HAL
open science

Étude du métabolisme énergétique in vivo par IRM-CEST du glucose

Yohann Mathieu-Daudé

To cite this version:

Yohann Mathieu-Daudé. Étude du métabolisme énergétique in vivo par IRM-CEST du glucose. Imagerie. Université Paris-Saclay, 2022. Français. NNT : 2022UPAST061 . tel-03696869

HAL Id: tel-03696869

https://theses.hal.science/tel-03696869v1

Submitted on 16 Jun 2022

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 PARIS-SACLAY

Étude du métabolisme énergétique *in vivo* par IRM-CEST du glucose

Study of energy metabolism in vivo *using CEST-MRI of glucose*

Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay

École doctorale n° 575, Electrical, Optical, Bio : physics and Engineering (EOBE)
Spécialité de doctorat : Imagerie et physique médicale
Graduate School : Sciences de l'ingénierie et des systèmes. Référent : Faculté des Sciences d'Orsay

Thèse préparée au Laboratoire des Maladies Neurodégénératives (Université Paris Saclay, CEA, CNRS) sous la direction de **Julien VALETTE**, directeur de recherche, et le co-encadrement de **Julien FLAMENT**, chargé de recherche.

Thèse présentée et soutenue à Paris-Saclay, le 11 avril 2022, par

Yohann MATHIEU-DAUDÉ

Composition du Jury

Luisa CIOBANU Directrice de recherche, Université Paris-Saclay, Neurospin, CEA	Présidente
Anne-Karine BOUZIER-SORE Directrice de recherche, Université de Bordeaux, RMSB	Rapporteure & Examinatrice
Guilhem PAGÈS Chargé de recherche, HDR, Université Clermont-Auvergne, INRAE	Rapporteur & Examinateur
Sébastien LÉON Directeur de recherche, Université de Paris, IJM	Examinateur
Julien VALETTE Directeur de recherche, MIRCen, CEA	Directeur de thèse

THESE DE DOCTORAT

NNT : 2022UPAST061

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Philippe Hentraye de m'avoir ouvert les portes de MIRCen ainsi que Gilles Bonvento et Emmanuel Brouillet pour m'avoir accueilli au sein du Laboratoire des Maladies Neurodégénératives. Je remercie également les membres de mon jury pour le temps qu'ils m'ont consacré et leurs retours constructifs lors de la soutenance. En particulier, un grand merci à Anne-Karine Bouzier-Sore et Guilhem Pagès d'avoir accepté de rapporter mon travail de thèse ainsi qu'à mes examinateurs Luisa Ciobanu et Sébastien Léon.

Ces trois années de thèse à MIRCen, qui me paraissaient si longues au début, sont finalement passées (presque) trop vite, au sein de cette équipe IRM qui a depuis bien grandi. Cette expérience unique a été l'occasion pour moi de faire la rencontre de personnes incroyables que j'ai pu côtoyer toutes ces années et qui m'ont épaulé tout au long de cette thèse. Ces personnes font du laboratoire un lieu plein de vie et créent une ambiance chaleureuse et amicale comme on en rencontre rarement. J'aimerais ici exprimer ma gratitude envers elles et mettre en avant ces personnes dont on parle peu et que je trouve pourtant indispensables à la vie du laboratoire.

J'aimerais commencer par toi, Julien Flament, sans qui cette thèse n'aurait pas été possible et qui a été présent sans relâche durant ces années. Je te dis encore merci d'avoir été un encadrant attentif et bienveillant, de m'avoir poussé à donner le meilleur de moi-même, d'avoir été à l'écoute de mes idées et de m'avoir transmis ton savoir-faire et tes connaissances en CEST. Merci aussi de m'avoir transmis cette rigueur scientifique qui te caractérise et dont je sais qu'elle continuera de me servir longtemps dans mon avenir professionnel et personnel. Nos discussions me manqueront et qui sait, même si je ne compte pas poursuivre dans le CEST tout de suite, j'y reviendrais probablement un jour. Je te souhaite le meilleur pour la suite, je sais que le CEST est entre de bonnes mains avec toi et Cécile.

Je remercie également Julien Valette, qui a suivi d'un œil bienveillant et expert l'avancée de mes travaux. Tes remarques pertinentes en team meeting ou au détour d'un couloir m'ont beaucoup aidé et j'aurais aimé passer encore du temps à apprendre de ton expertise. Ta rigueur et ta passion pour la recherche sont inspirantes. J'ai particulièrement apprécié nos discussions hors labo à parler d'informatique et de SF. J'espère qu'un jour j'aurais ton talent pour trouver des titres d'abstract incroyables.

Enfin, Céline, merci d'avoir été là avec ta bonne humeur et ton optimisme permanent qui m'ont aidé plus d'une fois à me remotiver après des manips infructueuses. Merci de m'avoir accompagné pendant mes débuts d'expérimentation animale et merci pour cette incroyable interprétation dans ma vidéo !

Nos discussions mêlant O^{17}, OGI, impression 3D et tes idées originales m'ont toujours égayé et elles me manqueront, bien que je ne désespère pas te recroiser au PMU chapeau chapeau.

Au-delà de simples collègues de travail, MIRCen m'a aussi fait découvrir de fabuleux amis avec qui j'ai pu partager ces années, et qui, je l'espère, seront à mes côtés encore longtemps. Merci à vous tous, pour tout ce que nous avons partagé, des PMU réguliers aux anniversaires en passant par les weekends entre nous, les brunchs et nos soirées en ligne pendant ce confinement. Je vous souhaite de continuer à maintenir cette ambiance si agréable entre doctorants et qui fait la force de ce labo.

Je voudrais remercier les membres du bureau 110, à commencer par Marina et Suzanne, qui, bien qu'elles aient maintenant déménagé, m'ont chaleureusement accueilli à mon arrivée. Merci Marina pour tes efforts et ton sérieux qui m'inspirent encore aujourd'hui. Continue ces scènes de vidéos de thèse tout bonnement magiques et qui me surprendront toujours. Bon courage pour cette fin de thèse et attention à ne pas trop abuser de ton carburant préféré, j'ai nommé : le Coca ! Merci Suzette de tes rires et de ta bonne humeur qui ont toujours égayé nos repas. Le bureau 110 étant maintenant dédié à l'équipe 4 j'aimerai remercier JB mon compagnon de galère qui m'aura supporté durant ces trois années. Ça a failli mal commencer et pourtant ! Quel plaisir de t'avoir eu à mes côtés, à discuter de tout et de rien, à s'interroger sur le CEST, à se marrer… bref tu es devenu un vrai ami et pour ça merci. Je ne doute pas qu'on continuera à se retrouver. Mélissa, merci pour tes encouragements, ton aide pour la programmation de séquences et pour m'avoir fait découvrir le volley ainsi que la course à pied. Je te souhaite une bonne continuation à Rennes.

Merci également aux doctorants et post-doctorants du bureau 110 qui m'ont rejoint en cours de route. Merci Amélie pour ta bonne humeur et ton enthousiasme qui font de ta présence une bulle de paix. Merci pour toutes nos discussions qui m'auront bien challengé. Merci aussi Sophie pour tes talents de cuisinière qui nous auront régalé après de longs team meetings et attention à ne pas encore te casser la cheville. Bon courage à vous deux pour cette fin de thèse ! Éloïse, toi qui es si discrète, tu es tout simplement un puits de connaissance incroyable. Merci beaucoup d'avoir pris le temps de répondre à mes nombreuses interrogations sur le signal RMN, tu m'as grandement aidé. Rodrigo, thank you for your kindness and your knowledge on the glucose and lactate metabolism.

Je n'oublie évidemment pas tous les autres doctorants sans qui l'ambiance à MIRCen n'aurait pas été aussi chaleureuse. Merci à Océane, Charlotte, PA et Nyfa de m'avoir accueilli dans leur bureau, où l'on a fini par passer de nombreuses pauses café. Merci PA pour ta présence, ton soutien, ta joie de vivre et pour tous nos moments passés ensemble au parc à simplement se reposer. Merci Nyfa, toi qui m'auras fait grandir et permis de m'épanouir socialement. Merci d'avoir veillé sur chacun d'entre nous

pendant tes années de thèse, j'espère que nous avons pu te renvoyer l'ascenseur quand tu en avais besoin. Merci à Miriam, arrivée sans parler un mot de français et aujourd'hui une bilingue accomplie. Merci pour ta bonne humeur, ton humour et ton merveilleux accent espagnol. Merci de faire de chaque séance de volley un pur bonheur. Mathilde et Pauline, arrivées stagiaires et rapidement devenues inséparables vous m'avez fait mourir de rire tellement de fois que j'en ai encore mal aux zygomatiques. Merci pour toutes ces merveilleuses soirées passées ensemble. Malgré les embûches je sais que vos thèses seront incroyables. Je vous souhaite le meilleur pour la suite.

Je souhaite maintenant bon courage à la relève, Yannis, Cameron, Nathan, Tom, et Cécile. Cécile le monde du CEST quantitatif repose désormais sur tes épaules, bon courage pour tes manips et tes simulations.

Je voudrais également remercier les anciens doctorants et ceux que j'ai moins eu l'occasion de côtoyer mais qui ont contribué à rendre mon passage à MIRCen si agréable, Clément, Sébastien, Thibault, Huaqian, Camille, Anastasie, Francesco, Emma, Sarah, Audrey, Lucile.

Un immense merci à Gwen pour l'aide inestimable que tu m'as apportée concernant la gestion des colonies de rats, du génotypage aux commandes, en passant par l'identification et les soins. Merci pour tes nombreux conseils et tes discussions aux repas de midi. Merci également à Julien M. pour ton partage de connaissances sur l'expérimentation animale.

Toujours en expérimentation animale, merci à Mylène et Martine pour votre patience et votre disponibilité concernant mes manips. Merci d'avoir pris le temps de me former et pour nos nombreuses discussions. Je ne manquerai pas de vous donner de mes nouvelles.

Enfin, merci Carole de m'avoir permis d'assister à une chirurgie. Merci Nicolas pour ton aide en informatique et pour la fin de ma thèse. Te découvrir a été un vrai plaisir, j'ai hâte de te retrouver au volley. Merci également à Kristell, Chrysis et Laurent de veiller à notre sécurité au quotidien. Merci Nadja et Olivier pour votre aide sur la simulation du transport du glucose.

Bien qu'une thèse se déroule au laboratoire, il est essentiel de pouvoir aussi se retrouver avec des amis pour se changer les idées. Merci donc à Nicolas et Sacha pour m'avoir tenu compagnie malgré la distance qui nous sépare. Cette petite escapade à Milan m'aura fait le plus grand bien.

Merci à ma famille qui m'a toujours soutenu et qui m'a permis de devenir la personne que je suis aujourd'hui. Merci à mes frères que je retrouve à chaque fois avec un immense plaisir bien qu'ils soient

aujourd'hui éparpillés à travers le monde et dont je suis si admiratif. Merci à mes parents de m'avoir toujours poussé à donner le meilleur de moi-même, de n'avoir jamais douté de ma capacité à parvenir à mes fins. Merci enfin à mes grands-parents avec qui chaque conversation est un bonheur et dont je profite au maximum. Merci également à Julie de m'avoir soutenu pendant ces trois années, pour ta patience et ton écoute constantes qui m'ont permis d'aller au bout de cette thèse.

Table des matières

Abréviations 7
Introduction générale 9
Chapitre I : Contexte neurobiologique 13
I.1. Le glucose comme source d'énergie 13
I.1.1. Glycolyse 14
I.1.2. Cycle de Krebs 16
I.1.3. Chaîne de transport d'électrons et phosphorylation oxydative 17
I.1.4. Bilan énergétique 19
I.2. Besoins énergétiques cérébraux 19
I.2.1. Activité électrique et pompes ATPases 21
I.2.2. Production de neurotransmetteurs 22
I.2.3. Cellules gliales 23
I.2.4. Transporteurs du glucose 24
I.3. Réserves énergétiques & Homéostasie 26
I.3.1. Rôle du cerveau dans l'homéostasie du métabolisme du glucose 26
I.3.2. Glycogène 27
I.3.3. Acides gras 28
I.4. Profils métaboliques complémentaires : le couple neurone-astrocyte 29
I.4.1. Profil métabolique des neurones 30
I.4.2. Profil métabolique des astrocytes 31
I.4.3. Signalisation métabolique 32
Chapitre II : Mesures « conventionnelles » du métabolisme énergétique 35
II.1. Besoins en imagerie 35
II.1.1. Un peu d'histoire 35
II.1.2. Un outil pour le suivi des maladies 37
II.1.3. Suivre l'évolution de la maladie grâce aux biomarqueurs 37
II.1.4. Vers des biomarqueurs du métabolisme énergétique 38
II.2. L'imagerie TEP 40
II.2.1. Historique et principes TEP 40
II.2.2. Radiotraceur 43
II.2.3. Applications 44
II.3. Spectroscopie RMN 47
II.3.1. Historique et principes RMN 47
II.3.2. Excitation et relaxation 50

II.3.3. Déplacement chimique 51
II.3.4. Couplage J 52
II.3.5. Spectroscopie *in vivo* 53
II.4. IRM 55
II.4.1. Localisation du signal 55
II.4.2. Notion de Séquence IRM 58
II.4.3. Pondération en diffusion 59
II.4.4. Séquence RMN 61
II.5. IRM vs TEP 62
Chapitre III : Le métabolisme énergétique dans les maladies neurodégénératives 65
III.1. Neurodégénérescence 65
III.1.1. Mécanismes généraux 66
III.1.2. Dégradation des protéines 66
III.1.3. Mort cellulaire programmée 68
III.2. Altérations du métabolisme énergétique 69
III.2.1. Hypométabolisme 69
III.2.2. Neuro-inflammation 70
III.2.3. Résistance à l'insuline 70
III.2.4. Hyperactivité neuronale 72
III.2.5. Dysfonctionnement mitochondrial 72
III.2.6. Stress oxydatif 73
III.3. Apport des outils d'imagerie à l'étude des maladies neurodégénératives 74
III.3.1. TEP 74
III.3.2. IRM 79
Chapitre IV : Imagerie CEST 85
IV.1. Principe général & conditions d'observation 85
IV.1.1. Historique de l'imagerie CEST 85
IV.1.2. Conditions d'observation 88
IV.2. Transferts de saturation 95
IV.2.1. Saturation complète 95
IV.2.2. Approximation de saturation faible 96
IV.2.3. Solutions en fonction du temps de l'approximation de saturation faible 97
IV.3. Contributions au signal CEST 98
IV.3.1. Transferts d'aimantation 98
IV.3.2. Mesure des effets de saturation 102
IV.4. CEST endogène 106

IV.4.1. Amides –NH 107
IV.4.2. Amines –NH_2 109
IV.4.3. Hydroxyles –OH 113
Chapitre V : Mise au point de l'IRM glucoCEST 119
V.1. Environnement technique 119
V.1.1. Haut champ et antennes 119
V.1.2. Module d'imagerie 121
V.1.3. Module de saturation 122
V.2. Optimisation pour la détection du glucose 123
V.2.1. Homogénéité du champ B_0 123
V.2.2. Caractérisation du signal CEST 126
V.2.3. Seuil de détection du glucose 131
V.3. Intermédiaires du métabolisme énergétique 133
V.3.1. Glucose-6-phosphate 134
V.3.2. Fructose 136
V.3.3. Fructose-6-phosphate 137
V.3.4. Fructose 1,6-biphosphate 139
V.3.5. Pyruvate 139
V.3.6. Lactate 140
V.4. Analogues du glucose 141
V.4.1. L-glucose 142
V.4.2. 2-désoxy-D-glucose 142
V.4.3. 3-O-méthyl-D-glucose 143
V.4.4. Comparaison avec le D-glucose 144
Chapitre VI : Défis de l'IRM glucoCEST *in vivo* 147
VI.1. Protocole expérimental 147
VI.1.1. Mise en place de l'animal 148
VI.1.2. Température corporelle et métabolisme 149
VI.1.3. Contrôle du poids 149
VI.1.4. Anesthésie et suivi des paramètres physiologiques 150
VI.1.5. Injection de glucose exogène 154
VI.2. Protocole d'imagerie et effet physiologique de l'injection de molécule exogène 155
VI.2.1. Acquisition CEST multi-fréquentielle 155
VI.2.2. Mise au point de l'imagerie CEST 155
VI.2.3. Suivi physiologique : acquisition de la glycémie sanguine 156
VI.3. Modèle rat BACHD 159

VI.3.1. Atteintes cérébrales 160
VI.3.2. Métabolisme général 161
Chapitre VII : Elucidation de l'origine compartimentale du signal CEST 163
VII.1. Etat de l'art 163
VII.2. Optimiser la détection compartimentale du signal 166
VII.2.1. Nécessité d'une séquence RMN-CEST 167
VII.2.2. Intérêt des analogues et caractérisation compartimentale 167
VII.2.3. Acquisition multi-fréquences 169
VII.3. Cinétiques CEST des différents analogues 170
VII.3.1. Contribution de l'espace vasculaire : le L-glucose 170
VII.3.2. Le D-glucose dans les différents compartiments et leurs contributions au signal CEST. 171
VII.3.3. Contribution des molécules d'intérêt dans le liquide céphalo-rachidien ? 172
VII.3.4. 3-O-méthyl-D-glucose 174
VII.3.5. 2-désoxy-D-glucose 175
VII.3.6. Interactions des différents compartiments dans le transport et la métabolisation du glucose 177
VII.4. Discriminer l'intracellulaire de l'extracellulaire grâce à la diffusion 178
VII.4.1. Implémentation du module de diffusion dans la séquence CEST 180
VII.4.2. Apport de la séquence CEST pondérée en diffusion à la discrimination 181
VII.4.3. Les contributions des différents compartiments restent malgré tout incertaines 182
Chapitre VIII : Evaluation du glucoCEST comme outil de suivi du métabolisme énergétique 185
VIII.1. Exploration du métabolisme énergétique cérébral 185
VIII.2. Observation des cinétiques des effets glucoCEST dans les structures cérébrales 188
VIII.2.1. Séquence d'intérêt 188
VIII.2.2. Effet des structures cérébrales sur le contraste glucoCEST 189
VIII.2.3. Description quantitative des cinétiques glucoCEST. 189
VIII.2.4. Différences métaboliques entre structures cérébrales 191
VIII.3. Le métabolisme musculaire en CEST 193
VIII.3.1. Un métabolisme différent 193
VIII.3.2. Séquence d'imagerie 194
VIII.3.3. Contraste glucoCEST dans le muscle 195
VIII.3.4. Comparaison du métabolisme cérébral et musculaire 196
VIII.4. Conclusion 197
Chapitre IX : Suivi longitudinal du métabolisme énergétique dans un modèle rat de la maladie de Huntington 199
IX.1. Introduction 199
IX.2. Caractérisation du modèle animal choisi 200

IX.3. Matériel et méthodes 202
IX.3.1. Etude longitudinale 202
IX.3.2. Protocole IRM 203
IX.4. Effet du génotype sur le contraste glucoCEST… 203
IX.4.1. … à 2 mois 203
IX.4.2. … à 4 mois 204
IX.4.3. Différences de la consommation d'énergie entre animaux sains et BACHD 205
Chapitre X : Vers une mesure quantitative du métabolisme cérébral 207
X.1. Différentes approches de la quantification 207
X.1.1. Modélisation des équations de Bloch-McConnell 207
X.1.2. Approche simplifiée 209
X.2. Modélisation du transport du 2DG jusqu'au cerveau 210
X.2.1. Introduction du modèle TEP 210
X.2.2. Adaptation du modèle aux données CEST 212
X.3. Des concentrations de 2DG au signal CEST 212
X.3.1. Fonction d'entrée 212
X.3.2. Modélisation du transport à travers la barrière hémato-encéphalique 213
X.3.3. Ajustement sur les données CEST 217
X.4. Limites de la méthode 219
X.5. Conclusion 220
Chapitre XI : Perspectives 221
XI.1. Protocole expérimental 221
XI.1.1. Anesthésie 221
XI.1.2. Température 222
XI.1.3. Diminution de la dose injectée 222
XI.2. Conditions d'hébergement des animaux et expérimentation animale 222
XI.3. Acquisition du signal CEST 223
XI.3.1. Séquences RMN et IRM 223
XI.3.2. Paramètres d'acquisition 224
XI.4. Intérêt de la méthode 224
XI.4.1. En préclinique 224
XI.4.2. Vers une application clinique 224
XI.5. Approche quantitative de la mesure du CRMglc 225
Conclusion générale 227

Abréviations

^{18}F-FDG	^{18}F-fluorodésoxy-D-glucose
2DG	2-désoxy-D-glucose
2DG6P	2-désoxy-D-glucose-6-phosphate
3OMG	3-O-méthyl-D-glucose
ADP	Adénosine di-phosphate
ATP	Adénosine tri-phosphate
B_0	Champ magnétique statique
B_1	Champ magnétique perturbateur
BHE	Barrière hémato-encéphalique
CEST	Transfert de saturation par échange chimique
CMRglc	Taux de consommation cérébrale de glucose
GABA	Acide gamma-aminobutyrique
Gln	Glutamine
Glu	Glutamate
GLUT	Transporteur du glucose
IRMf	Imagerie par résonance magnétique fonctionnelle
LASER	*Localisation par refocalisation sélective adiabatique*
LCR	Liquide céphalo-rachidien
MA	Maladie d'Alzheimer
MH	Maladie de Huntington
MP	Maladie de Parkinson
MTC	Contraste du transfert d'aimantation
MTRasym	Ratio de transfert d'aimantation asymétique
NAA	Acide N-acétylaspartique
NADH	Nicotinamide adénine dinucléotide
NOE	Effet Overhauser nucléaire
RARE	Acquisition rapide avec échos refocalisé
RF	Radiofréquence
sGLUT	Co-transporteur sodium-glucose
SNR	Rapport signal sur bruit
SRM	Spectroscopie par résonance magnétique
TEP	Tomographie par émission de positons

Introduction générale

Avec une augmentation constante de l'espérance de vie et le vieillissement de la population, les maladies neurodégénératives prennent une place de plus en plus importante dans nos vies. En effet, en France, ce sont plus d'un million de personnes (Anon s. d.) qui sont touchées par ces maladies, majoritairement la maladie d'Alzheimer (MA) (1 million), mais aussi la maladie de Parkinson (MP) (160 000) ou encore de Huntington (MH) (18 000). Cette proportion de population touchée par ces maladies est vouée à augmenter dans les années à venir. L'impact de ces maladies sur la qualité de vie des patients et leurs aidants est considérable. Ainsi, un plan de recherche (EU Joint Programme-Neurodegenerative Disease Research) a été mis en place afin d'aider à traiter ces maladies.

Ces maladies neurodégénératives, bien que d'origines diverses, trouvent leur point commun dans la dégénérescence des cellules neuronales. Leur apparition est majoritairement due à une mutation spontanée, des facteurs environnementaux ou d'autres facteurs encore inconnus. Elles sont souvent liées à un mauvais repliement de protéines, telles que l'alpha-synucléine dans la MP, la protéine tau ou encore béta-amyloïde dans la MA, qui causera par la suite la mort cellulaire. Cependant, les mécanismes biologiques impliqués dans cette neurodégénérescence restent aujourd'hui encore incompris et sont le sujet de nombreuses recherches.

D'autre part, la recherche de biomarqueurs (voir **chapitre II**) permettant de détecter la maladie avant qu'elle ne survienne de façon grave est aussi un enjeu majeur. En effet, les traitements potentiels sont plus efficaces lorsqu'ils sont utilisés à un stade peu avancé de la maladie. Ainsi, des études portant sur la compréhension des dysfonctionnements des cellules cérébrales, et sur l'identification de biomarqueurs, sont aujourd'hui primordiales.

PRESENTATION DE MIRCEN

Ce travail de thèse a été effectué au sein du Laboratoire de Maladies Neurodégénératives (UMR 9199) dirigé par Gilles Bonvento, implanté dans MIRCen (Molecular Imaging Research Center), un département de l'institut de biologie François Jacob se situant sur le site du CEA de Fontenay-aux-Roses, dont le but est de renforcer la recherche fondamentale et translationnelle notamment concernant les affections neurodégénératives, infectieuses et immuno-hépatologiques. Pour ce faire, MIRCen développe des modèles animaux (souris, rats, primates non humains) exprimant différents aspects de maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer, de Huntington, de Parkinson ou encore d'ataxie spino-cérébelleuse. Ces modèles permettent de mieux comprendre les processus pathologiques impliqués dans ces maladies et ainsi de développer de nouveaux traitements, tel que la thérapie génique par exemple. Pour cela, MIRCen est doté de différentes plateformes, chacune spécialisée dans un domaine précis. On retrouve alors des plateformes d'analyse comportementale, de chirurgie, d'imagerie par résonance magnétique (IRM) ou de tomographie par émission de positons (TEP), ou encore de biologie moléculaire et d'analyse histochimique. La plateforme IRM est composée de deux IRM à très haut champ magnétique permettant d'acquérir des images dans un environnement confiné avec un niveau de biosécurité de niveau 2, ce qui permet de réaliser des IRM sur des animaux ayant reçus des injections de vecteurs viraux. La plateforme est équipée de deux IRM (Bruker Biospin, Ettlingen, Allemagne), l'une est à 7 T et dédiée à l'imagerie des macaques tandis que l'autre est à 11,7 T et dédiée à l'imagerie des rongeurs sur laquelle cette thèse s'est déroulée.

7 T

11,7 T

PRESENTATION DE L'EQUIPE ET DES THEMATIQUES

Au sein de MIRCen, six équipes travaillent sur différents aspects des maladies neurodégénératives (conformation des protéines, interactions cellulaires, thérapies, etc…). Parmi ces équipes se trouve l'équipe de recherche de Julien Valette, travaillant exclusivement sur l'IRM, composée de chercheurs

permanents, de post-docs et de doctorants. Cette équipe regroupe plusieurs sujets de recherche visant à développer de nouvelles méthodes permettant d'imager le métabolisme et la structure cellulaire de manière non-invasive. On peut citer parmi ces sujets, le développement de séquences de spectroscopie RMN pour la spectroscopie cérébrale de noyaux X chez le rongeur et le primate, le développement de l'imagerie Zéro Temps d'Echo de l'oxygène 17, et enfin le développement de l'imagerie de Transfert de Saturation par Échange Chimique (CEST) du glutamate et du glucose. Ces thématiques se retrouvent dans un point commun : mieux comprendre et identifier les mécanismes de développement des maladies neurodégénératives afin de, à terme, pouvoir proposer un diagnostic précoce de ces maladies. Cette thèse s'intègre dans le projet de développement de l'imagerie CEST à MIRCen, visant à cartographier avec une bonne résolution spatiale la distribution du glucose dans le cerveau.

PRESENTATION DU PROJET NRJCEST

Le projet nrjCEST, financé par l'agence nationale de la recherche, s'inscrit dans la continuité d'un des sujets de recherche de l'équipe IRM, à savoir le développement de l'imagerie IRM-CEST *in vivo* et l'implication du métabolisme énergétique dans les maladies neurodégénératives, en particulier la maladie de Huntington. L'objectif de ce projet est donc de repousser les limites de l'imagerie CEST actuelle, grâce à des développements méthodologiques pointus et développer des outils innovants permettant de cartographier avec une bonne résolution spatiale la distribution du glucose dans le cerveau. Ces points seront abordés dans le **chapitre V** de ce manuscrit. En effet, cette méthode est actuellement limitée par un manque de spécificité : seules les variations relatives des concentrations de glucose sont mesurées. L'une des limites majeures de l'imagerie CEST reste aujourd'hui l'aspect quantitatif de la mesure, ce qui empêche son transfert en routine clinique. Nous reviendrons sur cet aspect au cours du **chapitre VII**. Par la suite, ce projet a pour but de démontrer l'utilité de la méthode proposée en tant que biomarqueur pertinent des altérations métaboliques cérébrales en condition pathologique, en utilisant un modèle de rongeur déjà bien caractérisé au laboratoire (**chapitre VIII**).

REFERENCE POUR L'IMAGERIE DU METABOLISME

Aujourd'hui, des outils permettant partiellement la cartographie de consommation de glucose existent. Il s'agit de la Tomographie par Emission de Positrons (TEP). Elle est à ce jour la référence pour évaluer de façon invasive la consommation du glucose par les cellules du cerveau. Cependant,

l'injection de radioactivité, même à de faibles doses, limite l'utilisation de la méthode pour des suivis longitudinaux. De plus, cette méthode possède une résolution spatiale intrinsèquement faible, rendant ses applications limitées, notamment pour l'étude des maladies neurodégénératives chez le petit animal. En effet, la résolution spatiale de la TEP ($\sim 1mm^2$) est faible en comparaison du cerveau de rat ($> 1cm^3$) ou de souris ($\sim 1cm^3$). Néanmoins, il sera intéressant au cours de cette thèse de comparer les résultats obtenus grâce à l'imagerie CEST à ceux de l'imagerie TEP. Nous reviendrons sur ces notions dans le **chapitre II**.

ORGANISATION DU MANUSCRIT

Dans un premier temps, nous présenterons le contexte général qui a motivé cette thèse. Nous parlerons donc tout d'abord du contexte biologique et métabolique du cerveau sain (**chapitre I**). Nous présenterons ensuite les notions théoriques essentielles à la compréhension de cette thèse par le lecteur non spécialiste, notamment concernant l'imagerie par résonance (**chapitre II**). Puis nous évoquerons les avancées des études du métabolisme énergétique ainsi que leurs apports à l'étude des maladies neurodégénératives (**chapitre III**). Enfin, nous détaillerons les principes théoriques de l'imagerie CEST (**chapitre IV**)

Dans un deuxième temps, nous parlerons des développements méthodologiques mis en place pendant cette thèse à MIRCen (**chapitre V**). Nous discuterons des différents paramètres étudiés, puis nous exposerons les performances obtenues ainsi que la sensibilité de la séquence utilisée, grâce tout d'abord aux résultats obtenus sur fantômes puis *in vivo*. Nous évoquerons également les défis que représentent l'imagerie glucoCEST *in vivo* (**chapitre VI**).

Puis, nous nous intéresserons par la suite à l'origine compartimentale du signal CEST et son intérêt pour les applications de la méthode (**chapitre VII**). Nous évaluerons également sa capacité à suivre le métabolisme dans des structures où le métabolisme énergétique diffère (**chapitre VIII**). Enfin, dans un dernier temps, nous montrerons les applications de notre méthode en étudiant longitudinalement un une cohorte de rats atteints de la maladie de Huntington (**chapitre IX**).

En conclusion, nous discuterons des moyens mis en œuvre afin d'approcher la quantification du métabolisme énergétique cérébral en imagerie CEST, en s'intéressant notamment à la quantification du signal CEST ainsi qu'à la modélisation du transport et l'assimilation du glucose (**chapitre X**).

Chapitre I : Contexte neurobiologique

Ce premier chapitre a pour but de présenter au lecteur le contexte neurobiologique dans lequel s'inscrit ce travail de thèse. En effet, bien que d'autres organes aient un métabolisme qui leur est propre nous nous intéresserons ici uniquement au métabolisme cérébral du fait de son altération dans les maladies neurodégénératives. Nous détaillerons donc tout d'abord comment le glucose est au cœur de l'apport énergétique, puis nous discuterons des besoins en énergie du cerveau ainsi que de la façon dont est stockée l'énergie dans notre corps. Enfin, nous aborderons rapidement les profils métaboliques des différentes populations de cellules cérébrales et leur utilisation respective du glucose comme source de production d'énergie.

Le métabolisme (du grec *metabolê,* changement) représente l'ensemble des réactions de synthèse et de dégradation ayant lieu dans un organisme vivant, réactions dites anaboliques et cataboliques, respectivement. Ces réactions biochimiques reposent sur l'utilisation d'enzymes, des protéines dotées de propriétés catalytiques, permettant de favoriser une réaction dans un sens ou dans un autre. De façon étonnante, la plupart des voies métaboliques fondamentales sont communes à une grande partie des organismes vivants, aussi variés et éloignés soient-ils du point de vue de l'évolution ; on trouve ainsi les acides carboxyliques (intermédiaires du cycle de Krebs, voir section 1.a.ii) chez tous les êtres vivants connus à ce jour (Pace 2001). Ces similitudes laissent à penser que ces voies métaboliques sont apparues tôt au cours de l'évolution des formes de vie et qu'elles ont été conservées en raison de leur efficacité (Ebenhöh et Heinrich 2001). Dans ce manuscrit, nous discuterons du métabolisme énergétique chez le mammifère et en particulier du métabolisme énergétique cérébral, notamment des voies métaboliques cérébrales de synthèse d'énergie. Parmi tous les organes, le cerveau requiert un apport énergétique énorme comparativement à sa masse, en effet, alors qu'il ne représente que 2% de notre masse corporelle, le cerveau humain adulte consomme environ 20% de l'oxygène et du glucose de notre corps (Magistretti et al. 1999), ce qui en fait son principal consommateur (~5.6mg de glucose pour 100g de tissu cérébral par minute (Erbsloh, Bernsmeier, et Hillesheim 1958)). Ainsi, nous développerons ci-après les différents mécanismes biochimiques de synthèse d'énergie prenant place dans le cerveau.

I.1. Le glucose comme source d'energie

Après leur absorption *via* les aliments que nous consommons, les glucides sont dégradés en glucose grâce à l'action d'enzymes présentes dans la salive et notre tube digestif. Ce glucose passe ensuite

dans le sang, d'où il va pouvoir être acheminé jusqu'à nos cellules, muscles et organes. Le glucose est la principale source d'énergie du corps humain, qui par sa dégradation en adénosine tri-phosphate (ATP) (**Eq.I.1**) permet de fournir l'énergie nécessaire au fonctionnement de nos cellules et donc de nos organes. Le glucose est métabolisé en trois étapes (glycolyse, cycle de Krebs, et oxydo-réduction) (**Fig.I.1**) pour produire de l'ATP, elle-même dégradée en adénosine di-phosphate (ADP) et en phosphate inorganique (Pi), fournissant la majorité de l'énergie nécessaire au cerveau. Ces étapes de métabolisation du glucose seront détaillées au fur et à mesure de cette section.

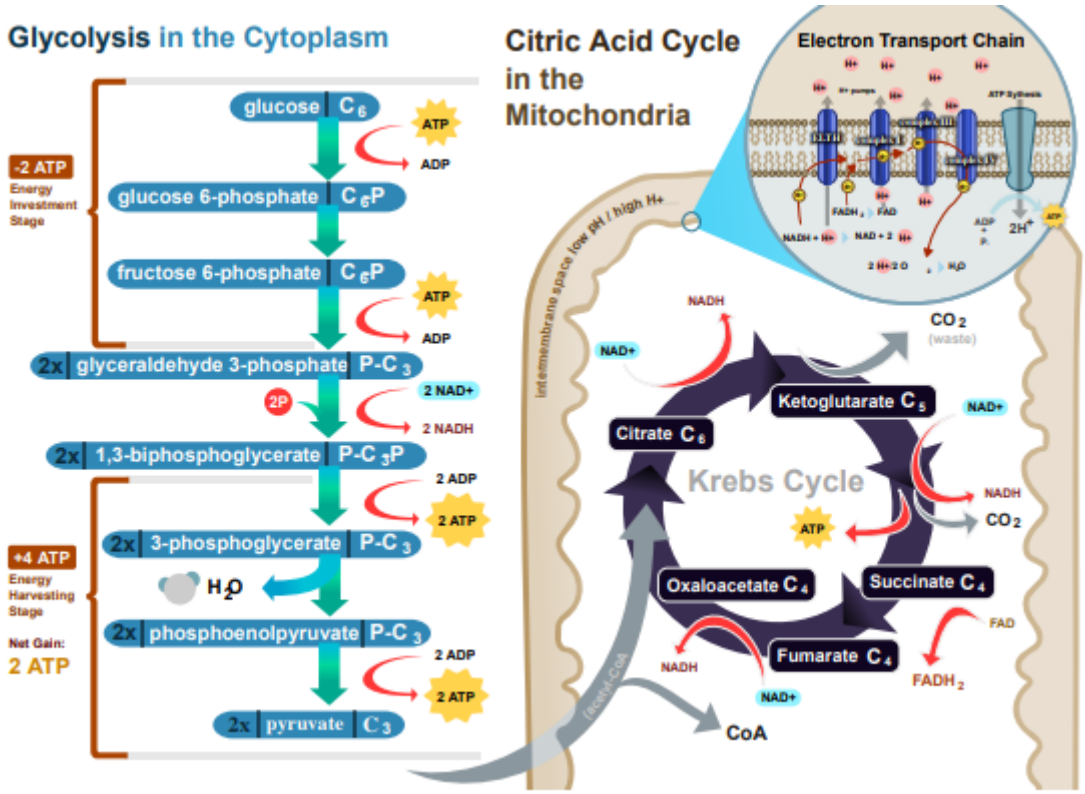


Figure I-1: Schéma récapitulatif de la production d'ATP à partir du glucose (les 3 étapes) (Maugard 2018)

La glycolyse se déroule dans le cytoplasme des cellules, où elle produit 2 moles de pyruvate par mole de glucose. Le pyruvate ainsi généré va être transporté dans la mitochondrie où il va alimenter le cycle de Krebs. Le nicotinamide adénine dinucléotide (NADH) et le flavine adénine dinucléotide ($FADH_2$) produits sont convertis en ATP via la chaine respiratoire de la membrane mitochondriale interne.

I.1.1. Glycolyse

La première étape de la production d'ATP se déroule dans le cytoplasme des cellules et constitue une suite de réactions chimiques nommée **glycolyse** (**Fig.I.2**). Elle correspond au premier stade catabolique de la respiration cellulaire aérobie. Cette étape débute avec une molécule de glucose et se termine par la synthèse de 2 molécules de pyruvate, 2 ATP et la régénération de 2 NADH, H^+. (**Eq.I.1**). L'équation bilan de la glycolyse est le suivant :

$$C_6H_{12}O_6 + 2\,ADP + 2Pi + 2NAD^+ \rightarrow 2C_3H_6O_3 + 2ATP + 2NADH + 2H^+ \quad \textbf{(I.1)}$$

La glycolyse peut être décomposée en 2 phases. Durant la première phase (réactions 1 à 5), phase d'investissement d'énergie, des molécules d'ATP sont consommées afin de permettre la phosphorylation du glucose en position C_1 et C_6. Enfin, les cinq dernières étapes représentent la phase de libération d'énergie aux cours desquelles des molécules d'ATP et de NADH,H+ sont synthétisées.

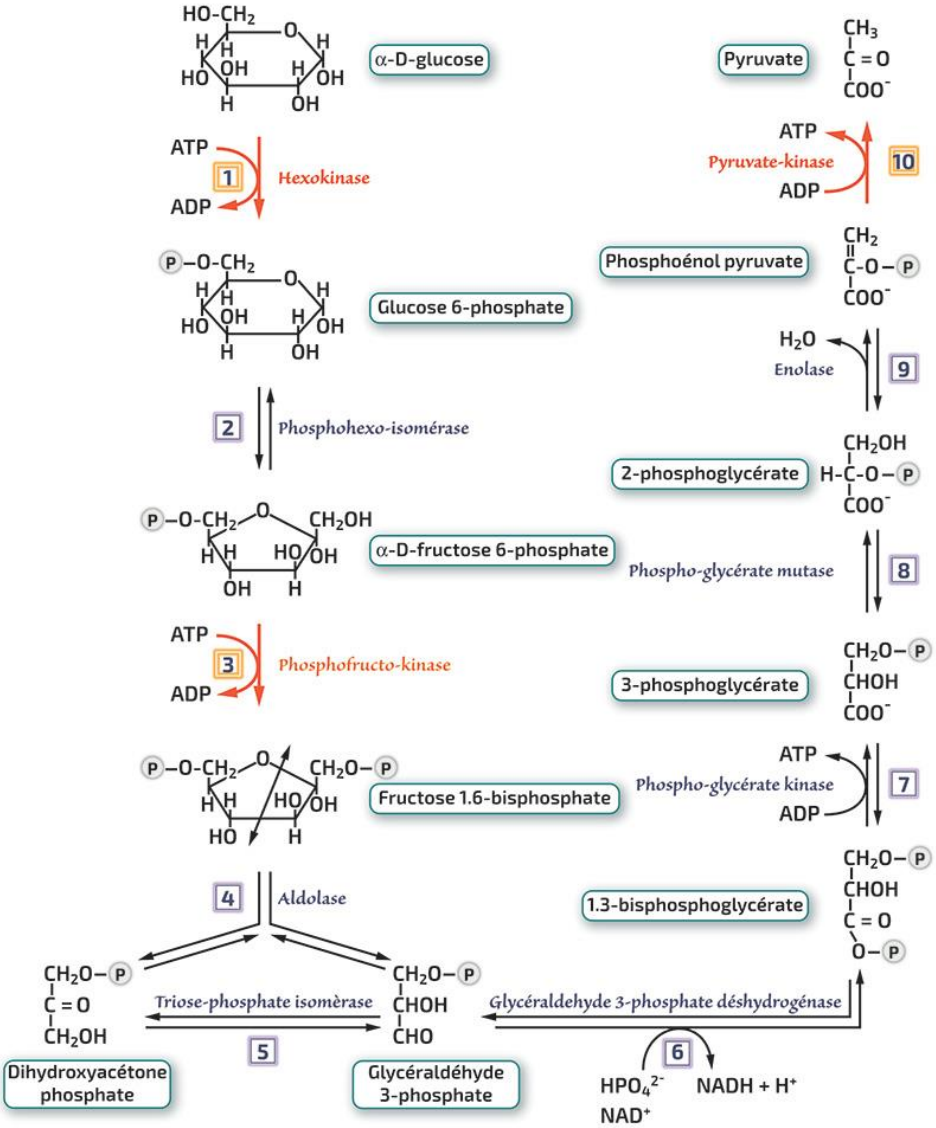


Figure I-2 : Schéma des réactions chimiques de la glycolyse (glucose->pyruvate)

1) Le glucose est tout d'abord phosphorylé en glucose-6-phosphate (G6P), consommant au passage 1 molécule d'ATP pour chaque molécule de glucose. Cette étape contribue à faciliter l'entrée du glucose dans les cellules en gardant une concentration en glucose basse dans le cytoplasme. Cette réaction est irréversible en conditions physiologiques. Elle est rendue possible grâce à l'action d'une kinase. Dans le foie et les cellules pancréatiques il s'agit de la glucokinase. Dans les muscles ou le cerveau il s'agira de l'hexokinase. Si cette réaction est irréversible, elle est aussi inhibée par son propre produit (cas de l'hexokinase) : le G6P. Cette première réaction est aussi celle

qui va être limitante concernant la vitesse de la glycolyse.

2) Le G6P est ensuite isomérisé par la phosphohexose isomérase au niveau de l'atome C1.

3) Le β-D-fructose-6-phosphate produit par la réaction précédente est ensuite phosphorylé, consommant alors 1 molécule d'ATP et rendant cette étape irréversible.

4) & 5) Le fructose-1,6-bisphosphate est clivé en deux molécules de glycéraldéhyde-3-phosphate (G3P). En effet, bien que la réaction dihydroxyacétone-phosphate (DAHP) → G3P soit peu favorisée (~5%), le composé G3P étant éliminé en permanence par la réaction 6), chaque molécule de fructose-1,6-bisphosphate donne finalement 2 molécules de G3P.

6) Enfin, débute la phase de récupération de l'énergie investie dans les phosphorylations. Cette réaction est la seule étape de la glycolyse où est généré du pouvoir réducteur, sous forme de NADH,H+. Le HPO42- nécessaire à cette étape est rendu possible par l'existence du phosphate inorganique (Pi) sous cette forme dans le milieu cytoplasmique.

7) Le 1,3-bisphosphoglycérate possède un groupe phosphate à haut potentiel de transfert permettant de phosphoryler une molécule d'ADP en ATP. ADP + Pi + H3O+ → ATP + 2 H2O

Cette étape est la première où de l'énergie est récupérée sous forme réutilisable.

8) S'ensuit l'isomérisation du 3-phosphoglycérate.

9) Puis la conversion du 2-phosphoglycérate en phosphoénolpyruvate.

10) Finalement, le groupe phosphate du phosphoénolpyruvate permet la phosphorylation d'une molécule d'ADP en ATP par la pyruvate kinase. Cette dernière étape est irréversible.

I.1.2. Cycle de Krebs

Le pyruvate ainsi créé est ensuite transformé en acétyl-coenzyme A (acétylCoA) au sein de la mitochondrie par la pyruvate déshydrogénase (PDH). Cette réaction produit une molécule de NADH, H^+ par molécule de pyruvate, qui va alimenter le cycle de Krebs (Krebs 1940), qui correspond à la deuxième étape (**Fig.I.3**). Le cycle de Krebs est une succession de 8 réactions enzymatiques. La majorité de l'énergie fournie par les différentes étapes d'oxydation du cycle de Krebs se retrouve stockée sous la forme de coenzymes réduits (3 NADH, H^+ et 1 $FADH_2$), pour une molécule d'acétylCoA entrant. Le cycle de Krebs en lui-même ne crée qu'une seule molécule d'ATP à chaque cycle. Ce sont les coenzymes qui vont être utilisées au cours de la chaîne d'électrons afin de produire de l'ATP.

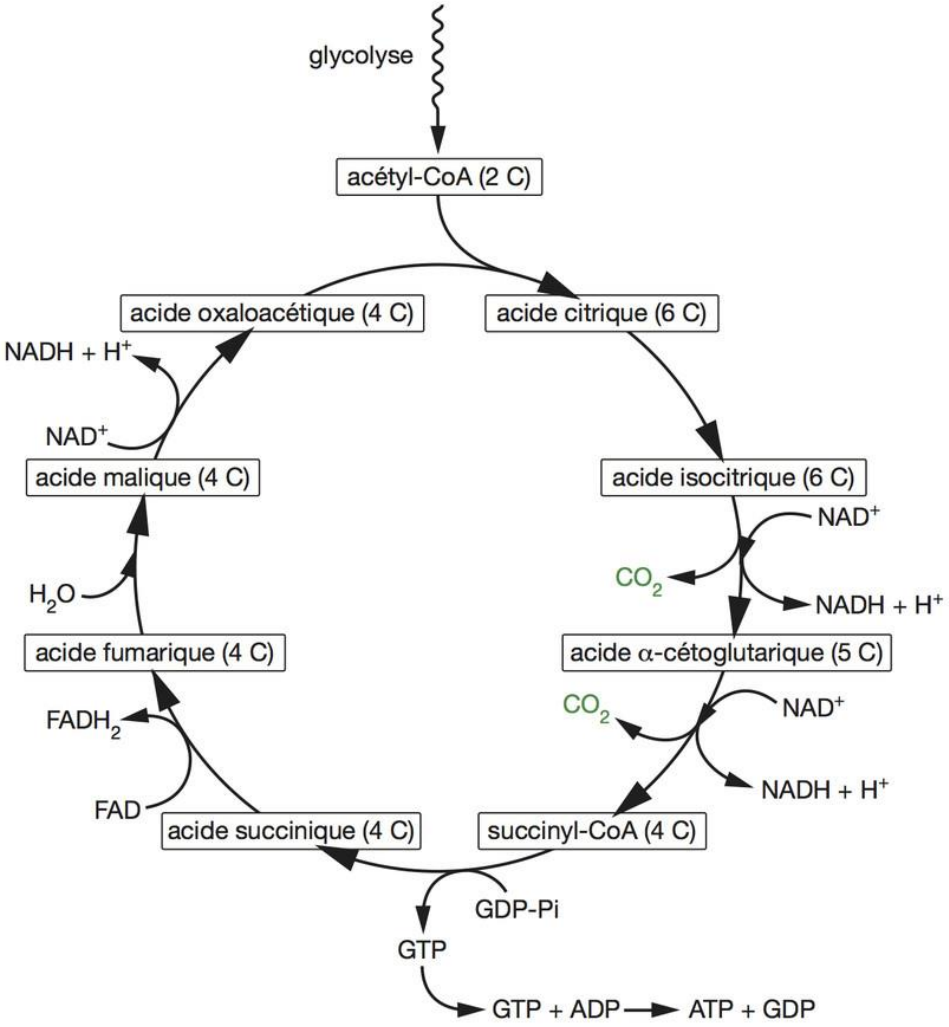


Figure I-3 : Cycle de Krebs

Le cycle de Krebs se déroule dans la mitochondrie. L'acétylCoA, obtenue grâce au pyruvate, apporte deux atomes de carbone qui ressortent sous la forme totalement oxydée de dioxyde de carbone CO_2. La majorité de l'énergie fournie par le cycle de Krebs se retrouve stockée sous la forme de 3 NADH,H^+ et de 2 $FADH_2$, alors qu'une seule molécule d'ATP est produite directement pendant un tour du cycle.

I.1.3. Chaîne de transport d'électrons et phosphorylation oxydative

La phosphorylation oxydative de l'ADP en ATP se déroule dans la matrice mitochondriale (**Fig.I.4**). Cependant cette réaction est endergonique, elle nécessite un apport d'énergie pour se produire. Or, si les molécules de NADH,H^+ permettent de fournir cet apport énergétique et bien qu'elles puissent passer la membrane mitochondriale externe par diffusion, elles ne peuvent pas traverser la membrane interne. Les molécules de NADH, H^+ passent par la « navette glycérol-3-phosphate » (Glycérol- 3P)

(Ansell et al. 1997) : la glycérol-3P déshydrogénase (GPDH) va utiliser le NADH,H^+ pour réduire le dihydroxyacétone phosphate en glycérol-3P. Ainsi, la GDPH dont est équipée la membrane mitochondriale interne va réaliser la réaction inverse, en se servant cette fois du FAD^+ en tant que cofacteur, générant alors une molécule de $FADH_2$. Cette molécule de $FADH_2$ va alors céder ses protons à une molécule d'ubiquinone (Q_{10}) par réduction, créant alors une molécule d'ubiquinol ($Q_{10}H_2$) dans la mitochondrie, qui va alimenter le complexe III de la chaîne respiratoire mitochondriale, détaillée ci-après.

Ce qu'on appelle chaîne de transport d'électrons est un ensemble d'enzymes et coenzymes se trouvant à la surface de la membrane interne de la mitochondrie (**Fig.I.4**).

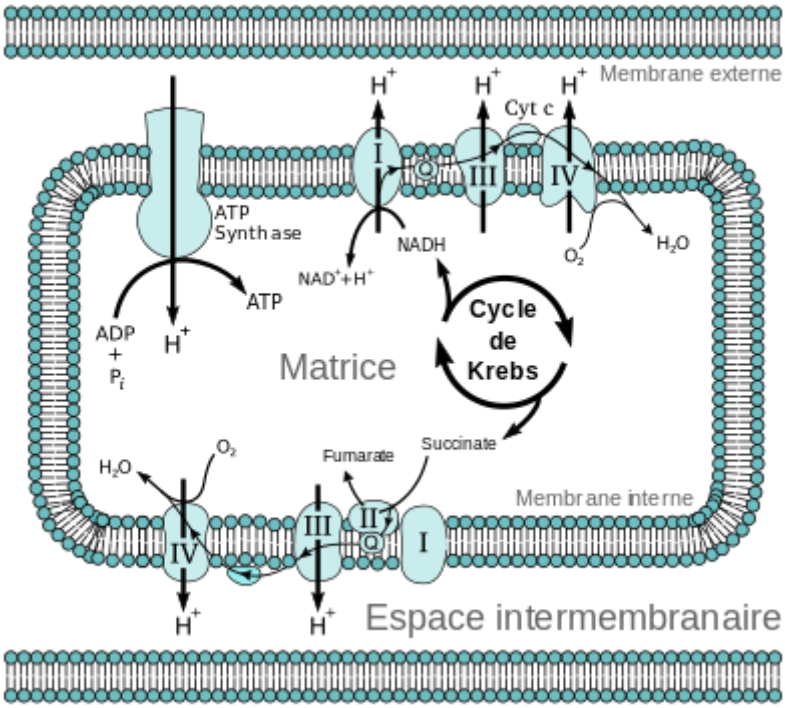


Figure I-4 : Représentation de la chaîne de transport d'électrons

Les complexes respiratoires I à IV présentent une structure complexe, en partie incluse dans la membrane mitochondriale interne. Ces structures permettent le transport d'électrons. La circulation des électrons le long de la chaîne respiratoire libère de l'énergie qui va permettre, grâce au pompage de protons, de générer un gradient de concentration à travers la membrane interne.

Dans cette dernière étape, les molécules réductrices que sont NADH,H^+ $FADH_2$ et $Q_{10}H_2$ vont transférer leurs électrons à des oxydants via les enzymes respiratoires (NAD^+ par la NADH déshydrogénase, FAD^+ par la succinate déshydrogénase, Q_{10} par la cytochrome *c* réductase, alimentant les complexes I, II, et III respectivement). Le dernier accepteur d'électrons étant le dioxygène, cela signifie que ces réactions ne peuvent se produire qu'en milieu aérobie. Cette succession de transfert d'électrons va

progressivement libérer l'énergie des électrons des molécules oxydées, énergie qui va permettre le pompage des protons H^+ à travers la membrane mitochondriale interne et ainsi créer un gradient électrochimique. L'énergie potentielle de ce gradient va enfin pouvoir être récupérée afin d'alimenter la réaction **I.1**.

I.1.4. Bilan énergétique

Ainsi, une mole de glucose produit, au cours de la glycolyse, 2 moles d'ATP, 2 moles de $NADH,H^+$ et 2 moles de pyruvate. En condition aérobie, le pyruvate est oxydé dans la mitochondrie via le cycle de Krebs et produit, entre autres, 8 moles de $NADH,H^+$, 2 moles de $FADH_2$ et 2 moles de GTP, produits qui vont à leur tour générer 32 moles d'ATP lors de la phosphorylation oxydative. Ces réactions successives sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Étapes	Localisation	Substrat	Produits	Conversion	ATP
Glycolyse	Cytoplasme	1 glucose	2 pyruvates 2 $NADH,H^+$ 2 ATP	1 $NADH,H^+$=1 $FADH_2$=1 $Q_{10}H_2$	2
Cycle de Krebs	Mitochondrie	2 pyruvates	8 $NADH,H^+$ 2 $FADH_2$ 2 GTP	1 GTP = 1 ATP	2
Phospho-rylation oxydative	Mitochondrie	8 $NADH,H^+$ 2 $FADH_2$ 2 $Q_{10}H_2$	32 ATP	1 $NADH,H^+$ = 3 ATP 1 $FADH_2$ = 2 ATP 1 $Q_{10}H_2$ = 2 ATP	24 4 4
Total					36

Tableau I-1 : Bilan énergétique de la glycolyse aérobie dans le cerveau

I.2. BESOINS ENERGETIQUES CEREBRAUX

Comme expliqué ci-dessus, le cerveau utilise l'oxydation du glucose comme source d'énergie. Même s'il s'agit de la voie majoritaire, en condition pathologique ou bien lors d'un déficit en glucose le cerveau peut métaboliser les corps cétoniques pour combler jusqu'à 70% de ses besoins énergétiques, de façon plus efficiente que le glucose (White et Venkatesh 2011). Les neurones, bien que ne représentant que la moitié des cellules du cerveau, consomment 75-80% de l'énergie produite, le reste étant utilisé par des processus basés sur les cellules gliales (Mink, Blumenschine, et Adams 1981). En effet, l'activité synaptique est responsable de nombreux mécanismes nécessitant un apport en

énergie, dont le lecteur pourra se référer à la revue de Harris *et al.* (2012). On dénombre pas moins de 10^{14} synapses dans le cerveau humain, représentant donc approximativement 10 000 synapses par neurones. Ce nombre important de synapses explique très certainement la consommation énergétique élevée du cerveau, par rapport aux autres organes de notre corps.

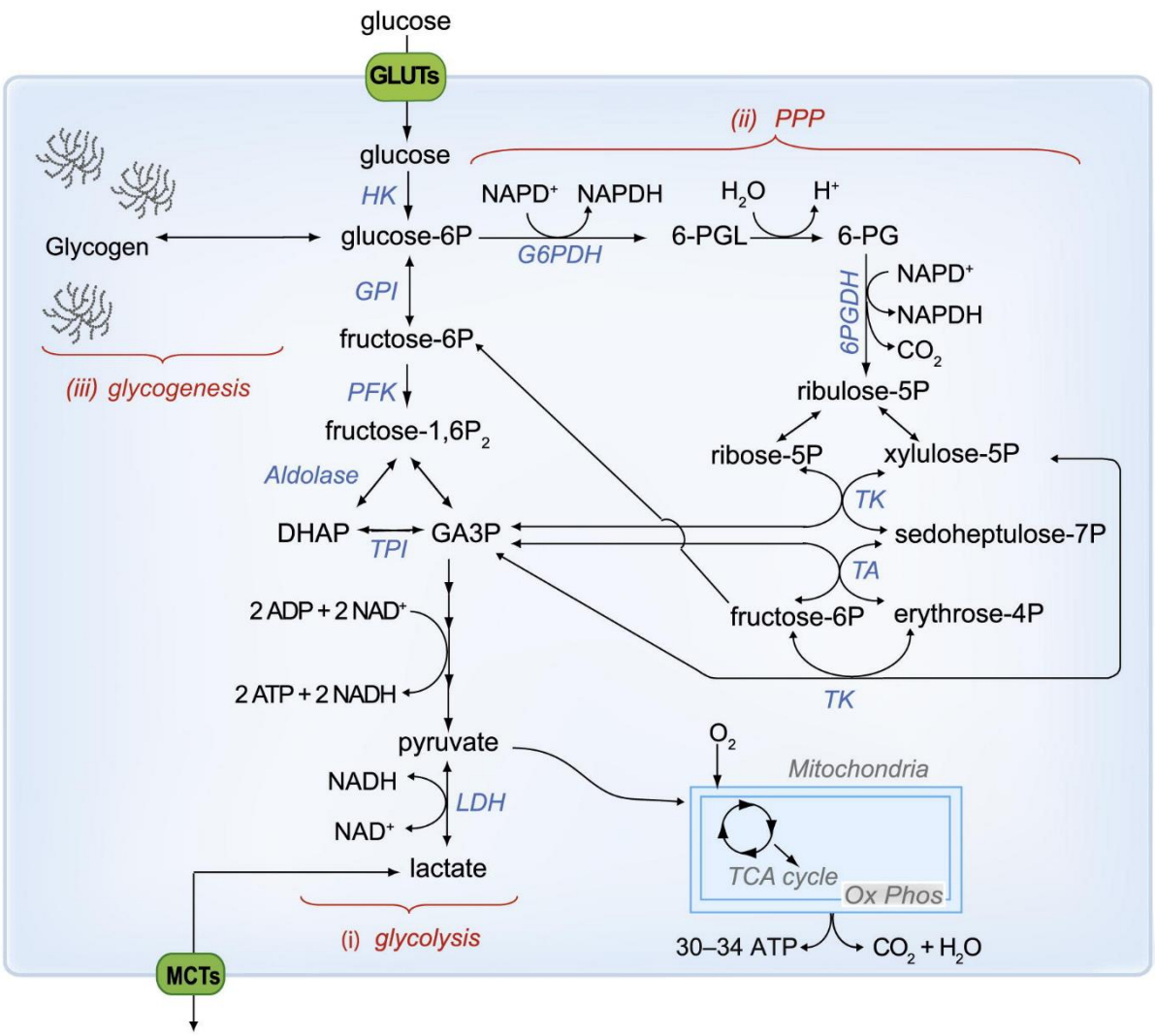


Figure I-5 : Utilisation cérébrale du glucose (Bélanger, Allaman, et Magistretti 2011)

Le glucose entre dans les cellules grâce aux transporteurs (GLUTs) puis est phosphorylé par l'hexokinase (HK) pour produire du glucose-6-phosphate (G6P). Le G6P peut être métabolisé par 3 voies métaboliques principales.

Il peut être métabolisé via la glycolyse (i), dont les réactions sont explicitées plus haut, produisant alors du pyruvate pouvant entrer dans le cycle de Krebs et produire de l'ATP et du CO_2. Le pyruvate peut aussi être réduit en lactate grâce à la lactate déshydrogénase (LDH). Ce lactate peut être relâché dans l'espace extracellulaire au moyen de transporteurs de monocarboxylates (MCTs).

Le G6P peut aussi être dégradé par la voie des pentoses phosphates (PPP) (ii), menant ainsi à la production de molécules réductrices, équivalentes au NADPH. A noter que la PPP et la glycolyse sont liées au niveau du

glycéraldehyde-3-phosphate (GA3P) et du fructose-6-phosphate (F6P)

*Enfin, dans les astrocytes (voir section **I.3.2**), le G6P peut aussi être converti en glycogène grâce à la glycogénogenèse (iii).*

Ainsi, il a tout d'abord été considéré que les mesures du taux de consommation cérébrale du glucose (CMRglc) obtenues à partir du signal TEP de ^{18}F-fluoro-2-desoxyglucose (FDG) reflétait l'utilisation de glucose par les neurones (Sokoloff et al. 1977). De plus, la communauté partait alors du postulat que le métabolisme neuronal était un processus strictement oxydatif, hypothèse basée sur une production d'ATP plus efficace lors de l'oxydation du glucose dans la mitochondrie plutôt que lors de la glycolyse (**Fig.I.5**). Pour rappel, un profil oxydatif est caractérisé par une série d'étapes qui mènent à l'oxydation complète du glucose ou de ses métabolites (tels que le lactate ou le pyruvate) générant ainsi entre 30 et 36 molécules d'ATP (voir section I.1.i). Pour la glycolyse, 2 molécules d'ATP sont produites via la dégradation du glucose en pyruvate.

Une décennie après les premiers résultats de Sokoloff et al, Fox et Raichle bouleversent ce postulat, changeant radicalement la compréhension des mécanismes sous-tendant le métabolisme du glucose. Ils exposent ainsi que les augmentations du débit sanguin et de l'utilisation du glucose liées à l'activité ne sont pas suivies par une augmentation équivalente de la consommation d'oxygène (Fox et al. 1988; Fox et Raichle 1986). Ces observations soutiennent l'idée que les besoins énergétiques sont donc soutenus, au moins en partie, par le métabolisme non-oxydatif du glucose (la glycolyse). Grâce à l'IRM, des travaux plus récents supportent cette hypothèse en montrant une élévation de lactate liée à l'activité (pour revue, voir Figley et Stroman, 2011). Aujourd'hui, il est donc admis que suite à des changements transitoires dans l'activité neuronale i) l'apport sanguin augmente avec la demande métabolique, ii) le débit sanguin et le CMRglc augmentent plus que l'utilisation d'oxygène, et iii) les processus oxydatif et non-oxydatif sont tous les deux impliqués pour répondre aux besoins métaboliques accrus (Figley et Stroman 2011).

I.2.1. Activité électrique et pompes ATPases

Bien que l'on parle de consommation énergétique des neurones, ce ne sont pas les changements de concentrations ioniques autour de leur membrane qui sont responsables de ces dépenses énergétiques mais le retour de ces concentrations à un état basal. Les concentrations en ions Ca^{2+}, Na^{+} et K^{+} doivent être rééquilibrées au moyen de ce qu'on appelle pompes ATPases. Ces pompes vont ainsi rétablir les gradients électrochimiques dissipés par la signalisation. Les neurones transportent l'information sous la forme de potentiel d'action (PA). Les PA sont des réflexions passives de l'augmentation de l'influx de Na+ et de l'efflux de K+ dans les neurones et ne consomment pas

directement de l'énergie mais puisent dans l'énergie potentielle stockée dans les potentiels de membrane : Une fois qu'un PA est généré, des stimuli électriques ouvrent les canaux sodiques permettant l'influx de Na+ et dépolarisant ainsi la membrane, puis se sont les canaux potassiques qui s'ouvrent, permettant l'efflux de K+ et repolarisant donc la membrane. Au fur et à mesure de la propagation du PA le long de l'axone, la distribution des ions Na+ et K+ est modifiée. Ainsi, avant de pouvoir générer de nouveau un PA, un transport actif (c'est-à-dire consommateur d'énergie) doit avoir lieu. On parle alors de pompe Na+/K+ -ATPase, qui, grâce à la consommation d'une molécule d'ATP permet l'influx de 2 ions K+ et l'efflux de 3 Na+, repolarisant ainsi la membrane (**Fig.I.6**). Ainsi, lors d'une activité élevée, on s'attend à une augmentation de l'activité des pompes Na+/K+-ATPases qui va, au travers des changements intracellulaires, stimuler la glycolyse et le transport d'électrons et de ce fait le métabolisme énergétique.

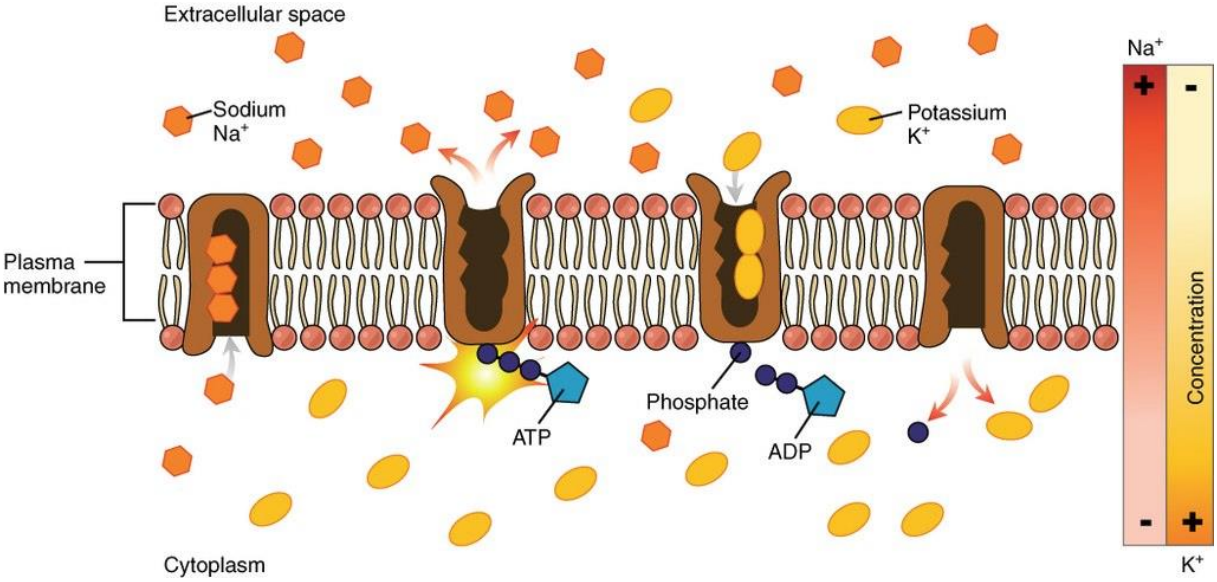


Figure I-6 : Schéma explicatif du fonctionnement des pompes Na+/K+-ATPase

Ces « pompes » sont alimentées par l'ATP. Elles permettent de déplacer les ions Na+ et K+ vers l'espace extracellulaire et vers le cytoplasme, respectivement. En un seul cycle de pompage, 3 ions sodium entrent dans l'espace extracellulaire et 2 ions potassium sont importés dans la cellule.

I.2.2. Production de neurotransmetteurs

Parmi les dépenses énergétiques du cerveau on peut aussi parler de la production de neurotransmetteurs. En effet, même si elle ne consomme pas d'ATP en elle-même, la synthèse des neurotransmetteurs utilise parfois des intermédiaires du métabolisme énergétique comme substrat, qui ne pourront donc pas aboutir à la production d'énergie (voir **Fig.I.5**). On peut par exemple citer la glutamine et l'α-cétoglutarate qui permettent de produire du glutamate.

Par ailleurs, lors de la libération des neurotransmetteurs *via* la fusion des vésicules de transport avec la membrane plasmique, un complexe se met en place. Après l'exocytose, ce complexe doit être démantelé et nécessite pour cela la consommation d'une molécule d'ATP.

I.2.3. Cellules gliales

Enfin, les 25% d'énergie non utilisées par les neurones vont servir aux cellules gliales. Les cellules gliales regroupent toutes les cellules qui forment l'environnement des neurones. Elles jouent un rôle de support et de protection en apportant oxygène et nutriments, et éliminant cellules mortes et pathogènes. On distingue quatre principaux types de cellules gliales : les cellules épendymaires, les astrocytes, les oligodendrocytes et les cellules microgliales (**Fig.I.7**).

Les astrocytes, parmi leurs nombreux rôles, recyclent les neurotransmetteurs une fois utilisés. Notamment, la récupération du glutamate génère un influx de Na+ déséquilibrant la balance Na+/K+, qui doit alors être rééquilibrer par l'action d'une pompe Na+/K+-ATPase, consommant une molécule d'ATP (voir I.b.i).

Les molécules d'ATP peuvent être libérées par les microglies ou les astrocytes et servir de molécule de signalisation. Par exemple, lors d'une réponse inflammatoire, les microglies peuvent être activées et ainsi libérer de l'ATP (cas d'une activation par le lipopolysaccharide (LPS), molécule présente dans la réponse pro-inflammatoire). Cette libération d'ATP entraîne alors la libération de glutamate *via* les astrocytes et permet ainsi de réguler la transmission synaptique. Les astrocytes peuvent aussi libérer directement de l'ATP et de ce fait moduler la transmission synaptique (Fields et Burnstock 2006).

Les microglies forment la principale défense immunitaire du système nerveux central grâce à leurs capacités phagocytaires. Ces petites cellules sont mobiles. Cela est rendu possible par la polymérisation-dépolymérisation des filaments d'actine, processus hydrolysant de l'ATP. Les microglies subviennent habituellement à leurs besoins énergétiques grâce au cycle de Krebs et à la phosphorylation. Cependant, en conditions pathologiques, dans les maladies neurodégénératives par exemple, elles utilisent principalement la voie des pentoses phosphates et la production de lactate, générant alors de l'énergie via la glycolyse. Elles peuvent aussi, dans le cas où l'homéostasie du glucose est perturbée, alimenter leur cycle de Krebs grâce à la glutamine. Ceci leur permet de continuer leur rôle de défense immunitaire même en conditions pathologiques (Bernier et al. 2020).

Enfin, les oligodendrocytes ont pour principale fonction la formation de gaine de myéline autour des axones (dans le système nerveux central). La myéline est constituée de 30% de protéines et de 70% de lipides. Ainsi, pour constituer ces protéines et lipides, des intermédiaires du métabolisme énergétique

sont utilisés. De ce fait, ces intermédiaires sont déviés de leur utilisation première afin de synthétiser la myéline et impactent alors la glycolyse (Fünfschilling et al. 2012).

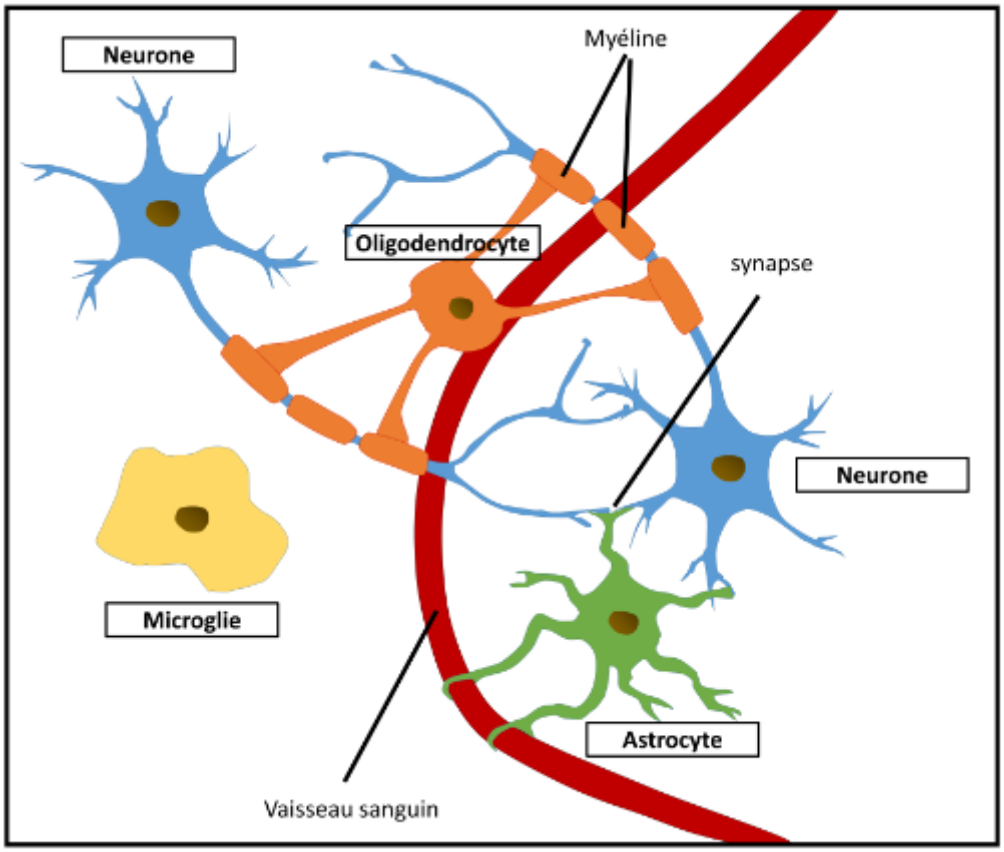


Figure I-7: Population cellulaire cérébrale

On distingue différents types de cellules cérébrales. Les microglies, astrocytes et oligodendrocytes jouent un rôle de support et de protection auprès des neurones.

Ces observations confirment que la principale consommation d'énergie est bien liée aux neurones, notamment à cause de la transmission synaptique. Cependant, il s'agit d'un processus discontinu et hétérogène dans le cerveau. Pour expliquer ce phénomène, Rangaraju et al. ont suggéré que l'ATP nécessaire au fonctionnement basal des neurones était généré uniquement par la glycolyse, et en cas d'activité synaptique que les voies de dégradation du glucose augmenteraient afin de répondre aux sollicitations plus élevées (Rangaraju, Calloway, et Ryan 2014).

I.2.4. Transporteurs du glucose

Les transporteurs du glucose dans le cerveau jouent un rôle clé dans de nombreuses fonctions cérébrales en condition saine comme pathologique. La haute demande en énergie des neurones est

principalement couverte par l'approvisionnement en glucose dans le sang en coopération avec les transporteurs du glucose dans les capillaires et les cellules cérébrales. En plus de cet approvisionnement en énergie pendant la neurotransmission, les transporteurs cérébraux du glucose sont impliqués dans la détection des concentrations de glucose dans le sang, le liquide céphalo-rachidien (LCR) et l'interstitium cérébral, favorisant les processus de régulation du système nerveux central et du corps entier. Le transport du glucose à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE) est ainsi précisément régulé. Il existe plusieurs transporteurs du glucose dans notre corps mais nous discuterons uniquement de ceux jouant un rôle dans le transport du glucose du sang au cerveau à savoir GLUT1 GLUT3 et SGLT1.

Le transport du glucose à travers la BHE est principalement effectué par le transporteur GLUT1, exprimé dans la membrane des cellules endothéliales. Il possède une très forte affinité pour le D-glucose (**Tableau I.2**). On le retrouve aussi dans les astrocytes.

Dans le cerveau, GLUT3 est présent dans de nombreuses structures cérébrales. On le retrouve de façon prédominante dans les neurones, auxquels il va fournir le D-glucose à partir de l'espace extravasculaire/extracellulaire.

Le SGLT1 est un transporteur secondaire qui transporte deux ions sodium avec une molécule de D-glucose. Il est aussi capable de transporter le 2DG et le 3OMG mais avec une affinité beaucoup plus faible (**Tableau I.2**). L'expression de cotransporteur(s) Na^+-D-glucose dans la membrane de cellules endothéliales suggère que SGLT1 est impliqué dans la clairance du D-glucose depuis l'interstitium cérébral (Hawkins, Peterson, et Viña 2002). Il servirait donc à ajuster les concentrations de glucose dans l'interstitium.

TRANSPORTEUR	D-GLC	2DG	3OMG
GLUT1	0,7 – 3,2	6,9	1,4
GLUT3	~ 1,5	1,4 – 1,8	10,6
SGLT1	0,5	>100	>100

Tableau I-2 : Valeur des K_m apparents (mM) chez l'homme des transporteurs du glucose exprimés dans le cerveau
Références : (Burant et Bell 1992; Sage et Carruthers 2014; Simpson et al. 2008; Thorens et Mueckler 2010; Wright, Loo, et Hirayama 2011)

I.3. RESERVES ENERGETIQUES & HOMEOSTASIE

Au cours de la journée, notre apport en glucose varie au gré de nos repas alors que notre cerveau et notre corps ont des besoins en énergie quasiment constants (dans le cas où on ne ferait pas d'activité physique particulière par exemple) (**Fig.I.8**). Ainsi, la dépense énergétique de notre corps ainsi que le métabolisme du glucose doivent être finement régulés. Nous discuterons donc par la suite du rôle majeur que joue le cerveau dans cette régulation et des formes sous lesquelles peut être stocké le glucose afin de toujours pouvoir répondre aux besoins énergétiques de notre corps.

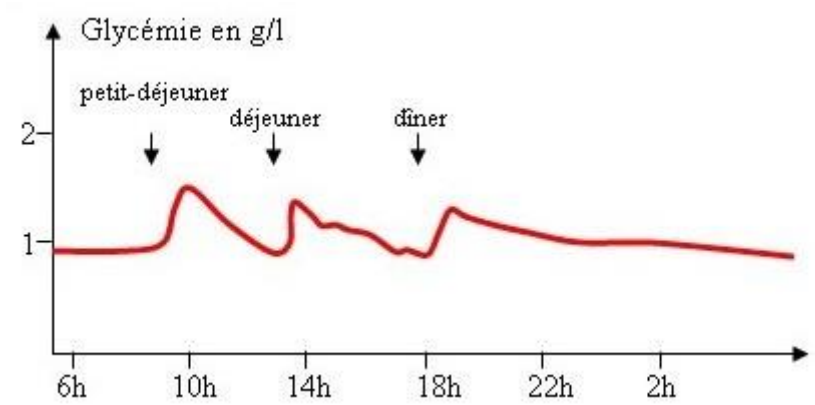


Figure I-8 : Illustration de l'évolution de la glycémie au cours d'une journée

On peut voir que la glycémie, dont la valeur basale est aux alentours de 0,8 g/L, est fortement impactée par la prise de repas. Cependant, on remarque aussi qu'elle est très régulée et qu'elle est quasiment toujours comprise entre 0,8 et 1,4 g/L.

I.3.1. Rôle du cerveau dans l'homéostasie du métabolisme du glucose

Chez les individus sains, l'apport alimentaire et la dépense énergétique sont étroitement régulés par des mécanismes homéostatiques afin de maintenir l'équilibre énergétique. Il a ainsi été montré que le cerveau, en particulier l'hypothalamus, est le principal responsable de la régulation de l'homéostasie énergétique (Morton, Meek, et Schwartz 2014). Le cerveau surveille les changements de l'état énergétique de l'organisme en détectant les modifications des niveaux plasmatiques des hormones métaboliques et des nutriments clés. Des études ont mis en évidence que des réseaux neuronaux spécialisés dans le cerveau coordonnent les changements adaptatifs de l'apport alimentaire et de la dépense énergétique en réponse à des conditions métaboliques modifiées (Sandoval, Cota, et Seeley 2008; Schwartz et Porte 2005). La première démonstration du rôle du cerveau dans l'homéostasie du glucose a été fournie par le physiologiste Claude Bernard en 1854 (Bernard 1855). Au cours des dernières décennies, le concept de régulation centrale du métabolisme du glucose a été renforcé par

la découverte ultérieure de neurones sensibles au glucose dans l'hypothalamus (Anand et al. 1964; Oomura et al. 1969) et la démonstration de leur rôle dans le maintien d'une glycémie normale (Borg et al. 1997). De plus, une population neuronale spécialisée du cerveau détecte les hormones (insuline et leptine) et les nutriments (glucose et acides gras) pour réguler l'homéostasie du glucose. Les principaux sites de convergence de ces signaux métaboliques étant l'hypothalamus et le tronc cérébral.

Parmi les hormones détectées par le cerveau, on peut discuter plus en détail de l'effet qu'a l'insuline sur la régulation cérébrale du métabolisme du glucose. Au cours de la dernière décennie, le cerveau a été reconnu comme un site d'action de l'insuline en ce qui concerne l'homéostasie du glucose. Obici et al. (Obici, Feng, et al. 2002) ont montré que l'insuline agit sur le cerveau pour moduler le métabolisme hépatique du glucose. Ils ont montré, en injectant des oligonucléotides antisens du récepteur de l'insuline dans le cerveau, que l'inhibition de l'action centrale de l'insuline altère la suppression de la production hépatique de glucose médiée par l'insuline lors d'études de clampage hyper insulinémique chez le rat. Ils ont également démontré que l'infusion d'insuline dans les ventricules supprimait la production hépatique de glucose, indépendamment des taux d'insuline circulants. De plus, l'administration centrale d'anticorps contre l'insuline ou d'inhibiteurs de la signalisation en aval de l'insuline a diminué la capacité de l'insuline à inhiber la production de glucose (Obici, Zhang, et al. 2002).

I.3.2. Glycogène

Le glucose est stocké sous forme de glycogène dans le foie et dans les muscles à des concentrations bien supérieures que dans le cerveau, entre 10 et 50 fois plus, respectivement (Chryssanthopoulos et al. 2004; McKenna et al. 2012). En effet, le glycogène cérébral se situe principalement dans les astrocytes, où il atteint une concentration d'environ 6 à 12 µmol/g (Cruz et Dienel 2002). Le glucose est tout d'abord dégradé en glucose-6-phosphate, qui va être utilisé pour la glycogénogenèse, processus durant lequel des résidus de glucose sont additionnés les uns aux autres afin de créer le polymère qu'est le glycogène (**Fig.I.9**). Dû à sa faible concentration dans le cerveau, on a longtemps pensé que le glycogène cérébral ne représentait pas une réserve d'énergie permettant de subvenir aux besoins du cerveau. On sait aujourd'hui qu'il n'en est rien et que lors de périodes d'hypoglycémie ou de sollicitations élevées, le glycogène est dégradé en lactate dans les astrocytes qui sert lui-même de substrat énergétique dans les neurones (Anon s. d.; Brown et Ransom 2007; Magistretti et Allaman 2007). Ainsi, le stockage du glucose sous forme de glycogène astrocytaire permet de protéger le cerveau lors d'hypoglycémie et aussi de préserver les fonctions neuronales lors de périodes d'activation extrêmes.

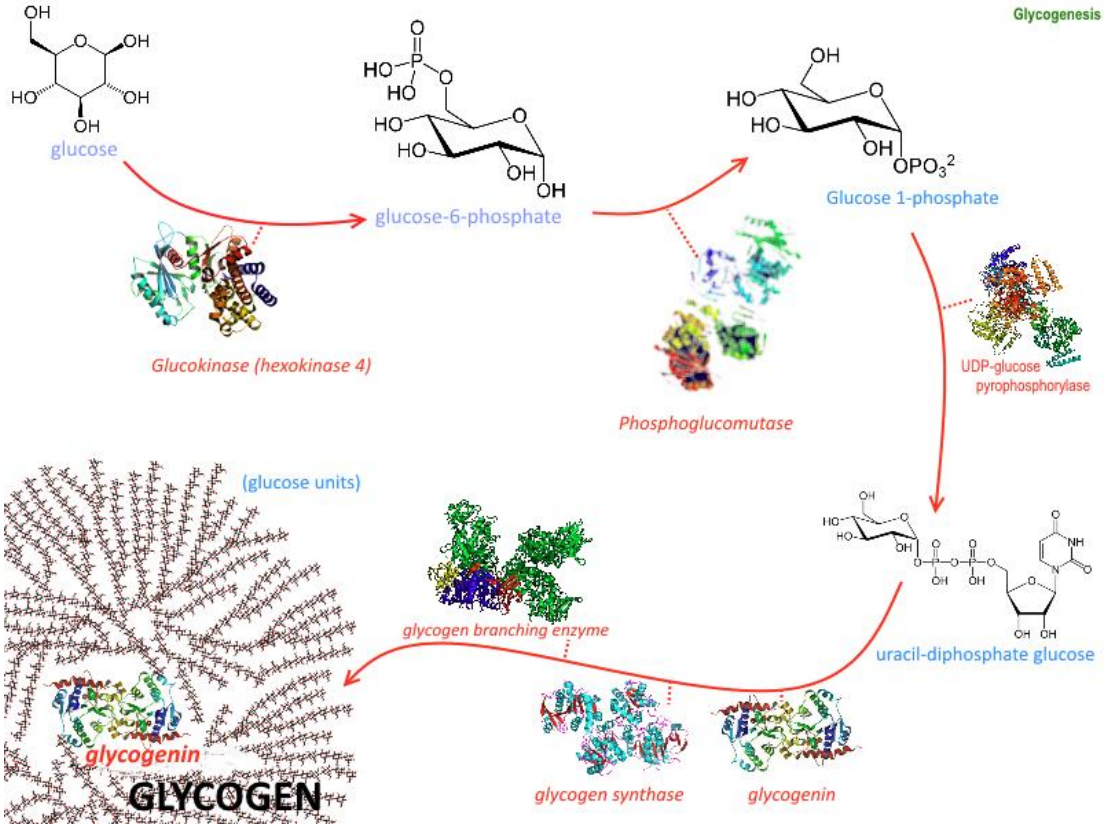


Figure I-9 : Glycogénèse

Le glucose est converti en G6P par l'action de l'hexokinase. Le G6P est ensuite utilisé afin de synthétiser des molécules d'uracil-diphosphate glucose (UDP-glucose). Grâce à l'action de l'enzyme glycogénine puis de la glycogène synthase, la chaîne de glycogène s'agrandit avec l'ajout d'UDP-glucose. Les branches du glycogène sont fabriquées par l'enzyme de ramification du glycogène, qui transfère l'extrémité de la chaîne sur une partie antérieure.

I.3.3. Acides gras

La synthèse des acides gras est réalisée dans le cytoplasme grâce au complexe *acide gras synthase* (Maier, Jenni, et Ban 2006). Cette synthèse nécessite la consommation d'acétylCoA ainsi qu'un apport énergétique, fournit par des molécules d'ATP. Les acides gras ainsi produits sont stockés dans le cytoplasme des neurones afin d'être utilisés comme réserve d'équivalent glucose dans l'éventualité d'un déficit énergétique tel qu'une hypoglycémie ou encore une activation neuronale importante. Si ce déficit se produit, ces acides gras restitueront alors des molécules d'acétylCoA via leur dégradation par β-oxydation (Ronnett et al. 2006). Les acides gras ont une concentration variable selon les individus, contrairement au glycogène, car les enzymes utilisées pour leur production se voient attribuer différentes fonctions selon la demande énergétique.

I.4. PROFILS METABOLIQUES COMPLEMENTAIRES : LE COUPLE NEURONE-ASTROCYTE

Au vu de l'hétérogénéité cellulaire du cerveau, il n'est pas étonnant que différents types cellulaires aient des profils métaboliques distincts. Ces différences ont particulièrement été étudiées entre les deux types cellulaires que sont les neurones et les astrocytes, tandis que de nombreuses recherches restent à effectuer concernant les oligodendrocytes et la microglie. L'idée d'un métabolisme prédominant distinct entre neurones et astrocytes est venue avec les études neurochimiques de Hydén entre les années 1950 et 1960. En effet, ses recherches ont pu montrer que le CO_2 était produit par les neurones à un taux bien supérieur à celui des astrocytes, puis, en étudiant l'activité enzymatique (de la succinoxidase notamment, qui est utilisée dans le cycle de Krebs), Hydén a démontré les caractères oxydatif des neurones et glycolytique des astrocytes (Hamberger et Hydén 1963; Hydén et Lange 1962). Ces études étant néanmoins préliminaires et effectuées *in vitro*, il aura fallu attendre le développement de techniques plus avancées pour infirmer ou confirmer ses résultats. En effet, bien que de nombreuses études aient produit des résultats similaires à ceux de Hydén, ce n'est qu'à partir des années 2000 que la spectroscopie par résonance magnétique et l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (fMRI) ont pu corroborer ces résultats *in* vivo, à la fois chez le rongeur et chez l'Homme.

Dans un premier temps, on peut dire que les neurones sont majoritairement oxydatifs tandis que les astrocytes sont glycolytiques (Bélanger et al. 2011; Hyder et al. 2006; Zhang et al. 2014) (**Fig.I.10**).

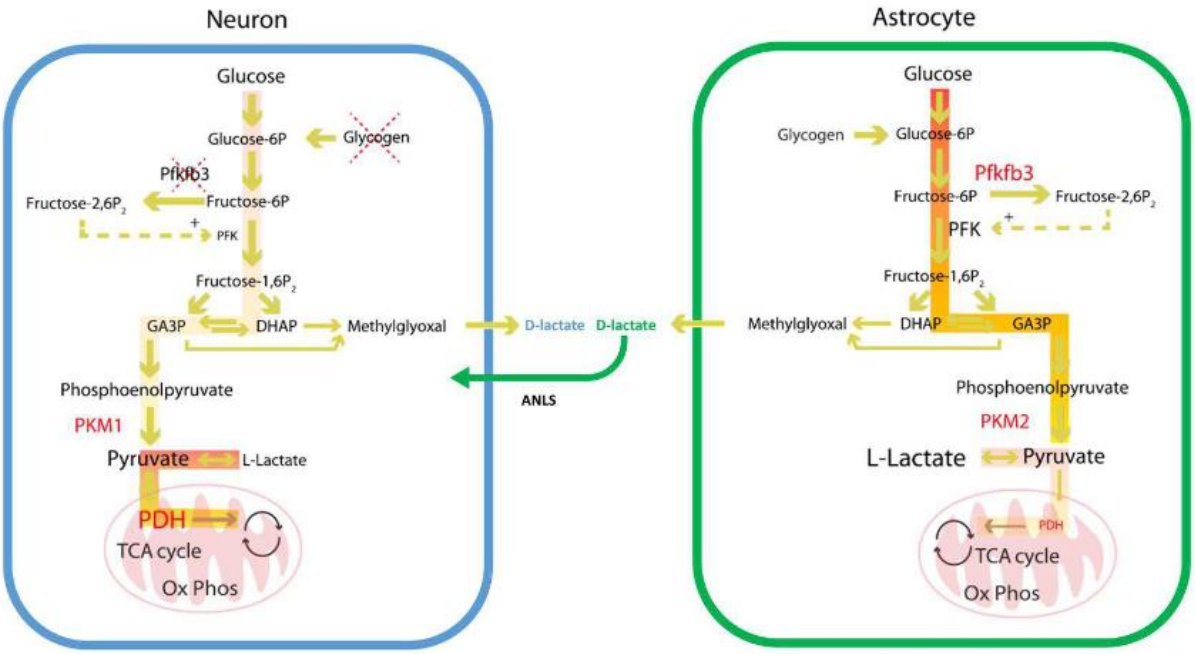


Figure I-10 : Différences métaboliques entre neurones et astrocytes, adaptée de (Magistretti et Allaman 2015)

Les astrocytes sont les seules cellules cérébrales à stocker du glycogène, contrairement aux neurones. L'épissage spécifique aux cellules de la pyruvate kinase résulte en l'expression de l'isoforme PKM1 exclusivement dans les neurones et en l'isoforme PKM2 dans les astrocytes. Ces expressions spécifiques limitent la capacité de la glycolyse et rendent le cycle de Krebs et la phosphorylation oxydative actifs dans les neurones (encadré bleu), tandis que dans les astrocytes la glycolyse est plus active et peut être régulée à la hausse, et que la transformation du pyruvate dans le cycle de Krebs est limitée (encadré vert). De plus, l'enzyme Pfkfb3, responsable de la génération de fructose-2,6P$_2$, n'est pas présente dans les neurones ce qui souligne le caractère oxydatif du métabolisme neuronal (Almeida, Moncada, et Bolaños 2004).

I.4.1. Profil métabolique des neurones

De façon cohérente avec leur haute demande énergétique, les neurones présentent un haut taux de métabolisme oxydatif, comparé aux cellules gliales (Boumezbeur et al. 2010; Lebon et al. 2002).

De récents résultats ont permis d'appréhender plus en profondeur la nature des mécanismes soutenant ces caractéristiques neuronales. En effet, il a été montré, chez les souris, l'absence dans les neurones de l'enzyme 6-phosphofructose-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase-3 (PFKFB3) ; enzyme responsable de la génération de fructose-2,6-bisphosphate (fructose-2,6-P$_2$), modulant donc la vitesse de la glycolyse (Almeida, Moncada, et Bolaños 2004; Herrero-Mendez et al. 2009). Ces résultats corroborent ainsi le caractère oxydatif du métabolisme neuronal.

L'une de ces études a aussi mis en évidence, en forçant l'expression neuronale de PFKFB3, que l'activation de la glycolyse dans les neurones mène à un stress oxydatif et à l'apoptose (Herrero-Mendez et al. 2009), suggérant ainsi que les neurones ne peuvent pas se permettre un taux de glycolyse élevé. Par ailleurs, une augmentation du flux de glucose via la voie de la glycolyse engendre nécessairement une baisse du métabolisme de la voie des pentoses-phosphates, réduisant ainsi la production de NADPH et donc du maintien du potentiel antioxydant cellulaire. Même si les contributions exactes de la voie des pentoses-phosphates et de la glycolyse restent à déterminer, un fin équilibre entre ces voies est nécessaire pour que les neurones répondent à leurs besoins énergétiques tout en maintenant leur potentiel antioxydant, deux aspects essentiels à leur survie.

Par ailleurs, la lactate déshydrogénase, enzyme agissant à la jonction entre la glycolyse et le cycle de Krebs, catalyse la conversion du pyruvate en lactate et *vice-versa*. Elle permet ainsi de réguler la disponibilité de ces métabolites en fonction de la disponibilité en oxygène. Il existe plusieurs isoformes de cette enzyme, selon la nature du cofacteur de la réaction et le stéréoisomère du lactate formé. En 1996, une étude a pu montrer, par immunohistochimie, que l'isoforme 1 de la lactate déshydrogénase était exprimé dans les neurones du cerveau humain (Bittar et al. 1996), résultats confirmés une vingtaine d'années plus tard (Duka et al. 2014). Ces observations permettent de mettre en avant que les neurones, malgré un taux de glycolyse faible, peuvent produire du pyruvate à partir de lactate afin d'alimenter le cycle de Krebs.

I.4.2. Profil métabolique des astrocytes

Contrairement aux neurones, les astrocytes privilégient un métabolisme hautement glycolytique, et non oxydatif (Bittner et al. 2010; Herrero-Mendez et al. 2009; Itoh et al. 2003). Les astrocytes sont en contact direct avec la vascularisation sanguine dans laquelle ils puisent le glucose grâce au transporteur GLUT1. De plus, ils possèdent des réserves de glycogène pouvant être sollicitées afin de regénérer du glucose-6-phosphate (G6P). La majorité du glucose suivant la glycolyse dans les astrocytes est dégradé en lactate, lui-même libéré dans le milieu extracellulaire (Bouzier-Sore et al. 2006; Itoh et al. 2003; Lovatt et al. 2007; Pellerin et Magistretti 1994; Serres et al. 2005). La nature glycolytique des astrocytes et leur préférence à produire du lactate s'explique par un profil d'expression génique spécifique impliquant des enzymes et des transporteurs agissant de concert.

Par exemple, l'enzyme PFKFB3, évoquée ci-dessus, est présente dans les astrocytes et favorise un haut taux glycolytique. Une autre caractéristique, au niveau de la mitochondrie cette fois, est la faible expression du transporteur aspartate/glutamate (AGC), un composant de la navette malate-aspartate qui contrôle le transfert de molécules à caractère réducteur (comme le NADH) du cytosol vers la

mitochondrie (Berkich et al. 2007; Ramos et al. 2003). Dans ces conditions, la conversion du pyruvate, provenant de la glycolyse, en lactate dans le cytosol fournit un moyen de maintenir un taux NAD^+/NADH élevé, essentiel au maintien d'un haut taux glycolytique. Enfin, la conversion du pyruvate en lactate dans les astrocytes peut aussi être favorisée par de faibles niveaux d'expression (Laughton et al. 2007) et/ou une désactivation, médiée par la phosphorylation, de la pyruvate déshydrogénase (une enzyme clé régulant l'entrée du pyruvate dans le cycle de Krebs) (Halim et al. 2010; Itoh et al. 2003).

I.4.3. Signalisation métabolique

Dans les années 1970, le développement de l'autoradiographie du [^{14}C]-2-désoxy-glucose (2DG) par Sokoloff *et al.* a permis la quantification locale de consommation d'énergie dans le cerveau de rat. De plus, cette étude a aussi montré que ce sont les régions du système nerveux riches en synapses qui consomment la majorité du glucose (Sokoloff 1993; Sokoloff et al. 1977). Ces résultats ont par la suite été corroborés par Logothetis *et al.* qui ont montré que l'accumulation de 2DG était corrélée à l'activité synaptique de façon temporelle et spatiale. Cette relation entre activité neuronale et consommation énergétique, ou couplage neuro-métabolique, a été le sujet de nombreuses recherches visant à en comprendre les mécanismes. Ainsi, Rouach *et al.* (Rouach et al. 2008) ont montré que i) la charge énergétique majeure du système nerveux repose sur les synapses et que ii) des mécanismes moléculaires doivent être présents pour assurer activité synaptique et apport en énergie. Ces mécanismes impliquent des transporteurs spécifiques de monocarboxylates dont le lactate (MCTs, tels que MCT1 et MCT4 dans les astrocytes et MCT2 dans les neurones (Halestrap, 2013, Pierre et Pellerin, 2005), suggérant ainsi que la dégradation de glucose en lactate est primordiale pour l'activité synaptique.

Depuis sa découverte par Carl Sheele au XVIIIème siècle, les études sur le métabolisme du lactate ont principalement été menées dans les muscles, où il est responsable de la production d'acide lactique. Il a donc longtemps été considéré pour cette raison comme une molécule toxique pour le corps. C'est au milieu des années 1980 que l'hypothèse du lactate jouant un rôle dans la bioénergétique a été avancée (Brooks 1985; Fox et Raichle 1986). En 1994, Pellerin et Magistretti proposent le modèle de « navette lactate astrocytaire-neuronale » (Pellerin et Magistretti 1994), expliquant ainsi l'apport énergétique aux neurones durant l'activité synaptique. Cette hypothèse reste la plus admise dans la communauté bien qu'elle ne fasse pas consensus et fasse encore aujourd'hui l'objet de recherches (Bak et Walls 2018; Barros et Weber 2018; Chih, Lipton, et Roberts 2001; Dienel 2012, 2017; Gjedde et Marrett 2001; Hertz 2004; Mangia et al. 2011).

Le développement de sondes FRET (*Förster/fluorescense resonance energy transfer*) sensibles au lactate a pour la première fois permis *in vivo* d'apporter la preuve d'un gradient de lactate, des astrocytes vers les neurones (Mächler et al. 2016). Cependant, étudier le lactate et son implication dans le métabolisme cérébral *in vivo* reste une tâche ardue. En effet, les techniques actuelles manquent de résolution spatiale et/ou temporelle pour évaluer l'origine compartimental du lactate. Il s'agit d'un axe de recherche sur lequel travaillent plusieurs membres de l'équipe IRM de MIRCen : nous tentons de mesurer la compartimentation du lactate de façon non invasive en utilisant la spectroscopie par résonance magnétique pondérée en diffusion. Des résultats préliminaires ont permis de corroborer l'hypothèse du gradient de lactate des astrocytes vers les neurones, mais ils mettent aussi en avant un remodelage en conditions pathologiques, où le lactate deviendrait alors principalement neuronal (Ligneul et al. 2019).

Ainsi, la production de lactate dans les astrocytes et son transport puis utilisation dans les neurones, en conditions physiologiques, est une hypothèse soutenue par de nombreuses observations mais cela reste à observer *in vivo* en temps réel avant d'être définitivement confirmé.

On comprend alors, qu'en couplant l'utilisation du glucose (via la glycolyse astrocytaire) à l'activité neuronale et à la phosphorylation oxydative, l'hypothèse « navette lactate astrocytaire-neuronale » avance que la consommation en glucose des astrocytes est bien plus élevée qu'on ne pourrait s'y attendre au vu de leurs besoins en énergie. Les astrocytes seraient ainsi responsables de près de la moitié de l'assimilation de glucose (Chuquet et al. 2010; Nehlig, Wittendorp-Rechenmann, et Dao Lam 2004). Cela ajoute donc un éclairage intéressant concernant l'interprétation des acquisitions IRM faîtes durant cette thèse.

A travers ce chapitre, nous avons vu le rôle central que joue le glucose dans le métabolisme énergétique et en particulier son implication dans la production d'énergie et l'utilisation qu'en fait notre cerveau. Par conséquent, la consommation et l'assimilation du glucose par les cellules cérébrales peuvent être considérées comme des indexes pertinents reflétant l'état du métabolisme énergétique, en conditions saines mais aussi pathologiques. Cela est tout particulièrement intéressant dans le cadre des maladies neurodégénératives, maladies qui sont au cœur des recherches menées au seins de notre laboratoire. Dans le chapitre suivant nous discuterons des méthodes d'imagerie « conventionnelles » utilisées pour évaluer le fonctionnement des cellules cérébrales. Nous verrons en particulier comment le suivi du métabolisme énergétique peut être un biomarqueur à fort potentiel pour le suivi des maladies neurodégénératives, pour mieux comprendre leur physiopathologie mais également pour évaluer de façon pertinente de futurs traitements thérapeutiques.

Chapitre II : Mesures « conventionnelles » du métabolisme énergétique

L'imagerie du métabolisme énergétique permet d'obtenir des informations sur le bon fonctionnement ou non de l'organe étudié. Elle joue un rôle majeur dans la compréhension des maladies neurodégénératives et est amenée à fournir des informations cruciales sur le fonctionnement des cellules cérébrales en conditions saines et pathologies. Ces connaissances seront un outil majeur pour le développement et la validation de futures thérapies, en particulier celles amenées à restaurer ou compléter des défauts du métabolisme énergétique dans les maladies neurodégénératives. Une modalité d'imagerie, la TEP, constitue à l'heure actuelle la méthode de choix pour ce genre d'approches. Ainsi, nous détaillerons brièvement cette technique dans ce chapitre pour en saisir les points forts mais également les limitations. Nous présenterons aussi l'IRM, dans son approche conventionnelle qui est actuellement largement utilisée pour étudies ces pathologies.

II.1. Besoins en imagerie

II.1.1. Un peu d'histoire

La découverte des rayons X en 1896 par Wilhelm Röntgen (Röntgen 1896) marque la naissance de l'imagerie médicale (**Fig.II.1**). Très vite, l'intérêt d'une telle découverte et ses potentielles applications à la médecine sont remarquées. La même année, Oudin et Barthélémy réalisent la première séance de radioscopie. En 1897, Antoine Beclère, alors médecin à l'hôpital Tenon à Paris, utilise un radioscope à l'aide duquel il effectue les premiers dépistages de tuberculose grâce aux radiographies des poumons (Béclère 1899).

Figure II-1: Premier cliché anatomique radiographique jamais réalisé, par Wilhelm Röntgen

Radiographie de la main d'Anna Bertha Ludwig Röntgen, prise le 22 décembre 1895. Röntgen remarque que l'image est l'ombre des os de la main de son épouse. L'élément d'apparence ovale étant son alliance et la pénombre entourant les os étant la chair de sa main. De par leur nature inconnue Röntgen nommera par la suite ces rayons, « rayons X », utilisés en routine clinique à ce jour.

L'imagerie médicale se développe lors de la Première Guerre mondiale avec la mise en place de voitures équipées par Marie Curie d'unités de radiologies. Ces voitures radiologiques sillonnent les fronts afin de repérer les éclats d'obus chez les soldats blessés. En 1934, la radioactivité artificielle est découverte par Irène et Frédérique Joliot-Curie (Curie et Joliot 1934). La possibilité d'utiliser des éléments radioactifs à faible durée de vie et leur association à des traceurs biologiques permettent alors d'étudier et de traiter certaines maladies comme l'hyperthyroïdie.

L'imagerie se développe alors, tant comme domaine de recherche qu'en outil médical. L'imagerie médicale a pour but de créer une représentation visuelle d'une information à caractère médical ; l'objectif est de pouvoir renvoyer une image relativement simple à partir de nombreuses mesures acquises selon un protocole bien défini. Elle devient un atout majeur pour l'étude du corps humain dans des conditions *in vivo*.

En effet, elle permet non seulement de diagnostiquer les maladies, de suivre leur évolution ou encore d'étudier leur fonctionnement, mais aussi et surtout, de mieux les soigner. La grande diversité des techniques existantes capables d'imager une zone spécifique de notre corps permet de nombreuses prouesses que nous détaillerons par la suite. Aujourd'hui, l'imagerie médicale comprend, en routine

clinique, les modalités listées ci-après de façon non exhaustive : l'imagerie par résonance magnétique, la radiologie, l'échographie, la tomographie par émission de positons et la scintigraphie. Le lecteur pourra se référer à la revue de Armen Kherlopian et al. (Kherlopian et al. 2008) pour des détails approfondis quant à l'utilisation de ces différentes techniques.

