



HAL
open science

Applications pré-cliniques de l'IRM de perfusion

Wafae Labriji

► **To cite this version:**

Wafae Labriji. Applications pré-cliniques de l'IRM de perfusion. Imagerie médicale. Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2023. Français. NNT : 2023TOU30039 . tel-04198685

HAL Id: tel-04198685

<https://theses.hal.science/tel-04198685>

Submitted on 7 Sep 2023

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 Fédérale



Toulouse Midi-Pyrénées

THÈSE

En vue de l'obtention du
DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par l'Université Toulouse 3 - Paul Sabatier

Présentée et soutenue par

Wafae LABRIJI

Le 30 janvier 2023

Applications pré-cliniques de l'IRM de perfusion

Ecole doctorale : **GEETS - Génie Electrique Electronique, Télécommunications et Santé : du système au nanosystème**

Spécialité : **Radiophysique et Imagerie Médicales**

Unité de recherche :

ToNIC-Toulouse NeuroImaging Center (UMR 1214)

Thèse dirigée par

Franck DESMOULIN

Jury

M. Benjamin LEMASSON, Rapporteur

Mme Angèle VIOLA, Rapporteuse

Mme Isabelle LOUBINOUX, Examinatrice

Mme Emeline Julie RIBOT, Examinatrice

Mme Caroline FONTA, Examinatrice

M. Franck DESMOULIN, Directeur de thèse

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à adresser mes sincères remerciements à mon directeur de thèse, Franck Desmoulin, qui m'a fait confiance. Merci pour ta disponibilité et ta bonne humeur ! Particulièrement pendant les expériences qui pouvaient parfois être très longues . . . Merci pour tout ce que tu m'as appris en IRM/RMN, travailler à tes côtés pendant ces trois années de thèse a été très enrichissant ! Enfin, merci pour ton temps et ta patience pour la relecture et la correction de ce manuscrit.

Je remercie les membres du jury d'avoir accepté de me faire l'honneur d'évaluer mes travaux de thèse et pour leurs critiques bienveillantes et constructives, en particulier mes rapporteurs, Angèle Viola et Benjamin Lemasson. Merci pour le temps et l'expertise que vous avez consacrés à la lecture et à la correction de mon manuscrit de thèse. Vos remarques et commentaires ont été d'une grande valeur ajoutée pour mon travail et m'ont aidé à améliorer considérablement la qualité et la clarté de ce manuscrit. Merci aussi à Emeline Ribot, Caroline Fonta et Isabelle Loubinoux pour les discussions très enrichissantes lors de ma soutenance.

Je tiens à remercier tous les co-auteurs de mon article de doctorat pour leurs précieux conseils et leurs remarques pertinentes.

Je souhaite également remercier mes deux anciens encadrants de stage Florence Fauvelle et Vasil Stupar (Grenoble-GIN). Merci de m'avoir introduite dans le monde de la recherche en général et celui de la RMN en particulier et m'avoir donné envie de faire cette thèse. J'espère que l'on se recroisera dans de futurs congrès.

Merci à Carine Pestourie, responsable du service d'Exploration Non Invasive du Centre Régional d'Exploration Fonctionnelle et de Ressources Expérimentales (ENI - Crefre) où ont été réalisées les différentes études présentées dans ce manuscrit. Merci aussi à Joao Piraquive avec qui j'ai eu le plaisir de réaliser quelques expériences sur l'IRM. Ton travail méticuleux et ton engagement envers la qualité des expériences scientifiques ont été une source d'inspiration pour moi. Je remercie aussi l'équipe iDream de m'avoir accueillie, en particulier Isabelle pour ses conseils et sa bienveillance particulièrement à la fin de ma thèse. Je remercie également mes collègues ToNICiens pour leur gentillesse et leurs encouragements. Je remercie aussi madame Marie Estruga, secrétaire et gestionnaire de l'école doctorale GEETs et madame Maryline Calise secrétaire et gestionnaire de ToNIC, merci pour votre dévouement et votre réactivité.

Merci à toutes les personnes qui ont partagé mon bureau en 308, en particulier **Costanza**, pour les discussions très enrichissantes dans le domaine du traitement d'image. **Julien**, merci de m'avoir fait découvrir le monde de l'apprentissage profond. Ton amour pour la science des données est impressionnant et j'espère que tu pourras trouver ta voie dans ce domaine. **Adrien**, merci pour ta joie de vivre et ta générosité sans limites. Merci aussi pour ton aide si précieuse, pour la

rédaction de ce manuscrit, tes critiques et remarques toujours extrêmement pertinentes, mais aussi ton soutien inégalé lors de la préparation de ma soutenance. **Auguste**, merci pour ta bonne humeur et tes petits cours de maths improvisés à 8 heures du matin. Merci aussi à **Mathilde**, **Marie** et **Karel** pour leur bienveillance et leur joie de vivre ! **Giulia**, merci pour ta positivité sans égale et tes encouragements ! Merci aussi pour les moments passés à Londres en ta compagnie et j'espère que l'on se recroisera dans d'autres congrès à l'avenir. Enfin, merci à vous pour tous les moments de convivialité, de débat et de gourmandise !

