100us	34,7±0,5	20,6±3,3	8,0±2,1	1Hz	32,3±0,9	22,9±2,6	11,1±1,8
Repos ₂	30,7±1,1	31,0±2,0	1,4±0,8	Rest 2	32,1±0,7	30,8±1,4	1,8±0,4	Rest 2	29,7±0,2	37,3±2,1	1,8±0,8
10mA	34,6±0,6	18,0±4,0	11,3±5,1	200us	34,7±0,6	21,4±0,6	8,2±1,3	2Hz	32,5±0,8	24,9±2,9	10,3±0,4
Repos ₃	30,8±1,6	27,4±1,7	1,6±0,2	Rest 3	31,0±0,2	26,9±1,7	2,2±0,3	Rest 3	29,8±0,2	37,2±1,9	2,8±0,6

Annexes C

Protocole d'étude MIDAS-CLIN

Tableau C.1: Protocole d'étude MIDAS complet

	Pré-inclusion	Inclusion	Suivi		
	V0	V1	V2	V3	V4
		D1	D7	M+1	M+6
Critères et consentement	X				
Caractéristiques des participants (genre, âge, taille)		X			
Signes vitaux (poids, pression artérielle)		X			
Scores CGA (critère de Fried, index de Barthel, MNA)	X				
Fonction et cognition (MMSE, Force de contraction maximale de fléchisseurs de hanche)		X			
Laboratoire local (HsCRP, créatinine, HbA1c, ionogramme, bicarbonate, cystatine)	X				
Laboratoire central (myostatine, interleukines 1b et 18)	X				
SSPB et IRM			X		
Traitements pharmaceutiques et comorbidités	X				
Évènements contre-indiquants	X	X	X	X	X

Titre : IRM multi-paramétrique du muscle squelettique dans le contexte de la sarcopénie et de la fragilité

Résumé : Le syndrome gériatrique de fragilité est défini comme un état cliniquement reconnaissable de vulnérabilité accrue résultant du déclin associé au vieillissement. Bien que ce diagnostic soit délivré suite à des tests physiques, l'état des muscles n'est pas spécifiquement étudié alors qu'un des facteurs principaux de l'état de fragilité est la sarcopénie. Afin de poursuivre dans cette voie, il a été décidé d'étudier les muscles par Imagerie par Résonance Magnétique (IRM), méthode non-invasive favorisant les suivis longitudinaux et offrant de fortes résolutions spatiales. Étant donné la nécessité de développer de nouvelles méthodes IRM pour l'exploration des muscles, le choix s'est également porté sur l'utilisation de modèles animaux, et plus particulièrement le rat, car ils permettent de mimer de nombreuses pathologies humaines. Tout d'abord, un lit IRM-compatible a été développé afin de pouvoir placer le rat dans l'imageur, tout en permettant l'électrostimulation du muscle gastrocnémien. Ce lit possède également une pédale associée à un capteur de pression afin de mesurer la force exercée par la patte stimulée. S'ajoute à cela le développement d'une carte électronique permettant la synchronisation entre l'électrostimateur et les séquences IRM. La mesure multi-paramétrique du muscle pendant l'effort a été réalisée grâce au développement d'une séquence Look-Locker à encodage radial, d'une séquence Multi-Slice Multi-Echo et l'utilisation de la spectroscopie du phosphore ^{31}P pour mesurer les temps de relaxation T_1 , T_2 et la consommation d'ATP/PCr. Grâce aux développements méthodologiques, aucun artefact de mouvement n'a été détecté sur les images, ce qui a permis d'appliquer ces séquences à une étude comparative de l'effort musculaire entre des rats jeunes et âgés. Les méthodes ont permis de montrer que, contrairement au T_1 , le T_2 varie en fonction de l'intensité de stimulation. La spectroscopie a également permis d'établir une corrélation entre les variations de T_2 avec la consommation de PCr. En parallèle, une étude clinique chez l'homme a permis de mesurer le T_2 du muscle de patients fragiles et de le corrélérer aux dégénérescences cognitives liées à l'âge.

Mots clés: sarcopénie ; fragilité ; IRM multiparamétrique ; muscle squelettique

Title: Multiparametric MRI of skeletal muscle in the context of sarcopenia and frailty

Summary: Geriatric Frailty Syndrome is defined as a clinically recognizable condition of increased vulnerability resulting from decline associated with aging. Although this diagnosis is set up following physical tests, the condition of the muscles is not specifically studied, whereas one of the main factors of the frailty condition is sarcopenia. In order to pursue in this direction, it was decided to study the muscles through Magnetic Resonance Imaging (MRI), a non-invasive method enabling longitudinal follow-up and offering high spatial resolutions. Given the need to develop new MRI methods for the exploration of muscles, animal models, and more particularly the rats, were studied as they enable to mimic many pathologies. First, an MRI-compatible bed was developed in order to place the rat in the scanner, while enabling the electrostimulation of the gastrocnemius muscle. This bed also contains a foot pedal associated with a pressure transducer in order to measure the force exerted by the stimulated hind limb. In addition, an electronic card enabling synchronization between the electrostimulator and the MRI sequences was developed. The multi-parametric measurement of muscle during exercise was carried out after the development of a radial-encoded Look-Locker sequence, a Multi-Slice Multi-Echo sequence and ^{31}P phosphorus spectroscopy to measure T_1 relaxation times, T_2 and ATP/PCr consumption. Due to these methodological developments, no movement artefact was detected on the images, which enabled to apply these sequences to a comparative study of muscular effort between young and old rats. These methods have shown that, unlike T_1 , T_2 varies with the intensity of stimulation. Spectroscopy also permitted to establish a correlation between the variations of T_2 with the consumption of PCr. Moreover, a clinical study in humans enabled to measure the T_2 of muscle in frailty patients and to assess correlations with age-related cognitive degenerations.

Keywords: sarcopenia; frailty; Multiparametric MRI; skeletal muscle

CRMSB UMR 5536 - CNRS, Université de Bordeaux, 33000 Bordeaux, France.