II.1.2. Un outil pour le suivi des maladies

Grâce à l'imagerie médicale, il est possible d'imager une même région du corps à différents instants. Ainsi, on peut suivre l'évolution de la pathologie au cours du temps, que ce soit sur plusieurs semaines, mois ou années. On peut alors évaluer la réponse de l'organisme au traitement suivi et adapter celui-ci en conséquence. L'imagerie médicale est aussi très utile en dehors du cadre pathologique : dans le suivi des grossesses. Il est possible de suivre l'évolution du fœtus et de détecter tôt d'éventuels risques.

Bien qu'imager régulièrement une région du corps soit théoriquement possible avec chacune des méthodes d'imagerie citées ci-dessus, certaines d'entre elles ne sont pas sans danger quand elles sont utilisées à répétition. En effet, la radiographie par exemple, émet des rayons X. A fortes doses, ces rayons peuvent potentiellement entraîner des lésions des cellules et de l'ADN. Pour cette raison, les doses reçues par un patient sont très réglementées par les autorités de santé françaises. Ainsi, pour éviter la toxicité à long terme des rayons X, les patients devant être suivis régulièrement sont réorientés vers des modalités d'imagerie permettant un suivi à long terme de façon moins contraignante telles que l'IRM ou l'échographie.

Si l'imagerie médicale peut parfois endommager des cellules saines, elle peut aussi être utilisée pour volontairement détruire des cellules, comme des tumeurs par exemple. La radiothérapie est ainsi l'un des moyens utilisés aujourd'hui pour soigner le cancer, souvent en association avec une chirurgie ou un traitement médicamenteux. D'autres utilisations détournées de l'imagerie médicale commencent à voir le jour en clinique, comme par exemple avec les ultrasons focalisés de haute intensité (HIFU), technique dérivée de l'échographie. Les ultrasons émis par une sonde sont focalisés en un point d'intérêt donné (tumeur de la prostate par exemple). Cette focalisation engendre une forte élévation de température qui va ainsi permettre l'ablation des tissus ciblés (Siedek et al. 2019).

II.1.3. Suivre l'évolution de la maladie grâce aux biomarqueurs

Afin de diagnostiquer précocement les maladies, la médecine peut s'appuyer sur un ou plusieurs biomarqueurs. Communément, un biomarqueur ou marqueur biologique, désigne une vaste sous-catégorie de signes médicaux - c'est-à-dire des indications objectives de l'état de santé observées de

l'extérieur du patient - qui peuvent être mesurés de manière précise et reproductible. Les signes médicaux s'opposent aux symptômes médicaux, qui sont limités aux indications de santé ou de maladie perçues par les patients eux-mêmes. Il existe plusieurs définitions plus précises des biomarqueurs dans la littérature, et elles se recoupent heureusement considérablement. En 1998, l'Institut National de la Santé des États-Unis a défini un biomarqueur comme "une caractéristique mesurée et évaluée objectivement comme indicateur de processus biologiques normaux, de processus pathogènes ou de réponses pharmacologiques à une intervention thérapeutique" (Anon 2001).

Une définition plus large prend en compte non seulement l'incidence et l'issue de la maladie, mais aussi les effets des traitements, des interventions et même de l'exposition environnementale involontaire, par exemple à des produits chimiques ou à des nutriments. Dans son rapport sur la validité des biomarqueurs dans l'évaluation des risques environnementaux, l'Organisation Mondiale de la Santé a déclaré qu'une véritable définition des biomarqueurs comprend "presque toute mesure reflétant une interaction entre un système biologique et un danger potentiel, qui peut être chimique, physique ou biologique. La réponse mesurée peut être fonctionnelle et physiologique, biochimique au niveau cellulaire, ou une interaction moléculaire"(Anon s. d.). Les biomarqueurs prennent des aspects très différents selon les maladies qu'ils reflètent, allant du pouls et de la pression artérielle à des mesures plus complexes dans le sang ou d'autres tissus (mesurés à partir d'une biopsie par exemple), en passant par la consommation d'oxygène ou de glucose dans certaines régions.

Les biomarqueurs jouent un rôle essentiel dans l'amélioration du processus de développement des médicaments ainsi que dans l'entreprise plus large de la recherche biomédicale. Comprendre la relation entre les processus biologiques mesurables et les résultats cliniques est essentiel pour élargir notre arsenal de traitements contre les maladies et pour approfondir notre compréhension de la physiologie normale et saine. Depuis la fin des années 1980, la nécessité d'utiliser des biomarqueurs comme résultats de substitution dans les essais sur les grandes maladies, comme le cancer (Ellenberg et Hamilton 1989) et les maladies cardiaques (Wittes, Lakatos, et Probstfield 1989), a été largement discutée.

II.1.4. Vers des biomarqueurs du métabolisme énergétique

Dans le contexte de cette thèse, on s'intéresse tout particulièrement au métabolisme énergétique cérébral. En effet, il est altéré dans la plupart des maladies neurodégénératives. Cette altération, parfois dès les stades asymptomatiques de la maladie, pourrait permettre d'en faire un biomarqueur pertinent. Les biomarqueurs du métabolisme énergétique diffèrent selon la maladie que l'on souhaite

étudier. Ces biomarqueurs pouvant être extrêmement variés, on ne s'intéressera ici qu'aux principaux biomarqueurs liés au glucose.

Le biomarqueur le plus évident auquel on pense immédiatement est la molécule de glucose elle-même. En effet, si nous étions en mesure de mesurer quantitativement la consommation de glucose, cela constituerait un biomarqueur adéquat pour la prévention des maladies neurodégénératives. C'est d'ailleurs ce qu'essaye de faire l'imagerie TEP en utilisant du ^{18}F-FDG (voir **§II.2.2**). Un autre biomarqueur intéressant serait le flux glycolytique. La mesure d'un flux glycolytique faible reflèterait alors une altération du métabolisme du glucose. Le cas d'un défaut de transporteurs pourrait aussi être envisagé. C'est le cas par exemple dans la maladie d'Alzheimer où le transporteur GLUT3 est très peu exprimé chez les patients en comparaison des volontaires sains (An et al. 2018).

Enfin, des molécules liées au métabolisme du glucose, comme le lactate ou le pyruvate peuvent aussi être utilisées afin d'évaluer le métabolisme énergétique. L'étude de leurs concentrations chez des patients Alzheimer a ainsi permis de mettre en évidence leur utilité en tant que biomarqueurs en permettant la discrimination des groupes sains et pathologiques (Manyevitch et al. 2018).

Altération métabolique	**Biomarqueurs**	**Expression (down :↓, up : ↑)**	**Localisation**
Métabolisme du glucose	Glucose	↑	Cerveau
	Flux glycolytique	↓	Cerveau
	GLUT-1	↓	Cerveau
	GLUT-3	↓	Cerveau
	Lactate	↑	LCR
	Pyruvate	↓	LCR

Tableau II-1: Biomarqueurs possibles de l'altération du métabolisme du glucose (Argentati et al. 2020) Les flèches ↑ et ↓expriment les niveaux d'expression plus élevé ou plus faible des biomarqueurs dans la MA par rapport aux contrôles (LCR : liquide céphalo-rachidien).

Ainsi, l'étude du transport, de l'assimilation et de la consommation du glucose dans le cerveau en condition saine et pathologique pourrait permettre de mettre en évidence les altérations du métabolisme du glucose dans les maladies neurodégénératives. Nous discuterons donc dans la suite de ce chapitre des modalités d'imagerie principales pouvant permettre de telles études, à savoir l'imagerie TEP et IRM.

II.2. L'IMAGERIE TEP

Bien que l'imagerie TEP ne soit pas au cœur de cette thèse, son utilisation en routine clinique à l'heure actuelle en fait l'imagerie de référence pour l'étude du métabolisme énergétique. Ainsi, cette modalité constitue pour nous une référence utilise pour confronter nos résultats obtenus avec une méthode alternative. C'est pourquoi cette partie a pour but de décrire brièvement le principe, les applications et limites de cette méthode.

II.2.1. Historique et principes TEP

L'imagerie TEP voit le jour au début des années 1950, dont le premier dispositif est construit au laboratoire de recherche en physique à l'hôpital général du Massachusetts à des fins de diagnostic et de traitement de tumeurs cérébrales (Sweet 1951). Ce premier modèle est alors constitué de deux détecteurs opposés d'iodure de sodium (SWEET 1953). Une décennie et de nombreuses versions plus tard, un autre modèle est conçu, avec cette fois plusieurs détecteurs, permettant d'obtenir une image 2D (Brownell et al. 1969). Les améliorations continues apportées à cette modalité permettent l'arrivée des premiers modèles commercialisés en 1978. En parallèle, le développement des radiopharmaceutiques (voir §**II.2.2**) rend possible l'utilisation de ^{11}C, ^{18}F ou encore de ^{13}N.

II.2.1.1. Principe

L'imagerie TEP repose sur l'utilisation de marqueurs émetteurs de positons et la mesure d'activité grâce à la détection des paires de γ émises à 180° suite à l'annihilation du positon e^+ lors de sa rencontre avec un électron e^-:

$$e^+ + e^- \rightarrow 2\gamma$$

On parle de désintégration β^+ lors de l'émission simultanée de deux photons γ en anti-coïncidence de 511keV chacun. Afin de détecter ces désintégrations, on utilise une couronne de détecteurs. Ainsi, lorsqu'une désintégration se produit, si deux détecteurs opposés sont excités dans un très court laps de temps (~ns) et avec une gamme d'énergie proche de 511keV, alors on enregistre un évènement (**Fig.II.2**).

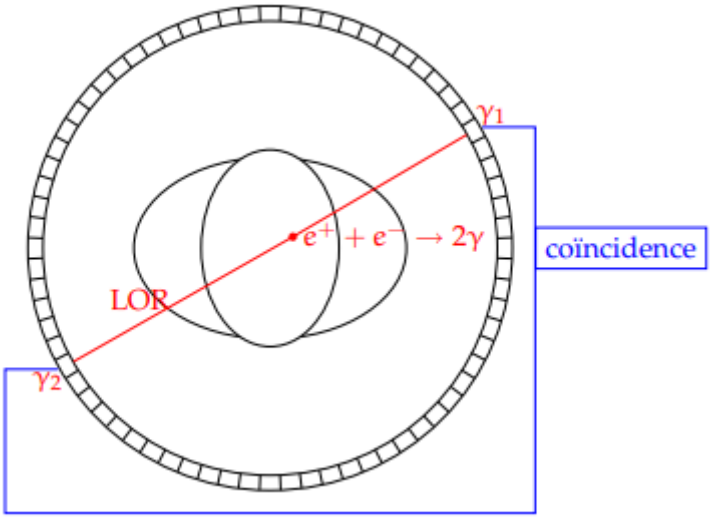


Figure II-2 : Principe de détection des désintégrations en TEP

Les rayons γ, émis en coïncidence à 180°, sont détectés quasiment en même temps par les deux détecteurs qu'ils rencontrent. Cette coïncidence dans le temps rend ces photons uniques, ce qui les distingue des autres photons. Ils sont ainsi détectés et on peut alors approximer la ligne de réponse (LOR)

L'enregistrement d'un grand nombre d'évènements permet ensuite de reconstruire des cartes représentant les lieux d'émission des γ en deux ou trois dimensions, grâce à des algorithmes complexes fonctionnants via des moyens informatiques puissants.

II.2.1.2. Limites

L'imagerie TEP a cependant quelques limites dont nous nous devons de discuter. En effet, la précision de la mesure d'activité des désintégrations β^+est impactée par différents facteurs.

Résolution spatiale

Juste avant de s'annihiler, le positon se thermalise et diffuse sur une faible distance. On parle de libre parcours moyen. Ce parcours va dépendre de la distribution d'énergie à l'émission, il est de l'ordre du millimètre (0,5 mm pour le ^{18}F et 2,7 mm pour l'^{15}O).

Un autre mécanisme joue sur la résolution spatiale de l'imagerie TEP : l'angle entre les directions d'émission des photons γ n'est pas exactement égal à 180°. En effet, la paire positon-électron conserve un moment cinétique résiduel au moment de leur annihilation. Ce moment cinétique est communiqué aux deux photons émis. La distribution de l'impulsion de la paire $e^+/\ e^-$ va déterminer la distribution de l'angle entre les deux directions d'émission, selon une loi quasi gaussienne de largeur à mi-hauteur de 0.5° et centrée sur 180°. On peut alors calculer l'effet de cet angle sur la résolution spatiale. Cette relation est approchée par l'équation suivante (Humm, Rosenfeld, et Del Guerra 2003) :

$$\Delta x \approx \Delta\theta \frac{D}{4}$$

Où D est le diamètre d'un anneau de tomographe (en m) et Δx la contribution de l'effet à la résolution spatiale (en m). En considérant que $\Delta\theta$ a une valeur de 0,5° (soit 8,7mrad) comme énoncé précédemment, on trouve alors que la résolution spatiale est impactée de 2,2mm pour un diamètre de 1m. Il s'agit du même ordre de grandeur que celui dû au libre parcours moyen.

Évènements parasites

Nous avons parlé plus haut de la détection des coïncidences. Il existe aussi des cas où des coïncidences sont détectées mais elles ne correspondent pas à l'émission d'une paire de photons : on parle de paires diffusées et fortuites (**Fig.II.3**).

Le libre parcours moyen des photons de 511keV dans l'eau est de 10,4cm. De ce fait, en TEP corps entier, ce sont 15% des photons seulement qui traversent les tissus sans interactions. Parmi les photons restants, au moins un des deux photons de la paire est absorbé ou subit une diffusion Compton.

S'il subit une diffusion Compton dans les tissus biologiques, la colinéarité de la paire de photons est brisée et cela engendre une mauvaise reconstruction de la ligne de réponse (**Fig.II.3**). Grâce à la sélection en énergie, les paires de photons ayant subi une diffusion à grand angle sont rejetées. Cependant cela n'est pas suffisant et la proportion de coïncidences diffusées est de 30% en mode 2D et de 50% en mode 3D des vraies coïncidences. Lors d'un examen du cerveau chez l'Homme, ce taux reste élevé, de l'ordre de 30-40% (Humm et al. 2003).

Enfin, il existe des cas où deux photons détectés comme étant en coïncidence proviennent en réalité de l'annihilation de deux positons différents.

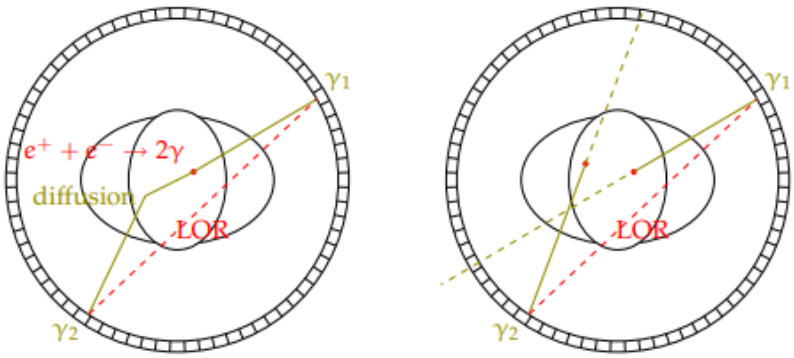


Figure II-3: Évènements parasites en TEP

Détection de paires diffusées et fortuites, parasitant le signal.

II.2.2. Radiotraceur

Afin de pouvoir imager des paramètres pertinents, l'élément radioactif à l'origine des émissions de positons doit être lié à une molécule d'intérêt dont on va alors pouvoir suivre le cheminement grâce à la reconstruction de l'image TEP. Il existe aujourd'hui de très nombreux radiotraceurs, chacun élaboré pour répondre à un besoin spécifique. Cependant, l'un d'entre eux se démarque grâce à sa capacité à refléter le métabolisme énergétique : le [^{18}F]2-fluoro-2-desoxy-D-glucose (^{18}F-FDG).

Le ^{18}F-FDG est une molécule de glucose sur laquelle l'un des groupes hydroxyle a été remplacé par un atome de fluor 18 (**Fig.II.4**).

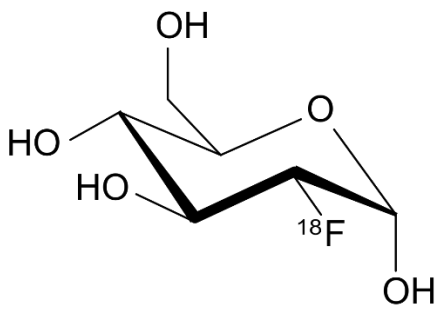


Figure II-4: Molécule de ^{18}F-FDG

Le [^{18}F]2-fluoro-2-desoxy-D-glucose est une molécule de glucose dans laquelle l'hydroxyle du carbone 2 du glucose est remplacé par du fluor 18.

Les cellules ont besoin d'énergie sous forme de glucose pour vivre, fonctionner et se reproduire. Plus leur activité est importante, plus leur consommation de glucose augmente. Contrairement au glucose, une fois transporté dans la cellule, le ^{18}F-FDG est phosphorylé mais n'est pas métabolisé plus loin, restant alors piégé dans la cellule. Ainsi, il permet l'étude du transport du glucose et de sa phosphorylation mais pas de son métabolisme subséquent. Bien qu'il soit reconnu que le métabolisme du glucose et le débit sanguin cérébral correspondent probablement à des modifications de la fonction des neurotransmetteurs (Barros, Porras, et Bittner 2005), les mécanismes cellulaires et moléculaires qui sous-tendent l'imagerie TEP basée sur le ^{18}F-FDG ne sont pas totalement connus, particulièrement en termes de contribution astrocytaire (Pellerin et al. 2007) et de couplage neurovasculaire (Shih et al. 2011). Vers la fin des années 1970, début 1980, le ^{18}F-FDG a été largement utilisé pour étudier de nombreuses maladies relatives à l'épilepsie, aux accidents vasculaires cérébraux et aux pathologies psychiatriques. Dans les années 2000, les protocoles ^{18}F-FDG dédiés aux processus de neurodégénérescence augmentent. Plusieurs études comparatives identifient un défaut de métabolisme régional significatif dans la maladie d'Alzheimer en clinique (**Fig.II.5**), qui émerge en tant

que biomarqueur pour le diagnostic de la maladie et un possible levier pour augmenter l'efficacité des essais thérapeutiques (Herholz 2010). Il est un outil de choix pour l'étude du métabolisme énergétique.

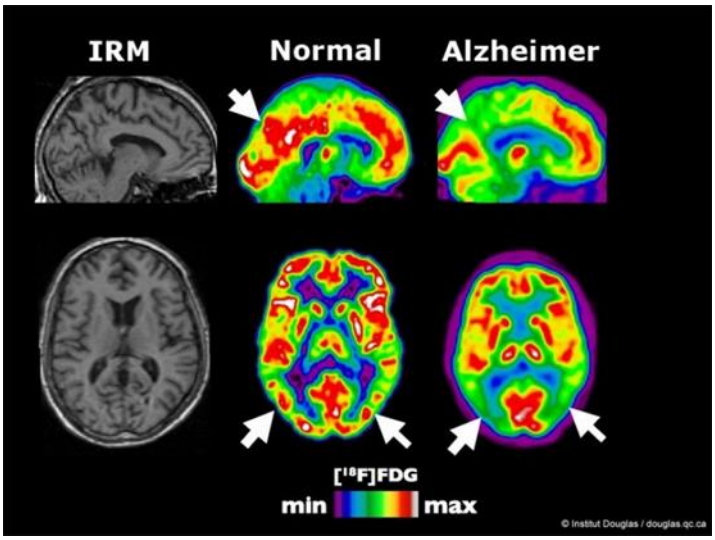


Figure II-5: Hypométabolisme chez un patient atteint d'Alzheimer (Beneduce et al. 2020)

On observe en FDG-TEP une réduction du métabolisme du glucose dans les aires temporales postérieures et les aires pariétales, touchées dans la MA

II.2.3. Applications

Historiquement, la TEP était principalement appliquée en recherche en neurologie. Aujourd'hui, son utilisation en cancérologie s'est démocratisée grâce à l'utilisation du ^{18}F-FDG. La grande sensibilité du ^{18}F-FDG lui permet d'être utilisé dans la recherche de pathologies inflammatoires ou infectieuses.

II.2.3.1. Cancérologie

Les cellules tumorales malignes font preuve d'un hypermétabolisme glucidique et une surexpression des transporteurs de glucose (GLUT-1). Au vu de la grande différence de consommation de glucose entre des cellules tumorales et des cellules saines, l'accumulation de ^{18}F-FDG (sous forme phosphorylée) sera plus importante dans les cellules tumorales. C'est l'une des raisons principales qui font de l'imagerie TEP une modalité particulièrement adaptée à la recherche de tumeurs malignes. Cet examen est utile à plusieurs étapes du suivi du patient :

- lors du diagnostic afin d'identifier la tumeur et de préciser sa nature, ainsi que pour évaluer l'étendue du cancer.

- lors du traitement, afin d'évaluer la réponse à la thérapie suivie.

- post-traitement, pour surveiller le risque de récidive chez le patient.

En oncologie, l'imagerie TEP se positionne ainsi devant les autres modalités d'imagerie grâce à son excellente spécificité et sensibilité. On peut aussi relever que, du fait de la fixation physiologique du ^{18}F-FDG sur le tissu cérébral, l'utilisation de la TEP couplée au ^{18}F-FDG ne permet généralement pas de rechercher les métastases cérébrales. Cependant, cette caractéristique peut servir pour étudier le métabolisme cérébral régional, ce qui est pertinent en neurologie pour le diagnostic des démences.

II.2.3.2. Neurologie

En imagerie cérébrale, l'utilisation de la TEP repose le lien entre l'activité cérébrale dans une région donnée et la mesure des émissions γ. C'est une mesure indirecte du métabolisme cérébral puisque la méthode se base sur l'accumulation du radiotraceur. Le radiotraceur le plus utilisé étant le ^{18}F-FDG. On pourrait aussi se baser sur un radiotraceur à base d'^{15}O, qui s'accumule à cause de l'augmentation locale du débit sanguin cérébral lors d'une augmentation d'activité dans le cerveau (réponse hémodynamique). L'imagerie TEP peut donc refléter les apports en énergie dans des régions du cerveau mais elle est intimement liée à l'activité cérébrale en elle-même.

Un des avantages de la TEP est la possibilité d'utiliser des radiotraceurs spécifiques de neurorécepteurs. Cela permet de visualiser les récepteurs et transporteurs des principaux neurotransmetteurs impliqués dans les processus neurophysiologiques et neuropathologiques. Ainsi, on mesure la densité des récepteurs et l'affinité de liaison par laquelle le radioligand se lie au récepteur d'intérêt. Les ligands TEP sont radiomarqués avec une activité spécifique élevée qui permet d'injecter une très faible quantité de ligand ("dose traceuse"), minimisant ainsi tout effet pharmacologique. Typiquement, l'imagerie cérébrale identifie les neurotransmetteurs à trois localisations différentes : le neurone présynaptique, le neurone post-synaptique et le métabolisme intraneuronal (Herholz 2010). Par exemple, le dérivé radiomarqué de la cocaïne [^{11}C]PE2I pour le transporteur de la dopamine permet d'estimer leur densité dans les membranes des neurones présynaptiques (Emond, Guilloteau, et Chalon 2008); le raclopride, traceur marqué au [^{11}C], se lie aux récepteurs D2 de la dopamine, permettant leur imagerie au niveau postsynaptique ; et le [^{18}F]-DOPA, précurseur radiomarqué de la dopamine, permet l'imagerie de la voie métabolique de la dopamine, essentiellement au niveau intraneuronal présynaptique (Elsinga, Hatano, et Ishiwata 2006).

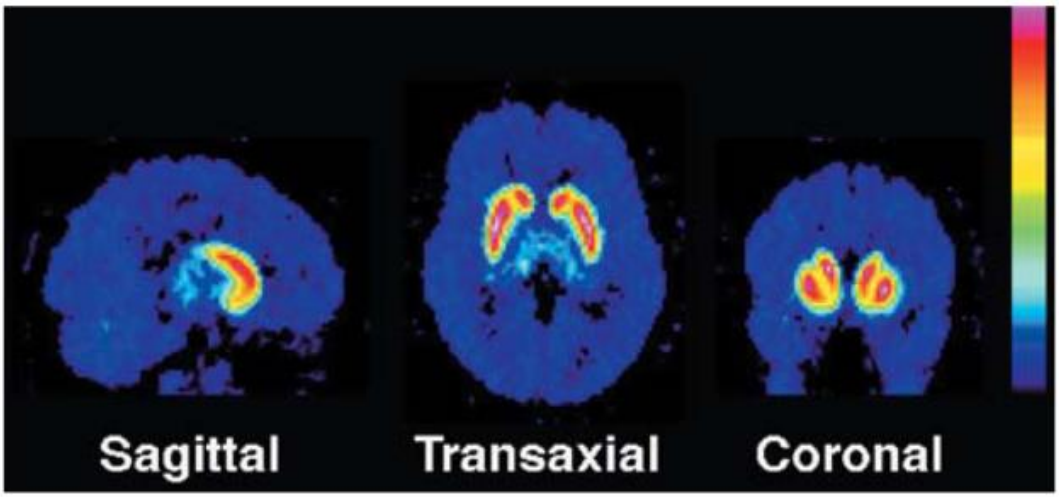


Figure II-6: Distribution du [^{11}C]PE2I dans le cerveau humain (Halldin et al. 2003)

Acquisition de la distribution de radioactivité entre 9 et 68 minutes après injection de [^{11}C]PE2I montrant une accumulation au niveau du noyau caudé et du putamen.

II.2.3.3. Cardiologie

L'intérêt de la TEP en cardiologie porte sur l'évaluation de la viabilité du muscle cardiaque après un infarctus (Bengel et al. 2009). Cela permet d'évaluer l'état sain ou nécrotique des régions du cœur souffrant d'une diminution de leurs fonctions après l'infarctus. En utilisant le ^{18}F-FDG, on peut obtenir des informations sur le métabolisme : une diminution du métabolisme indiquerait que le tissu myocardique est non viable.

L'imagerie TEP peut aussi être utilisée pour évaluer la perfusion du myocarde, grâce à plusieurs radiotraceurs comme l'oxygène 15 dont que nous avons déjà évoqué mais aussi le rubidium 82 ou encore le ^{13}N-ammoniac ($^{13}NH_3$).

Bien que l'évaluation de la viabilité myocardique ait été le principal domaine de recherche de l'imagerie TEP en cardiologie, il existe d'autres modalités appliquées à l'étude du myocarde, comme l'imagerie de l'hypoxie du myocarde ou de l'athérosclérose. Des radiotraceurs basés sur des isotopes du cuivre ont ainsi été utilisés lors d'études précliniques, du fait qu'ils soient piégés par les cellules hypoxiques (Fujibayashi et al. s. d.). Dans le cas de l'athérosclérose, l'élément clé à identifier est le degré d'inflammation des plaques. L'utilisation de ^{18}F-FDG permet alors d'imager les lésions, qui présentent une activité métabolique élevée. Plusieurs recherches ont ainsi rapporté une assimilation plus élevée de ^{18}F-FDG dans des plaques d'athérosclérose dans l'aorte, la carotide et autres vaisseaux principaux (Rudd et al. 2002; Tatsumi et al. 2003; Yun et al. 2002).

Au travers de ce court résumé, nous avons vu que l'imagerie TEP était et reste la méthode de référence pour l'imagerie du métabolisme énergétique grâce à l'utilisation du ^{18}F-FDG. Cependant, le développement d'autres méthodes d'imagerie aussi performantes mais qui seraient moins invasives permettraient d'améliorer le suivi longitudinal des patients (pas d'injection de radioactivité répétées). Pour cela, de nombreux espoirs reposent sur l'imagerie par résonance magnétique.

II.3. Spectroscopie RMN

La spectroscopie RMN est une technique à la base de l'imagerie par résonance magnétique. Elle repose sur les propriétés magnétiques de certains noyaux atomiques. Contrairement à l'imagerie TEP, l'IRM est bien plus répandue en France du fait des nombreux types de contraste qu'elle est capable de fournir (on compte environ 5x plus d'IRM installées que de TEP en 2018, d'après la direction de la Recherche, des Études, de l'Évaluation et des Statistiques). Nous détaillerons dans cette partie le principe physique de cette technique afin que le lecteur puisse comprendre les notions clés auxquelles nous reviendrons dans la suite de ce manuscrit.

II.3.1. Historique et principes RMN

Le phénomène de résonance magnétique a été découvert en 1946 par Purcell et Bloch, de manière indépendante, alors qu'ils réalisent les premières mesures du magnétisme nucléaire par induction magnétique. Ils seront récompensés pour leurs travaux en recevant conjointement le prix Nobel de physique en 1952. Ce phénomène repose sur l'interaction des moments magnétiques de noyaux d'atomes avec un champ magnétique. Le moment magnétique μ des noyaux est associé à un spin nucléaire, qui est une forme de moment angulaire possédé par ces noyaux. Il vérifie la relation :

$$\vec{\mu} = \gamma \frac{h}{2\pi} \cdot \vec{I} \qquad \text{II. 3-1}$$

où γ est le rapport gyromagnétique de l'atome considéré, h la constante de Planck et $\vec{I}$ le moment angulaire intrinsèque.

Lorsqu'un noyau est soumis à un champ magnétique extérieur B_0, son spin précesse autour de l'axe de B_0 et il acquière une énergie de couplage telle que :

$$E = -\vec{\mu} \cdot \overrightarrow{B_0} \qquad \text{II. 3-2}$$

Les noyaux comportant un nombre pair de protons et de neutrons ont un spin nucléaire et un moment magnétique nuls, tandis que ceux comportant un nombre impair de protons ou de neutrons possèdent un spin et un moment magnétique non nuls. Parmi les noyaux ayant un nombre impair de protons ou de neutrons, certains noyaux, tels que ^{1}H, ^{31}P, ^{13}C et ^{15}N, ont un nombre de spin de ½, ce qui est favorable aux applications pratiques de la résonance magnétique.

En effet, l'application d'un champ magnétique B_0 a pour effet la levée de dégénérescence des niveaux d'énergie : l'état d'énergie fondamental des spins se divise en 2I+1 niveaux d'énergie. Ce phénomène a été découvert en 1896 par le physicien Pieter Zeeman et porte aujourd'hui son nom : « l'effet Zeeman » (**Fig.II.7**). Soit, dans le cas des noyaux possédant un nombre de spin de ½ :

$$E_{1/2} = -\frac{1}{2} \times \gamma \frac{h}{2\pi} B_0 \qquad \text{II. 3-3a}$$

$$E_{-1/2} = \frac{1}{2} \times \gamma \frac{h}{2\pi} B_0 \qquad \text{II. 3-3b}$$

Si l'état de spin de ces noyaux est mesuré individuellement dans le champ magnétique, on observe deux états de spin qui correspondent aux nombres quantiques magnétiques de ½ et -½. L'un de ces états correspond à l'orientation des noyaux parallèlement au champ magnétique, et l'autre correspond à son orientation antiparallèle. Ces deux états de spin ont des énergies différentes ($E_{1/2}$ et $E_{-1/2}$). Il est à préciser que, du point de vue de la physique quantique, cela ne signifie pas que les noyaux d'un objet sont dans des états quantiques purs de ½ et -½. En effet, l'observation du spin est restreinte au monde quantique et n'a pas d'équivalent en physique classique.

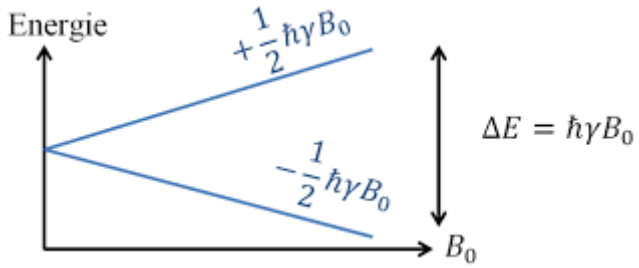


Figure II-7: Illustration de l'effet Zeeman

Nivaux d'énergies possibles pour des noyaux possédant un spin ½

Dans le champ magnétique statique, les noyaux ayant un moment magnétique non nul ont tendance à prendre l'orientation ayant l'énergie la plus basse. Cette orientation est toutefois perturbée par l'énergie thermique. En conséquence, on peut imaginer que l'orientation des moments nucléaires dans le champ magnétique est presque aléatoire dans l'espace avec une probabilité légèrement accrue de leur orientation dans la direction du champ, c'est-à-dire avec une énergie plus faible (Hanson 2008).

Une telle orientation des moments magnétiques nucléaires dans le champ magnétique statique de l'induction B_0 donne lieu à une magnétisation macroscopique M en tant que somme vectorielle des moments magnétiques nucléaires individuels. À l'équilibre, l'aimantation M_0 est alignée avec la direction du champ magnétique statique.

L'aimantation est une quantité vectorielle, qui obéit aux règles de l'électrodynamique classique (Hoult 1989). Ainsi, l'interaction des champs magnétiques avec l'aimantation peut être décrite par l'équation de la physique classique :

$$\frac{dM}{dt} = -\gamma M \times B = -M \times \omega_0 \qquad \text{II. 3-4}$$

Selon cette équation, si l'aimantation est alignée avec le champ magnétique B_0 (conventionnellement aligné avec l'axe z), le produit vectoriel $M \times B_0$ est égal à zéro et M est statique (**Fig.II.8.A**). Cependant, si M et B_0 ne sont pas parallèles, l'aimantation précesse autour de l'axe de B_0 avec une fréquence angulaire ω ($\omega = 2\pi\nu$, où ν est la fréquence en Hz), qui est généralement appelée fréquence de Larmor (**Fig.II.8.B**). La magnitude typique de B_0 est de plusieurs Tesla (T), et la fréquence de Larmor se situe généralement dans la gamme 50-900 MHz.

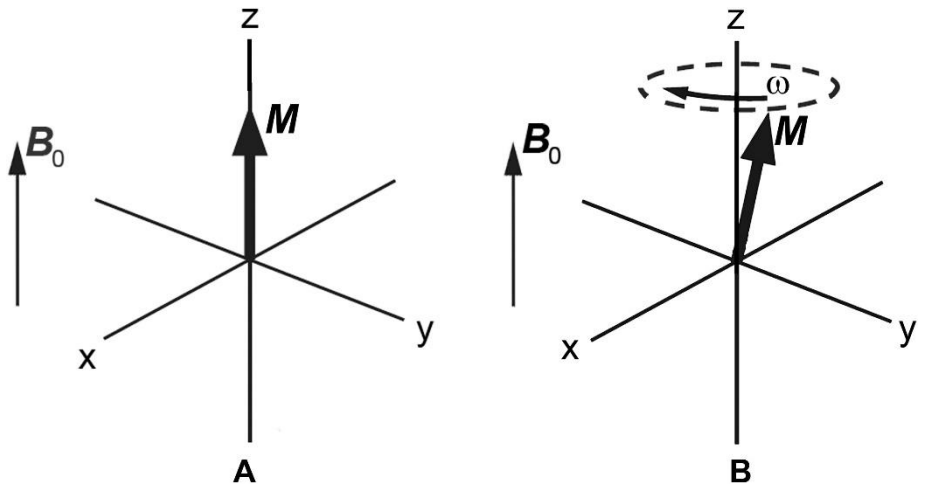


Figure II-8: Comportement de l'aimantation M dans un champ statique B_0

L'aimantation M dans un champ statique B_0 est parallèle avec le champ dans le cas d'un état stationnaire (A). En revanche, si l'aimantation n'est plus parallèle avec le champ B_0, elle précesse autour de celui-ci à la fréquence de Larmor $\omega = 2\pi\nu$

Selon la loi de Faraday, l'aimantation en mouvement induit une force électromotrice dans la bobine, qui est proportionnelle à dM/dt. Ainsi, pour mesurer l'aimantation, nous devons l'incliner pour qu'elle ne soit pas parallèle au champ magnétique, ce qui entraînera sa précession. Comme une inclinaison soudaine du champ magnétique statique n'est pas techniquement possible, il faut utiliser le concept

de *résonance*. En effet, un champ magnétique radiofréquence (RF) de faible amplitude B_1, **à la fréquence de résonance**, produit par un courant électrique RF dans la bobine dont l'axe est perpendiculaire à B_0 est capable de basculer l'aimantation.

II.3.2. Excitation et relaxation

Pour perturber l'équilibre du système il faut provoquer des transitions énergétiques entre les niveaux de « haute » et « basse » énergie. Pour cela, il faut apporter au système une quantité d'énergie équivalente à la différence d'énergie entre les deux états, soit : $\Delta E = \hbar\gamma B_0$. L'énergie de l'impulsion RF doit donc être égale à ΔE . D'après la relation de Planck-Einstein, l'énergie d'une onde radiofréquence vaut : $E = h\nu$. On en déduit alors que pour basculer l'aimantation l'impulsion RF doit posséder une fréquence telle que $\nu = \gamma\, B_0/2\pi$. L'angle de bascule de l'aimantation va dépendre de l'intensité de l'onde RF et de la durée pendant laquelle celle-ci est appliquée.

Une fois la perturbation transitoire terminée, les spins reviennent à l'équilibre par un mouvement de précession autour de l'axe z. Ces phénomènes physiques de relaxation ont été décrits par Félix Bloch en 1946 par un ensemble d'équations macroscopiques qui portent aujourd'hui son nom et permettent de calculer l'aimantation M en fonction du temps. L'aimantation longitudinale M_z relaxe ainsi selon la formule :

$$M_z(t) = M_0\left(1 - e^{-t/T_1}\right) \qquad \text{II. 3-5}$$

Où M_0 représente l'aimantation initiale et T_1 le temps de relaxation de l'aimantation longitudinale. D'autre part, l'aimantation transversale M_{xy} est définie en fonction du temps par :

$$M_{xy}(t) = M_0 e^{-t/T_2} \qquad \text{II. 3-6}$$

Avec T_2 le temps de déphasage de l'aimantation transverse.

Les temps T_1 et T_2 sont des grandeurs propres à chaque tissu, à un champ B_0 fixé. Ils définissent les vitesses de retour à l'équilibre des aimantations longitudinales et transverses.

On peut aussi parler de la relaxation transverse T_2* qui reflète non seulement les interactions spin-spin (effet T_2) mais aussi les inhomogénéités de champ B_0, les changements locaux de susceptibilité magnétique et la présence d'éléments paramagnétiques. L'aimantation transverse sera alors décrite par

$$M_{xy}(t) = M_0 e^{-t/T_2^*}, \text{ où } T_2^* < T_2 \qquad \text{II. 3-7}$$

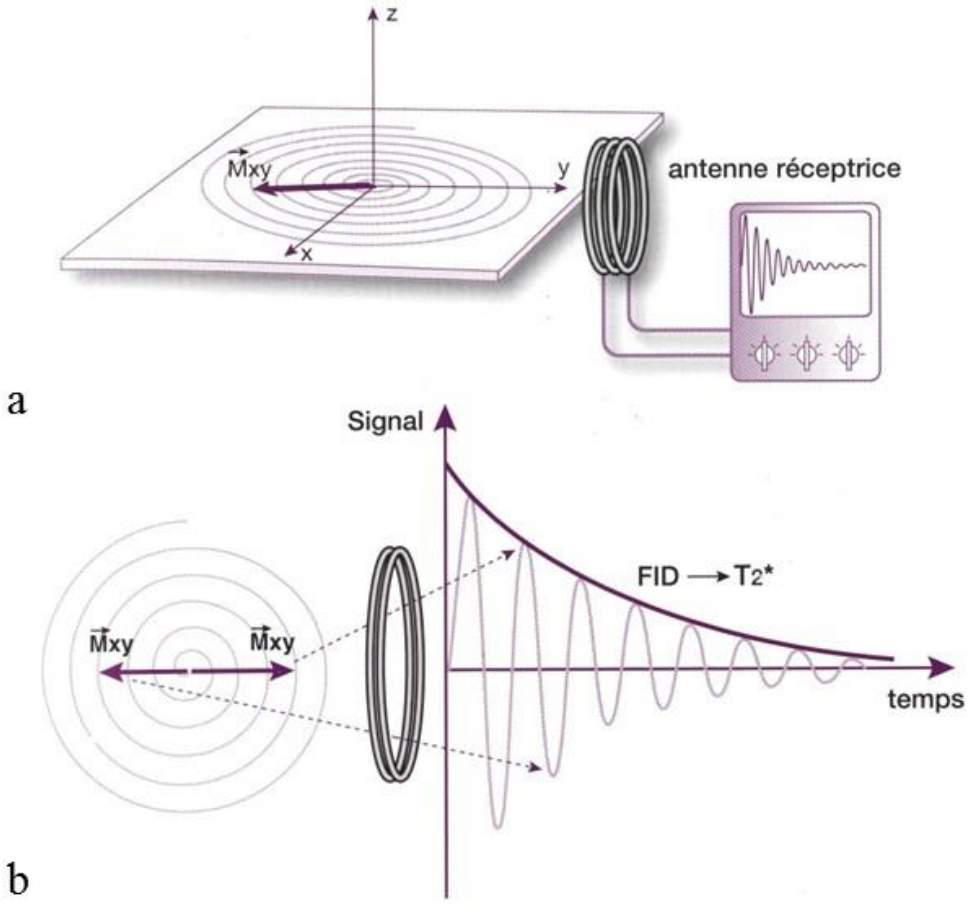


Figure II-9 : Evolution du système après application d'une onde RF 90°.

L'aimantation est basculée dans la plan transverse grâce à l'application d'une onde RF 90° (a). Le signal FID (free induction decay) est réceptionné par l'antenne (b), où l'on remarque la décroissance T_2^* décrite par l'équation II.3.7.

II.3.3. Déplacement chimique

Le nuage électronique formé à l'échelle atomique ou moléculaire possède des propriétés de susceptibilité diamagnétique. Ainsi, lorsqu'un atome ou une molécule est placé dans un champ magnétique externe B_0, des champs magnétiques locaux sont créés par le mouvement des électrons. Ces champs locaux viennent interférer avec le champ B_0, formant alors un « écran ». Cet « écran » modifie alors la perception du champ B_0 par le noyau de l'atome, ou par le groupe fonctionnel dans le cas d'une molécule. Le champ magnétique effectif perçu peut être décrit par :

$$B_{eff} = B_0(1 - \sigma) \qquad \text{II. 3-8}$$

Où σ est la constante d'écran induite par le nuage électronique. On parle de « blindage » de la molécule : plus une molécule est blindée, plus sa constante d'écran est élevée. En fonction de la configuration des différents atomes composant la molécule et de leur liaison, la circulation et la distribution des électrons varient. Chaque molécule possède donc une structure électronique spécifique qui lui est propre. Sa fréquence de résonance effective est alors :

$$\omega_{eff} = \gamma B_{eff} \qquad \text{II. 3-9}$$

Dans un contexte d'imagerie médicale, cela permet ainsi de discriminer et quantifier des métabolites de façon non-invasive dans un voxel d'intérêt.

Puisque cet effet d'écrantage est proportionnel à B_0, un paramètre indépendant du champ magnétique, *le déplacement chimique*, a été défini sous la forme de l'échelle δ :

$$\delta = 10^6 \frac{(\omega_{eff} - \omega_{ref})}{\omega_0} \qquad \text{II. 3-10}$$

Les valeurs de δ sont communément exprimées en partie par million (ppm). Ici, ω_{eff} est la fréquence de résonance en Hz d'une ligne spectroscopique d'un composé mesuré, et ω_{ref} est la fréquence de résonance d'un composé de référence dans le même champ magnétique statique. Par convention, la fréquence de résonance des noyaux ^{1}H du tétraméthylsilane, molécule extrêmement blindée, est utilisée comme référence. Enfin, ω_0 correspond à la fréquence de résonance du spectromètre.

La valeur du décalage en fréquence évoluant proportionnellement avec l'intensité du champ B_0, l'intérêt de travailler sur une IRM à haut champ prend tout son sens. En effet, à 11,7 T, la fréquence de Larmor du spectromètre pour un atome ^{1}H est égale à 500,3 MHz. Cela correspond à un déplacement chimique compris entre 10^2 et 10^3 Hz.

Dans le contexte des expériences menées au cours de cette thèse, nous nous intéresserons uniquement à la spectroscopie ^{1}H des métabolites, en particulier du glucose.

II.3.4. Couplage J

Un autre phénomène qui affecte l'apparence des spectres RMN est le couplage indirect (scalaire) spin-spin ou couplage J. Ce phénomène est responsable de la division des lignes spectroscopiques en multiplets. Le couplage de deux noyaux ou groupes de noyaux est médié par la polarisation des électrons sur les liaisons chimiques reliant ces noyaux. La forme de la polarisation dépend de l'orientation instantanée des moments magnétiques nucléaires dans le champ magnétique. L'orientation d'un moment nucléaire parallèle au champ magnétique peut augmenter la densité

électronique d'un noyau voisin, et l'orientation antiparallèle peut la diminuer. Cet effet est mutuel, ce qui signifie qu'il est le même pour les noyaux couplés et les groupes de noyaux. La magnitude de cette interaction est appelée la constante de couplage J et est exprimée en Hz.

En fonction du nombre de noyaux voisins, on observe différents schémas de fractionnement. On peut facilement montrer que si la différence des fréquences de résonance des noyaux couplés est suffisamment grande, la multiplicité du fractionnement des raies spectroscopiques des noyaux de spin-½ est égale à n + 1, où n est le nombre de noyaux voisins équivalents. Ainsi, les atomes de ^{1}H dans deux groupes CH en interaction avec des fréquences de résonance différentes fournissent deux doublets avec le même fractionnement. De même, le couplage d'un groupe méthyle CH_3 et d'un groupe méthylène CH_2 entraîne le fractionnement du pic de résonance CH_2 en un quartet et celui du groupe CH_3 en un triplet (**Fig.II.10**). La structure multiplet des raies spectroscopiques et les constantes de couplage sont des paramètres utiles pour l'analyse structurelle des composés organiques. Les constantes de couplage sont indépendantes du champ magnétique statique et, en général, diminuent avec le nombre de liaisons chimiques entre les noyaux en interaction.

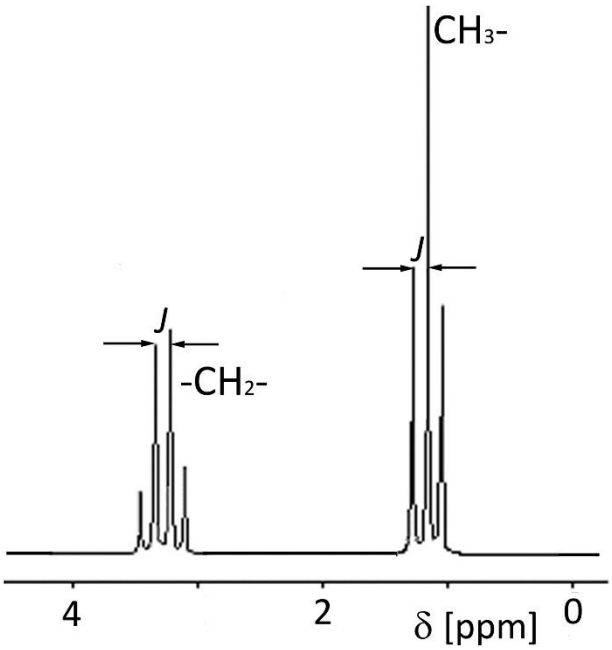


Figure II-10 : Visualisation du couplage J

La multiplicité est égale à n+1, où n est le nombre d'atomes ^{1}H voisins.

II.3.5. Spectroscopie *in vivo*

La spectroscopie RMN permet ainsi d'obtenir un spectre représentant les métabolites présents dans un voxel d'intérêt. Les métabolites n'étant quasiment pas situés dans l'espace extravasculaire, la

contribution au signal RMN est considérée comme étant majoritairement intracellulaire. Parmi les métabolites observés (**Fig.II.10**) certains sont caractéristiques de types de cellules cérébrales.

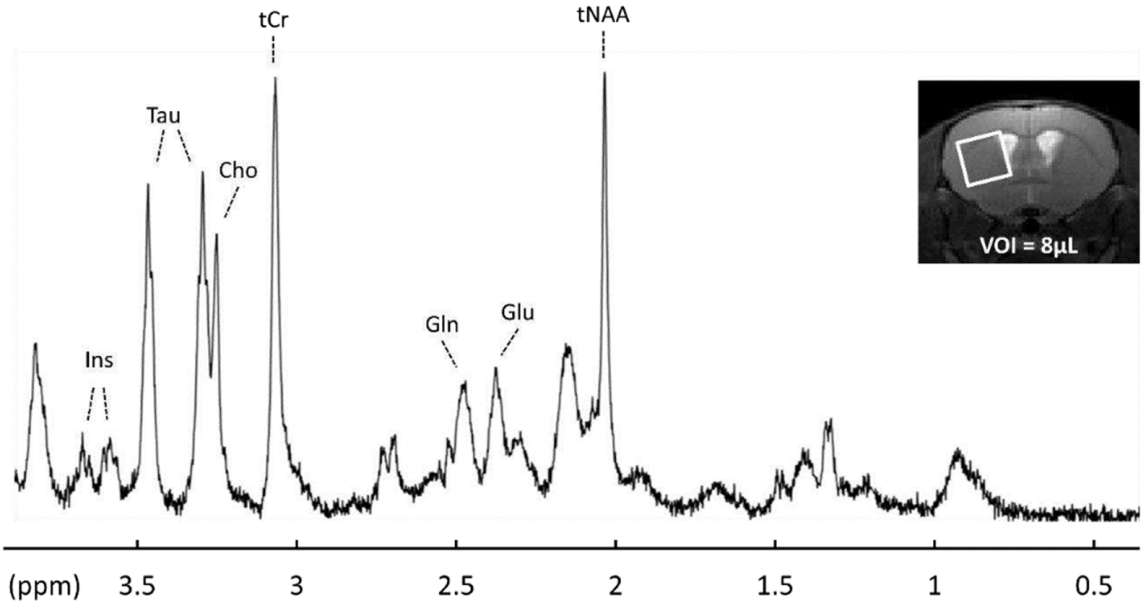


Figure II-11 : Exemple d'un spectre ^{1}H acquis dans le striatum de souris à 11,7 T

On distingue aisément les pics de résonance associés aux métabolites, parmi lesquels sont mis en avant sur cette figure le myo-inositol (Ins), la taurine (Tau), la choline (Cho), la créatine (tCr), la glutamine (Gln), le glutamate (Glu) et le N-acétyhlaspartate (tNAA).

Le N-acétylaspartate (NAA) est principalement localisé dans les cellules neuronales. Il est donc utilisé comme marqueur de l'intégrité neuronale. Le glutamate (Glu) est un neurotransmetteur majoritairement présent dans les neurones et de ce fait représente le métabolisme neuronal. Contrairement à ces métabolites, la glutamine (Gln), le myo-inositol (Ins) et la choline (Cho) sont principalement situés dans le compartiment astrocytaire. La Gln et l'Ins peuvent servir de marqueurs de la réactivité astrocytaire tandis que la Cho est plutôt un marqueur de l'intégrité de la membrane cellulaire. Bien qu'en théorie faisable, la quantification absolue de ces métabolites par spectroscopie RMN n'est pas triviale. Par conséquent, une majorité d'études utilisent une quantification relative des métabolites en normalisant les concentrations de chaque métabolite par rapport à un autre métabolite choisi comme référence grâce à sa faible variabilité inter-individus : la créatine (tCr).

II.4. IRM

Après les nombreux développements qu'a connu la RMN, en particulier en spectroscopie, l'idée de son application au domaine médical commence à voir le jour : c'est la naissance de l'IRM. En 1973, Lauterbur (Lauterbur 1973) a rapporté la première reconstruction d'une carte de densité de spin de proton en utilisant la RMN. La même année, Mansfield et Grannell (Mansfield et Grannell 1973) ont démontré indépendamment la relation de Fourier entre la densité de spin et le signal RMN acquis en présence d'un gradient de champ magnétique. Après ces premières études, l'IRM s'est rapidement développée pour devenir l'importante modalité d'imagerie qu'elle est aujourd'hui, en permettant la génération d'images de tissus vivants de façon non invasive et non destructive (Edelstein et al. 1980; Frahm et al. 1985; Kumar, Welti, et Ernst 1975; Mansfield 1977). Ainsi, la SRM et l'IRM sont devenues incontournables tant comme outil de diagnostic que de suivi de l'évolution des pathologies, particulièrement adaptées aux maladies neurodégénératives.

II.4.1. Localisation du signal

Dans la partie précédente, nous avons évoqué les principes de mesure du signal RMN. Cependant, nous nous placions alors dans le cas d'un champ B_0 unique et le signal mesuré ne contient donc pas d'information spatiale mais représente l'ensemble de l'échantillon vu par l'antenne. Pour obtenir cette information et obtenir des images en IRM il va falloir encoder spatialement le signal.

II.4.1.1. Gradients

Comme toutes les techniques de RMN, l'IRM repose sur la condition générale de résonance $\omega_0 = \gamma B_0$. Le concept essentiel derrière l'IRM est de rendre la fréquence de résonance ω_0 dépendante de la position, de sorte qu'après la transformée de Fourier les différentes fréquences correspondent à une position spatiale plutôt qu'au déplacement chimique.

Pour ce faire, on va utiliser des gradients de champ magnétique dans les trois directions cartésiennes (x,y,z) (**Fig.II.12**) afin de rendre le champ magnétique externe B_0 dépendant de la position. Usuellement on utilise des gradients constants dont l'effet sur la fréquence est linéaire. Mathématiquement un gradient orienté en z se traduit donc par :

$$G_z = \frac{dB}{dz} = cte \qquad \text{II. 4-1}$$

Où B est la force du champ magnétique et z la position. Il en va de même pour les orientations en x et y. Ainsi, l'ajout d'un gradient de champ magnétique G à un champ magnétique B_0 génère un champ total à la position p décrit par :

$$B(p) = B_0 + p.G \qquad \text{II. 4-2}$$

On peut alors réécrire la condition de résonance comme étant :

$$\omega(p) = \gamma B(p) = \gamma B_0 + \gamma p.G \qquad \text{II. 4-3}$$

Ce qui revient à dire que la fréquence de résonance devient dépendante de la position p. Les trois dimensions d'un objet 3D peuvent alors être encodées.

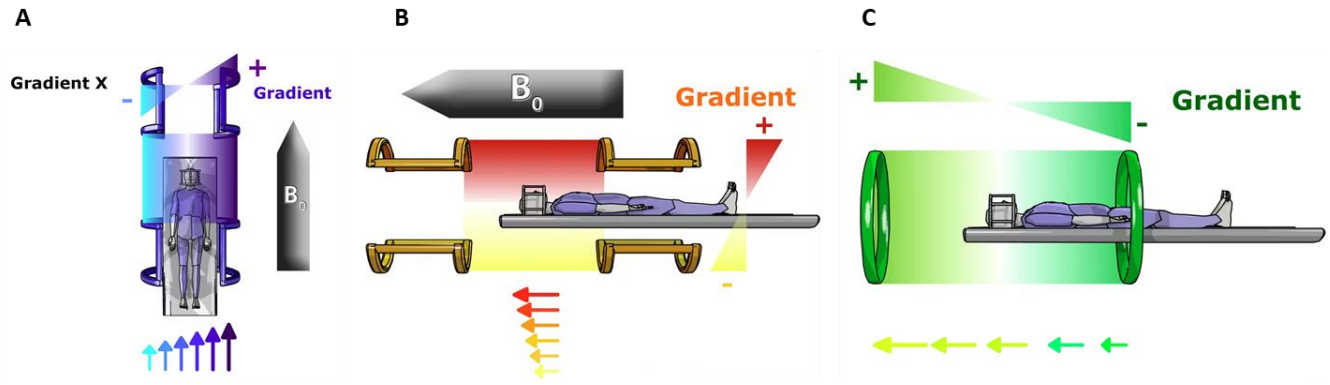


Figure II-12 : Illustration gradients de champ magnétiques x, y et z

Les différents gradients dans les directions x, y et z (A, B et C respectivement) permettent de faire varier linéairement l'intensité du champ magnétique dans chacune des trois directions. Cette variation d'intensité permet de rendre unique une zone de l'espace et donc rendre possible le codage spatial du signal

II.4.1.2. Sélection de coupe

Pour sélectionner l'épaisseur de tissu voulue, on utilise un gradient de sélection de coupe G_z qui va permettre l'excitation des protons présents dans cette seule coupe. Ce gradient de sélection de coupe va créer une correspondance entre la bande passante de l'impulsion RF et l'épaisseur de la coupe à exciter.

Cette impulsion RF est appelé champ B_1 et est appliquée en présence du champ B_0 de sorte que tous les spins soient à la même fréquence de résonance. On peut décrire l'épaisseur de coupe par la bande passante de l'impulsion RF (Δf) et la puissance du gradient dans le champ de vue (G_z) :

$$\Delta z = \frac{\Delta f}{\gamma G_z} \qquad \text{II. 4-4}$$

On peut ainsi diminuer l'épaisseur de coupe en diminuant la bande passante de l'impulsion RF ou bien en augmentant la valeur du gradient.

II.4.1.3. Encodage en phase et en fréquence

Après la sélection d'une ou plusieurs coupes, l'origine du signal doit être encodé dans les deux dimensions restantes. Le signal étant, de par sa nature complexe, défini par une fréquence et une phase, on va utiliser les gradients des directions x et y pour encoder l'espace.

Le gradient de lecture G_x, appliqué pendant l'acquisition du signal, va jouer sur la fréquence de précession des spins et fonction de leur position sur l'axe x:

$$\omega(x) = \omega_0 + \gamma x . G_x \qquad \text{II. 4-5}$$

Le gradient de phase G_y est appliqué après le gradient de sélection de coupe et avant le gradient de lecture (Brown et al. 2014). Il va induire une variation linéaire de la phase de l'aimantation (Bernstein, King, et Zhou 2004). Les spins vont chacun avoir une phase différente selon l'endroit où ils se situent :

$$\Phi(y,t) = \gamma \int_0^{\tau} G_y \, y \, dt = \gamma G_y y \, \tau \qquad \text{II. 4-6}$$

Où τ représente la durée d'application du gradient G_y.

Grâce à l'application de ces deux gradients, chaque pixel de l'image correspond à une unique combinaison fréquence/phase (**Fig.II.13**). L'acquisition IRM permet alors de remplir l'espace k, qui correspond à la transformée de Fourier bidimensionnelle de l'image.

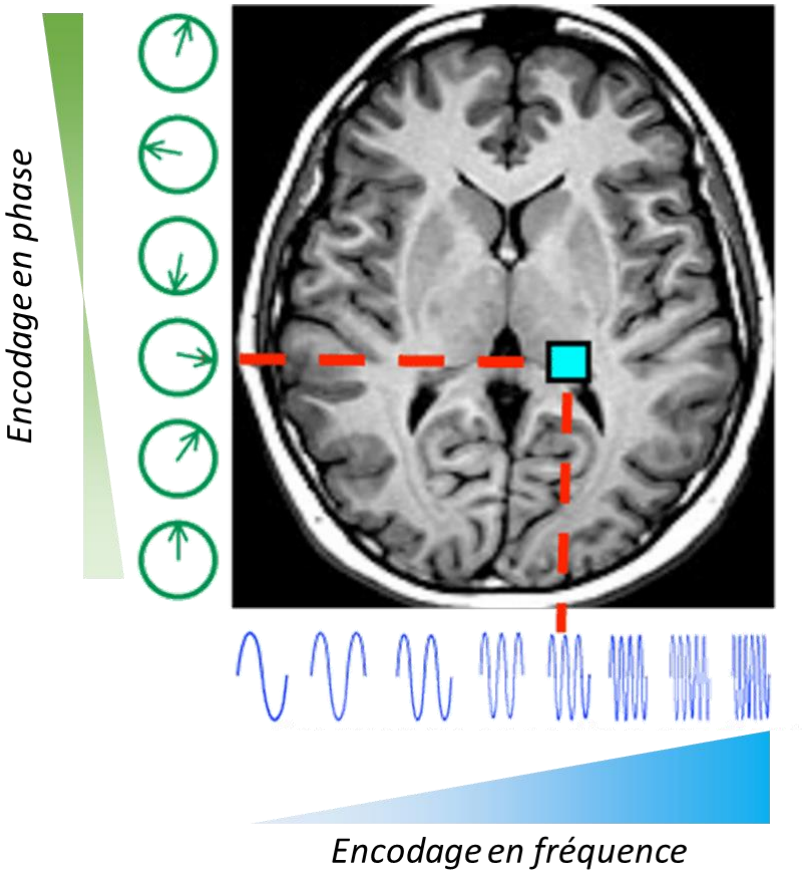


Figure II-13 : Illustration des encodages en fréquence et en phase

Grâce à l'application des gradients de phase et de fréquence (après le gradient de sélection de coupe), les spins du champ de vue d'intérêt possèdent une combinaison unique de phase/fréquence qui permet de les localiser.

II.4.2. Notion de Séquence IRM

En combinant impulsion RF et gradients de champ au cours du temps, on crée ce que l'on définit comme étant une « séquence d'acquisition ». Une séquence peut être décrite par son temps de répétition (TR) et son temps d'écho (TE). Le TR reflète le temps entre deux impulsions d'excitation RF et le TE représente le temps entre l'impulsion de 90° et le recueil de l'écho de spin. En jouant sur ces paramètres il est possible d'obtenir différentes pondérations du signal : une pondération T_1, T_2, ou encore en densité de protons (**Fig.II.14**).

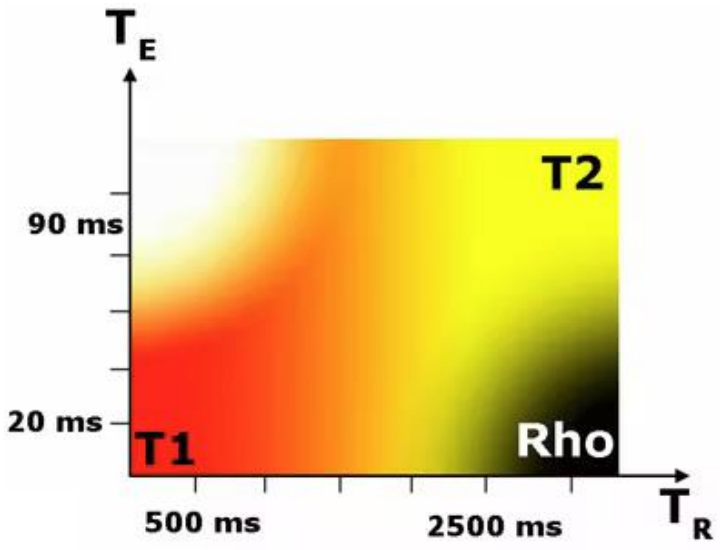


Figure II-14 Pondération du signal en fonction de TE et TR

Avec un TR court et un TE court, le signal sera pondéré en T1. A l'inverse, avec des TE et TR longs, le signal sera pondéré en T2.

Il existe de nombreuses séquences d'imagerie, cependant on peut distinguer deux grandes catégories, les séquences dites « écho de spin » (SE) et les séquences dites « écho de gradient » (GRE).

II.4.2.1. Echo de spin

Les séquences SE sont composées d'une première impulsion RF à 90° à la fréquence de Larmor qui vient basculer l'aimantation dans le plan transverse. Après l'application de cette impulsion RF, le signal diminue en suivant une exponentielle décroissante au cours du temps due à l'effet T_2* que l'on nomme *Free Induction Decay*, ou FID. Cet effet de déphasage des spins est lié aux hétérogénéités des champs d'origine moléculaire (effet T_2) et du champ B_0 à l'échelle microscopique (T_2*). En inversant l'orientation des spins à l'aide d'une impulsion 180° il devient possible de s'affranchir des effets d'hétérogénéité liés au champ B_0 : c'est l'écho de spin. L'impulsion RF 180° est appliquée au temps TE/2. Cette méthode aujourd'hui très largement répandue a été découverte pour la première fois par Hahn en 1950.

II.4.2.2. Echo de gradient

A la différence de la séquence écho de spin, la séquence en écho de gradient possède un angle de bascule α inférieur à 90° et ne nécessite pas d'utiliser une seconde impulsion de rephasage à 180°. Son petit angle de bascule engendre un retour à l'équilibre plus rapide, ce qui permet de diminuer le TR entre chaque impulsion. On a ainsi accès à des TR et TE plus courts. L'intérêt majeur d'une séquence GRE sera donc le gain de temps. Cependant, en contrepartie, le signal acquis sera d'une plus faible intensité qu'avec un angle de bascule plus grand. De plus, cette séquence est très sensible à l'effet T_2* et donc aux artefacts de susceptibilité magnétique et aux inhomogénéités de champ.

II.4.3. Pondération en diffusion

L'imagerie pondérée en diffusion trouve son origine au milieu des années 1960, lorsque Edward Stejskal et John Tanner ont publié pour la première fois leur méthode des gradients pulsés (Stejskal et Tanner 1965). Elle consiste en l'ajout de gradients de diffusion de chaque côté d'une impulsion 180° (**Fig.II.15**).

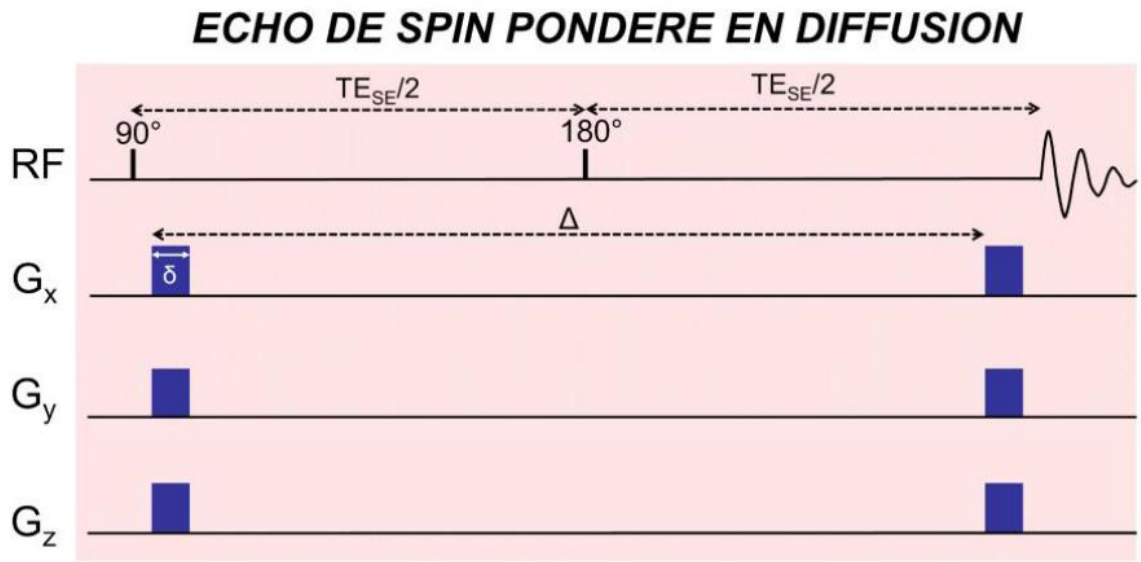


Figure II-15 : Schéma d'une séquence écho de spin pondérée en diffusion

L'aimantation est basculée dans le plan transverse par l'impulsion de 90°. Les premiers gradients de diffusion sont appliqués pendant un temps δ durant lequel ils encodent la position des spins. Les spins diffusent ensuite pendant un temps Δ avant l'application des seconds gradients de diffusion (NB : la phase étant inversée par l'impulsion 180° il n'est pas nécessaire d'inverser les seconds gradients de diffusion)

L'application du premier gradient va déphaser les spins des atomes d'hydrogènes en fonction de leur position au sein de l'échantillon. Ces spins vont ensuite diffuser pendant un temps Δ jusqu'à

l'application du second gradient de diffusion d'intensité et de durée égale à celles du premier gradient. Ce second gradient va permettre d'inverser l'encodage de phase induit par le premier gradient. Dans le cas où les spins seraient stationnaires durant le temps Δ, leur phase se retrouverait parfaitement rephasée. En revanche, dans le cas où ils se seraient déplacés, leur phase aura accumulée un déphasage supplémentaire. L'application du second gradient ne rétablira pas la phase initiale de ces spins. Par conséquent, la pondération en diffusion entraîne une diminution de l'intensité du signal recueilli d'autant plus remarquable que le déplacement moyen de l'ensemble du système sera important.

Dans les conditions biologiques, le déplacement des molécules est intrinsèquement régi par la morphologie des cellules dans lesquelles elles se trouvent. Ainsi, le déplacement moyen des molécules ne peut plus être considéré comme nul. L'observation de la diffusion des molécules renseignera donc sur la structure géométrique de la cellule dans laquelle elles se trouvent. On parle dans le cadre de mesures *in vivo* de coefficient de diffusion apparent (ADC).

On peut définir l'atténuation du signal résultant de la pondération diffusion en fonction du signal initial et du coefficient de diffusion libre D :

$$S = S_0 e^{-bD} \qquad \text{II. 4-7}$$

Où b est un facteur reflétant l'intensité et la durée des gradients de diffusion ; plus la valeur de b est élevée plus l'effet de la diffusion sera important.

La pondération en diffusion est largement utilisée pour mesurer la diffusion de l'eau. Cependant, l'eau n'est pas spécifique des différents types cellulaires. Grâce à la spectroscopie pondérée en diffusion on peut étudier les variations du signal des métabolites. Ainsi, on tire profit de la compartimentation forte des métabolites pour sonder les espaces neuronaux et astrocytaires sur la base de la diffusion des molécules qui sont majoritaires dans un type cellulaire.

En fonction du milieu dans lequel se trouve la molécule d'intérêt, la valeur de son coefficient de diffusion apparent change. Si la molécule se trouve dans un espace libre, son ADC sera élevé. A l'inverse, si la molécule se trouve dans un espace restreint son ADC sera faible. Cela a pour conséquence de plus ou moins atténuer le signal (**fig.II.16**).

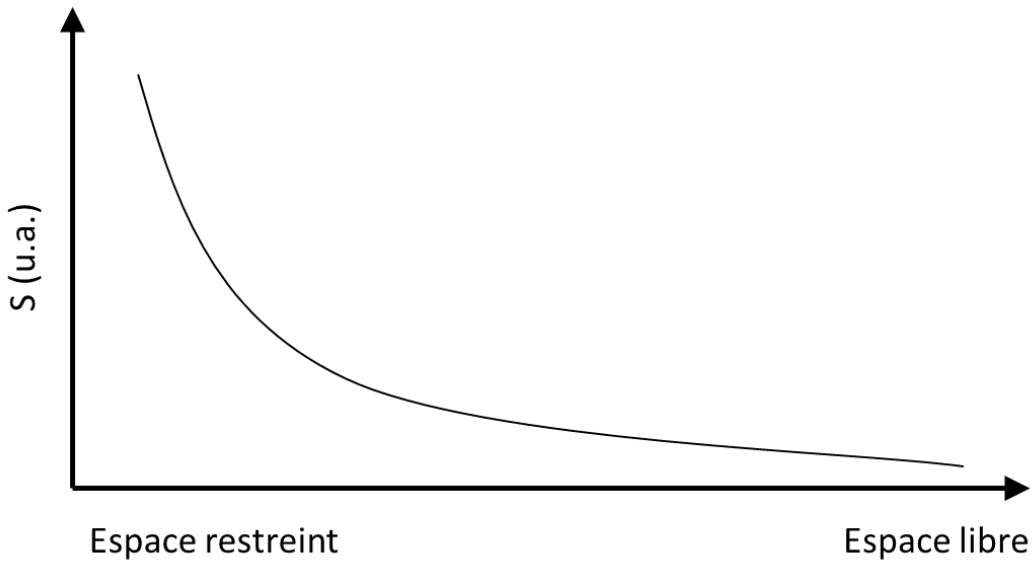


Figure II-16: Evolution de l'atténuation du signal en fonction de la diffusivité

Nous pouvons donc appliquer cette méthode dans nos futures expériences pour déterminer dans quel type de compartiment se trouve une molécule d'intérêt.

II.4.4. Séquence RMN

Les séquences de spectroscopie RMN sont utilisées pour analyser la composition chimique d'un échantillon d'intérêt. Elles présentent l'avantage majeur, par rapport à l'imagerie IRM de pouvoir détecter des métabolites présents en faibles quantités (de l'ordre du mM).

Les acquisitions spectroscopiques *in vivo* à haut champ représentent un défi technique supplémentaire. Ainsi, au lieu d'utiliser des séquences RMN conventionnelles PRESS ou STEAM (pour plus d'informations sur ces séquences le lecteur pourra se référer à l'article de Moonen et al. 1989) pour lesquelles il serait complexe d'atteindre les angles de bascule désirés, on préfèrera une séquence LASER (*Localization by adiabatic selective refocusing*). La séquence LASER consiste en une impulsion adiabatique non sélective de 90° pour l'excitation et en trois paires d'impulsions de refocalisation dans trois directions pour la localisation (**Fig.II.17**). Elle produit ainsi un profil d'excitation plus uniforme et réduit les erreurs sur le décalage du déplacement chimique grâce à la large bande passante des impulsions de refocalisation.

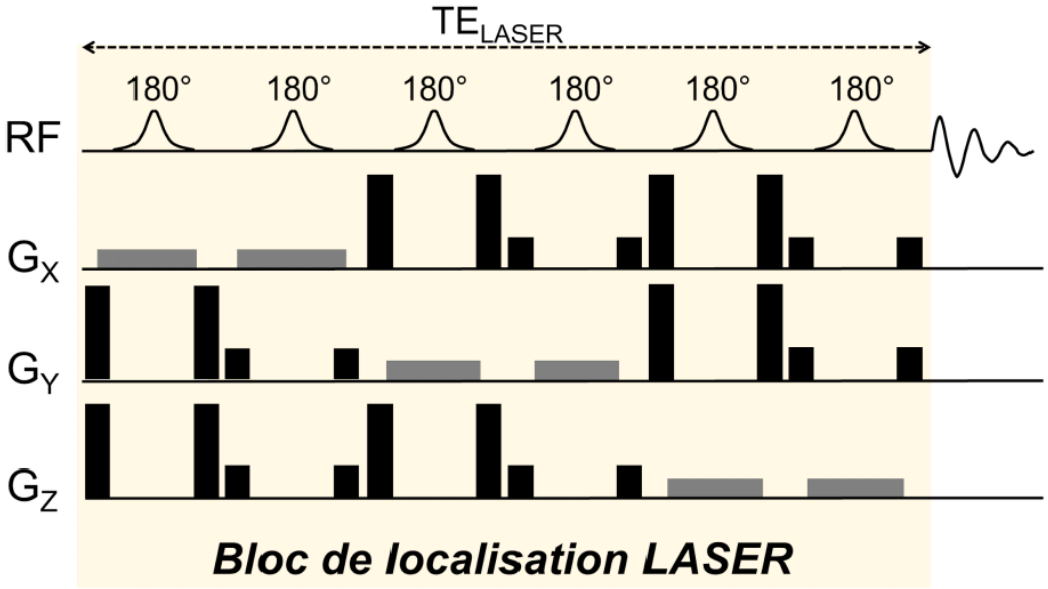


Figure II-17: Représentation schématique du bloc LASER, (Vincent 2021)

II.5. IRM vs TEP

L'IRM et la TEP sont deux modalités d'imagerie complémentaires. Elles présentent chacune des inconvénients et avantages, que nous comparons dans ce tableau. Il est évidemment impossible de faire un comparatif complet de ces méthodes mais nous pouvons au moins évoquer les points majeurs sur lesquelles ces techniques se différencient. Le point d'achoppement principal de ces méthodes reste leur différence de résolution spatiale. Celle-ci est en effet intrinsèquement limitée en TEP, allant de quelques mm en clinique au mm en préclinique. Au contraire, la résolution spatiale en IRM augmente avec le champ B_0 rendant ainsi possible l'acquisition d'images de l'ordre du mm en clinique, d'autant plus facilement que les IRM cliniques se modernisent et proposent des champs plus élevés. L'IRM est une méthode somme toute peu sensible comparée à la TEP qui permet de détecter des concentrations de radiotraceur de l'ordre du picomolaire. L'IRM offre de nombreux contrastes permettant de distinguer les structures anatomiques. La TEP quant à elle peut compter sur le développement de nombreux radiotraceurs permettant d'obtenir un contraste métabolique différent pour chacun d'entre eux. Enfin, l'un des inconvénients majeurs de la TEP est l'injection d'un radiotraceur à l'origine d'un dépôt de dose radioactive sur le patient. Bien que ces dépôts de doses soient très contrôlés, l'utilisation de la TEP pour un suivi longitudinal reste peu recommandée. L'IRM en revanche permet d'imager facilement de manière répétée un patient puisqu'elle n'engendre pas de dépôt de dose

radioactive. Néanmoins, nous pouvons souligner le fait que certaines séquences peuvent mener à un dépôt de puissance élevé engendrant une élévation de la température corporelle du patient.

	IRM (CLINIQUE)	TEP (CLINIQUE)
RESOLUTION	De l'ordre de 1-2 mm. Dépend de l'intensité du champ et des séquences utilisées, sans limite physique inhérente.	De l'ordre de 4-5 mm Non-uniforme le long du champ de vue. Intrinsèquement limitée par le libre parcours moyen des positons.
SENSIBILITE	Sensibilité aux atomes d'hydrogènes. Meilleur signal sur bruit (SNR) à haut champ.	Peut détecter des concentrations de radiotraceur de l'ordre du picomolaire.
SPECIFICITE	Choix du contraste selon la séquence utilisée. Classiquement : contraste T_1 ou T_2	Spécificité définie par le radiotraceur utilisé.
CHAMP DE VUE	Limité par le temps d'acquisition. Il est possible d'acquérir une ou plusieurs coupes 2D. On peut également faire des acquisitions 3D.	Acquisition corps entier possible, par des blocs définis par la couverture axiale du détecteur, généralement 15-25cm.
TEMPS D'ACQUISITION	Varie considérablement selon la séquence. Inversement proportionnel à la résolution spatiale.	Typiquement 2 min par bloc, 10min pour le cerveau.
RISQUES	Dépôt de puissance trop élevé menant à une élévation de température. Pour éviter cela, les scanners IRM sont équipés de programmes qui calculent le dépôt de puissance et alertent l'expérimentateur en cas de dépassement de limite.	Une dose de radiation ionisante est reçue par le patient, par le radiotraceur lui-même.

Tableau II-2 : Comparaison des principales caractéristiques IRM et TEP

Dans ce chapitre, nous avons discuté des principales modalités d'imagerie que sont l'imagerie TEP et IRM. Ces modalités, bien que ne reposant pas sur les mêmes principes physiques, sont toutes les deux

utilisées au niveau clinique pour suivre l'évolution de maladies neurodégénératives. D'une part pour permettre d'évaluer les diminutions de consommation d'énergie des cellules cérébrales, d'autre part pour évaluer les atteintes de la maladie sur les structures cérébrales, comme des atrophies par exemple.

Cependant, à leur niveau ces méthodes présentent des avantages et des inconvénients qui rendent incomplet le suivi des maladies neurodégénératives (**Tableau II.2**). En effet, l'IRM propose une excellente résolution spatiale mais une faible capacité à imager un métabolite d'intérêt et mesurer sa concentration. En revanche, l'imagerie TEP quant à elle, peut être spécifique d'une molécule et étudier son assimilation et dégradation dans une région d'intérêt mais propose une faible résolution spatiale écartant ainsi l'évaluation du métabolisme dans les structures de petite taille. En confrontant ces deux modalités d'imagerie on comprend ainsi le besoin d'une imagerie métabolique combinant les avantages de ces méthodes, qui fera l'objet du **chapitre IV**. Il est néanmoins important de se pencher sur l'étude du métabolisme énergétique et comment son altération en fait un marqueur des maladies neurodégénératives. Nous discutons de ce point essentiel dans le **chapitre III**.

Chapitre III : Le métabolisme énergétique dans les maladies neurodégénératives

Comme discuté dans les chapitres précédents, un des objectifs de ce travail de thèse est de développer une méthode alternative à l'imagerie TEP pour étudier le métabolisme énergétique sans avoir recours à des radiotraceurs et offrant une bien meilleure résolution spatiale pour rendre son utilisation possible dans des études précliniques avec des modèles rongeurs. Les principes mis en œuvre et les détails méthodologiques seront décrits dans les chapitres suivants. Dans ce chapitre, nous présentons le contexte pathologique dans lequel s'ancre le développement de l'IRM-CEST pour le développement et la validation de biomarqueurs d'intérêts. Pour cela nous discuterons tout d'abord brièvement de la neurodégénérescence prenant place en amont des symptômes. Puis nous nous intéresserons plus particulièrement au métabolisme énergétique et à son altération dans les maladies neurodégénératives. Nous devrons bien sûr nous limiter aux caractéristiques générales de ces altérations au vu de la grande diversité des maladies neurodégénératives. Nous discuterons ensuite de l'apport des outils d'imagerie, comme la TEP et l'IRM, à l'étude de ces maladies. Enfin, nous parlerons de la nécessité de développer de nouveaux outils pour mieux détecter et suivre l'évolution de ces maladies, notamment pour la caractérisation des modèles animaux.

III.1. NEURODEGENERESCENCE

Notre cerveau, en vieillissant, est soumis au processus de neurodégénérescence. C'est un processus altérant le fonctionnement normal du cerveau. Il va progressivement détériorer la structure et les fonctions neuronales. Cette neurodégénérescence peut même conduire à la mort cellulaire. C'est le cas des maladies neurodégénératives. A ce jour on ne connaît pas de moyen de limiter la dégénération progressive des neurones. Ces maladies, dont la maladie d'Alzheimer (MA), la maladie de Parkinson (MP), et la maladie de Huntington (MH), sont donc considérées comme incurables. La recherche se penche depuis longtemps sur les phénomènes mis en jeu dans l'apparition de ces maladies et a pu montrer que les principaux facteurs de la neurodégénérescence étaient la neuro-inflammation et le stress oxydatif (Pereira et al. 2021; Singh et al. 2019; Stephenson et al. 2018), facteurs que nous détaillerons par la suite.

III.1.1. Mécanismes généraux

Dans le cadre de cette thèse nous ne rentrerons pas dans le détail des mécanismes sous-tendant l'apparition des maladies car ce n'est pas le cœur du sujet de cette thèse. Le lecteur est cependant invité à lire l'excellente revue de Dugger et Dickson 2017 pour plus de détails.

Les maladies neurodégénératives peuvent être causées par des mutations génétiques. Dans certaines maladies, comme la MH ou l'ataxie spinocérébelleuse, on retrouve une caractéristique commune aux gènes mutés : ils possèdent une répétition du triplet CAG. Le CAG code pour la glutamine et sa répétition engendre un tract de polyglutamine. Les répétitions de polyglutamine provoquent généralement une pathogénèse. Les résidus de glutamine induisent, au travers de nombreux processus, une protéine trop longue dont la mauvaise conformation et/ou la non dégradation peut être toxique (Thompson 2008).

Plusieurs maladies sont associées une agrégation de protéines mal conformées, que l'on peut classifier selon la protéine à l'origine de la pathologie :

- α-synucléine

  L' α-synucléine est une protéine qui peut s'agréger et former des fibrilles insolubles que l'on retrouve dans les corps de Lewy. Ces agrégats sont caractéristiques de la maladie de Parkinson. On les retrouve aussi dans les plaques amyloïdes de la MA.
- tau

  la protéine tau, lorsqu'elle est hyperphosphorylée, voit son affinité pour les microtubules diminuée ce qui entraîne l'assemblage d'enchevêtrements neurofibrillaires, enchevêtrements impliqués dans la pathogénèse de la MA et autres tauopathies (Tremblay et al. 2017).
- β-amyloïde

  la protéine β-amyloïde est le composant principal des plaques amyloïdes de la MA.
- Huntingtine mutée (mHTT)

  La huntingtine est une protéine qui possède entre 6 et 36 glutamines. Dans sa forme mutée, elle contient entre 37 et 155 glutamines. Cette répétition du triplet CAG va causer l'agrégation de la protéine. Cette agrégation entrave les fonctions normales de la protéine et est à l'origine de la maladie de Huntington.

III.1.2. Dégradation des protéines

Les agrégats de protéines se forment dans différentes structures et donnent lieu à différentes maladies. Par exemple, des agrégats dans le cytosol sont retrouvés dans la MP et la MH. Dans l'ataxie spinocérébelleuse de type 1 ils se trouvent dans le noyau. Enfin, on en retrouve aussi dans le milieu

extracellulaire, c'est le cas de la β-amyloïde dans la MA, et dans le réticulum endoplasmique (neuroserpine). Il existe deux voies principales permettant d'éliminer ces protéines agrégées dans les cellules eucaryotes.

III.1.2.1. Système ubiquitine-protéasome

Le système ubiquitine-protéasome est composé, comme son nom l'indique, de l'ubiquitine, petite protéine présente dans toutes les cellules des eucaryotes, et d'un protéasome. Les protéasomes sont des complexes multiprotéiques en forme de tonneau qui dégradent principalement les protéines nucléaires et cytosoliques à courte durée de vie. Le système ubiquitine-protéasome est également important pour la libération des protéines mal repliées du réticulum endoplasmique. Elles sont rétrotransférées dans le cytosol, où elles sont dégradées par les protéasomes. La plupart des protéines sont ciblées pour la dégradation protéasomique après avoir été modifiées de manière covalente par l'ubiquitine, qui est conjuguée par son extrémité carboxy, généralement à des groupes ε-amino de résidus lysine. Cette conjugaison fait généralement intervenir trois types d'enzymes : E1 (enzyme activant l'ubiquitine) hydrolyse l'ATP et forme un conjugué lié à un thioester entre elle-même et l'ubiquitine ; E2 (enzyme conjuguant l'ubiquitine) reçoit l'ubiquitine de E1 et forme un intermédiaire thioester similaire avec l'ubiquitine ; et E3 (ubiquitine ligase) se lie à la fois à E2 et au substrat, et transfère l'ubiquitine au substrat.

De nombreuses protéines à l'origine de protéinopathies (en particulier celles qui présentent des expansions de polyglutamine et les α-synucléines) dépendent en partie de la voie ubiquitine-protéasome pour leur élimination (Ravikumar, Duden, et Rubinsztein 2002; Webb et al. 2003). Dans le cas où le système ubiquitine-protéasome ne permettrait plus d'éliminer les protéines mal conformées, ces protéines vont pouvoir s'agréger au niveau intracellulaire. On ne sait pas encore si cette agrégation est une cause ou une conséquence de la neurodégénérescence (Rubinsztein 2006).

III.1.2.2. Autophagie

Les lysosomes des mammifères peuvent dégrader des substrats tels que des complexes protéiques et des organelles. La dégradation en masse des protéines cytoplasmiques ou des organelles est en grande partie médiée par la macroautophagie, un processus généralement appelé autophagie. Ce processus implique la formation de structures à double membrane appelées autophagosomes, ou vacuoles autophagiques. Celles-ci fusionnent avec les lysosomes pour former des autophagolysosomes, et leur contenu est ensuite dégradé par des hydrolases lysosomales acides. Les autophagosomes sont générés par l'élongation de petites structures membranaires appelées précurseurs d'autophagosomes. Cependant, l'origine ou les origines précises de ces structures n'ont pas encore été élucidées dans les cellules de mammifères. La macroautophagie peut être induite dans des conditions de stress

physiologique telles que la carence en nutriments ou l'hypoxie. Elle est régulée par plusieurs protéines kinases, la mieux caractérisée étant la cible mammalienne de la rapamycine (mTOR).

Les mutations d'expansion de polyglutamine, telles que celles observées dans la huntingtine mutante et l'ataxine 3 (causant l'ataxie spinocérébelleuse de type 3, SCA3), les formes mutantes d'α-synucléine et différentes formes de tau dépendent fortement de la voie de la macroautophagie pour leur élimination (Iwata et al. 2005; Qin et al. 2003; Shibata et al. 2006). Ainsi, en inhibant cette voie alternative à celle du système ubiquitine-protéasome pour la dégradation de ces agrégats, une étude a pu montrer que chez des souris saines cela conduisait à la formation d'agrégats intraneuronaux menant à une dégénérescence (Rubinsztein 2006).

III.1.3. Mort cellulaire programmée

La mort cellulaire programmée est un processus intracellulaire qui va engendrer la mort d'une cellule, sous n'importe quelle forme (Engelberg-Kulka et al. 2006). Dans les maladies neurodégénératives, ce processus est activé et mène sur le long terme à une neurodégénérescence (Vila et Przedborski 2003). Brièvement, on peut évoquer les principaux types de mort cellulaire programmée, à savoir : l'apoptose et l'autophagie.

L'apoptose implique une série de réactions biochimiques menant à une morphologie cellulaire et une mort caractéristique de ce processus. L'apoptose peut être déclenchée de façon intrinsèque ou extrinsèque.

- La voie extrinsèque est activée lorsque des facteurs extérieurs à la cellule activent les récepteurs liés à mort cellulaire situés à la surface de la cellule, engendrant ainsi l'activation d'enzymes (caspases) et donc la mort cellulaire.
- La voie intrinsèque quant à elle résulte de la libération mitochondriale du cytochrome *c* ou de la dysfonction du réticulum endoplasmique, conduisant dans les deux cas à l'activation d'une caspase.

L'autophagie peut aussi être un moyen de tuer une cellule. Bien qu'elle soit principalement utilisée pour éliminer des composants cellulaires indésirables, cela peut mener à la destruction de la cellule.

III.2. ALTERATIONS DU METABOLISME ENERGETIQUE

Comme nous l'avons expliqué dans le premier chapitre, le métabolisme du glucose permet une production rapide d'énergie via la glycolyse et l'utilisation du lactate/pyruvate par la mitochondrie et participe également via la voie des pentoses phosphates à la biosynthèse de nucléotides et à la génération de NADPH, agent antioxydant. On comprend alors l'impact que peut avoir son altération sur nos cellules.

III.2.1. Hypométabolisme

L'une des caractéristiques communes à la plupart des maladies neurodégénératives et qui nous intéresse particulièrement dans ce travail de thèse est l'utilisation réduite du glucose, ou hypométabolisme du glucose. Les premières études menées sur ce sujet remontent aux années 1980, où le métabolisme du glucose dans le cerveau de patients atteints d'Alzheimer a été évalué par différence artérioveineuse (Hoyer, Oesterreich, et Wagner 1988; Lying-Tunell et al. 1981; Ogawa et al. 1996). Par la suite, de nombreuses études ont montré que cet hypométabolisme du glucose était présent bien avant les dysfonctions cognitives ou les altérations pathologiques que l'on retrouve chez les patients de la MA (Chen et Zhong 2013; Costantini et al. 2008; Cunnane et al. 2011, 2016). Cela fait de l'hypométabolisme du glucose un biomarqueur pré-symptomatique du développement de la MA (**Fig.III.1**). En fait, l'hypométabolisme est même un biomarqueur robuste puisque des études ont pu comparer des patients de la MA avec des patients ayant une déficience cognitive légère et montrer que parmi les patients atteints de déficience cognitive légère ceux qui présentaient un hypométabolisme régional de glucose ont commencé à présenter les signes de personnes MA (Drzezga et al. 2003; Mosconi, Pupi, et De Leon 2008). Chez des patients atteints de la MP, même à un stade précoce, des études ont, de manière similaire, trouvé une hypoperfusion et un hypométabolisme du glucose (Berti et al. 2012; Borghammer et al. 2010; Borghammer 2012; Dunn et al. 2014; Y. Xu et al. 2015). Ainsi, de faibles niveaux de CMR_{Glc} dans les lobes frontaux et dans le putamen caudé sont de bons indicateurs de la sévérité et de la progression de la maladie et peuvent être pré-symptomatiques (Y. Xu et al. 2015).

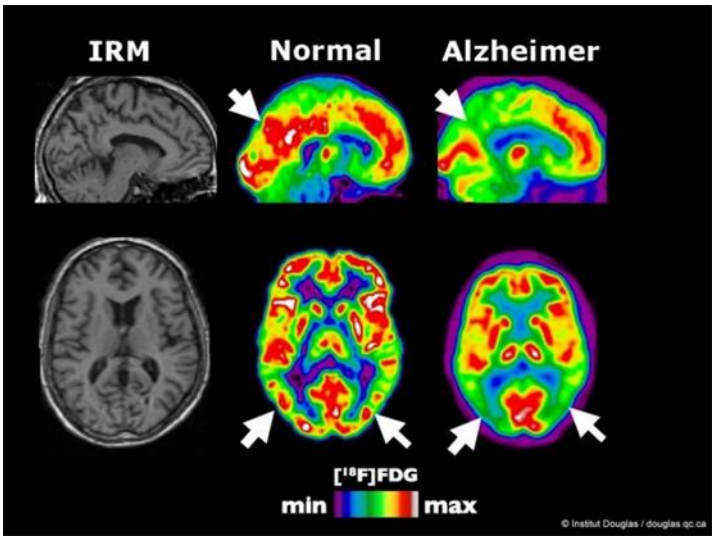


Figure III-1 : Hypométabolisme chez un patient atteint d'Alzheimer (Beneduce et al. 2020)

On observe en ^{18}F-FDG-TEP une réduction du métabolisme du glucose dans les aires temporales postérieures et les aires pariétales, touchées dans la MA.

III.2.2. Neuro-inflammation

Dans la plupart des maladies neurodégénératives, on trouve, en plus de la présence de la microglie (voir chap.1), des niveaux accrus de cytokines pro-inflammatoires dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) ainsi qu'une augmentation des marqueurs inflammatoires dans les tissus périphériques (Morales et al. 2014). Dans la MA par exemple, en plus d'un effet neurotoxique direct, la microglie et les astrocytes peuvent promouvoir la déposition de plaques Aβ lorsqu'ils sont en conditions inflammatoires (Guo et al. 2002). Cependant, les cellules endothéliales et les cellules sanguines infiltrées contribuent aussi à la neuro-inflammation, en particulier quand la barrière hémato-encéphalique (BHE) est touchée (dégâts mécaniques ou biochimiques) (DiSabato, Quan, et Godbout 2016; Heneka, Kummer, et Latz 2014). Enfin, la libération de molécules pro-inflammatoires peut aussi engendrer un dysfonctionnement synaptique, une mort neuronale et une inhibition de la neurogénèse (Lyman et al. 2014).

III.2.3. Résistance à l'insuline

La résistance à l'insuline et la neuro-inflammation sont des caractéristiques pathologiques interconnectées et toutes deux sont considérées, directement ou indirectement, comme les deux principaux responsables des perturbations synaptiques et du processus neurodégénératif (Ferreira et al. 2014). La résistance à l'insuline du cerveau se produit par la libération de cytokines pro-

inflammatoires dans le cerveau. Les cytokines pro-inflammatoires comme le TNF-α, l'IL-6, l'IL-12 et l'IL-1β produites en périphérie peuvent traverser la BHE, ce qui entraîne une neuro-inflammation (Craft 2007). Les cytokines pro-inflammatoires et leur activation ultérieure par liaison au récepteur (Zunszain et al. 2011) conduisent à l'activation de kinases activées par le stress (Holland 1999; Kang et Tang 2012; Li et al. 2008). Ces kinases de stress rendent la signalisation de l'insuline médiée par l'un des récepteurs de l'insuline (IRS-1) dysfonctionnelle, entravant ainsi l'action de l'insuline (Gual, Le Marchand-Brustel, et Tanti 2005; Vinayagamoorthi, Bobby, et Sridhar 2008). Par conséquent, les effets protecteurs de l'insuline sont perdus. Ceci est particulièrement délétère dans le cas de la MA.

La dérégulation de la sensibilité à l'insuline au niveau périphérique ou la résistance à l'insuline dans certaines régions du cerveau sont les principaux responsables de l'apparition tardive de maladies neurodégénératives comme la MA (de la Monte 2009). L'insuline étant impliquée dans des processus importants de survie cellulaire, d'activités métaboliques et de plasticité neuronale, elle exerce également une action neuroprotectrice, contribuant ainsi à l'amélioration des fonctions cognitives et du processus d'apprentissage (McNay et al. 2010). Cependant, la résistance à l'insuline amplifie les effets néfastes tels que le stress oxydatif, la production de cytokines et le processus apoptotique. Ces phénomènes sont à l'origine du processus neurodégénératif qui entraîne des troubles de la mémoire et du comportement cognitif (de la Monte 2009). La résistance à l'insuline, liée à l'hyperglycémie, au stress oxydatif et à la neuro-inflammation contribuent pleinement à l'hypofonctionnement cognitif et aux symptômes de la démence (de la Monte 2012). Des facteurs aggravant comme l'obésité peuvent venir appuyer cette déficience cognitive et la démence (M. de la Monte 2012).

On a constaté que l'altération de la signalisation de l'insuline dans les régions du cerveau est associée à certaines maladies neurodégénératives (Schubert et al. 2004). Ainsi, la signalisation neuronale du récepteur de l'insuline joue un rôle majeur dans l'homéostasie énergétique, la reproduction et le développement des maladies neurodégénératives (Plum, Schubert, et Brüning 2005). Les perturbations de la signalisation de l'insuline ont également un rôle pathogène dans la MP (Kim et al. 2014) et la MH (Naia et al. 2015). Il a aussi été montré que l'altération de la signalisation de l'insuline jouait un rôle mineur dans les cas de dépression, de schizophrénie, et de psychose, etc…(Vancampfort et al. 2015).

La restauration de la signalisation du récepteur de l'insuline est ainsi une piste de traitements de certaines maladies neurodégénératives, comme la MP (Pang et al. 2016) ou la MH (Naia et al. 2015).

III.2.4. Hyperactivité neuronale

Si les phénomènes d'hyperactivité et d'hypométabolisme peuvent sembler mutuellement exclusifs, ils sont en fait étroitement liés dans des conditions pathologiques. Pour illustrer l'interdépendance de ces phénomènes, prenons l'exemple du potentiel membranaire de repos (Em), l'un des principaux paramètres neuronaux qui sous-tendent l'excitabilité et qui déterminent la quantité de signaux excitateurs dont le neurone a besoin pour s'activer. Em est déterminé par le gradient transmembranaire des ions K+ et Na+ qui est principalement établi par la K+/Na+-ATPase (voir **chap.1**). La déplétion en ATP conduit invariablement à une dépolarisation de la membrane (Santos, Moreno, et Carvalho 1996) qui entraîne une hyperexcitabilité postsynaptique neuronale. Cependant, la privation d'énergie entraîne également une altération de la signalisation synaptique, un phénomène qui sert à diminuer l'excitabilité du réseau en réduisant l'efficacité de la transmission excitatrice (bien que l'efficacité de la transmission inhibitrice puisse également être diminuée). Par conséquent, l'effet net de l'hypométabolisme sur l'activité du réseau dépendrait de l'interaction de processus parallèles pré- et post-synaptiques. Pour un exemple clair de la façon dont l'hyperactivité du réseau résulte de l'inhibition du métabolisme du glucose, le lecteur pourra se référer aux travaux de Samokhina (Samokhina et al. 2017). L'imagerie de l'hyperactivité neuronale en elle-même reste un défi à relever. Il existe à ce jour des outils moléculaires permettant d'imager et d'enregistrer l'activité neuronale. Néanmoins, l'utilisation de telles méthodes ne permettent pas encore de caractériser la pathogénèse et d'en faire un biomarqueur pertinent (Wang, Kim, et Ting 2019).

III.2.5. Dysfonctionnement mitochondrial

Bien qu'on observe aujourd'hui une diminution de l'assimilation de glucose, on ne sait pas vraiment quel impact cela a sur la fonction mitochondriale. En effet, la part du pyruvate provenant de la glycolyse et utilisée pour générer de l'ATP via la mitochondrie est encore méconnue. Samokhina, dans une étude portant sur la glycolyse cérébrale a ainsi montré, dans le cas d'expériences *ex-vivo* et *in vivo* qu'une portion non négligeable du pyruvate était convertie en lactate ensuite libéré dans l'espace extracellulaire (Samokhina et al. 2017). D'autres études soutiennent un efflux de lactate dans le cerveau pendant une activité (pour une analyse plus détaillée, voir les revues de Dienel 2012, 2017). Récemment, Gebril et collaborateurs ont quantifié par ^{13}C les flux métaboliques du glucose dans les neurones et pu démontré que seule une fraction du glucose est métabolisée en pyruvate (62%) et qu'une partie de celui-ci uniquement est métabolisé par les mitochondries. Bien sûr ces résultats ne peuvent pas être transposés directement *in vivo*. Néanmoins, la diminution de l'assimilation du glucose n'engendre pas forcément une dysfonctionnement mitochondrial mais reflète plus certainement un dysfonctionnement au niveau de la glycolyse (Gebril et al. 2016). Evidemment, une glycolyse

chroniquement détériorée conduirait inévitablement à une déficience mitochondriale et à une privation d'énergie dans les stades ultérieurs de la maladie.

La question reste cependant toujours ouverte concernant l'évolution de la diminution de la consommation de glucose et le dysfonctionnement mitochondrial : évoluent-ils de façon parallèle ou bien y a-t-il un intervalle de temps entre ces deux processus.

III.2.6. Stress oxydatif

Le stress oxydatif est une réaction en cascade caractérisée par une augmentation significative de la quantité de composants oxydés. Il est un mécanisme essentiel du processus de vieillissement qui peut causer des dommages directs au système nerveux central. En effet, les neurones présentent un risque élevé de stress oxydatif en raison de leur forte demande en oxygène et de leurs niveaux relativement faibles d'antioxydants (Cho et al. 2016; Di Pietro et al. 2014; Feuerstein et al. 2016). Sous conditions physiologiques normales, des molécules instables et potentiellement cytotoxiques, appelées radicaux libres ou espèces réactives de l'oxygène, produites par l'organisme, jouent un rôle essentiel dans la défense de l'hôte, la transcription des gènes et la régulation de la plasticité synaptique et la mort cellulaire programmée (apoptose) (Brieger et al. 2012). Des petites quantités de radicaux libres ne causent pas de dommages, mais se coordonnent avec le système antioxydant de l'organisme pour maintenir une homéostasie normale, impliquant un équilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants.

Cependant, le stress oxydatif est une caractéristique importante que l'on retrouve dans de nombreuses maladies neurodégénératives. Il est relié au développement de la mort neuronale et de la dysfonction neuronale, ce qui suggère qu'il joue un rôle majeur dans ces maladies. L'origine du stress oxydatif varie et il peut exister différentes sources de radicaux libres responsables de ce stress. Parmi ces sources on peut citer le dysfonctionnement mitochondrial, l'inflammation, un défaut de métabolisme du glucose, une toxicité induite par des protéines mal conformées.

Les altérations évoquées précédemment sont fortement interconnectées et créent un terrain propice à la progression de la maladie. En effet, dans la majorité des maladies neurodégénératives des déficiences dans les principales voies du métabolisme énergétique/oxydatif ont été rapportées (Blass 2001).

Une hypothèse sur le développement de l'hypométabolisme dans les maladies neurodégénératives a été proposée par Zilberter et Zilberter (2017). Cette hypothèse est résumée figure **III.2**. Elle permet de récapituler la place des différentes altérations du métabolisme dans la progression de la maladie. On

peut ainsi remarquer les atteintes concernant le métabolisme du glucose et le déficit énergétique, qui ne font qu'empirer à mesure que la maladie progresse.

Dans l'optique de rechercher des biomarqueurs permettant de diagnostiquer/suivre les maladies neurodégénératives, il devient pertinent de pouvoir obtenir des informations biologiques relatives aux différentes étapes présentées dans cette figure. Nous discuterons donc des apports des outils d'imagerie à l'étude de ces étapes, avec une mise en valeur concernant l'utilisation du glucose.