Après cela, j'aimerais exprimer ma gratitude envers ma famille et mes amis. Je pense avoir beaucoup de chance de vous avoir à mes côtés, et je vous remercie chaleureusement pour votre soutien et votre présence durant ces trois années de thèse. Merci aussi d'avoir relu (quasiment tous) attentivement mon manuscrit.

Tout d'abord, merci à ma sœur et mon pilier, ma **hanouille**, merci pour tes conseils et tes encouragements au quotidien. Le monde de l'IRM est aussi inconnu pour toi que l'estimateur du maximum a posteriori ne l'est pour moi. Malgré cela, nos discussions ont réussi à guider et orienter positivement mes réflexions à maintes reprises. Pour cela, je te serais éternellement reconnaissante. Ma **juju**, je tiens à te remercier pour ta grande gentillesse, ta générosité et ton soutien indéfectible. Tu as su apporter de la lumière dans les moments difficiles de cette thèse, tu as été (et tu es toujours) une source de motivation au quotidien. Merci aussi pour nos passionnantes discussions d'IRMistes qui ont contribué à enrichir ces travaux de thèse. **Quentin**, merci d'avoir fait partie de mon quotidien en particulier lors de ma première année de thèse, je n'oublierai pas les moments uniques que l'on a partagés pendant le confinement rue du midi ! Ta détermination à réussir dans tes projets et ta passion pour la recherche sont une véritable source d'inspiration pour moi. **Asmaa**, merci pour ta simplicité et ta joie de vivre. Les moments passés ensemble durant ces trois ans, qu'il s'agisse de moments de détente (sous le soleil d'Antibes) ou d'aventure, ont été inoubliables. J'espère que nous aurons l'occasion de voyager ensemble à nouveau. **Clément**, merci pour tes conseils sur mon avenir professionnel. Tes suggestions et ton expérience m'ont permis d'avoir une vision plus claire de mes objectifs et de mes projets futurs. **Diop**, je ne te remercierai jamais assez pour ton soutien inconditionnel. Je te remercie pour tes conseils et ta bonne humeur. J'espère que notre amitié durera encore très très longtemps. **Emrick**, merci pour tes encouragements et ta joie de vivre communicative. J'espère sincèrement que nous pourrions bientôt nous revoir et rattraper le temps perdu. **Diego**, merci pour les moments forts passés ensemble à Grenoble, mais aussi à Londres et à Lyon. Tu as toujours été une source d'inspiration et de motivation pour moi. Hâte de traverser l'océan Atlantique pour venir te rendre visite à São Paulo ! **Bassim**, merci pour les moments passés à Grenoble et ses alentours ! J'espère qu'on pourra se revoir bientôt ! **Azeddine**, merci pour le soutien, la patience, l'écoute et l'aide que tu m'as apporté lors de la rédaction de mon manuscrit. Tes encouragements et tes conseils ont été une source de force et de motivation et ont grandement contribué à la finalisation de cette thèse. Merci aussi de toujours croire en moi.

Ma petite famille, je rejoins à mon tour le cercle des docteurs (j'espère que maintenant j'ai un

peu plus de crédibilité à nos retrouvailles de famille). **Ali** (mon sensei), merci pour ton écoute et tes précieux conseils dans le domaine du traitement de données mais aussi dans la vie de tous les jours. **Amine**, merci pour ta présence le jour de ma soutenance (même si le manque de sommeil t'a trahi à certains moments !) et ton soutien au quotidien. **Maman, papa**, merci de m'avoir transmis votre passion pour la science et la recherche. J'espère que je vous ai rendu fiers de moi !

Table des matières

Remerciements	i
Liste des figures	xv
Liste des tableaux	xvii
1 Introduction	1
1.1 Contexte et objectifs	1
1.2 Organisation de la thèse	3
2 État de l’art	5
2.1 Physiologie de la circulation cérébrale	5
2.1.1 Vascularisation cérébrale	5
2.1.2 Perfusion cérébrale et autorégulation	5
2.1.3 La Barrière Hémato-Encéphalique	8
2.1.4 Pourquoi mesurer la perfusion cérébrale ?	8
2.1.5 Méthodes de mesure de la perfusion cérébrale	10
2.1.5.1 Mesures par IRM	10
2.1.5.2 Autres méthodes	11
2.2 Principes physiques de l’imagerie par résonance magnétique	14
2.2.1 Physique de la RMN	14
2.2.1.1 Champ magnétique statique \vec{B}_0 et aimantation macroscopique . .	15
2.2.1.2 Excitation et champ magnétique tournant \vec{B}_1	16
2.2.1.3 Relaxation	17
2.2.2 Génération d’une image	19
2.2.2.1 Encodage spatial d’une image	19
2.2.2.2 Reconstruction de l’image	21
2.2.3 Séquences conventionnelles	21
2.2.3.1 Echo de Spin	22
2.2.3.2 Echo de Gradient	23
2.2.4 Impulsions RF	24
2.2.5 Plateforme d’imagerie : CREFRE-ENI	27