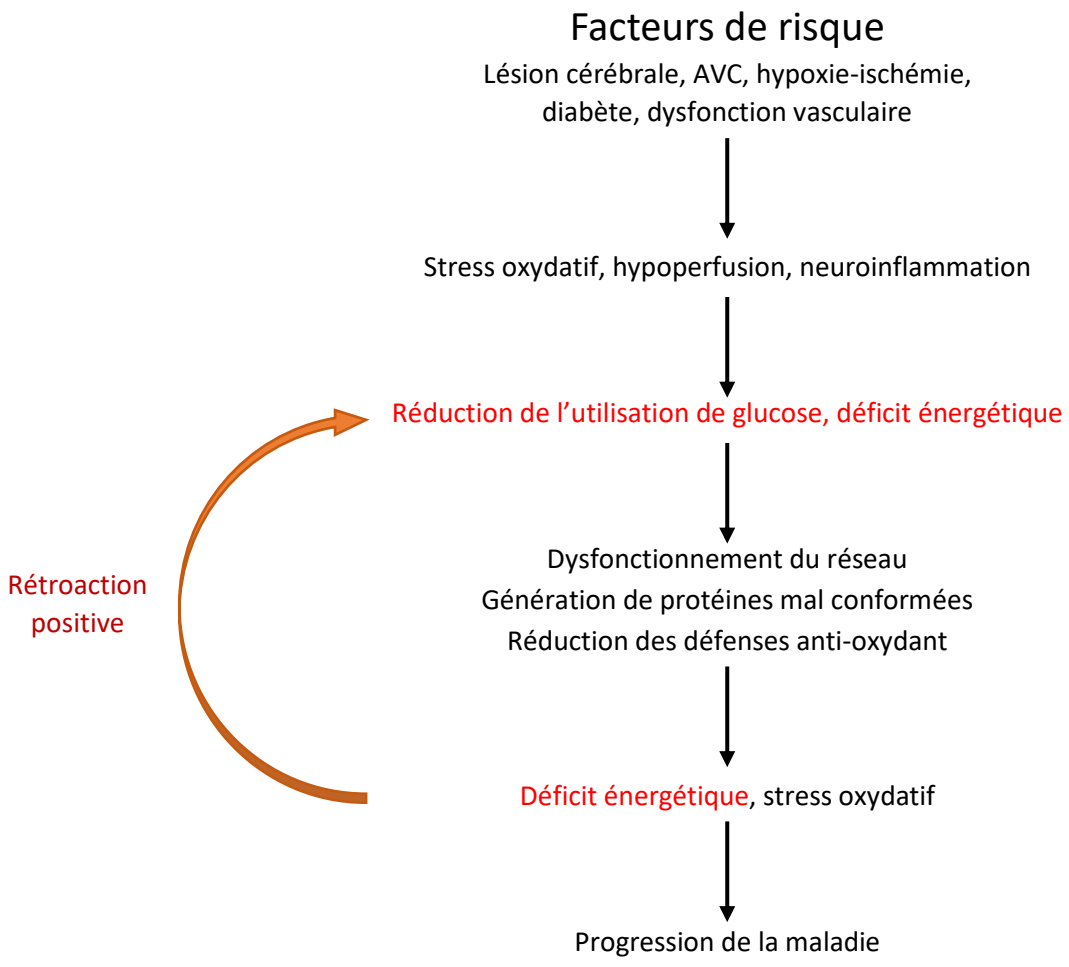


Figure III-2: Hypothèse métabolique de l'initiation des maladies neurodégénératives

III.3. APPORT DES OUTILS D'IMAGERIE A L'ETUDE DES MALADIES NEURODEGENERATIVES

III.3.1. TEP

L'imagerie TEP est l'imagerie de référence pour la mesure du métabolisme du glucose grâce à l'utilisation du ^{18}F-FDG et est donc très largement utilisée pour détecter des altérations dans le métabolisme énergétique (voir **chap.2**), notamment dans le cadre des maladies neurodégénératives. Il existe cependant aujourd'hui d'autres radiotraceurs utilisés en TEP utilisés pour le pronostic de certaines maladies neurodégénératives, comme la MA par exemple.

III.3.1.1. TEP – amyloïde

Les agrégats de protéines β-amyloïde lorsqu'ils ne sont plus correctement éliminés par l'autophagie ou le système ubiquitine-protéasome, forment ce qu'on appelle des plaques amyloïde (ou plaques Aβ), caractéristiques de la MA. Des radiotraceurs spécifiques de ces plaques ont ainsi été développés afin de pouvoir évaluer *in vivo* les dépôts de plaques β-amyloïde dans le cerveau (Villemagne et Rowe 2010). Les premières études chez l'homme utilisaient un composé à base de ^{11}C (Klunk et al. 2004) mais sa faible demi-vie a imposé le développement de nouveaux traceurs basés cette fois sur le ^{18}F. Ces composés montrent une forte corrélation avec les dépôts de plaques Aβ (Rowe et al. 2008; Serdons et al. 2009; Wong et al. 2010).

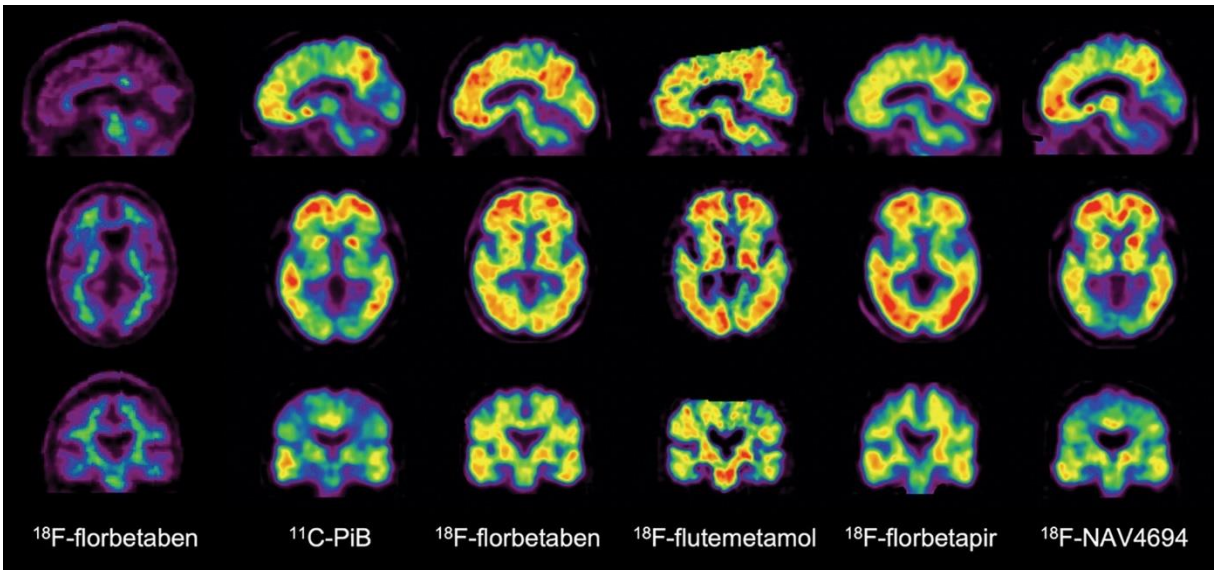


Figure III-3: Imagerie TEP-amyloïde, exemple de traceurs existants (Villemagne et al. 2021)

Images TEP sagittales, axiales et coronales représentatives d'un patient témoin sans troubles cognitifs (colonne de gauche) et de cinq patients différents atteints de la maladie d'Alzheimer (AD). De prime abord, l'imagerie au ^{18}F-florbetaben chez le patient témoin sans troubles cognitifs montre une rétention non spécifique du traceur dans la substance blanche. Tous les patients atteints de la MA présentent des charges élevées en Aβ, ce qui se traduit par une rétention marquée du traceur dans les zones corticales et sous-corticales de la substance grise. Les différents traceurs utilisés, bien que présentant une capacité à se lier à la matière blanche variable, montrent tout de même des résultats proches dans les zones affectées par la MA.

III.3.1.2. TEP – tau

La protéine tau est fortement associée à la cognition et aux lésions neuronales. De nombreux progrès ont été fait ces dernières années dans le développement de radiotraceurs spécifiques de la protéine tau (Chien et al. 2013; Mueller et al. 2017; Walji et al. 2016). Leur champ d'application est pratiquement le même que pour les radiotraceurs Aβ, si ce n'est que la progression de la maladie, son stade et la cognition sont mieux corrélés à tau qu'aux plaques Aβ.

III.3.1.3. Neuro-inflammation

La plupart des études TEP sur la neuro-inflammation essayent de visualiser la réactivité microgliale, mesurée par un niveau d'expression de la protéine TSPO (*translocator protein*) plus élevé (ce qui est aussi le cas avec la réactivité astrocytaire (Lavisse et al. 2012)). De nombreux radiotraceurs ont là aussi été développé, à base de ^{11}C ou de ^{18}F (Boche et al. 2019; Varrone et al. 2015). En se liant avec des enzymes particulières, qui sont surexprimées lors d'une réactivité microgliale et astrocytaire, ces radiotraceurs permettent d'obtenir de l'information sur la neuro-inflammation. Couplé à l'imagerie TEP des plaques Aβ, cela permet d'apporter des éléments supplémentaires concernant l'état général du cerveau dans la MA.

L'imagerie TEP a également mis en évidence une augmentation des niveaux de réactivité de la microglie dans le striatum de patients MH, en corrélation avec la probabilité d'apparition de la maladie et la sévérité clinique (Politis et al. 2010).

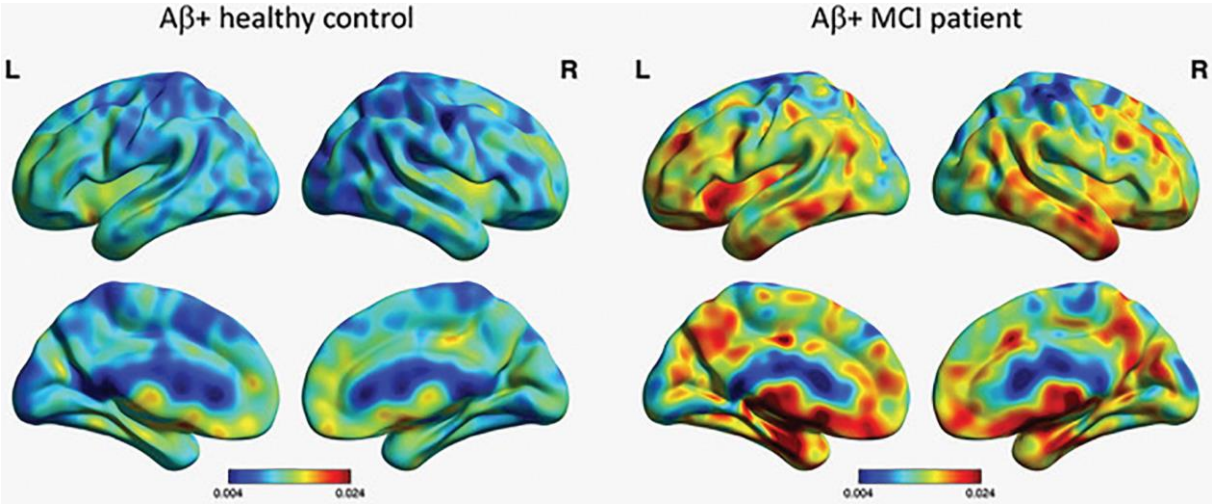


Figure III-4: Imagerie de l'astrocytose (Leuzy et al. 2019)

Images de projection de surface d'imagerie TEP au 11C-deutérium-l-deprényle de l'activation des astrocytes chez un sujet sain et un patient souffrant de troubles cognitifs légers (MCI). Les deux patients sont positifs à l'Aβ-amyloïde. On observe cependant une activité astrocytaire plus élevée chez le patient MCI.

III.3.1.4. TEP – FDG

L'imagerie cérébrale ^{18}F-FDG-TEP a énormément contribué à une meilleure compréhension des changements biologiques et moléculaires prenant place dans les maladies neurodégénératives.

Dans la MH, le métabolisme du glucose est particulièrement affecté dans le striatum et peut être considéré comme un indicateur fiable de la progression de cette maladie. Ce résultat a été montré dans l'une des premières études TEP sur la MH par Young et al (Young et al. 1986). Bien que le striatum soit la structure cérébrale la plus impactée, et ce de façon précoce, d'autres régions sont aussi

atteintes. Ainsi, il a été montré un déclin progressif du métabolisme du glucose dans les lobes frontaux, pariétaux et temporel chez des sujets pré-symptomatiques (Ciarmiello et al. 2006). Plus remarquable encore, des patients porteurs de la MH qui sont devenus symptomatiques, avaient un métabolisme dans le caudé plus faible que les porteurs de la MH qui sont restés asymptomatiques après 5 ans (Ciarmiello et al. 2012).

L'étude de l'hypométabolisme par l'imagerie TEP dans la MP est en revanche plus récente. Toujours en utilisant le ^{18}F-FDG comme marqueur du métabolisme du glucose, une étude a pu observer un hypométabolisme dans les régions corticales de patients MP (Ruppert et al. 2020). Ces résultats, associés à l'hypométabolisme dans les régions pariétales (Albrecht et al. 2018), permettent de révéler la relation entre l'hypométabolisme dans ces régions et la déficience cognitive dans la MP, tandis que l'hypométabolisme observé dans le noyau caudé est associé aux symptômes moteurs. Cependant, dans la MA, certaines de ces régions sont aussi affectées, ce qui rend ces biomarqueurs moins spécifiques de la MP.

La MA est en effet elle aussi sujette à une diminution du métabolisme du glucose dans le cerveau, en particulier dans les stades précoces de la maladie dans des régions telles que l'hippocampe et le cortex cingulaire postérieur (Friedland et al. 1983; Minoshima et al. 1997). Cet hypométabolisme s'étend par la suite à d'autres structures au fur et à mesure de l'avancée de la maladie. L'imagerie ^{18}F-FDG-TEP de par sa spécificité élevée permet ainsi de distinguer la MA d'autre démences (Chen et Zhong 2013).

Résistance à l'insuline

Parmi les altérations du métabolisme cérébral, nous avons précédemment discuté de la résistance à l'insuline. Bien qu'ayant été confirmé post-mortem dans des patients de la MA (Talbot et al. 2012),des études FDP-TEP ont été menées afin d'évaluer ses effets. Willette et al. ont ainsi pu montrer qu'une résistance plus sévère à l'insuline était liée à un métabolisme du glucose réduit, qui à son tour affecte les fonctions de mémoire (Willette et al. 2015). D'autres études ont aussi rapporté cette association (Baker et al. 2011; Roberts et al. 2014).

L'utilisation cérébrale du glucose a été étudiée dans des conditions d'hyper-insulinémie. En effet, les effets de l'insuline *per se* peuvent être investigués en maintenant des niveaux de glucose physiologiques à l'aide d'un clamp euglycémique hyper-insulinémique et en combinant cela avec la FDG-TEP du cerveau. Des études menées avec ce protocole ont ainsi montré que l'accumulation totale de radioactivité dans le tissu cérébral était réduite pendant ce clamp (Boersma et al. 2018; Hirvonen et al. 2011; Johansson et al. 2018).

Ces applications de l'imagerie ^{18}F-FDG-TEP à l'évaluation du métabolisme du glucose peuvent cependant atteindre certaines limites. C'est le cas par exemple lorsque la maladie s'est développée et engendre une atrophie cérébrale. En effet, cette atrophie peut impacter les mesures de CMR_{Glc} et il faut alors y apporter des corrections. En outre, la résolution spatiale intrinsèquement limitée (~1mm^3) de l'imagerie TEP rend difficile l'évaluation du métabolisme du glucose dans les structures cérébrales de petite taille ou encore lors d'examens précliniques chez la souris lorsque l'on souhaite évaluer l'effet d'une thérapie par exemple.

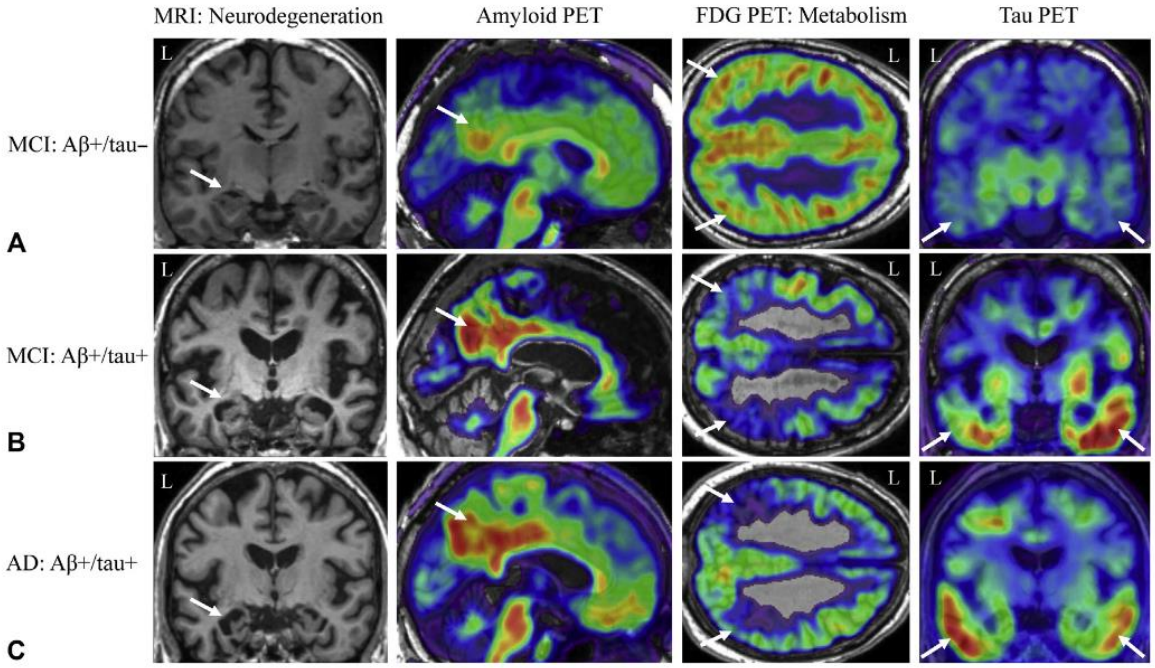


Figure III-5: Biomarqueurs de neuro-imagerie chez les patients atteints de troubles cognitifs légers (MCI) ou de la maladie d'Alzheimer (AD) (Risacher et Saykin 2019).

Les patients atteints de déficience cognitive légère (MCI) peuvent présenter des quantités variables de positivité amyloïde et tau. (A), le patient MCI présente une légère neurodégénérescence du lobe temporal médian (première colonne, flèche blanche) et un hypométabolisme du glucose pariétal latéral (troisième colonne, flèches blanches), une positivité amyloïde (deuxième colonne, flèche blanche) mais une liaison tau minimale (quatrième colonne, flèches blanches). Le patient MCI (B), en revanche, présente une quantité plus importante de dépôts amyloïdes (deuxième colonne, flèche blanche) et tau (quatrième colonne, flèches blanches), avec une neurodégénérescence du lobe temporal médian marquée (première colonne, flèche blanche) et un hypométabolisme pariétal du glucose (troisième colonne, flèches blanches). Le patient atteint de la maladie d'Alzheimer (C) présente un modèle communément observé de positivité des biomarqueurs, y compris la positivité de l'amyloïde (deuxième colonne, flèche blanche), la positivité de la protéine tau (quatrième colonne, flèches blanches), ainsi qu'une neurodégénérescence marquée du lobe temporal médian (première colonne, flèche blanche) et un hypométabolisme latéral du glucose pariétal (troisième colonne, flèches blanches). Aβ-, négatif pour l'amyloïde

bêta ; Aβ+, positif pour l'amyloïde bêta, de la même façon : tau+ et tau- positif et négatif pour la protéine tau. L , gauche

III.3.2. IRM

L'IRM est une modalité d'imagerie tout aussi pertinente que l'imagerie TEP pour le suivi des maladies neurodégénératives et s'efforce elle aussi de recueillir des biomarqueurs permettant de prévenir l'apparition de diverses maladies neurodégénératives. Par son aspect non-invasif et les informations anatomiques précises qu'elle peut acquérir l'IRM fait partie des méthodes de choix dans l'étude des maladies neurodégénératives. Nous présenterons cependant plus spécifiquement dans cette partie les modalités IRM utilisées pour détecter les altérations métaboliques.

III.3.2.1. ^{1}H SRM

La spectroscopie par résonance magnétique (SRM), présentée dans le chapitre précédent, est une méthode non-invasive principalement utilisée pour la caractérisation des tissus et la détermination des processus biologiques. L'importance des cycles de neurotransmetteurs glutamate/GABA dans la pathogénèse des maladies neurodégénérative est de plus en plus reconnu par la communauté scientifique et médicale. Ainsi, la mesure des concentrations de GABA, Glu et Gln par ^{1}H SRM est d'une grande nécessité afin d'évaluer l'état du métabolisme cérébral. D'autres métabolites mesurables en ^{1}H SMR sont particulièrement intéressants tels que le NAA, la créatine, la choline et le myo-inositol (voir **chapitre II**).

Dans le contexte de la neurodégénérescence, le NAA a été l'objet de nombreuses études car il est considéré comme un marqueur de la viabilité neuro-axonale, ou plus généralement de la densité neuronale (Edden et Harris 2016). La faible sensibilité de la méthode requiert typiquement la sélection de voxel spatialement limités à partir duquel les spectres sont acquis, laissant ainsi tomber la connaissance liée aux variations spatiales en échange d'un détail métabolique plus important. De nombreuses études ont appliqué la ^{1}H SMR pour tenter de caractériser la MA. Des diminutions de la concentration de NAA ont ainsi été observées dans la majorité de la matière grise dans les patients atteints d'AD comparé aux contrôles (Frederick et al. 2004; Herminghaus et al. 2003; Kantarci et al. 2000; Parnetti et al. 1997).

L'investigation des niveaux de GABA dans la dégénérescence fait partie des axes de recherche les plus récents, bénéficiant du fait que les méthodes soient devenues accessibles en clinique avec l'apparition d'IRM à champ plus élevé (Puts et Edden 2012). Plusieurs études ont observé ces niveaux dans les patients de la MA et les patients MCI retrouvant dans les deux cas une expression réduite des niveaux

de GABA dans le cortex cingulé postérieur (Bai et al. 2015; Riese et al. 2015). Néanmoins, le GABA n'était pas différent selon que le patient présentait ou non des dépôts de plaques amyloïdes, suggérant que le GABA a moins de potentiel dans le diagnostic de la maladie. Les mesures de GABA peuvent cependant apporter un éclairage supplémentaire dans la pathogénèse. Le travail récent de (Firbank et al. 2018) sur des patients MP a révélé des niveaux de GABA significativement plus faible dans le cortex visuel de patients souffrant d'hallucination visuelles que ceux n'en souffrant pas, suggérant que les hallucinations pourraient être en partie causées par une diminution de l'action inhibitrice des neurotransmetteurs, en accord avec la perte des récepteurs GABA post-synaptiques dans le cortex visuel observé post-mortem (Khundakar et al. 2016).

L'^{1}H SMR est aussi utile pour la quantification des métabolites liés à la neuro-inflammation tels que le myo-inositol, la créatine (et la phosphocréatine), ou le lactate. Cependant ces métabolites ne reflètent pas toujours la neuro-inflammation et sont ainsi considérés comme biomarqueurs sous-optimaux (Woodcock et al. 2019). Le glutathion, la molécule anti-oxydante endogène la plus abondante et biomarqueur bien établi du stress oxydatif (Forman, Zhang, et Rinna 2009), est aussi atteinte lors de l'inflammation (Noble et al. 2007). L'implication du glutathion à la fois dans la neuro-inflammation et le stress oxydatif n'est pas surprenant du fait de l'interdépendance de ces processus et de la production d'agents anti-oxydants en réponse à l'inflammation (Biswas 2016). Ainsi, sa quantification permet d'obtenir une information pertinente concernant le niveau d'inflammation et/ou de stress oxydatif.

III.3.2.2. ^{13}C SRM appliquée au métabolisme cérébral du glucose

La SRM du ^{13}C, développée il y a une trentaine d'années, permet d'obtenir des informations d'un autre point de vue qu'avec le ^{1}H. Son principal intérêt réside dans sa spécificité qui permet la détection et la quantification de métabolites qui ne peuvent pas être suivi par des techniques radiochimiques, comme la TEP par exemple (Kurhanewicz et al. 2008; Morris et Bachelard 2003). Ainsi, le ^{13}C peut fournir une information précieuse concernant le métabolisme cérébral du glucose et sa corrélation à l'activité neuronale en détectant les métabolites marqués par les substrats enrichis en ^{13}C (de Graaf et al. 2003; de Graaf, Rothman, et Behar 2011; Rodrigues, Valette, et Bouzier-Sore 2013; Rothman et al. 2011). Cela apporte une meilleure compréhension des flux des différentes voies de dégradation telles que la glycolyse, la voie des pentoses phosphates, la glycogénogénèse, ou encore le cycle de Krebs et le cycle glutamate (Glu)/glutamine (Gln).

Le [1-^{13}C]- et le [1,6-$^{13}C_2$]-glucose sont largement utilisés dans les études de spectroscopie ^{13}C. Malheureusement, la plupart des molécules qui sont marquées pendant une perfusion de glucose ^{13}C ne peuvent pas être détectées par RMN en raison de leur faible concentration et de la sensibilité

relativement faible de la RMN in vivo. Par conséquent, les chercheurs doivent compter sur la détection du marquage ^{13}C dans des pools plus importants d'acides aminés cérébraux, tels que le Glu ou la Gln, puis sur le calcul indirect de l'activité du cycle de Krebs (Henry et al. 2006). Ainsi, l'incorporation du marquage du [1-^{13}C]-glucose dans le [4-^{13}C]-Glu reflète souvent la glycolyse neuronale et le cycle de Krebs (de Graaf et al. 2003, 2011). Le flux du cycle de Krebs cérébral a été mesuré dans le cerveau de rat grâce au [1-^{13}C]-glucose (Mason et al. 1992): Le glucose marqué au ^{13}C est dégradé par la glycolyse où le marquage est reporté en [3-^{13}C]-pyruvate, participant au cycle de Krebs.

Le marquage ^{13}C de l'acétate est aussi considéré. En effet, certaines études suggèrent que l'acétate est exclusivement métabolisé dans les astrocytes (Badar-Goffer, Bachelard, et Morris 1990; de Graaf et al. 2011). L'acétate marqué est transporté en tant que substrat dans les astrocytes menant au marquage d'un faible pool astrocytaire de Glu.

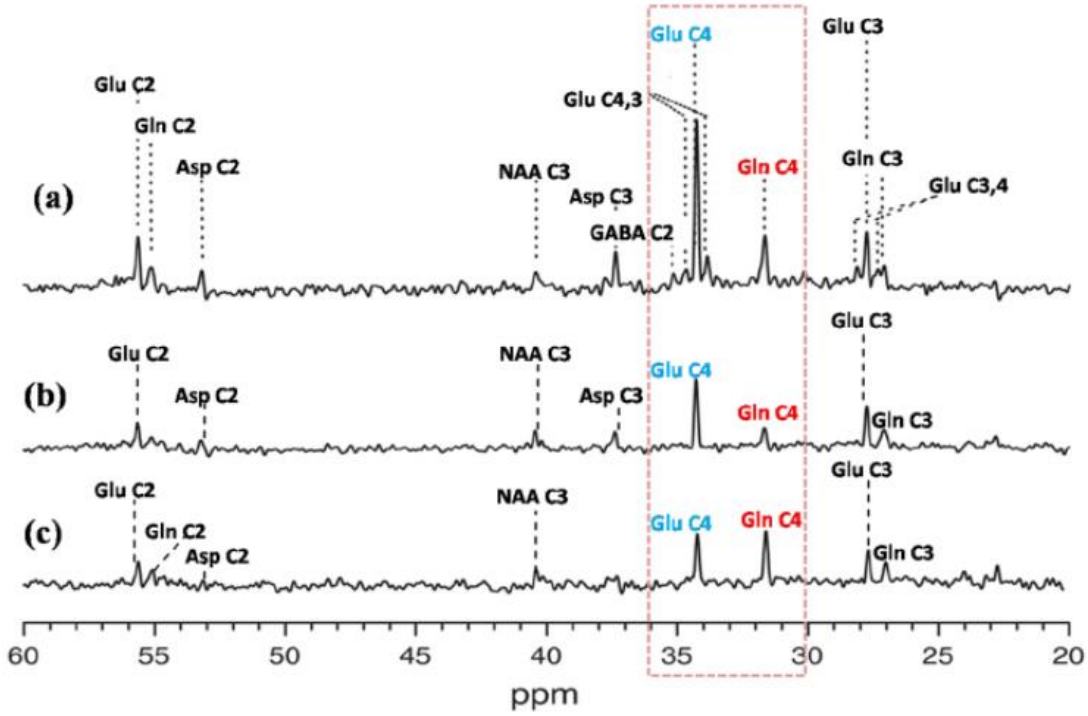


Figure III-6: Spectres SMR ^{13}C acquis dans les lobes occipital/pariétal d'un volontaire sain à 4 T, (Rothman et al. 2011)

Après injection de (a) [1-^{13}C]-glucose, (b) [3-^{13}C]-lactate et (c) [2-^{13}C]-acétate. Les spectres sont mis à l'échelle par rapport au NAA C_3. Pour le glucose et le lactate comme marqueurs, on peut voir le marquage s'accumuler principalement en tant que Glu C_4. L'acétate marque quant à lui préférentiellement la Gln C_4, puisqu'il est majoritairement métabolisé dans les astrocytes.

Dans la MA par exemple, une étude a montré que le ratio de l'enrichissement Glu_2/Glu_4 entre 60 et 100 min après infusion de [1-^{13}C] glucose était significativement plus faibles chez les patients atteints

d'AD que chez les contrôles, suggérant un dysfonctionnement du cycle de Krebs dans les neurones et une neurotransmission de Glu réduite (Lin et al. 2003).

Malgré les informations spécifiques qui peuvent être obtenues sur les métabolites et les taux métaboliques, la SMR ^{13}C est modalité présentant certains freins. Ces difficultés sont principalement liées au ^{13}C en lui-même. Son abondance naturelle faible (1 % dans les organismes vivants) le rend spécifique mais rend l'injection de ^{13}C exogène obligatoire afin d'obtenir une bonne sensibilité et de ce fait augmente énormément le coût et la complexité des expériences (Gruetter et al. 2003:13). Par ailleurs, l'infusion constante de volumes de métabolites-^{13}C rend impossible l'application de la SMR-^{13}C sur des animaux dont le volume corporel est trop faible et limite ainsi sa faisabilité aux cultures cellulaire et aux extraits de tissus (Bouzier-Sore et al. 2003).

III.3.2.3. IRM fonctionnelle

Cette technique utilise les modifications du signal de résonance magnétique qui reflètent la perfusion des tissus. L'utilisation la plus courante de l'IRM fonctionnelle (IRMf) dans le domaine du vieillissement et de la démence consiste à examiner les réseaux cérébraux. Ces réseaux sont définis en examinant la synchronisation du signal de l'IRMf dans différentes régions du cerveau ; les régions qui présentent des fluctuations synchrones du signal sont supposées faire partie du même réseau. Les altérations de ces mesures de connectivité sont interprétées comme indiquant une perturbation ou un dysfonctionnement de ces réseaux et peuvent être considérées comme des réductions ou des augmentations de la connectivité du réseau. Ces réseaux fournissent également des modèles permettant d'expliquer comment la pathologie se propage dans le cerveau.

Bien que plusieurs modalités d'imagerie soient capables de détecter les substrats et/ou l'atrophie pathologiques de certaines maladies neurodégénératives, l'IRMf a montré sa capacité à explorer l'activité fonctionnelle dans différents réseaux cérébraux de façon fiable et reproductible (Biswal et al. 2010; van den Heuvel et Hulshoff Pol 2010). De plus, il a été montré que les altérations observées dans plusieurs systèmes de neurotransmetteurs influencent l'activité fonctionnelle cérébrale mesurée en IRMf (Klaassens et al. 2015; Pa et al. 2013; Shah et al. 2015; Zheng et al. 2017).

Dans la MP par exemple, une corrélation a été rapportée entre la perte des neurones dopaminergiques et les altérations de l'activité cérébrale survenant dans la maladie (Lin et al. 2017). Comme les ganglions de la base font partie de réseaux neuronaux impliquant l'ensemble du cortex, on peut s'attendre à ce que les réductions de la libération de dopaminergiques affectent le fonctionnement de nombreux réseaux cérébraux à grande échelle impliqués dans les processus cognitifs (Dagher et Nagano-Saito 2007). En outre, il a été suggéré qu'un taux anormal d'alpha-synucléine dans le liquide

céphalorachidien influence à la fois les réseaux de connectivité fonctionnelle sensorimotrice et non-motrice dans la MP (Campbell et al. 2015).

L'IRMf ne se limite évidemment pas à la MP et est appliquée dans la plupart des maladies neurodégénératives et a ainsi permis de montrer les disruptions de connectivité fonctionnelle et structurelle chez les patients atteints de démence et de troubles moteurs (Baik et al. 2014; Hacker et al. 2012; Sheline et Raichle 2013; Toussaint et al. 2014; Wang et al. 2007).

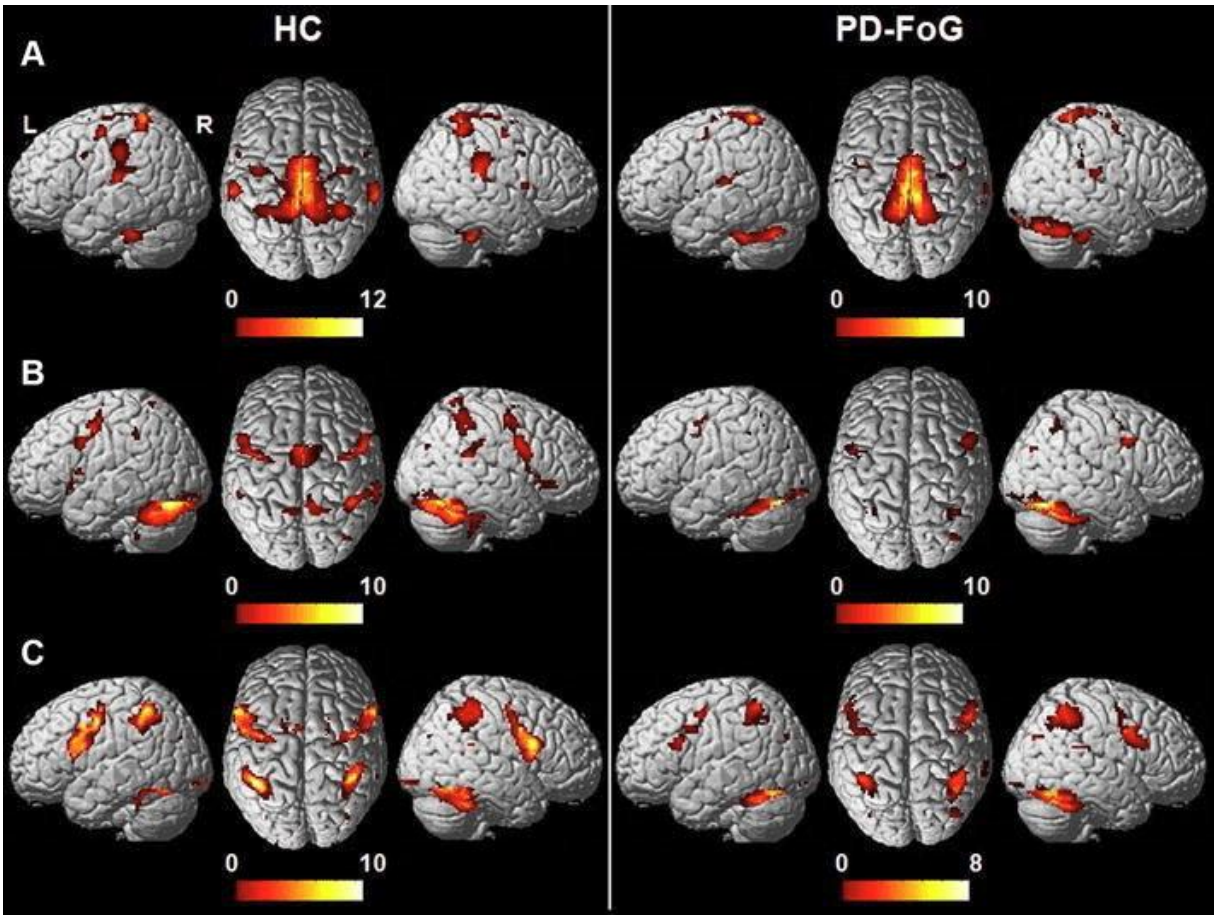


Figure III-7: Application de l'IRMf à la maladie de Parkinson (Agosta et al. 2017)

Les activations cérébrales observées par IRMf sont montrées chez les patients contrôles (HC) et les patients PD-FoG (Parkinson associé à un blocage au niveau de la démarche). Ces activations ont été acquises lors de différentes tâches, à savoir (A) l'exécution d'un mouvement de pied, (B) une tâche motrice et (C) une tâche d'observation. Les barres de couleurs représentent la fiabilité de l'effet observé. Les patients MP présentent globalement une activité réduite par rapport aux contrôles.

A travers ces exemples on comprend ainsi l'intérêt clinique de ces méthodes, qu'elles soient IRM ou TEP, dans le processus de diagnostic des maladies neurodégénératives. Surtout, on perçoit

l'importance d'utiliser de façon couplée ces méthodes, afin de profiter des avantages de chacune des modalités. Cependant, dans le cadre de l'étude des maladies neurodégénératives dans les modèles murins, si la résolution spatiale de l'IRM n'est pas une contrainte, celle de la TEP est en revanche limitante et ne permet pas d'obtenir une information biologique pertinente au vu du faible volume des structures cérébrales entrant en jeu. De plus, le manque de sensibilité de la SMR ne permet pas une étude fine du métabolisme dans les modèles animaux. C'est pourquoi on se propose ici de développer une méthode d'imagerie capable de combler ce manque, à savoir l'imagerie métabolique IRM par transfert de saturation par échange chimique ou IRM-CEST, qui apporte une meilleure sensibilité que la SMR et qui conserve une certaine spécificité (comme nous le montrerons dans le **chapitre V**). Nous présentons dans le chapitre suivant les principes physiques sur lesquels reposent cette modalité.

Chapitre IV : Imagerie CEST

Dans ce chapitre nous discutons en détail des principes physiques à l'origine du signal CEST ainsi que des conditions d'observation de cet effet. Puis nous évoquerons les effets qui peuvent contribuer au signal CEST et de leur impact lors de l'analyse du signal. Enfin, pour illustrer la richesse du contraste CEST, nous proposerons un bref descriptif des différentes molécules endogènes couramment utilisées dans l'imagerie CEST et leurs applications cliniques et précliniques.

IV.1. PRINCIPE GENERAL & CONDITIONS D'OBSERVATION

IV.1.1. Historique de l'imagerie CEST

Le bon fonctionnement de la plupart des systèmes biologiques repose sur les réactions biochimiques prenant place entre les différentes espèces chimiques du système considéré. Ces réactions consistent en des interactions ou échanges au niveau moléculaire ou atomique. Ainsi, ces échanges peuvent refléter les propriétés physico-chimiques du système. L'étude des réactions chimiques, relativement rapides, nécessite généralement l'utilisation de méthodes physiques capables de suivre ces réactions. Parmi ces méthodes, la spectroscopie par résonance magnétique est un outil pertinent pour étudier les vitesses de ces processus, en particulier pour investiguer les réactions d'échange d'atomes d'hydrogènes.

Les effets des échanges chimiques sur le spectre RMN ont été visualisés pour la première fois par deux équipes différentes en 1951. Quelques années plus tard, les équations Bloch décrivant l'évolution de l'aimantation nucléaire sont reformulées par McConnell et appliquées à l'évolution de l'aimantation dans le cas d'un système d'hydrogènes de deux espèces chimiques en échange (McConnell 1958). Ces découvertes forment les piliers du développement de la spectroscopie par transfert de saturation, dont les premiers résultats expérimentaux sont rapportés par Forsén et Hoffman (Forsén et Hoffman 1963; Hoffman et Forsén 1966).

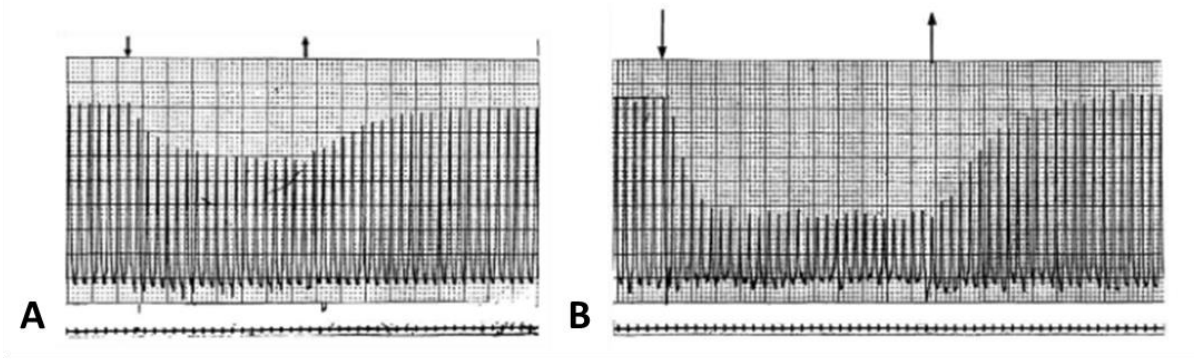


Figure IV-1: Diminution et recouvrement des intensités du signal RMN, (Forsén et Hoffman 1963)

Les flèches vers le bas ↓ indiquent le moment d'application de l'impulsion radiofréquence et les flèches vers le haut ↑ indiquent l'arrêt de cette application. Les transferts de saturation sont montrés dans le cas du salicylaldéhyde (A) et du 2-hydroxyacétophénone (B).

Ces travaux ont par la suite été repris par Wolff & Balaban qui ont observé le transfert d'aimantation entre l'eau libre et les macromolécules présentes dans le rein et le muscle squelettique de lapin. L'application d'une impulsion de saturation à la fréquence de résonance du métabolite d'intérêt engendre ainsi une diminution mesurable du signal de l'eau libre (**Fig.IV.2**).

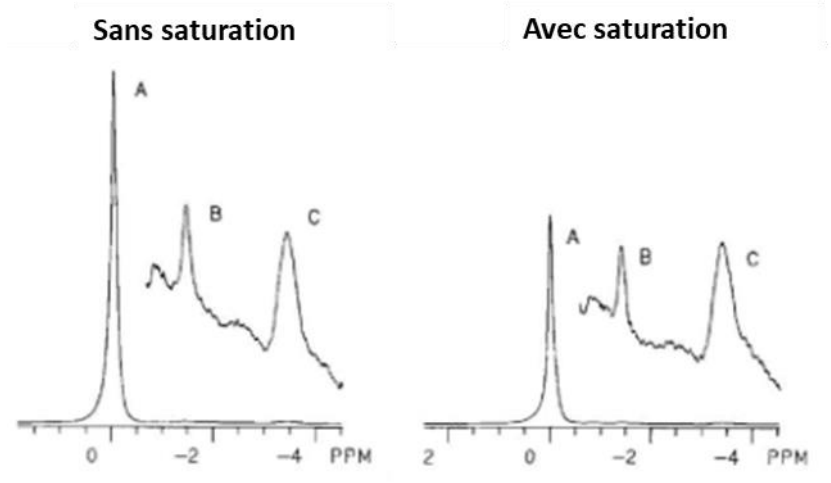


Figure IV-2: Effet de la saturation sur le signal RMN de l'eau et des métabolites dans le rein de lapin in vivo.

Les pics RMN correspondent à l'eau (A), au triméthylamine et aux lipides (C).

Le principe du Transfert de Saturation par Echange Chimique, ou CEST, repose sur l'échange chimique entre des molécules saturées et l'eau. En résonance magnétique, on peut décrire la saturation comme étant un état temporaire pendant lequel les molécules d'un tissu considéré ne possèdent aucune aimantation longitudinale. Ceci peut être exploité afin d'obtenir un contraste en excitant l'échantillon

de sorte que seul un certain type de tissu soit saturé, tissu qui possèdera alors un signal réduit voire qui n'apparaîtra pas du tout à l'image. On peut citer par exemple des techniques de suppression de graisse dont le but est de saturer le signal à la fréquence de résonance de la graisse (fréquence de résonance des hydrogènes de méthylène sur des molécules de triglycérides) pour éliminer le signal de la graisse de l'image.

En CEST, l'aimantation est transférée des molécules cibles aux molécules d'eau libre de telle sorte que l'effet de saturation est alors observable sur ces molécules d'eau libre au lieu d'être observé sur les molécules cibles. Pour que ce transfert ait lieu, il faut que les espèces chimiques considérées possèdent des hydrogènes ^{1}H échangeables avec ceux de l'eau. Les conditions sur ces échanges seront explicitées dans la partie ci-après.

Par conséquent, le principe d'imagerie CEST est relativement simple : en considérant une espèce chimique capable d'échanger ses hydrogènes ^{1}H avec ceux de l'eau libre, on applique une impulsion RF à l'une de leur fréquence de résonance de façon à atteindre un état de saturation. Cette saturation d'aimantation va spontanément être transférée à l'eau libre au cours du temps via les échanges chimiques qui ont lieu entre les hydrogènes saturés de la molécule d'intérêt et ceux non saturés de l'eau. Ainsi, le signal diminué de l'eau va être détecté classiquement par une séquence d'imagerie et fournir une mesure indirecte de la concentration de la molécule d'intérêt (**Fig.IV.3**).

Si le CEST s'arrêtait là il ne serait que d'une très faible utilité. En effet, les espèces chimiques sont présentes en des quantités pratiquement négligeables devant celle de l'eau qui compose notre corps, environ 10^{-5}- 10^{-6}. On ne remarquerait aucun changement dans le signal si seul un échange avait lieu. La principale force du CEST réside dans l'échange continu des hydrogènes saturés, qui va mener à une saturation significative de l'eau. Lors de l'échange d'un hydrogène saturé avec l'eau, cet hydrogène va être remplacé par un hydrogène non saturé (celui de l'eau), qui va pouvoir à son tour être saturé pour un prochain transfert. Ainsi, si cet échange se produit 100 fois pendant l'application de la RF, la détectabilité de l'espèce considérée sera indirectement amplifiée d'un facteur 100.

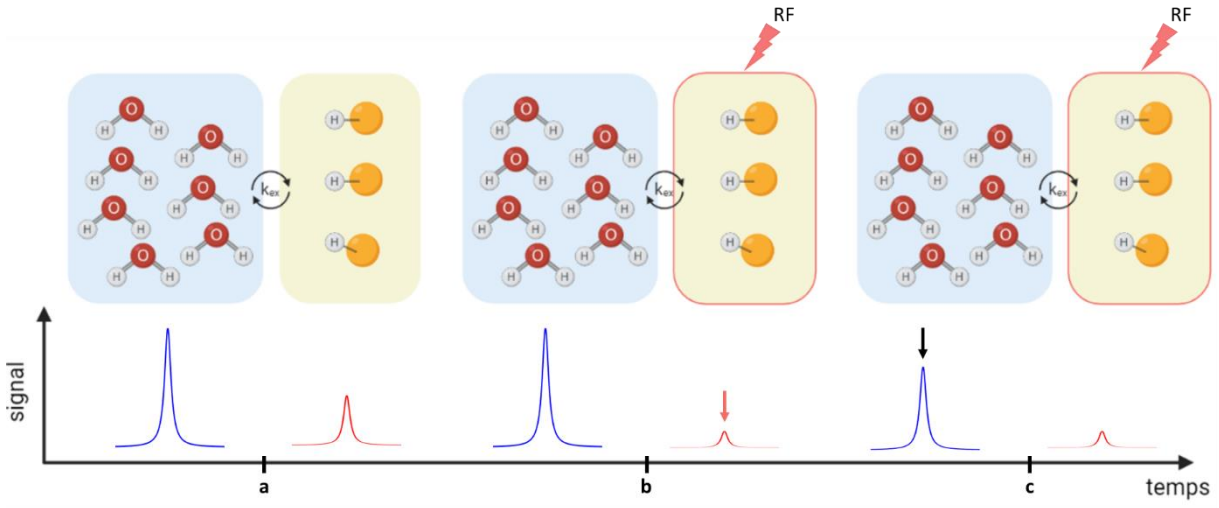


Figure IV-3 Principe de l'effet CEST

Avant saturation, le soluté et l'eau ont leur signal maximum. Lors de l'application de l'onde RF, le signal du pool du soluté est diminué. Puis, les hydrogènes du soluté saturés par la RF sont échangés avec ceux, non saturés, de l'eau. Ce processus mène à une diminution du signal de l'eau, processus qui se répète au cours du temps.

En principe, on peut se servir de l'imagerie CEST pour imager n'importe quel soluté du moment qu'il contient une espèce possédant des hydrogènes ^{1}H échangeables avec l'eau. Cependant, il ne faut pas perdre de vue notre objectif premier : la pertinence clinique de l'utilisation de l'imagerie CEST. Ainsi, la plupart des applications reposent sur des métabolites que l'on trouve directement dans le corps humain ou encore que l'on pourrait administrer et utiliser comme agent de contraste. Il existe de nombreux composés déjà utilisés en CEST dont nous parlerons plus en détail dans la suite de ce chapitre.

IV.1.2. Conditions d'observation

Considérons un système composé de deux populations de spins couplées, A et B. Si on suppose qu'il y a un échange chimique entre ces deux groupes et qu'il se déroule de façon instantanée, c'est-à-dire qu'on ne donne pas au système le temps de changer graduellement de l'état A à B (et *vice versa*) puisque cela affecterait alors les paramètres dans l'équation de Bloch, on peut réécrire explicitement l'évolution des aimantations en utilisant les équations de Bloch modifiées par McConnell pour tenir compte des échanges et de la présence d'une impulsion RF (McConnell 1958):

$$\frac{d}{dt}\begin{pmatrix} M_x^A \\ M_y^A \\ M_z^A \\ M_x^B \\ M_y^B \\ M_z^B \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -\rho_{2A} & -\Delta_A & 0 & k_{BA} & 0 & 0 \\ \Delta_A & -\rho_{2A} & \omega_1 & 0 & k_{BA} & 0 \\ 0 & -\omega_1 & -\rho_{1A} & 0 & 0 & k_{BA} \\ k_{AB} & 0 & 0 & -\rho_{2B} & -\Delta_B & 0 \\ 0 & k_{AB} & 0 & \Delta_B & -\rho_{2B} & \omega_1 \\ 0 & 0 & k_{AB} & 0 & -\omega_1 & -\rho_{1B} \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} M_x^A \\ M_y^A \\ M_z^A \\ M_x^B \\ M_y^B \\ M_z^B \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ R_{1A}M_0^A \\ 0 \\ 0 \\ R_{1B}M_0^B \end{pmatrix} \qquad \text{IV. 1-1}$$

avec :

$$\Delta_{A,B} = \omega_{A,B} - \omega_{RF}$$

et

$$\rho_{1A} = R_{1A} - k_{AB}, \rho_{2A} = R_{2A} - k_{AB}$$

$$\rho_{1B} = R_{1B} - k_{BA}, \rho_{2B} = R_{2B} - k_{BA}$$

Dans ces équations, M_x^A, M_y^A, M_z^A, M_x^B, M_y^B, M_z^B représentent les aimantations dans le référentiel tournant et M_0^A, M_0^B les aimantations à l'équilibre (colinéaires au champ $\overrightarrow{B_0}$ selon l'axe O_z). ω_{RF} et ω_1 sont la fréquence et l'amplitude de l'irradiation RF (en rad/s), respectivement, avec $\omega_1 = \gamma B_1$. Δ_A est le déplacement chimique du groupe A par rapport à la fréquence de la RF, $\Delta_A = \omega_{RF} - \omega_A$. $R_{1A} = 1/T_{1A}$ est le taux de relaxation longitudinale et $R_{2A} = 1/T_{2A}$ le taux de relaxation transversale. k_{AB} correspond au taux d'échange du pool A vers le pool B. Dans le cas de l'échange chimique, il est égal à l'inverse du temps qu'un hydrogène passe dans le pool A : $k_{AB} = 1/\tau_{AB}$. Ces définitions s'appliquent de la même façon au pool B.

A l'état d'équilibre, quand il n'y a aucun échange d'aimantation, on peut écrire :

$$k_{AB}M_0^A = k_{BA}M_0^B \qquad \text{IV. 1-2}$$

Si l'on considère maintenant que cet état d'équilibre est perturbé par l'application d'une impulsion RF de 90° à t=0, les deux populations de spins A et B sont alors basculées dans le plan transverse. On peut ainsi écrire les conditions initiales :

$$M^A(t=0) = \begin{pmatrix} 0 \\ M_0^A \\ 0 \end{pmatrix} \text{ et } M^B(t=0) = \begin{pmatrix} 0 \\ M_0^B \\ 0 \end{pmatrix}$$

En supposant que la durée d'application τ de l'impulsion est très inférieure au T_1 ou T_2, on sait que :

$$\frac{d}{dt}\begin{pmatrix} M_x \\ M_y \\ M_z \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -\Delta_0 M_y \\ \Delta_0 M_x + \gamma B_1 M_z \\ -\gamma B_1 M_y \end{pmatrix} \qquad \text{IV. 1-3}$$

On peut alors définir l'évolution de l'aimantation dans le plan transverse après application de la RF par :

$$\frac{d}{dt}\begin{pmatrix} M_x^A \\ M_y^A \\ M_x^B \\ M_y^B \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -\rho_{2A} & -\Delta_A & k_{BA} & 0 \\ \Delta_A & -\rho_{2A} & 0 & k_{BA} \\ k_{AB} & 0 & -\rho_{2B} & -\Delta_B \\ 0 & k_{AB} & \Delta_B & -\rho_{2B} \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} M_x^A \\ M_y^A \\ M_x^B \\ M_y^B \end{pmatrix} \qquad \text{IV. 1-4}$$

Pour simplifier ce système d'équations, on peut repartir de la définition complexe des aimantations et l'écrire pour les aimantations transversales, c'est-à-dire :

$$M^{AT} = M_y^A - iM_x^A \qquad \text{IV. 1-5a}$$

$$M^{BT} = M_y^B - iM_x^B \qquad \text{IV. 1-5b}$$

L'équation **IV.1-4** devient alors :

$$\frac{d}{dt}\begin{pmatrix} M^{AT} \\ M^{BT} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} i\Delta_A - \rho_{2A} & k_{BA} \\ k_{AB} & i\Delta_B - \rho_{2B} \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} M^{AT} \\ M^{BT} \end{pmatrix} \qquad \text{IV. 1-6}$$

Les solutions de ce système d'équations caractérisant l'évolution temporelle des aimantations transversales en présence d'échange chimique peuvent s'écrire sous la forme :

$$M^{AT}(t) = c_{1A} \,.\, e^{-\lambda_1 t} + c_{2A} \,.\, e^{-\lambda_2 t}$$

$$M^{BT}(t) = c_{1B} \,.\, e^{-\lambda_1 t} + c_{2B} \,.\, e^{-\lambda_2 t}$$

Où λ_1 et λ_2 sont les valeurs propres de la matrice de l'équation **IV.1-6**

Pour simplifier les expressions de ces valeurs propres, on peut considérer le cas particulier où les aimantations initiales des pools A et B sont égales : $M_0^A = M_0^B$. A l'équilibre, on obtient alors d'après l'équation **IV.1-2**, $k_{AB} = k_{BA}$. En supposant que la relaxation est négligeable, on peut réécrire l'équation **IV.1-6** :

$$\frac{d}{dt}\begin{pmatrix} M^{AT} \\ M^{BT} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} i\Delta_A - k & k \\ k & i\Delta_B - k \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} M^{AT} \\ M^{BT} \end{pmatrix} \qquad \text{IV. 1-7}$$

Où k représente le taux d'échange dans le cas particulier où $k_{AB} = k_{BA}$

On cherche alors à calculer les valeurs propres en résolvant l'équation :

$$(i\Delta_A - k - \lambda_1)(i\Delta_B - k - \lambda_2) - k^2 = 0 \qquad \text{IV. 1-8}$$

Soit :

$$\lambda_{1,2} = \frac{i}{2}(\Delta_A - \Delta_B) - k \pm \sqrt{k^2 - \frac{1}{4}(\Delta_A - \Delta_B)^2}$$

En gardant en tête que nous appliquons une impulsion RF 90°, on peut appliquer nos conditions initiales et résoudre pour les coefficients $c_{i,j}$ (où $i = 1,2$ et $j = A, B$) :

$$c_{1A} = \frac{1}{4}\frac{M_0^A \frac{i}{2}(\Delta_A - \Delta_B) + k + W}{W}, \qquad c_{2A} = \frac{1}{4}\frac{M_0^A \frac{-i}{2}(\Delta_A - \Delta_B) + k + W}{W}$$

$$c_{1B} = \frac{1}{4}\frac{M_0^B \frac{i}{2}(\Delta_A - \Delta_B) + k + W}{W}, \qquad c_{2B} = \frac{1}{4}\frac{M_0^B \frac{-i}{2}(\Delta_A - \Delta_B) + k + W}{W}$$

avec $W = \sqrt{k^2 - \frac{1}{4}(\Delta_A - \Delta_B)^2}$

Au final, le signal qu'on va mesurer expérimentalement est la somme des aimantations transversales de notre spin dans l'environnement A et dans l'environnement B, soit mathématiquement :

$$s(t) = M^{AT}(t) + M^{BT}(t) \qquad \text{IV.1-9}$$

Pour donner un peu plus de sens à ces équations et pour mieux comprendre leurs implications physiques, considérons deux régimes d'échanges : les échanges lents d'une part et les échanges rapides d'autre part.

Echange lent

Dans le cas d'un échange lent, k suit la condition suivante : $k \ll |\Delta_A - \Delta_B|$

C'est-à-dire que le spectre RMN sera constitué de deux lignes, l'une correspondant à l'état A à Δ_A et l'autre correspondant à l'état B à Δ_B. En effet, dans ce cas :

$$W \approx \sqrt{-\frac{1}{4}(\Delta_A - \Delta_B)^2} = \frac{i}{2}(\Delta_A - \Delta_B)$$

On en déduit les valeurs propres :

$$\lambda_1 = i\Delta_A - k$$

$$\lambda_2 = i\Delta_B - k$$

Et les coefficients :

$$c_{1A} = c_{2B} = \frac{M_0}{2}$$

$$c_{1B} = c_{2A} = 0$$

Ainsi, le signal mesuré sera donc :

$$s(t) = M^{AT}(t) + M^{BT}(t) = \frac{1}{2}M_0\left(e^{(i\Delta_A - k)t} + e^{(i\Delta_B - k)t}\right) \qquad \text{IV. 1-10a}$$

La transformée de Fourier de ce signal donne, dans le domaine fréquentiel :

$$S(\omega) = \frac{1}{2}M_0\left(\frac{1}{k - i(\Delta_A - \omega)} + \frac{1}{k - i(\Delta_B - \omega)}\right) \qquad \text{IV. 1-10b}$$

Avec comme partie réelle :

$$Re\{S(\omega)\} = \frac{1}{2}M_0\left(\frac{1}{k^2 + (\Delta_A - \omega)^2} + \frac{1}{k^2 + (\Delta_B - \omega)^2}\right) \qquad \text{IV. 1-10c}$$

En d'autres mots, les pics d'absorption mesurés en RMN vont consister en deux lignes Lorentziennes avec une largeur à mi-hauteur égale à $2k$ (**Fig.IV.4**).

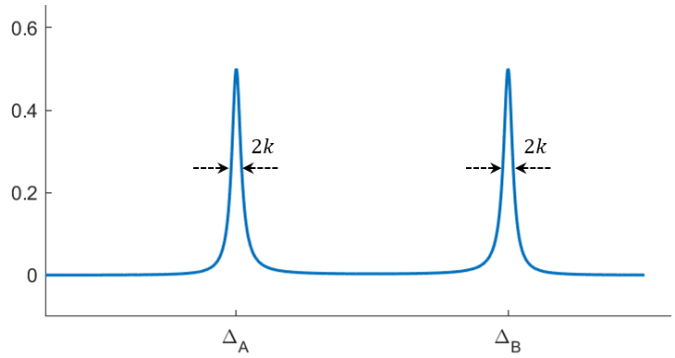


Figure IV-4 : Cas d'un échange lent

Dans le cas où le taux d'échange entre les pools A et B est tel que $k \ll |\Delta_A - \Delta_B|$, les pics d'absorption des pools A et B sont dissociés et possèdent une largeur à mi-hauteur égale à 2k.

Echange rapide

Dans le cas d'un échange rapide, k respecte : $k \gg |\Delta_A - \Delta_B|$

Dans ce cas-là, on obtient :

$$\lambda_{1,2} \approx \frac{i}{2}(\Delta_A - \Delta_B) - k \pm k\left(1 - \frac{1}{8k^2}(\Delta_A - \Delta_B)^2\right)$$

Et :

$$c_{1A} = c_{1B} = \frac{M_0}{2}$$

$$c_{2A} = c_{2B} = 0$$

Ainsi, le signal total est donné par :

$$s(t) = M^{AT}(t) + M^{BT}(t) = M_0 exp\left\{\left(i\frac{\Delta_A+\Delta_B}{2} - \frac{(\Delta_A-\Delta_B)^2}{8k}\right)t\right\} \qquad \text{IV. 1-11a}$$

qui donne comme partie réelle, après transformée de Fourier :

$$Re\{S(\omega)\} = M_0\left(\frac{\delta}{(\Omega-\omega)^2+(\delta)^2}\right) \qquad \text{IV. 1-11b}$$

Avec

$$\delta = \frac{(\Delta_A-\Delta_B)^2}{8k}, \qquad \Omega = \frac{\Delta_A+\Delta_B}{2}$$

Ainsi, on observera graphiquement une moyenne des deux espèces à une position moyenne de $\frac{\Delta_A+\Delta_B}{2}$ et de largeur à mi-hauteur de 2δ soit $\frac{(\Delta_A-\Delta_B)^2}{4k}$

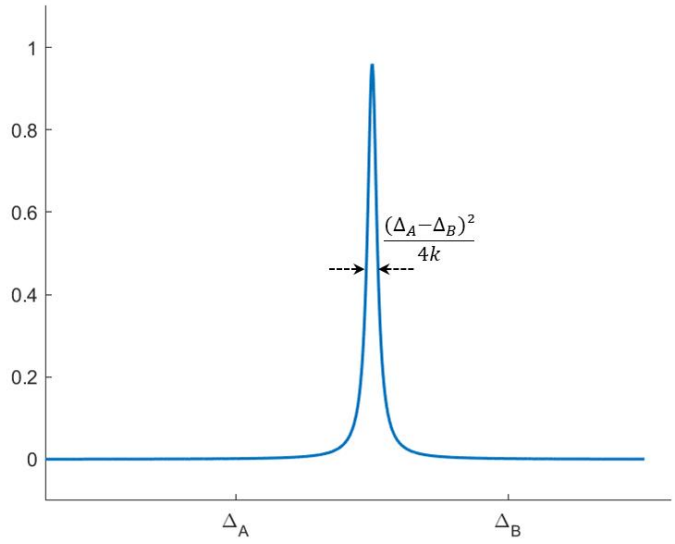


Figure IV-5 : Cas d'un échange rapide

Dans le cas où le taux d'échange entre les pools A et B est tel que $k \gg |\Delta_A - \Delta_B|$, le pic d'absorption RMN mesuré est situé à $\frac{\Delta_A+\Delta_B}{2}$. En effet, sous cette condition les pics ne sont plus dissociés et forment un unique pic.

En utilisant les équations de Bloch-McConnell, nous avons pu démontrer qu'il existe une condition d'observation de l'effet CEST entre deux groupes d'hydrogènes en échange chimique (voir **Fig.IV.6**). Cette condition dépend en effet de la différence entre les déplacements chimiques de chaque groupe et du taux d'échange entre ces deux groupes.

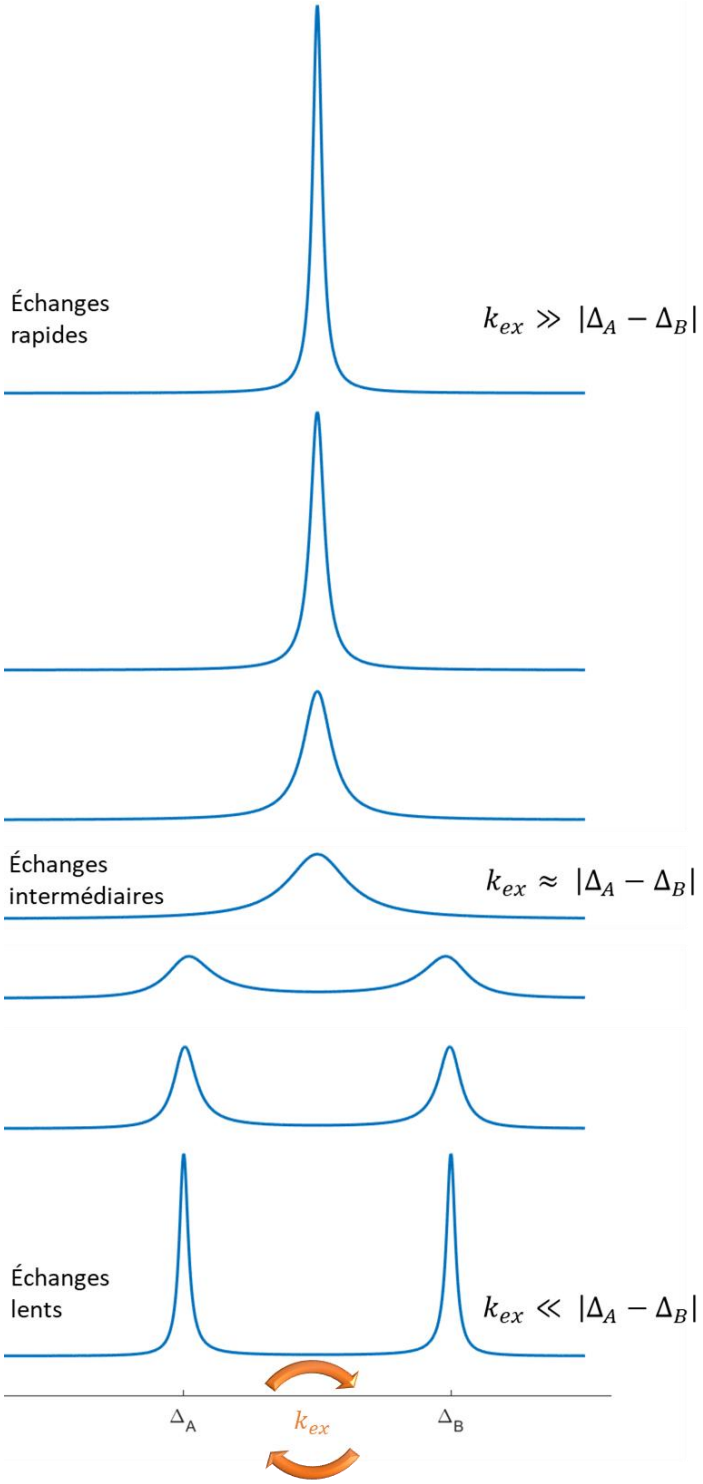


Figure IV-6 : Effet du taux d'échange sur l'observation de l'effet CEST

Soit deux pools d'hydrogènes A et B en échange possédant chacun un déplacement chimique distinct par rapport à la fréquence de l'eau libre (Δ_A, Δ_B.respectivement). Pour pouvoir observer un effet CEST entre ces deux groupes, leur taux d'échange k_{ex} doit suivre certaines conditions. Si ce n'est pas le cas on observera alors qu'un seul pic d'absorption.

IV.2. TRANSFERTS DE SATURATION

On distingue deux types d'état de transfert de saturation : l'état transitoire et l'état d'équilibre. L'état d'équilibre renvoie à un état dans lequel le système n'évolue plus et n'est plus dépendant du temps, c'est-à-dire que les dérivées de l'équation **IV.1-1** sont égales à 0. L'état transitoire quant à lui réfère à un système encore en évolution et dont la dépendance temporelle ne peut pas être négligée. Contrairement au cas précédent, considérons maintenant que l'impulsion RF qu'on applique soit cette fois sélective des hydrogènes du pool B sans affecter les hydrogènes du pool A.

IV.2.1. Saturation complète

Dans le cas d'un état d'équilibre du système, le nombre d'hydrogènes échangés entre chaque pool est identique, c'est-à-dire que le flux de transfert est nul. Ainsi, en supposant une saturation complète du pool B, soit $M_x^B = M_y^B = M_z^B = 0$, on peut supprimer les dépendances temporelles et simplifier les équations précédentes. Dans ces conditions, on peut alors écrire la solution suivante pour l'aimantation du pool A :

$$\frac{M_z^A}{M_0^A} = \frac{R_{1A}}{k_{AB} + R_{1A}} \qquad \text{IV. 2-1}$$

On peut réarranger cette équation et l'exprimer en fonction de la concentration de l'agent de contraste (M_0^B / M_0^A), d'après l'équation **IV.1-2** :

$$\frac{M_z^A}{M_0^A} = \frac{\tau_{BA}}{T_{1A}\left(\frac{M_0^B}{M_0^A}\right) + \tau_{BA}} \qquad \text{IV. 2-2}$$

A partir de cette équation on comprend que l'effet CEST augmentera avec l'augmentation de la concentration de l'agent de contraste ou bien avec la diminution de τ_{BA}, c'est-à-dire l'augmentation du taux d'échange.

On peut aussi déduire une expression simple du rapport de transfert de proton (ou PTR, pour *Proton Transfer Ratio*), également appelé taux de saturation :

$$PTR = 1 - \frac{M_z^A}{M_0^A} = \frac{M_0^A - M_z^A}{M_0^A} = \frac{k_{AB}}{k_{AB} + R_{1A}} \qquad \text{IV. 2-3}$$

On remarque alors l'équilibre qu'il peut y avoir entre d'une part la récupération de l'aimantation longitudinale des hydrogènes du pool A et d'autre part la destruction de l'aimantation due à l'échange chimique avec les hydrogènes du pool B.

IV.2.2. Approximation de saturation faible

Expérimentalement, le moyen le plus simple d'atteindre l'état d'équilibre est d'appliquer l'impulsion RF pendant un temps $> 5T_{1A}$, où on aurait alors $t_{sat} \gg T_{1A}$. Cependant, dans le cas d'une impulsion RF continue employée pendant des temps longs, cela peut endommager le matériel physique et, dans l'idée d'un transfert de la méthode vers le clinique, engendrer une puissance déposée trop élevée. Il est néanmoins possible de remplacer une RF continue par un train d'ondes RF de forme gaussienne ou semi-sinusoïdale cardinal, parfois entrelacé avec des délais ou des gradients (« crushers ») (Dixon et al. 2010; Schmitt, Zaiß, et al. 2011). Cela ne change pas fondamentalement l'expérience mais complique tout de même les descriptions analytiques et semi-analytiques de l'évolution temporelle du système ainsi que l'analyse quantitative des résultats (Sun et al. 2008).

En négligeant les termes d'évolution fréquentielle, l'équation **IV.I-1** s'écrit, en posant $m_z^A = M_z^A - M_0^A$ et $m_z^B = M_z^B - M_0^B$:

$$\frac{d}{dt}\begin{pmatrix} M_y^A \\ m_z^A \\ M_y^B \\ m_y^B \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -\rho_{2A} & 0 & k_{BA} & 0 \\ 0 & -\rho_{1A} & 0 & k_{BA} \\ k_{AB} & 0 & -\rho_{2B} & \omega_1 \\ 0 & k_{AB} & -\omega_1 & -\rho_{1B} \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} M_y^A \\ m_z^A \\ M_y^B \\ m_z^B \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ \omega_1 M_0^B \\ 0 \end{pmatrix} \qquad \text{IV. 2-4}$$

A l'équilibre on obtient donc :

$$\frac{d}{dt}\begin{pmatrix} M_y^A \\ m_z^A \\ M_y^B \\ m_y^B \end{pmatrix} = 0$$

Ainsi, avec l'hypothèse selon laquelle la RF ne perturbe pas le pool A, cela correspond à $\Delta_B = 0$ et $\Delta_A \to \infty$. On peut alors résoudre le système à l'équilibre et exprimer les résultats sous la forme :

$$M_y^A = -\frac{\omega_1 q M_0^A}{\omega_1^2 + pq} \qquad \text{IV. 2-5a}$$

$$m_z^A = -\frac{\omega_1^2 M_0^A}{\omega_1^2 + pq}, \qquad ou\ \ M_z^A = \frac{pq M_0^A}{\omega_1^2 + pq} \qquad \text{IV. 2-5b}$$

$$M_y^B = -\frac{k_{AB}}{\rho_{2B}} \cdot \frac{\omega_1 q M_0^A}{\omega_1^2 + pq} = -\frac{k_{BA}}{\rho_{1B}} \cdot \frac{\omega_1 q M_0^B}{\omega_1^2 + pq} \qquad \text{IV. 2-5c}$$

$$m_z^B = -\frac{k_{AB}}{\rho_{1B}} \cdot \frac{\omega_1^2 M_0^A}{\omega_1^2 + pq} = -\frac{k_{BA}}{\rho_{1B}} \cdot \frac{\omega_1^2 M_0^B}{\omega_1^2 + pq} \qquad \text{IV. 2-5d}$$

Avec

$$p = \rho_{2B} - \frac{k_{AB}k_{BA}}{\rho_{2A}}, \qquad q = \rho_{1B} - \frac{k_{AB}k_{BA}}{\rho_{1A}}$$

On en déduit alors le PTR (Zaiß, Schmitt, et Bachert 2011) :

$$PTR = \frac{k_{AB}}{R_{1A} + k_{AB}} \cdot \frac{\omega_1^2}{\omega_1^2 + pq + \frac{p}{q}\Delta_B^2} = PTR_{max} \cdot \alpha(\Delta_B) \qquad \text{IV. 2-6}$$

Où α est le ratio de saturation du pool B et défini par :

$$\alpha(\Delta_B) = \frac{\omega_1^2}{\omega_1^2 + pq + \frac{p}{q}\Delta_B^2}$$

Ce paramètre α, introduit par Sun *et al* (Sun, van Zijl, et Zhou 2005), est compris entre 0 et 1 et mesure la qualité de la saturation en terme d'effet CEST idéal.

IV.2.3. Solutions en fonction du temps de l'approximation de saturation faible

Le processus de transfert de saturation peut être grossièrement séparé en deux étapes : le processus de saturation du pool B, suivi par le processus de transfert de saturation au pool A. Si le pool B est complètement isolé, son taux de saturation peut être estimé comme étant $(R_{1B} + R_{2B})/2$, ce qui signifie que le pool B a une constante de temps de saturation de l'ordre de la milliseconde (soit de l'ordre de T_{2B}). Ainsi, cette approximation en deux étapes est très proche de la situation réelle. En supposant que le pool B retrouve son état d'équilibre de façon quasi instantanée, approchant alors un état d'équilibre (où $m_z^{B^{eq}} = M_z^{B^{eq}} - M_0^B$), l'évolution temporelle du pool A peut être décrite par :

$$\frac{dm_z^A}{dt} = -\rho_{1A}m_z^A + k_{BA}m_z^{B^{eq}} \qquad \text{IV. 2-7}$$

Dans les conditions de saturation faible $M_z^A(t=0) = M_0^A$, $m_z^A(t=0) = 0$, on a alors la solution :

$$m_z^A(t) = \frac{k_{BA}m_z^{B^{eq}}}{\rho_{1A}}\left[1 - e^{-\rho_{1A}(t-t_0)}\right]$$

Ainsi, le pool A s'approche de l'état d'équilibre à un taux ρ_{1A} $(= R_{1A} + k_{AB})$, qui est donc le taux de relaxation spin-réseau (où ici le réseau serait alors le pool d'eau libre A) en présence de l'onde RF saturant le pool B. Cela correspond à une constante de temps de l'ordre de T_{1A} si k_{AB} est négligeable. On peut alors dériver le PTR et l'exprimer en fonction du temps de saturation :

$$PTR = \frac{M_0^A - M_z^A(t_{sat})}{M_0^A} \qquad \text{IV. 2-8}$$

$$PTR = \frac{k_{BA}\alpha M_0^B}{(R_{1A} + k_{AB})M_0^A}\left[1 - e^{-(R_{1A}+k_{AB})t_{sat}}\right] \qquad \text{IV. 2-9}$$

$$PTR = \frac{\alpha \,.\, k_{AB}}{R_{1A} + k_{AB}}\left[1 - e^{-(R_{1A}+k_{AB})t_{sat}}\right] \qquad \text{IV. 2-10}$$

Où $t_{sat} = t - t_0$ est le temps de saturation appliqué par la RF,
et $\alpha = -m_z^{B^{eq}}/M_0^B = \omega_1^2/(\omega_1^2 + pq)$ le ratio de saturation du pool B. Pour passer de la seconde égalité à la troisième il suffit de se rappeler qu'à l'équilibre, les groupes d'hydrogènes en échange respectent la condition suivante : $k_{AB}M_z^B = k_{BA}M_z^A$.

Ces équations permettent d'illustrer que le PTR dépend de la concentration des hydrogènes échangeables du soluté et du taux d'échange chimique desdits hydrogènes, ainsi que de l'efficacité de saturation du pool B et du T_1 de l'eau. Dans des conditions *in vivo*, le PTR est aussi relié à l'eau des tissus. De plus, à taux d'échange élevé, des concentrations des hydrogènes en échange et un haut champ magnétique (R_{1A} faible), k_{AB} peut devenir comparable à R_{1A} et l'échange des hydrogènes de l'eau vers le soluté sera alors d'importance.

IV.3. Contributions au signal CEST

IV.3.1. Transferts d'aimantation

Le CEST est inclus dans une famille de modalité IRM qu'on appelle « transfert d'aimantation ». Les expériences de transfert d'aimantation ont depuis longtemps été appliquées à l'étude des petites molécules et des protéines. Au cours des années, le transfert d'aimantation s'est petit à petit développé et a été utilisé pour étudier les tissus puis par la suite servi à l'imagerie *in vivo*. Dans les tissus, les voies de transfert d'aimantation sont complexes et impliquent souvent à la fois des échanges chimiques et des effets de relaxation croisée, que ce soit simultanément ou séquentiellement. Dû à la nature très similaire de ces voies d'échange il est très difficile de les séparer (Bryant 1996; van Zijl et al. 2003). Afin de bien comprendre les expériences CEST et de contraste de transfert d'aimantation (MTC pour *Magnetization Transfer Contrast*) et leur relation, il est nécessaire de connaître les bases du transfert de polarisation entre noyaux.

Comme nous l'avons vu précédemment, l'application d'une onde RF va saturer des hydrogènes. Cette saturation peut être transférée entre molécules si ces hydrogènes sont physiquement en échange, c'est ce qui nous permet de bénéficier de l'effet CEST. Cependant, il existe un autre mécanisme qui permet le transfert de polarisation même si les hydrogènes ne sont pas en échange. Cela se produit

lorsqu'il existe un couplage dipolaire à travers l'espace entre des spins voisins, ce qui permet aux spins de se relaxer non seulement en T_1 mais aussi avec une vitesse de relaxation croisée beaucoup plus rapide.

De façon quelque peu simplifiée nous distinguerons trois cas de transfert d'aimantation : MTC, CEST et NOE (pour *Nuclear Overhauser Enhancement*). Le terme MTC réfère à des transferts d'aimantation entre des systèmes avec des T_2 courts (c'est-à-dire des structures semi-solides, ou des macromolécules). Le CEST, détaillé précédemment, renvoie à des transferts d'aimantation entre des systèmes avec des T_2 courts (structures mobiles, chaînes de protéines et petits peptides) et l'eau, via des échanges chimiques relativement lents. L'effet NOE quant à lui, comprend le transfert d'aimantation entre des systèmes avec un long T_2 et l'eau via la relaxation croisée et/ou un transfert différé par échange (van Zijl et Yadav 2011). Ces différents types de transfert sont récapitulés **Fig.IV.7**.

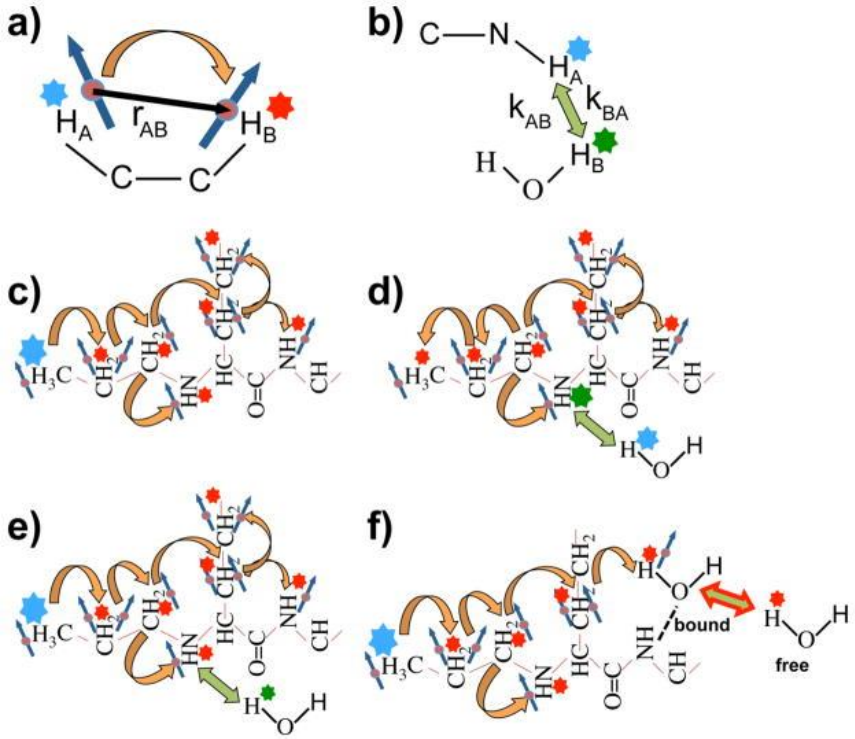


Figure IV-7: Nomenclature et terminologie des différents types de transfert d'aimantation, d'après (van Zijl et al. 2018)

Etoile bleue : Application de la RF, Etoile rouge : transfert d'aimantation par couplage dipolaire, Etoile verte : transfert d'aimantation par échange d'hydrogènes. a) Transfert par relaxation croisée (flèche orange) entre hydrogènes ayant un couplage dipolaire, b) Effet CEST, c) Effet MTC par couplage dipolaire, d) Effet NOE relayé par échange chimique, e) Effet rNOE, f) Effet NOE intramoléculaire relayé

IV.3.1.1. MTC

L'imagerie conventionnelle MTC repose sur l'application d'une impulsion de saturation RF à une fréquence bien au-delà de la fréquence de l'eau libre (>10 ppm) qui va engendrer une diminution du signal de l'eau libre. Ce phénomène a été découvert à la fin des années 80 par Wolff et Balaban (Wolff et Balaban 1989). Cet effet repose sur l'application lointaine d'une RF, qui, bien que n'affectant pas les hydrogènes des molécules mobiles, va partiellement saturer le pool d'hydrogènes des tissus semi-solides avec un T_2 très court et possédant un couplage dipolaire (comme les membranes ou les gaines de myélines). La résonance de ces tissus est tellement large qu'ils peuvent être saturés à des fréquences situées au-delà de la gamme spectrale habituelle des hydrogènes dans les liquides. De plus, cette saturation peut entraîner un transfert de saturation à travers les molécules semi-solides et même à l'eau.

Cette méthode est par exemple utilisée dans le suivi de la sclérose en plaques, dans laquelle elle permet la détection des lésions (**Fig.IV.8**).

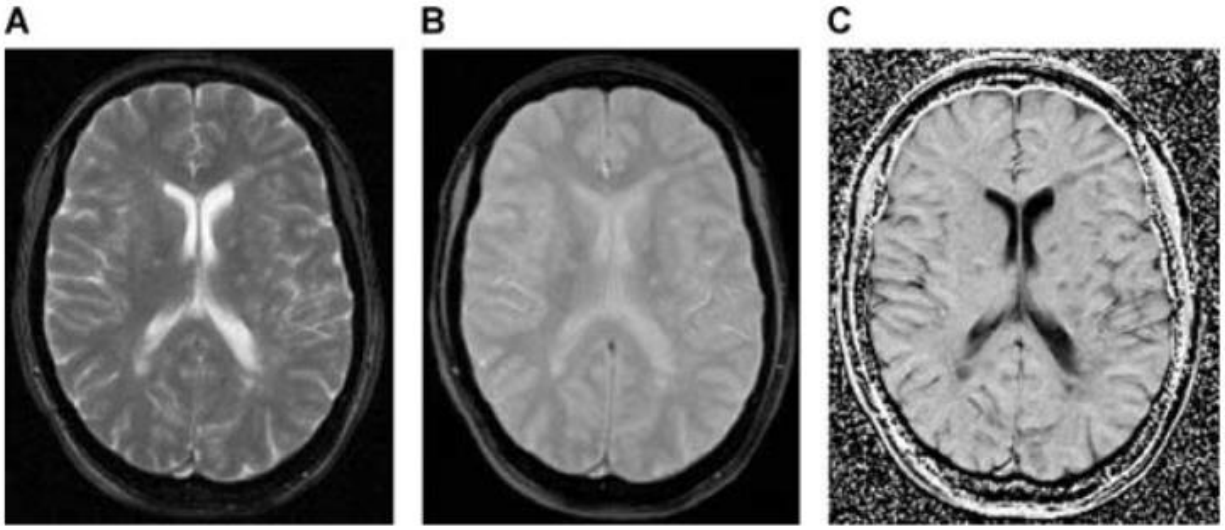


Figure IV-8: Application de l'IRM-MTC (Filippi et Agosta 2007)

Images d'écho de gradient avec (A) et sans (B) impulsion de saturation et la carte du ratio de transfert d'aimantation en résultant (C) chez le cerveau d'un patient atteint de la sclérose en plaques

IV.3.1.2. NOE

L'effet NOE est un transfert de polarisation d'un pool de spins à un autre par relaxation croisée, due à l'existence d'un couplage dipolaire entre ces deux pools (Solomon 1955). Cet effet propage la polarisation des spins le long de la molécule et est à la base du phénomène de MTC. Ses effets sur les macromolécules impactent également l'effet CEST et seront discutés dans la partie suivante. Il est important de noter que ce processus doit être plus rapide que le T_1 pour être mesurable. On peut

distinguer plusieurs types d'effet NOE, selon le processus de transfert d'aimantation : NOE, NOE relayé par des échanges chimiques, et échanges chimiques relayés par NOE (rNOE) (**Fig.IV.7**).

Après la saturation d'un hydrogène, sa polarisation peut être transférée à ses voisins par le couplage dipolaire et la relaxation croisée. Dans le cas d'une macromolécule, si elle est suffisamment peu mobile alors ces effets NOE peuvent être relayés le long de la macromolécule avec une efficacité du transfert de saturation qui augmente lorsque la mobilité de la molécule diminue.

Dans le cas où les hydrogènes de l'eau sont saturés, ils peuvent eux-mêmes être transférés aux macromolécules puis transférer l'aimantation le long de la macromolécule grâce aux effets NOE (NOE relayé par des échanges chimiques) (Mori, Berg, et van Zijl 1996).

Le cas inverse, et qui nous intéresse plus particulièrement en CEST, serait d'avoir un hydrogène d'une macromolécule saturé. L'aimantation sera alors transmise le long de la macromolécule par les effets NOE jusqu'à un hydrogène échangeable puis ainsi transférée avec l'eau libre. C'est ce que l'on appelle le transfert d'aimantation par échange chimique relayé par NOE, ou rNOE (**Fig.IV.9**).

Bien qu'il y ait de fortes similitudes entre les effets NOE et MTC, on peut relever quelques différences. La plus notable concerne la valeur du T_2. En effet, lors de transfert d'aimantation à partir de protéines mobiles (effet NOE) le T_2 sera relativement long, et, dans le cas d'un transfert depuis un pool de molécules semi-solides (MTC) il sera plutôt court. De plus, l'effet NOE relayé par échange chimique joue probablement un rôle plus important dans le transfert d'aimantation à partir de protéines mobiles qu'à partir de molécules semi-solides (Mori, Abeygunawardana, et al. 1996; van Zijl et al. 2003), bien que le processus sous-jacent et l'effet des différentes contributions des molécules soient encore méconnus et étudiés.

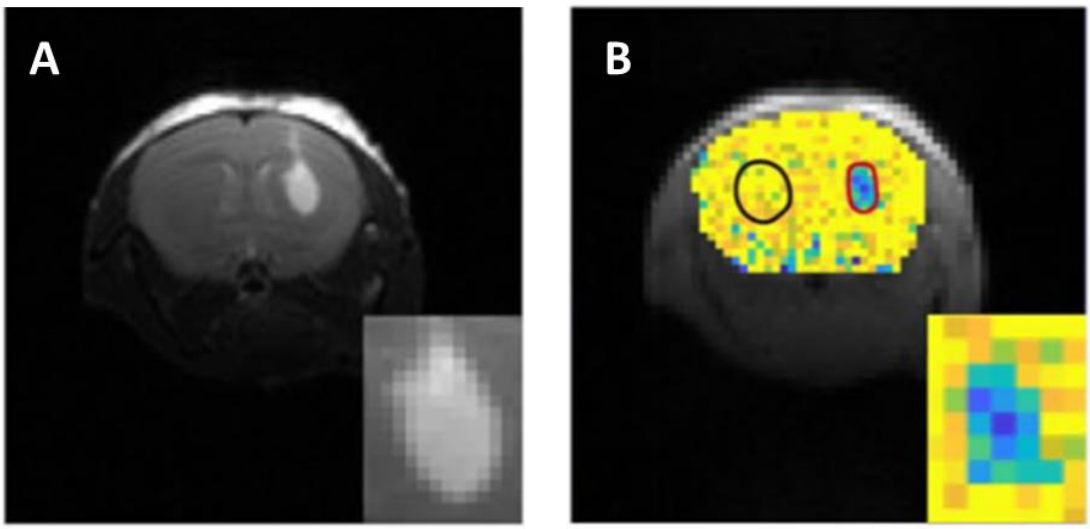


Figure IV-9: Observation de l'effet NOE (adapté de (Huang et al. 2021)

Démonstration de l'observation de l'effet rNOE dans un cerveau de souris. Acquisition pondérée T_2 (A) et pondérée rNOE (B). Un gel a été injecté dans le striatum de la souris, en hypo-intensité sur l'image A. On peut ainsi constater les différences entre les côtés controlatéral et ipsilatéral en imagerie T_2 et rNOE.

IV.3.2. Mesure des effets de saturation

Afin de mesurer les effets de saturation, on acquiert un Z-spectrum (Bryant 1996; Guivel-Scharen et al. 1998) où le signal de l'eau pendant la saturation (S_{sat}) est normalisé par le signal de l'eau sans saturation (S_0) et présenté pour chaque fréquence de saturation (**Fig.IV.10**). On aperçoit alors une réduction du signal aux fréquences de résonance des hydrogènes du soluté étudié. Afin d'éviter toute confusion future, on peut remarquer que les Z-spectra sont représentés avec la fréquence de résonance des hydrogènes de l'eau libre égale à 0 ppm. Cependant, dans les spectres RMN la fréquence de l'eau est autour de 4,75 ppm dû à l'utilisation du tétraméthylsilane (TMS). Par convention l'axe des abscisses et inversé sur le Z-spectrum, on trouvera donc les fréquences positives sur la gauche.

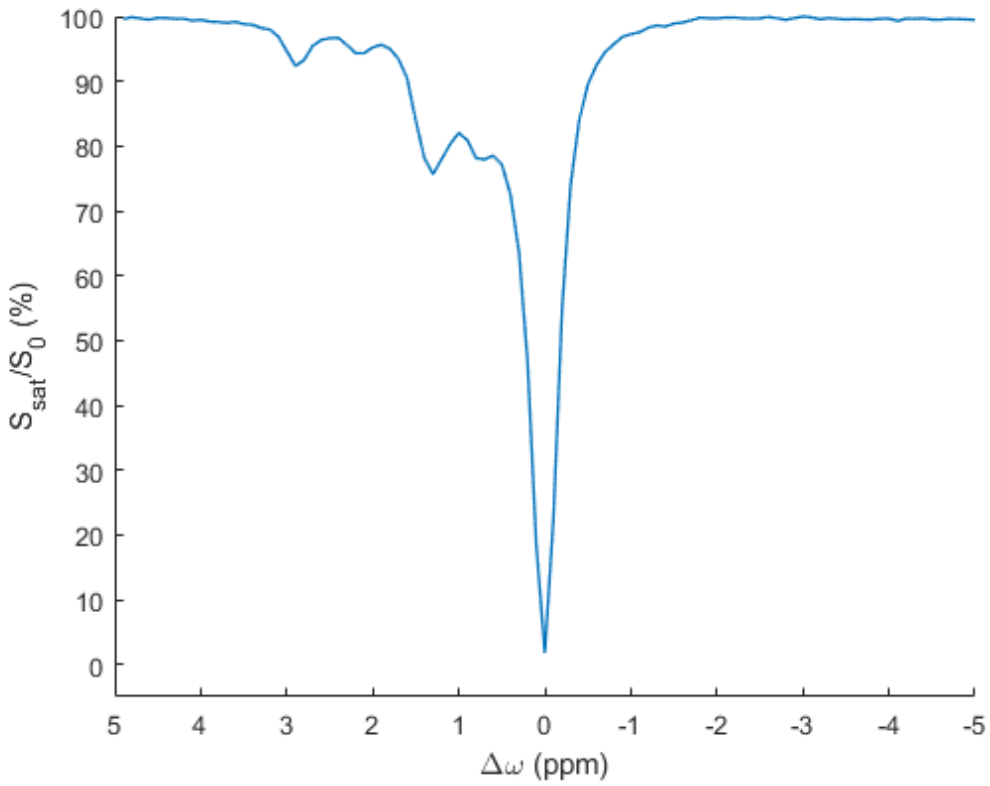


Figure IV-10: Z-spectrum d'une molécule de glucose

Acquisition d'un Z-spectrum dans un fantôme de glucose. On observe clairement les effets CEST en jeu, ici aux alentours de 0,8 1,2 2,1 et 2,9 ppm. Le spectre est normalisé par l'acquisition du signal de référence S_0 à une fréquence éloignée de celle de l'eau (20ppm).

Puisque l'IRM CEST et MTC utilisent tous les deux la saturation d'hydrogènes moléculaires et reposent sur la détection du signal de l'eau, l'image résultante est un mélange de ces deux phénomènes lorsque l'on sature dans la gamme des fréquences des hydrogènes des molécules de soluté (métabolites, protéines, peptides, lipides etc…). Ceci rend l'interprétation de l'image complexe. En effet, il est difficile de différencier les contributions MTC et CEST dans un Z-spectrum. De plus, la contribution des différents groupes d'hydrogènes moléculaires pour chaque fréquence dépend également de l'intensité du champ magnétique B_0, de l'intensité du B_1, de la durée d'application de l'onde RF (ainsi que du nombre de pulses et de leur forme dans le cas d'une onde RF non continue). Cela dépend aussi des propriétés de relaxation des pools d'hydrogènes et de leur taux d'échange. On peut cependant tirer quelques avantages de ces paramètres, en jouant par exemple sur l'intensité du B_1 et la durée d'application de la RF pour être majoritairement sensible à des molécules en particulier.

IV.3.2.1. Effet de saturation directe

Le profil spectral de l'impulsion de saturation RF n'étant jamais parfait (dû à la présence des lobes secondaires), la saturation centrée sur la fréquence de résonance de la molécule d'intérêt va inévitablement affecter, dans une certaine mesure, l'aimantation des hydrogènes de l'eau libre. Cet effet sera d'autant plus important que la fréquence visée sera proche de celle de l'eau ou lors de l'utilisation de B_1 élevé et le signal CEST mesuré s'en retrouvera diminué. Pour s'affranchir de cet effet, au lieu de comparer le signal de l'eau saturé à $+\Delta\omega$ à celui sans saturation, on peut le comparer au signal de l'eau saturé à $-\Delta\omega$. Cela suppose que l'effet de saturation direct est symétrique autour de la fréquence de résonance de l'eau. Cette approche de reconstruction est la métrique CEST la plus utilisée et est appelée analyse de ratio asymétrique de transfert d'aimantation, ou MTR_{asym} (**Fig.IV.11**). Par définition : $MTR = 1 - S_{sat}/S_0$. D'où :

$$MTR_{asym}(\Delta\omega) = MTR(\Delta\omega) - MTR(-\Delta\omega)$$

$$MTR_{asym}(\Delta\omega) = \frac{S_{sat}(-\Delta\omega)}{S_0} - \frac{S_{sat}(\Delta\omega)}{S_0}$$

Où $S_{sat}(\Delta\omega)$ et $S_{sat}(-\Delta\omega)$ sont le signal mesuré avec application de l'onde RF à $+\Delta\omega$ et $-\Delta\omega$, respectivement, et S_0 est le signal mesuré sans saturation RF. Il faut cependant garder à l'esprit que tous les effets de transferts d'aimantation qui ne sont pas symétriques par rapport à la fréquence de résonance de l'eau libre vont quand même contribuer au signal.

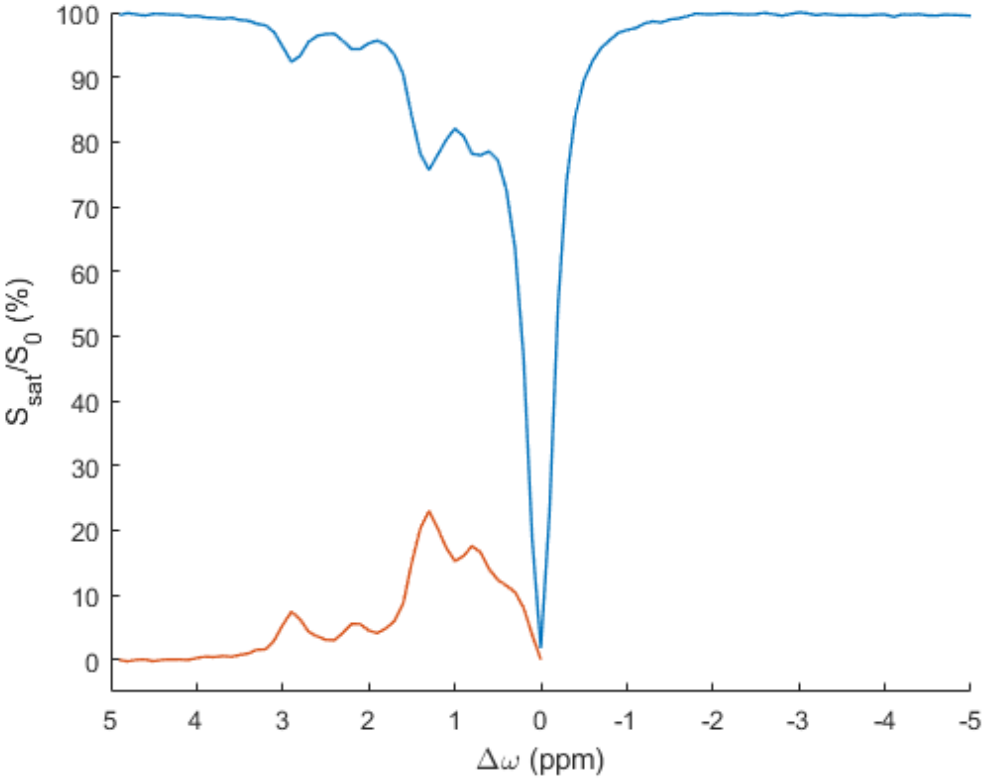


Figure IV-11: visualisation du ratio asymétrique de transfert d'aimantation

Zspectrum (bleu) acquis dans un fantôme de glucose et le MTRasym correspondant (orange) où

$$MTR_{asym}(\Delta\omega) = \frac{S_{sat}(-\Delta\omega)}{S_0} - \frac{S_{sat}(\Delta\omega)}{S_0}$$

IV.3.2.2. Interactions des différents transferts d'aimantation

Contribution des effets MTC

Dans les tissus, le processus d'échange entre le très large pool MTC de macromolécules (avec $T_2 \sim ms$) et le pool d'eau libre doit être pris en compte. Dans le domaine de l'IRM-MTC, il est communément supposé que le profil MTC du pool macromoléculaire est symétrique autour de l'eau à 0 ppm (Morrison, Stanisz, et Henkelman 1995). Cependant depuis quelques années, de récentes études montrent que dans les tissus, l'effet MTC serait légèrement asymétrique, probablement à cause de la contribution des hydrogènes aliphatiques qui réduisent le déplacement chimique moyen dans les tissus (Hua et al. 2007; Ng et al. 2009; Pekar et al. 1996; Swanson et al. 2017). L'ajout d'un tel pool engendre une atténuation globale apparent du signal qui devient rapidement dominante à des puissances de saturation élevées. On observe par exemple dans des études CEST dans le cerveau un effet MTR_{asym} négatif, probablement dû à ces effets MTC sous-jacents (Zhou, Payen, et al. 2003). Il est intéressant de noter que les paramètres concernant le MTC tels que la fraction de semi-solides

présents et le taux d'échange sont indépendants du champ B_0, et que le temps de relaxation T_2 des macromolécules est si court qu'il n'y a pas d'effet avec le champ B_0.

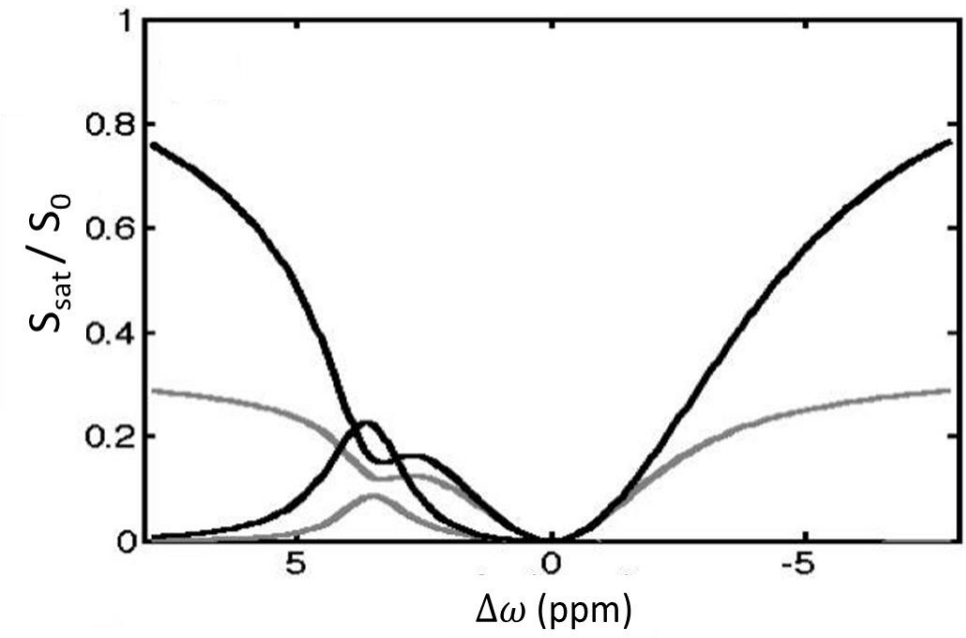


Figure IV-12: Illustration du transfert d'aimantation des macromolécules sur la mesure CEST (adapté de (Desmond et Stanisz 2012))

Simulations des Zspectra et MTRasyms basées sur un système à deux pools (soluté et solvant, noir) et sur un système à trois pools prenant en compte le signal MTC (soluté, solvant et MTC, gris). On voit ainsi que le pool MTC contribue à la diminution du signal CEST.

Contribution des effets rNOE

Rapidement, il a été réalisé qu'en plus des effets inhérents de MTC dont nous venons de discuter et qui viennent complexifier les expériences CEST, il existe des baisses de signal sur le Z-spectrum acquis *in vivo*. En effet, de nombreuses molécules possédant des groupes –CH et –CH_2 peuvent aussi participer au transfert d'aimantation via la relaxation croisée, via son relai par des échanges ou les effets rNOE.

Ling et al furent les premiers à publier leurs observations concernant des pics supplémentaires à -1 et -2.6 ppm sur un Z-spectrum acquis dans le cartilage (Ling et al. 2008). Dès lors, le nom d'effet NOE a commencé à être utilisé pour parler du transfert d'aimantation de molécules mobiles dont le déplacement chimique est compris entre -1 et -4 ppm. Ces effets ont aussi été observés chez l'animal

et chez l'homme. Cela a été le cas dans des expériences sur des cellules cancéreuses et dans le cerveau où un minimum local a été reporté entre -2,0 et -3,5 ppm. Cette plage de fréquences correspond à la région aliphatique où il n'y a d'ailleurs pas de sites en échange chimique identifiables. Puisque la concentration du cerveau en lipides est très faible, l'origine principale de ces atténuations est la contamination du signal par saturation directe des lipides du crâne (qu'on appelle aussi artéfacts lipidiques (Sun, Zhou, et al. 2005)). Des macromolécules mobiles résonnent tout de même dans cette gamme de fréquences mais elles apparaissent plutôt comme une large ligne continue, probablement à cause des interférences entre les effets NOE et MTC (Jones et al. 2013). Plus récemment, des effets rNOE à -1.6 ppm ont été rapportés par Zhang *et al* (Zhang et al. 2016; Zhang, Wang, Jin, et al. 2017) et associés à la phosphatidylcholine (phospholipide favorisant notamment l'intégrité des membranes cellulaires).

Contribution des métabolites endogènes au signal CEST

Bien sûr, il ne faut pas oublier que lors de l'application d'une onde RF, le groupe d'hydrogènes de la molécule ciblée ne sera sans doute pas le seul à être saturé. En effet, d'autres hydrogènes résonant à une fréquence proche peuvent être saturés et ainsi, un transfert d'aimantation peut aussi avoir lieu par échange chimique d'autres espèces telles que des protéines, peptides, sucres et autres métabolites… Ce sont typiquement eux aussi des pools CEST. Ainsi, l'importance d'une atténuation du signal observée lors de l'acquisition d'un Z-spectrum va dépendre d'un pool donné et donc de son taux d'échange avec l'eau. Taux qui dépend lui-même de la température, du pH et de la mobilité de la molécule. Les effets de ces hydrogènes en échange sont généralement visibles dans la gamme de fréquences supérieures à celle de l'eau (côté positif du spectre). Les Z-spectra obtenus *in vitro* et *in vivo* différeront donc légèrement au vu des contributions des métabolites présents *in vivo* dans la région d'intérêt.