2.3	La mesure de perfusion cérébrale par marquage de spins artériels	30
2.3.1	Les principales méthodes d'ASL	31
2.3.1.1	Pulsed Arterial Spin Labeling (PASL)	31
2.3.1.2	Continuous Arterial Spin Labeling (CASL)	32
2.3.1.3	Pseudo-Continuous Arterial Spin Labeling (pCASL)	34
2.3.2	La séquence pCASL à hauts champs : Correction des effets d'off-résonance	36
2.3.3	Principes théorique de l'ASL - modèle à compartiment unique	37
2.3.3.1	Approche par l'équation de Bloch	38
2.3.3.2	Approche par le modèle cinétique général	39
2.4	La mesure de perfusion cérébrale par injection d'agent de contraste	44
3	Mise en place de la séquence pCASL	47
3.1	La séquence pCASL avec correction de phase	47
3.1.1	La séquence un-balanced pCASL avec correction de phase	48
3.1.2	Protocole pCASL-CBF détaillé	49
3.1.2.1	Acquisition	49
3.1.2.2	Quantification du CBF	53
3.2	Test et validation de la séquence pCASL	55
3.2.1	Temps de post marquage (PLD) et estimation du temps de transit artériel .	55
3.2.2	Temps de marquage	61
3.2.3	Synchronisation du marquage au signal ECG	66
3.2.4	Test sur un modèle préclinique primate : Le Marmouset	74
3.3	Synthèse	80
4	Effet de l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique sur le débit sanguin cérébral	83
4.1	Article : Evidence of cerebral hypoperfusion consecutive to ultrasound-mediated blood-brain barrier opening in rats	84
4.2	Synthèse	107
5	Effet de l'hypothermie sur le débit cérébral sanguin	109
5.1	Introduction	109
5.2	Matériels et Méthodes	110
5.3	Résultats	115
5.4	Discussion	121
5.5	Synthèse	124
6	Application à un modèle préclinique d'ischémie chez le rat	127
6.1	Introduction	127

6.2	Matériels et Méthodes	129
6.3	Résultats	132
6.4	Discussion	140
6.5	Synthèse	141
7	Conclusion générale	143
7.1	Conclusion	143
7.2	Perspectives	144
	Bibliographie	147
	Résumé	160

Liste des figures

2.1	Anatomie des principaux vaisseaux alimentant le cerveau humain A) obtenu par angiographie par IRM. B) Représentation schématique du polygone de Willis et de ses principales ramifications. [118]	6
2.2	Modifications du débit sanguin cérébral en fonction de la pression de perfusion cérébrale, de la pression partielle en O_2 et en CO_2 dans le cadre du processus d'autorégulation cérébrale [104].	7
2.3	Infarctus cérébral aigu avec pénombre. Image pondérée en diffusion (A) et image B) pondérée en perfusion (PASL). La pénombre désigne la zone d'hypoperfusion plus étendue que la zone présentant une diffusion restreinte [133].	9
2.4	A) Ensemble non aligné de spins (distribution isotrope) en l'absence de champ magnétique. Il n'y a pas d'aimantation résultante. B) Collection de spins alignés en présence d'un champ magnétique externe \vec{B}_0 , créant une aimantation nette. Les moments magnétiques ont été représentés de manière statique par souci de simplification.	15
2.5	Retour à l'équilibre des composantes longitudinale \vec{M}_z et transversale \vec{M}_{xy} après une impulsion RF à 90°	17
2.6	Évolution temporelle de l'aimantation transversale complexe M_{xy} avec une relaxation T_2 pour la courbe grise et une relaxation T_2^* pour la courbe noire. L'enveloppe du signal est caractérisée par une décroissance en T_2 ou T_2^* pour les courbes bleu et rouge, respectivement.	18
2.7	Encodage spatial simplifié d'une image 2D en IRM. Après la selection de coupe, sont appliqué A) un gradient d'encodage de phase et un gradient d'encodage en fréquence. Ce dernier est appliqué simultanément à l'échantillonnage du signal temporel. La transformée de Fourier B) permet ensuite de passer du domaine temporel vers le domaine fréquentiel et isoler ainsi la contribution de chaque voxel au signal RM. Figure inspirée de [16]	20
2.8	Image en magnitude de A) la matrice dans le k-space et B) l'image obtenue après TF. [105]	22
2.9	Chronogramme de la séquence <i>Echo de Spin</i> conventionnelle [67].	22
2.10	Chronogramme d'une séquence <i>Echo de Gradient</i> conventionnelle [67].	23

2.11	Des spins en précession autour de \vec{B}_{eff} lors des différentes étapes d'une inversion adiabatique ; A) $f_1 \ll f_0$, B) $f_1 < f_0$, C) $f_1 = f_0$, D) $f_0 < f_1$ et E) $f_0 \ll f_1$ avec f_0 la fréquence de Larmor et f_1 la fréquence du champ magnétique tournant \vec{B}_1 . Si \vec{B}_{eff} vérifie la condition adiabatique, ces spins suivent la position de \vec{B}_{eff} jusqu'à l'inversion complète de l'aimantation \vec{M}	25
2.12	Schéma d'une inversion adiabatique induite par le flux sanguin [55]	26
2.13	Appareil IRM préclinique utilisé lors de ces travaux de thèse : Biospec 70/16 (Bruker, Ettlingen, Germany).	28
2.14	Antennes et cellules disponibles sur l'IRM préclinique 7T du service ENI-CREFRE. (1) Cellule marmouset, (2) et (3) Cellules rat, (4) Cellule souris, (5) Antenne volumique émission/réception 72 mm, (6) Antenne surfacique 2x2 éléments tête rat, (7), (8) et (9) Antennes surfaciques de diamètre 30, 20 et 10 mm, respectivement.	29
2.15	Schéma illustrant le principe de la séquence PASL-FAIR.	31
2.16	Schéma illustrant le marquage de spin artériel continu par la séquence CASL.	33
2.17	Schéma illustrant le marquage de spin artériel pseudo-continu par la séquence pCASL.	34
2.18	Deux schémas de marquage ASL pseudo-continu : les méthodes A) <i>balanced</i> pCASL et B) <i>unbalanced</i> pCASL[140].	35
2.19	Exemple d'images pondérées en perfusion obtenues avec un encodage temporel d' <i>Hadamard</i> , et les images anatomiques correspondantes (T2w). Le nombre sous chaque carte indique le délai effectif post-marquage (PLD) en millisecondes [58].	38
2.20	Schéma d'un modèle physiologique à un compartiment [102]	39
2.21	Tracé de l'évolution du signal ASL (ΔM) en fonction du temps post-début du marquage de la séquence PASL-FAIR [19] et effet des différents paramètres A) CBF (f) B) ATT (Δt) C) T_1 et D) τ la durée de marquage (LT) sur l'évolution du signal. A l'exception des paramètres modifiés, les simulations numériques ont été effectuées avec les conditions : $CBF = 1.2ml/min/g$, $T_1 = 1600ms$, $\tau = 1.5s$ et $ATT = 300ms$	41
2.22	Tracé de l'évolution du signal ASL (ΔM) en fonction du temps post-début du marquage de la séquence CASL (+ pCASL) [19] et effet des différents paramètres A) CBF (f) B) ATT (Δt) C) T_1 et D) τ la durée de marquage (LT) sur l'évolution du signal. A l'exception des paramètres modifiés, les simulations numériques ont été effectuées avec les conditions : $CBF = 1.2ml/min/g$, $T_1 = 1600ms$, $\tau = 4s$ et $ATT = 300ms$	42

2.23	Schéma d'un modèle physiologique à deux compartiments [102]. L'eau du sang marquée (cercles verts) entre dans le voxel d'imagerie avec une relaxation longitudinale au T1 du sang artériel, $T_{1,b}$. Lorsque l'eau marquée pénètre dans le lit capillaire, les échanges d'eau ont lieu entre les deux compartiments, et la relaxation longitudinale se fait alors selon le T_1 du tissu.	44
2.24	A) Évolution temporelle du signal acquis en DSC lors du passage d'un bolus d'agent de contraste paramagnétique. B) Évolution de la concentration tissulaire du bolus en fonction du temps. C) Fonction de résidus impulsionnelle obtenue par déconvolution de la concentration tissulaire du bolus par la fonction d'entrée artériel (AIF) [50].	45
3.1	Étapes et ajustements de la séquence pCASL pour la détermination du CBF.	49
3.2	Image anatomique en coupe sagittale (A) et horizontale (B) avec le positionnement de la coupe de marquage (en vert) et la coupe d'imagerie (en gris) et visualisation 3D du réseau vasculaire chez le rat (C) obtenu par TOF-3D avec une projection d'intensité maximale. Les flèches rouges et jaunes indiquent les entrées artérielles ; les carotides ou les vertébrales respectivement. En bleu sont indiquées les veines jugulaires.	51
3.3	Aperçu de l'évolution du signal ASL au cours du balayage en phase des acquisitions d'optimisation des phases inter-impulsions labels (A) et contrôles (B).	51
3.4	Image en magnitude de la séquence Fc-Flash avec module de marquage pCASL avec (A) l'image contrôle et (B) l'image label.	53
3.5	Carte d'efficacité d'inversion calculée à partir de la séquence FcFlash-pCASL. Les flèches noires indiquent la position des régions délimitant une section des carotides internes, et ayant servies pour la mesure de l'EI. Les flèches blanches indiquent la position des artères vertébrales sur l'image.	54
3.6	Coupe anatomique du cerveau du rat avec ROIs. Seule la coupe 1 a été considérée pour l'étude pCASL multi-PLD.	56
3.7	Évolution du signal ASL pour différentes valeurs de temps de post marquage (PLD).	57
3.8	(A) Évolution du signal ASL en fonction du PLD pour différentes structures cérébrales. Pour chaque région, le nuage de points représente les données ASL mesurées expérimentalement. La ligne discontinue décrit le résultat de l'ajustement des données avec le modèle de quantification standard du CBF [19]. (B) Exemple de carte anatomique d'ATT obtenue avec la séquence pCASL à PLD multiples (avec filtrage gaussien d'écart-type $\sigma = 1$). (C) Carte de CBF estimée par PLD simple et (D) par PLD multiple.	58