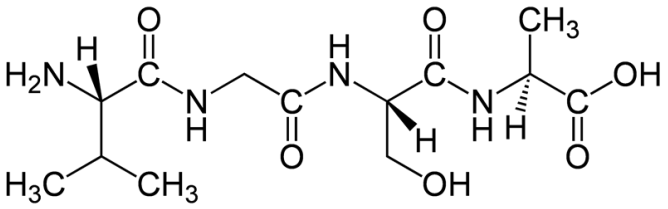
IV.4. CEST ENDOGENE

Comme nous l'aurons compris, l'imagerie CEST est en principe applicable à n'importe quel soluté possédant une espèce chimique avec un hydrogène échangeable, et en échange avec l'eau. Depuis cette dernière décennie, l'imagerie CEST s'est beaucoup développée mais la majorité de ses applications restent vouées à l'étude du corps humain. C'est pourquoi les agents CEST majoritairement utilisés sont des métabolites que l'on trouve dans le corps humain ou bien des substances chimiques administrées de façon externe et utilisées comme agents de contraste.

Les types chimiques de groupes d'échange de protons pouvant servir d'agents CEST sont globalement restreints aux groupes amides (-NH), amides (-NH_2) ou hydroxyles (-OH). Ces groupes peuvent être endogènes (présents dans les tissus), ou exogènes (introduits comme agents de contraste). Au vu du cadre dans lequel s'inscrit cette thèse, nous nous attarderons principalement dur les agents CEST endogènes et laisserons de côté les agents CEST exogènes.

IV.4.1. Amides –NH

Les protons amides, en forte concentration *in vivo* dans les peptides ou protéines présents dans les tissus, sont à la base de l'imagerie CEST des amides ou APT (*amide proton transfer*). Ils possèdent un déplacement chimique généralement présent à 3,5 ppm par rapport à l'eau libre, qui correspond à la résonance des protons amides aux alentours de 8,3 ppm dans le spectre RMN (Zhou, Lal, et al. 2003). De plus, du fait de leur taux d'échange faible (de l'ordre de 30 Hz (Zhou et al. 2004)), on peut s'approcher autant que possible de l'état de saturation complète en appliquant une onde RF de faible puissance mais avec un temps de saturation long.



Exemple de peptide

Depuis sa première utilisation en 2003, l'imagerie APT a été appliquée dans de nombreuses études. Les premières études *in vivo* ont été mis en œuvre par le groupe de Peter Van Zijl au début des années 2000 avec pour but d'étudier l'évolution de l'ischémie cérébrale dans le cerveau de rats (Zhou, Payen, et al. 2003). En effet, l'ischémie cérébrale va altérer le métabolisme de l'oxygène ainsi que modifier le pH des tissus. Par conséquent, les variations de pH induites par l'ischémie vont engendrer des variations dans le taux d'échange des métabolites et donc entraîner une diminution du signal APT dans les tissus ischémiques. L'imagerie APT a par la suite été développée pour l'imagerie du pH en se rendant sensible aux échanges chimiques dépendant du pH entre les protons amides des protéines/peptides endogènes et les protons de l'eau (Sun et al. 2016; Sun et Sorensen 2008; Y. Wu et al. 2018; Zhou, Payen, et al. 2003; Zong et al. 2014). En parallèle de ces travaux marquant l'essor de l'imagerie APT, des recherches ont montré que cette méthode pouvait être considérée comme une technique sensible et non invasive de mesure du pH dans le contexte physiologique et pathologique (Jin et al. 2013; Jokivarsi et al. 2007; Sun, Wang, et Cheung 2012).

L'imagerie APT est aussi majoritairement utilisée en cancérologie. En effet, le développement de la tumeur va impliquer un métabolisme glycolytique plus important (effet Warburg (Warburg, Wind, et Negelein 1927)) mais aussi une augmentation intracellulaire en protéines et en peptides, tout en gardant un niveau de pH sensiblement égal au niveau physiologique (Griffiths 1991; Gillies et al. 2004).

Ainsi, la concentration des protéines dans les régions tumorales est bien plus élevée que dans les tissus alentours. Ces fortes concentrations augmentent alors les échanges intracellulaires, menant à une augmentation le contraste APT. L'imagerie APT est donc autant, voire plus, pertinente qu'une méthode d'imagerie classique pour l'étude de tumeurs. En routine clinique on peut par exemple utiliser une séquence FLAIR (*Fluid Attenuated Inversion Recovery*) qui va supprimer le signal du LCR et faire apparaître les lésions de la substance blanche en hypersignal, ou encore utiliser une séquence pondérée T_1 avec du gadolinium (Gd) comme agent de contraste. L'efficacité de l'imagerie APT a ainsi pu être montrée pour grader des tumeurs (Zhao et al. 2013; Zhou et al. 2013; Togao et al. 2014; Park et al. 2015) (**Fig.IV.13**) ou encore différencier une région tumorale d'une zone œdémateuse (van Zijl et Yadav 2011). Elle a aussi montré qu'elle pouvait potentiellement fournir un biomarqueur d'imagerie précoce et sensible pour l'évaluation de la réponse tumorale à la radiothérapie (Zhou et al. 2011).

L'imagerie APT, bien que majoritairement appliquée à l'étude du cerveau, est aussi utilisée dans la détection de cancer du sein (Dula et al. 2013; Donahue et al. 2016) ou de la prostate (Cai et al. 2013; Jia et al. 2011). Cependant, étendre son application à d'autres zones du corps reste un défi à surmonter à cause de problèmes de mouvements.

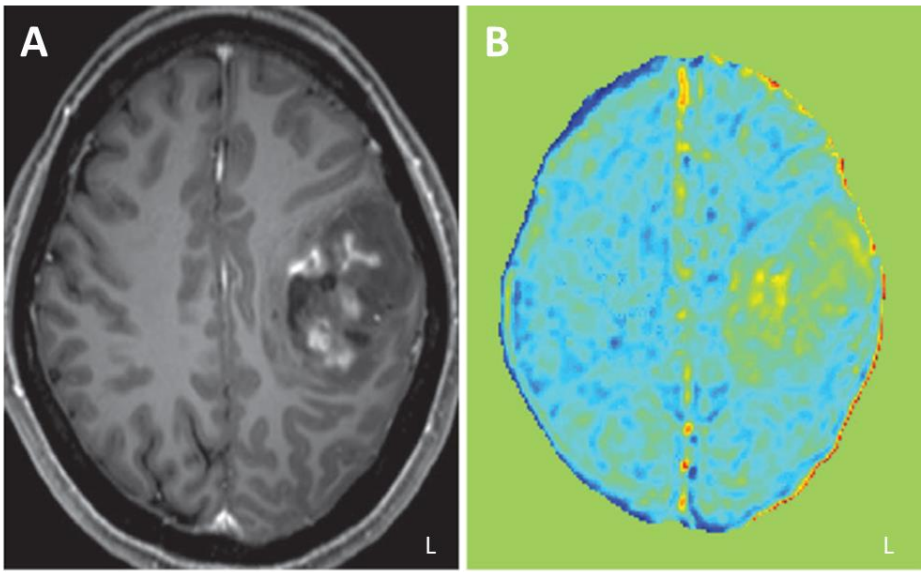


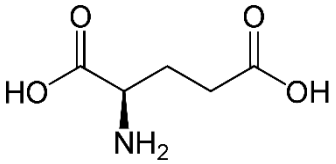
Figure IV-13: Application de l'imagerie APT à la stadification des tumeurs, adaptée (Park et al. 2015)

Acquisition du cerveau d'une femme de 45 ans avec une tumeur de stade 2 (oligodendrogliome de faible grade). (A) acquisition IRM pondérée T_1 qui démontre une masse solide dans le lobe frontal gauche. (B) image APT sur laquelle on observe clairement un signal plus élevé dans la partie cystique de la tumeur.

IV.4.2. Amines –NH_2

Les protons amines des acides aminés libres ou des chaînes de peptides ou protéines sont une autre classe importante d'agents CEST endogènes. Les métabolites endogènes possédant des groupes amines dont les protons sont en échange et dont les taux d'échanges sont compatibles pour l'imagerie CEST incluent quasi uniquement le glutamate (Glu) et la créatine (Cr).

IV.4.2.1. Glutamate



Acide glutamique

Le glutamate et l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) sont les principaux neurotransmetteurs excitateurs et inhibiteurs du système nerveux central (SNC), respectivement. Ils sont probablement impliqués dans presque toutes les fonctions de traitement des signaux du SNC et sont également altérés dans de nombreuses maladies du SNC (Chojnacka-Wójcik, Kłodzinska, et Pilc 2001; Petroff 2002; Paul et Skolnick 2003; Harrison 2008). La cartographie *in vivo* du glutamate pourrait ainsi fournir des informations précieuses pour les études neurologiques et les études des maladies neurodégénératives. Il y a quelques années, Cai a démontré que le glutamate présente un effet CEST (gluCEST) observé à 2,5-3 ppm en aval de l'eau libre et dépendant du pH et de sa concentration et montré son application à l'étude de l'AVC (**Fig.X**) (Cai et al. 2012). L'imagerie gluCEST a été utilisée pour étudier la MA dans un modèle de souris APP/PS1. Comparées aux souris sauvages contrôles, les souris MA ont montré une réduction notable du contraste gluCEST dans toutes les zones du cerveau (Haris, Nath, et al. 2013). La non-uniformité des différences de contraste observée chez les souris MA parmi les différentes régions cérébrales pourrait permettre une meilleure compréhension de l'implication de ces régions aux différents stades de la maladie, ce qui n'est aujourd'hui pas possible en IRM conventionnelle. Si on pousse le raisonnement, la cartographie gluCEST pourrait servir de marqueur de substitution *in vivo* pour évaluer l'efficacité thérapeutique de certains traitements (Perot 2021). Il existe d'autres applications neurologiques potentielles de l'imagerie gluCEST, comme l'étude de l'occlusion de l'artère cérébrale moyenne (Cai et al. 2012) (**Fig.IV.14**) ou bien de l'AVC (Zaiss et al. 2014). Ces études ont permis d'observer des différences significatives entre les côtés ipsilatéral et contralatéral dans le cerveau de rats. La cartographie *in vivo* du glutamate dans la moelle épinière chez l'homme a également été démontrée, avec une application potentielle comme biomarqueur pour les troubles neurologiques liés à la moelle épinière et les lésions de la moelle épinière (Kogan, Singh, et al. 2013). Aussi, des cartes de glutamate acquises dans le cerveau de volontaires sains a montré qu'il était possible de distinguer une différence de distribution du glutamate entre matière blanche et matière grise et a démontré la faisabilité de cartographier *in vivo* les variations relatives de pH ainsi que des concentrations de glutamate (Nanga et al. 2018). Enfin, il ne faut pas oublier l'effet que le transfert d'aimantation des macromolécules peut

avoir sur le signal gluCEST, notamment sa contribution proche des fréquences de résonance (Hua et al. 2007). Une récente étude menée par la même équipe de New Dehli a ainsi montré que s'affranchir de la contamination du signal due à l'effet MTC permettait à l'imagerie gluCEST d'obtenir une meilleure spécificité du glutamate. Ces résultats ont été démontrés à la fois dans un modèle de tumeur cérébrale chez le rat et également dans le cerveau de volontaires sains (Debnath et al. 2020). L'imagerie gluCEST est également l'une des spécialités de notre équipe au laboratoire. Elle a été développée à haut champ (11,7 T) et appliquée à la caractérisation de modèles animaux ainsi qu'à l'évaluation de thérapies (Pepin 2018; Perot 2021).

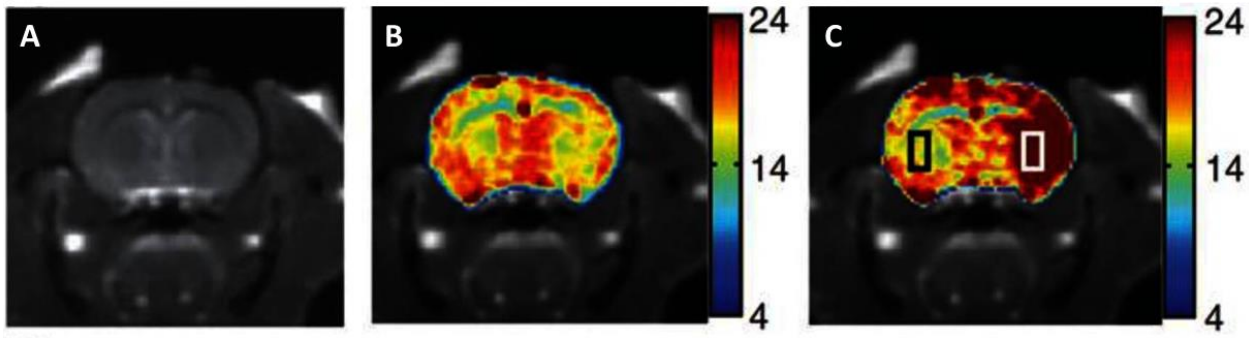


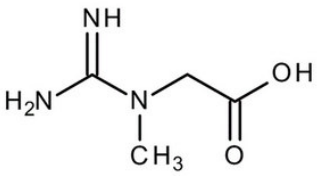
Figure IV-14: Cartographie gluCEST d'un cerveau de rat dans l'AVC (Cai et al. 2012)

(A) image anatomique du cerveau de rat. (B, C) cartographies gluCEST acquises 1h et 4,5h après induction de l'AVC, respectivement. On observe une augmentation du signal gluCEST dans le côté ipsilatéral (signal doublé à 4,5h par rapport à 1h après l'occlusion) tandis que le signal dans le côté controlatéral reste stable, rectangles noir et blanc respectivement.

Ainsi, l'imagerie gluCEST permet de fournir de nouvelles explications concernant le rôle du glutamate dans le SNC et servir de biomarqueur pour le diagnostic et le traitement des troubles du SNC. De façon similaire au signal APT, le gluCEST est aussi sensible aux variations du niveau de pH et pourrait être un indicateur fiable des changements de pH.

IV.4.2.2. Créatine

La créatine est un autre métabolite qui possède des protons amine échangeables. La créatine joue un rôle majeur dans le stockage et la transmission de l'énergie liée aux phosphates. Elle est le substrat/produit de la créatine kinase qui catalyse la réaction réversible de créatine en phosphocréatine (PCr). Pendant l'effort musculaire, la PCr est consommée pour maintenir la réserve d'ATP, ce qui entraîne une augmentation de la concentration en créatine. Ainsi, la créatine peut être utilisée comme biomarqueur du métabolisme



Molécule de créatine

énergétique musculaire dans des conditions saines comme pathologiques. L'effet CEST de la créatine entre ses groupes amines et l'eau libre (CrCEST) a été démontré par plusieurs équipes peu après les débuts de l'imagerie CEST (Sun et al. 2008; Haris et al. 2012). En effet, les protons en échange résonnent à environ ~ 1.8 ppm de l'eau libre, et l'effet CEST de la créatine est linéairement proportionnel à sa concentration (dans les conditions d'un pH physiologique). De plus, l'effet CEST de la créatine peut être distingué de l'effet CEST lié aux autres métabolites impliqués dans la réaction de la créatine kinase (PCr, ATP, ADP) grâce à leurs taux d'échange différents (Haris et al. 2012).

Afin de démontrer la pertinence de l'imagerie CrCEST, elle a été comparée à la méthodologie usuellement utilisée pour étudier le métabolisme oxydatif du muscle squelettique, à savoir : la spectroscopie par résonance magnétique du ^{31}P (Neubauer et al. 2000; Beer et al. 2002; Hu et al. 2006). Cette méthode permet en effet de rendre compte des concentrations de PCr, du phosphate inorganique et du pH musculaire (Hoult et al. 1974; Joan Dawson, Gadian, et Wilkie 1978; Ingwall 1982; Kemp, Meyerspeer, et Moser 2007), bien qu'elle souffre d'une faible résolution spatiale. Ainsi, une étude menée par Kogan (Kogan, Hariharan, et Reddy 2013), a permis de montrer une excellente corrélation entre ces deux méthodes. De la même façon, une forte corrélation a aussi été trouvée lors d'une étude menée sur le tissu du myocarde (Haris et al. 2014). Elle a permis de mettre en évidence que la contribution de la Cr était prédominante au signal CEST alors que les contributions de la PCr, de l'ATP et ADP étaient négligeables.

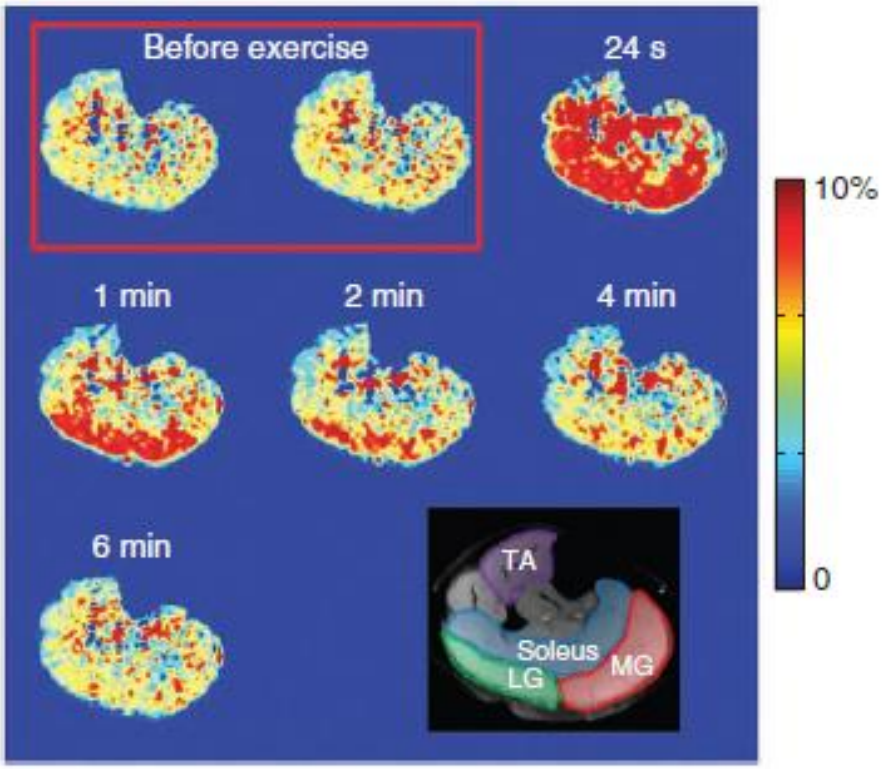


Figure IV-15: Cartographies CrCEST des changements induits par exercice dans le muscle squelettique (Haris et al. 2014)

Ces données in vivo *représentent les concentrations quantitatives de créatine dans le mollet humain avant (encadré rouge) et après exercice. On observe une augmentation du contraste CrCEST immédiatement après l'exercice, qui correspond à une élévation de la concentration en créatine, suivie d'un retour à la baseline. En bas à droite se trouve l'image anatomique du mollet superposée aux différents groupes musculaires.*

L'imagerie CrCEST a plus récemment été appliquée à l'étude des tumeurs cérébrales. Cai *et al.* ont ainsi montré que le contraste CrCEST était plus faible dans les régions tumorales que dans les régions saines et dont l'intensité diminuait avec la progression de la tumeur (Cai et al. 2015). Puis, dans une nouvelle étude, Cai *et al.* ont pu démontré la faisabilité de l'imagerie CrCEST à différencier des tumeurs d'agressivité différentes (Cai et al. 2017).

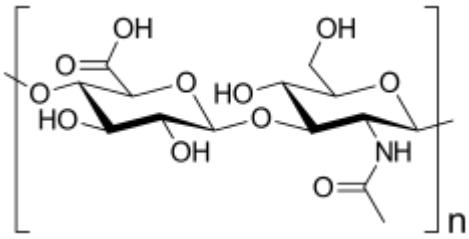
Ainsi, l'imagerie CrCEST pourrait permettre d'étudier de façon approfondie et non-invasive l'énergie musculaire et servir d'outil pour le diagnostic et le traitement des troubles musculaires. En plus de sa pertinence pour étudier sur le muscle squelettique, cette technique a aussi un futur prometteur en ce qui concerne ses applications aux études du myocarde et des tumeurs cérébrales.

IV.4.3. Hydroxyles –OH

Les protons mobiles des groupes hydroxyles sont aussi capables d'échanges avec l'eau libre (van Zijl et Yadav 2011). L'effet CEST en résultant est alors visible aux alentours de 1ppm. Plusieurs métabolites avec des protons hydroxyles échangeables ont été exploités en imagerie CEST tels que le glucose, le glycosaminoglycane (Gag) et le glycogène ainsi que le myo-inositol (Ins).

IV.4.3.1. Glycosaminoglycane

Le Gag est un constituant important du cartilage et est ainsi utilisé comme biomarqueur du cartilage des genoux ou des disques intervertébraux. En effet, sa diminution ou sa distribution anormale peuvent être utilisées pour évaluer les dommages du cartilage et sa dégénération (Li et al. 2011; Ling et al. 2008). L'imagerie conventionnelle du Gag avec des valeurs de T1rho quantitatives ou bien en utilisant un rehaussement du signal a cependant une spécificité limitée tandis que l'imagerie gagCEST a montré des quantifications de Gag prometteuses. Cependant, bien qu'il ait été reporté jusqu'à 20% d'asymétrie dans le cartilage à 3T, des études complémentaires ont montré qu'avec une correction correcte des inhomogénéités de B_0, le contraste gagCEST était négligeable principalement à cause des effets de saturation directe (Singh et al. 2012). Ainsi, en montant en champ (>7T), le décalage chimique est augmenté et mène à une diminution de la saturation directe de l'eau, rendant alors possible la cartographie de Gag en imagerie gagCEST.



Molécule de glycosaminoglycane

Il a ainsi été démontré que les estimations de distribution de Gag effectuées en gagCEST dans le cartilage de genoux à 7T étaient excellemment corrélées à celles obtenues en imagerie du sodium ^{23}Na (Schmitt, Zbýň, et al. 2011), gold standard de l'imagerie Gag (**Fig.IV.16**). De plus, ces changements biochimiques, visualisés *via* l'imagerie gagCEST, ont pu être associés à une échelle de douleur ressentie par les patients d'une façon bien plus fiable qu'avec l'imagerie anatomique classique (Lee et al. 2017).

En plus de son application dans les troubles du cartilage dans le genou, l'imagerie gagCEST a permis la détection de la dégénération de disques intervertébraux lombaires et cervicaux (Kim et al. 2011; Schleich et al. 2016). Une corrélation inverse a aussi été observée entre la teneur en Gag et le niveau de douleur du dos (Wada et al. 2017). Cependant, il a été constaté que la teneur en Gag dans les disques intervertébraux différait selon le sexe et l'indice de masse corporelle des volontaires sains (Müller-Lutz et al. 2016). Des études supplémentaires sont donc nécessaires afin d'investiguer la spécificité de l'imagerie gagCEST dans une large population clinique.

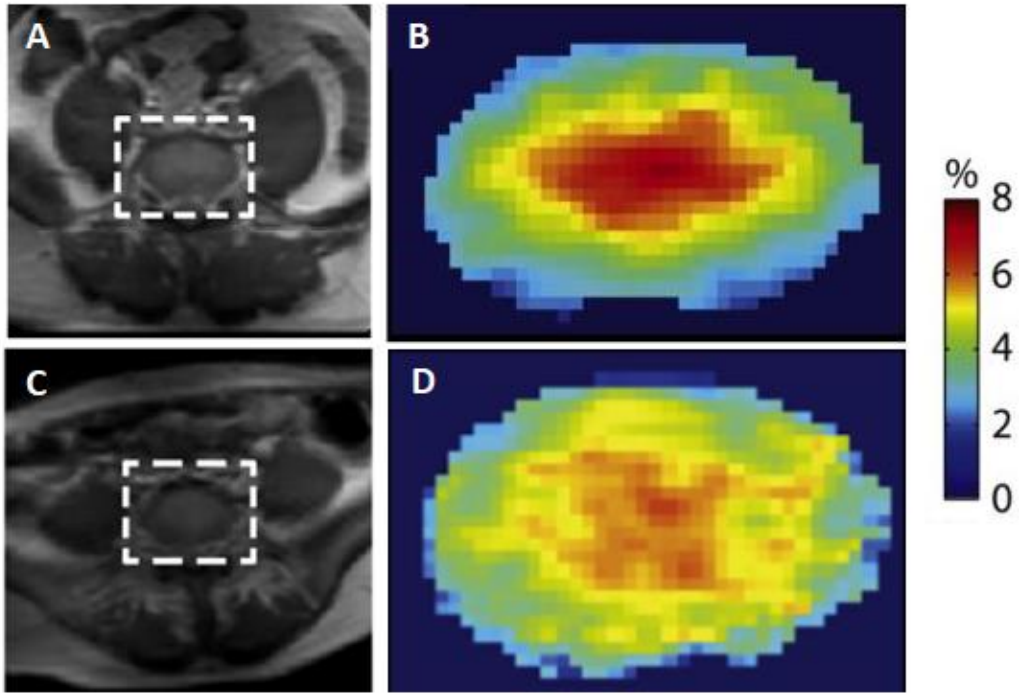
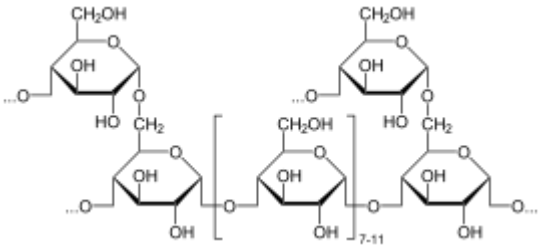


Figure IV-16: imagerie gagCEST de disque intervertébral (Kim et al. 2011)

(A) imagerie anatomique chez une volontaire saine (25 ans) de L5/S1. (B) imagerie gagCEST à 0.75ppm. L'effet gagCESt est plus intense au centre, il est corrélé aux régions du nucleus pulposus et de l'annulus fibrosus. En revanche chez le volontaire plus âgé (54 ans) aussi à L5/S1 (C), on observe un effet gagCEST diminué (D) par rapport au volontaire plus jeune dénotant une légère dégénération du disque.

IV.4.3.2. Glycogène



Molécule de glycogène composée de $(C_6H_{10}O_5)_n$

Le glycogène quant à lui est l'une des principales formes de stockage de glucose chez les mammifères et joue un rôle essentiel dans l'homéostasie systémique du glucose. Ainsi, des anormalités dans la concentration en glycogène ou de son métabolisme sont associés à de nombreux troubles physiologiques incluant notamment l'obésité, le diabète de type 2 et la résistance à l'insuline. La quantification de ce métabolite est donc en enjeu majeur. Jusqu'au début du XXème siècle, la spectroscopie du ^{13}C est appliquée en routine clinique comme méthode permettant d'estimer quantitativement les concentrations de glycogène. Toutefois, l'imagerie CEST a montré la possibilité de détecter les hydrogènes des groupes hydroxyles du glycogène à 0,5 -1,5 ppm de façon quantitative. Du fait de l'abondance de glycogène dans le foie, l'imagerie glycoCEST a été utilisée pour surveiller la dégradation du glycogène pendant la perfusion du foie *ex vivo* chez l'animal (van Zijl et al. 2007). L'effet glycoCEST a aussi été observé *in vivo* dans le mollet chez l'homme (Vinogradov, Sherry, et Lenkinski

2013) et dans les muscles lombaires pendant des études sur les disques intervertébraux (Kim et al. 2009, 2011). Jusqu'à présent, aucune étude glycoCEST *in vivo* sur le foie humain n'a été menée. En effet, ce genre d'étude est généralement gênée par le mouvement, les effets T2 et potentiellement une contamination des lipides.

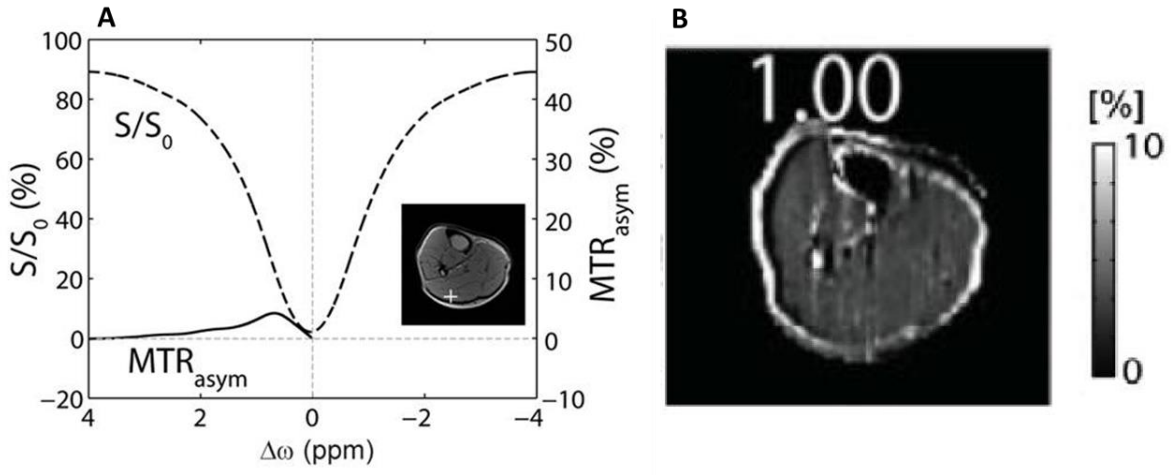
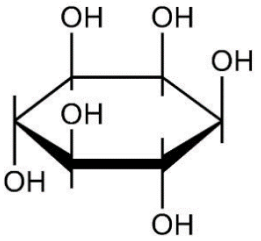


Figure IV-17: Application de l'imagerie glycoCEST au mollet humain (Kim et al. 2009)

Démonstration de la faisabilité de l'imagerie glycoCEST chez l'homme. (A) Z-spectrum acquis dans le mollet d'un volontaire sain, (B) cartographie glycoCEST à 1 ppm.

IV.4.3.3. Myo-inositol



Molécule de myo-inositol

Le myo-inositol est un autre agent CEST avec des hydrogènes de groupes hydroxyle en échange. Le myo-inositol est principalement localisé dans les cellules gliales, et fonctionne comme osmolyte. Il est néanmoins distribué non-uniformément dans le cerveau et sa concentration est altérée dans de nombreux troubles cérébraux notamment dans les stades précoces de la maladie d'Alzheimer (Von Bernhardi 2007). Les hydrogènes du myo-inositol en échange ont un taux d'échange aux alentours de 600 Hz et montrent une asymétrie CEST maximisée à 0,6 ppm (Haris et al. 2011). Il a ainsi été démontré au travers de cartographies chez des volontaires sains à 7T que l'effet MICEST était significativement plus élevée dans la matière blanche que dans la matière grise. Plus récemment, l'imagerie MICEST a été appliquée à un modèle souris d'Alzheimer dans lequel il a été observé une asymétrie MICEST 50% plus élevée dans les souris MA que dans les souris « sauvages », résultat confirmé par spectroscopie et immunohistochimie (Haris, Singh, et al. 2013). Une autre étude a quant à elle évalué la sensibilité du MICEST chez la souris MA et « sauvage » en utilisant du lipopolysaccharide comme épreuve d'inflammation aiguë (Yanez Lopez et al. 2019). Les résultats obtenus suggèrent que l'effet CEST observé est bien sensible à la réponse inflammatoire chez

les souris présentant une réponse microgliale prononcée. Ainsi, en tant que marqueur glial, l'imagerie MICEST pourrait être un biomarqueur pertinent pour de nombreux troubles neurologiques.

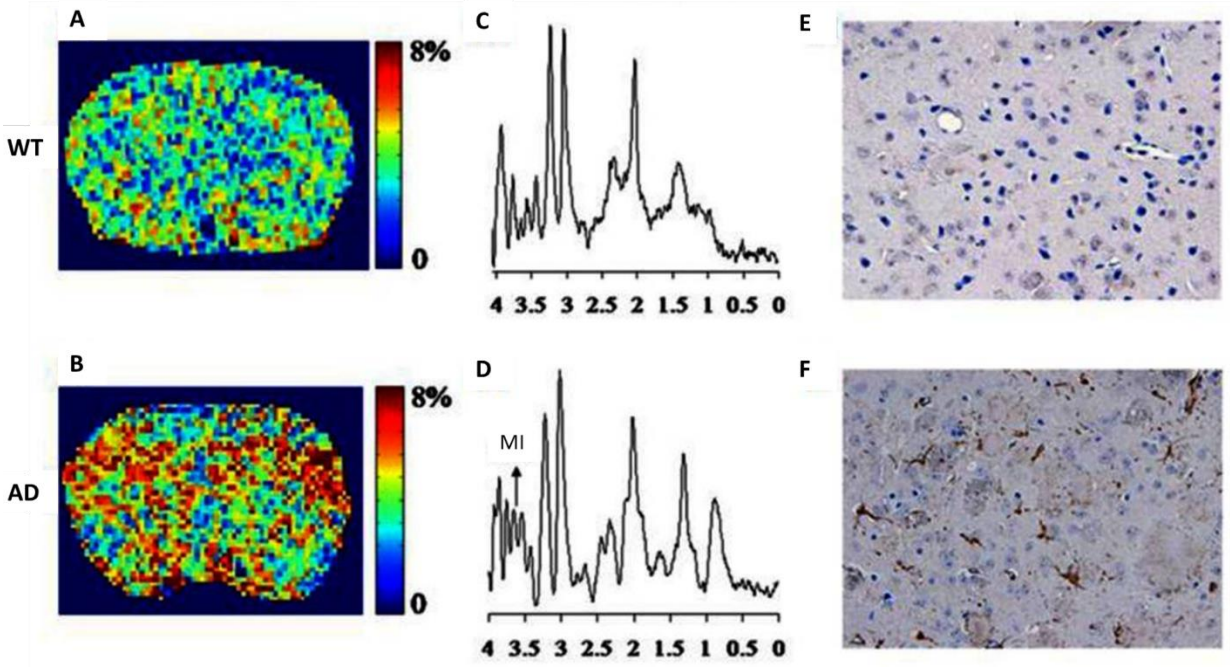
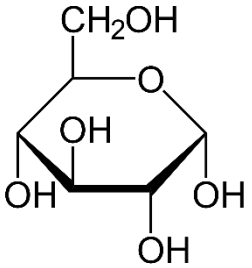


Figure IV-18: Distribution du myo-Inositol dans le cerveau de souris (Haris, Singh, et al. 2013)

Cartographie MICEST des distributions de myo-inositol dans le cerveau de souris de 20mois saines (A) et Alzheimer (AD) (B). On observe un contraste MICEST plus important dans le cerveau de souris MA comparativement à la souris saine. Ces résultats sont confirmés par les spectres RMN où l'on voit une augmentation du signal du pic associé à l'Ins, ainsi que par immunohistochimie où les coupes de souris MA expriment des niveaux de GFAP plus élevé dénotant une prolifération de cellules gliales plus importante.

IV.4.3.4. Glucose

Le glucose est une source d'énergie ubiquitaire pour le corps humain. Son assimilation et son métabolisme en font ainsi un biomarqueur de nombreuses pathologies telles que l'AVC, le cancer et des formes variées de maladies neurodégénératives ou psychiatriques. Au début de la dernière décennie, les groupes hydroxyles du glucose ont été exploités pour imager le glucose aussi bien en fantôme qu'*in vivo* en imagerie glucoCEST (Chan et al. 2012; Chilakapati et al. 2012; Nasrallah et al. 2013; Walker-Samuel et al. 2011; van Zijl et al. 2007).



Molécule de D-glucose

Le cas du glucose est un peu particulier car bien que détectable en faible quantité, sa concentration endogène reste malgré tout très faible et bien souvent sous le seuil de détectabilité de l'imagerie glucoCEST. En effet, à cause d'une dispersion spectrale limitée entre les pics des hydrogènes des groupes hydroxyles et ceux de l'eau il est généralement problématique d'estimer quantitativement l'effet CEST lié au glucose sur des IRM cliniques. C'est pourquoi le glucose exogène, sous la forme de

D-glucose, est très souvent utilisé en tant qu'agent de contraste non-pharmacologique en imagerie glucoCEST. L'imagerie glucoCEST est notamment très utilisée pour étudier des tumeurs dans le cadre de cancer. La mesure du MTRasym à des champs clinique (3T) requiert cependant une analyse attentive des inhomogénéités de B_0 due à la proximité des fréquences du signal glucoCEST avec celle de l'eau. L'administration de D-glucose exogène a ainsi permis de monitorer l'assimilation et la dégradation du glucose dans des cellules cancéreuses (X. Xu et al. 2015). Similairement, la détection d'altération du métabolisme du glucose dans les tissus cancéreux de cerveau ou de nuque a été rendu possible et était comparable aux études utilisant du gadolinium comme agent de contraste (Wang et al. 2016).

L'imagerie CEST du glucose étant au cœur de cette thèse, nous décrirons plus en détails les méthodes et applications dans le **chapitre V**.

Chapitre V : Mise au point de l'IRM glucoCEST

Dans ce chapitre nous discuterons de l'imagerie CEST à haut champ à MIRCen et plus particulièrement de l'imagerie CEST du glucose ou glucoCEST. Nous décrierons dans ce chapitre l'environnement dans lequel se sont déroulés nos expériences. Nous présenterons également la séquence CEST utilisée et la caractérisation du signal CEST du glucose mais également de ses dérivés et de ses analogues.

V.1. ENVIRONNEMENT TECHNIQUE

V.1.1. Haut champ et antennes

MIRCen est équipé d'un scanner IRM horizontal Bruker de 11,7 T dédié à l'imagerie des rongeurs (diamètre utile de 160 mm, **Fig.V.1**). La fréquence de résonance de l'atome d'hydrogène en présence d'un tel champ est donc de 500,3 MHz. L'IRM est piloté par le logiciel ParaVision 6.0.1 développé par l'entreprise Bruker. Les gradients de champ ont une intensité pouvant aller jusqu'à 752 mT/m.

Figure V-1 : IRM préclinique 11,7 T utilisé au cours de cette thèse

Au cours de cette thèse, les mesures CEST réalisées sur fantôme ont été effectuées à l'aide d'une antenne ^{1}H volumique en quadrature de phase en transmission et en réception (diamètre interne et externe de 72 et 89 mm, respectivement, **Fig.V.2**). L'emploi d'une antenne volumique est

particulièrement intéressant dans le cadre de mesures CEST car elle permet une bonne homogénéité de B_1. En effet, ces mesures reposent sur l'application d'une onde de saturation pendant un temps t_{sat} et une amplitude de B_1 donnés, détaillés dans la suite de ce chapitre. Par conséquent, ces mesures requièrent l'application d'un champ B_1 homogène afin de garantir une saturation CEST équivalente dans les régions d'intérêt.

Figure V-2 : Antenne volumique (Ø interne : 72mm, Ø externe : 89mm)

Dans les expériences sur le rat, nous avons utilisé l'antenne volumique en transmission associée avec une antenne surfacique en réception afin de maximiser le signal reçu (**Fig.V.3**). En effet, l'utilisation de l'antenne volumique permet de conserver l'homogénéité du B_1 et donc de pouvoir saturer avec la même intensité l'ensemble des hydrogènes des tissus du rats contenus dans le volume de l'antenne. L'antenne de surface, adaptée au crâne de rat, permet d'augmenter le rapport signal sur bruit en maximisant le signal acquis dans une région proche de l'antenne. Plus on se trouve loin de l'antenne moins le signal acquis sera intense.

Figure V-3 : Antenne surfacique pour rat

V.1.2. Module d'imagerie

La séquence CEST précédemment développée au laboratoire combine une séquence de type écho de spin (SE) rapide avec un module de préparation de l'aimantation, ou module de saturation dans le cas de l'imagerie CEST, la précédant. L'intérêt majeur de l'utilisation d'une séquence SE réside dans sa faible sensibilité aux inhomogénéités du champ B_0. Ce type de séquence est d'ailleurs celui qu'on retrouve le plus communément en imagerie CEST, bien que le développement de séquences d'écho de gradient (GRE) voie le jour dans le but de compenser la faiblesse des SE et d'avoir des temps d'acquisitions plus courts.

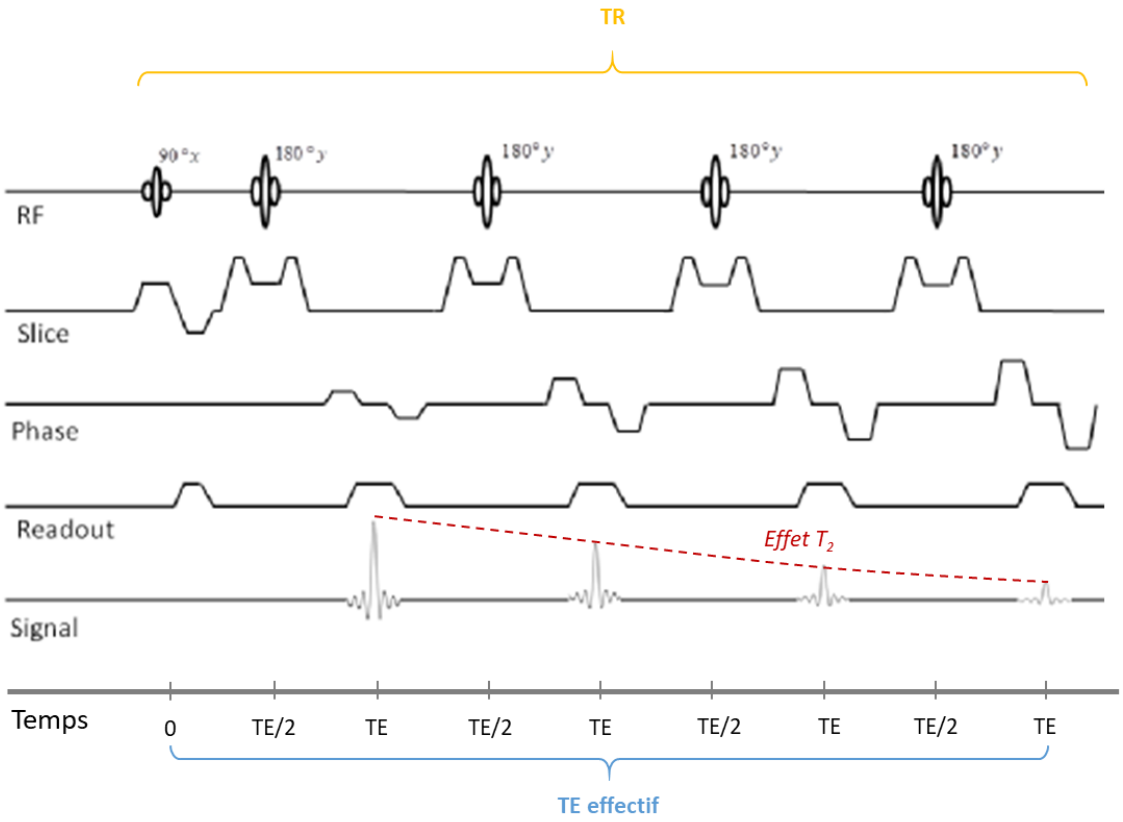


Figure V-4 Séquence RARE (Bruker), adaptée de la documentation

Séquence spin-echo rapide, représentée ici avec un facteur turbo de 4. Une première impulsion de 90° est utilisée pour basculer l'aimantation puis des impulsions 180° sont appliquées aux temps TE/2. Le signal perd cependant peu à peu de son intensité au cours du temps dû à l'effet T_2.

Nous avons décidé de conserver cette séquence SE rapide (**Fig.V.4**). Cette séquence, appliquée pour la première fois dans les années 80 (Hennig, Nauerth, et Friedburg 1986), repose sur la répétition d'impulsions 180° après la première impulsion 90° de la SE. En effet, tant que la relaxation T_2 n'a pas détruit complètement le signal il est possible de stimuler le système avec une nouvelle impulsion 180° et ainsi générer des échos supplémentaires. Evidemment l'amplitude de chaque écho diminue

progressivement à cause de la décroissance T_2 du signal. Ainsi, en appliquant un gradient de phase différent à chaque écho il est possible d'acquérir plusieurs lignes du k-space en une seule acquisition. Cela revient à acquérir le signal en des temps beaucoup plus courts qu'avec une SE classique. On peut jouer sur le nombre d'impulsions 180° que l'on va appliquer pour avoir un gain de temps plus ou moins conséquent par rapport à la SE. Ce nombre, appelé facteur RARE (pour *Rapid Acquisition with Refocused Echoes*), a été fixé à 10 afin de garder un ratio signal sur bruit convenable et des temps d'acquisition courts. Chaque impulsion 180° est séparée par un TE de 6 ms.

V.1.3. Module de saturation

La saturation des hydrogènes est l'étape la plus importante des acquisitions CEST. Le moyen le plus commun de saturer des hydrogènes est d'appliquer une onde RF continue. En effet, si le taux d'échange des hydrogènes est connu, il suffit d'optimiser la durée et l'amplitude de l'onde RF. Cela fait de saturation RF continue la méthode la plus répandue depuis les débuts de l'imagerie CEST. Cependant, deux inconvénients majeurs sont à considérer. La durée des ondes RF utilisées en IRM sont généralement de l'ordre de la milliseconde alors que pour l'imagerie CEST elles doivent être de l'ordre de la seconde. Une application aussi longue peut être éprouvante pour les composants du scanner. Enfin, la conséquence d'une application continue de l'onde RF est un dépôt d'énergie élevé dans le patient (mesuré par le taux absorption spécifique en clinique) qui peut poser un problème de sécurité (hyperthermie) particulièrement à haut champ.

Pour contourner ces inconvénients on utilise une série d'impulsions qui se compose d'un train d'ondes RF courtes (par rapport à une onde continue). Ceci permet de réduire les dégâts causés aux composants du scanner ainsi que diminuer le dépôt d'énergie dans le patient. Plusieurs facteurs sont à prendre en compte dans l'utilisation d'un train d'ondes RF afin d'optimiser le contraste CEST : la durée d'une onde courte, l'intervalle entre deux ondes, le nombre d'ondes, etc…(Soesbe, Wu, et Dean Sherry 2013; Sun et al. 2011; Wada et al. 2017) En pratique l'optimisation de ces paramètres se fait expérimentalement, notamment parce que le taux d'échange *in vivo* n'est pas précisément connu.

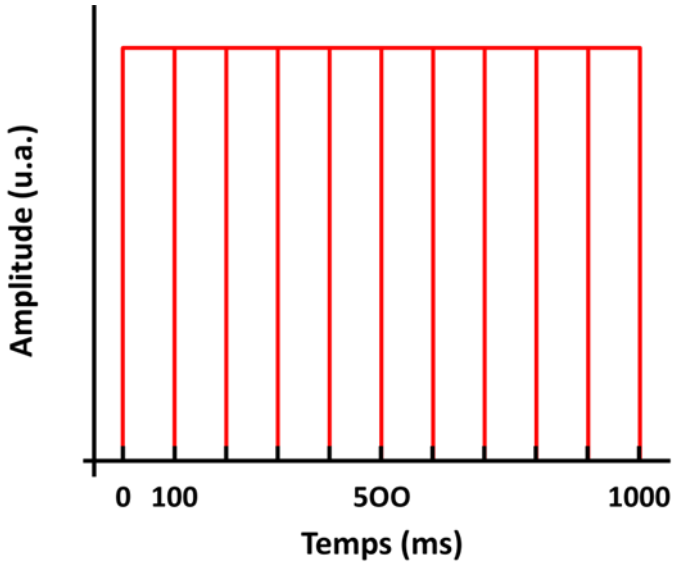


Figure V-5 Approximation d'une onde RF continue pour un temps de saturation t_{sat} = 1s

Le train d'onde est constitué de 10 impulsions de 100 ms chacune, séparées par un intervalle de 20 µs. En adaptant le nombre de pulses on jouera ainsi sur le temps de saturation. $t_{sat} = n_{pulses} * durée_{impulsion}$

Le module de saturation implémenté à MIRCen est constitué d'impulsions courtes *broad-pulse* de durée 100 ms. Ces impulsions sont séparées par un intervalle de 20 µs, très court par rapport à la durée d'une impulsion. De cette façon on peut assimiler le train d'impulsions à une impulsion longue et continue.

V.2. Optimisation pour la detection du glucose

Comme décrit au chapitre précédent, l'effet CEST dépend de plusieurs facteurs tels que l'intensité du champ B_0, la concentration du métabolite d'intérêt en échange avec l'eau, le taux d'échange, l'homogénéité des champs B_0 et B_1, le T_1 des hydrogènes de l'eau, la durée et l'amplitude de l'impulsion RF. Ainsi, la mesure de l'effet CEST d'un métabolite donné nécessite de prendre en compte et d'optimiser ces différents facteurs.

V.2.1. Homogénéité du champ B_0

Les inhomogénéités du champ magnétique statique B_0 présentent un défi pour l'imagerie CEST. Ces inhomogénéités sont d'autant plus impactantes que l'on travaille à très haut champ (van Zijl et Yadav 2011). Les inhomogénéités du champ B_0 mènent à un décalage de la fréquence de résonance de l'eau et par conséquent à des effets asymétriques de saturation directe de l'eau. Ces effets, couplés à

l'analyse asymétrique utilisée pour le calcul de l'effet CEST, engendrent des erreurs dans la mesure de l'effet CEST c'est pourquoi l'homogénéité du champ est primordiale. Pour pallier cela, l'IRM est équipé de bobines dont la fonction est de corriger ces inhomogénéités, on parle de « shim ». Durant toutes nos expériences, nous avons eu recours à un shim localisé dont le voxel englobait le voxel d'intérêt dans le cas de spectroscopie RMN-CEST (voir **chapitre VII, VIII et IX**) ou englobant les coupes d'intérêt dans le cadre de l'IRM-CEST (voir **chapitre VIII**). Cependant, l'utilisation du shim peut malgré tout ne pas suffire et on observera tout de même un décalage de la fréquence de résonance des hydrogènes.

V.2.1.1. Principe de correction WASSR

L'analyse asymétrique du Z-spectrum suppose une symétrie autour du pic de résonance de l'eau (à 4,7 ppm en spectroscopie mais à 0 ppm en CEST). Si cette symétrie n'est pas respectée à cause d'inhomogénéités alors le MTR_{asym} ne sera pas juste. Ces inhomogénéités sont particulièrement présentes *in vivo* du fait des différences de susceptibilité magnétique entre les structures à imager. En effet, dans le cerveau par exemple se retrouvent les vaisseaux sanguins, muscles, crâne ou encore cavités auditives, autant de structures hétérogènes qui nuisent à l'homogénéité du champ B_0. La façon la plus répandue de corriger ces inhomogénéités pour les expériences CEST, en plus du shim utilisé en routine, consiste à recentrer le Z-spectrum sur la fréquence de l'eau. Cette méthode dénommée *Water Saturation Shift Referencing* ou WASSR, introduite pour la première fois par Kim et al (Kim et al. 2009) repose sur l'acquisition d'un Z-spectrum très proche de la fréquence de l'eau avec une résolution fréquentielle très élevée (~0.05 ppm) et une saturation RF de faible intensité, ainsi affranchi des contributions CEST et MTC, qui va permettre de recentrer le Z-spectrum qui nous intéresse.

On acquiert tout d'abord le Z-spectrum WASSR (**Fig.V.6.A**) à partir duquel on va déterminer la position exacte du pic correspondant à la saturation directe de l'eau repérée par le minimum global du spectre. La différence fréquentielle entre ce pic et la fréquence de référence centrée à 0 ppm va permettre de recentrer le Z-spectrum d'intérêt sur la fréquence de l'eau par une simple translation. On interpole avant cela le Z-spectrum d'intérêt afin qu'une fois recalé on puisse retrouver les résonances d'intérêt et correctement calculer le MTR_{asym} (**Fig.V.6.D**). Cette approche est réalisée pixel par pixel par un outil développé au sein de l'équipe sur Matlab.

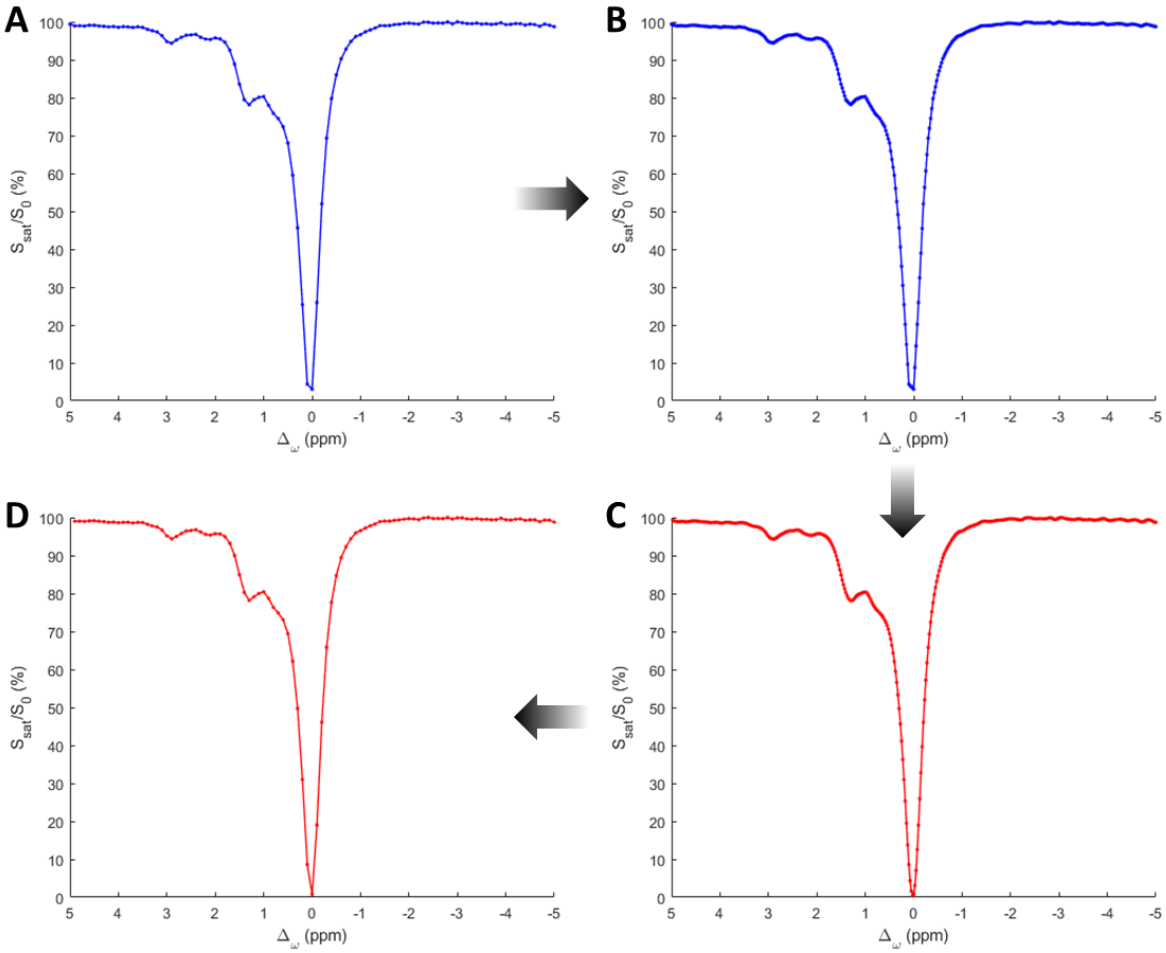


Figure V-6 Principe de correction WASSR

Acquisition du Zspectrum aux paramètres de saturation et dans la région d'intérêt souhaités (A). Ce Zspectrum est ensuite interpolé (B). Puis on utilise le Zspectrum WASSR, acquis dans cette même région d'intérêt mais avec un très faible B_1 et dans une gamme de fréquence proche de celle de l'eau libre (entre -0,5 et 0,5 ppm), pour recaler en fréquence ce Zspectrum interpolé. On se retrouve donc avec un Zpsectrum interpolé corrigé (C). On enlève ensuite les points de l'interpolation pour garder uniquement un Zspectrum corrigé (D).

V.2.1.2. Application de la correction sur fantôme

Prenons l'exemple d'un Z-spectrum de glucose. Comme nous l'avons évoqué, la fréquence de résonance d'un des groupes hydroxyles du glucose est proche de la fréquence de résonance de l'eau et sera donc d'autant plus impactée par les inhomogénéités de champ. L'application de la correction WASSR va permettre de les corriger (**Fig.V.7**).

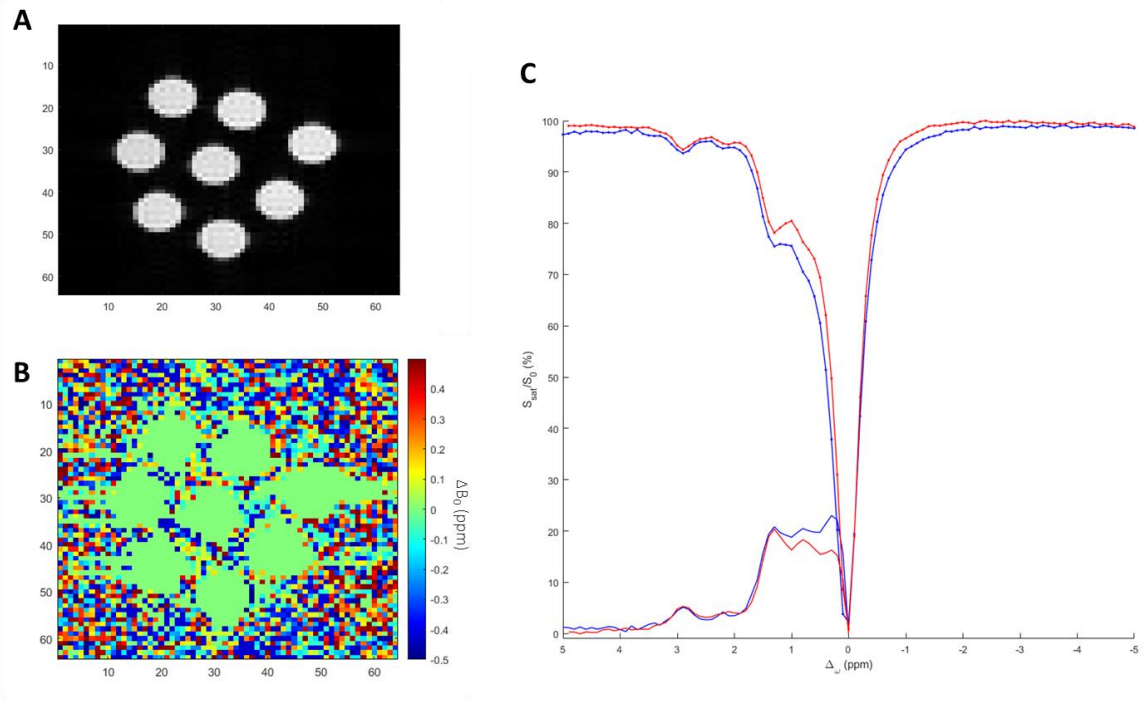


Figure V-7 : Processus de correction WASSR appliqué sur fantôme

Image anatomique de plusieurs fantôme (A). L'acquisition d'une carte de B_0 (B) permet de corriger le décalage en fréquence du Z-spectrum, et donc de corriger le calcul du MTRasym (C). Zspectrum avant correction (bleu) et après correction (rouge)

V.2.2. Caractérisation du signal CEST

Avant d'appliquer notre séquence CEST *in vivo*, nous devons caractériser la signature CEST du glucose et surtout optimiser les paramètres de saturation B_1 et t_{sat} afin de pouvoir obtenir le meilleur « SNR CEST » possible.

V.2.2.1. Signature CEST du glucose

Si on s'attarde sur les MTRasym du glucose, on distingue 4 pics de résonance distincts, situés à 0,8 ; 1,2 ; 2,1 et 2.9 ppm (**Fig.V.8**). Ces fréquences de résonance sont propres à la molécule de glucose et font partie intégrante de sa signature CEST. Grâce à celle-ci, on peut appliquer l'impulsion de saturation RF uniquement à ces fréquences afin d'obtenir (en théorie) uniquement le signal CEST de la molécule de glucose.

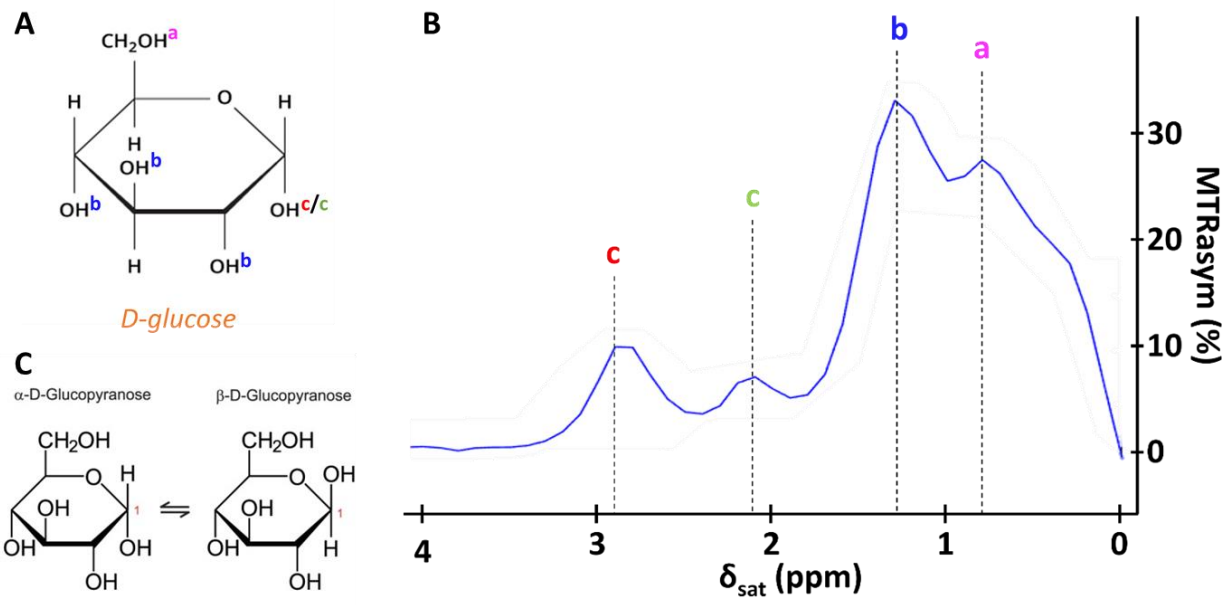


Figure V-8 : Signature CEST du D-glucose

La molécule de D-glucose (A) est composée de 5 groupes hydroxyles (-OH) qui résonnent à des fréquences particulières. Les résonances de chacun de ses groupes ont été associées aux pics de résonance du MTR_{asym} acquis avec t_{sat} = 4s, B_1 = 2µT (B). Les trois groupes hydroxyles 'b' résonnent à la même fréquence. On remarquera aussi que le groupe hydroxyle 'c' est responsable de deux pics de résonance sur le MTR_{asym}. Ceci est à dû à la molécule de glucose qui possède deux conformations anomériques possibles α et β (C). Selon la conformation dans laquelle se trouve la molécule, le groupe hydroxyle 'c' résonnera à l'une ou l'autre des fréquences (2,08 ppm en α et 2,88 ppm en β). A l'équilibre, le ratio anomérique est de 0,36:0,64 pour α:β. Cela explique pourquoi le pic à 2,88 ppm est plus intense que celui à 2,08 ppm.

Les taux d'échange sont différents pour chacun de ces groupements hydroxyles. En effet, ils n'ont pas la même facilité à s'échanger avec l'eau du fait de l'environnement chimique dans lequel chacun se trouve. Les taux d'échange pour chaque groupe ont été rapporté ci-dessous.

Taux d'échange	**$k_{0,66}$ (Hz)**	**$k_{1,28}$ (Hz)**	**$k_{2,08}$ (Hz)**	**$k_{2,88}$ (Hz)**
	2900 ± 500	6500 ± 170	5200 ± 500	14000 ± 650

Tableau V-1 :Taux d'échange des différents groupes hydroxyles du glucose

V.2.2.2. Paramètres de saturation

On s'intéresse ici à l'optimisation des paramètres de saturation B_1 et t_{sat}. Afin d'évaluer les effets de chacun d'entre eux sur le signal CEST, nous avons scanné une gamme de différentes concentrations de fantôme de glucose en faisant varier le temps de saturation t_{sat} ainsi que l'intensité du B_1 de l'onde RF appliquée. Les solutions consistent en un mélange de glucose et de sérum physiologique.

La plage de fréquence acquise pour le WASSR est de -0,5 à 0,5 par pas de 0,05 ppm, tandis que les acquisitions de Z-spectrum sont de -5 à 5 ppm par pas de 0,1 avec une saturation de référence à -20 ppm (**Fig.V.9**).

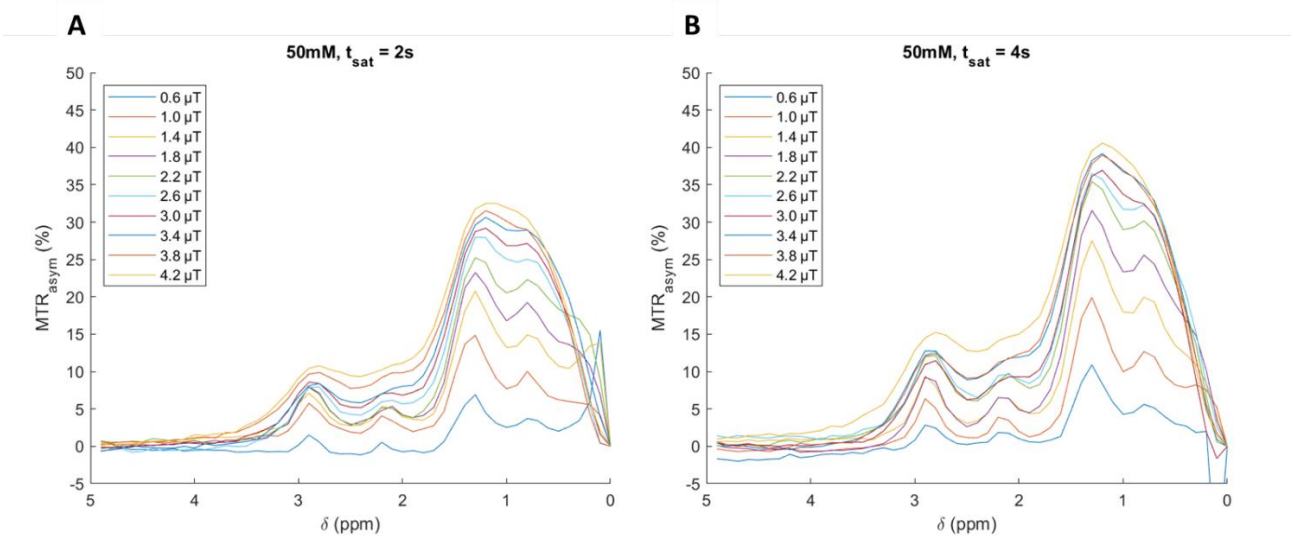


Figure V-9 : Influence du temps de saturation sur le signal CEST

Le signal CEST a été acquis sur un fantôme de glucose à 50 mM avec des B_1 variables, et un t_{sat} de 2s (A) ou 4s (B). On peut constater l'effet du B_1 sur le signal CEST : plus le B_1 est élevé plus l'intensité du signal augmente. Par ailleurs, on remarque que le t_{sat} joue aussi un rôle sur l'intensité du signal CEST : un t_{sat} plus long permet l'acquisition d'un signal CEST plus intense.

Intensité du B_1

Concernant le choix du B_1, l'intérêt se porte sur son utilisation en tant que filtre afin d'avoir la meilleure spécificité possible au glucose. Avec un B_1 élevé le signal CEST sera plus intense, en revanche il y aura d'autant plus de risque d'avoir un effet de saturation directe de l'eau libre que le B_1 est élevé. D'après les résultats obtenus sur fantôme (**Fig.V.9**), on peut voir les effets de saturation directe à partir d'un B_1 de 2,6 µT.

Pour déterminer plus précisément le B_1 que l'on va utiliser, nous avons tracé l'évolution du signal CEST en fonction du B_1 à 50mM. Nous avons regardé le signal uniquement aux fréquences de résonance du glucose (**Fig.V.10**). Nous avons fait ces acquisitions avec un t_{sat} de 2 et 4s, de façon à explorer la dépendance du signal aux B_1 et au t_{sat}.

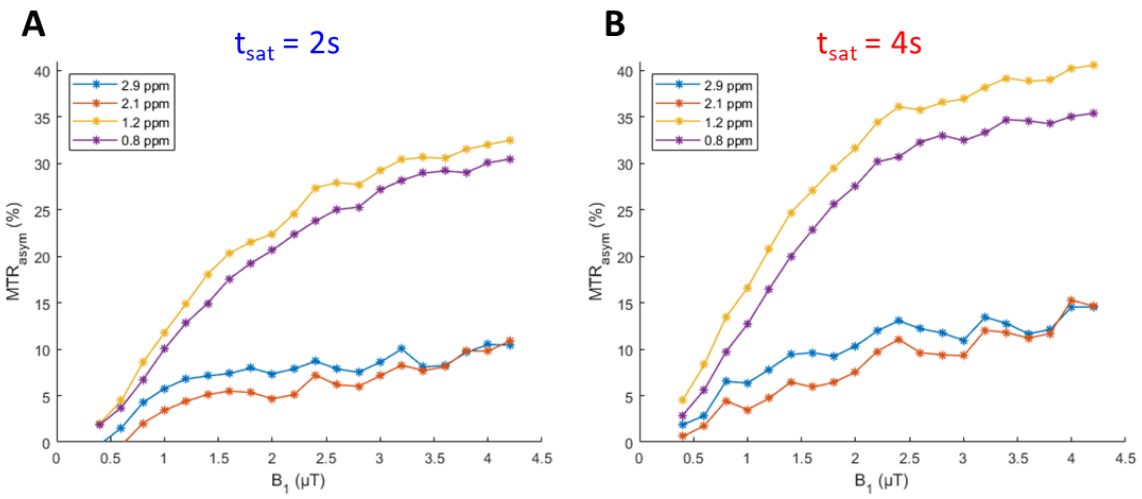


Figure V-10 : Evolution du MTRasym en fonction du B_1, aux pics d'intérêt, à 50mM

Pour chacun des pics d'intérêt, on regarde l'effet du B_1 sur le signal CEST à un t_{sat} de 2s (A) et de 4s (B). Pour un t_{sat} de 4s, il semble y avoir un B_1 « charnière » de 2,4 µT après lequel l'augmentation du MTRasym n'est plus aussi forte à mesure que le B_1 continue d'augmenter (effet notamment visible à 0,8 et 1,2 ppm. Cet effet n'est pas aussi marqué avec un t_{sat} de 2s

On peut ainsi comparer les intensités du MTRasyms pour les différents pics en fonction du B_1. L'influence du B_1 sur le signal semble similaire que ce soit avec un t_{sat} de 2s ou bien de 4s. On voit à 0,8 et 1,2 ppm que le MTRasym ne croit plus aussi rapidement passé 2,4 µT. Ce phénomène est moins visible sur les graphes de 2,1 et 2,9 ppm. Nous devons donc choisir un B_1 qui maximise le signal CEST tout en évitant une saturation directe de l'eau libre. Nous avons ainsi fixé le B_1 à 2 µT pour la suite de nos expériences afin d'être sûrs de n'avoir aucune saturation directe de l'eau.

Temps de saturation

D'après les résultats de la figure **V.6**, on voit que la détermination de la durée du temps de saturation t_{sat} est primordiale. En effet, les acquisitions à t_{sat} = 2s (**Fig.V.10.A**) présentent un signal plus faible que le signal acquis avec un t_{sat} = 4s (**Fig.V.10.B**). Ce qui est par ailleurs cohérent avec le taux d'échange rapide des groupes hydroxyles du glucose (~5000-6000 Hz).

Nous avons donc voulu évaluer l'effet du t_{sat} aux différents pics de résonances observés afin de pouvoir choisir le temps de saturation le plus adapté à l'imagerie CEST du glucose. A partir des résultats obtenus en fantôme, nous avons représenté l'effet du temps de saturation sur le signal CEST en fonction du B_1 (**Fig.V.11**).

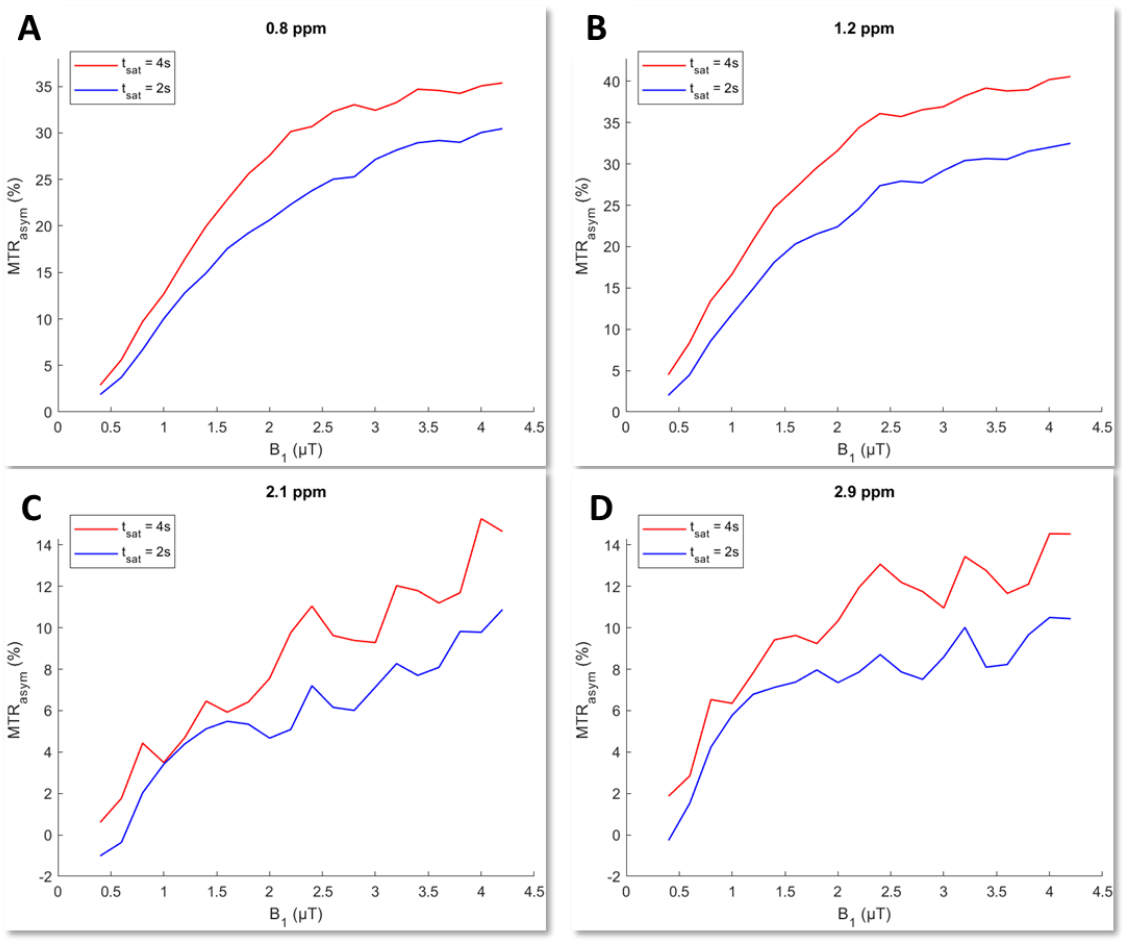


Figure V-11 : Effet du temps de saturation sur le signal CEST

Sont présentés sur cette figure les intensités du MTRasym d'un fantôme de glucose à 50mM en fonction d'un temps de saturation donné pour une gamme de B_1 aux ppm d'intérêt : 0,8 ppm (A), 1,2 ppm (B), 2,1 ppm (C) et 2,9 ppm (D). L'écart entre les intensités du signal CEST acquis aux différents t_{sat} avec un B_1 faible (de l'ordre du µT) est ténu. En revanche, lorsque le B_1 augmente, l'effet du temps de saturation augmente également, bien qu'on observe un écart plutôt constant de 2 µT à 4 µT

D'après ces courbes on voit que le temps de saturation a peu d'effet aux B_1 faibles mais permet d'obtenir un signal plus intense avec un B_1 supérieur à 2 µT. Dans notre cas où nous avons fixé le B_1 à 2 µT, utiliser un t_{sat} de 4s par rapport à un t_{sat} de 2s représentent un gain de signal d'environ 10% à 0,8 et 1,2 ppm et d'environ 3-4% à 2,1 et 2,9 ppm. Ces résultats penchent donc en faveur d'un choix de t_{sat} de 4s.

D'après cette étude sur l'optimisation des paramètres de saturation, nous avons choisi d'utiliser une intensité B_1 = 2 µT et un temps de saturation t_{sat} =4s.

V.2.3. Seuil de détection du glucose

Il est primordial d'évaluer la sensibilité de notre séquence et déterminer à partir de quelles concentrations nous ne sommes plus en mesure de détecter le glucose. Nous avons donc repris les paramètres de l'expérience précédente que nous avons appliqués sur des fantômes de différentes concentrations (**Fig.V.12**). En accord avec la théorie (voir **chapitre IV**), on observe un effet de la concentration en glucose sur l'intensité du signal CEST. Il semble que nous ne soyons plus en mesure de distinguer un effet CEST en-deçà d'une concentration de 1 mM.

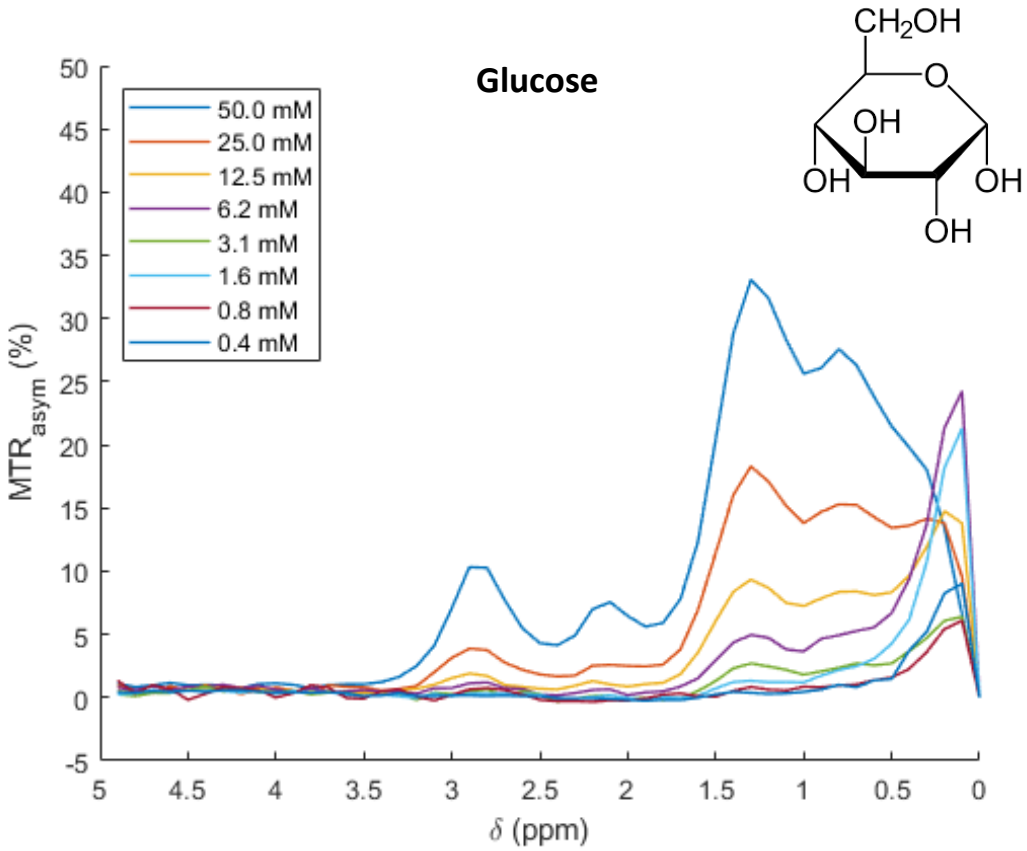


Figure V-12 : Effet de la concentration sur le signal CEST, à B_1 = 2µT et t_{sat} = 4s

Acquisitions de fantômes de différentes concentrations avec les paramètres de saturation déterminés précédemment. On remarque que lorsque la concentration du soluté diminue, le signal CEST diminue également.

Afin de confirmer nos observations quant à la sensibilité de la séquence, on peut tracer les points de l'effet CEST en fonction des concentrations pour une fréquence de résonance et un B_1 donnés (**Fig.V.13**). De plus, pour s'assurer de notre conclusion précédente sur le temps de saturation, nous avons tracé ces points pour les deux t_{sat} appliqués dans cette expérience. Ces résultats indiquent une relation linéaire entre l'effet CEST mesuré et la concentration de glucose dans la gamme étudiée. Ils viennent confirmer le choix d'un t_{sat} de 4s. En effet, comme on le voit sur la figure, cela permet d'être

un peu plus sensible au glucose à de faibles concentrations. Ces résultats illustrent également la sensibilité de la méthode et confirme un seuil de détéctabilité de l'ordre du mM.

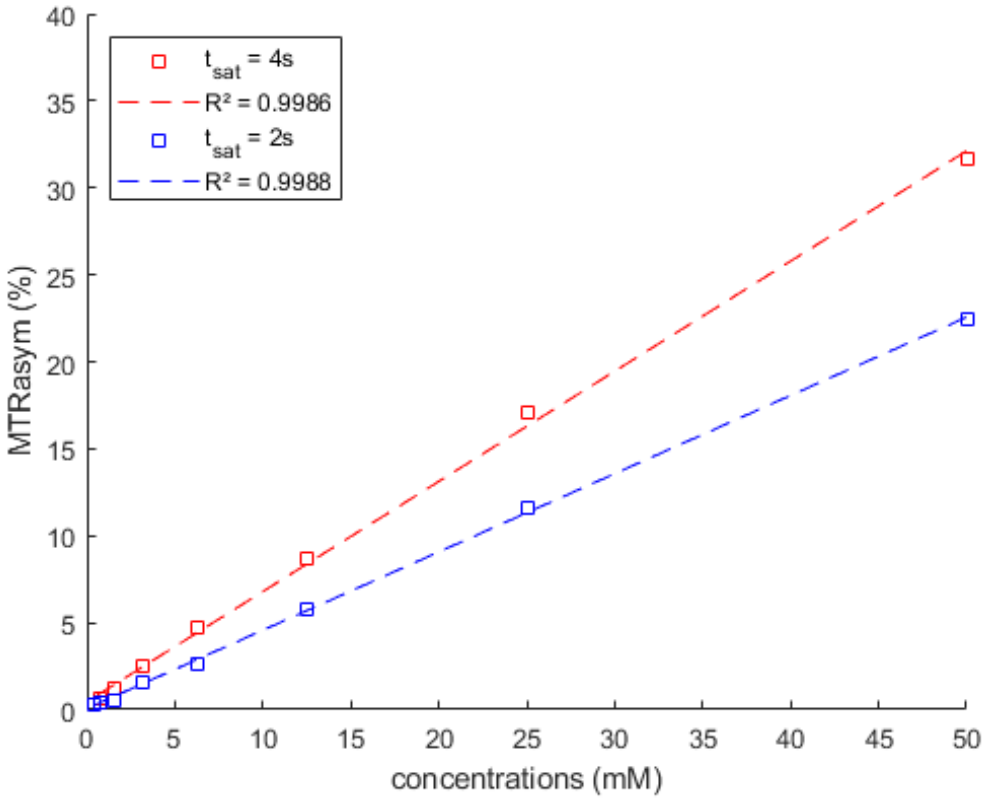


*Figure V-13 : Effet de la concentration sur le MTRasym à **1,2 ppm** et B_1 = 2 µT*

Le MTR_{asym} est linéairement corrélé à la concentration des fantômes de glucose et suit la relation :

$$t_{sat} = 4\ s\ , \qquad MTR_{asym}([Glc]) = 0{,}63 * [Glc] + 0{,}46$$

$$t_{sat} = 2\ s\ , \qquad MTR_{asym}([Glc]) = 0{,}45 * [Glc] + 0{,}07$$

Cette expérience de caractérisation du signal CEST du glucose nous a permis d'optimiser nos paramètres de saturation afin de nous assurer de la meilleure sensibilité et spécificité possible. Nous avons donc choisi d'appliquer un temps de saturation de 4s avec un B_1 de 2µT. Le seuil de détection de l'ordre du mM rend possible l'application de cette séquence CEST *in vivo*. Afin de répondre à but ultime qui est la quantification du glucose cérébral par IRM-CEST, nous pourrons dans une première approximation, dériver les concentrations cérébrales des effets CEST mesurés dans des fantômes calibrés contenant différentes concentrations de glucose. Cependant il ne faut pas perdre de vue qu'*in vivo* les contributions du glucose au signal CEST peuvent être contaminées par d'autres métabolites, surtout à des concentrations de glucose endogène qui génèrent un faible signal CEST.

Ces courbes de régression linéaire reliant l'intensité de l'effet CEST aux concentrations absolues de glucose pourraient être par la suite utilisées comme première approche de l'imagerie CEST quantitative. En faisant l'hypothèse que les concentrations cérébrales en métabolites sont stables on pourrait ainsi remonter aux concentrations en glucose *in vivo*. Nous développerons cet aspect dans le chapitre X de ce manuscrit.

V.3. INTERMEDIAIRES DU METABOLISME ENERGETIQUE

Un des objectifs de ce travail de thèse est l'étude du métabolisme énergétique *in vivo*. Ainsi, à ce stade du développement nous avions pour objectif de suivre les produits de dégradation du glucose afin d'appréhender au mieux le métabolisme énergétique. Nous avons donc voulu caractériser les signatures CEST de ces différents intermédiaires, parmi lesquels le fructose-6-phosphate (F6P), fructose bi-phosphate ($F1,6P_2$), le glucose-6-phosphate (G6P), le lactate et le pyruvate, auxquels nous avons ajouté le fructose. Dans cette première approche pour distinguer le glucose de ses produits de dégradation, nous avons voulu voir expérimentalement si les différences de signature CEST entre ces différentes molécules était assez importantes pour espérer les distinguer *in vivo*. Pour cette caractérisation, nous nous sommes placés dans les conditions les plus favorables, notamment en termes de concentration. En effet, nous avons imagé des fantômes de 50mM de chacun de ces composés avec des B_1 allant de 0,8 à 4 µT, ce qui est d'au moins un voire deux ordres de grandeur par rapport à leur concentration in vivo.

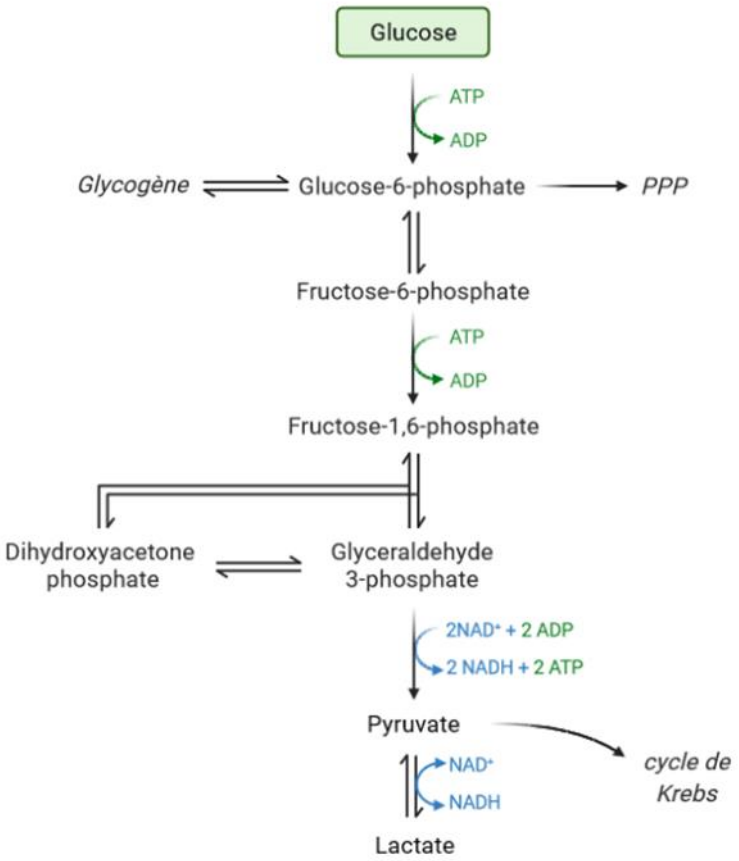


Figure V-14 : Dégradation du glucose et intermédiaires de la glycolyse

Une fois transporté dans les cellules, le glucose est phosphorylé en glucose-6-phosphate d'où il peut ensuite être dégradé par la glycogénogénèse, par la voie des pentoses phosphates (PPP) ou bien par la glycolyse. Avant d'être métabolisé en pyruvate, le glucose est dégradé en différents intermédiaires.

V.3.1. Glucose-6-phosphate

Le G6P est le produit de la dégradation du glucose par l'hexokinase. Il est à la jonction des différentes voies de dégradation du glucose. En effet, depuis cette forme le glucose peut être converti en glycogène, suivre la voie des pentoses phosphates (PPP) ou bien être dégradé en pyruvate via la glycolyse (**Fig.V.15**).

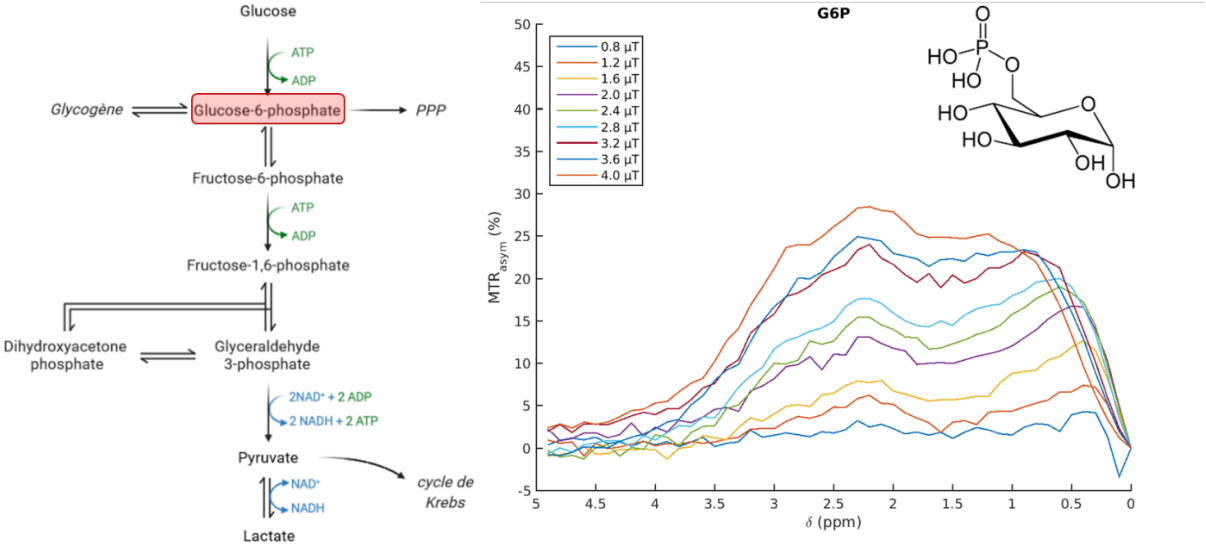


Figure V-15 : Le glucose-6-phosphate dans le métabolisme énergétique et sa signature CEST

Le G6P présente un profil CEST très large sur lequel on distingue difficilement des pics de résonance distincts. Pour un B_1 de 2µT par exemple, le G6P a un MTRasym aux alentours de 10% sur toute la plage de fréquence entre 0,5 et 3 ppm.

On peut aussi comparer le signal CEST du G6P au signal original du D-glucose (**Fig.V.16**). Le MTRasym du G6P est bien plus faible à 0,8 et 1,2 ppm. En revanche, le MTRasym est environ deux fois plus important à 2,1 ppm et d'une intensité comparable à 2,9 ppm. En supposant qu'on acquiert le signal CEST d'un fantôme contenant des concentrations équivalentes de G6P et de D-glucose, on pourra considérer le signal obtenu à 0,8 et 1,2 « pondéré » en D-glucose tandis qu'il sera « pondéré » en G6P à 2,1 ppm. Ce raisonnement est d'ailleurs similaire pour le 2DG et le 2DG6P. En effet, la phosphorylation du glucose engendre la perte du groupe hydroxyle du carbone 5 diminuant ainsi l'effet CEST à 0,8 ppm, et, comme nous l'avons vu, une diminution du signal à 1,2 ppm. De la même façon, on peut s'attendre à un effet similaire dans le cas du 2DG et du 2DG6P. Dans le cadre d'expériences *in vivo*, il pourra être intéressant de suivre l'état de la molécule après injection (phosphorylée ou non). Pour cela, nous pourrons comparer les signaux CEST acquis après l'injection de 2DG à 0,8 et 1,2 ppm avec ceux acquis à 2,1 et 2,9 ppm (voir **chapitre VII**).

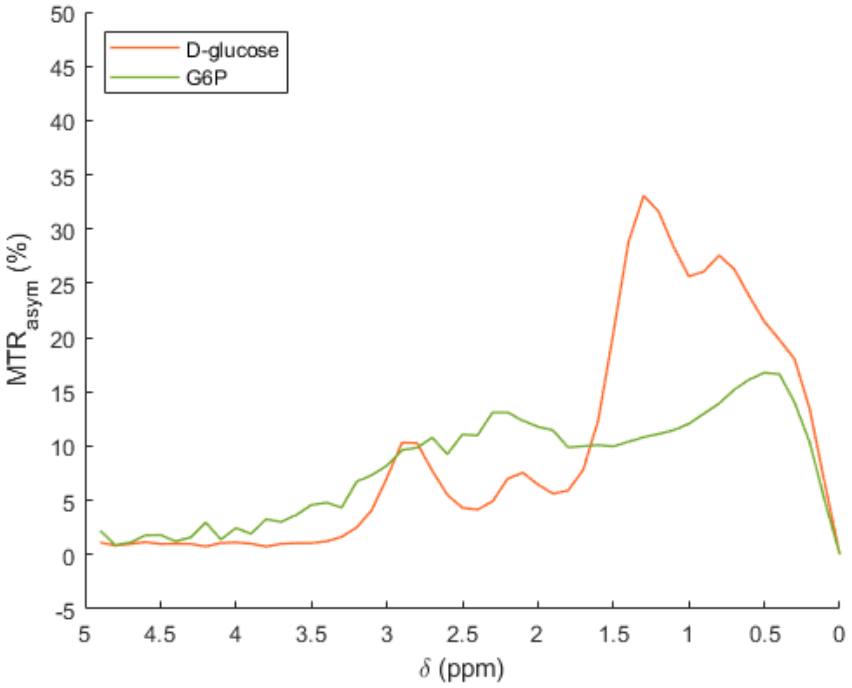


Figure V-16: Comparaison du signal CEST du D-glucose et du glucose-6-phosphate à B_1 = 2 µT et t_{sat} = 4s

Il paraît donc possible d'être sensible au G6P dans des conditions *in vivo* au vu de l'effet MTRasym important. Cependant, le G6P reste plus faiblement concentré *in vivo* par rapport au glucose. Il est de plus dégradé plus en aval par différentes voies de dégradation. En revanche, on pourrait être en mesure d'imager le 2DG6P. En effet, celui-ci n'est quasiment pas dégradé et s'accumule donc dans les cellules. En théorie donc nous pourrions être sensible au 2DG6P à 2,1 et 2,9 ppm. Nous en reparlerons plus en détail dans le chapitre **VII**.

V.3.2. Fructose

Le fructose ne participe pas à la dégradation du glucose. Nous avons tout de même souhaité le caractériser avant de comparer son signal CEST à ses analogues qui eux interviennent dans la glycolyse : le F6P et le F-1,6-P_2. On retrouve du fructose dans le cerveau bien qu'en très faible quantité (0,17 mM chez l'homme (Hwang et al. 2015)).

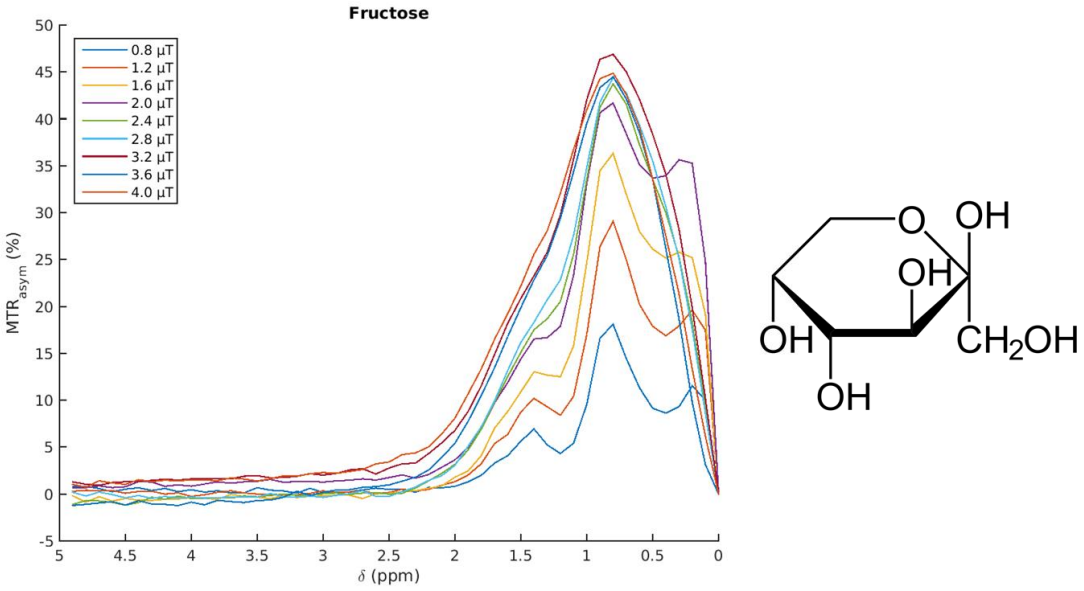


Figure V-17: Signature CEST du fructose

Le fructose montre ainsi deux pics de résonance d'intensités comparables à celles observées sur la molécule de glucose (**Fig.V.17**), à 0,7 et 1,4 ppm. A mesure que l'intensité du B_1 augmente ces deux pics deviennent difficilement discernables. L'effet que l'on voit proche de la fréquence de l'eau à certains B_1 est probablement dû à un décalage en fréquence du Zspectrum, malgré la correction WASSR. Cette remarque est d'ailleurs valable pour les autres molécules présentées ci-après.

V.3.3. Fructose-6-phosphate

Le F6P est le résultat de l'isomérisation du G6P. Son signal CEST varie donc en conséquence et ne présente plus de résonance distincte à 2,1 et 2,9 ppm (**Fig.V.18**). Nous n'avons pas pu trouver d'études ayant quantifié les concentrations de F6P dans le cerveau. Comparé au fructose, le F6P présente un profil CEST atténué.

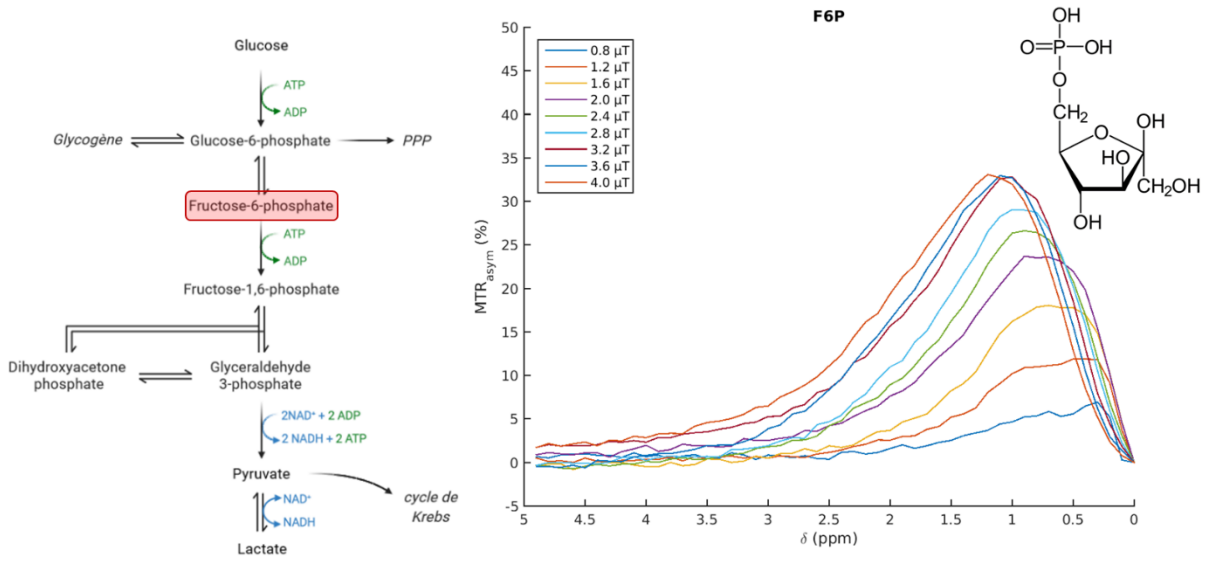


Figure V-18: Le fructose-6-phosphate dans le métabolisme énergétique et sa signature CEST

Le F6P présente un profil CEST avec une fréquence de résonance large qui semble s'éloigner du pic de l'eau à mesure que le B_1 augmente.

Comparé au signal du glucose, pour une même concentration et un B_1 de 2 µT (**Fig.V.19**), le F6P n'est pas discernable du glucose à 0,8 ppm. On ne peut donc pas être spécifique du F6P sans avoir une contribution du glucose.

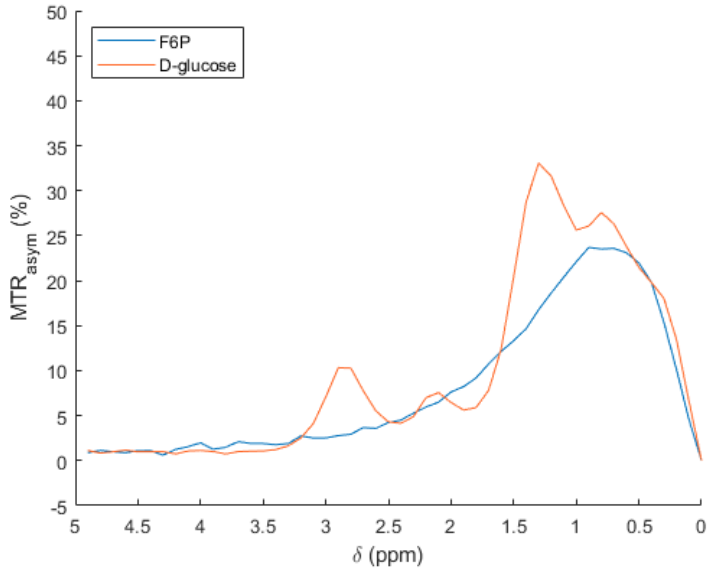


Figure V-19: Comparaison du signal CEST du D-glucose et du glucose-6-phosphate à B_1 = 2 µT et t_{sat} = 4s

V.3.4. Fructose 1,6-biphosphate

Le F1,6P$_2$ est une molécule peu étudiée dans le cadre du métabolisme énergétique. Sa concentration *in vivo* a tout de même été rapportée chez la souris (Sacktor, Wilson, et Tiekert 1966). Elle est d'environ 0,05 µmol/g de matière blanche. Le F1,6P$_2$ ne montre quasiment pas de pic de résonance à part un effet vers 0,3 ppm qui est très proche de la fréquence de l'eau (**Fig.V.20).** Sachant que le signal est mesuré sur un fantôme de 50mM il semble impossible d'être sensible à cette molécule en imagerie CEST.

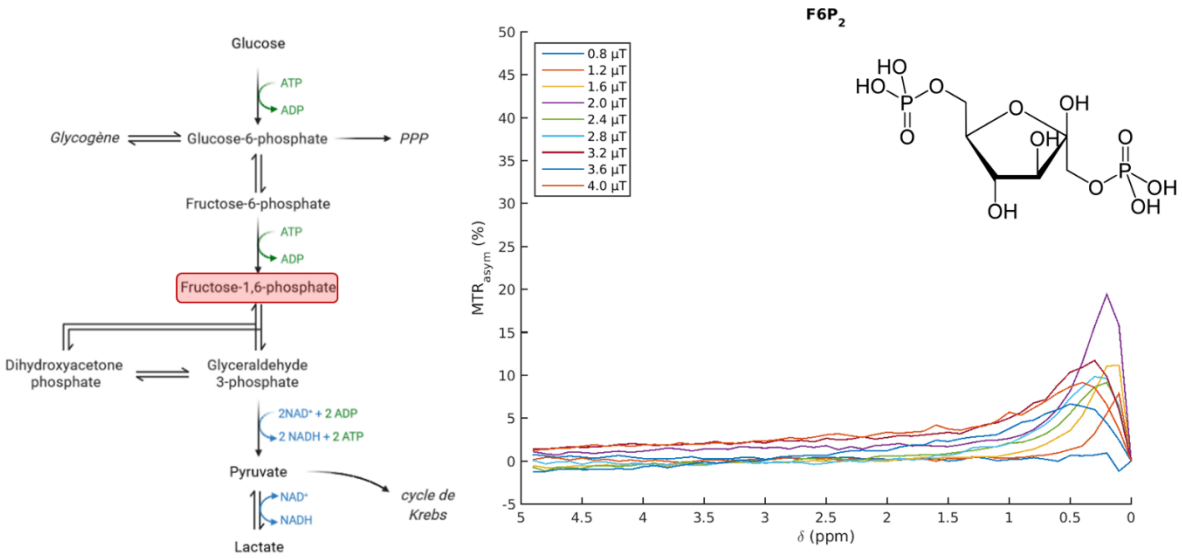


Figure V-20 : Le fructose-1,6-biphosphate dans le métabolisme énergétique et sa signature CEST

V.3.5. Pyruvate

Le pyruvate est à l'intersection de nombreuses voies métaboliques. Il peut en effet être converti en carbohydrates via la glycogénogenèse, en acide gras ou en ATP par le cycle de Krebs, ou encore en lactate.

Le pyruvate est composé d'un unique groupe hydroxyle. Sa signature CEST présente un faible pic de résonance à 1,7 ppm (**Fig.V.21**), l'effet observé proche de la fréquence de l'eau pouvant être attribué à une mauvaise homogénéité du champ B_0.

L'effet CEST du pyruvate à 1,7 ppm est d'une intensité équivalente à signal du glucose pour cette même fréquence (à 2 µT). Si l'on souhaite imager le pyruvate à cette fréquence, l'effet CEST recueilli aura autant de contribution du glucose que du pyruvate dans le cas où ceux-ci sont en concentrations égales. Or, *in vivo* le glucose est en bien plus grande concentration que le pyruvate d'un facteur environ 30. Ainsi, il semble impossible de pouvoir imager le pyruvate dans ces conditions.

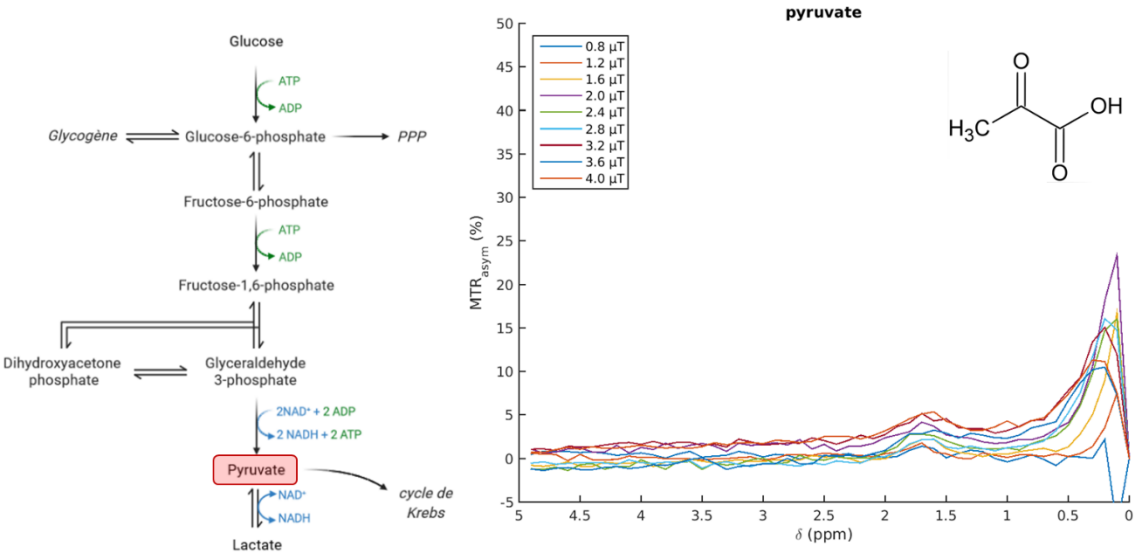


Figure V-21: Le pyruvate dans le métabolisme énergétique et sa signature CEST

V.3.6. Lactate

Le lactate et son utilisation comme substrat dans le métabolisme neuronal reste controversé, comme nous l'avons vu dans le chapitre 1. Néanmoins, suivre son évolution pourrait apporter une information intéressante sur le métabolisme du glucose. En condition physiologique sa concentration cérébrale chez le rat a été rapportée comme étant de 1,9 µmol/g (Pfeuffer, Tkáč, et Gruetter 2000).

Le lactate semble avoir deux pics de résonance à 0,3 et 0,5 ppm, causés par chacun des deux groupes hydroxyles, qui n'en forment rapidement plus qu'un à mesure que le B_1 augmente et que l'effet de saturation directe s'intensifie. Cependant, à concentration équivalente, l'intensité du signal du lactate sera masquée par le signal du glucose. De plus, l'imagerie du lactate nécessiterait une excellente correction du champ B_0 vu la proximité de ses résonances avec la fréquence de l'eau libre.

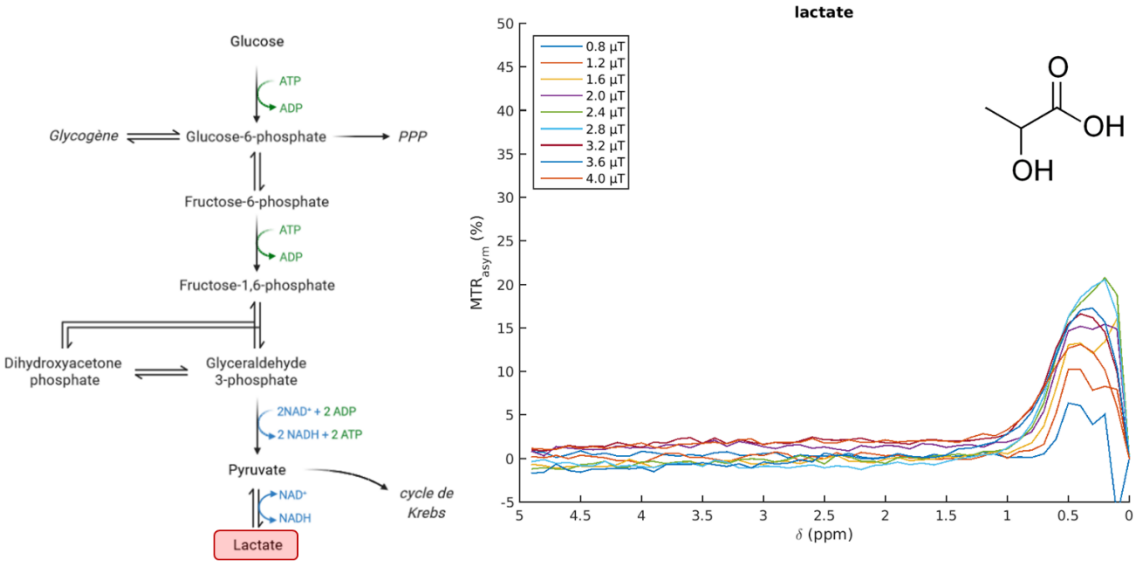


Figure V-22 : Le lactate dans le métabolisme énergétique et sa signature CEST

Les effets qui semblent avoir lieu proche de la résonance de l'eau comme dans le cas du F1,6P$_2$, du lactate et du pyruvate sont tout de même à considérer avec précaution. En effet, ces résonances vont être extrêmement sensibles aux inhomogénéités de champ B$_0$. Ces résultats ayant été acquis à des concentrations élevées, bien au-delà des concentrations physiologiques (*in vivo* la concentration de glucose endogène est aux alentours de 3mM) il semble que la cartographie *in vivo* de ces métabolites soit très difficile en particulier pour le F1,6P$_2$, le lactate et le pyruvate. Les molécules dont on pourrait envisager la visualisation *in vivo* seraient donc uniquement le F6P et le G6P (en plus du glucose) d'après les résultats de cette expérience sur fantôme.

V.4. Analogues du glucose

Parmi les études qui se sont intéressées au métabolisme énergétique ou au transport des substrats énergétiques, on retrouve dans bon nombre d'entre elles l'utilisation d'analogues du glucose (Dienel, Cruz, et Sokoloff 1993; Jay et al. 1990). Ces analogues sont des molécules dont la structure moléculaire est proche de celle du glucose. Souvent, ils sont transportés par les mêmes transporteurs que le glucose ce qui permet d'étudier les défauts de transport dans certaines maladies par exemple (Klepper et al. 1999).

L'utilisation d'analogues du glucose peut également être intéressante si l'on souhaite étudier une voie métabolique particulière. Il existe en effet des analogues du glucose, qui, bien que transportés avec des affinités similaires (**§I.2.4**) ne suivent pas les mêmes voies de métabolisation voire qui ne sont pas

métabolisé plus en aval dans ces voies. C'est le cas par exemple du 2-désoxy-D-glucose (2DG) qui s'accumule sous la forme de 2DG-6-phosphate. Cet analogue est abondamment utilisé en imagerie TEP où il est marqué au fluor 18.

Bien que ces analogues aient une composition chimique proche, la fréquence de résonance de chaque groupe hydroxyle pourrait être impactée. Dans l'objectif d'utiliser nous-mêmes ces analogues pour étudier le métabolisme énergétique, nous avons donc évalué le signal CEST de différents analogues en fantôme.

V.4.1. L-glucose

Le L-glucose est un énantiomère du D-glucose. On ne le trouve pas sous cette forme dans la nature. Il est cependant utilisé dans l'étude du métabolisme énergétique, dans le diagnostic des tumeurs par exemple (Anastasiou et al. 2021). Seule la conformation de la molécule de L-glucose est différente, elle possède les mêmes groupes hydroxyles que le glucose qui résonnent donc aux mêmes fréquences (**Fig.V.12**). L'intérêt majeur du L-Glc est qu'il n'est pas transporté à travers la barrière hémato-encéphalique par les transporteurs du glucose. Ainsi, il nous a été très utile pour évaluer la contribution potentielle de l'espace vasculaire au signal glucoCEST dans nos expériences *in vivo* (voir **chapitre VII**). Nous n'avons pas pu acquérir de fantôme de L-glucose mais le signal aurait été le même que la molécule de D-glucose car la structure de la molécule est la même donc l'accessibilité des fonctions OH est similaire, par conséquent ils ont les mêmes taux d'échange.

V.4.2. 2-désoxy-D-glucose

Le 2DG est une molécule de glucose à laquelle il manque un groupe hydroxyle sur l'atome de carbone 2 de sa chaîne carbonée. Son métabolisme est proche de celui du glucose. Il agit comme inhibiteur de la production de G6P à partir du glucose. Il existe de nombreuses applications dans lesquelles le 2DG est utilisé, en plus de la TEP. Il est par exemple au cœur des études du métabolisme par autoradiographie (Nehlig et al. 2004) et sert aussi d'agent thérapeutique préclinique sur des cellules cancéreuses (Pajak et al. 2019). Nous avons utilisé cet analogue afin de tirer profit de l'accumulation de son produit de dégradation par l'hexokinase, le 2DG6P, et ainsi avoir une meilleure détection *in vivo* (voir **chapitre VII**).

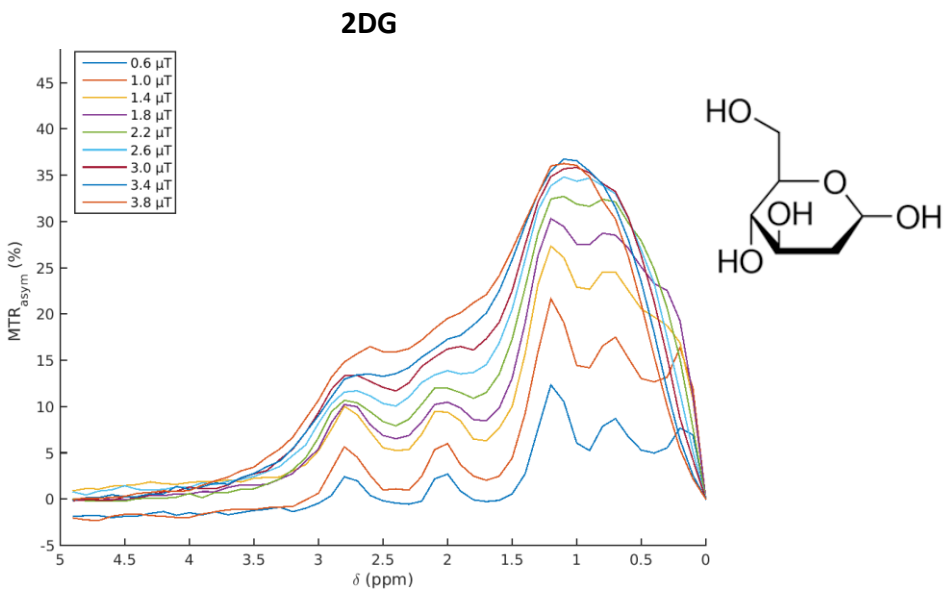


Figure V-23 : Signature CEST du 2-désoxy-D-glucose dans un fantôme à 50 mM pour une gamme de B_1

Le MTRasym présente quatre pics qui résonnent aux mêmes fréquences que le D-glucose. La perte d'un groupe hydroxyle engendre cependant une légère baisse de signal à la résonance associée (1,2 ppm). L'effet de saturation directe semble apparaître aux alentours d'un B_1 de 2,2 µT.

V.4.3. 3-O-méthyl-D-glucose

Le 3OMG, comme son nom l'indique, possède un groupe méthyl lié à un oxygène sur le carbone 3 de la chaîne carbonée du glucose à la place d'un atome d'hydrogène. Le 3OMG est majoritairement utilisé pour étudier le transport du glucose dans certaines pathologies (Klepper et Voit 2002) ou plus récemment en imagerie CEST pour étudier le métabolisme de tumeurs (Jin et al. 2018; Sehgal et al. 2019).

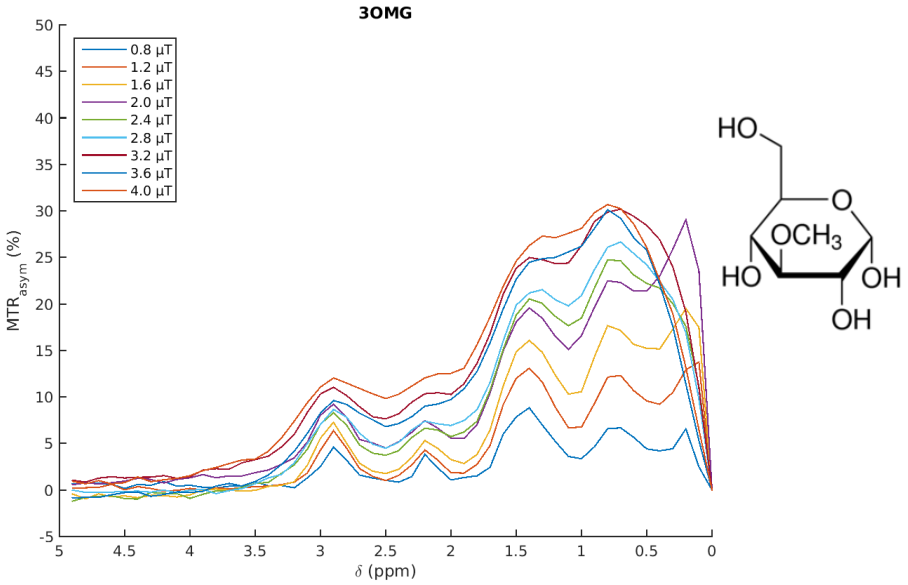


Figure V-24 : Signature CEST du 3-O-méthyl-D-glucose

Le MTRasym présente quatre pics qui résonnent aux mêmes fréquences que le D-glucose. La perte du groupe hydroxyle sur le carbone 3 engendre une diminution du signal à 1,2 ppm puisque seuls 2 groupes hydroxyles résonnent désormais à cette fréquence.

V.4.4. Comparaison avec le D-glucose

Afin de comparer les intensités de chaque pic de résonance des analogues et du D-glucose, nous avons gardé les paramètres de saturation optimisés pour l'imagerie glucoCEST, à savoir t_{sat} = 4s et B_1 = 2 µT (**Fig.V.25.A**).

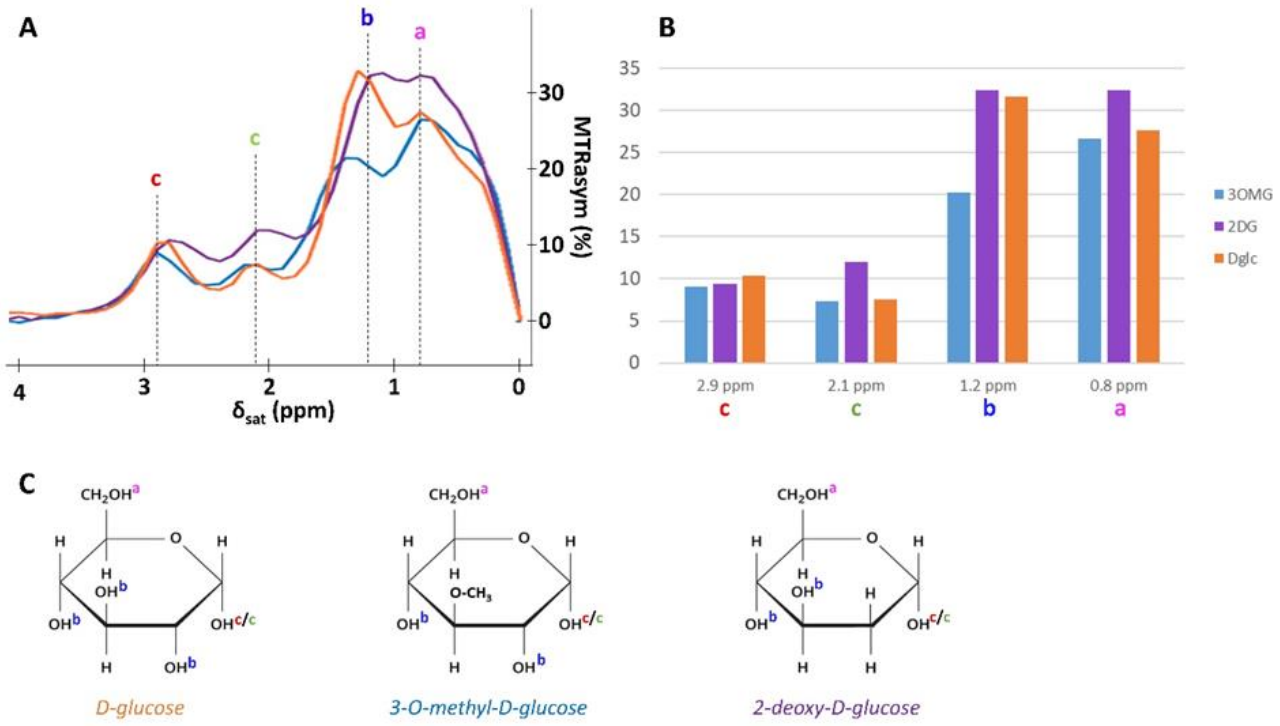


Figure V-25 : Comparaison du signal CEST entre le glucose et ses analogues

(A) Signature CEST du D-glucose et de ses analogues à B_1 = 2 µT et t_{sat} = 4 s. (B) Comparaison des intensités CEST pour les fréquences d'intérêt entre les analogues. (C) Attribution des groupes hydroxyles responsables de chacun des pics CEST observés.

On peut voir que les fréquences de résonance de chacune des molécules sont sensiblement les mêmes. En revanche, leurs intensités varient. On remarque ainsi que le 2DG possède un MTRasym plus élevé que le glucose et le 3OMG à 0,8 1,2 et 2,1 ppm. Le 3OMG quant à lui est en deçà du 2DG et du glucose à 0,8 et 1,2 ppm (**Fig.V.25.B**).

Ces résultats permettent de mettre en évidence une sensibilité équivalente de la séquence à chacun de ces analogues ce qui montre qu'une comparaison absolue est possible *in vivo*. On pourra donc par la suite comparer les effets CEST mesurés à la suite de l'injection de chacune de ces molécules pour comparer leurs concentrations les unes par rapport aux autres. Cette conclusion reste cependant vraie uniquement si les taux d'échange des hydrogènes en échange restent identiques entre les molécules dans des conditions *in vivo*. Il y a néanmoins de fortes chances de penser que cela soit le cas au vu des configurations similaires de ces molécules (**Fig.V.25.C**). Leur métabolisme différent fait de ces analogues un outil de choix pour répondre à une question cruciale en vue de l'utilisation de l'IRM glucoCEST pour la quantification du métabolisme énergétique : quelle est l'origine compartimentale du signal glucoCEST ? Cette question est traitée dans le chapitre **VII**.

Ce travail de caractérisation nous a permis de mettre en évidence les fréquences de résonances des molécules d'intérêt afin de mieux suivre le métabolisme énergétique et son altération dans des futures études *in vivo*. Au vu de la différence des signatures CEST entre certains métabolites, on pourrait imaginer acquérir le signal CEST à de multiples fréquences avec une bonne résolution temporelle et ainsi évaluer les contributions de ces métabolites au cours du temps.

Nous discuterons dans les chapitres suivants des applications liées à la caractérisation du signal CEST de ces molécules d'intérêt. Nous nous intéresserons notamment à la détection du métabolisme énergétique *in vivo* grâce au développement de notre méthode.

Chapitre VI : Défis de l'IRM glucoCEST *in vivo*

Le développement de l'imagerie CEST du glucose dans des conditions *in vivo* sur animal sain est primordiale afin de pouvoir montrer les applications de cette méthode et son apport dans l'étude des maladies neurodégénératives sur des modèles animaux. Il existe de nombreux modèles rongeurs de maladies neurodégénératives, majoritairement souris mais aussi rats. Le développement de l'imagerie CEST sur des modèles de rongeurs est l'un des enjeux principaux de cette thèse. En effet, la résolution spatiale limitée de l'imagerie TEP rend difficile l'évaluation du métabolisme chez le rat, et encore plus chez la souris. Grâce à l'imagerie CEST nous pourrions dépasser les limites physiques de la TEP et étudier le métabolisme énergétique dans ces modèles. Etant donné que nous avons développé le protocole d'imagerie et d'anesthésie sur des rats, nous avons choisi d'utiliser un modèle rat déjà existant au laboratoire et bien caractérisé par de précédentes études menées par différents doctorants. Il s'agit d'un modèle de la maladie de Huntington, dit BACHD. Nous discuterons dans ce chapitre du protocole expérimental suivi ainsi que du modèle BACHD.

VI.1. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Dans le cadre de nos expériences *in vivo*, nous avons utilisé une antenne volumique couplée à une antenne de surface adaptée au rat afin de garantir i) une homogénéité de B_1 maximale et ii) le meilleur SNR possible. Par ailleurs, de nombreux éléments supplémentaires, détaillés ci-après, entrent en jeu dans le cadre d'expérience sur animal tels que le suivi des constantes d'anesthésie et de température. La figure ci-dessous récapitule la configuration de nos expériences.

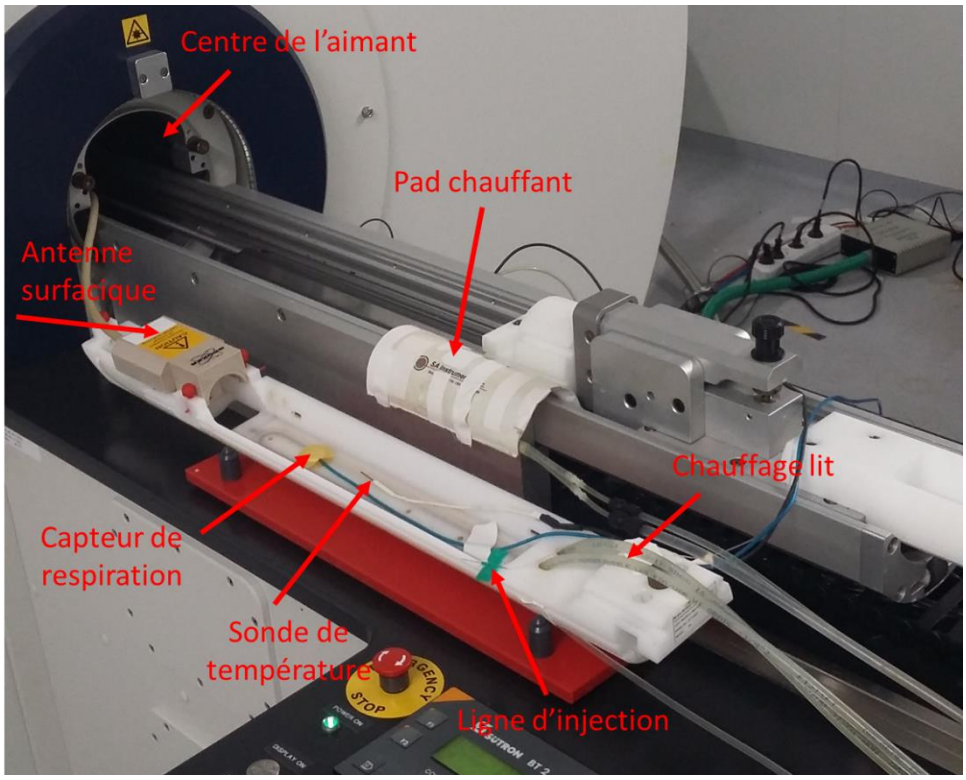


Figure VI-1 : Configuration expérimentale

VI.1.1. Mise en place de l'animal

L'animal vigile est placé dans une cage à induction dans laquelle il est préalablement anesthésié à l'isoflurane par voie gazeuse à environ 4% à l'aide d'un mélange air/O_2. Une fois inconscient l'isoflurane est abaissé aux alentours de 2% (selon la respiration de l'animal) et l'animal peut alors être manipulé facilement. Ainsi, on pourra poser un cathéter veineux ou réaliser une injection sous-cutanée sans difficulté liée au mouvement de l'animal. Une fois anesthésié selon la méthode voulue, l'animal est ensuite déplacé sur un lit adapté à l'IRM dans lequel sa tête va être immobilisée par trois points fixes (deux barres d'oreille insérées dans le conduit auditif ainsi qu'un mors de gueule, **Fig.VI.2**). L'anesthésique continue d'être administré tout au long de l'expérience par l'intermédiaire d'un tuyau relié au masque dans lequel respire l'animal dans le cas d'un anesthésique gazeux ou bien par perfusion (sous-cutanée ou intraveineuse) dans le cas d'un anesthésique liquide.

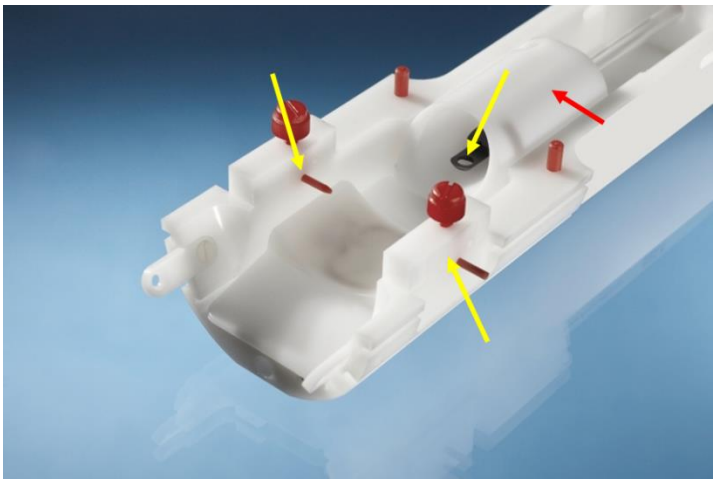


Figure VI-2 : Placement de la tête du rat

La tête est immobilisée par trois points fixe (flèches jaunes) et maintenue dans le masque (flèche rouge) dans lequel parvient l'anesthésique gazeux.

Après vérification du bon positionnement du cerveau une fois l'animal placé dans l'IRM, l'ajustement de la puissance est effectué. Une image d'une portion du cerveau est ensuite acquise par une séquence *multi-spin multi-echoes* afin de se positionner dans la coupe de cerveau qui nous intéresse. Une fois ceci fait, une carte du champ B_0 est acquise afin de pouvoir corriger les décalages en fréquences sur le Zspectrum. Le shim est également corrigé jusqu'au second ordre dans la région d'intérêt.

VI.1.2. Température corporelle et métabolisme

Le métabolisme peut également être affecté par la température corporelle. C'est pourquoi nous monitorons la température du rat grâce à une sonde de température et un système de circuit d'eau thermorégulé (lit et pad chauffant, voir **Fig .VI.1**)). Les rats sont ainsi maintenus à une température proche de 37°C. Sur des expériences longues les animaux sont amenés à être anesthésiés pendant plusieurs heures, environ 3h dans le cas de nos expériences. Une telle durée d'anesthésie provoque une baisse de température, plus marquée à mesure que la durée augmente, compensée avec le système de chauffage.

VI.1.3. Contrôle du poids

L'antenne volumique utilisée dans nos expériences impose une taille limite des rats pour pouvoir les scanner. En effet, le diamètre interne de l'antenne (7 cm) doit permettre le passage du lit ainsi que du rat et du pad chauffant. Ainsi, un poids limite de 650 g a été décrété afin que les rats n'aient aucun

problème respiratoire. Au-delà de ce seuil on s'attend à ce que la capacité respiratoire des rats soit réduite dû à un espace trop restreint. Pour s'assurer que les rats ne dépassent pas cette limite nous avons donc suivi l'évolution de leur poids au cours du temps.

VI.1.4. Anesthésie et suivi des paramètres physiologiques

L'acquisition d'images des cerveaux de rats à l'IRM nécessite une immobilité quasi-totale afin d'acquérir le signal dans une région définie et éviter tout artéfact de mouvement. Ainsi, les animaux sont systématiquement anesthésiés et maintenus stables à l'aide d'un cadre stéréotaxique (**Fig.VI.2**). Cependant, pour étudier le métabolisme cérébral dans les meilleures conditions possibles, on cherche à maintenir un niveau d'anesthésie le plus faible possible. En effet, plus le niveau d'anesthésie sera faible moins le métabolisme cérébral sera impacté et on aura donc accès à plus d'information biologique concernant l'état du métabolisme.

L'anesthésique le plus communément utilisé chez l'animal est l'isoflurane. L'isoflurane est administré sous forme gazeuse grâce à un système de ventilation. Il est associé à de l'oxygène pur ou mélangé avec de l'air dans des proportions souhaitées. De plus sa concentration est facilement ajustable à l'aide d'une molette de réglage et ses effets rapidement visibles sur l'anesthésie de l'animal. Ces caractéristiques en font un anesthésique simple et pratique d'utilisation, ce qui explique qu'il soit si répandu. Il engendre cependant des modifications de l'utilisation cérébrale de glucose (Ori et al. 1986).

Région cérébrale	**Rat contrôle**	**Rat anesthésié**	**Différence (%)**
	rCMRglc (µmol.100 g^{-1}.min^{-1})		
Cortex			
Préfrontal	88 ± 2	49 ± 3	- 44‡
Moteur	84 ± 6	65 ± 4	- 23*
Somatosensoriel	93 ± 3	41 ± 1	- 56‡
Système moteur			
Striatum	57 ± 2	42 ± 2	- 26‡
Substantia nigra	51 ± 6	33 ± 3	- 35*

Tableau VI-1: Utilisation locale de glucose cérébral (LCGU) (Ori et al. 1986)

*Moyenne ± SEM pour les 6 rats de chaque groupe (contrôle et anesthésié à l'isoflurane 1,5%). *P < 0,05 ; ‡P < 0,001.*

D'après ces données, on remarque que l'anesthésie sous isoflurane engendre une baisse des consommations de glucose dans de nombreuses structures cérébrales. Cette diminution est au moins de 20% dans les structures les moins touchées et peut atteindre jusqu'à 56% parmi les structures les

plus atteintes. En particulier, on constate que le striatum, la structure dans laquelle nous nous sommes placés dans la plupart de nos expériences subi une diminution de 26% par rapport à son métabolisme de base dans les conditions d'une anesthésie à l'isoflurane. Dans l'étude faisant l'objet du **chapitre VIII** nous avons acquis notre signal dans les régions du cortex moteur et somatosensoriel. Dans ces structures le métabolisme du glucose est là aussi grandement diminué. Ces conditions d'anesthésie ne sont donc pas idéales pour l'application de notre méthode.

Utiliser un anesthésique engendrant des effets moins importants sur le métabolisme cérébral pourrait permettre une meilleure sensibilité de détection des variations de quantités de substrats énergétiques. Par conséquent, nous avons tenté d'évaluer d'autres méthodes d'anesthésie présentant des modifications moins importantes du métabolisme cérébral.

VI.1.4.1. Domitor

Le domitor est un médicament vétérinaire dont la substance active est la médétomidine. Il est injecté en sous-cutané et utilisé comme sédatif, analgésique et myorelaxant. Il provoque une vasoconstriction périphérique légère. De façon surprenante, nous n'avons pas réussi à obtenir une stabilité des résultats suffisante (**Fig.VI.3**). En effet, on constate sur la cinétique du signal glucoCEST après injection de glucose que les barre d'erreur calculées sur 2 animaux sont très importantes. Par conséquent, il était impossible de distinguer la prise de contraste glucoCEST liée au passage du glucose du sang vers les tissus cérébraux comme nous avons pu l'observer avec une anesthésie à l'isoflurane (voir **Fig.VI.4.A**, courbe bleue). Nous ne sommes pas en mesure d'expliquer l'échec de nos mesures avec cet anesthésique et nous n'avons pas poursuivi les investigations au-delà de cette expérience.

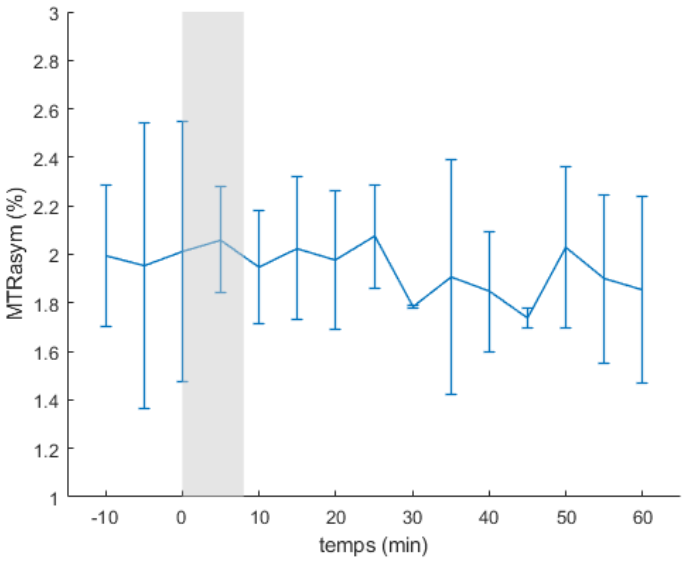


Figure VI-3 : Cinétique CEST observée à 1,2 ppm sur rats anesthésiés au domitor (n=2)

La barre grise représente l'injection de D-glucose (1 g/kg pendant 8 min).

VI.1.4.2. Propofol

Le propofol est un anesthésique général intraveineux, d'action rapide. Il peut être utilisé pour l'induction et l'entretien de l'anesthésie générale. Nous avons donc acquis une cinétique CEST sur un animal anesthésié au propofol (**Fig.IV.A**). On voit le signal CEST augmenter pendant les premières acquisitions. De façon surprenante, nous avons constaté une augmentation du signal CEST dès le début de l'expérience, avant même d'avoir injecté le glucose. Afin de mieux caractériser cette dérive, nous avons acquis plusieurs points supplémentaires pour la ligne de base avant d'injecter le D-glucose. Après injection de glucose, matérialisée par la barre verticale grise sur la figure **VI.4**, on observe une rupture de pente liée à l'injection de D-glucose (courbe rouge au-dessus des pointillés représentant l'évolution attendue uniquement avec du propofol). Néanmoins, ces résultats nous montrent que le propofol contribue fortement au signal CEST. Afin de confirmer cela, nous avons acquis un Z-spectrum sur un fantôme de propofol qui a permis de confirmer l'effet CET observé in vivo autour de 0.8 ppm (**Fig.VI.4**).

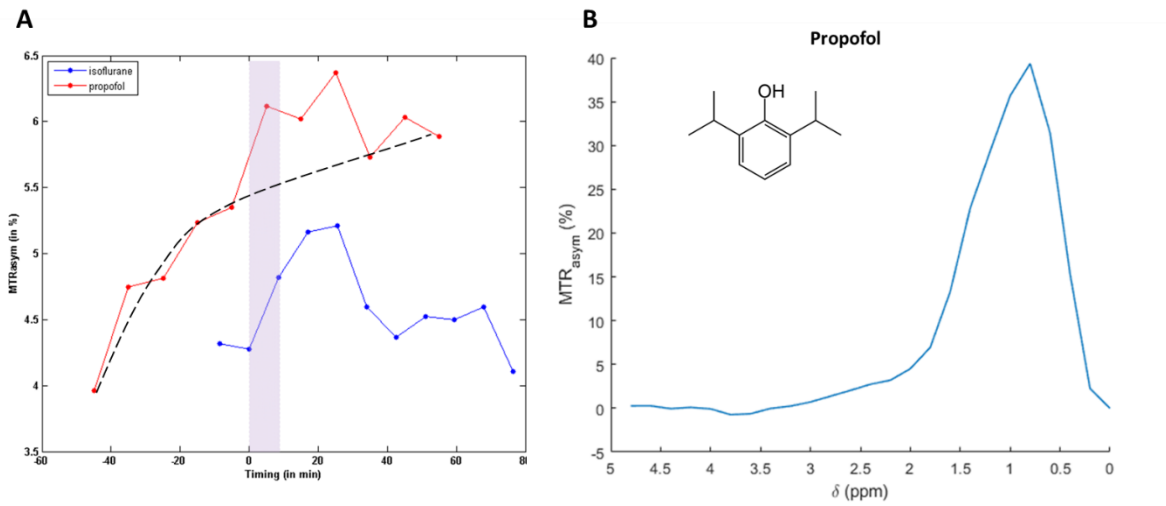


Figure VI-4: Effet du propofol sur le signal CEST

(A) Comparaison du signal CEST dans le striatum de rat à 1,2 ppm dans le cas d'une anesthésie à l'isoflurane (bleu) et au propofol (rouge). La barre grise représente l'injection du D-glucose. Le propofol semble augmenter le signal CEST au cours du temps, représenté par la courbe noire en pointillé. (B) Signal CEST d'un fantôme de propofol acquis avec un B_1 = 2µT et t_{sat} = 4s

De façon surprenante le propofol présente une fréquence de résonance aux alentours de 0,8 ppm, dont l'effet affecte aussi le signal CEST à 1,2 ppm : environ 25% de MTRasym à 1,2 ppm. La concentration utilisée pour ce fantôme est la même que lors de la perfusion de propofol en tant qu'anesthésique. Par conséquent, le propofol n'est pas du tout adapté pour notre protocole qui vise à

suivre les variations de signal glucoCEST au cours du temps après injection de glucose ou d'un de ses analogues.

VI.1.4.3. Conclusion sur le choix de l'anesthésique

Nous avons donc décidé de poursuivre nos expérimentations en utilisant l'isoflurane comme anesthésique avec un mélange air/O_2 de ratio 1 : 1 bien qu'il ne soit pas l'anesthésique idéal pour ce genre d'étude. Le niveau d'anesthésie à l'isoflurane peut être finement régulé. En effet, un niveau d'isoflurane de 1% engendrera une anesthésie plus légère qu'un niveau d'isoflurane à 2% par exemple. Pour suivre l'effet de l'isoflurane sur l'animal nous monitorons donc sa fréquence respiratoire. Le niveau d'isoflurane est ajusté manuellement afin de conserver une fréquence respiratoire aux alentours de 70 rpm, cela correspond à un niveau d'isoflurane compris entre 1,8% et 2%. Dans cette gamme de concentration d'isoflurane des études CEST sont parvenus à observer des effets liés au métabolisme du glucose (Kentrup et al. 2017; Nasrallah et al. 2013; Walker-Samuel et al. 2013).

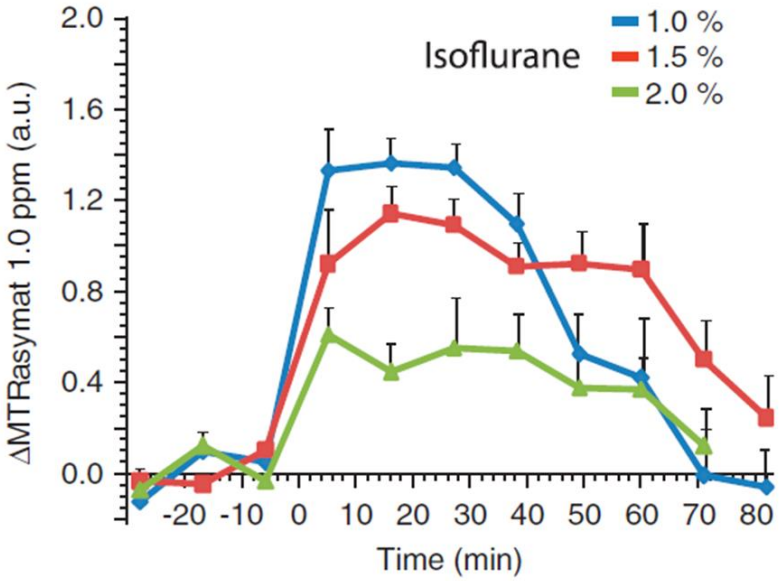


Figure VI-5: Effet du niveau d'isoflurane sur le signal CEST mesuré (Nasrallah et al. 2013), après injection de D-glucose (1 g/kg)

En effet, on constate que l'intensité des variations de signal glucoCEST après injection de glucose est d'autant plus faible que le taux d'isoflurane est haut. Etant donné que l'impact de l'isoflurane sur le métabolisme est bien connu, cela démontre la sensibilité du glucoCEST pour sonder le métabolisme cérébral. Il est toutefois important de noter que l'isoflurane a un impact fort sur la perfusion sanguine. Par conséquent, l'apport de sang au cerveau varie entre les différentes conditions d'isoflurane utilisées. Cependant, la quantité de glucose injectée lors de cette expérience était très importante (1

g/kg) donc on peut faire l'hypothèse que le glucose reste en large excès dans le compartiment sanguin et donc l'impact sur la prise de contraste n'est pas lié à un apport moindre en glucose.

Dans le cas de l'étude entre animaux sains et pathologiques (**chapitre IX**), le niveau d'isoflurane a été minutieusement contrôlé (1,76 ± 0,13 %, moy ± SD) afin d'appliquer des doses similaires à chaque groupe, de sorte que l'observation d'une différence de signal entre les groupes reflète un changement physiologique et non un biais dû à l'anesthésie.

VI.1.5. Injection de glucose exogène

La concentration cérébrale endogène en glucose étant relativement faible, de l'ordre du mM, la mesure des variations de concentration en glucose endogène *in vivo* n'est pas triviale. Par conséquent, nous avons choisi d'injecter du glucose en intraveineuse comme cela a déjà été fait à plusieurs reprises dans la littérature (Huang et al. 2020; Jin et al. 2016; Xu et al. 2019). On pourra ainsi observer les modulations des concentrations de glucose liées à l'injection.

Pour cela, j'ai ainsi dû apprendre à poser un cathéter caudal veineux. La pose du cathéter nous a permis d'effectuer l'injection du glucose avec l'animal placé dans l'aimant afin d'avoir une cinétique non biaisée par d'éventuels problèmes de repositionnement de l'animal mais surtout afin de mesurer les variations de signal glucoCEST dès les premières minutes après l'injection. Les dosages de la solution injectée doivent être précisément contrôlés, et le cathéter correctement posé afin de garantir le bon passage de la solution sans risque pour l'animal. Dans cette thèse nous avons repris le développement méthodologique effectué par Jérémy Pépin, ancien doctorant de l'équipe RMN. Il s'agit ainsi d'injecter une solution de glucose à 20% en masse, pendant 8 min à raison d'1g/kg. Cela peut paraître une quantité importante de glucose, mais reste cependant en accord avec d'autres études glucoCEST (Capozza et al. 2021; Chan et al. 2012; Rivlin et Navon 2019). On utilise pour cela un pousse-seringue afin de parfaitement contrôler le débit de l'injection. L'injection est réalisée pendant que l'animal est à l'intérieur du scanner et pendant les acquisitions.

Température	Isoflurane	Baseline	Injection	Durée totale
36,7-37°C	1,8-2%	15min	8min (1 g/kg)	2h15

Tableau VI-2: Paramètres expérimentaux

VI.2. PROTOCOLE D'IMAGERIE ET EFFET PHYSIOLOGIQUE DE L'INJECTION DE MOLECULE EXOGENE

VI.2.1. Acquisition CEST multi-fréquentielle

Une fois dans transportée jusqu'à l'espace intracellulaire, la molécule de glucose est dégradée, tout d'abord par l'hexokinase puis par différentes voies évoquées précédemment. Comme nous l'avons vu lors de la caractérisation de l'effet CEST sur les intermédiaires de la glycolyse, les réactions successives sur la molécule de glucose modifient sa signature CEST. Dans l'objectif d'observer ces changements d'intensité du signal CEST au cours de la dégradation du glucose nous avons mis en place une acquisition CEST aux différentes fréquences de résonance d'intérêt, à savoir 0,8 1,2 2,1 et 2,9 ppm. L'acquisition de ces fréquences va permettre d'obtenir une information plus riche sur l'état de la molécule d'intérêt injectée.

VI.2.2. Mise au point de l'imagerie CEST

Lors de cette étape de mise au point de l'imagerie CEST, nous avons acquis le signal CEST aux fréquences d'intérêt avant et après injection de glucose (1 g/kg). Ces acquisitions ont été faites dans le cerveau de rat sain à 11,7 T à l'aide d'une antenne volumique couplée à une antenne surfacique (présentées **chapitre V**).

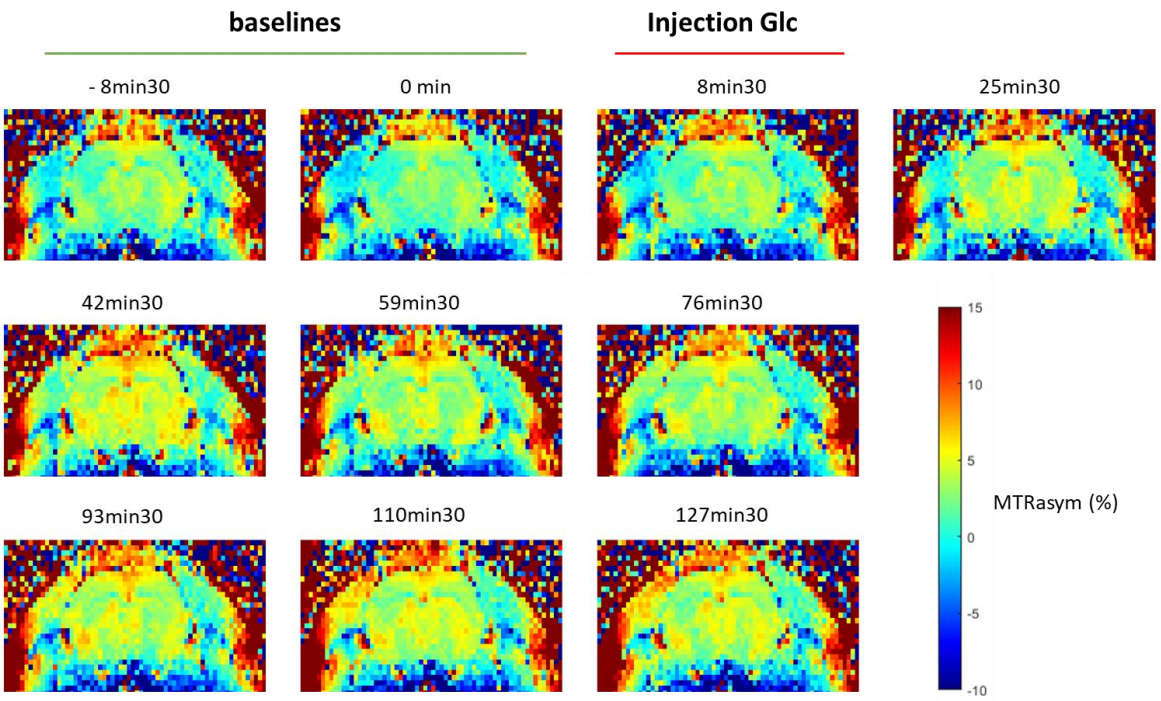


Figure VI-6 : Evolution du signal CEST avant et après injection de glucose exogène (1g/kg).

Le signal est ici montré à la fréquence de résonance de 1,2 ppm chez un rat sain anesthésié à l'isoflurane (2%)

Cependant l'imagerie CEST du glucose montre une variabilité inter-animaux assez élevée. Nous avons donc décidé d'utiliser un analogue du glucose : le 2-désoxy-D-glucose. La figure **VI.7** présente les cinétiques obtenues avec l'injection du 2DG (avec une séquence RMN détaillée dans le chapitre suivant). L'allure de la courbe est différente de celle du glucose mais sera également discutée dans le **chapitre VII**. Ici nous avons voulu mettre en avant l'intérêt de l'acquisition multi-fréquentielle qui permet de comparer l'évolution du signal liée aux différents groupes hydroxyles des molécules (**chapitre V**). On voit par exemple une allure du signal à 2,1 et 2,9 ppm qui diffère de celle observée à 1,2 ppm. Le décalage temporel entre les courbes à 2,1/2,9 et 1,2 ppm pourraient ainsi rendre compte de la phosphorylation de la molécule.

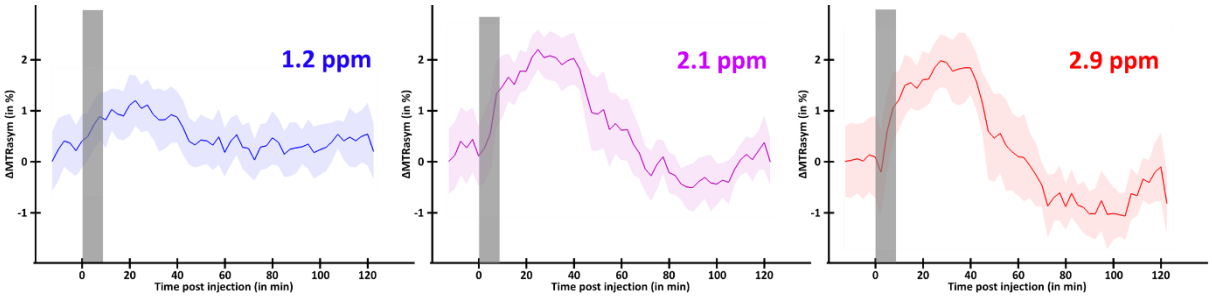


Figure VI-7: Variations du signal CEST avant et après injection de 2DG (1g/kg, 8min) (barre grise) aux fréquences d'intérêt.

Ces résultats mettent en lumière les différences de signal CEST entre les fréquences d'intérêt. De plus, ils démontrent la faisabilité de l'application de l'imagerie CEST dans le cerveau de rat.

VI.2.3. Suivi physiologique : acquisition de la glycémie sanguine

Au vu des concentrations injectées pendant l'expérience, on peut se demander quel effet physiologique cela engendre sur la glycémie sanguine. Pour répondre à cette question nous avons utilisé les résultats obtenus lors des mesures de glycémie nécessaire à la modélisation du signal CEST (voir **chapitre X**). Dans cette expérience, nous avons reproduit le protocole d'injection sur paillasse afin d'obtenir des informations sur la glycémie. En effet, nous n'avons pas pu effectuer de prélèvement sanguin au cours d'une expérience IRM car cela nécessiterait une ligne avec un trop grand volume mort comparativement au volume sanguin d'un rat, au vu de la faible accessibilité de l'animal une fois au centre du scanner.

Dans le cadre de l'expérience de prélèvement sanguin, nous avons posé deux cathéters veineux, l'un dédié à l'injection de la molécule d'intérêt et l'autre au prélèvement. Afin d'éviter toute coagulation nous avons également utilisé de l'héparine (à 50 UI/mL). Le sang a été prélevé et placé dans des tubes

aliquotés à raison de ~40 µL selon un temps d'échantillonnage établi de sorte à maximiser le nombre de points acquis pendant l'injection. Ces tubes ont ensuite été centrifugés à 4°C afin de permettre la récupération du plasma pour chaque tube. Le plasma a ensuite été stocké à -20°C.

Les analyses de glycémie ont été faites au laboratoire à l'aide du GM9 (analyseur de glucose, IMLAB) et sont présentées figure **VI.8.** En présence d'oxygène moléculaire, le ß-D-glucose est oxydé par l'oxydation du glucose enzymatique en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène. Dans les conditions de la mesure du GM9, le taux de consommation d'oxygène est directement proportionnel à la concentration de glucose.

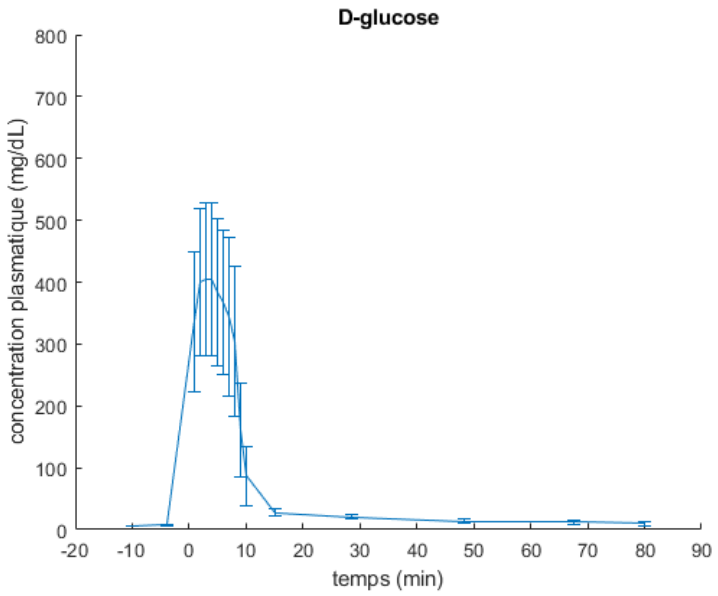


Figure VI-8: Evolution de la concentration plasmatique au cours du temps après injection de D-glucose

Injection de D-glucose (1g/kg) à t=0 pendant 8min, (n=5, moy ± SEM).

Cependant, la mesure du 2DG suivant le même protocole n'est pas envisageable. En effet, le groupe hydroxyle manquant sur la molécule de 2DG rend la mesure très peu fiable. De ce fait nous avons réalisé une prestation extérieure avec Alain Pruvost, responsable de la plateforme SMArt-MS, qui est une plateforme dédiée à la quantification absolue de petites molécules dans les fluides biologiques à Saclay. Alain Pruvost a mis au point une méthode spécifique (*chromatographie liquide haute performance* ou HPLC) afin de pouvoir mesurer les concentrations plasmatiques de 2DG, dont les résultats sont présentés figure **VI.9**.

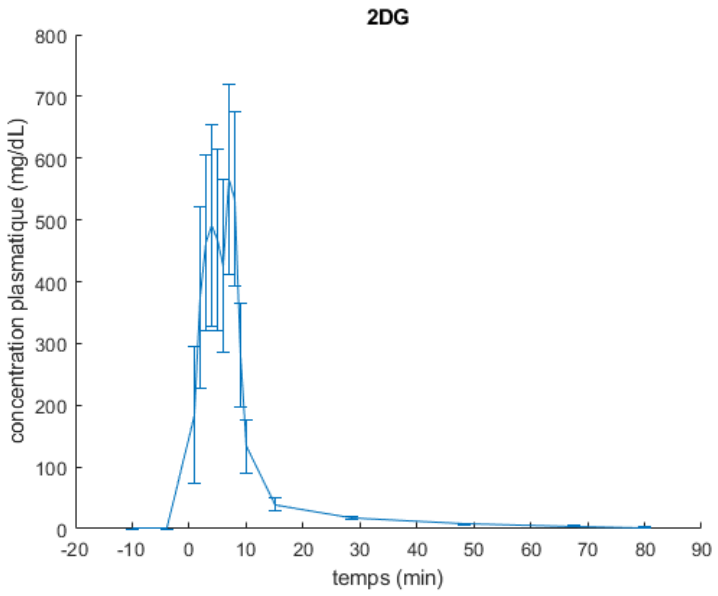


Figure VI-9 : Evolution de la concentration plasmatique au cours du temps après injection de 2DG

Injection de 2DG (1g/kg) à t=0 pendant 8min. Mesuré par HPLC. (n=6, moy ± SEM).

On voit ainsi que l'injection d'une solution de glucose ou de 2DG affecte énormément les concentrations plasmatiques. On observe en effet une augmentation d'un facteur 50 à la fin de l'injection. Cette concentration est cependant rapidement régulée et diminue dès l'arrêt de l'injection. Elle retrouve une valeur de base 80 min après injection dans le cas du glucose et retombe à 0 (valeur physiologique dans le cas du 2DG) également à 80 min post-injection.

L'injection de 2DG engendre également une élévation de la concentration plasmatique de glucose, comme le montre la figure **VI.10**. Ces données ont été acquises lors de la même expérience que les données des concentrations de 2DG. Ceci indique donc que l'injection de 2DG exerce une influence sur la concentration de glucose dans le sang.

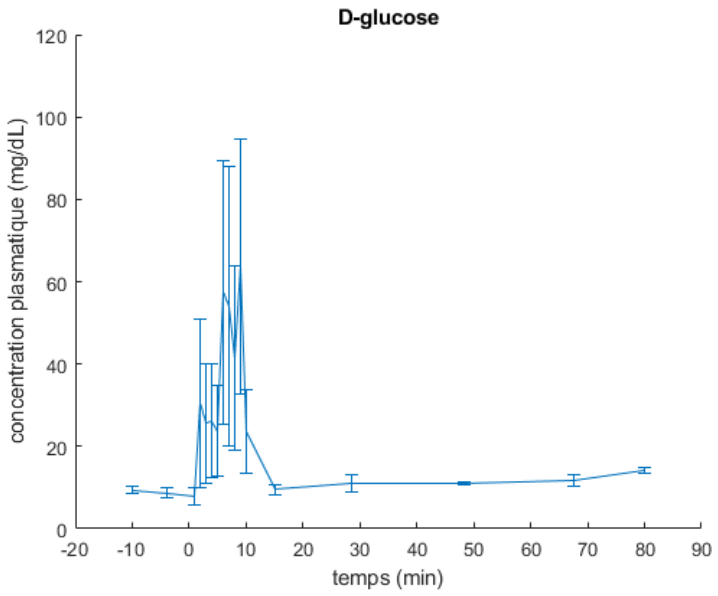


Figure VI-10 : Effet de l'injection de 2DG sur la concentration plasmatique du glucose

Mesures effectuées par HPLC, (n=6, moy ± SEM)

Ces résultats apportent une information intéressante quant à la régulation des concentrations du glucose et/ou du 2DG dans le sang et pourraient être exploités pour modéliser les concentrations cérébrales des molécules d'intérêt.

VI.3. MODELE RAT BACHD

La maladie de Huntington est une maladie neurodégénérative caractérisée par la perte des contrôles moteurs, des déficits cognitifs et des perturbations psychiatriques. Le modèle rat BACHD est un modèle transgénique de la MH, construit en utilisant un chromosome artificiel de bactérie contenant l'intégralité du gène de la huntingtine humain muté. Il a été proposé pour la première fois par Yu-Taeger (Yu-Taeger et al. 2012). Cette construction a également été implémentée chez la souris mais sa caractérisation reste peu détaillée et limitée à l'étude de l'apprentissage et de la mémoire.

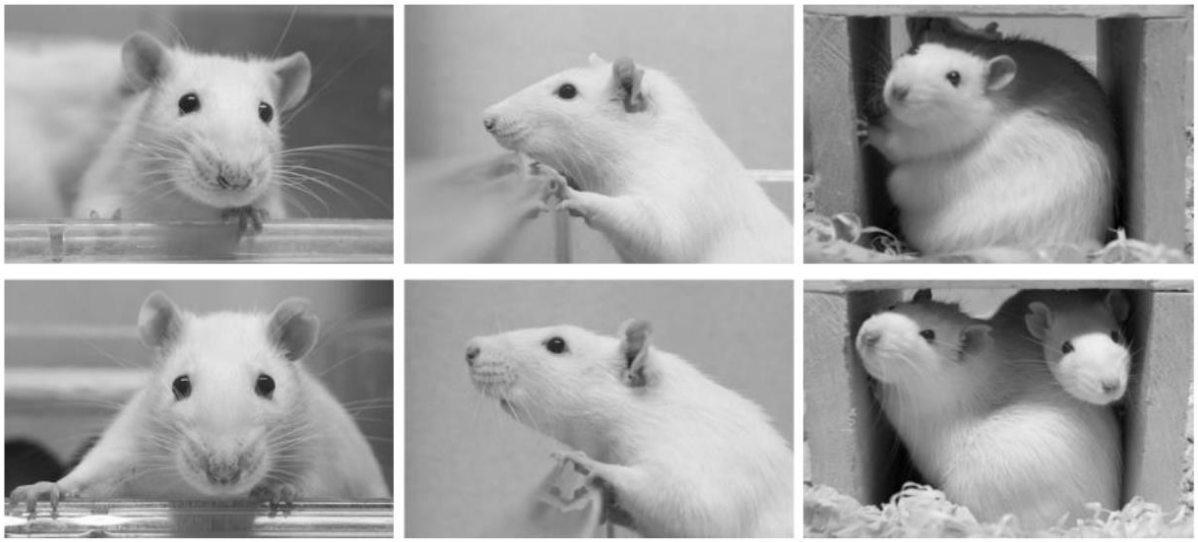


Figure VI-11 Rats sauvages et BACHD, (Clemensson 2015)

Les rats BACHD (rangée du haut) ont un phénotype morphologique distinct. Les plus marqués sont une face adolescente, une petite tête et une apparence obèse comparé aux rats sauvages (rangée du bas). Les images présentent des rats adultes âgés de 6 mois.

VI.3.1. Atteintes cérébrales

Des anormalités dans la matière blanche sont une caractéristique bien établie de la MH. On retrouve ces atteintes dans le modèle BACHD : elles apparaissent progressivement dans les régions riches en matière blanche comme le corps calleux antérieur et le cingulé dès 1,5 mois (Teo et al. 2016). Ces anormalités de microstructure dans la matière blanche évoluent en parallèle d'un déficit en myéline. On retrouve ainsi une diminution des niveaux d'expression des gènes liés à la myéline dans le cortex et le striatum.

Dans leur étude sur la caractérisation du modèle BACHD, Yu-Taeger et al ont aussi évalué l'expression de la huntingtine mutée (mHTT) dans différentes régions cérébrales et ont observé des niveaux d'expression plus importants dans le striatum et le cerebellum dans les BACHD par rapport aux contrôles. Par ailleurs, des agrégats de mHTT sont visibles à 3 mois dans tout le cerveau mais apparaissent plus fréquemment dans le cortex que dans le striatum (**Fig.VI.12**) (Yu-Taeger et al. 2012).

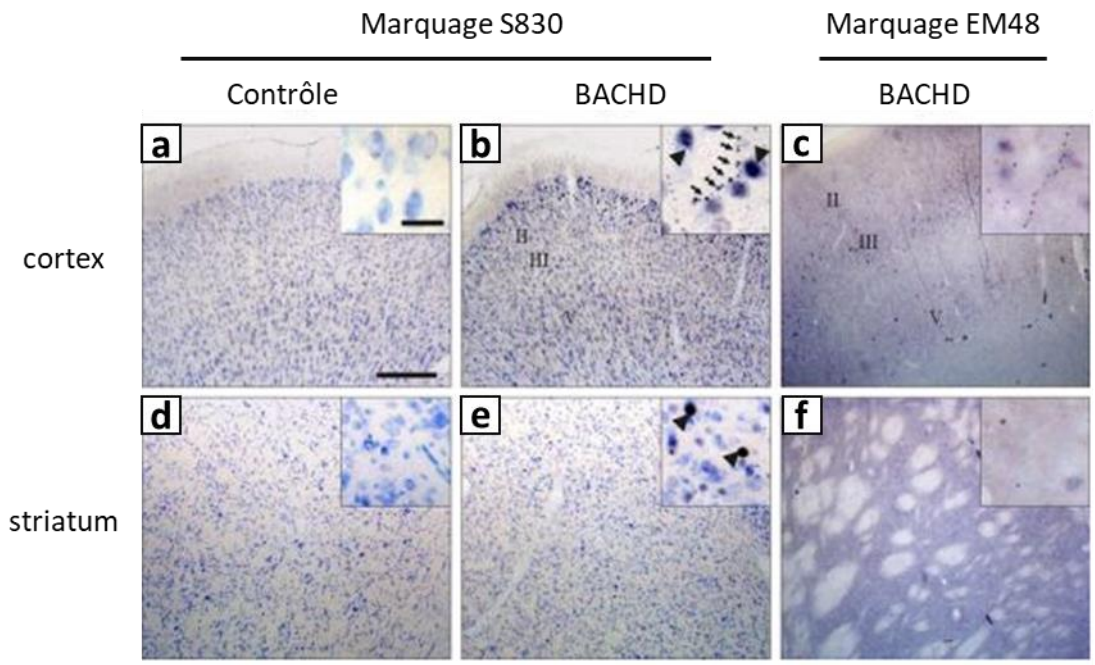


Figure VI-12 : Marquage immunohistochimique des agrégats de mHTT, (Yu-Taeger et al. 2012)

Des marquages immunohistochimiques effectués à l'aide d'anticorps S830 et EM48 mettent en évidence les inclusions de mHTT dans les neurones. Cette figure présente les résultats observés dans le cerveau de rats contrôle et BACHD dans le cortex (a,b et c) et dans le striatum (d,e et f). On remarque une atteinte plus faible dans le striatum que dans le cortex.

VI.3.2. Métabolisme général

Les rats BACHD ont une évolution de poids et de taille qui diffère de celle des rats « sauvages ». Ils présentent des signes d'obésité. En effet, si leur poids moyen est similaire à celui des rats sauvages, le rapport muscle/graisse est bien plus faible chez les BACHD (Jansson et al. 2014) et ce dès les premiers mois. En comparant la consommation de nourriture entre les deux groupes on remarque que les BACHD mangent moins que les rats sauvages, ce qui laisse supposer que l'augmentation de la masse graisseuse soit la conséquence d'une altération métabolique dans ce modèle.

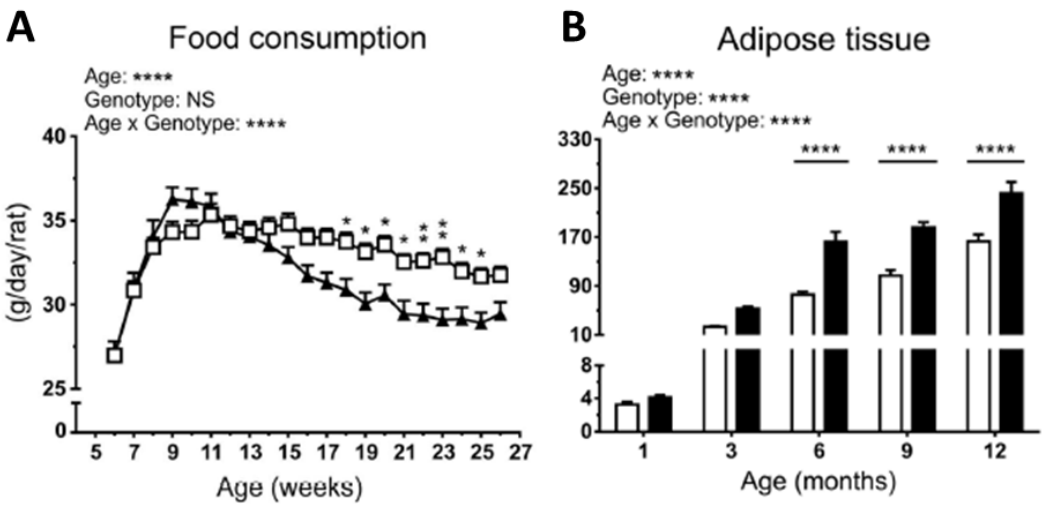


Figure VI-13 Comparaison de la consommation de la nourriture et de la masse graisseuse entre les rats sauvages (en blanc) et BACHD (en noir), adapté de (Jansson et al. 2014)

Les rats BACHD présentent une consommation de nourriture moindre à partir de 3 mois (A), alors que leur masse graisseuse reste supérieure à celles des contrôles à partir de ce moment.

Ce modèle de rat est déjà hébergé au laboratoire et a fait l'objet de plusieurs études préliminaires par des doctorants de l'équipe. Les résultats acquis suggèrent que les rats BACHD utilisent différemment les ressources énergétiques par rapport aux contrôles (voir **chapitre IX**). En effet, il semblerait que les BACHD mettent en place dans leur jeune âge des mécanismes compensatoires pour palier d'éventuels déficits métaboliques (voir **chapitre IX**). Par conséquent, ce modèle nous a semblé intéressant pour investiguer d'éventuels troubles du métabolisme sur des animaux jeunes (voir **chapitre IX**).

Chapitre VII : Elucidation de l'origine compartimentale du signal CEST

Le glucose est un bon candidat pour l'imagerie CEST grâce à ses quatre fonctions hydroxyles. Ainsi, la détection du glucose de façon non-invasive et avec une bonne sensibilité pourrait offrir une bonne alternative au ^{18}F-FDG-TEP. Afin d'obtenir une meilleure sensibilité pour étudier les variations de concentration, qui reflètent le métabolisme énergétique, nous avons besoin de concentrations plus importantes que les concentrations endogènes. Pour cela, nous injectons du glucose en solution par intraveineuse. Le glucose est ensuite transporté de l'espace vasculaire aux différents organes, dont le cerveau. Il se retrouve donc dans l'espace extracellulaire/extravasculaire avant d'être à nouveau transporté dans les cellules cérébrales (espace intracellulaire) (**Fig.VII.1**). Ainsi, contrairement à l'imagerie TEP où le signal provient de l'accumulation intracellulaire du traceur radioactif, l'origine compartimentale du signal glucoCEST reste une question à laquelle il est impératif de répondre pour pouvoir utiliser l'imagerie glucoCEST de façon pertinente.

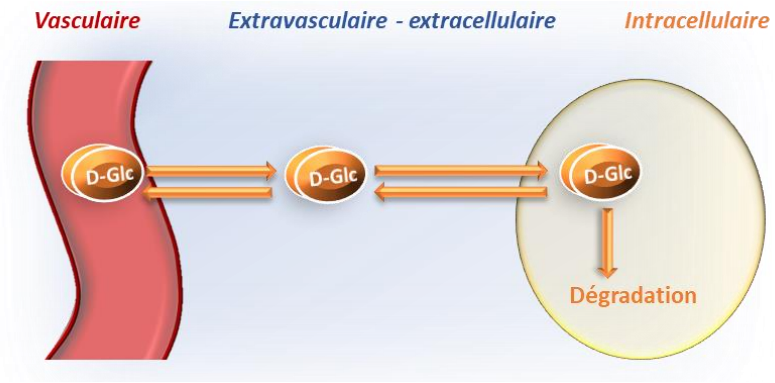


Figure VII-1 : Transport du glucose du sang aux cellules cérébrales

VII.1. ETAT DE L'ART

En effet, l'origine compartimentale du signal ne fait pas consensus au sein de la communauté. Certaines études suggèrent une origine intracellulaire (Nasrallah et al. 2013) tandis que d'autres ont conclu à une origine extracellulaire-extravasculaire et intracellulaire (Chan et al. 2012; Jin et al. 2014; Walker-Samuel et al. 2013; D. Wu et al. 2018), de même qu'une contribution non-négligeable de l'espace vasculaire (Xu et al. 2019). En dépit de nombreuses études, l'origine compartimentale du

signal glucoCEST reste encore à établir et cette approche n'a été abordée de façon spécifique que par peu d'entre elles.

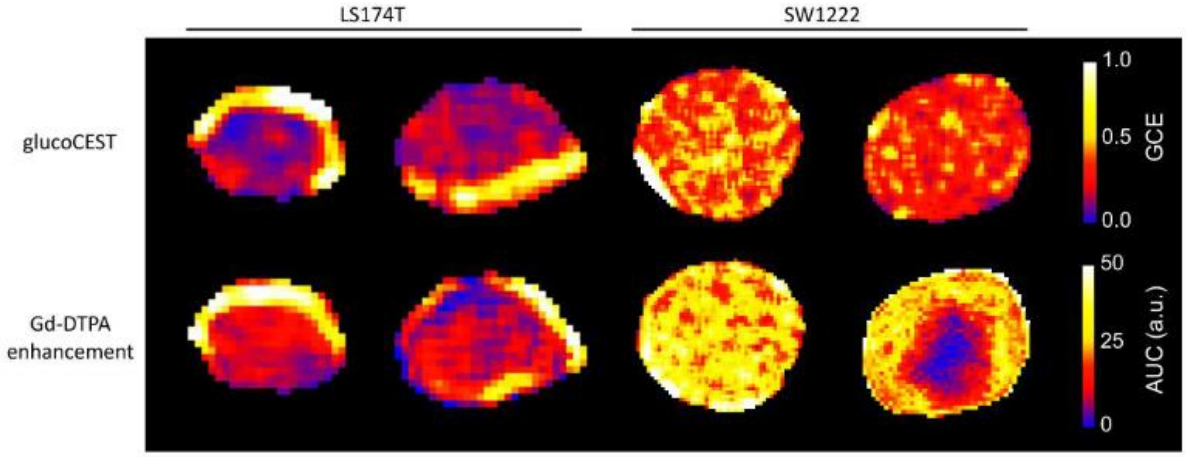


Figure VII-2: images de l'assimilation de glucose et de Gd-DTPA dans deux modèles de tumeur colorectale humaine (LS174T et SW1222) injectées dans des souris, 60 min post injection.

Dans l'étude portant sur l'imagerie de l'assimilation du glucose dans les tumeurs, Walker-Samuel et collaborateurs se sont interrogés sur l'origine compartimentale du signal CEST dans le tissu tumoral. Ainsi, en plus des acquisitions glucoCEST suivant l'injection de glucose, ils ont également suivi le contraste généré par le gadolinium-diethylenetriaminepentacetate (ou Gd-DTPA). Le Gd-DTPA est un marqueur du milieu extracellulaire car il diffuse dans le milieu extracellulaire depuis le milieu vasculaire mais sans pouvoir traverser les membranes cellulaires. Ainsi, la mesure du Gd-DTPA reflète le flux sanguin local, la perméabilité vasculaire et le volume de l'espace extracellulaire. La comparaison du signal glucoCEST avec le signal obtenu après injection de Gd-DTPA est donc un moyen pertinent d'obtenir des informations quant à la compartimentation du glucose. On voit dans leurs résultats (**Fig.VII.2**) les similitudes entre les intensités des deux méthodes. Ils n'excluent cependant pas la possibilité d'une contribution du glucose intracellulaire.

L'étude menée par Kannie Chan portait également sur des tumeurs inoculées à des souris. Elle a ainsi observé la variation du signal glucoCEST dans les tumeurs avant et après injection de glucose (**Fig.VII.3**). Basé sur le fait que les tumeurs solides métabolisent rapidement le glucose en lactate (Artemov et al. 1998), la contribution intracellulaire du glucose au signal CEST est écartée. Par conséquent, le signal CEST est attribué, en plus d'une contribution vasculaire, à une large contribution de l'espace extracellulaire/extravasculaire. De ce fait, pour Chan et ses collaborateurs, le contraste CEST ne fournit aucune information sur le métabolisme mais renseigne uniquement sur l'espace extracellulaire.

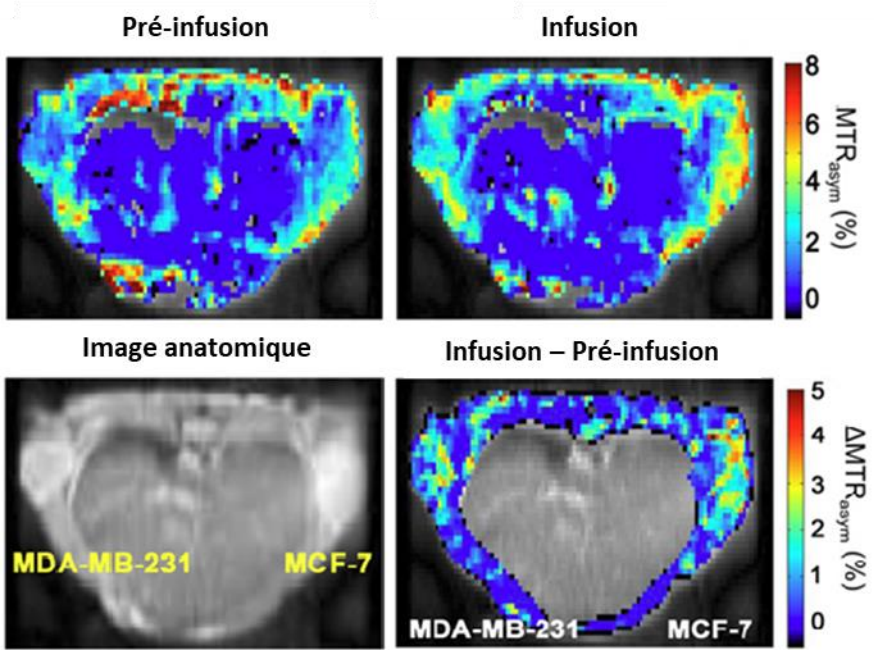


Figure VII-3 : Résultats glucoCEST chez une souris inoculée avec des tumeurs du sein (MDA-MB231 et MCF-7) avant et pendant infusion de glucose (Chan et al. 2012)

Les images glucoCEST représentent le MTRasym moyen entre 0,8 et 2,2 ppm avant et pendant infusion. Une image anatomique présente la localisation des tumeurs inoculées. On remarque ainsi que le contraste CEST (infusion – préinfusion) met en évidence les régions tumorales (confirmé par FDG PET).

Enfin, Fatima Nashrallah et collaborateurs ont mis en évidence la non-contribution du compartiment vasculaire et du compartiment extravasculaire/extracellulaire au contraste CEST. En maintenant une concentration de glucose sanguin élevée, par infusion continue de glucose, les auteurs ont ainsi observé que même avec des concentrations extracellulaires aussi élevées, le signal glucoCEST restait moitié moins intense que celui acquis après l'injection de 2DG (**Fig.VII.4**). Ces résultats indiquent donc que le signal CEST détecté après injection de 2DG était le reflet des concentrations intracellulaire du 2DG et de ses produits métaboliques.

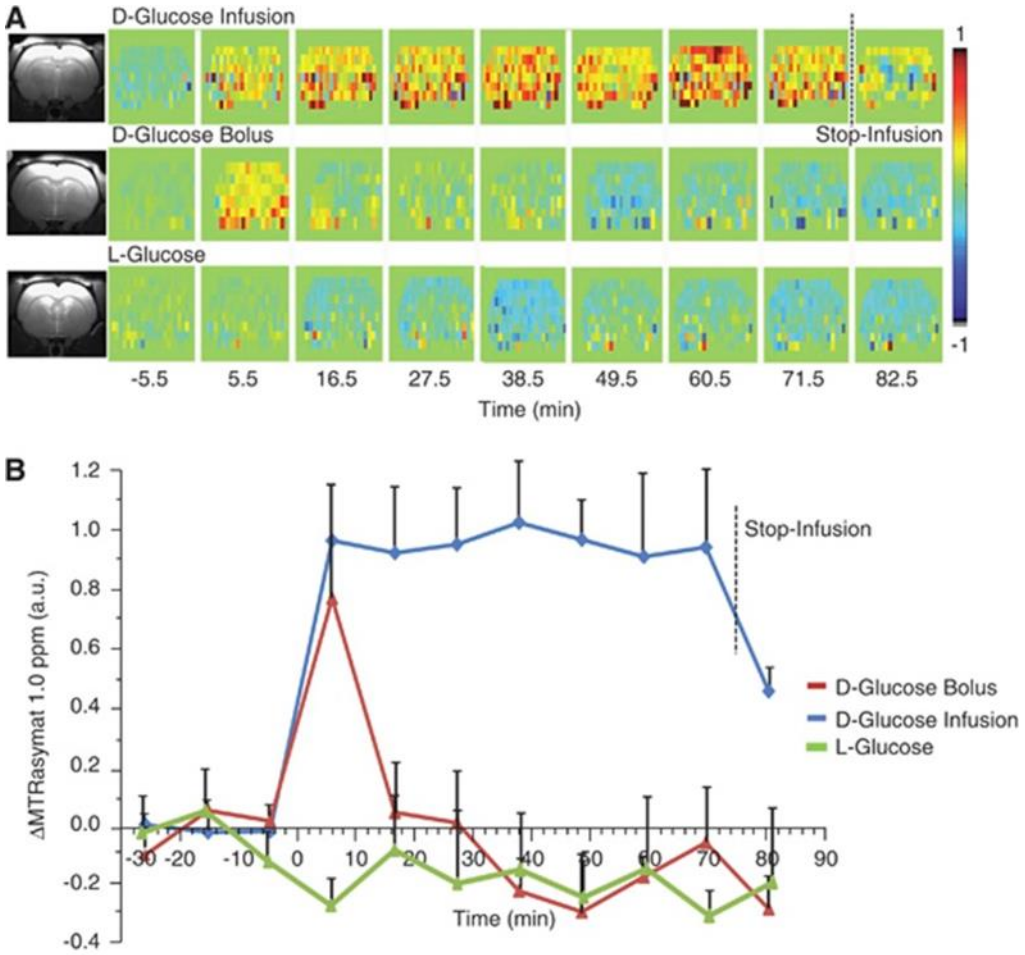


Figure VII-4 : Imagerie glucoCEST du cerveau de rat

Plusieurs conditions ont été testées dans cette expérience : l'injection d'un bolus de D-glucose, l'infusion de D-glucose et l'injection d'un bolus de L-glucose. (A) évolution temporelle d'images glucoCEST. (B) cinétiques associées aux conditions décrites précédemment.

A travers les résultats observés dans ces études glucoCEST on comprend qu'un consensus quant à l'origine compartimentale du signal glucoCEST n'a pas été trouvé. Il est d'autant plus nécessaire de caractériser l'origine du signal glucoCEST afin de pouvoir appliquer de façon adéquat ce puissant outil qu'est l'imagerie CEST.

VII.2. OPTIMISER LA DETECTION COMPARTIMENTALE DU SIGNAL

L'information biologique apportée par l'utilisation de la séquence LASER est très intéressante mais on peut pousser le raisonnement plus loin. En plus d'imager le glucose, nous pourrions injecter des analogues dont les cinétiques de transport seraient similaires mais dont la compartimentation serait

connue. Ainsi, si le signal CEST observé diffère selon la compartimentation de la molécule, on pourra en déduire les contributions des différents compartiments au signal CEST.

VII.2.1. Nécessité d'une séquence RMN-CEST

Jusqu'à présent nous nous sommes concentrés sur le développement du glucoCEST en utilisant des séquences d'imagerie. Elles ne sont cependant pas assez performantes pour répondre à la question de l'origine compartimentale du signal. En effet, la séquence d'imagerie présente un SNR plus faible ainsi qu'une résolution temporelle qui n'est pas en mesure de suivre la métabolisation des molécules d'intérêt (voir **tableau VII.1**)

On propose donc d'utiliser une séquence de spectroscopie (**chapitre II**) à la place de la séquence d'imagerie RARE. Une séquence spectroscopique présente l'avantage d'une résolution temporelle bien plus élevée, au détriment bien sûr de la résolution spatiale. Cependant, c'est l'information biologique qui nous intéresse tout particulièrement. En effet, des acquisitions avec une résolution temporelle plus élevée pourraient nous permettre de mieux appréhender le transport, l'assimilation et la consommation du glucose dans le cerveau.

	RARE-CEST	**LASER-CEST**
Résolution spatiale	0,250 mm^3	15,6 mm^3
Résolution temporelle	5 min	1,5 min
SNR	3 $mm^{-3}.min^{-1}$	48,9 $mm^{-3}.min^{-1}$

Tableau VII-1 : Comparaison des spécificités des séquences CEST utilisées

VII.2.2. Intérêt des analogues et caractérisation compartimentale

De nombreux analogues du glucose ont été utilisés dans une myriade d'applications concernant le métabolisme du glucose (Ido et al. 1978; Pajak et al. 2019; Rivlin et Navon 2018:2; Sehgal et al. 2019). Parmi les plus connus nous pouvons citer le L-glucose (L-glc), le 3-O-méthyl-D-glucose (3OMG) et le 2-désoxy-D-glucose (2DG), dont le signal CEST a été caractérisé pour chacun d'entre eux au **chapitre V**. Ils présentent chacun quatre pics de résonance à 0,8 1,2 2,1 et 2,9 ppm. Ces analogues sont chacun métabolisés différemment (**Fig.VII.5**).

Le L-glucose est l'énantiomère du D-glucose. Il n'existe pas sous cette forme naturellement et est synthétisé en laboratoire. Il ne peut pas être phosphorylé par l'hexokinase et de fait ne peut pas servir de source d'énergie. Surtout, il n'est pas transporté à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE) (Yudilevich et De Rose 1971). Sa non métabolisation a fait de lui un marqueur des cellules cancéreuses

(Ono, Takigawa, et Yamada 2020; Yamada 2018). Il a aussi été appliqué à l'imagerie CEST afin de tirer avantage de son confinement à l'espace vasculaire (Nasrallah et al. 2013).

Le 3OMG est transporté de la même façon que le D-glucose de l'espace vasculaire à l'espace intracellulaire grâce aux transporteurs du glucose (GLUT-1 et 3) (Nakanishi et al. 1996). Il n'est cependant pas métabolisable et reste piégé dans les cellules (Jay et al. 1990). Bien qu'il n'y ait pas eu d'étude sur sa toxicité, aucun effet indésirable physiologique ou comportemental n'a été rapporté. Cependant, lors de notre étude nous avons pu observer une réaction à court terme après la fin de l'expérience. Les animaux injectés avec du 3OMG présentaient des signes d'inconfort pendant quelques heures après leur réveil. Le 3OMG, de par son accumulation dans l'espace extracellulaire et l'espace intracellulaire, attire l'attention de la communauté CEST. La faisabilité de l'utilisation du 3OMG en imagerie CEST a ainsi été évaluée et confirmée dans l'étude des tumeurs (Rivlin et Navon 2018; Rivlin, Tsarfaty, et Navon 2014).

Le 2DG est lui aussi transporté par les GLUTs 1 et 3 mais contrairement au 3OMG il est phosphorylé par l'hexokinase une fois entré dans la cellule. En revanche il n'est pas métabolisé par la glycolyse. Il est souvent considéré comme piégé dans les cellules sous la forme du 2DG-6-phosphate (2DG6P). Ainsi, il est très communément utilisé sous forme marquée, au ^{14}C ou ^{18}F et sert de marqueur de l'assimilation de glucose et de l'activité de l'hexokinase dans des expériences en autoradiographie (Sokoloff et al. 1977) ou en TEP (Fox et Raichle 1984; Ido et al. 1978). Il est également utilisé en imagerie CEST où son métabolisme différent permet d'améliorer le contraste CEST par rapport au glucose. Il a déjà été caractérisé (Jin et al. 2016; Nasrallah et al. 2013; Rivlin et al. 2013) et son implémentation préclinique *in vivo* sur un modèle d'Alzheimer a montré sa faisabilité pour analyser l'état du métabolisme cérébral (Tolomeo et al. 2018). Nous avons relevé des effets physiologiques liés à son injection chez le rat. En effet, contrairement aux autres analogues, son injection a systématiquement engendré une chute rapide du nombre de respiration par minute, passant de ~70 rpm avant injection à ~25 rpm après injection. Cette diminution drastique pourrait avoir un effet supplémentaire sur le métabolisme énergétique. Ce rythme respiratoire est observé presque pendant toute la durée de l'expérience, remontant aux alentours de 40 rpm en fin d'expérience.

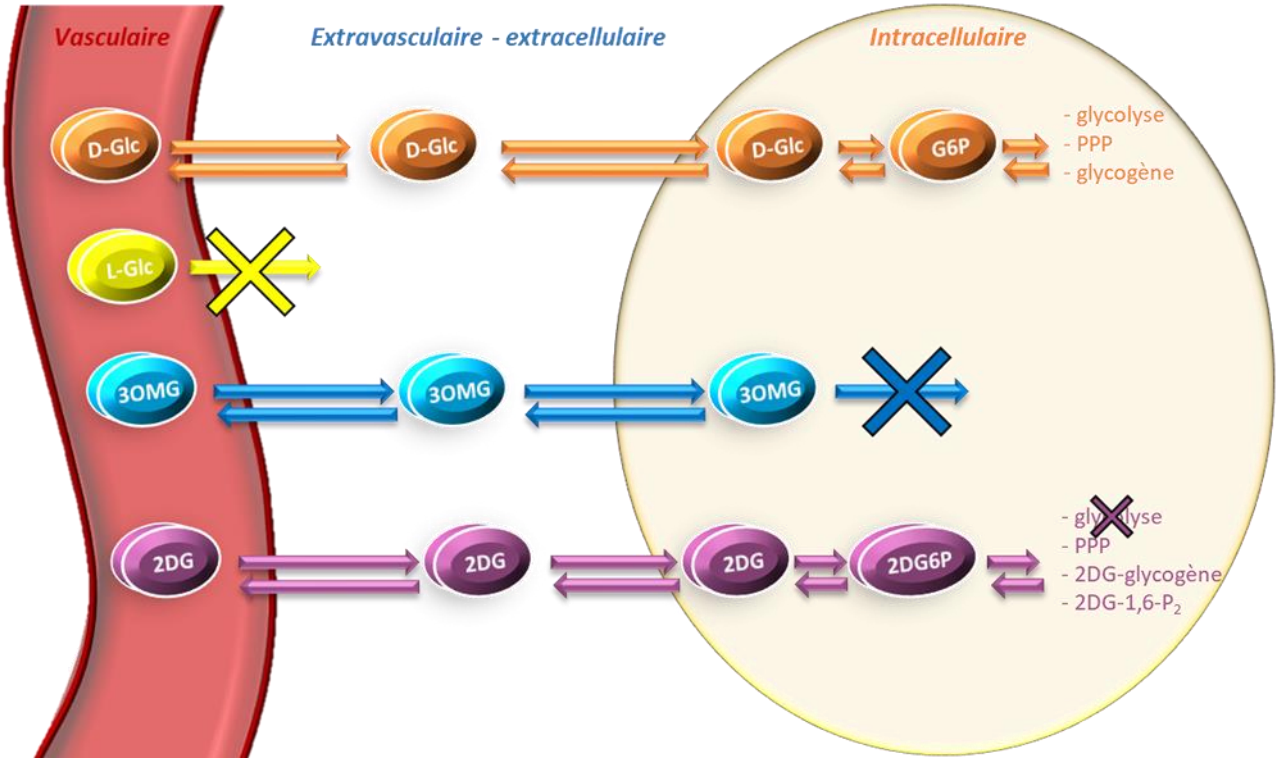


Figure VII-5 Compartimentation du D-glucose et de différents analogues

Le D-glc, 3OMG et 2DG sont tous les trois transportés de l'espace vasculaire à l'espace extravasculaire/extracellulaire puis à l'espace intracellulaire par les mêmes transporteurs (GLUT1 et 3) avec des affinités proches (voir chapitre I). Une fois dans la cellule leur métabolisation est cependant différente. Le 3OMG n'est pas métabolisé et reste piégé dans la cellule. Le glucose peut être métabolisé de différentes façons après avoir été phosphorylé en glucose-6-phosphate (G6P). Le 2DG quant à lui est phosphorylé en 2DG-6-phosphate (2DG6P), forme sous laquelle il s'accumule. Le 2DG6P peut cependant être dégradé plus en aval bien que ces voies soient très minoritaires.

VII.2.3. Acquisition multi-fréquences

Dans cette étude nous avons opté pour une acquisition multi-fréquentielle incluant les différentes fréquences d'intérêt : 0,8 ; 1,2 ; 2,1 et 2,9 ppm. Cela nous permet d'être indirectement plus sensible à la molécule puisque cela nous permet d'évaluer l'effet CEST dépendant des différentes résonances groupes hydroxyles. De plus, nous pourrons peut-être suivre la dégradation de la molécule d'intérêt après son injection en étant plus sensible à la forme phosphorylée à 2,1 et 2,9 ppm par exemple.

Nous acquérons donc en réalité 9 fréquences : les 4 fréquences d'intérêt de chaque côté du pic de l'eau et 1 fréquence de référence pour le calcul du MTRasym à -20ppm. Cela revient à une résolution temporelle de 9,5 s par fréquence, soit 86 s par acquisition.

Nous avons acquis le signal dans un voxel maximisant le signal du striatum. Le voxel comprend néanmoins partiellement un ventricule à cause de sa taille (**Fig.VII.6**).

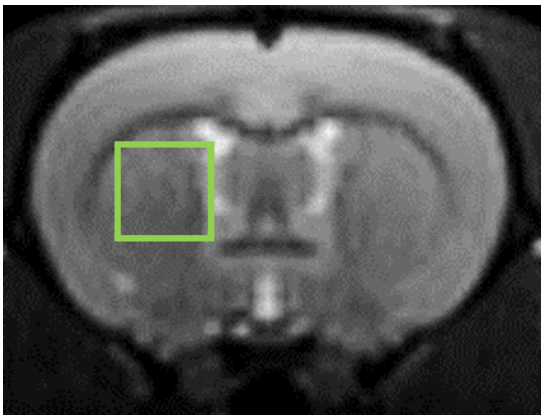


Figure VII-6: Placement du voxel dans le striatum

VII.3. CINETIQUES CEST DES DIFFERENTS ANALOGUES

VII.3.1. Contribution de l'espace vasculaire : le L-glucose

L'injection de L-glucose ne provoque aucun changement dans l'intensité du signal CEST par rapport à la baseline. Le signal semble plutôt stable au cours du temps, bien qu'on observe une légère diminution à 2,9 ppm. Le L-glucose étant confiné à l'espace vasculaire, puisqu'il ne peut pas être transporté au travers de la BHE, les résultats obtenus indiquent donc que l'espace vasculaire ne contribue pas au signal CEST.

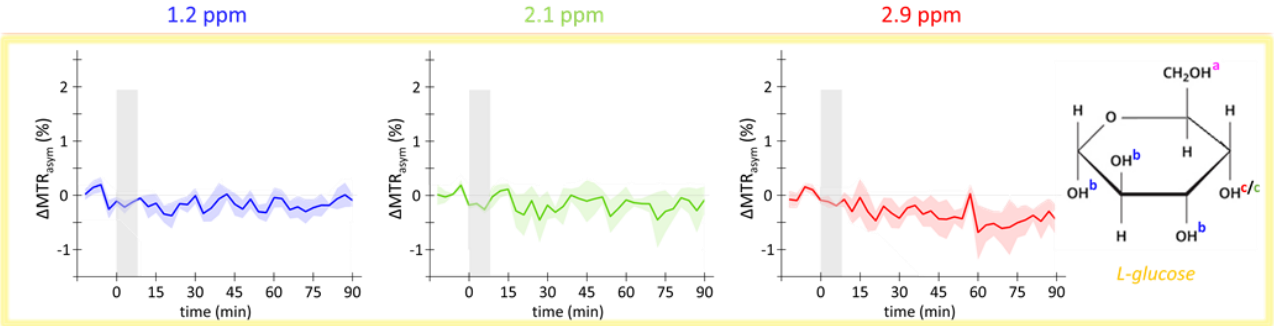


Figure VII-7 : Evolution du signal après injection de L-glucose, (n=3, moy ± SEM)

Nous ne sommes néanmoins pas les premiers à l'utiliser dans ce contexte. En effet, l'équipe de Nasrallah a publié dans l'une de leur étude l'effet d'une injection de L-glucose sur le signal CEST au cours du temps afin de regarder les contributions de l'espace vasculaire au signal CEST (Nasrallah et al. 2013). Nous observons ainsi le même effet du L-glucose que dans cette étude et arrivons également à

la conclusion que l'espace vasculaire ne contribue pas au signal CEST. Cela peut s'expliquer par les mouvements liés à ce compartiment. Le temps de saturation appliqué est de 4s (voir **chapitre VII**). Il paraît donc vraisemblable qu'en un tel laps de temps les hydrogènes saturés dans le compartiment vasculaire se soient déplacés et n'aient pas été saturés suffisamment longtemps pour être détectés. Ceci est certainement vrai dans les tissus cérébraux sains mais il n'en est peut-être pas de même dans les tumeurs. En effet, la vascularisation importante dans la périphérie des tumeurs, et notamment la multitude de micro-vaisseaux formés par l'angiogenèse tumorale peut créer un milieu chaotique où la tortuosité est augmentée et où la perfusion sanguine est faible. Par conséquent, une contribution de cet espace au signal glucoCEST est envisageable et semble cohérente avec les observations faites dans les études glucoCEST réalisées dans des modèles tumoraux (Chan et al. 2012; Walker-Samuel et al. 2013).

VII.3.2. Le D-glucose dans les différents compartiments et leurs contributions au signal CEST.

L'injection de D-glucose mène à une légère augmentation du signal CEST, observable à toutes les fréquences d'intérêt. Cette augmentation est continue tout au long de la cinétique. Cependant nous ne nous attendions pas à de telles variations. Ce qui est surprenant est la faible augmentation du signal CEST. Malgré les quantités injectées, le signal n'augmente pas aussi rapidement que ce à quoi on aurait pu s'attendre. Cela pourrait s'expliquer par une forte régulation du transport du glucose depuis le sang vers le cerveau. De plus, on n'observe pas de diminution du signal, ce qui est intriguant puisque le D-glucose est une molécule métabolisée dans les cellules. On s'attendrait donc à voir le signal diminuer au fur et à mesure que le glucose serait dégradé par l'une ou plusieurs des voies de dégradation précédemment présentées. D'après ces observations on pourrait avancer que les cellules cérébrales contenant une grande quantité de glucose aient leurs transporteurs GLUTs saturés, le glucose resterait alors majoritairement piégé dans l'espace extracellulaire.

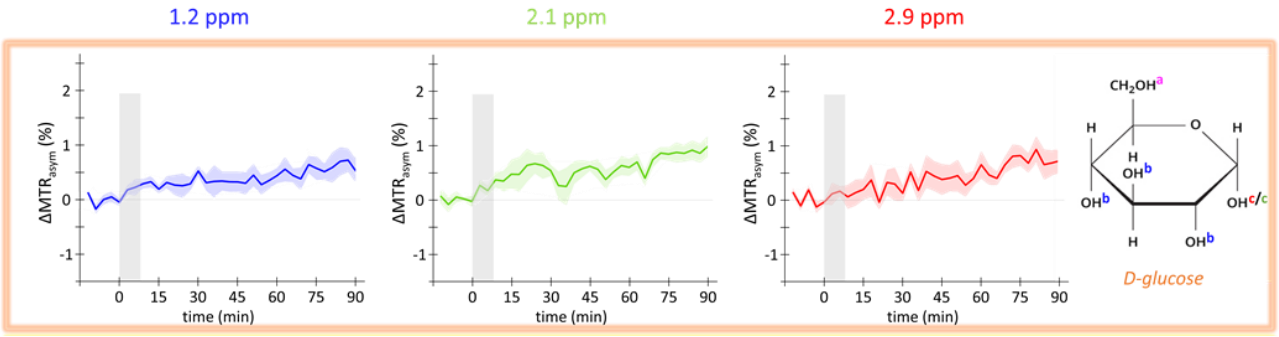


Figure VII-8 : Evolution du signal après injection de D-glucose, (n=5, moy ± SEM)

Le glucose transporté dans l'espace extracellulaire puis dans l'espace intracellulaire pourrait également être rapidement dégradé dans les cellules, permettant à plus de glucose de l'espace extracellulaire d'entrer dans l'espace intracellulaire et donc à plus de glucose d'être transporté de l'espace vasculaire à l'espace extracellulaire. Si cette hypothèse est valide, cela expliquerait pourquoi le signal CEST observé augmente progressivement.

VII.3.3. Contribution des molécules d'intérêt dans le liquide céphalo-rachidien ?

Puisque le voxel choisit contient un peu de ventricule, il est envisageable que le LCR puisse contribuer au signal. En effet, il existe un équilibre des concentrations de glucose entre le sang et le LCR de l'ordre de 1 : 0,6 (Hwang et al. 2015; Steffens et al. 1988). Pour élucider ce phénomène, nous avons réitéré l'expérience mais cette fois en acquérant le signal dans un voxel englobant majoritairement les ventricules (**Fig.VII.7**). Sur ces courbes on observe un signal dont le profil est différent de celui observé dans le striatum. Par ailleurs, lorsqu'on le compare aux mesures de glycémie acquises lors d'une autre expérience avec le même protocole (**Fig.V.8 §V.2.2**), on remarque que le signal CEST semble suivre l'allure de la glycémie, ce qui paraît cohérent au vu de l'équilibre de concentration de glucose qui s'établit relativement rapidement entre le sang et le LCR. Cette expérience confirme donc bien la sensibilité de l'IRM-CEST à l'espace extracellulaire.

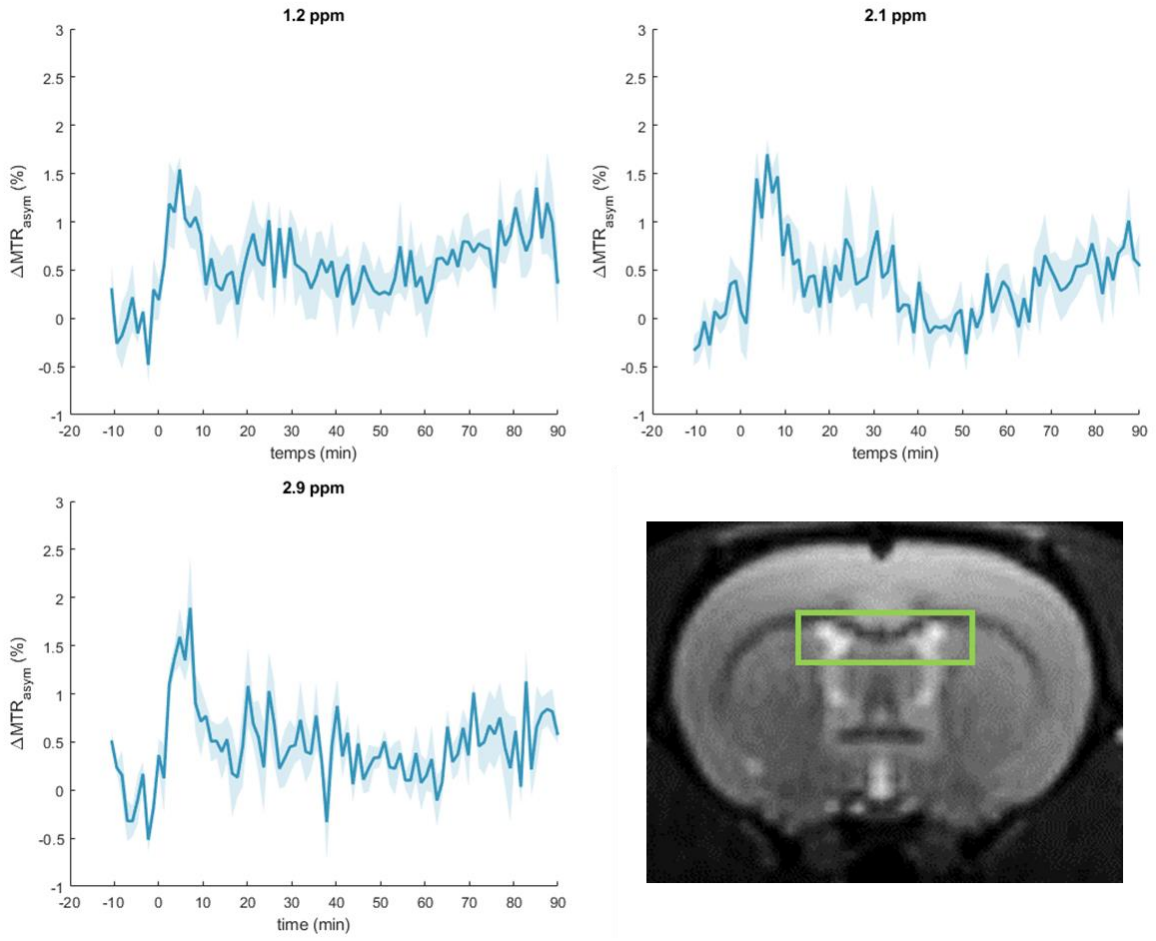


Figure VII-9: Evolution du signal CEST dans un voxel contenant majoritairement du LCR après injection de D-glucose (1 g/kg)

Evolution du signal aux différents ppm d'intérêt. Image anatomique et placement du voxel dans lequel les acquisitions CEST ont été faites.