3.9	Valeurs quantitatives de CBF obtenues par pCASL multi-PLD (en noir) et avec un PLD unique de 300ms (en rouge). Les valeurs présentées pour les différentes régions décrivent la moyenne et la déviation standard sur l'échantillon d'animaux étudiés (n=4).	59
3.10	Variation de l'erreur absolue moyenne en fonction du PLD pour les différentes régions étudiées.	60
3.11	(A) Simulation de l'évolution du signal ASL (à $t = \tau + \delta t$) en fonction du temps de marquage (LT) et (B) la dérivée première de cette courbe en fonction de LT pour deux valeurs de débit.	61
3.12	Évolution du signal ASL pour différentes valeurs de temps de marquage (LT). . . .	63
3.13	Evolution du signal ASL mesuré en fonction du temps de marquage pour deux ROIs. L'ajustement a été effectué par l'algorithme de Levenberg-Marquardt. . . .	65
3.14	A) Schéma d'un cycle cardiaque. Les différents délais de déclenchement (TD) du marquage pCASL sont indiqués en rouge (à 1ms, 50ms et 100ms). B) Évolution de la vitesse d'écoulement du sang au niveau des carotides au cours d'un cycle cardiaque (moyenne sur les carotides). (Protocole <i>Velocity map</i> sur ParaVision 6.0.1) avec $TE = 3.9ms$, $TR = 15ms$, $FA = 20^\circ$ et une dynamique de débit (Flow Range) à 40 cm/s.	67
3.15	Aperçu du signal ECG de l'animal au cours de l'acquisition de la séquence pCASL. L'ECG est parasité par des signaux induits par les différentes commutations des gradients de champ magnétique (courants de Foucault) appliquées durant la séquence.	69
3.16	A) Évolution de l'aimantation longitudinale M_z lors d'une inversion adiabatique pour différentes valeurs de vitesse d'écoulement du sang artériel. B) Variation de l'efficacité d'inversion en fonction de la vitesse d'écoulement du sang artériel. . . .	70
3.17	Évolution temporelle du CBF pour différents temps de marquage dans le cas d'une synchronisation ECG et pour trois délais de déclenchement différents. A) LT = 3840 ms, B) LT = 1920 ms et C) 960 ms. En bleu sont représentées les acquisitions pCASL sans synchronisation.	71
3.18	Matrice de corrélations (<i>Spearman</i>) entre les différents paramètres de l'étude avant (A) et après (B) moyennage temporel des acquisitions pCASL. Les corrélations affichées vérifient nécessairement : $p\text{-value} < 0.1$	72
3.19	Nuage de points de la corrélation (<i>Spearman</i> , $p\text{-value} < 0.1$) obtenue entre différentes variables de l'étude.	73
3.20	Visualisation 3D du réseau vasculaire chez un marmouset sain obtenu à partir d'une acquisition TOF-3D. Les flèches rouges et blanches indiquent les entrées artérielles ; les carotides et vertébrales respectivement. En bleu sont indiquées les veines jugulaires. (A) Vue de l'arrière du cerveau (B) Vue du dessus.	75

3.21	Positionnement de la coupe d'inversion de la séquence pCASL (en vert) et de la coupe de mesure de l'efficacité d'inversion (en gris) sur deux coupes horizontale et sagittale du cerveau du marmouset.	76
3.22	Aperçu de l'évolution du signal ASL (ou de la perfusion relative) au cours du balayage en phase des acquisitions d'optimisation des phases inter-impulsions labels (B) et contrôles mesurés chez le marmouset.	77
3.23	Efficacité d'inversion par séquence Fc-Flash pCASL chez le marmouset, les carotides sont entourées en noir.	77
3.24	Cartes coronales de CBF obtenues par pCASL chez le marmouset (avec filtrage gaussien $\sigma = 1$).	78
3.25	A) Segmentation des zones de substances blanche et grise superposées sur une carte de perfusion du marmouset étudié. B) Distribution des valeurs du CBF estimé au niveau des substances blanche et grise.	79
5.1	Diagramme chronologique de l'expérience avec les acquisitions IRMs réalisées pendant le refroidissement progressif de l'animal.	110
5.2	Évolution de la température corporelle (T_{rectum}) au cours de l'expérience pour un sujet, T_{bed} étant la température effective du lit et $T_{setting}$ la température de consigne.	111
5.3	Coupe coronale T_{2w} d'un cerveau sain de souris et de la section correspondante dans l'atlas souris de Waxholm [64].	112
5.4	A) Spectrogramme du signal de la respiration mesuré au cours de la diminution progressive de la température corporelle pour un animal type. B) Le signal de la respiration en domaine temporel.	115
5.5	A) Évolution de la fréquence respiratoire au cours du temps et B) en fonction de la température corporelle pour un animal type.	116
5.6	Carte de CBF (ml/min/100g de tissu) obtenues par pCASL chez un animal type de l'étude (sous air) durant le refroidissement progressif de l'animal.	116
5.7	Débit sanguin cérébral mesuré par la séquence pCASL durant le refroidissement progressif de l'animal pour différentes structures cérébrales. Les mesures présentées concernent les acquisitions effectuées sous air (n = 6) et sous oxygène pur (n = 7).	117
5.8	Pourcentage de variation de la perfusion cérébrale en fonction des conditions expérimentales (Air ou O_2) obtenu pour chaque sujet de l'étude (sans tenir compte des variations de T_1).	117
5.9	Temps de relaxation longitudinale du tissu cérébral en fonction de la température corporelle de l'animal pour différentes structures cérébrales et pour des mesures réalisées sous air (n = 6) ou sous oxygène pur (n = 7).	118