On remarque également que le signal réaugmente lentement à partir de ~40min. A ce jour nous ne sommes pas en mesure d'expliquer ce phénomène. Le système glymphatique, défini comme une voie paravasculaire d'échange entre le LCR et le fluide interstitiel (ISF) qui facilite l'élimination des métabolites et des déchets du cerveau, pourrait être à l'origine de cet effet.

Une expérience glucoCEST sur le D-glucose dans le LCR a récemment été publiée (Huang et al. 2020) dans laquelle les résultats obtenus présentent le même effet que celui de nos données, ces résultats sont montrés figure **VII.10**

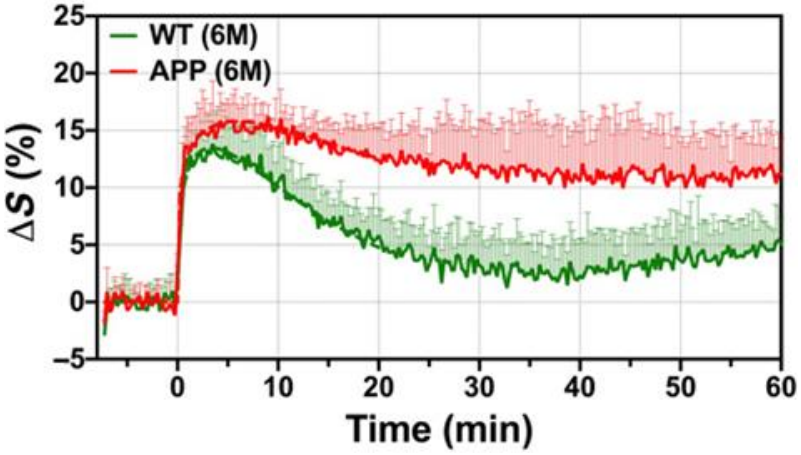


Figure VII-10: Evolution du signal CEST après injection de D-glucose dans le LCR de souris âgées de 6 mois (Huang et al. 2020)

Cette figure présente l'allure du signal CEST obtenu chez la souris sauvage (vert, n=5) et Alzheimer (rouge, n=5). Nous nous intéressons ici uniquement à la courbe obtenue chez l'animal sain, d'après laquelle on peut comparer nos résultats obtenus sur animal sain également. L'effet observé est sensiblement le même : une augmentation du signal au moment de l'injection suivie d'une diminution et d'une réaugmentation plus lente qui débute vers 40 min.

Dans leurs résultats, on observe clairement une diminution moins importante et de ce fait une réaugmentation inexistante du signal dans les souris AD. L'hypothèse d'un système glymphatique anormal dans la MA (Da Mesquita et al. 2018; Iliff et al. 2012) est une piste intéressante qui pourrait expliquer pourquoi on constate une diminution moins importante du signal chez les souris MA dans le LCR.

VII.3.4. 3-O-méthyl-D-glucose

Le 3OMG engendre une augmentation rapide du signal pendant la durée de l'injection (barre grisée). Le signal se stabilise ensuite rapidement et reste stable tout au long de la cinétique. Cette stabilité est cohérente avec la compartimentation du 3OMG. En effet, le 3OMG n'étant pas métabolisé par les cellules il reste sous sa forme originale (pas de variation de sa signature CEST donc) quel que soit le compartiment dans lequel il se trouve. Cette stabilité indique alors simplement que le 3OMG n'est ni dégradé ni « déplacé » de l'espace extracellulaire et de l'espace intracellulaire.

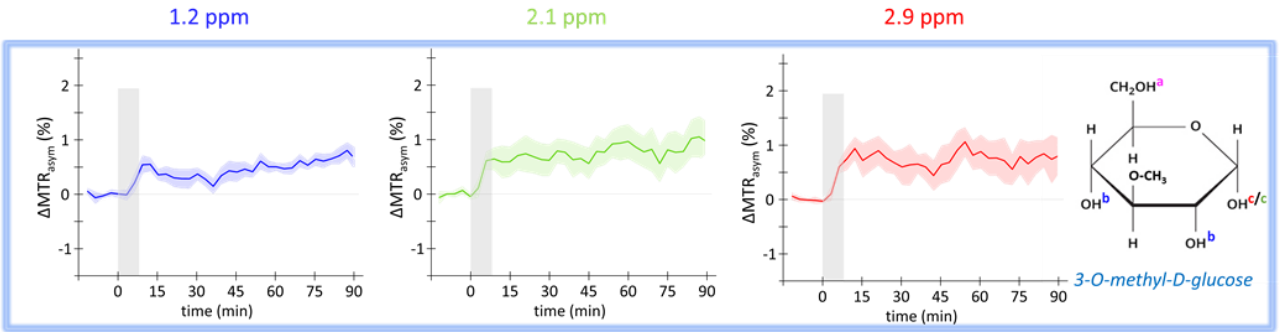


Figure VII-11 : Evolution du signal après injection de 3OMG, (n=9, moy ± SEM)

Bien que le 3OMG soit transporté par les mêmes transporteurs GLUTs que le D-glucose avec une affinité comparable (Jay et al. 1990), l'augmentation du signal après injection de 3OMG est plus marquée ce qui est cohérent avec le fait que le 3OMG n'est pas dégradé. En effet, la métabolisation du D-glucose peut être une raison à une augmentation du signal plus lente après injection. Le signal du 3OMG présente un plateau, contrairement au signal du D-glucose qui lui continue d'augmenter progressivement après injection. Ces cinétiques apportent néanmoins une information intéressante sur la contribution des compartiments au signal CEST. En effet, dans le cas du 3OMG, les cellules sont alimentées en 3OMG mais ne peuvent cependant pas le dégrader. Dû à la pression osmotique, la concentration cellulaire du 3OMG ne peut donc pas augmenter de façon indéfinie. Le 3OMG est ainsi partagé entre l'espace extracellulaire et l'espace intracellulaire (en considérant la contribution de l'espace vasculaire comme négligeable au vu des résultats obtenus avec le L-glucose). La stabilité du signal CEST du 3OMG est en accord avec cette hypothèse.

VII.3.5. 2-désoxy-D-glucose

Après le début de l'injection de 2DG, le signal CEST augmente rapidement et avec une forte intensité : environ +1% à 1,2 ppm et +2% à 2,1 et 2,9 ppm. Le signal atteint ensuite un plateau avant de diminuer 40min après le début de l'injection. La variation du signal liée à l'injection de 2DG est beaucoup plus intense que celles observées avec les autres analogues (2 à 3 fois supérieure), alors que dans notre caractérisation sur fantômes les intensités étaient similaires (voir **chapitre V**). Cela indique que la concentration en 2DG est plus importante dans le voxel d'intérêt, donc a priori plus d'accumulation dans l'un des compartiments. Le signal (2DG)-CEST présente des profils différents selon la fréquence d'intérêt observée (**Fig.VII.12**). L'intensité du signal est en effet plus importante à 2,1 et 2,9 ppm comparée à 1,2 ppm. Comme nous l'avons vu durant la caractérisation des molécules d'intérêt, l'effet CEST à 2,1 et 2,9 ppm est plus intense en 2DG6P qu'en 2DG. Ces résultats pourraient donc refléter la phosphorylation du 2DG en 2DG6P.

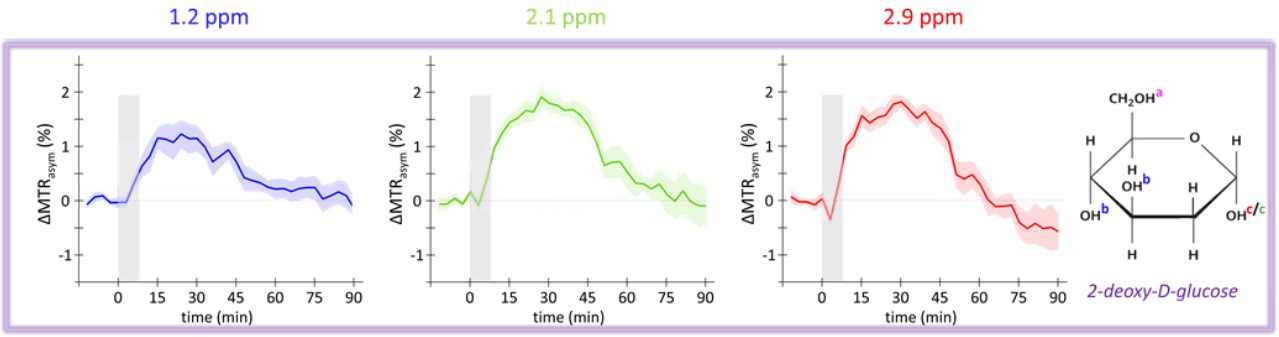


Figure VII-12 : Evolution du signal après injection de 2DG, (n=7, moy ± SEM)

Si l'augmentation du signal et le plateau étaient attendus, il n'en va pas de même pour la diminution du signal observée ~40 min après injection. En effet, le 2DG est transporté du l'espace vasculaire à l'espace extracellulaire jusqu'à l'espace intracellulaire mais sa métabolisation dans les cellules est supposée s'arrêter au 2DG6P. Un tel effet a déjà été publié (Nasrallah et al. 2013) et pourrait correspondre à un phénomène intracellulaire comme : la métabolisation du 2DG6P par la voie des pentoses phosphates (Jeon, Chandel, et Hay 2012; Suzuki et al. 1983), une conversion en glycogène (Nelson, Kaufman, et Sokoloff 1984; Southworth et al. 2003) ou encore une métabolisation en 2DG-1-P et 2DG-1,6-P_2 (Dienel et al. 1993). Ces voies métaboliques représentent néanmoins une faible proportion du métabolisme du 2DG en conditions physiologiques (Kotyk et al. 1989; Nelson et al. 1984; Wong, Mauck, et Sherman 1982). Une autre hypothèse, qui n'est pas incompatible avec la précédente, pourrait être la reconversion du 2DG6P en 2DG afin de préserver l'intégrité des cellules. Cela peut s'expliquer au vu des doses relativement élevées que nous injectons et la compétition du glucose avec le 2DG au niveau des transporteurs.

Nous avons comparé nos cinétiques (2DG)-CEST à une précédente étude menée par John Kotyk en 1989 sur la dégradation du 2DG marqué au ^{13}C par spectroscopie RMN. Dans cette étude, du ^{13}C-2DG a été injecté dans des rats à raison de 0,5 g/kg, une dose relativement proche de celle utilisée dans notre expérience. Ils ont ainsi pu observer les contributions du 2DG et du 2DG6P au signal mesuré en spectroscopie ^{13}C (**Fig.VII.13**).

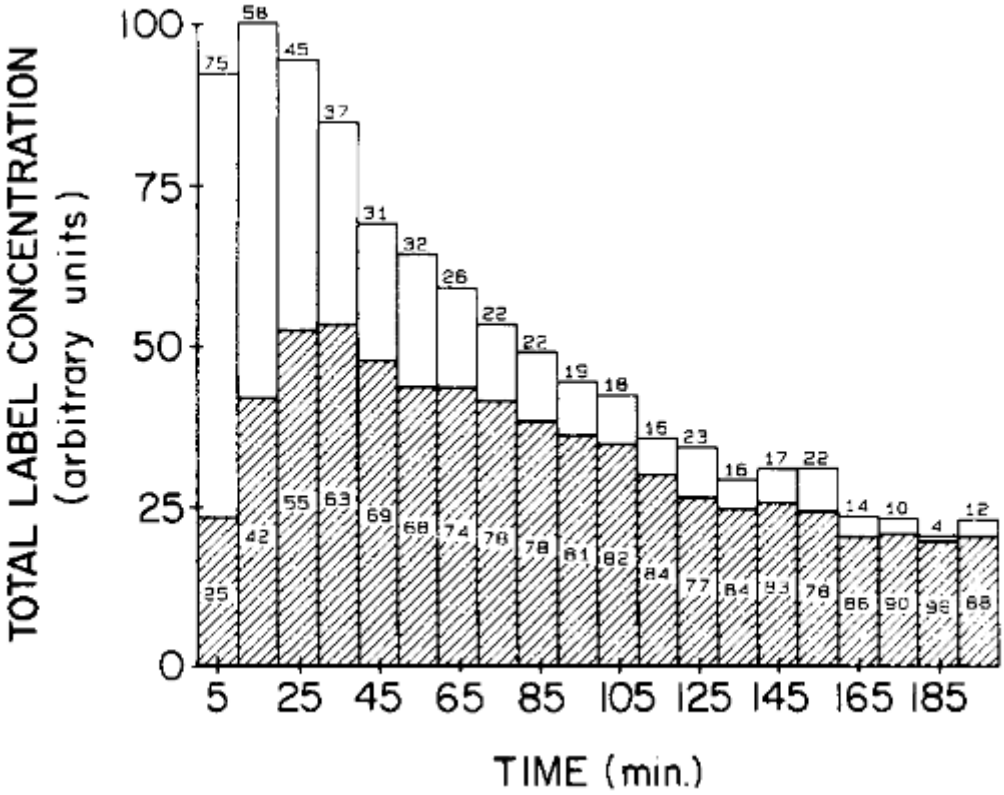


Figure VII-13: Moyenne des aires des pics $^{13}C(^{1}H)$ RMN du $^{13}C2DG$ et $^{13}C2DG6P$ dans le tissu cérébral après injection de $^{13}C2DG$ à 0,5 g/kg (n=4), (Kotyk et al. 1989)

Chaque colonne représente 10 min d'acquisition. Le pourcentage de contribution du 2DG et du 2DG6P au signal total à chaque intervalle est représenté par les portions blanches et hachées, respectivement.

Nos données sont en accord avec l'augmentation et la diminution générales du signal, bien que dans l'étude de Kotyk le signal ne redescende pas au niveau basal contrairement à nos résultats. Ni le 2DG ni le 2DG6P ne montrent un état d'équilibre, très probablement parce que le 2DG est continuellement phosphorylé, dephosphorylé (Hargreaves et al. 1986; Huang et Veech 1985; Pelligrino, Miletich, et Albrecht 1987; Phelps et al. 1979) et renvoyé dans la circulation sanguine (Sokoloff et al. 1977), ces processus se déroulant à différentes vitesses.

VII.3.6. Interactions des différents compartiments dans le transport et la métabolisation du glucose

Afin de récapituler les transports et les voies de métabolisation par lesquels passent le glucose nous avons schématisé de façon plus précise l'interaction des différents compartiments (**Fig.VII.14**). Nous nous sommes pour cela inspirés des communications de Freskgård et Urich 2017; Goulay, Gaberel, et Vivien 2016. Cette figure permet d'illustrer clairement les transporteurs mis en jeu à chaque étape de transport. Cela permet également d'inclure le LCR, qui comme nous l'avons vu précédemment, ne

présente pas les mêmes cinétiques que les structures cérébrales. Par ailleurs, ce schéma sert de base pour la modélisation du transport du glucose que nous détaillerons dans le **chapitre X**.

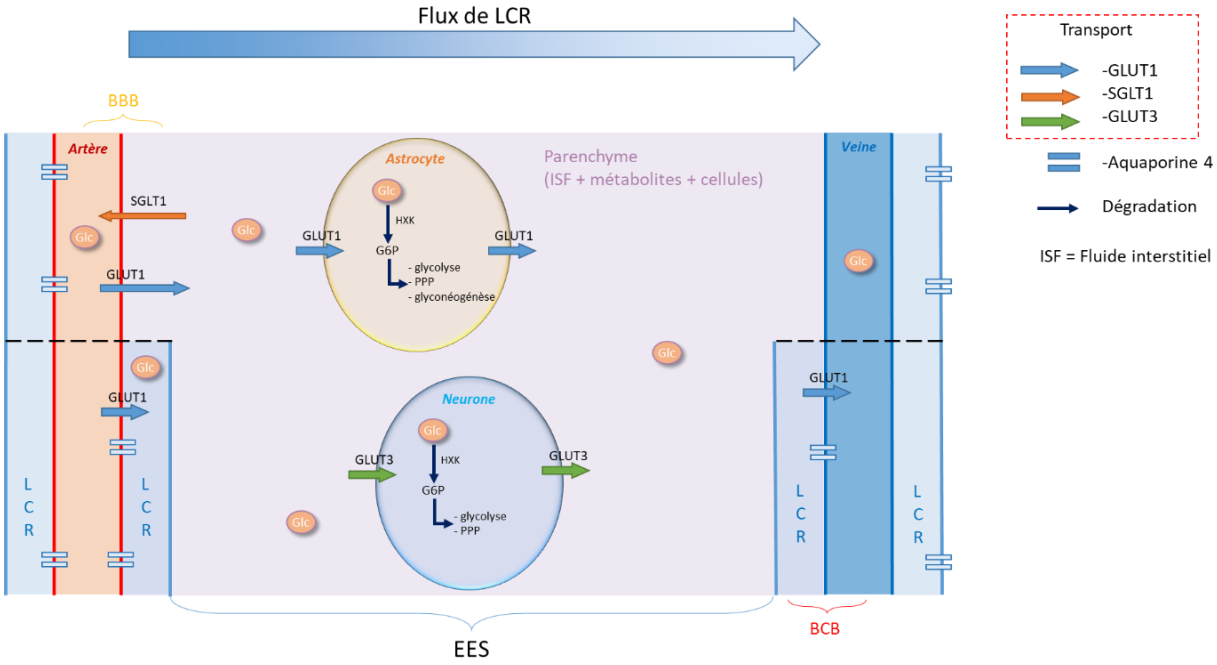


Figure VII-14: Hypothèse de la compartimentation du glucose reposant sur nos observations

Cette figure met en avant le rôle des transporteurs au niveau des barrières hémato-encéphale et hémato-LCR. Le glucose est transporté du compartiment vasculaire à l'espace extravasculaire par les GLUT1. Depuis cet espace il peut être transporté contre son gradient de concentration par les SGLT1, ou bien transporté dans les astrocytes par les GLUT1 et dans les neurones par les GLUT3. Une fois phosphorylé dans ces espaces intracellulaires il ne peut pas être transporté à nouveau vers l'extérieur des cellules. En effet, les transporteurs GLUT1 et GLUT3 ne peuvent transporter que la forme non phosphorylée du glucose.

BBB : barrière hémato-encéphale ; BCB : barrière hémato-liquide céphalorachidien ; EES : espace extracellulaire/extravasculaire ; GLUT1 et 3 : transporteurs du glucose ; SGLT1 : transporteurs sodium-dépendants du glucose ; aquaporine 4 : protéine composant les canaux membranaires permettant le passage du LCR vers l'interstitium.

VII.4. Discriminer l'intracellulaire de l'extracellulaire grace a la diffusion

Bien que nous ayons déterminé que le signal CEST provenait des compartiments extracellulaire et intracellulaire, nous n'avons pas réussi à montrer dans quelles proportions ces compartiments contribuaient au signal CEST. Afin de répondre à cette question, nous souhaiterions pouvoir

discriminer le signal CEST selon qu'il se trouve dans l'espace extracellulaire ou intracellulaire. Nous avons donc décidé d'utiliser une pondération en diffusion. En effet, le compartiment extracellulaire est assimilé à un compartiment dont la diffusion est peu entravée, la diffusion sera donc plus rapide que dans le compartiment intracellulaire où la diffusion des molécules d'intérêt est entravée par les différentes organelles. Nous avons donc répété l'expérience précédente en injectant du D-glucose et du 2DG et fait les acquisitions en ayant ajouté un module de diffusion.

En effet, ces deux compartiments présentent une nature différente en termes de propriétés de diffusion. Le milieu intracellulaire est encombré à l'échelle nanométrique par des amas de macromolécules (**Fig.VII.15.A**). Dans ces conditions, la diffusion de l'eau (par exemple) est entravée par de nombreux obstacles tels que la membrane cellulaire, les organelles ou encore des éléments du cytosquelette (filaments d'actine, microtubules, …).

L'espace extravasculaire/extracellulaire est plus encombré que ce que l'on pourrait croire au premier abord (**Fig.VII.15.B**). Il est intrinsèquement tortueux à cause de la présence de cellules. De plus, on peut observer un certain degré de restriction dû aux invaginations des membranes cellulaires et à la présence de macromolécules pouvant obstruer le processus de diffusion.

Bien que les valeurs des coefficients de diffusion apparents (ADC) des espaces extracellulaire et intracellulaire restent débattues, on peut considérer des valeurs d'ADC de l'ordre de : $ADC_{intra} = 0{,}7\ \mu m^2/ms$ et $ADC_{extra} = 1\ \mu m^2/m$ (Zhang et al. 2012).

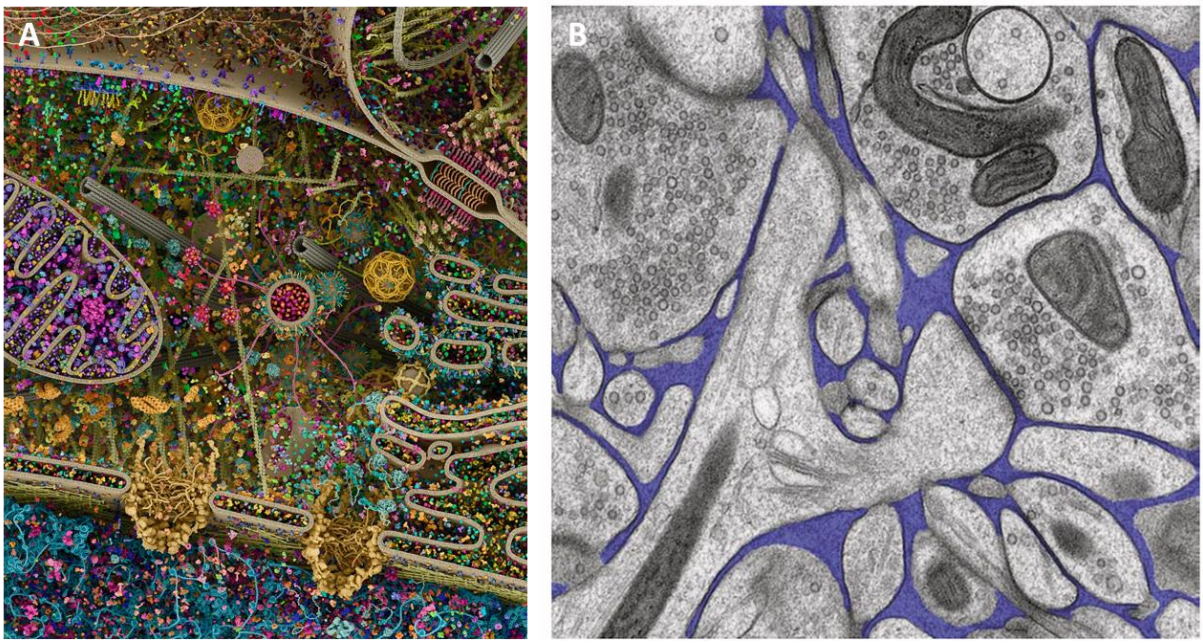


Figure VII-15 : Représentation de l'encombrement des espaces intra- et extracellulaire

(A) Représentation d'une cellule eucaryote par (Ingersoll et McGill 2020) dans laquelle on remarque les nombreuses organelles et molécules prenant part à l'encombrement intracellulaire. (B) Image par microscopie électronique de l'espace extracellulaire (en bleu) après cryofixation du tissu qui apparaît également encombré par les cellules, générant de nombreuses « impasses ». (Nicholson et Hrabětová 2017)

Par conséquent, la pondération de notre signal CEST en diffusion pourrait permettre de discriminer les deux compartiments.

VII.4.1. Implémentation du module de diffusion dans la séquence CEST

L'imagerie de diffusion est basée sur l'application de gradients qui vont venir déphaser puis rephaser l'aimantation. En particulier, nous avons utilisé des gradients « QMAS » (*q-vector magic angle spinning* (Szczepankiewicz et al. 2014)) afin d'obtenir une information isotrope de la diffusivité dans les tissus. Ce développement de séquence s'est fait en collaboration avec Mélissa Vincent, une doctorante de l'équipe RMN.

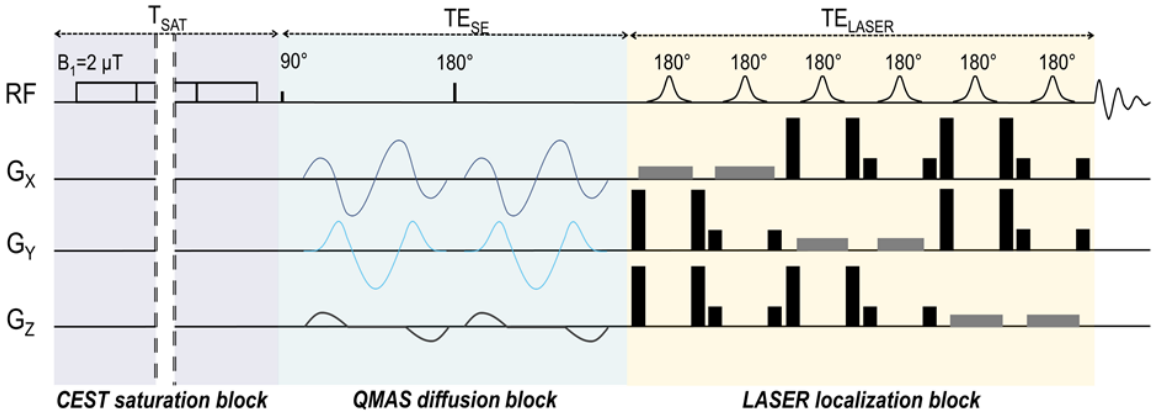


Figure VII-16 : Séquence RMN CEST pondérée en diffusion

L'ajout du bloc de diffusion QMAS permet d'être sensible à la diffusivité dans les tissus. Les gradients appliqués peuvent paraître inhabituels mais servent à garantir l'isotropie de la mesure

Grâce à cette séquence, nous avons acquis le signal CEST après injection de D-glucose ou de 2DG avec et sans pondération en diffusion. Nous avons appliqué une valeur de b égale à 0 s/mm², pas de pondération en diffusion, ainsi qu'une valeur de b égale à 1000 s/mm² afin de ne pas être sensible à l'espace extracellulaire. Le signal a été acquis avec et sans pondération de façon entrelacé tout au long de l'expérience. Nous avons donc une résolution temporelle diminuée de moitié par rapport à l'expérience décrite précédemment, mais une résolution spatiale similaire.

VII.4.2. Apport de la séquence CEST pondérée en diffusion à la discrimination…

VII.4.2.1. … de l'extracellulaire.

Tout d'abord, les courbes obtenues sans pondération en diffusion sont similaires à celles acquises avec le protocole de l'expérience précédente (**Fig.VII.8**). Le signal (D-glucose)-CEST sans pondération montre ainsi une augmentation lente et continue au cours du temps (**Fig.VII.17,** bleu). De façon intéressante, la cinétique pondérée en diffusion (**Fig.VII.17**, orange) est différente. En passant outre un SNR plus faible dû à la diffusion elle-même, le signal semble ne pas suivre la même allure que le signal sans pondération en diffusion. Il n'augmente quasiment pas après l'injection de D-glucose, sauf légèrement à 2,9 ppm mais cette augmentation reste plus faible que celle observée sans pondération.

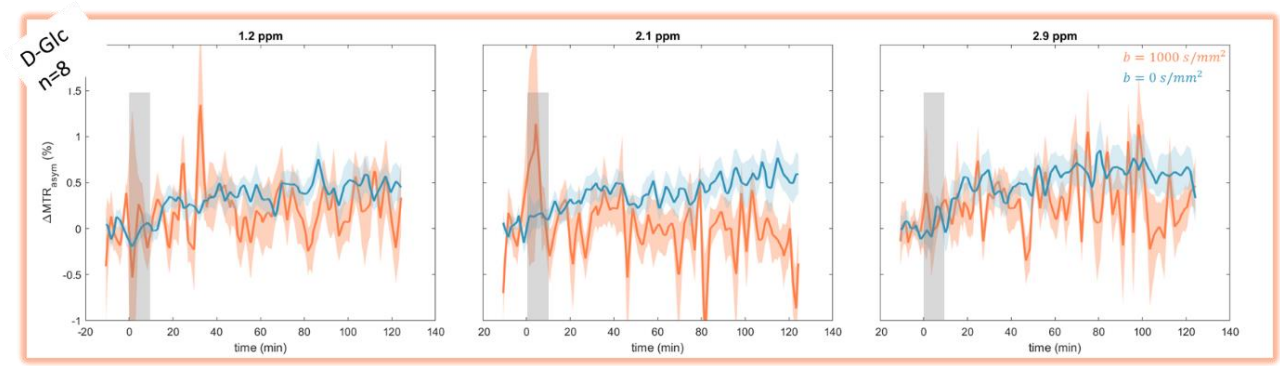


Figure VII-17: Cinétique du signal CEST après injection de D-glucose, observée avec et sans pondération en diffusion.

Les courbes des signaux avec et sans pondération, respectivement en orange et en bleu, sont représentées aux différentes fréquences de résonance d'intérêt : 1,2 2,1 et 2,9 ppm.

Cette diminution du signal pondéré en diffusion peut être attribuée à des hydrogènes présent dans un compartiment « libre » qui correspond ici à l'espace extracellulaire.

VII.4.2.2. … de l'intracellulaire

Le signal (2DG)-CEST pondéré en diffusion semble quant à lui suivre la même allure que le signal acquis sans pondération (**Fig VII.14 et VII.18**), excepté à 2,1 ppm où l'on peut voir que le signal pondéré en diffusion est légèrement inférieur au signal sans diffusion pendant la durée du plateau. D'après les considérations faites sur l'espace intracellulaire, la diffusion dans ce milieu est largement entravée et de ce fait, les molécules diffusant dans ce milieu ne vont pas, ou très peu, atténuer le signal acquis.

Le signal proviendrait donc d'hydrogènes contenus dans un espace restreint, c'est-à-dire l'espace intracellulaire.

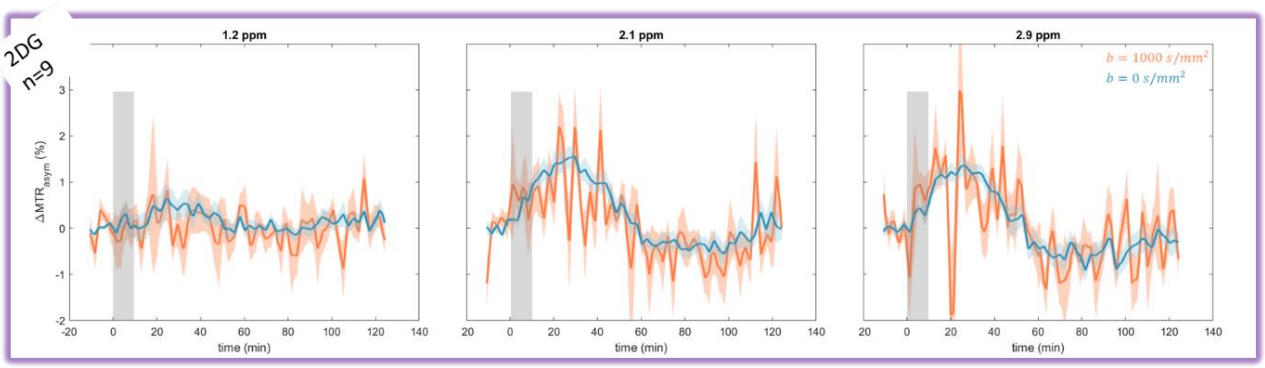


Figure VII-18: Cinétique du signal CEST après injection de D-glucose, observée avec et sans pondération en diffusion.

Les courbes des signaux avec et sans pondération, respectivement en orange et en bleu, sont représentées aux différentes fréquences de résonance d'intérêt : 1,2 2,1 et 2,9 ppm.

Ces résultats semblent donc indiquer une contribution de l'espace intracellulaire importante au signal CEST. La majorité du 2DG injecté contribuerait donc au signal depuis les cellules, soit sous la forme de 2DG, soit de façon plus probable sous la forme de 2DG6P. En effet, l'accumulation du 2DG sous forme de 2DG6P est en accord avec ces observations. Cependant, ces résultats indiquent également que la diminution du signal est un processus affectant les concentrations de 2DG et 2DG6P intracellulaires. Ce phénomène de dégradation ou d'élimination reste malgré cela incompris.

VII.4.3. Les contributions des différents compartiments restent malgré tout incertaines

En plus de l'allure différente des cinétiques CEST sans pondération du D-glucose et du 2DG dont nous avons précédemment discuté, les cinétiques acquises avec une pondération en diffusion ont un comportement différent selon la molécule injectée : la courbe du signal pondéré en diffusion est inférieure à celle du signal sans diffusion dans le cas du D-glucose alors qu'elle est similaire dans le cas du 2DG. Ces observations renforcent l'hypothèse que le D-glucose serait majoritairement dans l'espace extracellulaire tandis que le 2DG serait majoritairement dans l'espace intracellulaire.

Cependant, cette méthode ne permet pas de déterminer de manière quantitative les contributions de ces espaces au signal CEST. Elle ne fait que confirmer nos observations précédentes. La pondération en diffusion engendre également de façon intrinsèque un SNR plus faible lorsque les valeurs de *b* augmentent, comme on peut le voir sur les figures précédentes (courbes orange).

L'utilisation de gradients de diffusion en plus de notre séquence LASER nous a permis d'étudier plus en détail l'origine compartimentale du signal CEST. Nous avons ainsi pu monter que le signal CEST était sensible à l'espace intracellulaire, en particulier en utilisant le 2DG. Ce travail illustre le potentiel de l'imagerie CEST comme outil d'étude du métabolisme cérébrale, notamment dans les maladies neurodégénératives. Nous développerons dans les prochains chapitres certaines de ces applications.

Les travaux du développement et de l'application de la séquence CEST multi fréquentielle ont été présentés dans une communication orale (1er auteur) à l'ISMRM 2020 (Prix Magna cum Laude). L'étude portant sur la caractérisation de l'origine compartimentale du signal CEST a également fait l'objet d'une communication orale (1er auteur) à l'ISMRM 2021 (Prix Summa cum Laude) et l'ISMRM 2022 (Prix Magna Cum Laude). L'ensemble de ces travaux constituent un article en cours d'écriture qui sera soumis à Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism (1er auteur).

Chapitre VIII : Evaluation du glucoCEST comme outil de suivi du métabolisme énergétique

L'étude précédente a démontré que notre protocole glucoCEST permettait de sonder différents compartiments cellulaires. En particulier, l'étude menée avec l'infusion de 2DG nous a conforté dans l'idée que le compartiment intracellulaire était le principal contributeur au signal glucoCEST. Par conséquent, cet outil devrait permettre de mesurer, ou tout du moins d'être sensible, au métabolisme énergétique qui reflète les réactions intracellulaires à l'origine de la consommation de substrat énergétique. Afin de valider notre hypothèse, nous avons cherché un modèle simple permettant de comparer les cinétiques des signaux glucoCEST *in vivo* dans des régions ayant un métabolisme différent. Pour cela, nous avons utilisé des rats sains afin d'évaluer la sensibilité de notre protocole dans différentes régions du cerveau et différents tissus.

VIII.1. EXPLORATION DU METABOLISME ENERGETIQUE CEREBRAL

De nombreuses études ayant étudié le métabolisme cérébral indiquent des différences de consommation de glucose entre les structures chez la souris (Kleinridders et al. 2018). L'imagerie TEP est d'ailleurs pour cela l'outil de référence. On retrouve également ces résultats chez le rat (**Fig.VIII.1**).

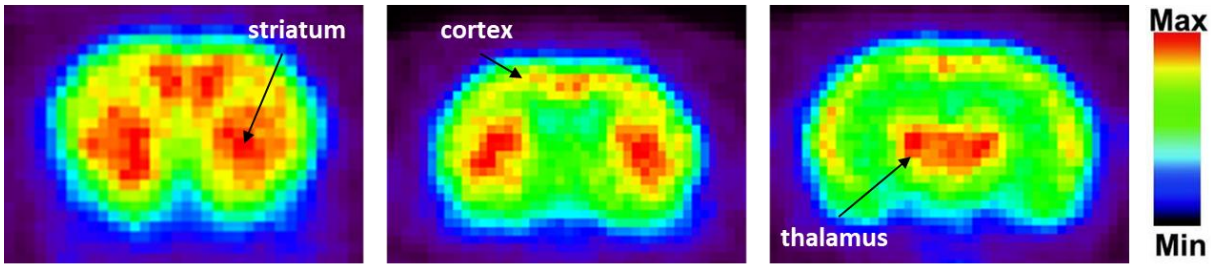


Figure VIII-1: Métabolisme énergétique observé par ^{18}FDG-TEP chez le rat vigile au laboratoire

Comme on peut l'observer, certaines structures cérébrales consomment plus ou moins d'énergie que d'autres. C'est par exemple le cas des structures telles que le striatum, le cortex et le thalamus qui ont une consommation de glucose plus élevée (**Fig.VIII.1**). Des études par autoradiographie ont également quantifié précisément le taux métabolique cérébral du glucose (ou CMRglc) dans le cerveau de rat, rapportés **tableau VIII.1** (Dienel et al. 1992).

Structure	CMRglc (µmol/100g/min) à l'intervalle expérimental (min)		
	45	60	90
Cortex	85,6 ± 5,4	78,8 ± 4,8	70,3 ± 6,3
Striatum	94,8 ± 5,3	88,3 ± 4,4	78,0 ± 6,3

Tableau VIII-1: Taux métabolique cérébral du glucose dans le cortex et le striatum

Cette hétérogénéité de consommation de glucose est étroitement liée à la densité des transporteurs du glucose (GLUTs). Ces transporteurs n'ont en effet pas la même densité selon les structures cérébrales (**Fig.VIII.2**).

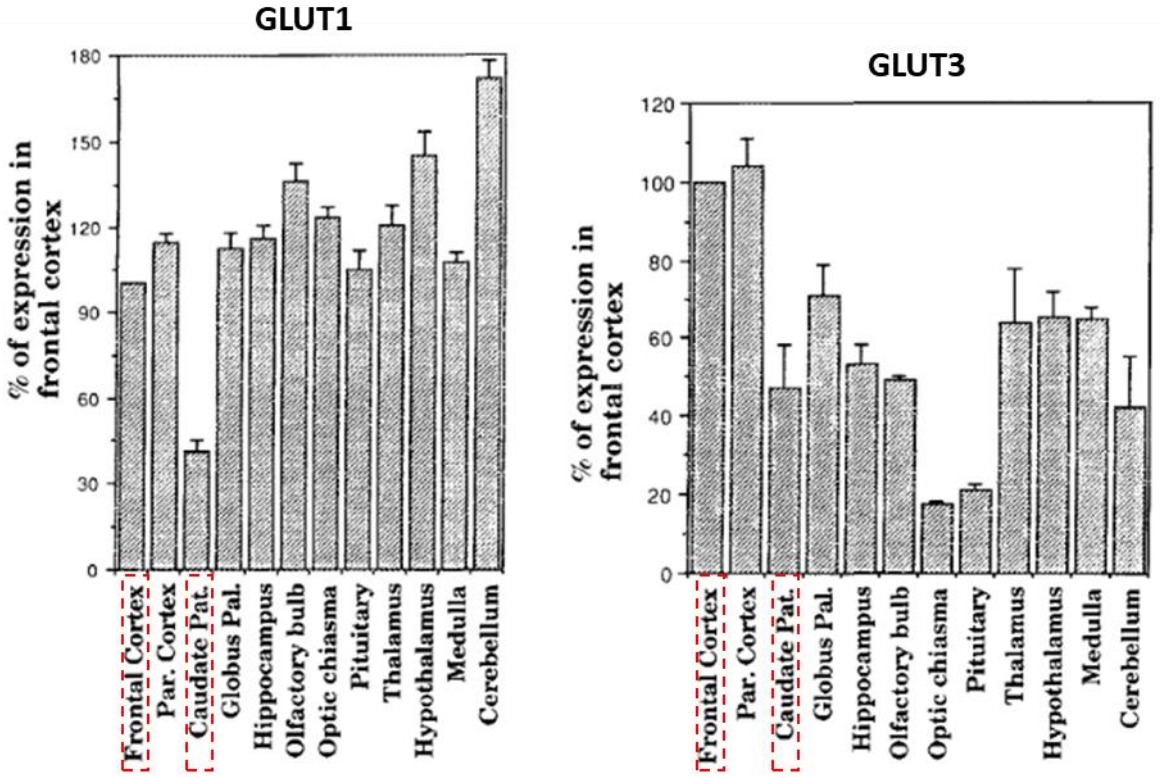


Figure VIII-2: Quantification des niveaux d'expression des transporteurs GLUT1 et GLUT3 dans différentes régions du cerveau de rat, (Brant et al. 1993)

Les données sont exprimées en % du signal obtenu dans le cortex frontal et reflète la moy ± std. Parmi les structures étudiées on peut relever le cortex frontal et le caudate putamen, dont nous référons dans notre étude au cortex et striatum, respectivement.

Dans le cerveau de rat adulte, la correspondance entre le CMRglc régional et la distribution des transporteurs GLUT1 est très bonne (**Fig.VIII.3**) (Rahner-Welsch, Vogel, et Kuschinsky 1995; Zeller,

Rahner-Welsch, et Kuschinsky 1997). En revanche, il y a peu ou pas de correspondance avec les transporteurs GLUT3 (Zeller et al. 1995).

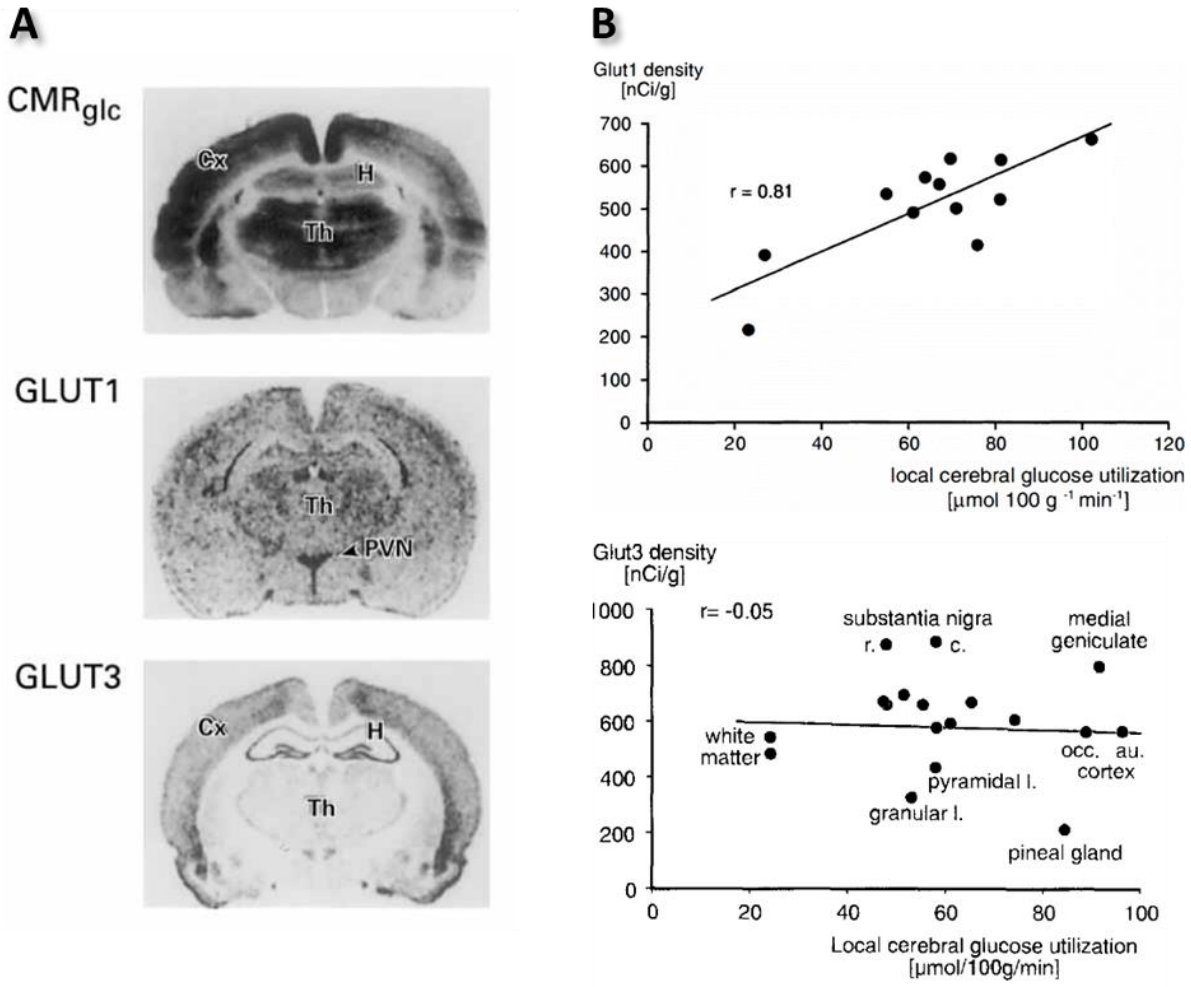


Figure VIII-3: Lien entre CMRglc régional et densité des transporteurs GLUT1 et GLUT3.

(A*) CMRglc determiné par injection de 2DG, hybridation in situ de GLUT1 et GLUT3, Cx : cortex, H : hippocampe, Th : thalamus. (B) Corrélation entre CMRglc et densité des transporteurs GLUT1 (haut) et GLUT3 (bas) pour différentes structures cérébrales (points noirs). Une corrélation linéaire est observée pour GLUT1 tandis qu'aucune corrélation n'est rapportée pour GLUT3. Adapté de (Vannucci et al. 1998; Zeller et al. 1995, 1997)*

La densité des transporteurs ne contribue pas cependant pas à elle seule au métabolisme du glucose. En effet, la densité cellulaire joue également un rôle. Par exemple, chez la souris on recense environ 135 000 neurones contre 15 000 astrocytes dans le cortex moteur, là où dans le striatum on dénombre 120 000 neurones et environ 10 000 astrocytes (Keller, Erö, et Markram 2018). Les études sur le sujet sont nombreuses et présentent parfois des écarts conséquents. Cela dit, le placement d'un voxel dans la région corticale va recouvrir plusieurs régions (cortex moteur primaire et secondaire, cortex somato-sensoriel, gyrus cingulaire) et il devient difficile d'estimer correctement les populations cellulaires.

Toutes ces données soulignent l'hétérogénéité cérébrale locale quant à l'utilisation et au transport du glucose. Afin d'évaluer la sensibilité de l'imagerie CEST aux différences de métabolisme, nous avons choisi d'étudier le cortex et le striatum, deux structures dont on sait que le métabolisme énergétique diffère.

VIII.2. OBSERVATION DES CINETIQUES DES EFFETS GLUCOCEST DANS LES STRUCTURES CEREBRALES

VIII.2.1. Séquence d'intérêt

Pour les séquences utilisées, nous avons acquis le signal avec les paramètres suivants : B_1 = 2 µT, t_{sat} = 4s, δ_{sat} = -20, ± 2,9, ± 2,1, ± 1,2 et ± 0,8.

Nous avons gardé la séquence LASER-CEST précédemment développée pour acquérir le signal dans le cortex et le striatum (**Fig.VIII.4**) afin de conserver une excellente résolution temporelle. En effet, les différences de consommation de glucose rapportées **tableau VIII.1** sont relativement faibles entre les structures cérébrales, de l'ordre de 10 %. C'est pourquoi, si l'on souhaite comparer le métabolisme du striatum et du cortex avec notre méthode il nous faut maximiser la résolution temporelle afin d'être sensible aux différences potentielles liées à un transport, une consommation, une métabolisation de glucose ou de substrat énergétique différent entre les structures.

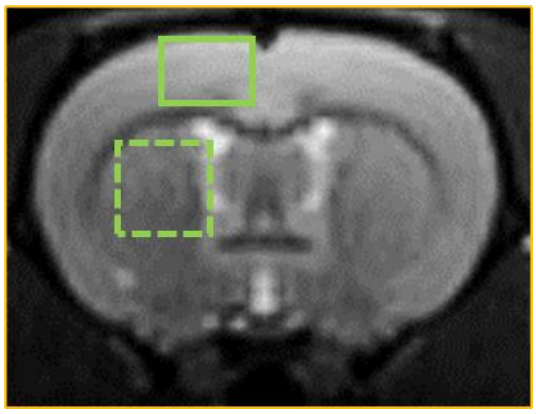


Figure VIII-4: Acquisition dans le striatum et le cortex

Le voxel dans le cortex est légèrement plus petit que celui dans le striatum dû à la différence de taille de ces deux structures. Afin de rester spécifique du cortex nous avons donc réduit la taille de notre voxel.

$voxel_{striatum} = 2{,}5 * 2{,}5 * 2{,}5\ mm^3$. $voxel_{cortex} = 2{,}5 * 1{,}8 * 2\ mm^3$

VIII.2.2. Effet des structures cérébrales sur le contraste glucoCEST

Nous avons ainsi acquis les variations du signal glucoCEST au cours du temps dans le striatum et le cortex grâce à la séquence LASER-CEST avant, pendant et après injection de 2DG (1 g/kg) (**Fig.VIII.5**). On constate que les cinétiques, bien que présentant des similitudes telles qu'une augmentation du signal après l'injection de 2DG (1 g/kg pendant 8 min) suivie d'un plateau et d'une diminution, montrent également des différences entre les structures. Ces différences sont remarquables en particulier à 2,1 et 2,9 ppm où la durée du plateau est plus courte dans le striatum que dans le cortex (**tableau VIII.2**). Par ailleurs, on remarque que le signal est plus intense sur les cinétiques du cortex que du striatum à 2,1 et 2,9 ppm.

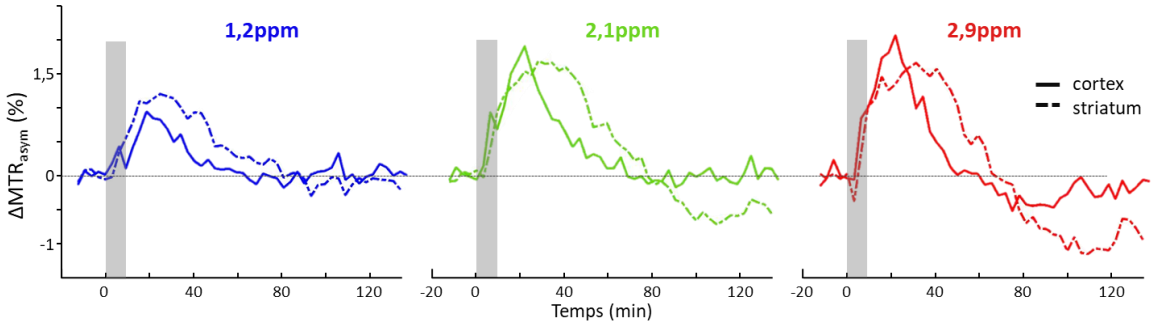


Figure VIII-5 : Evolution temporelle du signal CEST dans le cortex et le striatum

Les signaux ont été acquis avant pendant et après injection de 2DG dans le cortex (n=6, trait continu) et le striatum (n=3, trait discontinu) de rats sauvages. Les variations du signal sont exprimées par rapport au signal acquis avant injection.

VIII.2.3. Description quantitative des cinétiques glucoCEST.

Au moment d'écrire ce manuscrit, nous n'avons pas encore mis en place l'outil de quantification des effets CEST ni la modélisation des cinétiques des variations d'effets glucoCEST qui sont nécessaires pour quantifier le métabolisme cérébral. Néanmoins, nous avons adopté une approche descriptive de ces cinétiques et nous avons quantifié les principaux descripteurs de ces courbes (**Fig.VIII.6**).

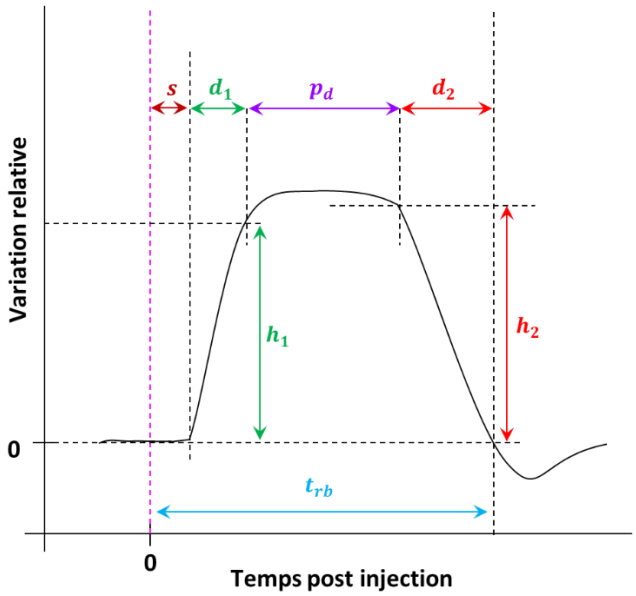


Figure VIII-6 : Description des cinétiques par différents paramètres

Représentation de l'allure du signal CEST après injection (pointillés rose)

Ces descripteurs ont été choisis de façon arbitraire pour décrire et quantifier les variations observées dans ces cinétiques. En effet, afin de pouvoir évaluer au mieux les différences entre les différentes conditions expérimentales, nous avions besoin d'un moyen permettant de comparer les allures des courbes. Nous avons donc décidé qu'il était important de connaître le coefficient d'augmentation de la courbe, l'intensité maximale atteinte ainsi que la durée du plateau, le coefficient de diminution de la courbe après le plateau et le temps de retour à la ligne de base.

Cette approche relativement simple nous permet néanmoins de comparer objectivement des différences entre les cinétiques relatives à chacune des structures en question. Parmi ces descripteurs, il est particulièrement intéressant de comparer les différences d'intensité maximales atteintes et le temps auquel le plateau prend fin.

	$\Delta MTRasym_{max}$ (%)		Fin du plateau (min)	
	1,2 ppm	2,1 ppm	1,2 ppm	2,1 ppm
Cortex	0,94 ± 0,21	1,89 ± 0,47	30,45 ± 4,43	30,45 ± 3,08
Striatum	1,19 ± 0,20	1,68 ± 0,21	41,32 ± 0,94	43,79 ± 0,71

Tableau VIII-2: Comparaison de l'intensité maximale et de la durée du plateau à 1,2 et 2,1ppm entre le cortex et le striatum

VIII.2.4. Différences métaboliques entre structures cérébrales

Au vu des cinétiques présentées et de la sensibilité de la méthode à l'espace intracellulaire, nous pouvons dire que notre méthode est sensible au transport et à la métabolisation du substrat énergétique. Par ailleurs, comme nous l'avons déjà mentionné (voir **chapitre VIII**), la différence de perfusion entre les structures cérébrales, bien qu'existante, joue probablement un rôle mineur dans la prise de contraste glucoCEST. En effet, vue la quantité importante de 2DG injecté, ce substrat est probablement en large excès dans le compartiment vasculaire. Donc même si des différences d'apport sanguin existent, elles ne sont pas limitantes pour la fourniture de 2DG aux cellules, surtout plusieurs minutes après injection. Par conséquent, il est raisonnable de penser que les différences de cinétique observées durant cette expérience sont le reflet d'un transport de 2DG différent et/ou d'une consommation différente entre les structures.

VIII.2.4.1. Une prise de contraste différente

Rappelons tout d'abord que le 2DG injecté est transporté dans l'espace extracellulaire jusque dans les cellules où il est phosphorylé en 2DG6P et s'accumule sous cette forme bien qu'une faible proportion soit métabolisée en d'autres métabolites; Par ailleurs, les mesures par imagerie TEP et par autoradiographie mettent en avant un métabolisme plus élevé dans le striatum que dans le cortex (**Tableau VIII.1**). Nous pouvons formuler plusieurs hypothèses concernant nos observations.

Si le signal CEST acquis reflète uniquement l'accumulation du 2DG, le plateau court observé dans le cortex à 2,1, et 2,9 ppm signifierait donc une dégradation rapide du 2DG ou une clairance rapide de l'espace dans lequel se trouve le 2DG, à savoir l'espace intracellulaire comme montré avec la séquence de diffusion dans le chapitre précédent. De la même façon, une dégradation plus lente du 2DG mènerait à un plateau plus long, comme celui observé dans le striatum. Cette hypothèse est cependant en désaccord avec les mesures de CMRglc. En effet, pour que cette hypothèse soit validée il nous faudrait constater un plateau plus long dans le striatum que dans le cortex.

Une seconde hypothèse serait que le signal observé à 2,1, 2,9 ppm reflète également le 2DG6P. Une structure avec un CMRglc élevé, comme le striatum, consommera ainsi plus rapidement de 2DG faisant alors s'accumuler plus de 2DG6P. De plus, le 2DG métabolisé dans les cellules permet au 2DG de l'extracellulaire de rentrer de nouveau dans les cellules (le gradient de 2DG est de nouveau favorable à son transport) et donc, de la même façon, à ce que le 2DG contenu dans l'espace vasculaire soit transporté dans l'extracellulaire. Ce processus engendrerait une élévation de la concentration totale [2DG + 2DG6P]. Sous cette hypothèse, le signal CEST d'une structure possédant un CMRglc élevé montrera un plateau de durée plus longue qu'une structure avec un CMRglc plus faible. Par ailleurs, le

signal observé à 1,2 ppm montre une assimilation plus rapide de 2DG dans le striatum que dans le cortex, ce qui est en accord avec cette hypothèse.

VIII.2.4.2. Existence d'un mécanisme de dégradation du 2DG6P ?

De façon étonnante, le signal CEST diminue après avoir atteint un plateau, allant même jusqu'à passer sous le niveau de base dans le cas du striatum. Cet effet inattendu ne reflète pas une concentration de 2DG inférieure à la concentration initiale car cela signifierait une concentration négative. Il ne faut donc pas perdre de vue le principe sur lequel repose l'effet CEST. Cette baisse de signal pourrait être due à une diminution des métabolites résonant à ces fréquences, comme le glucose par exemple. De façon générale, la baisse du signal observée dans les deux structures pourrait être causée par différents phénomènes impliquant une sortie ou une dégradation du 2DG6P.

Comme discuté dans le **chapitre VII**, le 2DG métabolisé en 2DG6P pourrait être dégradé par différentes voies métaboliques (**Fig.VIII.7**) (Dienel et al. 1993; Jeon et al. 2012; Nelson et al. 1984; Southworth et al. 2003; Suzuki et al. 1983). Ces voies de dégradation représentent néanmoins une très faible proportion de la métabolisation du 2DG (Kotyk et al. 1989; Nelson et al. 1984; Wong et al. 1982) et expliquent difficilement une diminution du signal aussi intense que celle observée sur nos cinétiques. Certes cette dégradation du 2DG6P peut contribuer à la baisse du signal mais ce n'est probablement pas l'effet principal au vu de la vitesse relativement faible des processus de dégradation.

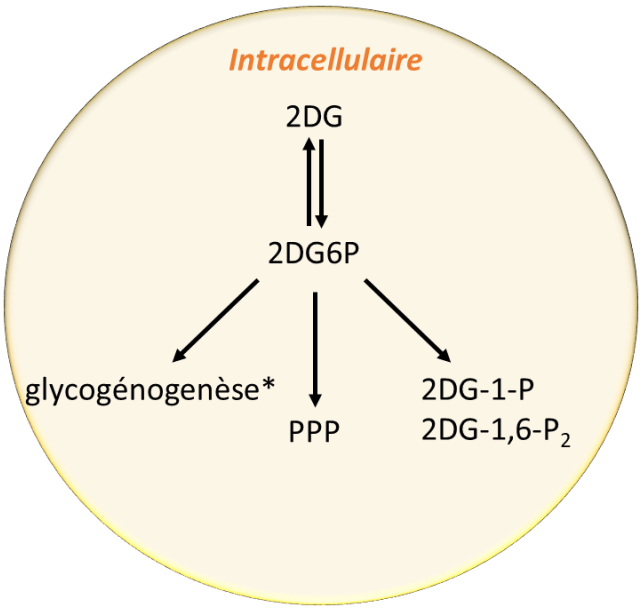


Figure VIII-7 : Voies de dégradation intracellulaires du 2DG

Le 2DG est phosphorylé en 2DG6P qui peut être à son tour métabolisé en 2DG-glycogène (dans les astrocytes uniquement) par la glycogénogenèse, ou en 2DG-1-P et 2DG-1,6-P_2, ou encore par la voie des pentoses phosphates (PPP)*

La déphosphorylation du 2DG6P accumulé dans les cellules et le transport du 2DG ainsi restauré de l'espace intracellulaire à l'espace extracellulaire/extravasculaire suivi de sa clairance par le LCR est ainsi une autre hypothèse pouvant expliquer cette diminution du signal. Ce mécanisme et notamment la clairance du 2DG par le LCR restent hypothétiques. En effet, si le LCR est bien en capacité de « nettoyer » le cerveau de métabolites indésirables, il agit relativement lentement par rapport à la diminution du signal CEST observée (**Fig.VIII.5**). En considérant l'existence d'un tel mécanisme de préservation, la baisse importante constatée dans le striatum est compatible avec un métabolisme plus élevé et donc un mécanisme de préservation également plus fort pour contrebalancer l'effet potentiellement délétère de l'accumulation de 2DG6P. Ainsi, comme ce mécanisme est plus fort, il a probablement une inertie également plus forte, ce qui expliquerait l'observation de la baisse du signal en dessous du niveau de base.

Afin de vérifier cette hypothèse nous avons décidé d'acquérir le signal glucoCEST dans des tissus dont le métabolisme est différent du cerveau : le tissu musculaire.

VIII.3. LE METABOLISME MUSCULAIRE EN CEST

VIII.3.1. Un métabolisme différent

Dans le cadre de notre problématique concernant l'assimilation et la consommation de 2DG dans le cerveau, nous avons pu observer des différences de signal CEST entre différentes structures cérébrales. Cependant, afin de vérifier que ces différences sont le reflet d'un métabolisme propre au cerveau, nous avons voulu acquérir le signal CEST, en réitérant le même protocole, dans une structure dont le métabolisme est différent de celui du cerveau. C'est pour cette raison que nous avons donc imagé le muscle autour du cerveau de rat, nous permettant ainsi de garder les mêmes configurations d'antenne et un signal exploitable.

Le captage du glucose par le tissu musculaire est faible en raison de l'activité et de l'expression limitée des transporteurs présents dans les membranes des cellules musculaires (Hocquette et Bauchart 1999). Dans le cas où le muscle est au repos, le glucose peut être métabolisé par les mêmes voies de dégradation que l'on retrouve dans le cerveau. En revanche, une grande quantité de glucose se retrouve stocké sous forme de glycogène afin de servir de substrat énergétique lors de l'activité musculaire. Le muscle possède un niveau de perfusion sanguine très faible au repos qui se reflète donc par un apport lent du glucose sanguin aux cellules musculaires. Bien que cette perfusion soit faible,

elle n'est probablement pas limitante pour le transport du glucose dans les cellules musculaires au vu des quantités injectées dans les conditions de notre expérience.

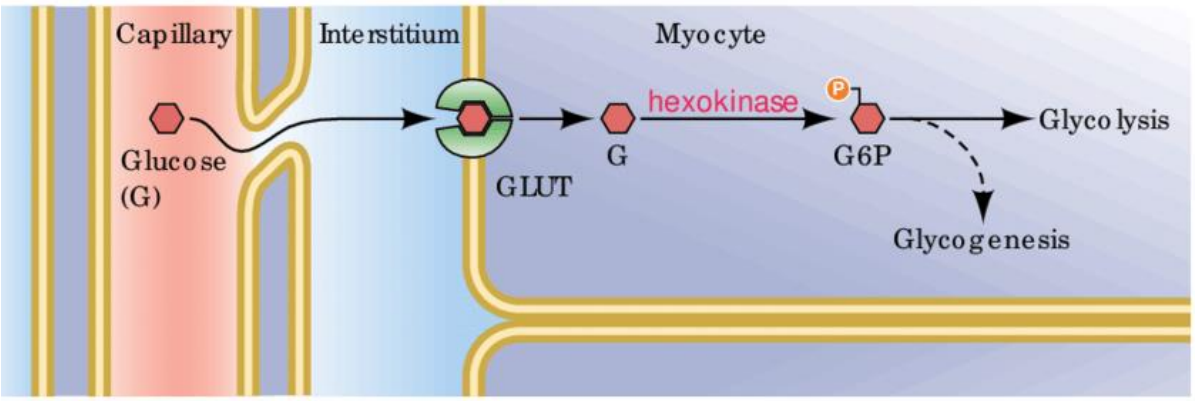


Figure VIII-8: Assimilation du glucose par les cellules musculaires, (Rose et Richter 2005)

Le glucose diffuse depuis les capillaires jusqu'aux membranes musculaires. Il est transporté à travers ces membranes par les transporteurs GLUTs (majoritairement GLUT4) avant d'être phosphorylé par l'hexokinase puis stocké sous forme de glycogène ou utilisé par la glycolyse.

VIII.3.2. Séquence d'imagerie

Dans le cas des acquisitions effectuées dans le muscle, nous avions acquis les cinétiques du signal CEST en amont du développement de la séquence LASER-CEST. C'est pourquoi les données ont été acquises avec la séquence d'imagerie RARE-CEST. Cette séquence a pour résolution spatiale 0,5 x 0,5 x 2 mm^3 et pour résolution temporelle 4 min 40 s. Le signal CEST montré ci-après est la moyenne du signal dans les régions d'intérêt (**Fig.VIII.9**).

Figure VIII-9: Détermination des régions d'intérêt dans le muscle (zones vertes)

VIII.3.3. Contraste glucoCEST dans le muscle

Les courbes figure **VIII.10** représentent la moyenne du signal CEST acquis dans les muscles de chaque côté du crâne sur 3 animaux sains après injection, suivant le même protocole que précédemment, de 2DG (1 g/kg pendant 8 min). Le signal CEST présente une augmentation rapide et intense du signal CEST (**tableau VIII.3**) qui atteint un plateau à partir de 40min post-injection pour les fréquences de résonance à 2,1 et 2,9ppm.

	Coefficient d'augmentation du signal (%)	
	1,2 ppm	2,1 ppm
Cortex	5,30 ± 0,84	10,23 ± 1,42
Striatum	7,88 ± 1,11	8,38 ± 1,32
Muscle	8,55 ± 1,06	4,95 ± 0.61

Tableau VIII-3 Comparaison des coefficients d'augmentation du signal dans les différentes structures

L'allure générale du signal est complétement différente de celle observée dans le cortex ou le striatum. Dans le cas du muscle, aucune diminution du signal CEST n'est visible dans l'échelle de temps de nos acquisitions. De plus, le ΔMTRasym mesuré est plus important à 1,2 ppm, de l'ordre de 3%, tandis qu'à 2,1 et 2,9 ppm il est du même ordre de grandeur que le ΔMTRasym mesuré dans le cortex et le striatum, aux alentours de 1,5%. Ainsi, bien que les acquisitions dans le muscle aient été faites avec la séquence d'imagerie RARE, les résultats obtenus sont comparables en termes d'effet CEST avec la séquence RMN.

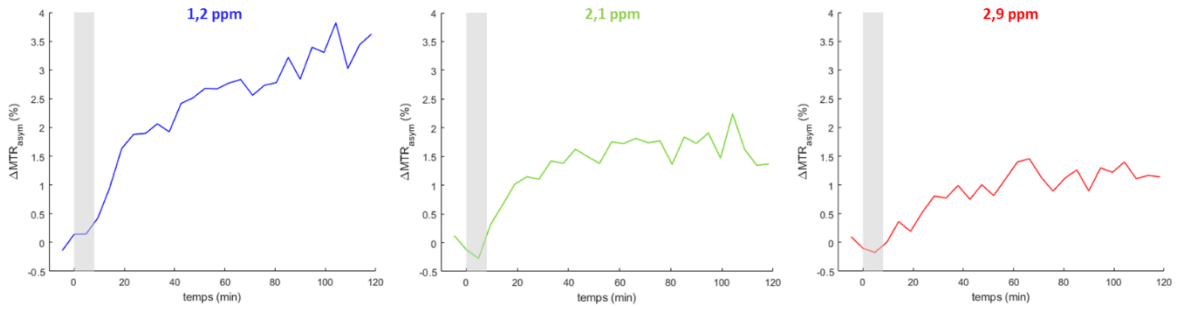


Figure VIII-10 : Evolution temporelle du signal CEST dans le muscle

Le muscle possédant un métabolisme différent de celui du cerveau, un modèle compartimental différent doit être développé afin de pouvoir quantifier les consommations de glucose dans le muscle en imagerie TEP. C'est dans ce contexte que Bertoldo et collaborateurs ont observé l'évolution du signal lié au ^{18}F-FDG dans le muscle squelettique chez des volontaires sains (**Fig.VIII.11**) (Bertoldo et al. 2001). Cette étude a ainsi permis d'apporter des informations supplémentaires sur le rôle de l'insuline

dans le contrôle du métabolisme dans le muscle en montrant qu'une hyperinsulinémie provoque une limitation du transport du glucose dans les cellules musculaires.

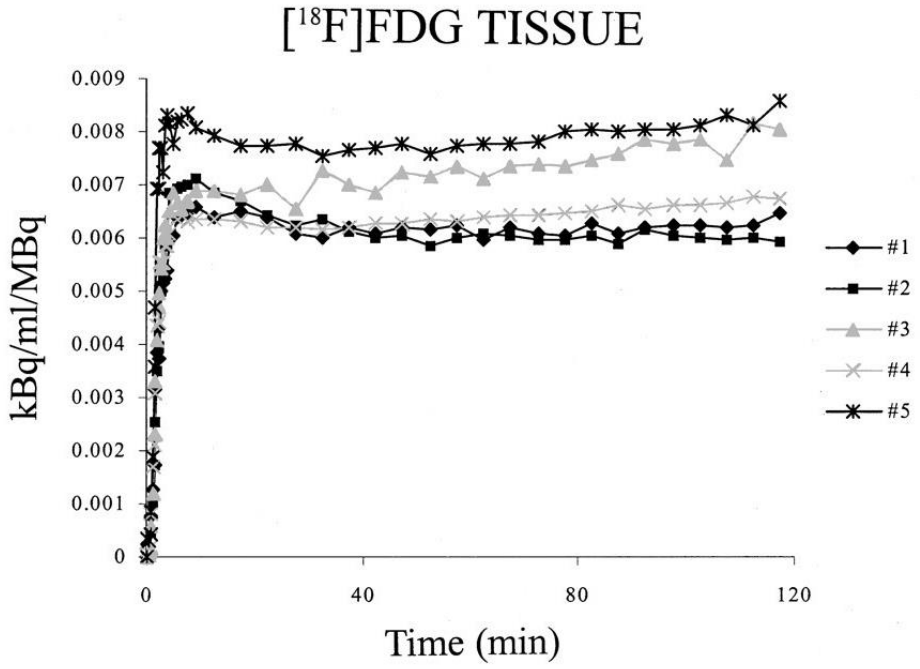


Figure VIII-11: Activité dans la région fémorale de 5 volontaires sains après injection de ^{18}F-FDG, (Bertoldo et al. 2001)

Nos résultats sont cohérents avec les observations TEP du muscle squelettique chez l'homme montrant une accumulation du traceur ^{18}F-FDG au sein des cellules musculaires. Ceci confirme que l'imagerie CEST est sensible aux différences du métabolisme énergétique.

VIII.3.4. Comparaison du métabolisme cérébral et musculaire

L'affinité du transporteur GLUT4, qui transporte le glucose du sang au muscle, est du même ordre de grandeur que le GLUT1 pour le 2DG (4,6 mM contre 6,9 mM (Burant et Bell 1992)). Cependant, la perfusion des muscles étant moins élevée que le cerveau, l'augmentation du signal au moment de l'injection devrait être plus lente dans le muscle que dans le cerveau. C'est d'ailleurs bien ce qu'on observe (**Fig.VIII.12**)

Le fait que le signal CEST du muscle ne revienne pas au niveau de base, comparé au signal dans le cerveau, pourrait être dû au fait qu'il n'existe pas de système capable d'éliminer le 2DG/2DG6P une fois dans le muscle. Contrairement au 2DG/2DG6P dans le cerveau qui pourrait être éliminé par le LCR par exemple.

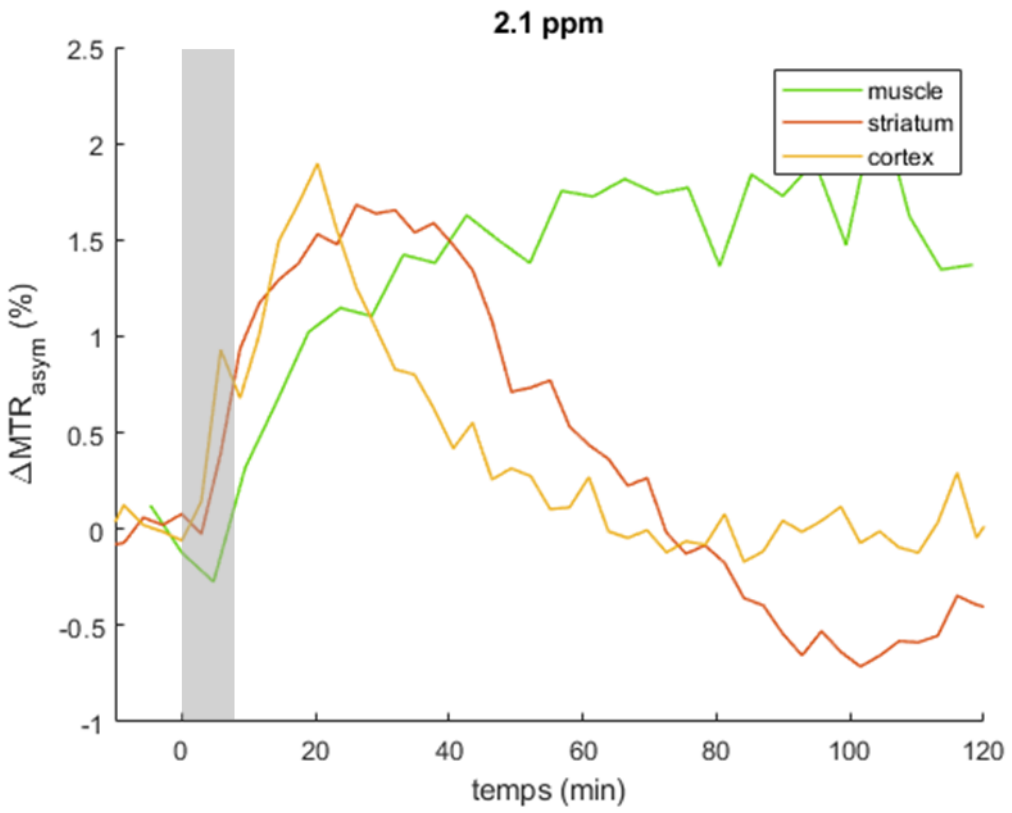


Figure VIII-12: Comparaison des cinétiques CEST acquises dans le muscle, le striatum et le cortex

La mise en parallèle du signal CEST dans les différentes structures étudiées permet de mettre en évidence l'allure particulière du signal acquis dans le muscle par rapport aux structures cérébrales. On observe en effet une augmentation plus lente du signal après injection du 2DG, qui pourrait être expliquée par une perfusion plus faible du muscle comparativement au cerveau. On remarque également que le plateau atteint dans le muscle ne rediminue pas, comparé aux autres structures.

VIII.4. Conclusion

Cette étude a permis de montrer que le contraste glucoCEST est sensible aux différences de métabolisme que l'on observe entre les tissus. La séquence spectroscopique apporte une résolution temporelle suffisamment élevée pour discriminer des effets relatifs aux différences de métabolisme dans les structures cérébrales. Bien que nous ne soyons pas en mesure d'expliquer clairement le mécanisme lié à la diminution du signal dans les structures cérébrales, des études TEP sur des périodes similaires montrent également une baisse de signal (Bonvento, Gilles 1991). Ce que nous observons n'est donc pas un artéfact et est probablement propre au cerveau ou bien renforcé dans le cerveau pour maintenir l'homéostasie du milieu.

La séquence CEST utilisée paraît donc adaptée à l'étude de modèles de maladies neurodégénératives impactant le métabolisme énergétique. C'est dans ce contexte que s'inscrit le chapitre suivant sur le suivi longitudinal de rats sains et pathologiques.

Ces travaux concernant l'évaluation du glucoCEST comme outil de suivi du métabolisme énergétique ont été présentés (1er auteur) sous forme de poster digital à la conférence CEST 2020 et de présentation orale à la SFRMBM 2021.

Chapitre IX : Suivi longitudinal du métabolisme énergétique dans un modèle rat de la maladie de Huntington

IX.1. Introduction

Au cours des dernières décennies l'imagerie TEP s'est imposée comme imagerie de référence pour étudier le métabolisme du glucose *in vivo*, en particulier avec l'utilisation du ^{18}F-FDG. Son utilité clinique dans le diagnostic de maladies neurodégénératives n'est d'ailleurs plus à démontrer (Walker et al. 2018; Werry et al. 2019; Whitwell 2018). Cependant, en plus d'inconvénients tels que la radioactivité et l'accès réduit aux imageurs TEP (par rapport à l'IRM par exemple), sa résolution spatiale est intrinsèquement limitée à ~1 mm². Son application à l'étude des maladies neurodégénératives chez le rongeur et en particulier la souris est donc compromise. L'utilisation de l'autoradiographie, proposant une meilleure résolution spatiale, grâce à un marquage au ^{14}C des analogues du glucose n'est pas adaptée à un suivi longitudinal puisqu'elle nécessite le sacrifice de l'animal.

Par conséquent nous proposons l'application de l'imagerie CEST qui permet un suivi longitudinal avec une résolution spatiale suffisante pour étudier le métabolisme énergétique chez le rat. Dans le cadre de cette étude nous avons cependant continué d'utiliser la séquence spectroscopique-CEST précédemment développée pour répondre à la question de l'origine compartimentale. Bien qu'elle n'ait pas vocation à perdurer et qu'on revienne ensuite à la séquence d'imagerie-CEST, elle nous permet d'observer les variations du métabolisme énergétique avec un SNR maximal.

Dans cet optique nous avons suivi deux cohortes de rats, l'une saine et une autre atteinte de la MH, que l'on a imagées par IRM glucoCEST avec le protocole présenté dans les chapitres précédents. Ce suivi a été rendu possible grâce au travail de développement précédant cette étude ainsi qu'à la confirmation de la sensibilité de la méthode à l'espace intracellulaire. L'objectif de cette étude est de mettre en avant la faisabilité de la méthode pour suivre le métabolisme énergétique à différents points temporels et d'autre part de comparer l'évolution du métabolisme entre animaux sains et pathologiques.

IX.2. CARACTERISATION DU MODELE ANIMAL CHOISI

Bien que nous ayons discuté précédemment des caractéristiques principales du modèle de rat BACHD choisi pour cette étude (voir **chapitre VI**), nous devons explorer plus en détail le métabolisme énergétique de ce modèle et, de façon générale le comparer à celui d'animaux sains.

Des informations intéressantes sur le métabolisme des rats BACHD et contrôles ont été acquises par Jérémy Pépin durant sa thèse au laboratoire. Il a ainsi acquis des cartes de variations de glutamate en imagerie CEST (**Fig.IX.1**) d'après lesquelles on constate des niveaux de glutamate moyens plus faibles chez les BACHD que chez les rats contrôles à 2 mois. En particulier on constate une baisse significative dans le striatum, région particulièrement vulnérable dans le contexte de la maladie de Huntington. Par ailleurs, les niveaux d'effet CEST à 4 mois mesurés chez les BACHD sont plus faibles que chez les rats contrôles mais de façon non significative. A 6 mois la carte de variation suggère une augmentation de l'effet CEST chez les BACHD par rapport aux animaux contrôles. En réalité, elle traduit plutôt une diminution des effets CEST plus lente dans le cerveau des BACHD comparé aux contrôles. A 12 mois on peut constater de fortes baisses du signal gluCEST dans le cerveau des BACHD par rapport aux contrôles. Ces mesures suggèrent que la maladie affecte dès les premiers mois les flux métaboliques cérébraux chez le rat BACHD.

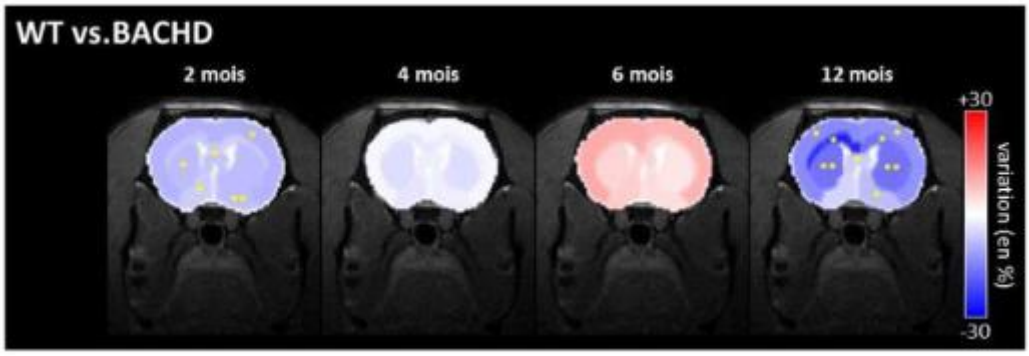


Figure IX-1: Cartes de variations du signal gluCEST des rats BACHD comparés aux rats sauvages (Pepin 2018) Le contraste gluCEST est plus faible chez les BACHD dès 2mois. A 4 mois cette différence est presque nulle. A 6 mois, la carte de variation est essentiellement positive, avant de rediminuer à 12 mois de façon significative.

Par ailleurs, un suivi spectroscopique sur ces mêmes temps de passage a révélé une diminution significative de la concentration de lactate dans les BACHD au cours du temps tandis que les autres métabolites mesurés sont restés stables entre les groupes, supposant ainsi une utilisation différente du glucose et des besoins énergétiques entre les animaux contrôles et les BACHD (**Fig.IX.2**).

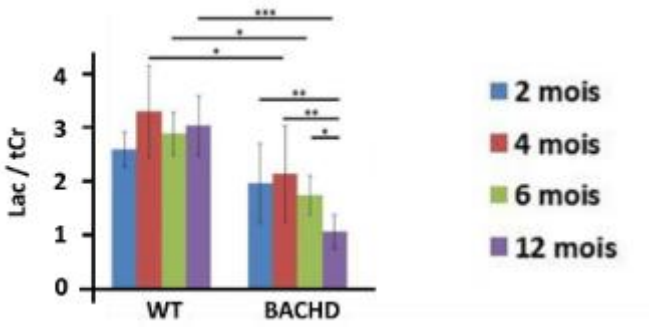


Figure IX-2: Evaluation par spectroscopie des concentrations de lactate chez les rats sauvages (WT) et BACHD, (Pepin 2018) La diminution du Lactate est significative chez les BACHD à partir de 4 mois comparés aux rats contrôles. De plus, la baisse mesurée chez les BACHD devient de plus en plus importante et est même significative à 12 mois comparée aux précédents points de mesure

L'analyse des cartes de variations gluCEST et l'évolution des concentrations de lactate dans chacun des groupes a mené à l'hypothèse que durant les premiers mois de leur vie les BACHD mettent en place des mécanismes de compensation de leur métabolisme énergétique visant à maintenir une production d'énergie suffisante pour assurer le bon fonctionnement des neurones.

Afin d'évaluer cette hypothèse, Jérémy Pépin a injecté dans le striatum de l'acide 3-nitropropionique qui inhibe l'enzyme succinate déshydrogénase (voir **chapitre 1**) dont les résultats concernant l'évolution de la concentration en lactate sont présentés **figure IX.3**. L'inhibition de la succinate déshydrogénase par le 3NP engendre une inhibition globale du cycle de Krebs. Le pyruvate produit par la glycolyse ne peut ainsi plus être dégradé de cette façon et ne peut être que converti en lactate.

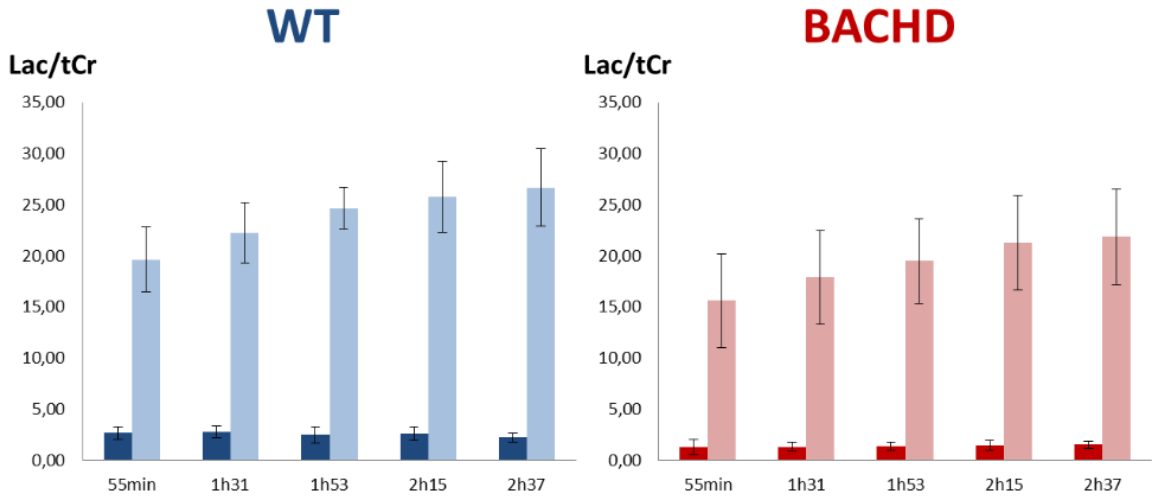


Figure IX-3: Altération de la concentration de lactate dans les rats contrôles et BACHD après injection de 3NP, (Pepin 2018)

Le 3NP a été injecté dans le striatum droit tandis que du PBS a été injecté en controlatéral. La figure représente les concentrations de lactate mesurées en spectroscopie dans du côté ipsilatéral (couleur claire) et controlatéral (couleur foncée).

La concentration en lactate augmente de la même façon chez les BACHD et chez les contrôles après l'injection de 3NP. Ceci indique donc que les voies de dégradations sont bel et bien fonctionnelles chez les BACHD. A la suite de cette étude, Jérémy Pépin a pu conclure que lors de leur développement, les rats BACHD mettent probablement en place des mécanismes de compensation du métabolisme énergétique et utilisent différemment le glucose par rapport aux animaux contrôles, en cohérence avec la littérature (Gouarné et al. 2013).

Il est donc particulièrement intéressant d'étudier ce remodelage du métabolisme énergétique dès le plus jeune âge des rats BACHD avec une modalité telle que le glucoCEST pour mieux comprendre comment sont utilisées les ressources énergétiques.

IX.3. MATERIEL ET METHODES

IX.3.1. Etude longitudinale

Les rats BACHD utilisés dans cette étude sont nés de la reproduction de mâles BACHD avec des femelles sauvages. Au total 12 rats ont été utilisés. Les rats ont été séparés en 2 groupes : un groupe BACHD et un groupe contrôle composé chacun de 3 mâles et 3 femelles. Les rats ont été scannés à 2 et 4 mois. Les animaux étaient hébergés à raison de deux individus par cage, celles-ci étant changées de façon hebdomadaire. Initialement les animaux ont eu accès à de la nourriture *ad libitum* puis soumis à un régime afin d'éviter une prise de poids trop importante, notamment chez les rats mâles, qui pourrait être problématique pour leur passage à l'IRM (**Fig.IX.4**).

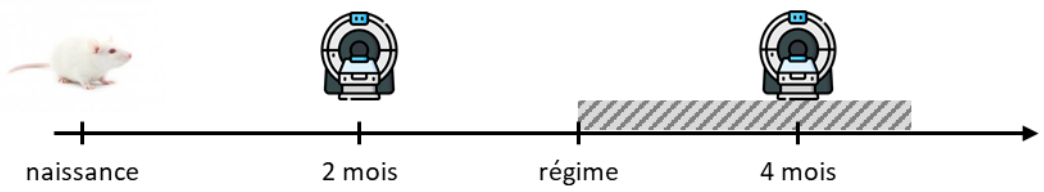


Figure IX-4: Déroulement de l'étude

Dans cette étude les rats ont été injectés par voie intraveineuse avec une solution de 2DG (20% en masse) à raison de 1 g/kg après 10 acquisitions (~13 min) dans un état basal. Ces acquisitions

permettent d'obtenir un niveau de base du métabolisme et servent par la suite de référence pour évaluer l'intensité des variations liées à l'injection de 2DG. Nous avons choisi d'injecter du 2DG au vu de la reproductibilité des variations de signal CEST observées dans nos précédentes études, contrairement au glucose qui paraissait moins robuste.

IX.3.2. Protocole IRM

Nous avons choisi d'utiliser la séquence spectroscopique LASER-CEST au lieu d'une séquence d'imagerie CEST. Ce choix a été fait afin de garder une résolution temporelle élevée (1 min 10 s) dans le but de mieux suivre les variations de consommation du 2DG, au prix cependant d'acquisitions uniquement dans un voxel placé dans le striatum et non dans une coupe cérébrale entière (**Fig.IX.5**).

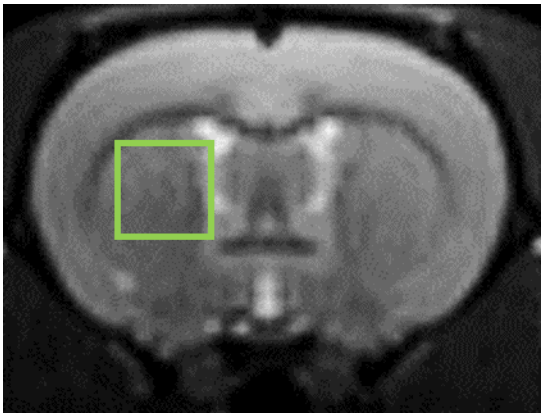


Figure IX-5: Acquisition du signal CEST dans un voxel de $2{,}5 * 2{,}5 * 2{,}5\ mm^3$ positionné dans le striatum

IX.4. EFFET DU GENOTYPE SUR LE CONTRASTE GLUCOCEST…

IX.4.1. … à 2 mois

La figure **IX.6** présente les résultats du premier temps de passage (TP) sur les deux cohortes d'animaux. Pour chaque animal le signal acquis avant injection sert de référence afin de pouvoir comparer différents animaux entre eux. C'est pourquoi les variations observées sont exprimées en ΔMTRasym et non en MTRasym.

TP1 (2 mois)

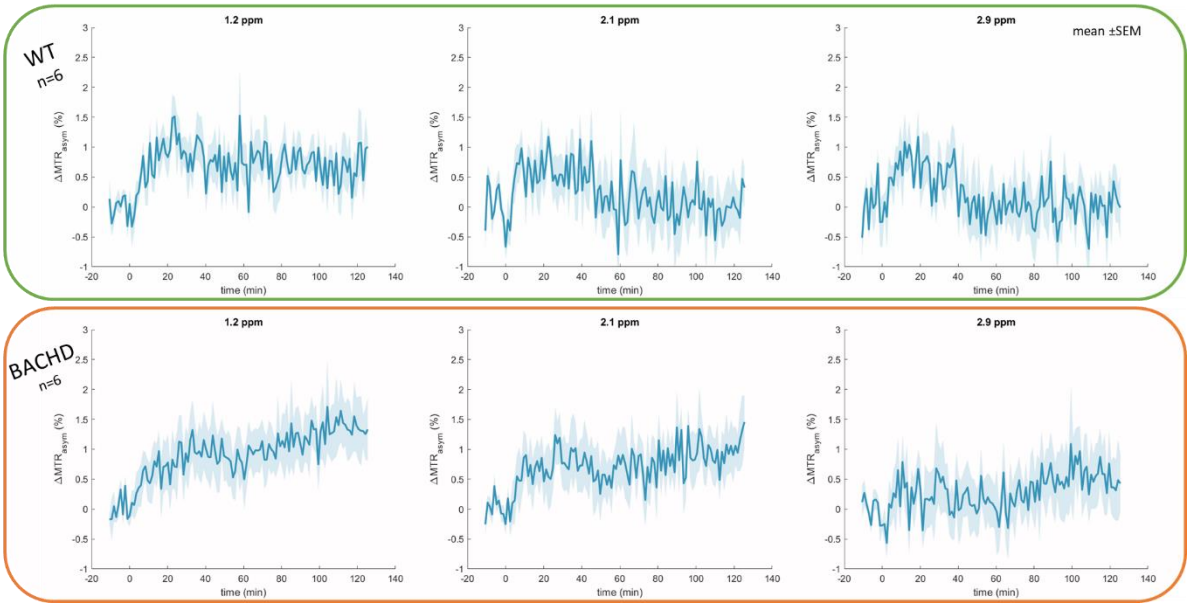


Figure IX-6: Comparaison des rats contrôles et BACHD à 2 mois

Les signaux CEST observés chez les rats sauvages présentent un profil similaire, bien qu'atténué, par rapport à nos expériences menées sur des rats adultes (9 mois) dont les résultats dans le striatum sont présentés au chapitre précédent. Cette atténuation est peut-être le reflet d'un cerveau jeune, encore immature, dont le métabolisme énergétique serait différent d'un cerveau adulte.

De façon surprenante, le signal CEST chez les BACHD augmente rapidement après l'injection et semble atteindre un plateau à 1,2 et 2,1 ppm. En revanche, à 2,9 ppm la variation de signal est moins marquée. Dans le groupe sauvage le signal à 1,2 ppm montre lui aussi une augmentation suivie d'un plateau. Cependant le signal à 2,1 et 2,9 ppm présente un retour au niveau de base 40min après injection.

Ces acquisitions montrent des signaux CEST dont l'allure est différente entre les deux groupes. Cette différence est particulièrement étonnante du fait que les animaux ont seulement 2 mois. Malgré cela, les études faites sur ce modèle animal mettent en évidence des troubles moteurs dès l'âge d'1 mois empirant avec l'âge (Yu-Taeger et al. 2012) ainsi qu'une endurance musculaire en déficit à 2 mois (Manfré et al. 2017). Par ailleurs, à 2 mois une diminution des niveaux de glutamate dans le striatum a été rapportée (**Fig.IX.1**) (Pepin 2018). Cela pourrait signifier que les rats BACHD ont déjà mis en place un métabolisme énergétique différent de celui des rats contrôles.

IX.4.2. … à 4 mois

La figure **IX.7** quant à elle présente les acquisitions CEST faites à 4 mois sur les deux groupes. Les signaux CEST ont cette fois une allure plus proche de celle observée lors d'une étude préliminaire sur

des animaux sains âgés de 9 mois. Ils sont d'ailleurs considérablement différents des signaux CEST du TP 1. Les animaux sauvages présentent une augmentation plus marquée ainsi qu'un retour au niveau de base qui n'était pas observé à 2 mois à 1,2 ppm. Les cinétiques des BACHD présentent elles aussi des caractéristiques proches de celles des rats sauvages. On peut en effet observer un signal une augmentation atteignant une intensité légèrement supérieure à celle des rats sauvages et un retour au niveau de base à 2,1 et 2,9 ppm dans un temps légèrement plus court. A 1,2 ppm cette similitude entre les groupes est moins observable. Cependant, chez les BACHD à 1,2 ppm, contrairement au signal acquis à 2 mois, on constate une diminution du signal après un plateau là où il n'y avait qu'une augmentation constante à 2 mois.

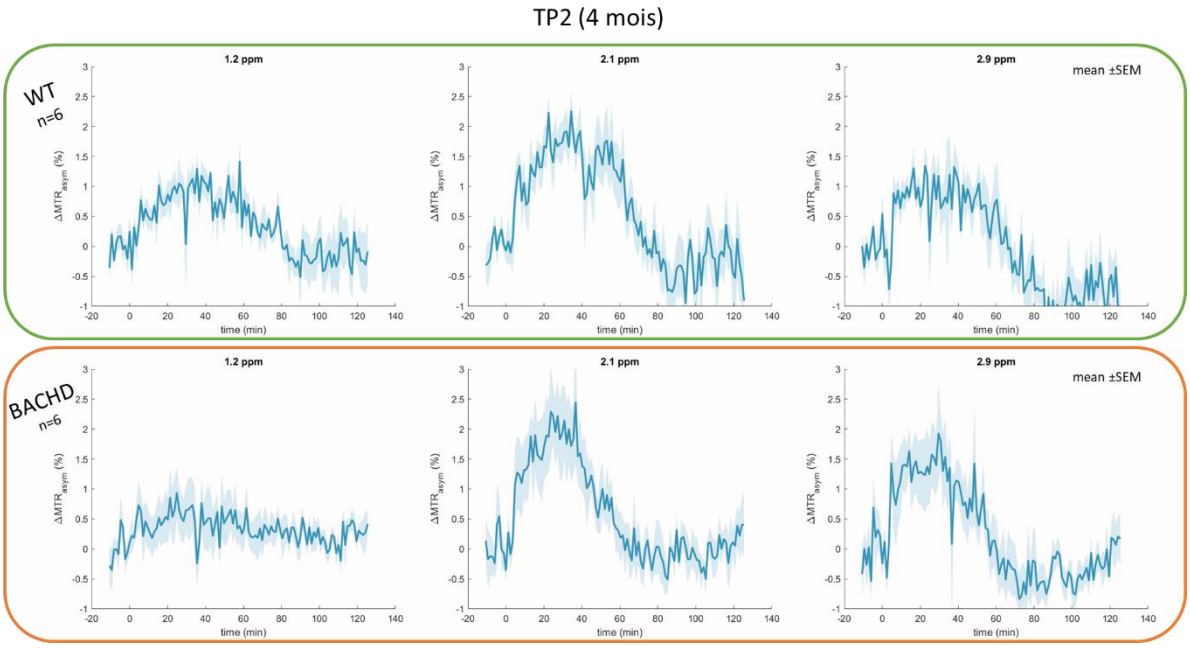


Figure IX-7 : Comparaison des rats contrôles et BACHD à 4 mois

IX.4.3. Différences de la consommation d'énergie entre animaux sains et BACHD

Les cinétiques CEST présentées figures **IX.6** et **IX.7** suggèrent une différence dans l'assimilation et la consommation de 2DG entre ces deux génotypes. En effet, suivant l'hypothèse développée au chapitre précédent, une consommation de 2DG plus importante engendrerait un plateau dont la durée sera supérieure à celle d'une consommation de 2DG plus faible. Les caractéristiques des courbes sont reportées dans le **tableau IX.1**

	$\Delta MTRasym_{max}$ (%)		Fin du plateau (min)	
	WT	BACHD	WT	BACHD
2 mois	1,17 ± 0,17	1,24 ± 0,47	50,00 ± 6,07	n.d.

4 mois	2,23 ± 0,30	2,29 ± 0,76	59,30 ± 3,45	46,88 ± 2,87

Tableau IX-1: Comparaison de l'intensité maximale et de la durée du plateau à 2,1ppm chez les WT et BACHD, à 2 et 4 mois

Bien que les courbes présentent des intensités similaires, la durée moyenne du plateau diffère. Dans l'hypothèse qu'un métabolisme plus important engendre un plateau de l'effet CEST plus long serait vraie, cela indiquerait donc que les BACHD possèdent un métabolisme énergétique plus faible que les rats contrôles, ce qui serait en accord avec la conclusion de l'étude de Jérémy Pépin qui suppose effectivement une altération métabolique.

L'altération du métabolisme du glutamate observé figure **IX.1** est d'ailleurs très intéressante. En effet, on constate dans nos données une différence plus marquée entre les allures des courbes des BACHD et des contrôles à 2 mois, contrairement à 4 mois où elles semblent suivre les mêmes tendances générales. Ainsi, la mise en parallèle des résultats de notre étude et celle de Jérémy Pépin suggère que le métabolisme du glucose et du glutamate sont tous les deux plus fortement impactés négativement à 2 mois qu'à 4 mois chez les BACHD.

Les acquisitions CEST ne permettent cependant pas de déterminer de façon quantitative cette différence de métabolisme. Il aurait en effet été intéressant de comparer nos résultats avec la littérature. Malheureusement les études menées sur l'évolution du métabolisme énergétique au cours de la vie de l'animal ne sont pas assez riches pour que nous puissions nous y référer. L'intervalle de temps entre les deux TP est trop court (2 mois) comparé aux études sur le sujet (Gage, Kelly, et Bjorklund 1984; Smith et al. 1980).

En conclusion de cette étude, le suivi longitudinal des rats BACHD et contrôle a permis de mettre en évidence des différences dans le métabolisme énergétique de ce modèle. Cela montre aussi le potentiel l'imagerie métabolique grâce au contraste glucoCEST qui pourrait ainsi offrir de nouvelles perspectives d'études des maladies neurodégénératives et fournir une alternative à l'imagerie TEP. Certains verrous restent encore à lever, notamment concernant la quantification de la consommation énergétique qui est l'un des biomarqueurs principaux du métabolisme énergétique. Dans cet optique il serait intéressant de modéliser le signal CEST à l'aide des équations de Bloch-McConnell. Cela passe par la modélisation du transport et de la dégradation du glucose, qui font l'objet du **chapitre X**.

Chapitre X : Vers une mesure quantitative du métabolisme cérébral

Si nous avons vu dans les chapitres précédents les applications possibles du contraste glucoCEST à l'étude du métabolisme énergétique, l'imagerie CEST reste cependant limitée à des études relatives de consommation du glucose. Dans ces conditions, l'imagerie CEST, malgré une bonne résolution spatiale, reste limitée dans son application à la caractérisation de modèles animaux. Il serait en effet extrêmement intéressant d'obtenir une information quantitative sur le CMR_{glc} dans les différentes structures cérébrales, comme peut l'offrir la TEP dans le cerveau humain. Plusieurs objectifs sont alors à atteindre afin de pouvoir résoudre ce problème complexe : i) quantifier l'effet CEST grâce à des acquisitions sur fantômes et à la modélisation de l'effet CEST grâce aux équations de Bloch-McConnell (présentées dans le **chapitre IV**) et ii) modéliser le transport du glucose depuis le compartiment vasculaire (dans le cas d'utilisation de glucose exogène) jusqu'aux compartiments extravasculaire/extracellulaire et intracellulaire.

La quantification du signal CEST reste cependant très complexe. L'imagerie CEST ne peut pas s'appuyer sur l'injection d'un radiotraceur dont la compartimentation serait connue comme c'est le cas de la TEP. De plus, le signal CEST acquis *in vivo* comprend également les contributions de métabolites endogènes résonant aux fréquences étudiées et qui ajoutent de ce fait du bruit à la mesure. Néanmoins, surmonter ces difficultés nous permettrait d'atteindre l'objectif final qu'est la cartographie de CRMglc par IRM-CEST.

X.1. DIFFERENTES APPROCHES DE LA QUANTIFICATION

X.1.1. Modélisation des équations de Bloch-McConnell

L'effet CEST est sensible aux concentrations des hydrogènes labiles et aux taux d'échange, et de ce fait aux paramètres qui affectent ces échanges tels que le pH et la température. Cependant, l'effet CEST dépendant également du taux de relaxation, du champ B_0 et plus important encore, des paramètres expérimentaux comme le temps de répétition, le B_1 de la RF, etc…(Zhou et Zijl 2006). Des travaux récents ont démontré que la concentration de l'agent CEST et son taux d'échange peuvent être déterminés simultanément (Sun 2010; Sun et al. 2013). Ces développements amènent lentement vers

une imagerie CEST quantitative, bien que la quantification précise du transfert de saturation CEST *in vivo* reste un défi étant donné la complexité des systèmes biologiques étudiés.

Les interactions entre différents pools de protons en échange sont modélisées par la résolution des équations de Bloch-McConnell. Ceci permet de simuler numériquement les Z-spectra théoriques à partir de pools et de taux d'échanges initiaux. Ainsi, l'ajustement d'un Z-spectrum simulé à un Z-spectrum acquis expérimentalement va permettre d'obtenir les valeurs des paramètres ajustés pour chaque pool tels que sa concentration, son taux d'échange et ses temps de relaxation. Cette approche a par exemple été utilisée dans le cerveau de rat pour comme preuve de concept (Zhang, Wang, Li, et al. 2017).

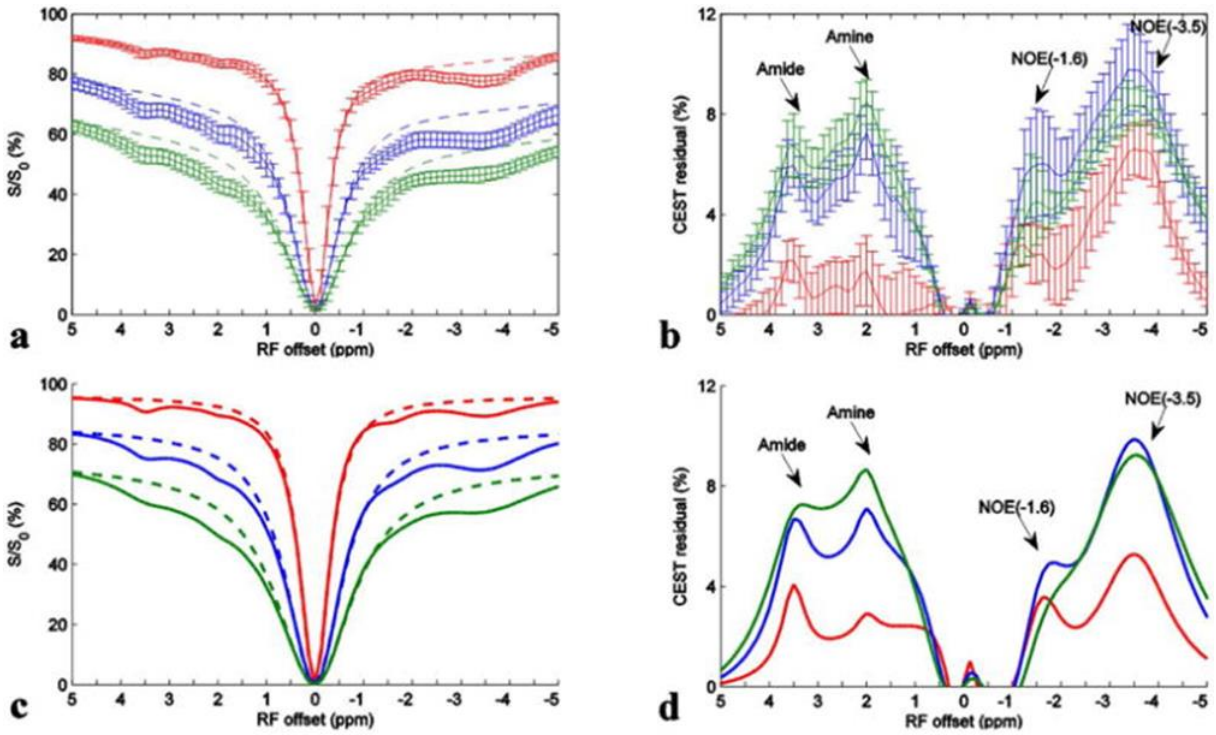


Figure X-1: Zspectra expérimentaux et simulés ainsi que les spectres résiduels associés

Zspectra (a) et spectres résiduels (b) expérimentaux acquis dans le cerveau de 7 rats atteints de glioblastomes. Signal simulé grâce à un modèle à 7 pools : Zspectra (c) et spectres résiduels (d).
Puissance de saturation de 0,5µT (rouge), 1µT (bleu) et 1,5µT (vert). Le modèle utilisé pour l'ajustement aux données est composé de 7 pools, détaillés dans le tableau ci-dessous.

	Eau	Amide	Amine intermédiaire	Amine rapide	NOE(-1.6)	NOE(-3.5)	MTC
f_s	1	0,0015	0,0003	0,005	0,003	0,007	0,1
k_{sw} (s^{-1})	-	50	500	5000	50	50	25
T_1 (s)	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
T_2 (ms)	50	2	10	10	1	0,5	0,015
Δ (ppm)							-2,3

Néanmoins, le manque de temps pour implémenter cette méthode complexe nous a fait nous tourner vers une méthode plus simple, décrite ci-après.

X.1.2. Approche simplifiée

Une approche simple de la quantification du signal CEST peut être envisagée en utilisant les concentrations connues de fantômes comme repères. Cette méthode a été appliquée dans le cerveau de rat par Tu et collaborateurs à 9,4 T (**Fig.X.2**).

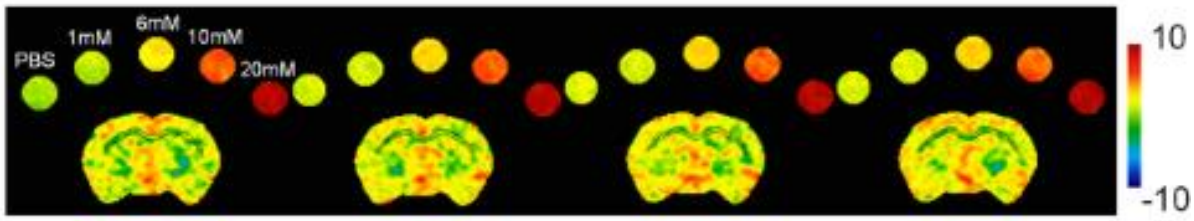


Figure X-2 : Images glucoCEST d'acquisitions continues du cerveau de rat et de fantômes de glucose concentration variable (Tu et al. 2018)

L'acquisition de fantômes de différentes concentrations permet de faire le parallèle entre le MTRasym relevé dans une région d'intérêt avec le MTRasym acquis en fantôme.

Bien que cette méthode soit envisageable, les valeurs de MTRasyms *in vivo* dans nos expériences sont cependant différentes de celles observées en fantôme (**Tableau.X.1**).

	1,2 ppm	2,1 ppm	2,9 ppm
Cortex	2,59 ± 0,64	5,08 ± 0,96	-0,79 ± 0,68
Striatum	2,44 ± 0,06	4,80 ± 0,57	-0,80 ± 0,42
Muscle	-0,55 ± 0,08	3,00 ± 0,16	-0,32 ± 0,17
Fantôme (3 mM)	2,4	0,18	0,44

Tableau X-1: Valeurs des MTRasyms (moy +- SEM) aux fréquences d'intérêt dans les structures étudiées

Ces différences peuvent être expliquées en raison de la contribution des nombreux métabolites présents dans les régions d'intérêt. En effet, le signal CEST étant lié aux échanges d'hydrogènes résonant à une fréquence donnée, de nombreuses molécules peuvent contribuer au signal CEST total. On peut cependant faire l'hypothèse que ces contributions d' « arrière-plan » restent stables pendant l'acquisition du signal lors d'une expérience. Cette hypothèse est sans doute moins vraie entre deux temps de passage. Malgré cela, ce qui nous intéresse c'est le ΔMTRasym exprimant la variation du signal. Ce delta étant proportionnel à la concentration de la molécule injectée on peut proposer d'utiliser une relation entre le ΔMTRasym pour chaque fréquence et le delta de concentration associé. Dans le cas du 2DG par exemple, le signal de référence correspond à une concentration de 2DG nulle car il n'y a pas encore de 2DG injecté. Ainsi la variation du signal par rapport aux acquisitions avant injection représente une variation effective des concentrations de 2DG (dans le cas encore une fois en supposant que les contributions des métabolites endogènes restent constantes).

X.2. MODELISATION DU TRANSPORT DU 2DG JUSQU'AU CERVEAU

X.2.1. Introduction du modèle TEP

La quantification de la consommation de glucose en imagerie TEP repose sur l'utilisation du traceur ^{18}F-FDG. Le ^{18}F-FDG est transporté jusque dans les cellules où il va être métabolisé en ^{18}F-FDG-6-phosphate (^{18}F-FDG6P). C'est sous ces deux formes, dont le ratio évolue en faveur du ^{18}F-FDG6P au cours du temps, que le ^{18}F-FDG contribue au signal TEP. En imagerie TEP, les concentrations cérébrales de ^{18}F-FDG sont calculées à partir des concentrations sanguines à l'aide d'un modèle à 2 compartiments tissulaires (**Fig.X.3**).

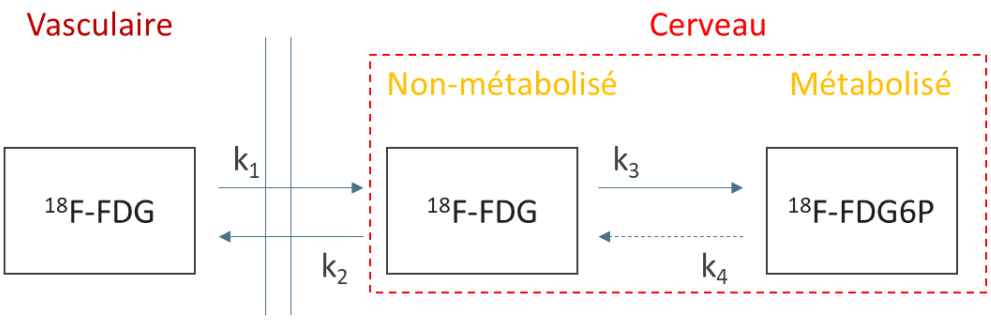


Figure X-3: Modèle TEP

Dans ce modèle à 2 compartiments, les concentrations de ^{18}F-FDG6P sont modélisées à partir des concentrations sanguines du ^{18}F-FDG injecté. Dans la plupart des modèles TEP la déphosphorylation du ^{18}F-FDG6P n'est pas pris en compte dans la résolution des équations.

Dans les expériences TEP, les temps d'observations sont généralement courts, de l'ordre d'une heure. Dans ces conditions la lente déphosphorylation du ^{18}F-FDG6P en ^{18}F-FDG est difficilement observable et mesurable, le k_4 est ainsi considéré comme nul, ce qui revient à dire que l'accumulation du ^{18}F-FDG6P dans la cellule est le contributeur majoritaire du signal TEP.

On peut ainsi écrire les équations différentielles représentant l'évolution des concentrations de ^{18}F-FDG métabolisé (C_1) et non-métabolisé (C_2) au cours du temps, avec C_p la concentration plasmatique :

$$\frac{dC_1(t)}{dt} = k_1 C_p(t) - (k_2 + k_3) C_1(t)$$
$$\frac{dC_2(t)}{dt} = k_3 C_1(t)$$

Le signal TEP peut donc s'écrire en fonction de la concentration plasmatique :

$$TEP(t) = C_1(t) + C_2(t) = \left(\frac{k_1 k_2}{k_2 + k_3} e^{-(k_2+k_3)t} + \frac{k_1 k_3}{k_2 + k_3}\right) \otimes C_p(t)$$

Cependant, cela représente simplement l'assimilation du ^{18}F-FDG et non celle du glucose. Pour quantifier les valeurs de CMRglc à partir des mesures TEP, des hypothèses ont besoin d'être faites. L'une de ces hypothèses est que la concentration du radiotraceur injecté est très faible devant ses différentes constantes de Michaelis (les k_M représentant le transport à travers la BHE, la phosphorylation du ^{18}F-FDG, etc…). Dans ces conditions on peut linéariser la relation entre la vitesse de réaction et la concentration en ^{18}F-FDG. Cette hypothèse n'est plus valide dans le cadre de nos expériences car les concentrations injectées sont bien supérieures au k_M du transport du 2DG (le k_M du GLUT1 est d'environ 6,9 mM pour le 2DG (Burant et Bell 1992), tandis que les concentrations de 2DG injecté sont de l'ordre de 1 M).

X.2.2. Adaptation du modèle aux données CEST

Le modèle compartimental utilisé en TEP ne peut pas être transposé directement au contraste CEST. En effet, l'imagerie TEP considère uniquement les concentrations tissulaires des formes non-métabolisées et métabolisées du ^{18}F-FDG. Or, nous avons vu au travers de notre étude sur l'origine du signal CEST (**chapitre VII**) que le signal CEST provenait des compartiments extravasculaire/extracellulaire et intracellulaire.

Nous avons donc établi un modèle plus complexe qui puisse prendre en compte les contributions des différents compartiments (**Fig.X.4**).

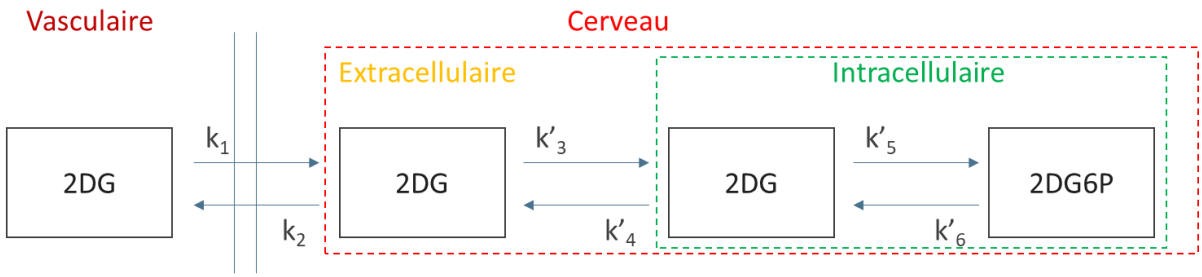


Figure X-4: Proposition de modèle

Ce modèle s'inspire de celui utilisé en TEP, dans lequel a été intégré les compartiments extracellulaire et intracellulaire ainsi que la phosphorylation (et déphosphorylation) du 2DG.

X.3. Des concentrations de 2DG au signal CEST

X.3.1. Fonction d'entrée

Pour exprimer les concentrations dans les différents compartiments nous avons tout d'abord besoin d'une fonction d'entrée qui servira de condition initiale lors de la résolution du modèle. Nous avons donc acquis les valeurs des concentrations plasmatiques dans le cas de l'injection de glucose et de 2DG, comme nous l'avons évoqué dans le **chapitre V**. Il aurait été idéal de pouvoir faire ces mesures sur un animal en train d'être scanné. Cependant, la faible accessibilité de l'animal à l'intérieur de l'IRM et le volume mort élevé (comparativement au volume sanguin total du rat) rendent impossible l'acquisition des concentrations plasmatiques dans ces conditions. Le protocole expérimental a donc été reproduit sur paillasse sur d'autres animaux du même âge. Afin de tirer la meilleure information possible de ces mesures, nous avons soigneusement défini les temps de prélèvement sanguin.

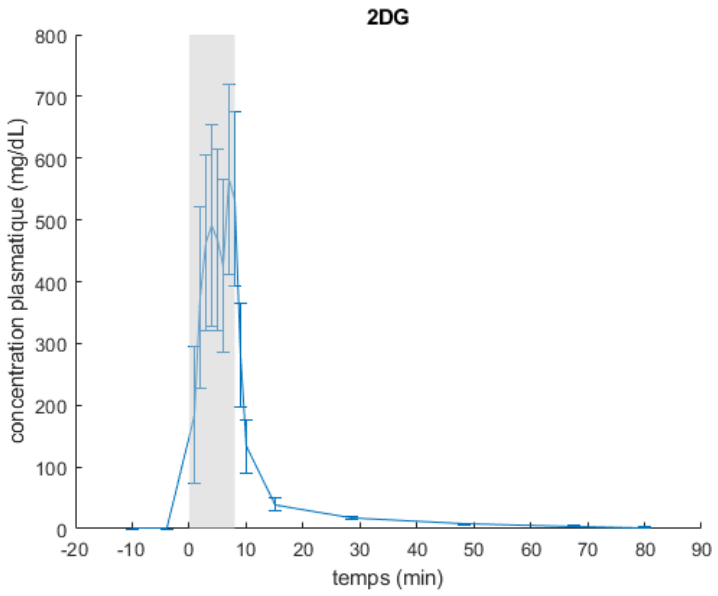


Figure X-5 : Evolution de la concentration plasmatique de 2DG après injection (barre grise) de 2DG (1 g/kg), (n=6 moy±S.E.M.)

X.3.2. Modélisation du transport à travers la barrière hémato-encéphalique

Une fois les courbes de concentration plasmatique obtenues, nous avons désormais besoin de modéliser le transport à travers la BHE. Nous nous sommes pour cela fondés sur les travaux de Duarte et collaborateurs qui présentent en détail le développement d'un tel modèle. Dans ce modèle, la BHE est considérée comme se comportant en une membrane unique séparant la circulation sanguine de l'espace extracellulaire. Cette considération est en accord avec un faible espace de distribution du glucose dans les cellules endothéliales et des transporteurs de glucose largement plus concentrés dans la membrane des cellules cérébrales que dans les membranes de l'endothélium (Barros et al. 2007). Ainsi, la diffusion à travers les membranes des astrocytes et des neurones n'est pas limitante dans le transport du glucose.

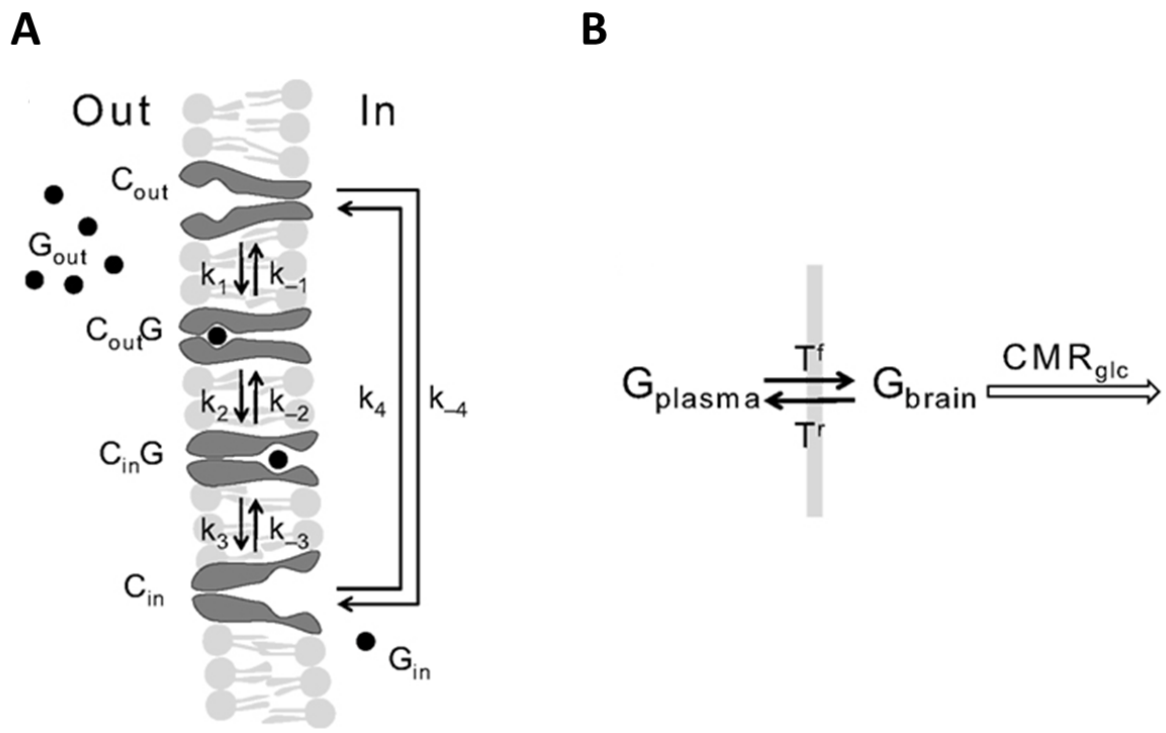


Figure X-6 : Modélisation du transport à travers la barrière hémato-encéphalique, (Duarte et al. 2009)

(A) Schéma des différentes conformations du transporteur du glucose. En l'absence de glucose (G_{out} ou G_{in}), le transporteur peut exister sous deux isomères qui sont prêts à fixer le glucose à l'extérieur (C_{out}) ou à l'intérieur (C_{in}) de la membrane. Lorsqu'il est chargé, le transporteur peut également prendre deux formes isomériques favorisant la libération du glucose vers le côté extérieur ($C_{out}G$) ou intérieur ($C_{in}G$) de la membrane. Les constantes de vitesse k1 et k-3 définissent la liaison du glucose tandis que k-1 et k3 définissent sa dissociation du transporteur. Les constantes de vitesse k2 et k-2 ou k4 et k-4 reflètent l'isomérisation du transporteur chargé ou non. La figure (B) montre le modèle le plus simple de transport bidirectionnel du glucose où T^f et T^r représentent les flux avant et arrière de diffusion du glucose à travers une BHE considérée comme une membrane unique.

En considérant la BHE comme une membrane unique on peut définir la concentration cérébrale de glucose :

$$\frac{dG_{brain}(t)}{dt} = T^f - T^r - CMR_{glc}$$

Où G_{brain} est exprimé en µmol/g et où T^f et T^r représentent les influx et efflux de glucose à travers la BHE. Ils sont exprimés en µmol/g/min de même que le CMR_{glc}.

Malgré l'asymétrie individuelle d'un transporteur, le mécanisme de transport dans sa globalité approche la symétrie. C'est sur cette hypothèse que Duarte et Gruetter ont par la suite formalisé l'expression de G_{brain} en fonction de G_{plasma} (Duarte et Gruetter 2012), que l'on peut écrire :

$$\frac{dG_{brain}(t)}{dt} = \frac{T_{max}\left(G_{plasma}(t) - \frac{G_{brain}(t)}{V_d}\right)}{K_t + \frac{G_{brain}(t)}{V_d} + G_{plasma}(t)\left(1 + \frac{G_{brain}(t)}{V_d K_{ii}}\right)} - CMR_{glc}$$

Où G_{brain} et G_{plasma} sont les concentrations de glucose dans le cerveau (en µmol/g) et dans le plasma (en mM), T_{max} dénote le taux de transport maximal apparent à travers la BHE (µmol/g/min), K_t et K_{ii} représentent, dans le processus réversible de Michaelis-Menten, la constante d'affinité apparente de apparente et la constante d'iso-inhibition apparente (en mM), V_d représente le volume de la distribution physique du glucose dans le cerveau (0.77 mL/g, déterminé par (Lund-Andersen 1979)).

Ainsi, en utilisant les résultats des simulations faites par Duarte et Gruetter, nous avons modélisé le transport du 2DG à travers la BHE, en prenant : $T_{max} = 1$; $CMR_{glc} = 0{,}5$; $K_t = 1{,}5$; $K_{ii} = 50$.

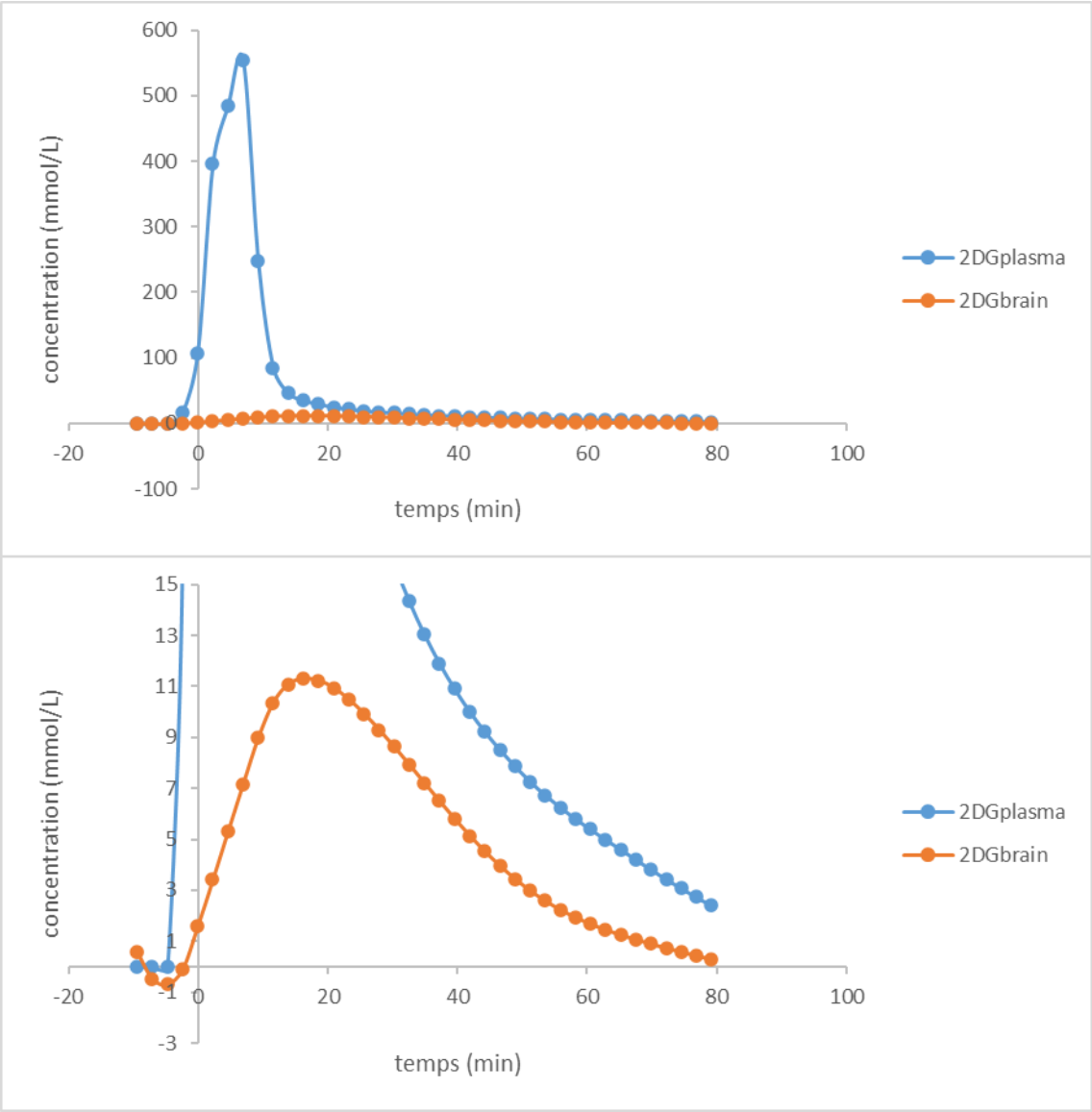


Figure X-7 : Concentrations cérébrales de 2DG modélisées à partir de sa concentration plasmatique Malgré une concentration plasmatique extrêmement élevée pendant l'injection de 2DG, le modèle montre une augmentation de la concentration cérébrale de 2DG atteignant au maximum 11 mM. Cette faible valeur n'est pas surprenante au vu de l'importante homéostasie du cerveau.

Les concentrations cérébrales obtenues par cette modélisation ne semblent pas incompatibles avec le fait que le 2DG cérébral peut atteindre des concentrations similaires ou plus élevées que le K_M de son transporteur (6,9 mM pour le GLUT1).

Avant d'aller plus loin, nous pourrions nous arrêter et regarder le pourcentage d'effet CEST attendu si les concentrations cérébrales du 2DG contribuaient de façon directe au signal CEST. On peut dans ce

cas directement dériver la valeur de l'effet CEST à partir des concentrations modélisées. Les résultas obtenus sont présentés ci-dessous (**Fig.X.8**).

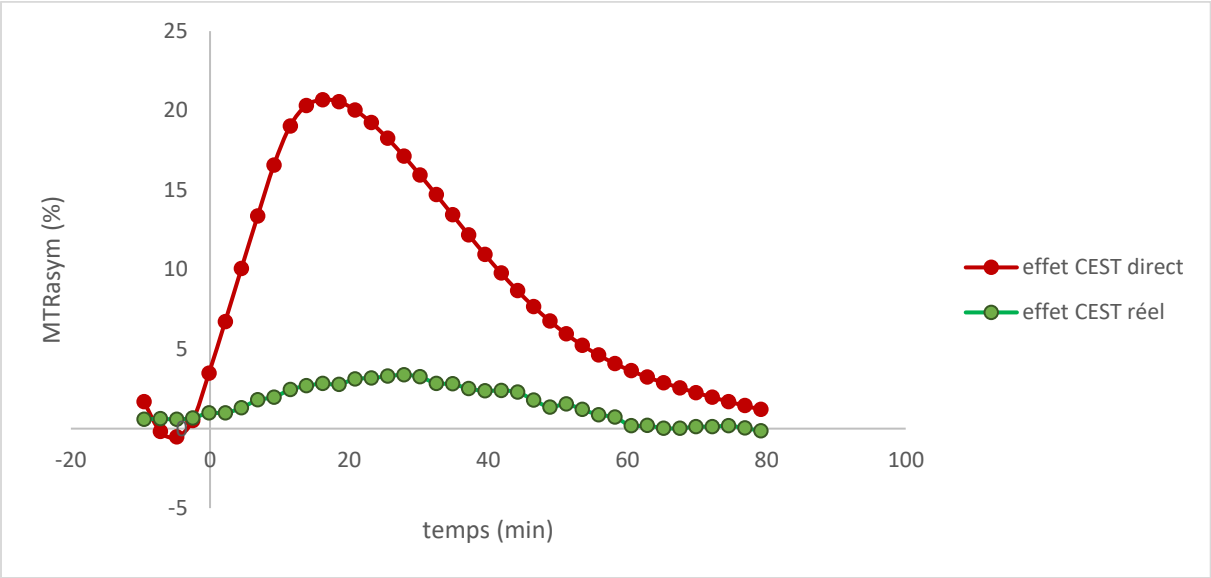


Figure X-8 Dérivation directe de l'effet CEST à partir des concentrations cérébrales.

On remarque ainsi que l'effet CEST attendu dans cette approche devrait être de près de 20 %. Or les variations observées *in vivo* atteignent au maximum environ 2 % d'effet CEST. Cette différence peut être expliquer par plusieurs hypothèses. La contribution des métabolites endogènes pourrait atténuer le signal du 2DG. Ou bien, le fait que la molécule soit dans un compartiment intracellulaire pourrait générer une baisse du signal observé par rapport au signal théorique attendu.

X.3.3. Ajustement sur les données CEST

Nous avons essayé d'ajuster nos données en se basant sur le modèle présenté figure **X.4** en utilisant les concentrations plasmatiques comme fonction d'entrée**.** Cependant, les résultats obtenus ne convergeaient pas, laissant supposer que le modèle était peut-être trop complexe.

Ainsi, nous avons choisi d'utiliser une autre approche. Nous avons donc ajouté un compartiment « CEST » (**Fig.X.9**). Ce compartiment n'a pas de réel sens physique et représente plutôt les contributions d'une partie des concentrations cérébrales au signal CEST.

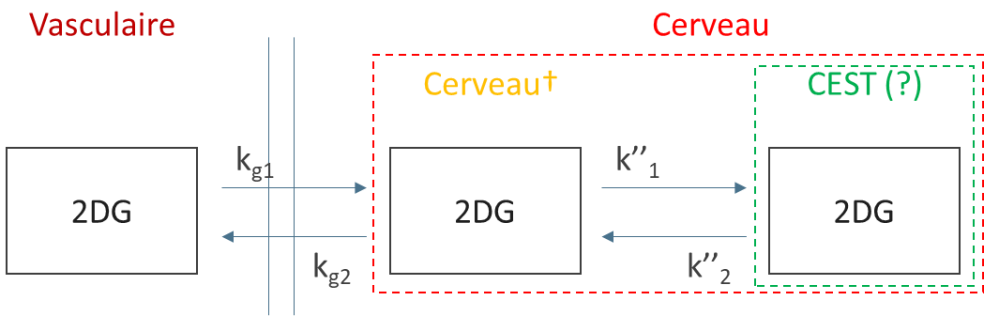


Figure X-9 : Modèle utilisé pour ajuster notre modélisation aux données CEST

† les concentrations cérébrales utilisées sont celles ayant été modélisées à partir de la concentration plasmatique relevée durant nos expériences. Et k_{g1}, k_{g2} les paramètres de transports décrits par Duarte et Gruetter, 2012

A partir de ce modèle, nous avons utilisé les concentrations cérébrales modélisées par les équations de transport de Duarte et Gruetter afin d'ajuster le modèle aux concentrations associées au signal CEST (**Fig.X.10**). Pour cela, nous avons exprimé le signal CEST du 2DG en concentration grâce à la relation linéaire déterminée sur fantôme (voir **chapitre V**) :

$$MTR_{asym}(c) = 0{,}66 + 1{,}77 \times c$$

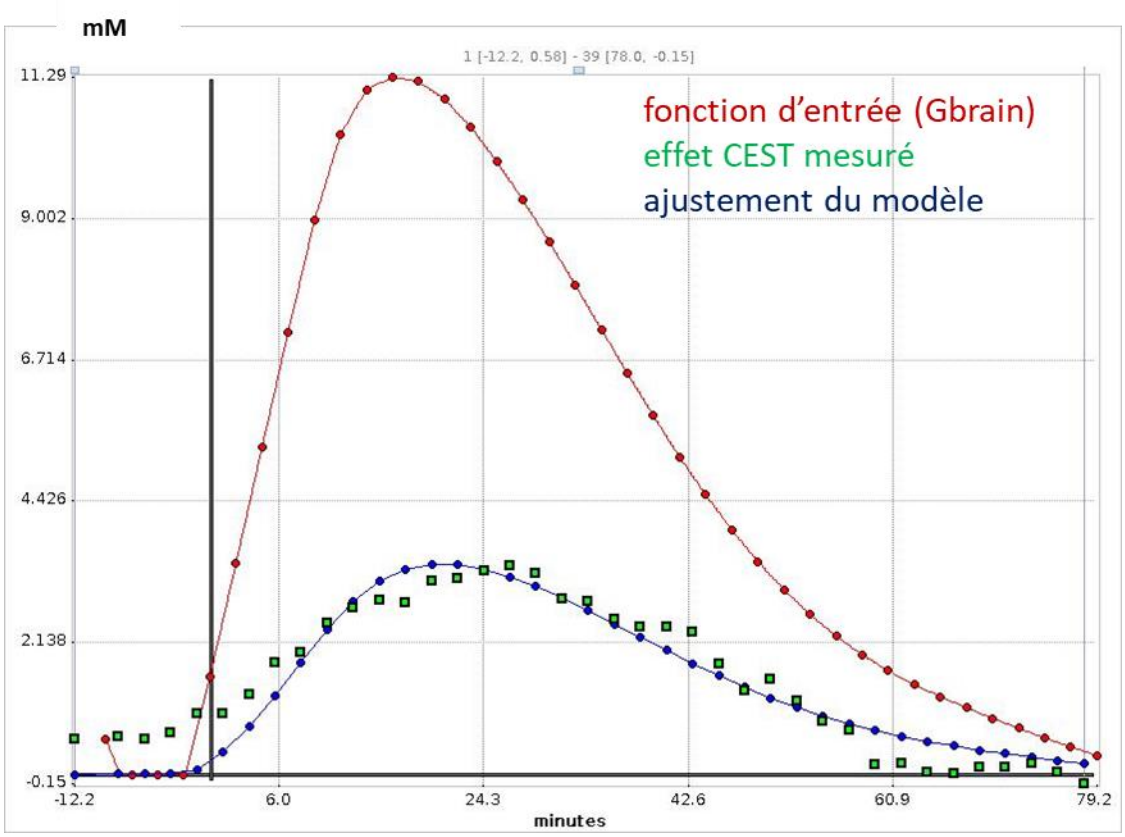


Figure X-10: Ajustement du modèle sur les données expérimentales

Le modèle utilisé pour ajuster les données est un modèle à un compartiment. La fonction utilisée en entrée de ce modèle (en rouge) représente les concentrations cérébrales précédemment modélisées. La courbe verte correspond au signal CEST observé expérimentalement après injection de 2DG. La courbe bleue correspond à l'ajustement du modèle sur les données.

Les paramètres k''_1 et k''_2 ont été déterminé par l'ajustement du modèle et fixés à 0,07 mL.cm^{-3}.min^{-1} et 0,27 min^{-1} respectivement, soit un ratio $\frac{k''_1}{k''_2} = 0{,}27$. Ce ratio indique que le compartiment « Cerveau† » (**Fig.X.9**) est énormément influencé par le compartiment « CEST ». Ceci laisse supposer que le modèle utilisé n'est pas adapté aux conditions de notre étude.

X.4. LIMITES DE LA METHODE

Le premier point à aborder est la dissociation du modèle initial en deux parties. Il aurait été en effet idéal de résoudre un système plus complexe en une seule fois. Cependant la difficulté de la résolution d'un tel système a été un frein à cette approche. La dissociation du modèle utilisé est néanmoins justifiable au vu des constantes de Michaelis pour le transport (k_M=6,9 mM) et la phosphorylation par l'hexokinase (K_M = 50 µM). Les valeurs typiques de k_1 et k_3 estimées en TEP sont respectivement de 0,2 et 0,03 mL.cm^{-3}.min^{-1}. Ainsi, on peut supposer que la vitesse de transport sera grande devant la vitesse de phosphorylation.

Deuxièmement, concernant la conversion du signal CEST en concentration, nous nous sommes placés dans le cas favorable du signal 2DG à 2,1 ppm dans lequel le MTRasym mesuré avant normalisation est cohérent avec les concentrations *in vivo* des métabolites pouvant contribuer au signal CEST. Nous avons ainsi pu utiliser la fonction donnée par la régression linéaire sur fantôme.

Comme évoqué précédemment, les résultats obtenus par cette approche ne sont pas concluants concernant la modélisation du signal CEST à partir de la concentration plasmatique. Il serait donc intéressant de pouvoir modéliser dans sa globalité un système comprenant des compartiments extracellulaire et intracellulaire ainsi que la phosphorylation par l'hexokinase de la molécule étudiée. La résolution d'un tel modèle pourrait apporter de nombreuses informations notamment sur le ratio des contributions extracellulaire et intracellulaire au signal CEST.

X.5. CONCLUSION

Le développement d'un modèle compartimental CEST, inspiré du modèle TEP, nous a permis de déterminer les valeurs des paramètres composants ce modèle grâce à l'ajustement des données modélisées sur nos résultats expérimentaux. Néanmoins, le modèle proposé et sa résolution différenciée ne donnent pas satisfaction quant à la possibilité d'utiliser le modèle pour déterminer le CMRglc par la suite. Nous pouvons proposer plusieurs pistes d'amélioration afin de rendre cela possible.

Les paramètres utilisés dans ce modèle ont été considérés saturables, ainsi nous pourrions reprendre les équations de Duarte et les adapter au second compartiment afin de mieux prendre en compte le transport et la phosphorylation. Enfin, afin de vérifier la validité des hypothèses utilisées nous pourrions mener une expérience dans laquelle nous injecterions du 2DG dans les mêmes conditions (1 g/kg) mélangé à des doses traceuses de ^{18}F-FDG. Ceci permettrait d'étudier de façon approfondie les conditions de saturation de transport et de l'hexokinase.

Une fois le modèle correctement caractérisé et les contributions des espaces extracellulaire et intracellulaire déterminées il paraît possible d'être en mesure d'évaluer le CRMglc à partir d'une injection de 2DG à l'aide bien sûr d'une fonction d'entrée comme la concentration plasmatique en 2DG.

Chapitre XI : Perspectives

Au vu des travaux présentés dans les différents chapitres, nous souhaitons proposer dans les paragraphes suivants quelques perspectives à ce travail de thèse.

XI.1. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

XI.1.1. Anesthésie

Concernant l'anesthésique utilisé au cours de cette thèse, l'isoflurane, son effet avéré sur le métabolisme est un énorme frein à la mesure des variations du métabolisme énergétique liées à l'injection de l'analogue du glucose d'intérêt. Bien que les raisons de ce choix aient été décrites dans ce manuscrit nous pensons qu'il est important de rappeler ici ce détail omniprésent dans nos études. En effet, il induit nécessairement une variabilité inter-individuelle due à des réponses physiologiques qui varient selon les animaux. Bien que nous nous soyons efforcés de maintenir un niveau d'isoflurane uniforme entre les animaux, un même niveau d'anesthésie n'engendre pas forcément un même rythme respiratoire chez tous les animaux. On préfèrera dans ce cas un ajustement du niveau d'anesthésie, en essayant néanmoins de rester au plus proche de la valeur d'isoflurane choisie dans le protocole expérimental. Un moyen de surmonter cette difficulté serait l'utilisation d'une ventilation mécanique sur tous les animaux afin de garantir un rythme respiratoire similaire. Bien que la même réflexion soit valable concernant le rythme respiratoire, utiliser un anesthésique plus léger, et compatible avec l'imagerie CEST, dans de futures études serait une valeur ajoutée conséquente. Pouvoir imager le cerveau chez l'animal vigile, comme c'est le cas dans certaines expériences TEP précliniques, serait évidemment idéal.

Dans le cadre de l'anesthésie à l'isoflurane, l'anesthésie est induite avec de fortes concentrations d'isoflurane avant d'être diminuée une fois l'animal stabilisé. Nous conseillons cependant, dans la mesure du possible, de prévoir un temps d'adaptation à l'anesthésie suffisant pour que le rythme respiratoire soit stable après le placement de l'animal au centre de l'aimant. En effet, l'acquisition du signal avant injection est primordiale dans nos études puisque nous nous comparons à celui-ci tout au long des acquisitions de la cinétique. L'anesthésie de l'animal doit donc être particulièrement stabilisée pour que nos mesures ne reflètent pas l'effet de l'anesthésie mais bien celui du métabolisme.

XI.1.2. Température

La température corporelle de l'animal doit également être contrôlée afin que ses variations impactent au minimum le métabolisme cérébral. L'utilisation d'un système de chauffage thermorégulé est donc essentiel, notamment dans le cadre de nos expériences dans lesquelles l'animal reste endormi pendant plus de 2h.

XI.1.3. Diminution de la dose injectée

Dans nos études nous avons injecté des quantités importantes de glucose ou d'analogues (1 g/kg) allant bien au-delà de la physiologie normale de l'animal. De telles doses peuvent perturber le fonctionnement normal du système biologique. La mesure CEST dans ces conditions ne reflète donc pas totalement le métabolisme énergétique basal. Il serait intéressant de diminuer cette dose afin de pouvoir engendrer une réponse de l'organisme dans des conditions physiologiques. L'injection d'une dose plus faible (0,5 g/kg) est visible en CEST bien que l'effet observé soit moins intense. Optimiser la quantité injectée est un axe d'amélioration à envisager si l'on souhaite étudier le métabolisme énergétique dans des conditions normales. Des études sur la sensibilité du contraste CEST en fonction des doses injectées semblent donc pertinentes.

XI.2. CONDITIONS D'HEBERGEMENT DES ANIMAUX ET EXPERIMENTATION ANIMALE

Les conditions d'hébergement et le bien-être animal sont des facteurs à ne pas négliger lors d'études précliniques. En effet, ces facteurs peuvent énormément impacter les observations faites par l'expérimentateur. Afin de que les animaux soient dans les meilleures conditions possibles il est nécessaire de respecter les normes en vigueur quant à l'hébergement et d'appliquer au mieux le principe des 3R (remplacement, raffinement, réduction). Le bien-être des animaux doit aussi être pris en compte et passe par un hébergement adapté à la nature des animaux utilisés.

Au laboratoire, les animaleries suivent donc un cycle d'éclairage jour/nuit reflétant les conditions naturelles et les rats utilisés sont hébergés dans le respect de leur nature grégaire dans un espace minimal adapté à leur taille. Les cages sont également enrichies afin de stimuler au mieux les animaux.

Plusieurs points sont à considérer dans l'expérimentation animale. Le cycle circadien des rats peut jouer un rôle dans l'étude du métabolisme. En effet, selon l'heure de la journée à laquelle un animal est examiné, son métabolisme peut varier. Afin de limiter le biais que peut apporter ce facteur dans

les résultats, l'expérimentateur prêtera une attention particulière à alterner les heures d'acquisitions des animaux des différents cohortes d'intérêt.

Par ailleurs, les conditions d'alimentation des animaux peuvent jouer un rôle dans l'étude du métabolisme. Ces conditions diffèrent de l'environnement naturelle dans lesquelles les animaux évolueraient. Notamment, l'accès à la nourriture en animalerie est grandement facilité par rapport aux conditions éthologiques. Bien que nous n'ayons pas remarqué dans nos expériences de différences entre les poids d'animaux hébergés dans une même cage, ce paramètre ne doit pas être écarté. De plus, l'activité limitée des rats comparée à leurs apports énergétiques a mené à une prise de poids problématique pour leur passage dans l'antenne volumique (dans le cas du suivi longitudinal WT/BACHD). Leur mise au régime a donc été nécessaire. Afin de limiter les répercussions possibles sur les résultats de notre étude, tous les animaux des cohortes étudiées ont été mis au régime en même temps et de façon progressive. Cependant, cette mise au régime peut tout de même avoir un effet sur le métabolisme des animaux. Nous conseillons donc aux personnes souhaitant suivre longitudinalement des animaux dont la prise de poids serait problématique, d'instaurer un régime alimentaire du début à la fin de l'étude chez tous les animaux inclus dans l'étude.

Dernièrement, des points limites sont à prévoir à partir desquels les animaux affectés sont exclus de l'étude. La souche de rat utilisée dans nos études est sujette au développement de tumeurs de façon incontrôlée. Ce développement de tumeur était donc pour nous le point limite que nous nous étions fixés. En effet, le métabolisme énergétique est particulièrement affecté par la consommation élevée de glucose dans la tumeur. Les points limites doivent être déterminés dès la planification d'une étude.

XI.3. ACQUISITION DU SIGNAL CEST

XI.3.1. Séquences RMN et IRM

L'utilisation de la séquence de spectroscopie CEST a été prédominante dès son développement. En effet, si son objectif premier était de permettre de répondre à la question de l'origine compartimentale du signal CEST, elle s'est avérée particulièrement utile grâce à son excellente résolution temporelle pour suivre le métabolisme énergétique d'abord dans les différentes structures cérébrales puis dans le suivi longitudinal. En contrepartie la résolution spatiale doit être grandement sacrifiée. Dans les développements futurs de la méthode, une séquence d'imagerie CEST devrait être privilégiée afin de bénéficier de son excellente résolution spatiale pour explorer le métabolisme du cerveau dans un champ de vue bien plus grand que celui offert par la séquence spectroscopique. Une telle approche

permettrait de tirer pleinement parti du contraste CEST en rendant possible l'analyse fine du métabolisme dans les structures cérébrales.

XI.3.2. Paramètres d'acquisition

Les paramètres d'acquisition utilisés durant cette thèse ont été déterminés sur des fantômes. Or, des études récentes d'optimisation suggèrent que nos paramètres ne sont peut-être pas les plus pertinents pour des acquisitions *in vivo*. Dans la perspective de poursuite de l'optimisation de l'imagerie CEST, il serait intéressant d'acquérir le signal CEST en utilisant les valeurs des paramètres proposés dans la littérature. Ceci n'a en effet pas été testé au cours de cette thèse car nous avions déjà sélectionné nos paramètres de façon empirique et étions déjà engagés dans nos différentes études.

XI.4. INTERET DE LA METHODE

XI.4.1. En préclinique

Le développement de l'imagerie CEST chez le rat devrait être facilement transposable chez la souris. Certaines limitations sont cependant à soulever. Le cerveau de souris étant bien plus petit que celui du rat, la résolution spatiale utilisée devient un point critique de la transposition de la méthode. En effet, il est nécessaire d'avoir une résolution spatiale suffisante pour pouvoir distinguer les structures cérébrales si l'on souhaite utiliser cette méthode pour étudier le métabolisme énergétique dans des modèles murins. Pour cela, l'utilisation d'une antenne cryogénique haute performance est indispensable afin d'améliorer le rapport signal sur bruit. L'antenne cryogénique peut ainsi améliorer le rapport signal sur bruit d'un facteur 3 par rapport à notre meilleure configuration d'antennes souris à température ambiante. Cependant, cette antenne est une antenne surfacique utilisée en réception et en transmission. Les études voulant utiliser ce type d'antenne prêteront donc une attention toute particulière à l'homogénéité du champ B_1, essentielle aux mesures CEST.

L'application de l'imagerie CEST sur des modèles murins ouvre tout un champ de recherche et de caractérisation du métabolisme énergétique *in vivo*, particulièrement pertinent dans les maladies neurodégénératives. En effet, de nombreux modèles restent à caractériser de façon longitudinale afin de mieux comprendre les processus mis en jeu dans l'altération du métabolisme énergétique.

XI.4.2. Vers une application clinique

L'imagerie CEST a également un avenir dans le diagnostic clinique des maladies neurodégénératives, néanmoins sa translation en clinique doit encore surmonter de nombreux défis. Rappelons que la

condition pour réussir à imager l'effet CEST est que le taux d'échange de la molécule d'intérêt soit inférieur au déplacement chimique de cet agent par rapport à l'eau libre. Le déplacement chimique étant proportionnel au champ B_0, l'application de la méthode sur un champ clinique (~3 T) n'est pas favorable. Ainsi, ajouté aux mouvements du patient et aux effets de l'hétérogénéité de B_1 et de B_0, le contraste CEST reste à ce jour difficile à détecter (Kim et al. 2019). Le renouvellement du parc des IRMs cliniques par des IRMs à champ plus élevé (4,7 – 7 T) laisse tout de même espérer que la translation de la méthode sera possible.

XI.5. APPROCHE QUANTITATIVE DE LA MESURE DU CRMGLC

La mesure quantitative du CMR_{glc} par IRM-CEST représente à nos yeux une méthode d'avenir prometteuse pour l'évaluation de modèles de maladies neurodégénératives. Ainsi, bien que n'ayant pu mettre au point un modèle complet du signal CEST, nous pensons qu'il est un pilier essentiel au développement de l'imagerie CEST et que cet axe de recherche sera approfondi dans de futures études. Quelques pistes d'améliorations peuvent être discutées ici.

L'utilisation de la modélisation grâce aux équations de Bloch-McConnell afin d'obtenir une valeur quantitative de la concentration de l'agent CEST est l'une des clés de l'imagerie CEST quantitative. Cette méthode, possible grâce aux modèles permettant de prendre en compte les contributions des différents pools, requiert néanmoins des acquisitions supplémentaires afin de permettre l'ajustement du modèle aux données expérimentales. Ces acquisitions, telles que des cartographies T_1 ou T_2 ou encore la variation du B_1 ou du t_{sat}, occupent cependant du temps machine. Dans l'hypothèse où cette approche est utilisée, un compromis sera donc à trouver entre temps d'acquisition et pertinence de l'information biologique obtenue.

Enfin, le développement de la modélisation du transport et de la consommation du glucose ou d'un analogue devrait également être poursuivi afin de pouvoir au mieux comprendre les contributions compartimentales du signal CEST.

Conclusion générale

Des preuves convaincantes indiquent que l'altération du métabolisme énergétique jouerait un rôle clé dans plusieurs maladies neurodégénératives. Il serait donc intéressant d'étudier l'évolution du métabolisme énergétique dans un modèle animal afin de mieux comprendre le développement de la maladie et, par la suite, mieux la traiter. La tomographie par émission de positons, examen de référence pour évaluer le taux métabolique cérébral du glucose, reste un outil souffrant d'un manque de résolution spatiale, limitant son application dans les modèles rongeurs, en particulier murins. Pour combler ce manque, nous avons proposé d'utiliser une méthode IRM innovante, l'imagerie CEST du glucose, afin d'étudier avec une bonne résolution spatiale le métabolisme énergétique chez le rat et la souris. L'objectif général de ce travail de thèse a donc été d'optimiser, caractériser et évaluer le potentiel de l'imagerie glucoCEST pour l'investigation du métabolisme énergétique cérébral *in vivo*.

Au cours de la première étape de ce travail, la détermination et l'optimisation de la séquence CEST existante au laboratoire a été menée sur fantôme. Ce travail a permis de déterminer expérimentalement les paramètres essentiels que sont l'intensité de la saturation radiofréquence (B_1), la durée de cette saturation (t_{sat}) ainsi que les fréquences de saturation (δ_{sat}) permettant une sensibilité et spécificité maximales du glucose. Le choix de ces paramètres est en effet crucial pour pouvoir imager spécifiquement le glucose dans des conditions *in vivo* avec une bonne sensibilité. Une fois ce travail effectué, la mise au point de la méthode *in vivo* a fait l'objet de nombreux ajustements. Malgré une volonté de se tourner vers un anesthésique avec l'impact le plus faible possible sur le métabolisme énergétique, nous n'avons malheureusement pas pu aboutir à un autre anesthésique que l'isoflurane, connu pour engendrer une diminution conséquente du niveau du métabolisme énergétique.

La deuxième étape de ce travail a consisté à caractériser l'origine compartimentale du signal glucoCEST *in vivo*. En effet, il s'agit d'une question primordiale à laquelle il est impératif de répondre avant de pouvoir utiliser l'imagerie CEST comme outil de cartographie du CMR_{glc}. Nous avons pour cela choisi d'utiliser différents analogues du glucose dont le métabolisme diffère, permettant ainsi de compartimenter l'origine du signal. Nous avons donc pu montrer i) grâce au L-glucose que l'espace vasculaire ne contribuait pas au signal CEST, ii) grâce au 2-déoxy-D-glucose et au 3-O-méthyl-D-glucose que les espaces extracellulaire et intracellulaire contribuaient au signal. Cependant, nous n'avons pas pu déterminer précisément les valeurs de ces contributions. Malgré l'utilisation d'une séquence CEST pondérée en diffusion apportant une discrimination entre ces deux compartiments, la sensibilité de la mesure ne nous a pas permis de quantifier leurs contributions. Contrairement à nos attentes nous n'avons pas pu complètement caractériser l'origine compartimentale du signal. Néanmoins l'apport

de notre travail est suffisant pour envisager l'application de l'imagerie CEST à l'étude du métabolisme énergétique.

Grâce au travail effectué, nous avons pu évaluer notre méthode comme outil de suivi du métabolisme. Cette évaluation a consisté en l'étude de structures cérébrales possédant une consommation de glucose différente. En comparant leurs cinétiques CEST nous avons mis en évidence la capacité de notre méthode à discriminer les différences métaboliques de ces structures. Bien que ne soyons pas en mesure d'expliquer pleinement les variations observées, celles-ci reflètent sans aucun doute les différences de transport et de consommation entre ces structures. Afin de valider cette hypothèse nous avons également étudié le tissu musculaire dont on sait que le métabolisme diffère grandement du métabolisme cérébral. Ainsi, nous avons confirmé que la méthode CEST précédemment développée est bien en mesure de suivre et de comparer de façon relative le métabolisme énergétique entre différentes structures.

Fort de ces résultats, nous avons mis en place un suivi longitudinal entre des rats « sauvages » et un modèle de la maladie de Huntington afin d'étudier l'évolution de leur métabolisme énergétique au cours du temps. En effet, il a été montré dans les travaux du précédent doctorant de l'équipe que le métabolisme du glutamate et du glucose diffère dans le modèle BACHD. L'un des objectifs de cette étude était donc d'étudier la mise en place des altérations métaboliques liées à la maladie dans le modèle BACHD. Nous avons ainsi comparé les cinétiques acquises à 2 et 4 mois entre les groupes. En se fondant sur les hypothèses nées des précédentes caractérisations des cinétiques, nous avons pu mettre en évidence la plus faible consommation de glucose dans le modèle BACHD, étant d'ailleurs corrélée avec la variation des niveaux de glutamate décrite dans l'étude de Jérémy Pépin.

Enfin, dans un dernier temps, nous avons voulu tendre vers une mesure quantitative du métabolisme cérébral. Nous avons pour cela proposé un modèle compartimental CEST, inspiré du modèle TEP. Des expériences complémentaires ont été effectuées afin d'obtenir les concentrations plasmatiques de 2DG injectées qui ont servi à générer une fonction d'entrée pour la résolution du modèle CEST. La résolution du modèle et son ajustement aux données expérimentales ne sont malheureusement pas optimales et ne permettent pas à ce jour la transposition du modèle à de futures études de cartographie du CMR_{glc} en CEST.

Nous espérons que l'ensemble des résultats présentés dans cette thèse pourra fournir au lecteur une vision large des possibilités qu'offre le développement de l'IRM-CEST. Enfin, nous espérons également que les études effectuées au cours de cette thèse pourront permettre une meilleure compréhension du phénomène CEST et contribuer au développement de cette méthode innovante.

Bibliographie

Agosta, Federica, Roberto Gatti, Elisabetta Sarasso, Maria Volonté, Elisa Canu, Alessandro Meani, Lidia Sarro, Massimilano Copetti, Erik Cattrysse, Eric Kerckhofs, Giancarlo Comi, Andrea Falini, et Massimo Filippi. 2017. « Brain plasticity in Parkinson's disease with freezing of gait induced by action observation training ». *Journal of Neurology* 264. doi: 10.1007/s00415-016-8309-7.

Albrecht, Franziska, Tommaso Ballarini, Jane Neumann, et Matthias L. Schroeter. 2018. « FDG-PET hypometabolism is more sensitive than MRI atrophy in Parkinson's disease: A whole-brain multimodal imaging meta-analysis ». *NeuroImage : Clinical* 21:101594. doi: 10.1016/j.nicl.2018.11.004.

Almeida, Angeles, Salvador Moncada, et Juan P. Bolaños. 2004. « Nitric Oxide Switches on Glycolysis through the AMP Protein Kinase and 6-Phosphofructo-2-Kinase Pathway ». *Nature Cell Biology* 6(1):45-51. doi: 10.1038/ncb1080.

An, Yang, Vijay R. Varma, Sudhir Varma, Ramon Casanova, Eric Dammer, Olga Pletnikova, Chee W. Chia, Josephine M. Egan, Luigi Ferrucci, Juan Troncoso, Allan I. Levey, James Lah, Nicholas T. Seyfried, Cristina Legido-Quigley, Richard O'Brien, et Madhav Thambisetty. 2018. « Evidence for Brain Glucose Dysregulation in Alzheimer's Disease ». *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association* 14(3):318-29. doi: 10.1016/j.jalz.2017.09.011.

Anand, B. K., G. S. Chhina, K. N. Sharma, S. Dua, et B. Singh. 1964. « ACTIVITY OF SINGLE NEURONS IN THE HYPOTHALAMIC FEEDING CENTERS: EFFECT OF GLUCOSE ». *The American Journal of Physiology* 207:1146-54. doi: 10.1152/ajplegacy.1964.207.5.1146.

Anastasiou, Ioanna A., Ioanna Eleftheriadou, Anastasios Tentolouris, Iordanis Mourouzis, Constantinos Pantos, et Nikolaos Tentolouris. 2021. « The Use of L-Glucose in Cancer Diagnosis: Results from In Vitro and In Vivo Studies ». *Current Medicinal Chemistry* 28(30):6110-22. doi: 10.2174/0929867328666210311112240.

Anon. 2001. « Biomarkers and Surrogate Endpoints: Preferred Definitions and Conceptual Framework ». *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 69(3):89-95. doi: 10.1067/mcp.2001.113989.

Anon. s. d. « Biomarkers and risk assessment: concepts and principles (EHC 155, 1993) ». Consulté 26 juillet 2021 (http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc155.htm).

Anon. s. d. « Glycogen: The forgotten cerebral energy store - Gruetter - 2003 - Journal of Neuroscience Research - Wiley Online Library ». Consulté 23 juin 2021 (https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jnr.10785).

Anon. s. d. « Maladies neurodégénératives ». Consulté 15 juillet 2021 (https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-neurodegeneratives).

Ansell, Ricky, Katarina Granath, Stefan Hohmann, Johan M. Thevelein, et Lennart Adler. 1997. « The two isoenzymes for yeast NAD+-dependent glycerol 3-phosphate dehydrogenase encoded by GPD1 and GPD2 have distinct roles in osmoadaptation and redox regulation ». *The EMBO Journal* 16(9):2179-87. doi: 10.1093/emboj/16.9.2179.

Argentati, Chiara, Ilaria Tortorella, Martina Bazzucchi, Carla Emiliani, Francesco Morena, et Sabata Martino. 2020. « The Other Side of Alzheimer's Disease: Influence of Metabolic Disorder Features for Novel Diagnostic Biomarkers ». *Journal of Personalized Medicine* 10(3):115. doi: 10.3390/jpm10030115.

Artemov, D., Z. M. Bhujwalla, U. Pilatus, et J. D. Glickson. 1998. « Two-Compartment Model for Determination of Glycolytic Rates of Solid Tumors by in Vivo 13C NMR Spectroscopy ». *NMR in Biomedicine* 11(8):395-404. doi: 10.1002/(sici)1099-1492(199812)11:8<395::aid-nbm536>3.0.co;2-r.

Badar-Goffer, R. S., H. S. Bachelard, et P. G. Morris. 1990. « Cerebral metabolism of acetate and glucose studied by 13C-n.m.r. spectroscopy. A technique for investigating metabolic compartmentation in the brain ». *Biochemical Journal* 266(1):133-39. doi: 10.1042/bj2660133.

Bai, Xue, Richard A. E. Edden, Fei Gao, Guangbin Wang, Lebin Wu, Bin Zhao, Minzhong Wang, Queenie Chan, Weibo Chen, et Peter B. Barker. 2015. « Decreased γ-Aminobutyric Acid Levels in the Parietal Region of Patients with Alzheimer's Disease ». *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 41(5):1326-31. doi: 10.1002/jmri.24665.

Baik, KyoungWon, Jungho Cha, Jee Hyun Ham, Gwang-Min Baek, Mun Kyung Sunwoo, Jin Yong Hong, Na-Young Shin, Jae Seung Kim, Jong-Min Lee, Seung-Koo Lee, Young Ho Sohn, et Phil Hyu Lee. 2014. « Dopaminergic Modulation of Resting-State Functional Connectivity in de Novo Patients with Parkinson's Disease ». *Human Brain Mapping* 35(11):5431-41. doi: 10.1002/hbm.22561.

Bak, Lasse K., et Anne B. Walls. 2018. « CrossTalk Opposing View: Lack of Evidence Supporting an Astrocyte-to-Neuron Lactate Shuttle Coupling Neuronal Activity to Glucose Utilisation in the Brain ». *The Journal of Physiology* 596(3):351-53. doi: 10.1113/JP274945.

Baker, Laura D., Donna J. Cross, Satoshi Minoshima, Dana Belongia, G. Stennis Watson, et Suzanne Craft. 2011. « Insulin Resistance and Alzheimer-like Reductions in Regional Cerebral Glucose Metabolism for Cognitively Normal Adults With Prediabetes or Early Type 2 Diabetes ». *Archives of Neurology* 68(1):51-57. doi: 10.1001/archneurol.2010.225.

Barros, L. F., Carla X. Bittner, Anitsi Loaiza, et Omar H. Porras. 2007. « A Quantitative Overview of Glucose Dynamics in the Gliovascular Unit ». *Glia* 55(12):1222-37. doi: 10.1002/glia.20375.

Barros, L. F., et B. Weber. 2018. « CrossTalk Proposal: An Important Astrocyte-to-Neuron Lactate Shuttle Couples Neuronal Activity to Glucose Utilisation in the Brain ». *The Journal of Physiology* 596(3):347-50. doi: 10.1113/JP274944.

Barros, L. Felipe, Omar H. Porras, et Carla X. Bittner. 2005. « Why Glucose Transport in the Brain Matters for PET ». *Trends in Neurosciences* 28(3):117-19. doi: 10.1016/j.tins.2005.01.002.

Béclère, Antoine. 1899. *Les rayons de Röntgen et le diagnostic de la tuberculose*. J.-B. Baillière et fils.

Beer, Meinrad, Tobias Seyfarth, Jörn Sandstede, Wilfried Landschütz, Claudia Lipke, Herbert Köstler, Markus von Kienlin, Kerstin Harre, Dietbert Hahn, et Stefan Neubauer. 2002. « Absolute Concentrations of High-Energy Phosphate Metabolites in Normal, Hypertrophied, and Failing Human Myocardium Measured Noninvasively with 31P-SLOOP Magnetic Resonance Spectroscopy ». *Journal of the American College of Cardiology* 40(7):1267-74. doi: 10.1016/S0735-1097(02)02160-5.

Bélanger, Mireille, Igor Allaman, et Pierre J. Magistretti. 2011. « Brain Energy Metabolism: Focus on Astrocyte-Neuron Metabolic Cooperation ». *Cell Metabolism* 14(6):724-38. doi: 10.1016/j.cmet.2011.08.016.

Beneduce, Carmela, Alberto Cuocolo, Giada Gallo, et Salvatore De Rosa. 2020. « Brain PET Scan: Study Protocol of Dementia ». *Journal of Advanced Health Care* Volume 2(Online).

Bengel, Frank M., Takahiro Higuchi, Mehrbod S. Javadi, et Riikka Lautamäki. 2009. « Cardiac Positron Emission Tomography ». *Journal of the American College of Cardiology* 54(1):1-15. doi: 10.1016/j.jacc.2009.02.065.

Berkich, D. a., M. s. Ola, J. Cole, A. j. Sweatt, S. m. Hutson, et K. f. LaNoue. 2007. « Mitochondrial Transport Proteins of the Brain ». *Journal of Neuroscience Research* 85(15):3367-77. doi: 10.1002/jnr.21500.

Bernard, Claude. 1855. *Leçons de physiologie expérimentale appliquée à la médecine: faites au Collège de France*. J.B. Baillière et fils.

Bernier, Louis-Philippe, Elisa M. York, Alireza Kamyabi, Hyun B. Choi, Nicholas L. Weilinger, et Brian A. MacVicar. 2020. « Microglial Metabolic Flexibility Supports Immune Surveillance of the Brain Parenchyma ». *Nature Communications* 11(1):1559. doi: 10.1038/s41467-020-15267-z.

Bernstein, Matt A., Kevin F. King, et Xiaohong Joe Zhou. 2004. *Handbook of MRI Pulse Sequences*. Elsevier.

Berti, V., C. Polito, P. Borghammer, S. Ramat, L. Mosconi, E. Vanzi, M. T. De Cristofaro, M. De Leon, S. Sorbi, et A. Pupi. 2012. « Alternative Normalization Methods Demonstrate Widespread Cortical Hypometabolism in Untreated de Novo Parkinson's Disease ». *The Quarterly Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging: Official Publication of the Italian Association of Nuclear Medicine (AIMN) [and] the International Association of Radiopharmacology (IAR), [and] Section of the Society Of...* 56(3):299-308.

Bertoldo, A., P. Peltoniemi, V. Oikonen, J. Knuuti, P. Nuutila, et C. Cobelli. 2001. « Kinetic modeling of [18F]FDG in skeletal muscle by PET: a four-compartment five-rate-constant model ». *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 281(3):E524-36. doi: 10.1152/ajpendo.2001.281.3.E524.

Biswal, Bharat B., Maarten Mennes, Xi-Nian Zuo, Suril Gohel, Clare Kelly, Steve M. Smith, Christian F. Beckmann, Jonathan S. Adelstein, Randy L. Buckner, Stan Colcombe, Anne-Marie Dogonowski, Monique Ernst, Damien Fair, Michelle Hampson, Matthew J. Hoptman, James S. Hyde, Vesa J. Kiviniemi, Rolf Kötter, Shi-Jiang Li, Ching-Po Lin, Mark J. Lowe, Clare Mackay, David J. Madden, Kristoffer H. Madsen, Daniel S. Margulies, Helen S. Mayberg, Katie McMahon, Christopher S. Monk, Stewart H. Mostofsky, Bonnie J. Nagel, James J. Pekar, Scott J. Peltier, Steven E. Petersen, Valentin Riedl, Serge A. R. B. Rombouts, Bart Rypma, Bradley L. Schlaggar, Sein Schmidt, Rachael D. Seidler, Greg J. Siegle, Christian Sorg, Gao-Jun Teng, Juha Veijola, Arno Villringer, Martin Walter, Lihong Wang, Xu-Chu Weng, Susan Whitfield-Gabrieli, Peter Williamson, Christian Windischberger, Yu-Feng Zang, Hong-Ying Zhang, F. Xavier Castellanos, et Michael P. Milham. 2010. « Toward Discovery Science of Human Brain Function ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107(10):4734-39. doi: 10.1073/pnas.0911855107.

Biswas, Subrata Kumar. 2016. « Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox? » *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2016:5698931. doi: 10.1155/2016/5698931.

Bittar, Philippe G., Yves Charnay, Luc Pellerin, Constantin Bouras, et Pierre J. Magistretti. 1996. « Selective Distribution of Lactate Dehydrogenase Isoenzymes in Neurons and Astrocytes of Human Brain ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 16(6):1079-89. doi: 10.1097/00004647-199611000-00001.

Bittner, Carla, Anitsi Loaiza, Iván Ruminot, Valeria Larenas, Tamara Sotelo-Hitschfe, Robin Gutiérrez, Alex Córdova, Rocío Valdebenito, Wolf Frommer, et L. Felipe Barros. 2010. « High Resolution Measurement of the Glycolytic Rate ». *Frontiers in Neuroenergetics* 2:26. doi: 10.3389/fnene.2010.00026.

Blass, John P. 2001. « Brain Metabolism and Brain Disease: Is Metabolic Deficiency the Proximate Cause of Alzheimer Dementia? » *Journal of Neuroscience Research* 66(5):851-56. doi: 10.1002/jnr.10087.

Boche, Delphine, Alexander Gerhard, Elena Rodriguez-Vieitez, et on behalf of the MINC Faculty. 2019. « Prospects and Challenges of Imaging Neuroinflammation beyond TSPO in Alzheimer's Disease ». *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 46(13):2831-47. doi: 10.1007/s00259-019-04462-w.

Boersma, Gretha J., Emil Johansson, Maria J. Pereira, Kerstin Heurling, Stanko Skrtic, Joey Lau, Petros Katsogiannos, Grigorios Panagiotou, Mark Lubberink, Joel Kullberg, Håkan Ahlström, et Jan W. Eriksson. 2018. « Altered Glucose Uptake in Muscle, Visceral Adipose Tissue, and Brain Predict Whole-Body Insulin Resistance and May Contribute to the Development of Type 2 Diabetes: A Combined PET/MR Study ». *Hormone and Metabolic Research* 50(08):e10-e10. doi: 10.1055/a-0831-3620.

Bonvento, Gilles. 1991. « Influence du système sérotoninergique ascendant sur la circulation et le métabolisme du cerveau ».

Borg, M. A., R. S. Sherwin, W. P. Borg, W. V. Tamborlane, et G. I. Shulman. 1997. « Local Ventromedial Hypothalamus Glucose Perfusion Blocks Counterregulation during Systemic Hypoglycemia in Awake Rats ». *The Journal of Clinical Investigation* 99(2):361-65. doi: 10.1172/JCI119165.

Borghammer, Per. 2012. « Perfusion and Metabolism Imaging Studies in Parkinson's Disease ». *Danish Medical Journal* 59(6):B4466.

Borghammer, Per, Mallar Chakravarty, Kristjana Yr Jonsdottir, Noriko Sato, Hiroshi Matsuda, Kengo Ito, Yutaka Arahata, Takashi Kato, et Albert Gjedde. 2010. « Cortical Hypometabolism and Hypoperfusion in Parkinson's Disease Is Extensive: Probably Even at Early Disease Stages ». *Brain Structure & Function* 214(4):303-17. doi: 10.1007/s00429-010-0246-0.

Boumezbeur, Fawzi, Graeme F. Mason, Robin A. de Graaf, Kevin L. Behar, Gary W. Cline, Gerald I. Shulman, Douglas L. Rothman, et Kitt F. Petersen. 2010. « Altered Brain Mitochondrial Metabolism in Healthy Aging as Assessed by in vivo Magnetic Resonance Spectroscopy ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 30(1):211-21. doi: 10.1038/jcbfm.2009.197.

Bouzier-Sore, Anne-Karine, Pierre Voisin, Véronique Bouchaud, Eric Bezancon, Jean-Michel Franconi, et Luc Pellerin. 2006. « Competition between Glucose and Lactate as Oxidative Energy

Substrates in Both Neurons and Astrocytes: A Comparative NMR Study ». *European Journal of Neuroscience* 24(6):1687-94. doi: 10.1111/j.1460-9568.2006.05056.x.

Bouzier-Sore, Anne-Karine, Pierre Voisin, Paul Canioni, Pierre J. Magistretti, et Luc Pellerin. 2003. « Lactate Is a Preferential Oxidative Energy Substrate over Glucose for Neurons in Culture ». *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 23(11):1298-1306. doi: 10.1097/01.WCB.0000091761.61714.25.

Brant, A. M., T. J. Jess, G. Milligan, C. M. Brown, et G. W. Gould. 1993. « Immunological Analysis of Glucose Transporters Expressed in Different Regions of the Rat Brain and Central Nervous System ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 192(3):1297-1302. doi: 10.1006/bbrc.1993.1557.

Brieger, Katharine, Stefania Schiavone, F. J. (Jr) Miller, et Karl-Heinz Krause. 2012. « Reactive Oxygen Species: From Health to Disease ». *Swiss Medical Weekly* 142:w13659. doi: 10.4414/smw.2012.13659.

Brooks, G. A. 1985. « Anaerobic Threshold: Review of the Concept and Directions for Future Research ». *Medicine and Science in Sports and Exercise* 17(1):22-34.

Brown, Angus M., et Bruce R. Ransom. 2007. « Astrocyte Glycogen and Brain Energy Metabolism ». *Glia* 55(12):1263-71. doi: 10.1002/glia.20557.

Brown, Robert W., Y. C. Norman Cheng, E. Mark Haacke, Michael R. Thompson, et Ramesh Venkatesan. 2014. *Magnetic Resonance Imaging: Physical Principles and Sequence Design*. John Wiley & Sons.

Brownell, G. L., C. A. Burnham, S. Wilensky, S. Aronow, H. Kazemi, et D. Strieder. 1969. « New Developments in Positron Scintigraphy and the Application of Cyclotron-Produced Positron Emitters ». *Medical Radioisotope Scintigraphy. V. I. Proceedings of a Symposium on Medical Radioisotope Scintigraphy*.

Bryant, R. G. 1996. « The Dynamics of Water-Protein Interactions ». *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure* 25(1):29-53. doi: 10.1146/annurev.bb.25.060196.000333.

Burant, C. F., et G. I. Bell. 1992. « Mammalian Facilitative Glucose Transporters: Evidence for Similar Substrate Recognition Sites in Functionally Monomeric Proteins ». *Biochemistry* 31(42):10414-20. doi: 10.1021/bi00157a032.

Cai, Kejia, Mohammad Haris, Anup Singh, Feliks Kogan, Joel H. Greenberg, Hari Hariharan, John A. Detre, et Ravinder Reddy. 2012. « Magnetic Resonance Imaging of Glutamate ». *Nature medicine* 18(2):302-6. doi: 10.1038/nm.2615.

Cai, Kejia, Anup Singh, Harish Poptani, Weiguo Li, Shaolin Yang, Yang Lu, Hari Hariharan, Xiaohong J. Zhou, et Ravinder Reddy. 2015. « CEST Signal at 2 Ppm (CEST@2ppm) from Z-Spectral Fitting Correlates with Creatine Distribution in Brain Tumor ». *NMR in Biomedicine* 28(1):1-8. doi: 10.1002/nbm.3216.

Cai, Kejia, Rong-Wen Tain, Xiaohong Joe Zhou, Frederick C. Damen, Alessandro M. Scotti, Hari Hariharan, Harish Poptani, et Ravinder Reddy. 2017. « Creatine CEST MRI for Differentiating Gliomas with Different Degrees of Aggressiveness ». *Molecular Imaging and Biology* 19(2):225-32. doi: 10.1007/s11307-016-0995-0.

Cai, Kejia, He N. Xu, Anup Singh, Mohammad Haris, Ravinder Reddy, et Lin Z. Li. 2013. « Characterizing Prostate Tumor Mouse Xenografts with CEST and MT-MRI and Redox Scanning ». *Advances in experimental medicine and biology* 765:39-45. doi: 10.1007/978-1-4614-4989-8_6.

Campbell, Meghan C., Jonathan M. Koller, Abraham Z. Snyder, Chandana Buddhala, Paul T. Kotzbauer, et Joel S. Perlmutter. 2015. « CSF Proteins and Resting-State Functional Connectivity in Parkinson Disease ». *Neurology* 84(24):2413-21. doi: 10.1212/WNL.0000000000001681.

Capozza, Martina, Annasofia Anemone, Chetan Dhakan, Melania Della Peruta, Martina Bracesco, Sara Zullino, Daisy Villano, Enzo Terreno, Dario Livio Longo, et Silvio Aime. 2021. « GlucoCEST MRI for the Evaluation Response to Chemotherapeutic and Metabolic Treatments in a Murine Triple-Negative Breast Cancer: A Comparison with[18F]F-FDG-PET ». *Molecular Imaging and Biology*. doi: 10.1007/s11307-021-01637-6.

Chan, Kannie W. Y., Michael T. McMahon, Yoshinori Kato, Guanshu Liu, Jeff W. M. Bulte, Zaver M. Bhujwalla, Dmitri Artemov, et Peter C. M. van Zijl. 2012. « Natural D-Glucose as a biodegradable MRI contrast agent for detecting cancer ». *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine* 68(6):1764-73. doi: 10.1002/mrm.24520.

Chen, Zhichun, et Chunjiu Zhong. 2013. « Decoding Alzheimer's Disease from Perturbed Cerebral Glucose Metabolism: Implications for Diagnostic and Therapeutic Strategies ». *Progress in Neurobiology* 108:21-43. doi: 10.1016/j.pneurobio.2013.06.004.

Chien, David T., Shadfar Bahri, A. Katrin Szardenings, Joseph C. Walsh, Fanrong Mu, Min-Ying Su, William R. Shankle, Arkadij Elizarov, et Hartmuth C. Kolb. 2013. « Early Clinical PET Imaging Results with the Novel PHF-Tau Radioligand [F-18]-T807 ». *Journal of Alzheimer's Disease* 34(2):457-68. doi: 10.3233/JAD-122059.

Chih, Ching-Ping, Peter Lipton, et Eugene L. Roberts. 2001. « Do Active Cerebral Neurons Really Use Lactate Rather than Glucose? » *Trends in Neurosciences* 24(10):573-78. doi: 10.1016/S0166-2236(00)01920-2.

Chilakapati, Sai, Sanjana Reddy, Mohammad Haris, Keija Cai, Kavindra Nath, et Ravinder Reddy. 2012. « Characterization of CEST effect from glucose in vitro ». P. 2335 in.

Cho, Chang Hun, Eun-A. Kim, Jiae Kim, Soo Young Choi, Seung-Ju Yang, et Sung-Woo Cho. 2016. « N-Adamantyl-4-methylthiazol-2-amine suppresses amyloid β-induced neuronal oxidative damage in cortical neurons ». *Free Radical Research* 50(6):678-90. doi: 10.3109/10715762.2016.1167277.

Chojnacka-Wójcik, E., A. Kłodzinska, et A. Pilc. 2001. « Glutamate Receptor Ligands as Anxiolytics ». *Current Opinion in Investigational Drugs (London, England* 2(8):1112-19.

Chryssanthopoulos, Costas, Clyde Williams, Andrea Nowitz, et Gregory Bogdanis. 2004. « Skeletal muscle glycogen concentration and metabolic responses following a high glycaemic carbohydrate breakfast ». *Journal of Sports Sciences* 22(11-12):1065-71. doi: 10.1080/02640410410001730007.

Chuquet, J., P. Quilichini, E. A. Nimchinsky, et G. Buzsaki. 2010. « Predominant Enhancement of Glucose Uptake in Astrocytes versus Neurons during Activation of the Somatosensory Cortex ». *Journal of Neuroscience* 30(45):15298-303. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0762-10.2010.

Ciarmiello, Andrea, Milena Cannella, Secondo Lastoria, Maria Simonelli, Luigi Frati, David C. Rubinsztein, et Ferdinando Squitieri. 2006. « Brain White-Matter Volume Loss and Glucose Hypometabolism Precede the Clinical Symptoms of Huntington's Disease ». *Journal of Nuclear Medicine: Official Publication, Society of Nuclear Medicine* 47(2):215-22.

Ciarmiello, Andrea, Giampiero Giovacchini, Sara Orobello, Laura Bruselli, Francesca Elifani, et Ferdinando Squitieri. 2012. « 18F-FDG PET Uptake in the Pre-Huntington Disease Caudate Affects the Time-to-Onset Independently of CAG Expansion Size ». *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 39(6):1030-36. doi: 10.1007/s00259-012-2114-z.

Clemensson, Laura E. 2015. « Metabolic dysfunction and therapeutic targeting in the BACHD ret model of Huntington disease ».

Costantini, Lauren C., Linda J. Barr, Janet L. Vogel, et Samuel T. Henderson. 2008. « Hypometabolism as a Therapeutic Target in Alzheimer's Disease ». *BMC Neuroscience* 9(2):S16. doi: 10.1186/1471-2202-9-S2-S16.

Craft, Suzanne. 2007. « Insulin Resistance and Alzheimers Disease Pathogenesis: Potential Mechanisms and Implications for Treatment ». *Current Alzheimer Research* 4(2):147-52. doi: 10.2174/156720507780362137.

Cruz, Nancy F., et Gerald A. Dienel. 2002. « High Glycogen Levels in Brains of Rats with Minimal Environmental Stimuli: Implications for Metabolic Contributions of Working Astrocytes ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 22(12):1476-89. doi: 10.1097/01.WCB.0000034362.37277.C0.

Cunnane, Stephen C., Alexandre Courchesne-Loyer, Valérie St-Pierre, Camille Vandenberghe, Tyler Pierotti, Mélanie Fortier, Etienne Croteau, et Christian-Alexandre Castellano. 2016. « Can Ketones Compensate for Deteriorating Brain Glucose Uptake during Aging? Implications for the Risk and Treatment of Alzheimer's Disease ». *Annals of the New York Academy of Sciences* 1367(1):12-20. doi: 10.1111/nyas.12999.

Cunnane, Stephen, Scott Nugent, Maggie Roy, Alexandre Courchesne-Loyer, Etienne Croteau, Sébastien Tremblay, Alex Castellano, Fabien Pifferi, Christian Bocti, Nancy Paquet, Hadi Begdouri, M'hamed Bentourkia, Eric Turcotte, Michèle Allard, Pascale Barberger-Gateau, Tamas Fulop, et Stanley I. Rapoport. 2011. « Brain Fuel Metabolism, Aging, and Alzheimer's Disease ». *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)* 27(1):3-20. doi: 10.1016/j.nut.2010.07.021.

Curie, Irène, et F. Joliot. 1934. « I. Production artificielle d'éléments radioactifs - II. Preuve chimique de la transmutation des éléments ». *Journal de Physique et le Radium* 5(4):153-56. doi: 10.1051/jphysrad:0193400504015300.

Da Mesquita, Sandro, Antoine Louveau, Andrea Vaccari, Igor Smirnov, R. Chase Cornelison, Kathryn M. Kingsmore, Christian Contarino, Suna Onengut-Gumuscu, Emily Farber, Daniel Raper, Kenneth E. Viar, Romie D. Powell, Wendy Baker, Nisha Dabhi, Robin Bai, Rui Cao, Song Hu, Stephen S. Rich, Jennifer M. Munson, M. Beatriz Lopes, Christopher C. Overall, Scott T. Acton, et Jonathan Kipnis. 2018. « Functional Aspects of Meningeal Lymphatics in Ageing and Alzheimer's Disease ». *Nature* 560(7717):185-91. doi: 10.1038/s41586-018-0368-8.

Dagher, Alain, et Atsuko Nagano-Saito. 2007. « Functional and Anatomical Magnetic Resonance Imaging in Parkinson's Disease ». *Molecular Imaging and Biology* 9(4):234-42. doi: 10.1007/s11307-007-0089-0.

Debnath, Ayan, Hari Hariharan, Ravi Prakash Reddy Nanga, Ravinder Reddy, et Anup Singh. 2020. « Glutamate-Weighted CEST Contrast After Removal of Magnetization Transfer Effect in Human Brain and Rat Brain with Tumor ». *Molecular Imaging and Biology* 22(4):1087-1101. doi: 10.1007/s11307-019-01465-9.

Desmond, Kimberly L., et Greg J. Stanisz. 2012. « Understanding Quantitative Pulsed CEST in the Presence of MT ». *Magnetic Resonance in Medicine* 67(4):979-90. doi: 10.1002/mrm.23074.

Di Pietro, Valentina, Giacomo Lazzarino, Angela Maria Amorini, Barbara Tavazzi, Serafina D'Urso, Salvatore Longo, Roberto Vagnozzi, Stefano Signoretti, Elisabetta Clementi, Bruno Giardina, Giuseppe Lazzarino, et Antonio Belli. 2014. « Neuroglobin Expression and Oxidant/Antioxidant Balance after Graded Traumatic Brain Injury in the Rat ». *Free Radical Biology and Medicine* 69:258-64. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.01.032.

Dienel, Gerald A. 2012. « Brain Lactate Metabolism: The Discoveries and the Controversies ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 32(7):1107-38. doi: 10.1038/jcbfm.2011.175.

Dienel, Gerald A. 2017. « Lack of Appropriate Stoichiometry: Strong Evidence against an Energetically Important Astrocyte–Neuron Lactate Shuttle in Brain ». *Journal of Neuroscience Research* 95(11):2103-25. doi: 10.1002/jnr.24015.

Dienel, Gerald A., Nancy F. Cruz, Hajime Nakanishi, Peter Melzer, Penny Moulis, et Louis Sokoloff. 1992. « Comparison of Rates of Local Cerebral Glucose Utilization Determined with Deoxy[l-14C]Glucose and Deoxy[6-14C]Glucose ». *Journal of Neurochemistry* 59(4):1430-36. doi: 10.1111/j.1471-4159.1992.tb08457.x.

Dienel, Gerald A., Nancy F. Cruz, et Louis Sokoloff. 1993. « Metabolites of 2-Deoxy-[14C]Glucose in Plasma and Brain: Influence on Rate of Glucose Utilization Determined with Deoxyglucose Method in Rat Brain ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 13(2):315-27. doi: 10.1038/jcbfm.1993.40.

DiSabato, Damon J., Ning Quan, et Jonathan P. Godbout. 2016. « Neuroinflammation: The Devil Is in the Details ». *Journal of Neurochemistry* 139(S2):136-53. doi: 10.1111/jnc.13607.

Dixon, W. Thomas, Ileana Hancu, S. James Ratnakar, A. Dean Sherry, Robert E. Lenkinski, et David C. Alsop. 2010. « A Multislice Gradient Echo Pulse Sequence for CEST Imaging ». *Magnetic Resonance in Medicine* 63(1):253-56. doi: 10.1002/mrm.22193.

Donahue, Manus J., Paula C. M. Donahue, Swati Rane, Chris Thompson, Megan K. Strother, Allison Scott, et Seth A. Smith. 2016. « Assessment of lymphatic impairment and interstitial protein accumulation in patients with breast cancer treatment-related lymphedema using CEST MRI ». *Magnetic resonance in medicine* 75(1):345-55. doi: 10.1002/mrm.25649.

Drzezga, Alexander, Nicola Lautenschlager, Hartwig Siebner, Matthias Riemenschneider, Frode Willoch, Satoshi Minoshima, Markus Schwaiger, et Alexander Kurz. 2003. « Cerebral Metabolic Changes Accompanying Conversion of Mild Cognitive Impairment into Alzheimer's Disease: A PET Follow-up Study ». *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 30(8):1104-13. doi: 10.1007/s00259-003-1194-1.

Duarte, João M. N., et Rolf Gruetter. 2012. « Characterization of Cerebral Glucose Dynamics in Vivo with a Four-State Conformational Model of Transport at the Blood–Brain Barrier ». *Journal of Neurochemistry* 121(3):396-406. doi: 10.1111/j.1471-4159.2012.07688.x.

Duarte, João M. N., Florence D. Morgenthaler, Hongxia Lei, Carol Poitry-Yamate, et Rolf Gruetter. 2009. « Steady-State Brain Glucose Transport Kinetics Re-Evaluated with a Four-State Conformational Model ». *Frontiers in Neuroenergetics* 1:6. doi: 10.3389/neuro.14.006.2009.

Dugger, Brittany N., et Dennis W. Dickson. 2017. « Pathology of Neurodegenerative Diseases ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 9(7):a028035. doi: 10.1101/cshperspect.a028035.

Duka, Tetyana, Sarah M. Anderson, Zachary Collins, Mary Ann Raghanti, John J. Ely, Patrick R. Hof, Derek E. Wildman, Morris Goodman, Lawrence I. Grossman, et Chet C. Sherwood. 2014. « Synaptosomal Lactate Dehydrogenase Isoenzyme Composition Is Shifted toward Aerobic Forms in Primate Brain Evolution ». *Brain, Behavior and Evolution* 83(3):216-30. doi: 10.1159/000358581.

Dula, Adrienne N., Lori R. Arlinghaus, Richard D. Dortch, Blake E. Dewey, Jennifer G. Whisenant, Gregory D. Ayers, Thomas E. Yankeelov, et Seth A. Smith. 2013. « Amide Proton Transfer Imaging of the Breast at 3 T: Establishing Reproducibility and Possible Feasibility Assessing Chemotherapy Response ». *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine* 70(1):216-24. doi: 10.1002/mrm.24450.

Dunn, Laura, George Fg Allen, Adamantios Mamais, Helen Ling, Abi Li, Kate E. Duberley, Iain P. Hargreaves, Simon Pope, Janice L. Holton, Andrew Lees, Simon J. Heales, et Rina Bandopadhyay. 2014. « Dysregulation of Glucose Metabolism Is an Early Event in Sporadic Parkinson's Disease ». *Neurobiology of Aging* 35(5):1111-15. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2013.11.001.

Ebenhöh, Oliver, et Reinhart Heinrich. 2001. « Evolutionary Optimization of Metabolic Pathways. Theoretical Reconstruction of the Stoichiometry of ATP and NADH Producing Systems ». *Bulletin of Mathematical Biology* 63(1):21-55. doi: 10.1006/bulm.2000.0197.

Edden, Richard AE, et A. D. Harris. 2016. « The significance of N-acetyl aspartate in human brain MRS ». *Handbook of Magnetic Resonance Spectroscopy In Vivo: MRS Theory, Practice and Applications. 1st ed. Chichester* 947-56.

Edelstein, W. A., J. M. S. Hutchison, G. Johnson, et T. Redpath. 1980. « Spin Warp NMR Imaging and Applications to Human Whole-Body Imaging ». 25(4):751-56. doi: 10.1088/0031-9155/25/4/017.

Ellenberg, S., et J. M. Hamilton. 1989. « Surrogate Endpoints in Clinical Trials: Cancer ». *Statistics in Medicine* 8(4):405-13. doi: 10.1002/sim.4780080404.

Elsinga, Philip, Kentaro Hatano, et Kiichi Ishiwata. 2006. « PET Tracers for Imaging of the Dopaminergic System ». *Current medicinal chemistry* 13:2139-53. doi: 10.2174/092986706777935258.

Emond, Patrick, Denis Guilloteau, et Sylvie Chalon. 2008. « PE2I: A Radiopharmaceutical for In Vivo Exploration of the Dopamine Transporter ». *CNS Neuroscience & Therapeutics* 14(1):47-64. doi: 10.1111/j.1527-3458.2007.00033.x.

Engelberg-Kulka, Hanna, Shahar Amitai, Ilana Kolodkin-Gal, et Ronen Hazan. 2006. « Bacterial Programmed Cell Death and Multicellular Behavior in Bacteria ». *PLOS Genetics* 2(10):e135. doi: 10.1371/journal.pgen.0020135.

Erbsloh, F., A. Bernsmeier, et H. Hillesheim. 1958. « [The glucose consumption of the brain & its dependence on the liver] ». *Archiv Fur Psychiatrie Und Nervenkrankheiten, Vereinigt Mit Zeitschrift Fur Die Gesamte Neurologie Und Psychiatrie* 196(6):611-26. doi: 10.1007/BF00344388.

Ferreira, Sergio T., Julia R. Clarke, Theresa R. Bomfim, et Fernanda G. De Felice. 2014. « Inflammation, Defective Insulin Signaling, and Neuronal Dysfunction in Alzheimer's Disease ». *Alzheimer's & Dementia* 10(1, Supplement):S76-83. doi: 10.1016/j.jalz.2013.12.010.

Feuerstein, Delphine, Heiko Backes, Markus Gramer, Masatoshi Takagaki, Paula Gabel, Tetsuya Kumagai, et Rudolf Graf. 2016. « Regulation of Cerebral Metabolism during Cortical Spreading Depression ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 36(11):1965-77. doi: 10.1177/0271678X15612779.

Fields, R. Douglas, et Geoffrey Burnstock. 2006. « Purinergic Signalling in Neuron–Glia Interactions ». *Nature Reviews Neuroscience* 7(6):423-36. doi: 10.1038/nrn1928.

Figley, Chase R., et Patrick W. Stroman. 2011. « The Role(s) of Astrocytes and Astrocyte Activity in Neurometabolism, Neurovascular Coupling, and the Production of Functional Neuroimaging Signals ». *European Journal of Neuroscience* 33(4):577-88. doi: 10.1111/j.1460-9568.2010.07584.x.

Filippi, Massimo, et Federica Agosta. 2007. « Magnetization Transfer MRI in Multiple Sclerosis ». *Journal of Neuroimaging* 17:22S-26S. doi: 10.1111/j.1552-6569.2007.00132.x.

Firbank, Michael J., Jehill Parikh, Nicholas Murphy, Alison Killen, Charlotte L. Allan, Daniel Collerton, Andrew M. Blamire, et John-Paul Taylor. 2018. « Reduced Occipital GABA in Parkinson Disease with Visual Hallucinations ». *Neurology* 91(7):e675-85. doi: 10.1212/WNL.0000000000006007.

Forman, Henry Jay, Hongqiao Zhang, et Alessandra Rinna. 2009. « Glutathione: Overview of Its Protective Roles, Measurement, and Biosynthesis ». *Molecular Aspects of Medicine* 30(1-2):1-12. doi: 10.1016/j.mam.2008.08.006.

Forsén, Sture, et Ragnar A. Hoffman. 1963. « Study of Moderately Rapid Chemical Exchange Reactions by Means of Nuclear Magnetic Double Resonance ». *The Journal of Chemical Physics* 39(11):2892-2901. doi: 10.1063/1.1734121.

Fox, P. T., et M. E. Raichle. 1984. « Stimulus Rate Dependence of Regional Cerebral Blood Flow in Human Striate Cortex, Demonstrated by Positron Emission Tomography ». *Journal of Neurophysiology* 51(5):1109-20. doi: 10.1152/jn.1984.51.5.1109.

Fox, P. T., et M. E. Raichle. 1986. « Focal physiological uncoupling of cerebral blood flow and oxidative metabolism during somatosensory stimulation in human subjects. » *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 83(4):1140-44.

Fox, Peter T., Marcus E. Raichle, Mark A. Mintun, et Carmen Dence. 1988. « Nonoxidative Glucose Consumption During Focal Physiologic Neural Activity ». *Science* 241(4864):462-64. doi: 10.1126/science.3260686.

Frahm, J., K. D. Merboldt, W. Hänicke, et A. Haase. 1985. « Stimulated Echo Imaging ». *Journal of Magnetic Resonance (1969)* 64(1):81-93. doi: 10.1016/0022-2364(85)90033-2.

Frederick, Blaise D., In Kyoon Lyoo, Andrew Satlin, Kyung Heup Ahn, Minue J. Kim, Deborah A. Yurgelun-Todd, Bruce M. Cohen, et Perry F. Renshaw. 2004. « In Vivo Proton Magnetic Resonance Spectroscopy of the Temporal Lobe in Alzheimer's Disease ». *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 28(8):1313-22. doi: 10.1016/j.pnpbp.2004.08.013.

Freskgård, Per-Ola, et Eduard Urich. 2017. « Antibody Therapies in CNS Diseases ». *Neuropharmacology* 120:38-55. doi: 10.1016/j.neuropharm.2016.03.014.

Friedland, R. P., T. F. Budinger, E. Ganz, Y. Yano, C. A. Mathis, B. Koss, B. A. Ober, R. H. Huesman, et S. E. Derenzo. 1983. « Regional Cerebral Metabolic Alterations in Dementia of the Alzheimer Type: Positron Emission Tomography with [18F]Fluorodeoxyglucose ». *Journal of Computer Assisted Tomography* 7(4):590-98. doi: 10.1097/00004728-198308000-00003.

Fujibayashi, Yasuhisa, Hideyuki Taniuchi, Yoshiharu Yonekura, Hiroshi Ohtani, Junji Konishi, et Akira Yokoyama. s. d. « Copper-62-ATSM: A New Hypoxia Imaging Agent with High Membrane Permeability and Low Redox Potential ». 6.

Fünfschilling, Ursula, Lotti M. Supplie, Don Mahad, Susann Boretius, Aiman S. Saab, Julia Edgar, Bastian G. Brinkmann, Celia M. Kassmann, Iva D. Tzvetanova, Wiebke Möbius, Francisca Diaz, Dies Meijer, Ueli Suter, Bernd Hamprecht, Michael W. Sereda, Carlos T. Moraes, Jens Frahm, Sandra Goebbels, et Klaus-Armin Nave. 2012. « Glycolytic Oligodendrocytes Maintain Myelin and Long-Term Axonal Integrity ». *Nature* 485(7399):517-21. doi: 10.1038/nature11007.

Gage, FH, PA Kelly, et A. Bjorklund. 1984. « Regional changes in brain glucose metabolism reflect cognitive impairments in aged rats ». *The Journal of Neuroscience* 4(11):2856-65. doi: 10.1523/JNEUROSCI.04-11-02856.1984.

Gebril, Hoda M., Bharathi Avula, Yan-Hong Wang, Ikhlas A. Khan, et Mika B. Jekabsons. 2016. « (13)C Metabolic Flux Analysis in Neurons Utilizing a Model That Accounts for Hexose Phosphate Recycling within the Pentose Phosphate Pathway ». *Neurochemistry International* 93:26-39. doi: 10.1016/j.neuint.2015.12.008.

Gillies, Robert J., Natarajan Raghunand, Maria L. Garcia-Martin, et Robert A. Gatenby. 2004. « PH Imaging. A Review of PH Measurement Methods and Applications in Cancers ». *IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine: The Quarterly Magazine of the Engineering in Medicine & Biology Society* 23(5):57-64. doi: 10.1109/memb.2004.1360409.

Gjedde, Albert, et Sean Marrett. 2001. « Glycolysis in Neurons, Not Astrocytes, Delays Oxidative Metabolism of Human Visual Cortex during Sustained Checkerboard Stimulation in Vivo ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 21(12):1384-92. doi: 10.1097/00004647-200112000-00002.

Gouarné, Caroline, Gwenaëlle Tardif, Jennifer Tracz, Virginie Latyszenok, Magali Michaud, Laura Emily Clemens, Libo Yu-Taeger, Huu Phuc Nguyen, Thierry Bordet, et Rebecca M. Pruss. 2013. « Early Deficits in Glycolysis Are Specific to Striatal Neurons from a Rat Model of Huntington Disease ». *PLOS ONE* 8(11):e81528. doi: 10.1371/journal.pone.0081528.

Goulay, R., T. Gaberel, et D. Vivien. 2016. « La révolution cérébrale : le système glymphatique ». *MISE AU POINT* 3.

de Graaf, Robin A., Graeme F. Mason, Anant B. Patel, Kevin L. Behar, et Douglas L. Rothman. 2003. « In Vivo 1H-[13C]-NMR Spectroscopy of Cerebral Metabolism ». *NMR in Biomedicine* 16(6-7):339-57. doi: 10.1002/nbm.847.

de Graaf, Robin A., Douglas L. Rothman, et Kevin L. Behar. 2011. « State of the Art Direct 13C and Indirect 1H-[13C] NMR Spectroscopy in Vivo. A Practical Guide ». *NMR in Biomedicine* 24(8):958-72. doi: 10.1002/nbm.1761.

Griffiths, J. R. 1991. « Are Cancer Cells Acidic? » *British Journal of Cancer* 64(3):425-27. doi: 10.1038/bjc.1991.326.

Gruetter, Rolf, Gregor Adriany, In-Young Choi, Pierre-Gilles Henry, Hongxia Lei, et Gülin Oz. 2003. « Localized in Vivo 13C NMR Spectroscopy of the Brain ». *NMR in Biomedicine* 16(6-7):313-38. doi: 10.1002/nbm.841.

Gual, Philippe, Yannick Le Marchand-Brustel, et Jean-François Tanti. 2005. « Positive and Negative Regulation of Insulin Signaling through IRS-1 Phosphorylation ». *Biochimie* 87(1):99-109. doi: 10.1016/j.biochi.2004.10.019.

Guivel-Scharen, V., T. Sinnwell, S. D. Wolff, et R. S. Balaban. 1998. « Detection of Proton Chemical Exchange between Metabolites and Water in Biological Tissues ». *Journal of Magnetic Resonance* 133(1):36-45. doi: 10.1006/jmre.1998.1440.

Guo, Jun-tao, Jin Yu, David Grass, Frederick C. de Beer, et Mark S. Kindy. 2002. « Inflammation-Dependent Cerebral Deposition of Serum Amyloid A Protein in a Mouse Model of Amyloidosis ». *Journal of Neuroscience* 22(14):5900-5909. doi: 10.1523/JNEUROSCI.22-14-05900.2002.

Hacker, Carl D., Joel S. Perlmutter, Susan R. Criswell, Beau M. Ances, et Abraham Z. Snyder. 2012. « Resting state functional connectivity of the striatum in Parkinson's disease ». *Brain* 135(12):3699-3711. doi: 10.1093/brain/aws281.

Halim, Nader D., Thomas Mcfate, Ahmed Mohyeldin, Peter Okagaki, Lioubov G. Korotchkina, Mulchand S. Patel, Nam Ho Jeoung, Robert A. Harris, Michael J. Schell, et Ajay Verma. 2010. « Phosphorylation Status of Pyruvate Dehydrogenase Distinguishes Metabolic Phenotypes of Cultured Rat Brain Astrocytes and Neurons ». *Glia* 58(10):1168-76. doi: 10.1002/glia.20996.

Halldin, Christer, Nina Erixon-Lindroth, Stefan Pauli, Yuan-Hwa Chou, Yoshiro Okubo, Per Karlsson, Camilla Lundkvist, Hans Olsson, Denis Guilloteau, Patrick Emond, et Lars Farde. 2003. « [11 C]PE2I: a highly selective radioligand for PET examination of the dopamine transporter in monkey and human brain ». *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 30(9):1220-30. doi: 10.1007/s00259-003-1212-3.

Hamberger, Anders, et Holger Hydén. 1963. « INVERSE ENZYMATIC CHANGES IN NEURONS AND GLIA DURING INCREASED FUNCTION AND HYPOXIA ». *Journal of Cell Biology* 16(3):521-25. doi: 10.1083/jcb.16.3.521.

Hanson, Lars G. 2008. « Is Quantum Mechanics Necessary for Understanding Magnetic Resonance? » *Concepts in Magnetic Resonance Part A* 32A(5):329-40. doi: 10.1002/cmr.a.20123.

Hargreaves, Richard J., Anna M. Planas, Jill E. Cremer, et Vincent J. Cunningham. 1986. « Studies on the Relationship between Cerebral Glucose Transport and Phosphorylation Using 2-

Deoxyglucose ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 6(6):708-16. doi: 10.1038/jcbfm.1986.127.

Haris, Mohammad, Kejia Cai, Anup Singh, Hari Hariharan, et Ravinder Reddy. 2011. « In vivo Mapping of Brain Myo-Inositol ». *NeuroImage* 54(3):2079-85. doi: 10.1016/j.neuroimage.2010.10.017.

Haris, Mohammad, Ravi Prakash Reddy Nanga, Anup Singh, Kejia Cai, Feliks Kogan, Hari Hariharan, et Ravinder Reddy. 2012. « Exchange Rates of Creatine Kinase Metabolites: Feasibility of Imaging Creatine by Chemical Exchange Saturation Transfer MRI ». *NMR in Biomedicine* 25(11):1305-9. doi: 10.1002/nbm.2792.

Haris, Mohammad, Kavindra Nath, Kejia Cai, Anup Singh, Rachelle Crescenzi, Feliks Kogan, Gaurav Verma, Sanjana Reddy, Hari Hariharan, Elias R. Melhem, et Ravinder Reddy. 2013. « Imaging of Glutamate Neurotransmitter Alterations in Alzheimer's Disease ». *NMR in Biomedicine* 26(4):386-91. doi: 10.1002/nbm.2875.

Haris, Mohammad, Anup Singh, Kejia Cai, Feliks Kogan, Jeremy McGarvey, Catherine DeBrosse, Gerald A. Zsido, Walter R. T. Witschey, Kevin Koomalsingh, James J. Pilla, Julio A. Chirinos, Victor A. Ferrari, Joseph H. Gorman, Hari Hariharan, Robert C. Gorman, et Ravinder Reddy. 2014. « A Technique for in Vivo Mapping of Myocardial Creatine Kinase Metabolism ». *Nature Medicine* 20(2):209-14. doi: 10.1038/nm.3436.

Haris, Mohammad, Anup Singh, Kejia Cai, Kavindra Nath, Rachelle Crescenzi, Feliks Kogan, Hari Hariharan, et Ravinder Reddy. 2013. « MICEST: a Potential Tool for Non-invasive Detection of Molecular Changes in Alzheimer's Disease ». *Journal of neuroscience methods* 212(1):87-93. doi: 10.1016/j.jneumeth.2012.09.025.

Harrison, Paul J. 2008. « Metabotropic Glutamate Receptor Agonists for Schizophrenia ». *The British Journal of Psychiatry* 192(2):86-87. doi: 10.1192/bjp.bp.107.045088.

Hawkins, Richard A., Darryl R. Peterson, et Juan R. Viña. 2002. « The Complementary Membranes Forming the Blood-Brain Barrier ». *IUBMB Life* 54(3):101-7. doi: 10.1080/15216540214541.

Heneka, Michael T., Markus P. Kummer, et Eicke Latz. 2014. « Innate Immune Activation in Neurodegenerative Disease ». *Nature Reviews Immunology* 14(7):463-77. doi: 10.1038/nri3705.

Hennig, Jürgen, A. Nauerth, et Hartmut Friedburg. 1986. « RARE imaging: A fast imaging method for clinical MR ». *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine* 3:823-33. doi: 10.1002/mrm.1910030602.

Henry, Pierre-Gilles, Gregor Adriany, Dinesh Deelchand, Rolf Gruetter, Malgorzata Marjanska, Gülin Öz, Elizabeth R. Seaquist, Alexander Shestov, et Kâmil Uğurbil. 2006. « In Vivo 13C NMR Spectroscopy and Metabolic Modeling in the Brain: A Practical Perspective ». *Magnetic Resonance Imaging* 24(4):527-39. doi: 10.1016/j.mri.2006.01.003.