5.10	Pourcentage de variation de la perfusion cérébrale en fonction des conditions expérimentales (air ou O_2) obtenu pour chaque sujet de l'étude (En tenant compte des variations de T_1 du tissu et du sang artériel).	118
5.11	Mesure du débit cérébral sanguin par pCASL chez la souris en condition de normothermie ($37^\circ C$) et les valeurs des coefficients de variation (CV) associées.	119
5.12	Débit sanguin cérébral mesuré par la séquence PASL-FAIR en conditions de normothermie et d'hypothermie modérée pour différentes structures cérébrales. Les mesures présentées concernent les acquisitions effectuées sous air (n=6) et sous oxygène pur (n=7).	120
5.13	Variation de la fréquence cardiaque des animaux en fonction de la température corporelle selon le gaz respiré durant l'expérience ; oxygène pur (n = 4) ou air (n = 3).	121
5.14	Différences de débit sanguin cérébral chez la souris en fonction du sexe. A) Mesures de CBF obtenues en condition de normoxie (sous air) et en condition d'hyperoxie (sous O_2). B) En regroupant les deux conditions d'oxygénation ((*) différence significative pour p-value < 0.05).	122
6.1	A) Coupe coronale en pondération T_2 chez un rat avec une lésion localisée au niveau du cortex moteur à 9 mois post-lésion. B) Coupe histologique chez un rat cérébro-lésé à 3 mois post-lésion (coloration au crésyl violet). Les flèches rouges pointent vers un signal hypo-intense en T_2w qui correspond à des neurones pyknotiques visibles sur la coupe histologique. L'atrophie de l'hippocampe est visible sur les deux images et est indiquée avec des flèches jaunes.	128
6.2	Coupes coronales en T_2w du suivi longitudinal du rat sham B1R, lésé sans implant.	131
6.3	Coupes coronales en T_2w et cartes de MD, FA et CBF associées du rat sham B1R, lésé sans implant. Acquisition effectuée à 2 semaines post-Lésion. En rouge est délimité le tissu pseudo-lésé.	132
6.4	Suivi longitudinal de A) l'évolution de la perfusion cérébrale du rat sham B1R lésé sans implant et B) les cartes de CBF associées.	133
6.5	Suivi longitudinal de l'évolution des indicateurs de diffusion du rat sham B1R, lésé sans implant.	134
6.6	Coupes coronales en T_2w du suivi longitudinal des rats A) B1N avec l'implant PEG-200 et B) B2N avec l'implant PEG-500.	134
6.7	Coupes coronales en T_2w et cartes de MD, FA et CBF du rat B1N lésé avec un implant en PEG-200. Acquisition effectuée à 2, 4 et 8 semaines post-greffe de l'implant.	135
6.8	Coupes coronales en T_2w et cartes de MD, FA et CBF associées du rat B3N, lésé avec un implant en PCL. Acquisition effectuée à 2 semaines post-Implant.	136

6.9	Coupes coronales en T_2w et cartes de MD, FA et CBF associées du rat B3R, lésé avec un implant en PEG-GLMA. Acquisition effectuée à 2 semaines post-Implant.	136
6.10	Résultats des acquisitions IRM en perfusion (CBF) et en diffusion (FA, MD, et RD) évaluées au niveau de la lésion/implant, de l'hippocampe et du thalamus. . . .	137
6.11	Coupes coronales de CBF chez le marmouset cérébro-lésé avec des implants en PDMS greffés sur le site de la lésion.	139
6.12	Coupe histologique avec coloration au cresyl de l'hémisphère lésé avec un implant en PDMS chez le marmouset.	139

Liste des tableaux

2.1	Tableau comparatif des différentes méthodes d'estimation du débit sanguin cérébral par IRM.	12
3.1	Les valeurs du signal ASL obtenues sur les régions d'intérêt pour différents temps de marquage et moyennées sur les différentes expériences regroupées dans cette étude.	64
3.2	CBF estimé sur les régions d'intérêt pour différents temps de marquage et moyenné sur les différentes expériences regroupées dans cette étude.	64
3.3	Résultats du test de Wilcoxon apparié comparant les estimations du CBF obtenues à différentes valeurs de temps de marquage (LT).	64
3.4	Résultats du test de Wilcoxon apparié comparant les rapports signal/bruit (RSB) des estimations du CBF obtenues à différentes valeurs de temps de marquage (LT).	66
3.5	Récapitulatif des conditions expérimentales pour chaque rat de l'étude. (LT : Temps de marquage; TD : Délai de déclenchement)	68
3.6	RSB Temporel des acquisitions pCASL dans les différentes conditions expérimentales étudiées pour chaque rat de l'étude.	69
5.1	Résultats de l'ajustement linéaire des mesures du temps de relaxation longitudinale du tissu T_1 en fonction de la température rectale de l'animal. β (en ms) représente le taux de variation du T_1 en fonction de la température et α (en $\text{ms}/^\circ\text{C}$) l'ordonnée à l'origine.	119
6.1	Conditions expérimentales pour les différents sujets de l'étude.	132

Abréviations

AC	A gent de C ontraste
ADC	A pparent D iffusion C oefficient (Coefficient de Diffusion Apparent)
AIF	A rterial I nput F unction
ASL	A rterial S pin L abeling (Marquage de Spin Artériel)
ATT	A rterial T ransit T ime (Temps de Transit Artériel)
AVC	A ccident V asculaire C érébral
BAT	B olus A rrival T ime
BBB/BHE	B lood– B rain B arrier (Barrière Hémato-Encéphalique)
BOLD	B lood O xygen L evel D ependant
BW	B and W idth
CASL	C ontinuous A rterial S pin L abeling
CBF	C erebral B lood F low (Débit sanguin cérébral)
CBV	C erebral B lood V olume (Volume sanguin cérébral)
CMRO₂	C erebral M etabolic R ate of O xygen
CT	C omputed T omography
CWM	C ontinuous W ave M ode
DAS	D ébit d'Absorption S pécifique
DSC	D ynamic S usceptibility C ontrast
DWI	D iffusion- W eighted I maging
ECG	E lectro C ardiogramme
EI/IE	I nversion E fficiency (Efficacité d'Inversion)
EPI	E cho P lanar I maging
FAIR-MTI	FA IR M ulti T ime of I nversion
FAIR	F low S ensitive A lternating I nversion R ecovery
FA	F raction d' A nisotropie
FLASH	F ast- L ow- A ngle S hot
FiO₂	F raction d' O xygène dans le gaz inspiré
GEF	G radient d' E ncodage de F réquence
GEP	G radient d' E ncodage de P hase
GE	G radient d' E cho
GSC	G radient de S élection de C oupe

ISMIRM	I nternational S ociety for M agnetic R esonance in M edicine
IVIM	I ntravascular I ncoherent M otion
LT	L abeling T ime
MAE	M ean A bsolute E rror
MB	M icrobubbles, M icrobulles
MTT	M ean T ransit T ime
MT	M agnetization T ransfer
OBHE	O uverture de la B arrière H émato- E ncéphalique
OEF	O xygen E xtraction F raction (Fraction d'Extraction en Oxygène)
OPT	O ne P ulse T ime
PA	P ression A rtérielle
PASL	P ulse A rterial S pin L abeling
pCASL	p seudo- C ontinuous A rterial S pin L abeling
PCL	P olycaprolactone
PDMS	P oly d iméthylsiloxane
PEG-DA	P oly- E thylene- G lycol D iacrylate
PET	P ositron E mission T omography (Tomographie par émission de positons)
PIC	P ression I ntra- C rânienne
PLD	P ost- L abeling D elay
PPC	P ression de P erfusion C érébrale
PRESS	P oint R ESolved S pectroscopy
PRT	P ulse R epetition T ime
PS	P erméabilité S urfacique
RF	R adio- F requency
RMN	R ésonance M agnétique N ucléaire
RM	R ésonance M agnétique
ROI	R egion O f I nterest
RSB	R apport S ignal sur B ruit
SO₂	S aturation en O xygène de l'hémoglobine
SAR	S pecific A bsorption R ate
SNC	S ystème N erveux C entral
SNR	S ignal to N oise R atio
SPECT	S ingle P hoton E mission C omputed T omography
SPF	S pecific P athogen F ree
TDM	T omodensitométrie
TD	T rigger D elay (Délais de déclenchement)
TEMP	T omographie par E mission M onophotonique
TE	T emps d'Echo

TI	Temps d'Inversion
TOF	Time Of Flight
TR	Temps de Répétition
TTP	Time To Peak
US	Ultrasound (Ultrasons)

Chapitre 1

Introduction

1.1 Contexte et objectifs

Cette thèse a été réalisée au sein de l'équipe iDREAM du centre de neuro-imagerie de Toulouse (ToNIC), UPS/INSERM, UMR 1214, qui mène des travaux de recherche sur le cerveau et ses différentes pathologies. Les axes de recherche de l'équipe iDREAM portent plus précisément sur la compréhension des mécanismes impliqués dans l'altération des fonctions cognitives et motrices associées aux accidents vasculaires cérébraux, de la phase aiguë à la phase chronique.

Grâce à sa haute résolution d'image, sa capacité à caractériser les tissus mous et à évaluer la fonction de divers organes, l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) est devenue au fil des années une technologie de plus en plus importante dans la routine clinique et dans la recherche médicale. En plus d'être une méthode d'imagerie sans émission de rayonnements ionisants, l'IRM offre un large éventail de modalités permettant de caractériser les tissus d'un point de vue aussi bien anatomique, avec une résolution spatiale et un contraste élevés, que fonctionnel, en exploitant l'effet paramagnétique de la désoxyhémoglobine qui permet d'étudier les variations de l'activité cérébrale aussi bien pendant une tâche spécifique qu'au repos.