Herholz, Karl. 2010. « Cerebral glucose metabolism in preclinical and prodromal Alzheimer's disease ». *Expert Review of Neurotherapeutics* 10(11):1667-73. doi: 10.1586/ern.10.136.

Herminghaus, Sebastian, Lutz Frölich, Corrina Gorriz, Ullrich Pilatus, Thomas Dierks, Hans-Jörg Wittsack, Heinrich Lanfermann, Konrad Maurer, et Friedhelm E. Zanella. 2003. « Brain Metabolism in Alzheimer Disease and Vascular Dementia Assessed by in Vivo Proton

Magnetic Resonance Spectroscopy ». *Psychiatry Research: Neuroimaging* 123(3):183-90. doi: 10.1016/S0925-4927(03)00071-4.

Herrero-Mendez, Angel, Angeles Almeida, Emilio Fernández, Carolina Maestre, Salvador Moncada, et Juan P. Bolaños. 2009. « The Bioenergetic and Antioxidant Status of Neurons Is Controlled by Continuous Degradation of a Key Glycolytic Enzyme by APC/C–Cdh1 ». *Nature Cell Biology* 11(6):747-52. doi: 10.1038/ncb1881.

Hertz, Leif. 2004. « The Astrocyte-Neuron Lactate Shuttle: A Challenge of a Challenge ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 24(11):1241-48. doi: 10.1097/00004647-200411000-00008.

van den Heuvel, Martijn P., et Hilleke E. Hulshoff Pol. 2010. « Exploring the Brain Network: A Review on Resting-State FMRI Functional Connectivity ». *European Neuropsychopharmacology* 20(8):519-34. doi: 10.1016/j.euroneuro.2010.03.008.

Hirvonen, Jussi, Kirsi A. Virtanen, Lauri Nummenmaa, Jarna C. Hannukainen, Miikka-Juhani Honka, Marco Bucci, Sergey V. Nesterov, Riitta Parkkola, Juha Rinne, Patricia Iozzo, et Pirjo Nuutila. 2011. « Effects of Insulin on Brain Glucose Metabolism in Impaired Glucose Tolerance ». *Diabetes* 60(2):443-47. doi: 10.2337/db10-0940.

Hocquette, Jean-François, et Dominique Bauchart. 1999. « Intestinal Absorption, Blood Transport and Hepatic and Muscle Metabolism of Fatty Acids in Preruminant and Ruminant Animals ». *Reproduction Nutrition Development* 39(1):27-48. doi: 10.1051/rnd:19990102.

Hoffman, Ragnar A., et Sture Forsén. 1966. « Transient and Steady-State Overhauser Experiments in the Investigation of Relaxation Processes. Analogies between Chemical Exchange and Relaxation ». *The Journal of Chemical Physics* 45(6):2049-60. doi: 10.1063/1.1727890.

Holland, Pamela. 1999. *Identification, interactions and specificity of a novel map kinase kinase, MKK7*. University of Washington.

Hoult, D. I. 1989. « The Magnetic Resonance Myth of Radio Waves ». *Concepts in Magnetic Resonance* 1(1):1-5. doi: 10.1002/cmr.1820010104.

Hoult, D. I., S. J. W. Busby, D. G. Gadian, G. K. Radda, R. E. Richards, et P. J. Seeley. 1974. « Observation of Tissue Metabolites Using 31P Nuclear Magnetic Resonance ». *Nature* 252(5481):285-87. doi: 10.1038/252285a0.

Hoyer, S., K. Oesterreich, et O. Wagner. 1988. « Glucose Metabolism as the Site of the Primary Abnormality in Early-Onset Dementia of Alzheimer Type? » *Journal of Neurology* 235(3):143-48. doi: 10.1007/BF00314304.

Hu, Qingsong, Xiaohong Wang, Joseph Lee, Abdul Mansoor, Jingbo Liu, Lepeng Zeng, Cory Swingen, Ge Zhang, Julia Feygin, Koichi Ochiai, Toni L. Bransford, Arthur H. L. From, Robert J. Bache, et Jianyi Zhang. 2006. « Profound bioenergetic abnormalities in peri-infarct myocardial regions ». *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 291(2):H648-57. doi: 10.1152/ajpheart.01387.2005.

Hua, Jun, Craig K. Jones, Jaishri Blakeley, Seth A. Smith, Peter C. M. van Zijl, et Jinyuan Zhou. 2007. « Quantitative Description of the Asymmetry in Magnetization Transfer Effects around the Water Resonance in the Human Brain ». *Magnetic Resonance in Medicine* 58(4):786-93. doi: 10.1002/mrm.21387.

Huang, Jianpan, Xiongqi Han, Lin Chen, Xiang Xu, Jiadi Xu, et Kannie W. Y. Chan. 2021. « Relayed Nuclear Overhauser Enhancement Imaging with Magnetization Transfer Contrast Suppression at 3 T ». *Magnetic Resonance in Medicine* 85(1):254-67. doi: 10.1002/mrm.28433.

Huang, Jianpan, Peter C. M. van Zijl, Xiongqi Han, Celia M. Dong, Gerald W. Y. Cheng, Kai-Hei Tse, Linda Knutsson, Lin Chen, Joseph H. C. Lai, Ed X. Wu, Jiadi Xu, et Kannie W. Y. Chan. 2020. « Altered d-glucose in brain parenchyma and cerebrospinal fluid of early Alzheimer's disease detected by dynamic glucose-enhanced MRI ». *Science Advances* 6(20):eaba3884. doi: 10.1126/sciadv.aba3884.

Huang, Ming-Ta, et Richard L. Veech. 1985. « Metabolic Fluxes Between [14C]2-Deoxy-D-Glucose and [14C]2-Deoxy-D-Glucose-6-Phosphate in Brain In Vivo ». *Journal of Neurochemistry* 44(2):567-73. doi: 10.1111/j.1471-4159.1985.tb05450.x.

Humm, John L., Anatoly Rosenfeld, et Alberto Del Guerra. 2003. « From PET detectors to PET scanners ». *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 30(11):1574-97. doi: 10.1007/s00259-003-1266-2.

Hwang, Janice J., Andrea Johnson, Gary Cline, Renata Belfort-DeAguiar, Denis Snegovskikh, Babar Khokhar, Christina S. Han, et Robert S. Sherwin. 2015. « Fructose Levels Are Markedly Elevated in Cerebrospinal Fluid Compared to Plasma in Pregnant Women ». *PloS One* 10(6):e0128582. doi: 10.1371/journal.pone.0128582.

Hydén, Holger, et Paul W. Lange. 1962. « A KINETIC STUDY OF THE NEURON-GLIA RELATIONSHIP ». *Journal of Cell Biology* 13(2):233-37. doi: 10.1083/jcb.13.2.233.

Hyder, Fahmeed, Anant B. Patel, Albert Gjedde, Douglas L. Rothman, Kevin L. Behar, et Robert G. Shulman. 2006. « Neuronal–Glial Glucose Oxidation and Glutamatergic–GABAergic Function ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 26(7):865-77. doi: 10.1038/sj.jcbfm.9600263.

Ido, T., C. N. Wan, V. Casella, J. S. Fowler, A. P. Wolf, M. Reivich, et D. E. Kuhl. 1978. « Labeled 2-Deoxy-D-Glucose Analogs. 18F-Labeled 2-Deoxy-2-Fluoro-D-Glucose, 2-Deoxy-2-Fluoro-D-Mannose and 14C-2-Deoxy-2-Fluoro-D-Glucose ». *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* 14(2):175-83. doi: 10.1002/jlcr.2580140204.

Iliff, Jeffrey J., Minghuan Wang, Yonghong Liao, Benjamin A. Plogg, Weiguo Peng, Georg A. Gundersen, Helene Benveniste, G. Edward Vates, Rashid Deane, Steven A. Goldman, Erlend A. Nagelhus, et Maiken Nedergaard. 2012. « A Paravascular Pathway Facilitates CSF Flow Through the Brain Parenchyma and the Clearance of Interstitial Solutes, Including Amyloid β ». *Science translational medicine* 4(147):147ra111. doi: 10.1126/scitranslmed.3003748.

Ingersoll, Evan, et Gael McGill. 2020. « Cellular Landscape ». *Gael McGill*. Consulté 31 janvier 2022 (https://gaelmcgill.artstation.com/projects/Pm0JL1).

Ingwall, J. S. 1982. « Phosphorus nuclear magnetic resonance spectroscopy of cardiac and skeletal muscles ». *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 242(5):H729-44. doi: 10.1152/ajpheart.1982.242.5.H729.

Itoh, Y., T. Esaki, K. Shimoji, M. Cook, M. J. Law, E. Kaufman, et L. Sokoloff. 2003. « Dichloroacetate Effects on Glucose and Lactate Oxidation by Neurons and Astroglia in Vitro and on Glucose

Utilization by Brain in Vivo ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100(8):4879-84. doi: 10.1073/pnas.0831078100.

Iwata, Atsushi, John C. Christianson, Mirella Bucci, Lisa M. Ellerby, Nobuyuki Nukina, Lysia S. Forno, et Ron R. Kopito. 2005. « Increased Susceptibility of Cytoplasmic over Nuclear Polyglutamine Aggregates to Autophagic Degradation ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102(37):13135-40. doi: 10.1073/pnas.0505801102.

Jansson, Erik Karl Håkan, Laura Emily Clemens, Olaf Riess, et Huu Phuc Nguyen. 2014. « Reduced Motivation in the BACHD Rat Model of Huntington Disease Is Dependent on the Choice of Food Deprivation Strategy ». *PLOS ONE* 9(8):e105662. doi: 10.1371/journal.pone.0105662.

Jay, T. M., G. A. Dienel, N. F. Cruz, K. Mori, T. Nelson, et L. Sokoloff. 1990. « Metabolic Stability of 3-O-Methyl-D-Glucose in Brain and Other Tissues ». *Journal of Neurochemistry* 55(3):989-1000. doi: 10.1111/j.1471-4159.1990.tb04588.x.

Jeon, Sang-Min, Navdeep S. Chandel, et Nissim Hay. 2012. « AMPK Regulates NADPH Homeostasis to Promote Tumour Cell Survival during Energy Stress ». *Nature* 485(7400):661-65. doi: 10.1038/nature11066.

Jia, Guang, Ronney Abaza, JoAnna D. Williams, Debra L. Zynger, Jinyuan Zhou, Zarine K. Shah, Mitva Patel, Steffen Sammet, Lai Wei, Robert R. Bahnson, et Michael V. Knopp. 2011. « Amide Proton Transfer MR Imaging of Prostate Cancer: A Preliminary Study ». *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI* 33(3):647-54. doi: 10.1002/jmri.22480.

Jin, Tao, Hunter Mehrens, Kristy S. Hendrich, et Seong-Gi Kim. 2014. « Mapping brain glucose uptake with chemical exchange-sensitive spin-lock magnetic resonance imaging ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 34(8):1402-10. doi: 10.1038/jcbfm.2014.97.

Jin, Tao, Hunter Mehrens, Ping Wang, et Seong-Gi Kim. 2016. « Glucose metabolism-weighted imaging with chemical exchange-sensitive MRI of 2-deoxyglucose (2DG) in brain: sensitivity and biological sources ». *NeuroImage* 143:82-90. doi: 10.1016/j.neuroimage.2016.08.040.

Jin, Tao, Hunter Mehrens, Ping Wang, et Seong-Gi Kim. 2018. « Chemical exchange-sensitive spin-lock MRI of glucose analog 3-O-methyl-d-glucose in normal and ischemic brain ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 38(5):869-80. doi: 10.1177/0271678X17707419.

Jin, Tao, Ping Wang, Xiaopeng Zong, et Seong-Gi Kim. 2013. « MR Imaging of the Amide-Proton Transfer Effect and the PH-Insensitive Nuclear Overhauser Effect at 9.4 T ». *Magnetic Resonance in Medicine* 69(3):760-70. doi: 10.1002/mrm.24315.

Joan Dawson, M., D. G. Gadian, et D. R. Wilkie. 1978. « Muscular Fatigue Investigated by Phosphorus Nuclear Magnetic Resonance ». *Nature* 274(5674):861-66. doi: 10.1038/274861a0.

Johansson, Emil, Mark Lubberink, Kerstin Heurling, Jan W. Eriksson, Stanko Skrtic, Håkan Ahlström, et Joel Kullberg. 2018. « Whole-Body Imaging of Tissue-specific Insulin Sensitivity and Body Composition by Using an Integrated PET/MR System: A Feasibility Study ». *Radiology* 286(1):271-78. doi: 10.1148/radiol.2017162949.

Jokivarsi, Kimmo T., Heidi I. Gröhn, Olli H. Gröhn, et Risto A. Kauppinen. 2007. « Proton Transfer Ratio, Lactate, and Intracellular PH in Acute Cerebral Ischemia ». *Magnetic Resonance in Medicine* 57(4):647-53. doi: 10.1002/mrm.21181.

Jones, Craig K., Alan Huang, Jiadi Xu, Richard AE Edden, Michael Schär, Jun Hua, Nikita Oskolkov, Domenico Zacà, Jinyuan Zhou, Michael T. McMahon, Jay J. Pillai, et Peter CM van Zijl. 2013. « Nuclear Overhauser Enhancement (NOE) Imaging in the Human Brain at 7 T ». *NeuroImage* 77:10.1016/j.neuroimage.2013.03.047. doi: 10.1016/j.neuroimage.2013.03.047.

Kang, Rui, et Daolin Tang. 2012. « PKR-Dependent Inflammatory Signals ». *Science signaling* 5(247):pe47. doi: 10.1126/scisignal.2003511.

Kantarci, K., C. R. Jack, Y. C. Xu, N. G. Campeau, P. C. O'Brien, G. E. Smith, R. J. Ivnik, B. F. Boeve, E. Kokmen, E. G. Tangalos, et R. C. Petersen. 2000. « Regional Metabolic Patterns in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease: A 1H MRS Study ». *Neurology* 55(2):210-17. doi: 10.1212/WNL.55.2.210.

Keller, Daniel, Csaba Erö, et Henry Markram. 2018. « Cell Densities in the Mouse Brain: A Systematic Review ». *Frontiers in Neuroanatomy* 12:83. doi: 10.3389/fnana.2018.00083.

Kemp, Graham J., Martin Meyerspeer, et Ewald Moser. 2007. « Absolute Quantification of Phosphorus Metabolite Concentrations in Human Muscle in Vivo by 31P MRS: A Quantitative Review ». *NMR in Biomedicine* 20(6):555-65. doi: 10.1002/nbm.1192.

Kentrup, Dominik, Philipp Bovenkamp, Annika Busch, Katharina Schuette-Nuetgen, Helga Pawelski, Hermann Pavenstädt, Eberhard Schlatter, Karl-Heinz Herrmann, Jürgen R. Reichenbach, Bettina Löffler, Barbara Heitplatz, Veerle Van Marck, Nirbhay N. Yadav, Guanshu Liu, Peter C. M. van Zijl, Stefan Reuter, et Verena Hoerr. 2017. « GlucoCEST Magnetic Resonance Imaging in Vivo May Be Diagnostic of Acute Renal Allograft Rejection ». *Kidney International* 92(3):757-64. doi: 10.1016/j.kint.2017.04.015.

Kherlopian, Armen R., Ting Song, Qi Duan, Mathew A. Neimark, Ming J. Po, John K. Gohagan, et Andrew F. Laine. 2008. « A review of imaging techniques for systems biology ». *BMC Systems Biology* 2:74. doi: 10.1186/1752-0509-2-74.

Khundakar, Ahmad A., Peter S. Hanson, Daniel Erskine, Nichola Z. Lax, Joseph Roscamp, Evangelia Karyka, Eliona Tsefou, Preeti Singh, Simon J. Cockell, Andrew Gribben, Lynne Ramsay, Peter G. Blain, Urs P. Mosimann, Deborah J. Lett, Matthias Elstner, Douglass M. Turnbull, Charles C. Xiang, Michael J. Brownstein, John T. O'Brien, John-Paul Taylor, Johannes Attems, Alan J. Thomas, Ian G. McKeith, et Christopher M. Morris. 2016. « Analysis of primary visual cortex in dementia with Lewy bodies indicates GABAergic involvement associated with recurrent complex visual hallucinations ». *Acta Neuropathologica Communications* 4(1):66. doi: 10.1186/s40478-016-0334-3.

Kim, Mina, Queenie Chan, Marina-Portia Anthony, Kenneth M. C. Cheung, Dino Samartzis, et Pek-Lan Khong. 2011. « Assessment of Glycosaminoglycan Distribution in Human Lumbar Intervertebral Discs Using Chemical Exchange Saturation Transfer at 3 T: Feasibility and Initial Experience ». *NMR in Biomedicine* 24(9):1137-44. doi: 10.1002/nbm.1671.

Kim, Mina, Joseph Gillen, Bennett. A. Landman, Jinyuan Zhou, et Peter C. M. van Zijl. 2009. « WAter Saturation Shift Referencing (WASSR) for chemical exchange saturation transfer experiments ». *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine* 61(6):1441-50. doi: 10.1002/mrm.21873.

Kim, Mina, Francisco Torrealdea, Sola Adeleke, Marilena Rega, Vincent Evans, Teresita Beeston, Katerina Soteriou, Stefanie Thust, Aaron Kujawa, Sachi Okuchi, Elizabeth Isaac, Wivijin Piga,

Jonathan R. Lambert, Asim Afaq, Eleni Demetriou, Pratik Choudhary, King Kenneth Cheung, Sarita Naik, David Atkinson, Shonit Punwani, et Xavier Golay. 2019. « Challenges in glucoCEST MR body imaging at 3 Tesla ». *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery* 9(10):1628-40. doi: 10.21037/qims.2019.10.05.

Kim, Woori, Yenarae Lee, Noah D. McKenna, Ming Yi, Filip Simunovic, Yulei Wang, Benjamin Kong, Robert J. Rooney, Hyemyung Seo, Robert M. Stephens, et Kai C. Sonntag. 2014. « MiR-126 Contributes to Parkinson's Disease by Dysregulating the Insulin-like Growth Factor/Phosphoinositide 3-Kinase Signaling ». *Neurobiology of Aging* 35(7):1712-21. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2014.01.021.

Klaassens, Bernadet L., Helene C. van Gorsel, Najmeh Khalili-Mahani, Jeroen van der Grond, Bradley T. Wyman, Brandon Whitcher, Serge A. R. B. Rombouts, et Joop M. A. van Gerven. 2015. « Single-Dose Serotonergic Stimulation Shows Widespread Effects on Functional Brain Connectivity ». *NeuroImage* 122:440-50. doi: 10.1016/j.neuroimage.2015.08.012.

Kleinridders, André, Heather A. Ferris, Michelle L. Reyzer, Michaela Rath, Marion Soto, M. Lisa Manier, Jeffrey Spraggins, Zhihong Yang, Robert C. Stanton, Richard M. Caprioli, et C. Ronald Kahn. 2018. « Regional differences in brain glucose metabolism determined by imaging mass spectrometry ». *Molecular Metabolism* 12:113-21. doi: 10.1016/j.molmet.2018.03.013.

Klepper, Jörg, Marcela Garcia-Alvarez, Kevin R. O'Driscoll, Michael K. Parides, Dong Wang, Yuan Yuan Ho, et Darryl C. De Vivo. 1999. « Erythrocyte 3-O-Methyl-D-Glucose Uptake Assay for Diagnosis of Glucose-Transporter-Protein Syndrome ». *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 13(3):116-21. doi: 10.1002/(SICI)1098-2825(1999)13:3<116::AID-JCLA5>3.0.CO;2-C.

Klepper, Jörg, et Thomas Voit. 2002. « Facilitated Glucose Transporter Protein Type 1 (GLUT1) Deficiency Syndrome: Impaired Glucose Transport into Brain – a Review ». *European Journal of Pediatrics* 161(6):295-304. doi: 10.1007/s00431-002-0939-3.

Klunk, William E., Henry Engler, Agneta Nordberg, Yanming Wang, Gunnar Blomqvist, Daniel P. Holt, Mats Bergström, Irina Savitcheva, Guo-Feng Huang, Sergio Estrada, Birgitta Ausén, Manik L. Debnath, Julien Barletta, Julie C. Price, Johan Sandell, Brian J. Lopresti, Anders Wall, Pernilla Koivisto, Gunnar Antoni, Chester A. Mathis, et Bengt Långström. 2004. « Imaging Brain Amyloid in Alzheimer's Disease with Pittsburgh Compound-B ». *Annals of Neurology* 55(3):306-19. doi: 10.1002/ana.20009.

Kogan, Feliks, Hari Hariharan, et Ravinder Reddy. 2013. « Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST) Imaging: Description of Technique and Potential Clinical Applications ». *Current Radiology Reports* 1(2):102-14. doi: 10.1007/s40134-013-0010-3.

Kogan, Feliks, Anup Singh, Catherine Debrosse, Mohammad Haris, Keija Cai, Ravi Prakash Nanga, Mark Elliott, Hari Hariharan, et Ravinder Reddy. 2013. « Imaging of glutamate in the spinal cord using GluCEST ». *NeuroImage* 77:262-67. doi: 10.1016/j.neuroimage.2013.03.072.

Kotyk, John J., Robert S. Rust, Joseph J. H. Ackerman, et Ruthmary K. Deuel. 1989. « Simultaneous In Vivb Monitoring of Cerebral Deoxyglucose and Deoxyglucos-6-Phosphate by L3ClH Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy ». *Journal of Neurochemistry* 53(5):1620-28. doi: 10.1111/j.1471-4159.1989.tb08560.x.

Krebs, Hans Adolf. 1940. « The citric acid cycle and the Szent-Györgyi cycle in pigeon breast muscle ». *Biochemical Journal* 34(5):775-79. doi: 10.1042/bj0340775.

Kumar, Anil, Dieter Welti, et Richard R. Ernst. 1975. « NMR Fourier Zeugmatography ». *Journal of Magnetic Resonance (1969)* 18(1):69-83. doi: 10.1016/0022-2364(75)90224-3.

Kurhanewicz, John, Robert Bok, Sarah J. Nelson, et Daniel B. Vigneron. 2008. « Current and Potential Applications of Clinical 13C MR Spectroscopy ». *Journal of Nuclear Medicine* 49(3):341-44. doi: 10.2967/jnumed.107.045112.

Laughton, Jocelyn D., Philippe Bittar, Yves Charnay, Luc Pellerin, Enikö Kovari, Pierre J. Magistretti, et Constantin Bouras. 2007. « Metabolic Compartmentalization in the Human Cortex and Hippocampus: Evidence for a Cell- and Region-Specific Localization of Lactate Dehydrogenase 5 and Pyruvate Dehydrogenase ». *BMC Neuroscience* 8(1):35. doi: 10.1186/1471-2202-8-35.

Lauterbur, P. C. 1973. « Image Formation by Induced Local Interactions: Examples Employing Nuclear Magnetic Resonance ». *Nature* 242(5394):190-91. doi: 10.1038/242190a0.

Lavisse, Sonia, Martine Guillermier, Anne-Sophie Hérard, Fanny Petit, Marion Delahaye, Nadja Van Camp, Lucile Ben Haim, Vincent Lebon, Philippe Remy, Frédéric Dollé, Thierry Delzescaux, Gilles Bonvento, Philippe Hantraye, et Carole Escartin. 2012. « Reactive Astrocytes Overexpress TSPO and Are Detected by TSPO Positron Emission Tomography Imaging ». *Journal of Neuroscience* 32(32):10809-18. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1487-12.2012.

Lebon, Vincent, Kitt F. Petersen, Gary W. Cline, Jun Shen, Graeme F. Mason, Sylvie Dufour, Kevin L. Behar, Gerald I. Shulman, et Douglas L. Rothman. 2002. « Astroglial Contribution to Brain Energy Metabolism in Humans Revealed by ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy: Elucidation of the Dominant Pathway for Neurotransmitter Glutamate Repletion and Measurement of Astrocytic Oxidative Metabolism ». *The Journal of Neuroscience* 22(5):1523-31. doi: 10.1523/JNEUROSCI.22-05-01523.2002.

Lee, Young Han, Jaemoon Yang, Ha-Kyu Jeong, et Jin-Suck Suh. 2017. « Assessment of the Patellofemoral Cartilage: Correlation of Knee Pain Score with Magnetic Resonance Cartilage Grading and Magnetization Transfer Ratio Asymmetry of Glycosaminoglycan Chemical Exchange Saturation Transfer ». *Magnetic Resonance Imaging* 35:61-68. doi: 10.1016/j.mri.2016.08.014.

Leuzy, Antoine, Konstantinos Chiotis, Laetitia Lemoine, Per-Göran Gillberg, Ove Almkvist, Elena Rodriguez-Vieitez, et Agneta Nordberg. 2019. « Tau PET Imaging in Neurodegenerative Tauopathies—Still a Challenge ». *Molecular Psychiatry* 24(8):1112-34. doi: 10.1038/s41380-018-0342-8.

Li, Hui-Yan, Hui Liu, Chen-Hui Wang, Ji-Yan Zhang, Jiang-Hong Man, Yan-Fei Gao, Pei-Jing Zhang, Wei-Hua Li, Jie Zhao, Xin Pan, Tao Zhou, Wei-Li Gong, Ai-Ling Li, et Xue-Min Zhang. 2008. « Deactivation of the Kinase IKK by CUEDC2 through Recruitment of the Phosphatase PP1 ». *Nature Immunology* 9(5):533-41. doi: 10.1038/ni.1600.

Li, Xiaojuan, Daniel Kuo, Alexander Theologis, Julio Carballido-Gamio, Christoph Stehling, Thomas M. Link, C. Benjamin Ma, et Sharmila Majumdar. 2011. « Cartilage in Anterior Cruciate Ligament-Reconstructed Knees: MR Imaging T1{rho} and T2--Initial Experience with 1-Year Follow-Up ». *Radiology* 258(2):505-14. doi: 10.1148/radiol.10101006.

Ligneul, Clémence, Marco Palombo, Edwin Hernández-Garzón, María-Angeles Carrillo-de Sauvage, Julien Flament, Philippe Hantraye, Emmanuel Brouillet, Gilles Bonvento, Carole Escartin, et Julien Valette. 2019. « Diffusion-Weighted Magnetic Resonance Spectroscopy Enables Cell-

Specific Monitoring of Astrocyte Reactivity in Vivo ». *NeuroImage* 191:457-69. doi: 10.1016/j.neuroimage.2019.02.046.

Lin, Alexander P., Frederick Shic, Cathleen Enriquez, et Brian D. Ross. 2003. « Reduced Glutamate Neurotransmission in Patients with Alzheimer's Disease?An in Vivo 13C Magnetic Resonance Spectroscopy Study ». *MAGMA Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine* 16(1):29-42. doi: 10.1007/s10334-003-0004-x.

Lin, Wei-Che, Hsiu-Ling Chen, Tun-Wei Hsu, Chien-Chin Hsu, Yung-Cheng Huang, Nai-Wen Tsai, et Cheng-Hsien Lu. 2017. « Correlation between Dopamine Transporter Degradation and Striatocortical Network Alteration in Parkinson's Disease ». *Frontiers in Neurology* 8:323. doi: 10.3389/fneur.2017.00323.

Ling, Wen, Ravinder R. Regatte, Gil Navon, et Alexej Jerschow. 2008. « Assessment of Glycosaminoglycan Concentration in Vivo by Chemical Exchange-Dependent Saturation Transfer (GagCEST) ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105(7):2266-70. doi: 10.1073/pnas.0707666105.

Lovatt, D., U. Sonnewald, H. S. Waagepetersen, A. Schousboe, W. He, J. H. C. Lin, X. Han, T. Takano, S. Wang, F. J. Sim, S. A. Goldman, et M. Nedergaard. 2007. « The Transcriptome and Metabolic Gene Signature of Protoplasmic Astrocytes in the Adult Murine Cortex ». *Journal of Neuroscience* 27(45):12255-66. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3404-07.2007.

Lund-Andersen, H. 1979. « Transport of glucose from blood to brain. » *Physiological Reviews* 59(2):305-52. doi: 10.1152/physrev.1979.59.2.305.

Lying-Tunell, Ulla, B. S. Lindblad, H. O. Malmlund, et B. Persson. 1981. « Cerebral Blood Flow and Metabolic Rate of Oxygen, Glucose, Lactate, Pyruvate, Ketone Bodies and Amino Acids ». *Acta Neurologica Scandinavica* 63(6):337-50. doi: 10.1111/j.1600-0404.1981.tb00788.x.

Lyman, Monty, Dafydd G. Lloyd, Xunming Ji, Marcela P. Vizcaychipi, et Daqing Ma. 2014. « Neuroinflammation: The Role and Consequences ». *Neuroscience Research* 79:1-12. doi: 10.1016/j.neures.2013.10.004.

M. de la Monte, Suzanne. 2012. « Brain Insulin Resistance and Deficiency as Therapeutic Targets in Alzheimer's Disease ». *Current Alzheimer Research* 9(1):35-66. doi: 10.2174/156720512799015037.

Mächler, Philipp, Matthias T. Wyss, Maha Elsayed, Jillian Stobart, Robin Gutierrez, Alexandra von Faber-Castell, Vincens Kaelin, Marc Zuend, Alejandro San Martín, Ignacio Romero-Gómez, Felipe Baeza-Lehnert, Sylvain Lengacher, Bernard L. Schneider, Patrick Aebischer, Pierre J. Magistretti, L. Felipe Barros, et Bruno Weber. 2016. « In Vivo Evidence for a Lactate Gradient from Astrocytes to Neurons ». *Cell Metabolism* 23(1):94-102. doi: 10.1016/j.cmet.2015.10.010.

Magistretti, Pierre J., et Igor Allaman. 2007. « Glycogen: A Trojan Horse for Neurons ». *Nature Neuroscience* 10(11):1341-42. doi: 10.1038/nn1107-1341.

Magistretti, Pierre J., et Igor Allaman. 2015. « A Cellular Perspective on Brain Energy Metabolism and Functional Imaging ». *Neuron* 86(4):883-901. doi: 10.1016/j.neuron.2015.03.035.

Magistretti, Pierre J., Luc Pellerin, Douglas L. Rothman, et Robert G. Shulman. 1999. « Energy on Demand ». *Science* 283(5401):496-97. doi: 10.1126/science.283.5401.496.

Maier, Timm, Simon Jenni, et Nenad Ban. 2006. « Architecture of Mammalian Fatty Acid Synthase at 4.5 Å Resolution ». *Science* 311(5765):1258-62. doi: 10.1126/science.1123248.

Manfré, Giuseppe, Erik K. H. Clemensson, Elisavet I. Kyriakou, Laura E. Clemensson, Johanneke E. van der Harst, Judith R. Homberg, et Huu Phuc Nguyen. 2017. « The BACHD Rat Model of Huntington Disease Shows Specific Deficits in a Test Battery of Motor Function ». *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 11.

Mangia, Silvia, Mauro DiNuzzo, Federico Giove, Anthony Carruthers, Ian A. Simpson, et Susan J. Vannucci. 2011. « Response to 'Comment on Recent Modeling Studies of Astrocyte—Neuron Metabolic Interactions': Much Ado about Nothing ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 31(6):1346-53. doi: 10.1038/jcbfm.2011.29.

Mansfield, P. 1977. « Multi-Planar Image Formation Using NMR Spin Echoes ». 10(3):L55-58. doi: 10.1088/0022-3719/10/3/004.

Mansfield, P., et P. K. Grannell. 1973. « NMR "diffraction" in Solids? » 6(22):L422-26. doi: 10.1088/0022-3719/6/22/007.

Manyevitch, Roni, Matthew Protas, Sean Scarpiello, Marisa Deliso, Brittany Bass, Anthony Nanajian, Matthew Chang, Stefani M. Thompson, Neil Khoury, Rachel Gonnella, Margit Trotz, D. Blaine Moore, Emily Harms, George Perry, Lucy Clunes, Angelica Ortiz, Jan O. Friedrich, et Ian V. J. Murray. 2018. « Evaluation of Metabolic and Synaptic Dysfunction Hypotheses of Alzheimer's Disease (AD): A Meta-Analysis of CSF Markers ». *Current Alzheimer Research* 15(2):164-81. doi: 10.2174/1567205014666170921122458.

Mason, Graeme F., Douglas L. Rothman, Kevin L. Behar, et Robert G. Shulman. 1992. « NMR Determination of the TCA Cycle Rate and α-Ketoglutarate/Glutamate Exchange Rate in Rat Brain ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 12(3):434-47. doi: 10.1038/jcbfm.1992.61.

Maugard, Marianne. 2018. « Role of Astrocytic Serine in Learning and Memory and Its Implications in Alzheimer's Disease. » phdthesis, Université Paris Saclay (COmUE).

McConnell, Harden M. 1958. « Reaction Rates by Nuclear Magnetic Resonance ». *The Journal of Chemical Physics* 28(3):430-31. doi: 10.1063/1.1744152.

McKenna, Mary C., Gerald A. Dienel, Ursula Sonnewald, Helle S. Waagepetersen, et Arne Schousboe. 2012. « Chapter 11 - Energy Metabolism of the Brain ». P. 200-231 in *Basic Neurochemistry (Eighth Edition)*, édité par S. T. Brady, G. J. Siegel, R. W. Albers, et D. L. Price. New York: Academic Press.

McNay, Ewan C., Cecilia T. Ong, Rory J. McCrimmon, James Cresswell, Jonathan S. Bogan, et Robert S. Sherwin. 2010. « Hippocampal memory processes are modulated by insulin and high-fat-induced insulin resistance ». *Neurobiology of learning and memory* 93(4):546-53. doi: 10.1016/j.nlm.2010.02.002.

Mink, J. W., R. J. Blumenschine, et D. B. Adams. 1981. « Ratio of central nervous system to body metabolism in vertebrates: its constancy and functional basis ». *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 241(3):R203-12. doi: 10.1152/ajpregu.1981.241.3.R203.

Minoshima, Saroshi, Bruno Giordani, Stanley Berent, Kirk A. Frey, Norman L. Foster, et David E. Kuhl. 1997. « Metabolic Reduction in the Posterior Cingulate Cortex in Very Early Alzheimer's Disease ». *Annals of Neurology* 42(1):85-94. doi: 10.1002/ana.410420114.

de la Monte, Suzanne M. 2009. « Insulin resistance and Alzheimer's disease ». *BMB reports* 42(8):475-81.

de la Monte, Suzanne M. 2012. « Metabolic derangements mediate cognitive impairment and Alzheimer's disease: role of peripheral insulin resistance diseases ». *Panminerva medica* 54(3):171-78.

Moonen, C. T., M. von Kienlin, P. C. van Zijl, J. Cohen, J. Gillen, P. Daly, et G. Wolf. 1989. « Comparison of Single-Shot Localization Methods (STEAM and PRESS) for in Vivo Proton NMR Spectroscopy ». *NMR in Biomedicine* 2(5-6):201-8. doi: 10.1002/nbm.1940020506.

Morales, Inelia, Leonardo Guzmán-Martínez, Cristóbal Cerda-Troncoso, Gonzalo A. Farías, et Ricardo B. Maccioni. 2014. « Neuroinflammation in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. A Rational Framework for the Search of Novel Therapeutic Approaches ». *Frontiers in Cellular Neuroscience* 8:112. doi: 10.3389/fncel.2014.00112.

Mori, S., C. Abeygunawardana, P. C. van Zijl, et J. M. Berg. 1996. « Water Exchange Filter with Improved Sensitivity (WEX II) to Study Solvent-Exchangeable Protons. Application to the Consensus Zinc Finger Peptide CP-1 ». *Journal of Magnetic Resonance. Series B* 110(1):96-101. doi: 10.1006/jmrb.1996.0015.

Mori, S., J. M. Berg, et P. C. van Zijl. 1996. « Separation of Intramolecular NOE and Exchange Peaks in Water Exchange Spectroscopy Using Spin-Echo Filters ». *Journal of Biomolecular NMR* 7(1):77-82. doi: 10.1007/BF00190459.

Morris, Peter, et Herman Bachelard. 2003. « Reflections on the Application of 13C-MRS to Research on Brain Metabolism ». *NMR in Biomedicine* 16(6-7):303-12. doi: 10.1002/nbm.844.

Morrison, C., G. Stanisz, et R. M. Henkelman. 1995. « Modeling Magnetization Transfer for Biological-like Systems Using a Semi-Solid Pool with a Super-Lorentzian Lineshape and Dipolar Reservoir ». *Journal of Magnetic Resonance. Series B* 108(2):103-13. doi: 10.1006/jmrb.1995.1111.

Morton, Gregory J., Thomas H. Meek, et Michael W. Schwartz. 2014. « Neurobiology of Food Intake in Health and Disease ». *Nature Reviews. Neuroscience* 15(6):367-78. doi: 10.1038/nrn3745.

Mosconi, Lisa, Alberto Pupi, et Mony J. De Leon. 2008. « Brain Glucose Hypometabolism and Oxidative Stress in Preclinical Alzheimer's Disease ». *Annals of the New York Academy of Sciences* 1147(1):180-95. doi: 10.1196/annals.1427.007.

Mueller, Andre, Heiko Kroth, Mathias Berndt, Francesca Capotosti, Jerome Molette, Hanno Schieferstein, Felix Oden, Tanja Juergens, Vincent Darmency, Heribert Schmitt-Willich, David Hickman, Gilles Tamagnan, Andrea Pfeifer, Ludger Dinkelborg, Andrew Stephens, et Andreas Muhs. 2017. « Characterization of the Novel PET Tracer PI-2620 for the Assessment of Tau Pathology in Alzheimer's Disease and Other Tauopathies ». *Journal of Nuclear Medicine* 58(supplement 1):847-847.

Müller-Lutz, Anja, Christoph Schleich, Benjamin Schmitt, Gerald Antoch, Felix Matuschke, Michael Quentin, Hans-Jörg Wittsack, et Falk Miese. 2016. « Gender, BMI and T2 Dependencies of

Glycosaminoglycan Chemical Exchange Saturation Transfer in Intervertebral Discs ». *Magnetic Resonance Imaging* 34(3):271-75. doi: 10.1016/j.mri.2015.10.024.

Naia, Luana, I. Luísa Ferreira, Teresa Cunha-Oliveira, Ana I. Duarte, Márcio Ribeiro, Tatiana R. Rosenstock, Mário N. Laço, Maria J. Ribeiro, Catarina R. Oliveira, Frédéric Saudou, Sandrine Humbert, et A. Cristina Rego. 2015. « Activation of IGF-1 and Insulin Signaling Pathways Ameliorate Mitochondrial Function and Energy Metabolism in Huntington's Disease Human Lymphoblasts ». *Molecular Neurobiology* 51(1):331-48. doi: 10.1007/s12035-014-8735-4.

Nakanishi, H., N. F. Cruz, K. Adachi, L. Sokoloff, et G. A. Dienel. 1996. « Influence of Glucose Supply and Demand on Determination of Brain Glucose Content with Labeled Methylglucose ». *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 16(3):439-49. doi: 10.1097/00004647-199605000-00010.

Nanga, Ravi Prakash Reddy, Catherine DeBrosse, Dushyant Kumar, David Roalf, Brendan McGeehan, Kevin D'Aquilla, Arijitt Borthakur, Hari Hariharan, Damodara Reddy, Mark Elliott, John A. Detre, Cynthia Neill Epperson, et Ravinder Reddy. 2018. « Reproducibility of 2D GluCEST in Healthy Human Volunteers at 7 T ». *Magnetic Resonance in Medicine* 80(5):2033-39. doi: 10.1002/mrm.27362.

Nasrallah, Fatima A., Guilhem Pagès, Philip W. Kuchel, Xavier Golay, et Kai-Hsiang Chuang. 2013. « Imaging brain deoxyglucose uptake and metabolism by glucoCEST MRI ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 33(8):1270-78. doi: 10.1038/jcbfm.2013.79.

Nehlig, Astrid, Elisabeth Wittendorp-Rechenmann, et Chang Dao Lam. 2004. « Selective Uptake of [14C]2-Deoxyglucose by Neurons and Astrocytes: High-Resolution Microautoradiographic Imaging by Cellular 14C-Trajectography Combined with Immunohistochemistry ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 24(9):1004-14. doi: 10.1097/01.WCB.0000128533.84196.D8.

Nelson, Thomas, Elaine E. Kaufman, et Louis Sokoloff. 1984. « 2-Deoxyglucose Incorporation into Rat Brain Glycogen During Measurement of Local Cerebral Glucose Utilization by the 2-Deoxyglucose Method ». *Journal of Neurochemistry* 43(4):949-56. doi: 10.1111/j.1471-4159.1984.tb12829.x.

Neubauer, Stefan, Meinrad Beer, Wilfried Landschütz, Jörn Sandstede, Tobias Seyfarth, Claudia Lipke, Herbert Köstler, Thomas Pabst, Werner Kenn, Martin Meininger, Markus von Kienlin, Michael Horn, Kerstin Harre, et Dietbert Hahn. 2000. « Absolute Quantification of High Energy Phosphate Metabolites in Normal, Hypertrophied and Failing Human Myocardium ». *Magma: Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology, and Medicine* 11(1):73-74. doi: 10.1007/BF02678501.

Ng, Man-Cheuk, Jun Hua, Yong Hu, Keith D. Luk, et Edmund Y. Lam. 2009. « Magnetization Transfer (MT) Asymmetry Around the Water Resonance in Human Cervical Spinal Cord ». *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI* 29(3):523-28. doi: 10.1002/jmri.21610.

Nicholson, Charles, et Sabina Hrabětová. 2017. « Brain Extracellular Space: The Final Frontier of Neuroscience ». *Biophysical Journal* 113(10):2133-42. doi: 10.1016/j.bpj.2017.06.052.

Noble, Florence, Elisabeth Rubira, Mohamed Boulanouar, Bruno Palmier, Michel Plotkine, Jean-Michel Warnet, Catherine Marchand-Leroux, et France Massicot. 2007. « Acute Systemic

Inflammation Induces Central Mitochondrial Damage and Mnesic Deficit in Adult Swiss Mice ». *Neuroscience Letters* 424(2):106-10. doi: 10.1016/j.neulet.2007.07.005.

Obici, Silvana, Zhaohui Feng, George Karkanias, Denis G. Baskin, et Luciano Rossetti. 2002. « Decreasing Hypothalamic Insulin Receptors Causes Hyperphagia and Insulin Resistance in Rats ». *Nature Neuroscience* 5(6):566-72. doi: 10.1038/nn0602-861.

Obici, Silvana, Bei B. Zhang, George Karkanias, et Luciano Rossetti. 2002. « Hypothalamic Insulin Signaling Is Required for Inhibition of Glucose Production ». *Nature Medicine* 8(12):1376-82. doi: 10.1038/nm1202-798.

Ogawa, M., H. Fukuyama, Y. Ouchi, H. Yamauchi, et J. Kimura. 1996. « Altered Energy Metabolism in Alzheimer's Disease ». *Journal of the Neurological Sciences* 139(1):78-82.

Ono, Koki, Shota Takigawa, et Katsuya Yamada. 2020. « L-Glucose: Another Path to Cancer Cells ». *Cancers* 12(4):850. doi: 10.3390/cancers12040850.

Oomura, Y., T. Ono, H. Ooyama, et M. J. Wayner. 1969. « Glucose and Osmosensitive Neurones of the Rat Hypothalamus ». *Nature* 222(5190):282-84. doi: 10.1038/222282a0.

Ori, Carlo, Mauro Dam, Gilberto Pizzolato, Leontino Battistin, et Giampiero Giron. 1986. « Effects of Isoflurane Anesthesia on Local Cerebral Glucose Utilization in the Rat ». *Anesthesiology* 65(2):152-56. doi: 10.1097/00000542-198608000-00004.

Pa, Judy, Anne S. Berry, Mariana Compagnone, Jacqueline Boccanfuso, Ian Greenhouse, Michael T. Rubens, Julene K. Johnson, et Adam Gazzaley. 2013. « Cholinergic Enhancement of Functional Networks in Older Adults with Mild Cognitive Impairment ». *Annals of Neurology* 73(6):762-73. doi: 10.1002/ana.23874.

Pace, Norman R. 2001. « The Universal Nature of Biochemistry ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98(3):805-8. doi: 10.1073/pnas.98.3.805.

Pajak, B., E. Siwiak, M. Sołtyka, A. Priebe, R. Zieliński, I. Fokt, M. Ziemniak, A. Jaśkiewicz, R. Borowski, T. Domoradzki, et W. Priebe. 2019. « 2-Deoxy-d-Glucose and Its Analogs: From Diagnostic to Therapeutic Agents ». *International Journal of Molecular Sciences* 21(1):E234. doi: 10.3390/ijms21010234.

Pang, Y., S. Lin, C. Wright, J. Shen, K. Carter, A. Bhatt, et L. W. Fan. 2016. « Intranasal Insulin Protects against Substantia Nigra Dopaminergic Neuronal Loss and Alleviates Motor Deficits Induced by 6-OHDA in Rats ». *Neuroscience* 318:157-65. doi: 10.1016/j.neuroscience.2016.01.020.

Park, Ji Eun, Ho Sung Kim, Kye Jin Park, Choong Gon Choi, et Sang Joon Kim. 2015. « Histogram Analysis of Amide Proton Transfer Imaging to Identify Contrast-enhancing Low-Grade Brain Tumor That Mimics High-Grade Tumor: Increased Accuracy of MR Perfusion ». *Radiology* 277(1):151-61. doi: 10.1148/radiol.2015142347.

Parnetti, Lucilla, Roberto Tarducci, Otello Presciutti, David T. Lowenthal, Margherita Pippi, Barbara Palumbo, Gianni Gobbi, Gian Piero Pelliccioli, et Umberto Senin. 1997. « Proton Magnetic Resonance Spectroscopy Can Differentiate Alzheimer's Disease from Normal Aging ». *Mechanisms of Ageing and Development* 97(1):9-14. doi: 10.1016/S0047-6374(97)01877-0.

Paul, Ian A., et Phil Skolnick. 2003. « Glutamate and Depression: Clinical and Preclinical Studies ». *Annals of the New York Academy of Sciences* 1003:250-72. doi: 10.1196/annals.1300.016.

Pekar, J., P. Jezzard, D. A. Roberts, J. S. Leigh, J. A. Frank, et A. C. McLaughlin. 1996. « Perfusion Imaging with Compensation for Asymmetric Magnetization Transfer Effects ». *Magnetic Resonance in Medicine* 35(1):70-79. doi: 10.1002/mrm.1910350110.

Pellerin, L., et P. J. Magistretti. 1994. « Glutamate Uptake into Astrocytes Stimulates Aerobic Glycolysis: A Mechanism Coupling Neuronal Activity to Glucose Utilization. » *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91(22):10625-29. doi: 10.1073/pnas.91.22.10625.

Pellerin, Luc, Anne-Karine Bouzier-Sore, Agnès Aubert, Sébastien Serres, Michel Merle, Robert Costalat, et Pierre J. Magistretti. 2007. « Activity-Dependent Regulation of Energy Metabolism by Astrocytes: An Update ». *Glia* 55(12):1251-62. doi: 10.1002/glia.20528.

Pelligrino, D. A., D. J. Miletich, et R. F. Albrecht. 1987. « Time Course of Radiolabeled 2-Deoxy-D-Glucose 6-Phosphate Turnover in Cerebral Cortex of Goats ». *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. doi: 10.1152/ajpregu.1987.252.2.R276.

Pepin, Jeremy. 2018. « Développement de l'imagerie métabolique par IRM-CEST: application à la maladie de Huntington ». 229.

Pereira, Thiago M. C., Larissa Z. Côco, Alyne M. M. Ton, Silvana S. Meyrelles, Manuel Campos-Toimil, Bianca P. Campagnaro, et Elisardo C. Vasquez. 2021. « The Emerging Scenario of the Gut–Brain Axis: The Therapeutic Actions of the New Actor Kefir against Neurodegenerative Diseases ». *Antioxidants* 10(11):1845. doi: 10.3390/antiox10111845.

Perot, Jean-Baptiste. 2021. « IRM multiparamétrique pour la recherche de biomarqueurs précoces des maladies par expansion de polyglutamine ».

Petroff, Ognen A. C. 2002. « Book Review: GABA and Glutamate in the Human Brain ». *The Neuroscientist* 8(6):562-73. doi: 10.1177/1073858402238515.

Pfeuffer, Josef, Ivan Tkáč, et Rolf Gruetter. 2000. « Extracellular–Intracellular Distribution of Glucose and Lactate in the Rat Brain Assessed Noninvasively by Diffusion-Weighted 1H Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy In Vivo ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 20(4):736-46. doi: 10.1097/00004647-200004000-00011.

Phelps, M. E., S. C. Huang, E. J. Hoffman, C. Selin, L. Sokoloff, et D. E. Kuhl. 1979. « Tomographic measurement of local cerebral glucose metabolic rate in humans with (F-18)2-fluoro-2-deoxy-D-glucose: Validation of method ». *Annals of Neurology* 6(5):371-88. doi: 10.1002/ana.410060502.

Plum, Leona, Markus Schubert, et Jens C. Brüning. 2005. « The Role of Insulin Receptor Signaling in the Brain ». *Trends in Endocrinology & Metabolism* 16(2):59-65. doi: 10.1016/j.tem.2005.01.008.

Politis, Marios, Nicola Pavese, Yen F. Tai, Lorenzo Kiferle, Sarah L. Mason, David J. Brooks, Sarah J. Tabrizi, Roger A. Barker, et Paola Piccini. 2010. « Microglial activation in regions related to cognitive function predicts disease onset in Huntington's disease: A multimodal imaging study ». *Human Brain Mapping* 32(2):258-70. doi: 10.1002/hbm.21008.

Puts, Nicolaas A. J., et Richard A. E. Edden. 2012. « In vivo magnetic resonance spectroscopy of GABA: A methodological review ». *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* 60:29-41. doi: 10.1016/j.pnmrs.2011.06.001.

Qin, Zheng-Hong, Yumei Wang, Kimberly B. Kegel, Aleksey Kazantsev, Barbara L. Apostol, Leslie Michels Thompson, Jennifer Yoder, Neil Aronin, et Marian DiFiglia. 2003. « Autophagy regulates the processing of amino terminal huntingtin fragments ». *Human Molecular Genetics* 12(24):3231-44. doi: 10.1093/hmg/ddg346.

Rahner-Welsch, Sylvia, Johannes Vogel, et Wolfgang Kuschinsky. 1995. « Regional Congruence and Divergence of Glucose Transporters (GLUT1) and Capillaries in Rat Brains ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 15(4):681-86. doi: 10.1038/jcbfm.1995.84.

Ramos, Milagros, Araceli del Arco, Beatriz Pardo, Alberto Martínez-Serrano, Juan Ramón Martínez-Morales, Keiko Kobayashi, Tomotsugu Yasuda, Elena Bogónez, Paola Bovolenta, Takeyori Saheki, et Jorgina Satrústegui. 2003. « Developmental Changes in the Ca2+-Regulated Mitochondrial Aspartate–Glutamate Carrier Aralar1 in Brain and Prominent Expression in the Spinal Cord ». *Developmental Brain Research* 143(1):33-46. doi: 10.1016/S0165-3806(03)00097-X.

Rangaraju, Vidhya, Nathaniel Calloway, et Timothy A. Ryan. 2014. « Activity-Driven Local ATP Synthesis Is Required for Synaptic Function ». *Cell* 156(4):825-35. doi: 10.1016/j.cell.2013.12.042.

Ravikumar, Brinda, Rainer Duden, et David C. Rubinsztein. 2002. « Aggregate-prone proteins with polyglutamine and polyalanine expansions are degraded by autophagy ». *Human Molecular Genetics* 11(9):1107-17. doi: 10.1093/hmg/11.9.1107.

Riese, Florian, Anton Gietl, Niklaus Zölch, Anke Henning, Ruth O'Gorman, Andrea M. Kälin, Sandra E. Leh, Alfred Buck, Geoffrey Warnock, Richard A. E. Edden, Roger Luechinger, Christoph Hock, Spyros Kollias, et Lars Michels. 2015. « Posterior Cingulate γ-Aminobutyric Acid and Glutamate/Glutamine Are Reduced in Amnestic Mild Cognitive Impairment and Are Unrelated to Amyloid Deposition and Apolipoprotein E Genotype ». *Neurobiology of Aging* 36(1):53-59. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2014.07.030.

Risacher, Shannon L., et Andrew J. Saykin. 2019. « Neuroimaging in Aging and Neurologic Diseases ». P. 191-227 in *Handbook of Clinical Neurology*. Vol. 167. Elsevier.

Rivlin, Michal, Judith Horev, Ilan Tsarfaty, et Gil Navon. 2013. « Molecular imaging of tumors and metastases using chemical exchange saturation transfer (CEST) MRI ». *Scientific Reports* 3:3045. doi: 10.1038/srep03045.

Rivlin, Michal, et Gil Navon. 2018. « CEST MRI of 3-O-Methyl-D-Glucose on Different Breast Cancer Models ». *Magnetic Resonance in Medicine* 79(2):1061-69. doi: 10.1002/mrm.26752.

Rivlin, Michal, et Gil Navon. 2019. « Molecular imaging of tumors by chemical exchange saturation transfer MRI of glucose analogs ». *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery* 9(10):1731-46. doi: 10.21037/qims.2019.09.12.

Rivlin, Michal, Ilan Tsarfaty, et Gil Navon. 2014. « Functional Molecular Imaging of Tumors by Chemical Exchange Saturation Transfer MRI of 3-O-Methyl-D-Glucose ». *Magnetic Resonance in Medicine* 72(5):1375-80. doi: 10.1002/mrm.25467.

Roberts, Rosebud O., David S. Knopman, Ruth H. Cha, Michelle M. Mielke, V. Shane Pankratz, Bradley F. Boeve, Kejal Kantarci, Yonas E. Geda, Clifford R. Jack, Ronald C. Petersen, et Val J. Lowe. 2014. « Diabetes and Elevated Hemoglobin A1c Levels Are Associated with Brain

Hypometabolism but Not Amyloid Accumulation ». *Journal of Nuclear Medicine* 55(5):759-64. doi: 10.2967/jnumed.113.132647.

Rodrigues, Tiago, Julien Valette, et Anne-Karine Bouzier-Sore. 2013. « 13C NMR spectroscopy applications to brain energy metabolism ». *Frontiers in Neuroenergetics* 5.

Ronnett, Gabriele V., Amy M. Kleman, Eun-Kyoung Kim, Leslie E. Landree, et Yajun Tu. 2006. « Fatty Acid Metabolism, the Central Nervous System, and Feeding ». *Obesity* 14(S8):201S-207S. doi: 10.1038/oby.2006.309.

Röntgen, W. C. 1896. « On a New Kind of Rays ». *Science* 3(59):227-31.

Rose, Adam J., et Erik A. Richter. 2005. « Skeletal Muscle Glucose Uptake During Exercise: How is it Regulated? » *Physiology* 20(4):260-70. doi: 10.1152/physiol.00012.2005.

Rothman, Douglas L., Henk M. De Feyter, Robin A. de Graaf, Graeme F. Mason, et Kevin L. Behar. 2011. « 13C MRS studies of neuroenergetics and neurotransmitter cycling in humans ». *NMR in biomedicine* 24(8):943-57. doi: 10.1002/nbm.1772.

Rouach, Nathalie, Annette Koulakoff, Veronica Abudara, Klaus Willecke, et Christian Giaume. 2008. « Astroglial Metabolic Networks Sustain Hippocampal Synaptic Transmission ». *Science*. doi: 10.1126/science.1164022.

Rowe, Christopher C., Uwe Ackerman, William Browne, Rachel Mulligan, Kerryn L. Pike, Graeme O'Keefe, Henry Tochon-Danguy, Gordon Chan, Salvatore U. Berlangieri, Gareth Jones, Kerryn L. Dickinson-Rowe, Hank P. Kung, Wei Zhang, Mei Ping Kung, Daniel Skovronsky, Thomas Dyrks, Gerhard Holl, Sabine Krause, Matthias Friebe, Lutz Lehman, Stefanie Lindemann, Ludger M. Dinkelborg, Colin L. Masters, et Victor L. Villemagne. 2008. « Imaging of Amyloid β in Alzheimer's Disease with 18F-BAY94-9172, a Novel PET Tracer: Proof of Mechanism ». *The Lancet Neurology* 7(2):129-35. doi: 10.1016/S1474-4422(08)70001-2.

Rubinsztein, David C. 2006. « The Roles of Intracellular Protein-Degradation Pathways in Neurodegeneration ». *Nature* 443(7113):780-86. doi: 10.1038/nature05291.

Rudd, J. h. f., E. a. Warburton, T. d. Fryer, H. a. Jones, J. c. Clark, N. Antoun, P. Johnström, A. p. Davenport, P. j. Kirkpatrick, B. n. Arch, J. d. Pickard, et P. l. Weissberg. 2002. « Imaging Atherosclerotic Plaque Inflammation With [18F]-Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography ». *Circulation* 105(23):2708-11. doi: 10.1161/01.CIR.0000020548.60110.76.

Ruppert, Marina C., Andrea Greuel, Masoud Tahmasian, Frank Schwartz, Sophie Stürmer, Franziska Maier, Jochen Hammes, Marc Tittgemeyer, Lars Timmermann, Thilo van Eimeren, Alexander Drzezga, et Carsten Eggers. 2020. « Network degeneration in Parkinson's disease: multimodal imaging of nigro-striato-cortical dysfunction ». *Brain* 143(3):944-59. doi: 10.1093/brain/awaa019.

Sacktor, Bertram, John E. Wilson, et G. Tiekert. 1966. « Regulation of Glycolysis in Brain, in Situ, during Convulsions ». 241(21):6.

Sage, Jay M., et Anthony Carruthers. 2014. « Human erythrocytes transport dehydroascorbic acid and sugars using the same transporter complex ». *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 306(10):C910-17. doi: 10.1152/ajpcell.00044.2014.

Samokhina, Evgeniya, Irina Popova, Anton Malkov, Anton I. Ivanov, Daniela Papadia, Alexander Osypov, Maxim Molchanov, Svetlana Paskevich, André Fisahn, Misha Zilberter, et Yuri Zilberter. 2017. « Chronic Inhibition of Brain Glycolysis Initiates Epileptogenesis ». *Journal of Neuroscience Research* 95(11):2195-2206. doi: 10.1002/jnr.24019.

Sandoval, Darleen, Daniela Cota, et Randy J. Seeley. 2008. « The Integrative Role of CNS Fuel-Sensing Mechanisms in Energy Balance and Glucose Regulation ». *Annual Review of Physiology* 70:513-35. doi: 10.1146/annurev.physiol.70.120806.095256.

Santos, M. S., A. J. Moreno, et A. P. Carvalho. 1996. « Relationships between ATP Depletion, Membrane Potential, and the Release of Neurotransmitters in Rat Nerve Terminals. An in Vitro Study under Conditions That Mimic Anoxia, Hypoglycemia, and Ischemia ». *Stroke* 27(5):941-50. doi: 10.1161/01.str.27.5.941.

Schleich, Christoph, Anja Müller-Lutz, Lisa Zimmermann, Johannes Boos, Benjamin Schmitt, Hans-Jörg Wittsack, Gerald Antoch, et Falk Miese. 2016. « Biochemical Imaging of Cervical Intervertebral Discs with Glycosaminoglycan Chemical Exchange Saturation Transfer Magnetic Resonance Imaging: Feasibility and Initial Results ». *Skeletal Radiology* 45(1):79-85. doi: 10.1007/s00256-015-2251-0.

Schmitt, Benjamin, Moritz Zaiß, Jinyuan Zhou, et Peter Bachert. 2011. « Optimization of Pulse Train Presaturation for CEST Imaging in Clinical Scanners ». *Magnetic Resonance in Medicine* 65(6):1620-29. doi: 10.1002/mrm.22750.

Schmitt, Benjamin, Štefan Zbýň, David Stelzeneder, Vladimir Jellus, Dominik Paul, Lars Lauer, Peter Bachert, et Siegfried Trattnig. 2011. « Cartilage Quality Assessment by Using Glycosaminoglycan Chemical Exchange Saturation Transfer and 23Na MR Imaging at 7 T ». *Radiology* 260(1):257-64. doi: 10.1148/radiol.11101841.

Schubert, M., D. Gautam, D. Surjo, K. Ueki, S. Baudler, D. Schubert, T. Kondo, J. Alber, N. Galldiks, E. Kustermann, S. Arndt, A. H. Jacobs, W. Krone, C. R. Kahn, et J. C. Bruning. 2004. « Role for Neuronal Insulin Resistance in Neurodegenerative Diseases ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101(9):3100-3105. doi: 10.1073/pnas.0308724101.

Schwartz, Michael W., et Daniel Porte. 2005. « Diabetes, Obesity, and the Brain ». *Science (New York, N.Y.)* 307(5708):375-79. doi: 10.1126/science.1104344.

Sehgal, Akansha Ashvani, Yuguo Li, Bachchu Lal, Nirbhay N. Yadav, Xiang Xu, Jiadi Xu, John Laterra, et Peter C. M. van Zijl. 2019. « CEST MRI of 3-O-Methyl-D-Glucose Uptake and Accumulation in Brain Tumors ». *Magnetic Resonance in Medicine* 81(3):1993-2000. doi: 10.1002/mrm.27489.

Serdons, Kim, Christelle Terwinghe, Peter Vermaelen, Koen Van Laere, Hank Kung, Luc Mortelmans, Guy Bormans, et Alfons Verbruggen. 2009. « Synthesis and Evaluation of 18F-Labeled 2-Phenylbenzothiazoles as Positron Emission Tomography Imaging Agents for Amyloid Plaques in Alzheimer's Disease ». *Journal of Medicinal Chemistry* 52(5):1428-37. doi: 10.1021/jm8013376.

Serres, Sébastien, Eric Bezancon, Jean-Michel Franconi, et Michel Merle. 2005. « Ex Vivo NMR Study of Lactate Metabolism in Rat Brain under Various Depressed States ». *Journal of Neuroscience Research* 79(1-2):19-25. doi: 10.1002/jnr.20277.

Shah, Disha, Ines Blockx, Pieter-Jan Guns, Peter Paul De Deyn, Debby Van Dam, Elisabeth Jonckers, Rafael Delgado y Palacios, Marleen Verhoye, et Annemie Van der Linden. 2015. « Acute

Modulation of the Cholinergic System in the Mouse Brain Detected by Pharmacological Resting-State Functional MRI ». *NeuroImage* 109:151-59. doi: 10.1016/j.neuroimage.2015.01.009.

Sheline, Yvette I., et Marcus E. Raichle. 2013. « Resting State Functional Connectivity in Preclinical Alzheimer's Disease ». *Biological Psychiatry* 74(5):340-47. doi: 10.1016/j.biopsych.2012.11.028.

Shibata, Mamoru, Tao Lu, Tsuyoshi Furuya, Alexei Degterev, Noboru Mizushima, Tamotsu Yoshimori, Marcy MacDonald, Bruce Yankner, et Junying Yuan. 2006. « Regulation of Intracellular Accumulation of Mutant Huntingtin by Beclin 1 * ». *Journal of Biological Chemistry* 281(20):14474-85. doi: 10.1074/jbc.M600364200.

Shih, Yen-Yu I., Hsiao-Ying Wey, Bryan H. De La Garza, et Timothy Q. Duong. 2011. « Striatal and Cortical BOLD, Blood Flow, Blood Volume, Oxygen Consumption, and Glucose Consumption Changes in Noxious Forepaw Electrical Stimulation ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 31(3):832-41. doi: 10.1038/jcbfm.2010.173.

Siedek, Florian, Sin Yuin Yeo, Edwin Heijman, Olga Grinstein, Grischa Bratke, Carola Heneweer, Michael Puesken, Thorsten Persigehl, David Maintz, et Holger Grüll. 2019. « Magnetic Resonance-Guided High-Intensity Focused Ultrasound (MR-HIFU): Technical Background and Overview of Current Clinical Applications (Part 1) ». *RöFo - Fortschritte Auf Dem Gebiet Der Röntgenstrahlen Und Der Bildgebenden Verfahren* 191(6):522-30. doi: 10.1055/a-0817-5645.

Simpson, Ian A., Donard Dwyer, Daniela Malide, Kelle H. Moley, Alexander Travis, et Susan J. Vannucci. 2008. « The facilitative glucose transporter GLUT3: 20 years of distinction ». *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 295(2):E242-53. doi: 10.1152/ajpendo.90388.2008.

Singh, Anju, Ritushree Kukreti, Luciano Saso, et Shrikant Kukreti. 2019. « Oxidative Stress: A Key Modulator in Neurodegenerative Diseases ». *Molecules* 24(8):1583. doi: 10.3390/molecules24081583.

Singh, Anup, Mohammad Haris, Kejia Cai, Victor B. Kassey, Feliks Kogan, Damodar Reddy, Hari Hariharan, et Ravinder Reddy. 2012. « Chemical Exchange Saturation Transfer Magnetic Resonance Imaging of Human Knee Cartilage at 3 T and 7 T ». *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine* 68(2):588-94. doi: 10.1002/mrm.23250.

Smith, C. B., C. Goochee, S. I. Rapoport, et L. Sokoloff. 1980. « Effects of Ageing on Local Rates of Cerebral Glucose Utilization in the Rat ». *Brain: A Journal of Neurology* 103(2):351-65. doi: 10.1093/brain/103.2.351.

Soesbe, Todd C., Yunkou Wu, et A. Dean Sherry. 2013. « Advantages of Paramagnetic Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST) Complexes Having Slow to Intermediate Water Exchange Properties as Responsive MRI Agents ». *NMR in Biomedicine* 26(7):829-38. doi: 10.1002/nbm.2874.

Sokoloff, L., M. Reivich, C. Kennedy, M. H. Des Rosiers, C. S. Patlak, K. D. Pettigrew, O. Sakurada, et M. Shinohara. 1977. « The [14c]Deoxyglucose Method for the Measurement of Local Cerebral Glucose Utilization: Theory, Procedure, and Normal Values in the Conscious and Anesthetized Albino Rat1 ». *Journal of Neurochemistry* 28(5):897-916. doi: 10.1111/j.1471-4159.1977.tb10649.x.

Sokoloff, Louis. 1993. « Sites and Mechanisms of Function-Related Changes in Energy Metabolism in the Nervous System ». *Developmental Neuroscience* 15(3-5):194-206. doi: 10.1159/000111335.

Solomon, I. 1955. « Relaxation Processes in a System of Two Spins ». *Physical Review* 99(2):559-65. doi: 10.1103/PhysRev.99.559.

Southworth, Richard, Craig R. Parry, Harold G. Parkes, Rodolfo A. Medina, et Pamela B. Garlick. 2003. « Tissue-Specific Differences in 2-Fluoro-2-Deoxyglucose Metabolism beyond FDG-6-P: A 19F NMR Spectroscopy Study in the Rat ». *NMR in Biomedicine* 16(8):494-502. doi: 10.1002/nbm.856.

Steffens, A. B., A. J. Scheurink, Jr D. Porte, et S. C. Woods. 1988. « Penetration of Peripheral Glucose and Insulin into Cerebrospinal Fluid in Rats ». *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. doi: 10.1152/ajpregu.1988.255.2.R200.

Stejskal, E. O., et J. E. Tanner. 1965. « Spin Diffusion Measurements: Spin Echoes in the Presence of a Time-Dependent Field Gradient ». *The Journal of Chemical Physics* 42(1):288-92. doi: 10.1063/1.1695690.

Stephenson, Jodie, Erik Nutma, Paul van der Valk, et Sandra Amor. 2018. « Inflammation in CNS Neurodegenerative Diseases ». *Immunology* 154(2):204-19. doi: 10.1111/imm.12922.

Sun, Phillip Zhe. 2010. « Simultaneous Determination of Labile Proton Concentration and Exchange Rate Utilizing Optimal RF Power: Radio Frequency Power (RFP) Dependence of Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST) MRI ». *Journal of Magnetic Resonance (San Diego, Calif.: 1997)* 202(2):155-61. doi: 10.1016/j.jmr.2009.10.012.

Sun, Phillip Zhe, Thomas Benner, Ashok Kumar, et A. Gregory Sorensen. 2008. « Investigation of Optimizing and Translating PH-Sensitive Pulsed-Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST) Imaging to a 3T Clinical Scanner ». *Magnetic Resonance in Medicine* 60(4):834-41. doi: 10.1002/mrm.21714.

Sun, Phillip Zhe, et A. Gregory Sorensen. 2008. « Imaging PH Using the Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST) MRI: Correction of Concomitant RF Irradiation Effects to Quantify CEST MRI for Chemical Exchange Rate and PH ». *Magnetic Resonance in Medicine* 60(2):390-97. doi: 10.1002/mrm.21653.

Sun, Phillip Zhe, Enfeng Wang, et Jerry S. Cheung. 2012. « Imaging Acute Ischemic Tissue Acidosis with PH-Sensitive Endogenous Amide Proton Transfer (APT) MRI—Correction of Tissue Relaxation and Concomitant RF Irradiation Effects toward Mapping Quantitative Cerebral Tissue PH ». *NeuroImage* 60(1). doi: 10.1016/j.neuroimage.2011.11.091.

Sun, Phillip Zhe, Enfeng Wang, Jerry S. Cheung, Xiaoan Zhang, Thomas Benner, et A. Gregory Sorensen. 2011. « Simulation and Optimization of Pulsed Radio Frequency Irradiation Scheme for Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST) MRI-Demonstration of PH-Weighted Pulsed-Amide Proton CEST MRI in an Animal Model of Acute Cerebral Ischemia ». *Magnetic Resonance in Medicine* 66(4):1042-48. doi: 10.1002/mrm.22894.

Sun, Phillip Zhe, Yu Wang, Gang Xiao, et Renhua Wu. 2013. « Simultaneous Experimental Determination of Labile Proton Fraction Ratio and Exchange Rate with Irradiation Radio Frequency Power-Dependent Quantitative CEST MRI Analysis ». *Contrast Media & Molecular Imaging* 8(3):246-51. doi: 10.1002/cmmi.1524.

Sun, Phillip Zhe, Gang Xiao, Iris Yuwen Zhou, Yingkun Guo, et Renhua Wu. 2016. « A Method for Accurate PH Mapping with Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST) MRI ». *Contrast Media & Molecular Imaging* 11(3). doi: 10.1002/cmmi.1680.

Sun, Phillip Zhe, Jinyuan Zhou, Weiyun Sun, Judy Huang, et Peter C. M. van Zijl. 2005. « Suppression of Lipid Artifacts in Amide Proton Transfer Imaging ». *Magnetic Resonance in Medicine* 54(1):222-25. doi: 10.1002/mrm.20530.

Sun, Phillip Zhe, Peter C. M. van Zijl, et Jinyuan Zhou. 2005. « Optimization of the Irradiation Power in Chemical Exchange Dependent Saturation Transfer Experiments ». *Journal of Magnetic Resonance* 175(2):193-200. doi: 10.1016/j.jmr.2005.04.005.

Suzuki, M., J. D. O'Dea, T. Suzuki, et N. S. Agar. 1983. « 2-Deoxyglucose as a Substrate for Glutathione Regeneration in Human and Ruminant Red Blood Cells ». *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* 75(2):195-97. doi: 10.1016/0305-0491(83)90312-7.

Swanson, Scott D., Dariya I. Malyarenko, Mario L. Fabiilli, Robert C. Welsh, Jon-Fredrik Nielsen, et Ashok Srinivasan. 2017. « Molecular, Dynamic, and Structural Origin of Inhomogeneous Magnetization Transfer in Lipid Membranes ». *Magnetic Resonance in Medicine* 77(3):1318-28. doi: 10.1002/mrm.26210.

SWEET, W. G. 1953. « Localization of brain tumors with positron emitters ». *Nucleonics* 11:40-45.

Sweet, William H. 1951. « The Uses of Nuclear Disintegration in the Diagnosis and Treatment of Brain Tumor ». *New England Journal of Medicine* 245(23):875-78. doi: 10.1056/NEJM195112062452301.

Szczepankiewicz, Filip, Samo Lasič, Jimmy Lätt, Danielle Westen, Carl-Fredrik Westin, Freddy Ståhlberg, Daniel Topgaard, et Markus Nilsson. 2014. *Diffusion MRI with q-vector magic angle spinning (qMAS) disentangles effects of micro-anisotropy and orientation dispersion*.

Talbot, Konrad, Hoau-Yan Wang, Hala Kazi, Li-Ying Han, Kalindi P. Bakshi, Andres Stucky, Robert L. Fuino, Krista R. Kawaguchi, Andrew J. Samoyedny, Robert S. Wilson, Zoe Arvanitakis, Julie A. Schneider, Bryan A. Wolf, David A. Bennett, John Q. Trojanowski, et Steven E. Arnold. 2012. « Demonstrated Brain Insulin Resistance in Alzheimer's Disease Patients Is Associated with IGF-1 Resistance, IRS-1 Dysregulation, and Cognitive Decline ». *The Journal of Clinical Investigation* 122(4):1316-38. doi: 10.1172/JCI59903.

Tatsumi, Mitsuaki, Christian Cohade, Yuji Nakamoto, et Richard L. Wahl. 2003. « Fluorodeoxyglucose Uptake in the Aortic Wall at PET/CT: Possible Finding for Active Atherosclerosis ». *Radiology* 229(3):831-37. doi: 10.1148/radiol.2293021168.

Teo, Roy Tang Yi, Xin Hong, Libo Yu-Taeger, Yihui Huang, Liang Juin Tan, Yuanyun Xie, Xuan Vinh To, Ling Guo, Reshmi Rajendran, Arianna Novati, Carsten Calaminus, Olaf Riess, Michael R. Hayden, Huu P. Nguyen, Kai-Hsiang Chuang, et Mahmoud A. Pouladi. 2016. « Structural and molecular myelination deficits occur prior to neuronal loss in the YAC128 and BACHD models of Huntington disease ». *Human Molecular Genetics* 25(13):2621-32. doi: 10.1093/hmg/ddw122.

Thompson, Leslie Michels. 2008. « A Question of Balance ». *Nature* 452(7188):707-8. doi: 10.1038/452707a.

Thorens, Bernard, et Mike Mueckler. 2010. « Glucose transporters in the 21st Century ». *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 298(2):E141-45. doi: 10.1152/ajpendo.00712.2009.

Togao, Osamu, Takashi Yoshiura, Jochen Keupp, Akio Hiwatashi, Koji Yamashita, Kazufumi Kikuchi, Yuriko Suzuki, Satoshi O. Suzuki, Toru Iwaki, Nobuhiro Hata, Masahiro Mizoguchi, Koji Yoshimoto, Koji Sagiyama, Masaya Takahashi, et Hiroshi Honda. 2014. « Amide proton transfer imaging of adult diffuse gliomas: correlation with histopathological grades ». *Neuro-Oncology* 16(3):441-48. doi: 10.1093/neuonc/not158.

Tolomeo, Daniele, Edoardo Micotti, Sonia Colombo Serra, Michael Chappell, Anniina Snellman, et Gianluigi Forloni. 2018. « Chemical exchange saturation transfer MRI shows low cerebral 2-deoxy-D-glucose uptake in a model of Alzheimer's Disease ». *Scientific Reports* 8:9576. doi: 10.1038/s41598-018-27839-7.

Toussaint, Paule-Joanne, Sofiane Maiz, David Coynel, Julien Doyon, Arnaud Messé, Leonardo Cruz de Souza, Marie Sarazin, Vincent Perlbarg, Marie-Odile Habert, et Habib Benali. 2014. « Characteristics of the Default Mode Functional Connectivity in Normal Ageing and Alzheimer's Disease Using Resting State FMRI with a Combined Approach of Entropy-Based and Graph Theoretical Measurements ». *NeuroImage* 101:778-86. doi: 10.1016/j.neuroimage.2014.08.003.

Tremblay, Cyntia, Arnaud François, Charlotte Delay, Laure Freland, Milène Vandal, David A. Bennett, et Frédéric Calon. 2017. « Association of Neuropathological Markers in the Parietal Cortex With Antemortem Cognitive Function in Persons With Mild Cognitive Impairment and Alzheimer Disease ». *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 76(2):70-88. doi: 10.1093/jnen/nlw109.

Tu, Tsang-Wei, Wael G. Ibrahim, Neekita Jikaria, Jeeva P. Munasinghe, Jaclyn A. Witko, Dima A. Hammoud, et Joseph A. Frank. 2018. « On the Detection of Cerebral Metabolic Depression in Experimental Traumatic Brain Injury Using Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST)-Weighted MRI ». *Scientific Reports* 8(1):669. doi: 10.1038/s41598-017-19094-z.

Vancampfort, Davy, Brendon Stubbs, Alex J. Mitchell, Marc De Hert, Martien Wampers, Philip B. Ward, Simon Rosenbaum, et Christoph U. Correll. 2015. « Risk of Metabolic Syndrome and Its Components in People with Schizophrenia and Related Psychotic Disorders, Bipolar Disorder and Major Depressive Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis ». *World Psychiatry* 14(3):339-47. doi: 10.1002/wps.20252.

Vannucci, S. J., R. R. Clark, E. Koehler-Stec, K. Li, C. B. Smith, P. Davies, F. Maher, et I. A. Simpson. 1998. « Glucose Transporter Expression in Brain: Relationship to Cerebral Glucose Utilization ». *Developmental Neuroscience* 20(4-5):369-79. doi: 10.1159/000017333.

Varrone, Andrea, Vesa Oikonen, Anton Forsberg, Juho Joutsa, Akihiro Takano, Olof Solin, Merja Haaparanta-Solin, Sangram Nag, Ryuji Nakao, Nabil Al-Tawil, Lisa A. Wells, Eugenii A. Rabiner, Ray Valencia, Marcus Schultze-Mosgau, Andrea Thiele, Sonja Vollmer, Thomas Dyrks, Lutz Lehmann, Tobias Heinrich, Anja Hoffmann, Agneta Nordberg, Christer Halldin, et Juha O. Rinne. 2015. « Positron Emission Tomography Imaging of the 18-KDa Translocator Protein (TSPO) with [18F]FEMPA in Alzheimer's Disease Patients and Control Subjects ». *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 42(3):438-46. doi: 10.1007/s00259-014-2955-8.

Vila, Miquel, et Serge Przedborski. 2003. « Targeting Programmed Cell Death in Neurodegenerative Diseases ». *Nature Reviews Neuroscience* 4(5):365-75. doi: 10.1038/nrn1100.

Villemagne, Victor L., Frederik Barkhof, Valentina Garibotto, Susan M. Landau, Agneta Nordberg, et Bart N. M. van Berckel. 2021. « Molecular Imaging Approaches in Dementia ». *Radiology* 298(3):517-30. doi: 10.1148/radiol.2020200028.

Villemagne, Victor L., et Christopher C. Rowe. 2010. « Amyloid PET Ligands for Dementia ». *PET Clinics* 5(1):33-53. doi: 10.1016/j.cpet.2009.12.008.

Vinayagamoorthi, R., Zachariah Bobby, et M. G. Sridhar. 2008. « Antioxidants Preserve Redox Balance and Inhibit C-Jun-N-Terminal Kinase Pathway While Improving Insulin Signaling in Fat-Fed Rats: Evidence for the Role of Oxidative Stress on IRS-1 Serine Phosphorylation and Insulin Resistance ». *Journal of Endocrinology* 197(2):287-96. doi: 10.1677/JOE-08-0061.

Vincent, Melissa. 2021. « Nouveaux outils de RMN pondérée en diffusion pour la caractérisation des différents compartiments tissulaires dans le cerveau de rongeur in vivo ». 195.

Vinogradov, Elena, A. Dean Sherry, et Robert E. Lenkinski. 2013. « CEST: from basic principles to applications, challenges and opportunities ». *Journal of magnetic resonance (San Diego, Calif. : 1997)* 229:155-72. doi: 10.1016/j.jmr.2012.11.024.

Von Bernhardi, Rommy. 2007. « Glial Cell Dysregulation: A New Perspective on Alzheimer Disease ». *Neurotoxicity Research* 12(4):215-32. doi: 10.1007/BF03033906.

Wada, Tatsuhiro, Osamu Togao, Chiaki Tokunaga, Ryohei Funatsu, Yasuo Yamashita, Kouji Kobayashi, Yasuhiko Nakamura, et Hiroshi Honda. 2017. « Glycosaminoglycan Chemical Exchange Saturation Transfer in Human Lumbar Intervertebral Discs: Effect of Saturation Pulse and Relationship with Low Back Pain ». *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 45(3):863-71. doi: 10.1002/jmri.25397.

Walji, Abbas M., Eric D. Hostetler, Harold Selnick, Zhizhen Zeng, Patricia Miller, Idriss Bennacef, Cristian Salinas, Brett Connolly, Liza Gantert, Marie Holahan, Stacey O'Malley, Mona Purcell, Kerry Riffel, Jing Li, Jaume Balsells, Julie A. OBrien, Stacey Melquist, Aileen Soriano, Xiaoping Zhang, Aimie Ogawa, Serena Xu, Elizabeth Joshi, Joseph Della Rocca, Fred J. Hess, Joel Schachter, David Hesk, David Schenk, Arie Struyk, Kerim Babaoglu, Talakad G. Lohith, Yaode Wang, Kun Yang, Jianmin Fu, Jeffrey L. Evelhoch, et Paul J. Coleman. 2016. « Discovery of 6-(Fluoro-18F)-3-(1H-pyrrolo[2,3-c]pyridin-1-yl)isoquinolin-5-amine ([18F]-MK-6240): A Positron Emission Tomography (PET) Imaging Agent for Quantification of Neurofibrillary Tangles (NFTs) ». *Journal of Medicinal Chemistry* 59(10):4778-89. doi: 10.1021/acs.jmedchem.6b00166.

Walker, Zuzana, Federica Gandolfo, Stefania Orini, Valentina Garibotto, Federica Agosta, Javier Arbizu, Femke Bouwman, Alexander Drzezga, Peter Nestor, Marina Boccardi, Daniele Altomare, Cristina Festari, Flavio Nobili, et EANM-EAN Task Force for the recommendation of FDG PET for Dementing Neurodegenerative Disorders. 2018. « Clinical Utility of FDG PET in Parkinson's Disease and Atypical Parkinsonism Associated with Dementia ». *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 45(9):1534-45. doi: 10.1007/s00259-018-4031-2.

Walker-Samuel, Simon, Peter Johnson, Francisco Torrealdea, Marilena Rega, Simon Richardson, Rajiv Ramasawmy, Rosamund Pedley, Dave Thomas, Mark Lythgoe, et Xavier Golay. 2011. « Assessment of tumour glucose uptake using glucose-CEST ».

Walker-Samuel, Simon, Rajiv Ramasawmy, Francisco Torrealdea, Marilena Rega, Vineeth Rajkumar, S. Peter Johnson, Simon Richardson, Miguel Gonçalves, Harold G. Parkes, Erik Årstad, David L. Thomas, R. Barbara Pedley, Mark F. Lythgoe, et Xavier Golay. 2013. « In vivo imaging of glucose uptake and metabolism in tumors ». *Nature medicine* 19(8):1067-72. doi: 10.1038/nm.3252.

Wang, Jihong, Joseph Weygand, Ken-Pin Hwang, Abdallah S. R. Mohamed, Yao Ding, Clifton D. Fuller, Stephen Y. Lai, Steven J. Frank, et Jinyuan Zhou. 2016. « Magnetic Resonance Imaging of Glucose Uptake and Metabolism in Patients with Head and Neck Cancer ». *Scientific Reports* 6:30618. doi: 10.1038/srep30618.

Wang, Kun, Meng Liang, Liang Wang, Lixia Tian, Xinqing Zhang, Kuncheng Li, et Tianzi Jiang. 2007. « Altered Functional Connectivity in Early Alzheimer's Disease: A Resting-State FMRI Study ». *Human Brain Mapping* 28(10):967-78. doi: 10.1002/hbm.20324.

Wang, Wenjing, Christina K. Kim, et Alice Y. Ting. 2019. « Molecular Tools for Imaging and Recording Neuronal Activity ». *Nature Chemical Biology* 15(2):101-10. doi: 10.1038/s41589-018-0207-0.

Warburg, Otto, Franz Wind, et Erwin Negelein. 1927. « The metabolism of tumors in the body ». *The Journal of General Physiology* 519-30.

Webb, Julie L., Brinda Ravikumar, Jane Atkins, Jeremy N. Skepper, et David C. Rubinsztein. 2003. « α-Synuclein Is Degraded by Both Autophagy and the Proteasome * ». *Journal of Biological Chemistry* 278(27):25009-13. doi: 10.1074/jbc.M300227200.

Werry, Eryn L., Fiona M. Bright, Olivier Piguet, Lars M. Ittner, Glenda M. Halliday, John R. Hodges, Matthew C. Kiernan, Clement T. Loy, Jillian J. Kril, et Michael Kassiou. 2019. « Recent Developments in TSPO PET Imaging as A Biomarker of Neuroinflammation in Neurodegenerative Disorders ». *International Journal of Molecular Sciences* 20(13):E3161. doi: 10.3390/ijms20133161.

White, Hayden, et Balasubramanian Venkatesh. 2011. « Clinical review: Ketones and brain injury ». *Critical Care* 15(2):219. doi: 10.1186/cc10020.

Whitwell, Jennifer L. 2018. « Alzheimer's Disease Neuroimaging ». *Current Opinion in Neurology* 31(4):396-404. doi: 10.1097/WCO.0000000000000570.

Willette, Auriel A., Barbara B. Bendlin, Erika J. Starks, Alex C. Birdsill, Sterling C. Johnson, Bradley T. Christian, Ozioma C. Okonkwo, Asenath La Rue, Bruce P. Hermann, Rebecca L. Koscik, Erin M. Jonaitis, Mark A. Sager, et Sanjay Asthana. 2015. « Association of Insulin Resistance With Cerebral Glucose Uptake in Late Middle–Aged Adults at Risk for Alzheimer Disease ». *JAMA Neurology* 72(9):1013-20. doi: 10.1001/jamaneurol.2015.0613.

Wittes, J., E. Lakatos, et J. Probstfield. 1989. « Surrogate Endpoints in Clinical Trials: Cardiovascular Diseases ». *Statistics in Medicine* 8(4):415-25. doi: 10.1002/sim.4780080405.

Wolff, Steven D., et Robert S. Balaban. 1989. « Magnetization Transfer Contrast (MTC) and Tissue Water Proton Relaxation in Vivo ». *Magnetic Resonance in Medicine* 10(1):135-44. doi: 10.1002/mrm.1910100113.

Wong, Dean F., Paul B. Rosenberg, Yun Zhou, Anil Kumar, Vanessa Raymont, Hayden T. Ravert, Robert F. Dannals, Ayon Nandi, James R. Brašić, Weiguo Ye, John Hilton, Constantine Lyketsos, Hank F. Kung, Abhinay D. Joshi, Daniel M. Skovronsky, et Michael J. Pontecorvo.

2010. « In Vivo Imaging of Amyloid Deposition in Alzheimer Disease Using the Radioligand 18F-AV-45 (Flobetapir F 18) ». *Journal of Nuclear Medicine* 51(6):913-20. doi: 10.2967/jnumed.109.069088.

Wong, Yun-Hua H., Linda A. Mauck, et William R. Sherman. 1982. « [50]l-Myo-Inositol-1-Phosphate Synthase from Bovine Testis ». P. 309-14 in *Methods in Enzymology*. Vol. 90, *Carbohydrate Metabolism - Part E*, édité par W. A. Wood. Academic Press.

Woodcock, Eric A., Ansel T. Hillmer, Graeme F. Mason, et Kelly P. Cosgrove. 2019. « Imaging Biomarkers of the Neuroimmune System among Substance Use Disorders: A Systematic Review ». *Molecular Neuropsychiatry* 5(3):125-46. doi: 10.1159/000499621.

Wright, Ernest M., Donald D. F. Loo, et Bruce A. Hirayama. 2011. « Biology of Human Sodium Glucose Transporters ». *Physiological Reviews* 91(2):733-94. doi: 10.1152/physrev.00055.2009.

Wu, Dan, Jiadi Xu, Jun Lei, Michael Mclane, Peter C. van Zijl, et Irina Burd. 2018. « Dynamic glucose enhanced MRI of the placenta in a mouse model of intrauterine inflammation ». *Placenta* 69:86-91. doi: 10.1016/j.placenta.2018.07.012.

Wu, Yin, Iris Yuwen Zhou, Dongshuang Lu, Emiri Manderville, Eng H. Lo, Hairong Zheng, et Phillip Zhe Sun. 2018. « PH-Sensitive Amide Proton Transfer Effect Dominates the Magnetization Transfer Asymmetry Contrast during Acute Ischemia—Quantification of Multipool Contribution to in Vivo CEST MRI ». *Magnetic Resonance in Medicine* 79(3):1602-8. doi: 10.1002/mrm.26829.

Xu, Xiang, Jiadi Xu, Kannie WY Chan, Jing Liu, Huanling Liu, Yuguo Li, Lin Chen, Guanshu Liu, et Peter C. M. van Zijl. 2019. « GlucoCEST Imaging with On-Resonance Variable Delay Multiple Pulse (onVDMP) MRI ». *Magnetic resonance in medicine* 81(1):47-56. doi: 10.1002/mrm.27364.

Xu, Xiang, Nirbhay N. Yadav, Linda Knutsson, Jun Hua, Rita Kalyani, Erica Hall, John Laterra, Jaishri Blakeley, Roy Strowd, Martin Pomper, Peter Barker, Kannie W. Y. Chan, Guanshu Liu, Michael T. McMahon, Robert D. Stevens, et Peter C. M. van Zijl. 2015. « Dynamic Glucose-Enhanced (DGE) MRI: Translation to Human Scanning and First Results in Glioma Patients ». *Tomography* 1(2):105-14. doi: 10.18383/j.tom.2015.00175.

Xu, Yunqi, Xiaobo Wei, Xu Liu, Jinchi Liao, Jiaping Lin, Cansheng Zhu, Xiaochun Meng, Dongsi Xie, Dongman Chao, Albert J. Fenoy, Muhua Cheng, Beisha Tang, Zhuohua Zhang, Ying Xia, et Qing Wang. 2015. « Low Cerebral Glucose Metabolism: A Potential Predictor for the Severity of Vascular Parkinsonism and Parkinson's Disease ». *Aging and Disease* 6(6):426-36. doi: 10.14336/AD.2015.0204.

Yamada, Katsuya. 2018. « Aberrant Uptake of a Fluorescent L-Glucose Analogue (FLG) into Tumor Cells Expressing Malignant Phenotypes ». *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 41(10):1508-16. doi: 10.1248/bpb.b18-00089.

Yanez Lopez, Maria, Marie-Christine Pardon, Kerstin Baiker, Malcolm Prior, Ding Yuchun, Alessandra Agostini, Li Bai, Dorothee P. Auer, et Henryk M. Faas. 2019. « Myoinositol CEST signal in animals with increased Iba-1 levels in response to an inflammatory challenge—Preliminary findings ». *PLoS ONE* 14(2):e0212002. doi: 10.1371/journal.pone.0212002.

Young, Anne B., John B. Penney, Simon Starosta-Rubinstein, Dorene S. Markel, Stanley Berent, Bruno Giordani, Richard Ehrenkaufer, Douglas Jewett, et Richard Hichwa. 1986. « PET Scan Investigations of Huntington's Disease: Cerebral Metabolic Correlates of Neurological

Features and Functional Decline ». *Annals of Neurology* 20(3):296-303. doi: 10.1002/ana.410200305.

Yudilevich, Dl, et N. De Rose. 1971. « Blood-Brain Transfer of Glucose and Other Molecules Measured by Rapid Indicator Dilution ». *American Journal of Physiology-Legacy Content* 220(3):841-46. doi: 10.1152/ajplegacy.1971.220.3.841.

Yun, Mijin, Sunyung Jang, Andrew Cucchiara, Andrew B. Newberg, et Abass Alavi. 2002. « 18F FDG Uptake in the Large Arteries: A Correlation Study with the Atherogenic Risk Factors ». *Seminars in Nuclear Medicine* 32(1):70-76. doi: 10.1053/snuc.2002.29279.

Yu-Taeger, Libo, Elisabeth Petrasch-Parwez, Alexander P. Osmand, Adriana Redensek, Silke Metzger, Laura E. Clemens, Larry Park, David Howland, Carsten Calaminus, Xiaofeng Gu, Bernd Pichler, X. William Yang, Olaf Riess, et Huu Phuc Nguyen. 2012. « A Novel BACHD Transgenic Rat Exhibits Characteristic Neuropathological Features of Huntington Disease ». *The Journal of Neuroscience* 32(44):15426-38. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1148-12.2012.

Zaiß, Moritz, Benjamin Schmitt, et Peter Bachert. 2011. « Quantitative Separation of CEST Effect from Magnetization Transfer and Spillover Effects by Lorentzian-Line-Fit Analysis of z-Spectra ». *Journal of Magnetic Resonance* 211(2):149-55. doi: 10.1016/j.jmr.2011.05.001.

Zaiss, Moritz, Junzhong Xu, Steffen Goerke, Imad S. Khan, Robert J. Singer, John C. Gore, Daniel F. Gochberg, et Peter Bachert. 2014. « Inverse Z-spectrum analysis for spillover-, MT-, and T1-corrected steady-state pulsed CEST-MRI – application to pH-weighted MRI of acute stroke ». *NMR in biomedicine* 27(3):240-52. doi: 10.1002/nbm.3054.

Zeller, K., R. Duelli, J. Vogel, H. Schröck, et W. Kuschinsky. 1995. « Autoradiographic Analysis of the Regional Distribution of Glut3 Glucose Transporters in the Rat Brain ». *Brain Research* 698(1-2):175-79. doi: 10.1016/0006-8993(95)00888-w.

Zeller, Karin, Sylvia Rahner-Welsch, et Wolfgang Kuschinsky. 1997. « Distribution of Glut1 Glucose Transporters in Different Brain Structures Compared to Glucose Utilization and Capillary Density of Adult Rat Brains ». *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 17(2):204-9. doi: 10.1097/00004647-199702000-00010.

Zhang, Hui, Torben Schneider, Claudia A. Wheeler-Kingshott, et Daniel C. Alexander. 2012. « NODDI: Practical in Vivo Neurite Orientation Dispersion and Density Imaging of the Human Brain ». *NeuroImage* 61(4):1000-1016. doi: 10.1016/j.neuroimage.2012.03.072.

Zhang, Xiao-Yong, Feng Wang, Aqeela Afzal, Junzhong Xu, John C. Gore, Daniel F. Gochberg, et Zhongliang Zu. 2016. « A new NOE-mediated MT signal at around −1.6 ppm for detecting ischemic stroke in rat brain ». *Magnetic resonance imaging* 34(8):1100-1106. doi: 10.1016/j.mri.2016.05.002.

Zhang, Xiao-Yong, Feng Wang, Tao Jin, Junzhong Xu, Jingping Xie, Daniel F. Gochberg, John C. Gore, et Zhongliang Zu. 2017. « MR Imaging of a Novel NOE-mediated Magnetization Transfer with Water in Rat Brain at 9.4 T ». *Magnetic resonance in medicine* 78(2):588-97. doi: 10.1002/mrm.26396.

Zhang, Xiao-Yong, Feng Wang, Hua Li, Junzhong Xu, Daniel F. Gochberg, John C. Gore, et Zhongliang Zu. 2017. « Accuracy in the Quantification of Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST) and relayed Nuclear Overhauser Enhancement (rNOE) saturation transfer effects ». *NMR in biomedicine* 30(7):10.1002/nbm.3716. doi: 10.1002/nbm.3716.

Zhang, Y., K. Chen, S. A. Sloan, M. L. Bennett, A. R. Scholze, S. O'Keeffe, H. P. Phatnani, P. Guarnieri, C. Caneda, N. Ruderisch, S. Deng, S. A. Liddelow, C. Zhang, R. Daneman, T. Maniatis, B. A. Barres, et J. Q. Wu. 2014. « An RNA-Sequencing Transcriptome and Splicing Database of Glia, Neurons, and Vascular Cells of the Cerebral Cortex ». *Journal of Neuroscience* 34(36):11929-47. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1860-14.2014.

Zhao, Xuna, Zhibo Wen, Ge Zhang, Fanheng Huang, Shilong Lu, Xianlong Wang, Shuguang Hu, Min Chen, et Jinyuan Zhou. 2013. « Three-Dimensional Turbo-Spin-Echo Amide Proton Transfer MR Imaging at 3 Tesla and Its Application to High-Grade Human Brain Tumors ». *Molecular imaging and biology : MIB : the official publication of the Academy of Molecular Imaging* 15(1):114-22. doi: 10.1007/s11307-012-0563-1.

Zheng, Haixia, Keiichi Onoda, Yasuko Wada, Shingo Mitaki, Toru Nabika, et Shuhei Yamaguchi. 2017. « Serotonin-1A Receptor C-1019G Polymorphism Affects Brain Functional Networks ». *Scientific Reports* 7(1):12536. doi: 10.1038/s41598-017-12913-3.

Zhou, Jinyuan, Bachchu Lal, David A. Wilson, John Laterra, et Peter C. M. van Zijl. 2003. « Amide Proton Transfer (APT) Contrast for Imaging of Brain Tumors ». *Magnetic Resonance in Medicine* 50(6):1120-26. doi: 10.1002/mrm.10651.

Zhou, Jinyuan, Jean-Francois Payen, David A. Wilson, Richard J. Traystman, et Peter C. M. van Zijl. 2003. « Using the Amide Proton Signals of Intracellular Proteins and Peptides to Detect PH Effects in MRI ». *Nature Medicine* 9(8):1085-90. doi: 10.1038/nm907.

Zhou, Jinyuan, Erik Tryggestad, Zhibo Wen, Bachchu Lal, Tingting Zhou, Rachel Grossman, Silun Wang, Kun Yan, De-Xue Fu, Eric Ford, Betty Tyler, Jaishri Blakeley, John Laterra, et Peter C. M. van Zijl. 2011. « Differentiation between glioma and radiation necrosis using molecular magnetic resonance imaging of endogenous proteins and peptides ». *Nature medicine* 17(1):130-34. doi: 10.1038/nm.2268.

Zhou, Jinyuan, David A. Wilson, Phillip Zhe Sun, Judith A. Klaus, et Peter C. M. van Zijl. 2004. « Quantitative Description of Proton Exchange Processes between Water and Endogenous and Exogenous Agents for WEX, CEST, and APT Experiments ». *Magnetic Resonance in Medicine* 51(5):945-52. doi: 10.1002/mrm.20048.

Zhou, Jinyuan, He Zhu, Michael Lim, Lindsay Blair, Alfredo Quinones-Hinojosa, Steven A. Messina, Charles G. Eberhart, Martin G. Pomper, John Laterra, Peter B. Barker, Peter C. M. van Zijl, et Jaishri O. Blakeley. 2013. « Three-Dimensional Amide Proton Transfer MR Imaging of Gliomas: Initial Experience and Comparison with Gadolinium Enhancement ». *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI* 38(5):10.1002/jmri.24067. doi: 10.1002/jmri.24067.

Zhou, Jinyuan, et Peter C. M. van Zijl. 2006. « Chemical Exchange Saturation Transfer Imaging and Spectroscopy ». *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* 48(2-3):109-36. doi: 10.1016/j.pnmrs.2006.01.001.

van Zijl, P. C. M., C. K. Jones, J. Ren, C. R. Malloy, et A. D. Sherry. 2007. « MRI Detection of Glycogen in Vivo by Using Chemical Exchange Saturation Transfer Imaging (GlycoCEST) ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104(11):4359-64. doi: 10.1073/pnas.0700281104.

van Zijl, Peter C. M., Wilfred W. Lam, Jiadi Xu, Linda Knutsson, et Greg J. Stanisz. 2018. « Magnetization Transfer Contrast and Chemical Exchange Saturation Transfer MRI. Features and Analysis of the Field-Dependent Saturation Spectrum ». *NeuroImage* 168:222-41. doi: 10.1016/j.neuroimage.2017.04.045.

van Zijl, Peter C. M., et Nirbhay N. Yadav. 2011. « Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST): what is in a name and what isn't? » *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine* 65(4):927-48. doi: 10.1002/mrm.22761.

van Zijl, Peter C. M., Jinyuan Zhou, Noriko Mori, Jean-Francois Payen, David Wilson, et Susumu Mori. 2003. « Mechanism of Magnetization Transfer during On-Resonance Water Saturation. A New Approach to Detect Mobile Proteins, Peptides, and Lipids ». *Magnetic Resonance in Medicine* 49(3):440-49. doi: 10.1002/mrm.10398.

Zong, Xiaopeng, Ping Wang, Seong-Gi Kim, et Tao Jin. 2014. « Sensitivity and Source of Amine-Proton Exchange and Amide-Proton Transfer Magnetic Resonance Imaging in Cerebral Ischemia ». *Magnetic Resonance in Medicine* 71(1):118-32. doi: 10.1002/mrm.24639.

Zunszain, Patricia A., Christoph Anacker, Annamaria Cattaneo, Livia A. Carvalho, et Carmine M. Pariante. 2011. « Glucocorticoids, cytokines and brain abnormalities in depression ». *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry* 35(3):722-29. doi: 10.1016/j.pnpbp.2010.04.011.

DOCTORAL SCHOOL
Electrical, Optical, Bio: Physics and Engineering (EOBE)

Titre : Étude du métabolisme énergétique *in vivo* par IRM-CEST du glucose

Mots clés : IRM, CEST, glucose, métabolisme

Résumé : Les maladies neurodégénératives sont un enjeu de société majeur et leur détection précoce est essentielle pour mieux prendre en charge les patients et pour envisager l'application d'un traitement potentiel. L'un des biomarqueurs pour détecter la maladie avant même l'apparition de symptômes est la consommation cérébrale de glucose. En effet, le glucose est une molécule essentielle à la production d'énergie et notre cerveau est l'organe de notre corps qui en consomme le plus. Afin de mieux comprendre la physiopathologie de ces maladies, le recours aux modèles animaux est particulièrement intéressant car il permet, entre autres, d'étudier l'évolution de la maladie dès les premiers mois de vie des animaux. Cependant, les méthodes d'imagerie existantes, telles que la tomographie par émission de positrons ou l'autoradiographie ne sont pas adaptées au suivi longitudinal des nombreux modèles rongeurs existants du fait de leur manque de résolution spatiale ou de la nécessité de sacrifier l'animal. Afin de pallier ces inconvénients nous avons développé au cours de cette thèse l'imagerie de Transfert de Saturation par Échange chimique (CEST) du glucose dont l'objectif était de cartographier le métabolisme énergétique *in vivo* avec une très bonne résolution spatiale. L'objectif de ce travail de thèse a donc été d'optimiser, caractériser et évaluer le potentiel de l'imagerie glucoCEST pour l'investigation du métabolisme cérébral *in vivo*. Nous avons tout d'abord optimisé les paramètres de la séquence CEST afin d'être le plus sensible et spécifique possible au glucose et à ses différents analogues. Nous avons ensuite répondu à une question majeure qui est l'origine compartimentale du signal CEST en montrant qu'il provenait des compartiments extracellulaire et intracellulaire. A partir de ces résultats nous avons évalué le potentiel de l'imagerie CEST à suivre le métabolisme énergétique dans différentes structures cérébrales puis nous l'avons appliqué au suivi longitudinal de rats contrôles et de rats atteints de la maladie de Huntington. Nous avons ainsi pu observer des différences métaboliques entre ces cohortes. Enfin, nous avons travaillé sur la quantification du signal CEST. L'ensemble de ces résultats montre les applications de l'imagerie glucoCEST comme outil pertinent du suivi du métabolisme énergétique cérébral dans les modèles rongeurs.

Title : Study of energy metabolism *in vivo* using CEST-MRI of glucose

Keywords : MRI, CEST, glucose, metabolism

Abstract : Neurodegenerative diseases are a major societal issue and their early detection is essential to better manage patients and to consider the application of a potential treatment. One of the biomarkers for detecting the disease even before the onset of symptoms is cerebral glucose consumption. Indeed, glucose is an essential molecule for energy production and our brain is the organ which consumes the most of glucose. In order to better understand the physiopathology of these diseases, the use of animal models is particularly interesting because it allows, among other things, to study the evolution of the disease from the first months of life of the animals. However, existing imaging methods, such as positron emission tomography or autoradiography, are not suitable for longitudinal follow-up of the many existing rodent models due to their lack of spatial resolution or the need to sacrifice the animal. In order to overcome these drawbacks we developped during this thesis the Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST) imaging of glucose with the goal of mapping the energy metabolism in vivo with a good spatial resolution. The objective of this thesis work was therefore to optimize, characterize and evaluate the potential of glucoCEST imaging for the investigation of brain metabolism in vivo. We first optimized the CEST sequence's parameters in order to be as sensitive and specific as possible to glucose and its analogs. We then answered a major question about the compartmental origin of the CEST signal by showing that it originates from both extracellular and intracellular compartments. Based on these results, we evaluated the potential of CEST imaging to monitor energy metabolism in different brain structures and then applied it to longitudinal monitoring of control rats and rats with Huntington's disease. We were thus able to observe metabolic differences between these cohorts. Finally, we worked on the quantification of the CEST signal. All these results show the applications of glucoCEST imaging as a relevant tool for monitoring cerebral energy metabolism in rodent models.