Le marquage de spin artériel (appelé en anglais *Arterial Spin Labelling (ASL)*) est une technique d'imagerie par résonance magnétique qui permet de mesurer de manière non invasive la perfusion dans le cerveau et d'autres organes du corps. L'ASL utilise l'eau du sang artériel comme traceur diffusible endogène en inversant l'aimantation du sang à l'aide d'impulsions de radiofréquence (RF) appliquées au niveau des entrées artérielles [38]. Des résultats de recherche encourageants illustrent le véritable potentiel de l'ASL dans la compréhension des pathologies cérébrales, qu'elles soient d'origine dégénérative, vasculaire ou tumorale [37, 98, 112]. Les méthodes de mesure de la perfusion par ASL sont particulièrement appréciées pour leur aspect totalement non invasif, car elles ne nécessitent pas d'injection intraveineuse [8]. Ce dernier aspect fait de l'ASL une méthode intéressante à utiliser en pédiatrie, pour les patients souffrant de dysfonctionnement rénal, ou bien lorsque des mesures répétées sont nécessaires. Ainsi, des années de recherche active et de développements méthodologiques autour de l'ASL ont donné lieu, en 2015, à un document de consensus, rédigé par le groupe d'étude sur la perfusion de la *International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM)* et le consortium européen pour l'ASL appliquée à la

démence [3], qui présente un ensemble de lignes directrices pour l'utilisation de la séquence dans un contexte clinique et recommande l'utilisation d'un schéma de marquage pCASL (*pseudo continuous Arterial Spin Labeling*). La méthode pCASL est considérée comme un choix optimal parce qu'elle peut être largement utilisée avec des équipements standard sans compromis important sur le rapport signal/bruit et tout en permettant de réaliser une acquisition multi-coupes simultanées.

Des efforts considérables ont été déployés pour optimiser la séquence pCASL destinée à la recherche préclinique à haut champ. En effet, à des champs magnétiques élevés, les inhomogénéités de B_0 dans le plan de marquage, loin de l'isocentre, augmentent et altèrent la phase des spins. Cela a donc pour conséquence de réduire l'efficacité de l'inversion et le signal ASL mesuré, de dégrader la reproductibilité inter-individuelle de la mesure et de générer une asymétrie inter-hémisphérique majeure [123]. Les travaux de thèse de Lydiane Hirschler, au sein de l'équipe de "Neuroimagerie fonctionnelle et perfusion cérébrale" du Grenoble Institut of Neuroscience (GIN), axés sur le développement de la séquence pCASL combinée à un pré-scan de correction de phase des impulsions de marquage ont permis d'augmenter les performances et faciliter l'utilisation de cette séquence dans le cadre de la recherche préclinique.

L'importance et la pertinence de la mesure du CBF en tant que biomarqueur de la viabilité du tissu cérébral et son lien direct avec la mesure de la consommation métabolique d'oxygène ont été le point de départ de ce travail de thèse, qui a nécessité, en premier lieu, la mise en place de la séquence pseudo-continue de marquage de spin artériel. Celle-ci n'étant pas automatiquement disponible sur les appareils d'IRM préclinique Bruker, une collaboration a été établie avec l'Institut des Neurosciences de Grenoble afin d'obtenir une version compilée de la séquence. Suite à cela, j'ai réalisé différents tests de validation de la séquence sur l'IRM préclinique 7T du centre régional d'exploration fonctionnelle et de ressources expérimentales (CREFRE-Anexplo), UPS/INSERM, UMS 006, et dans lequel les différentes études présentées dans ce manuscrit ont été réalisées. Dans le cadre des expériences de validation de la séquence pCASL, nous avons évalué l'impact de différents paramètres tels que le temps de post-marquage et le temps de marquage sur le signal ASL et plus particulièrement sur le rapport signal/bruit associé à cette méthode. Après cette étape préliminaire, nous avons réalisé 3 études. Tout d'abord, nous avons évalué l'effet de l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique sur la perfusion cérébrale. Cette étude a été menée pour deux raisons. D'une part, pour tester la validité de l'hypothèse du modèle cinétique à compartiment unique de quantification du CBF, qui considère un échange d'eau extrêmement rapide entre les milieux intravasculaire et extravasculaire. D'autre part, afin d'examiner les variations de la perfusion cérébrale possiblement induites par l'ouverture de la BHE par ultrasons combinée à l'injection de micro-bulles. Malgré le fait que cette méthode soit de plus en plus utilisée en recherche clinique, son impact sur le CBF a été peu discuté dans la littérature. Ensuite, nous avons étudié l'effet de la température sur le CBF. Cette étude a été réalisée car nous avons observé une variabilité relativement importante du CBF estimé lors de nos expériences préliminaires, susceptible d'être due à un manque de contrôle précis de la température. Nous avons également observé

dans la littérature une variabilité importante au niveau des conditions d'oxygénation des animaux. Par conséquent, une expérience d'hypothermie modérée a été menée sur des souris, en considérant deux conditions d'oxygénation différentes : la normoxie, où la fraction d'oxygène inspirée est de 21% (air) et l'hyperoxie, où la fraction d'oxygène inspirée est de 100% (dioxigène pur). Enfin, une troisième étude a été menée en vue de couvrir les objectifs de l'équipe en matière de développement de biomarqueurs IRM in vivo de la régénération du tissu cérébral post-AVC et portant sur l'application de la mesure du CBF par pCASL à un modèle préclinique de lésion cérébrale induite par l'injection intracorticale de malonate.

1.2 Organisation de la thèse

En plus des chapitres d'introduction et de conclusion (**Chapitre 1** et **7**, respectivement), ce manuscrit est organisé en 5 sections principales, décrites ci-dessous :

- **Chapitre 2** : Cet état de l'art introduit le contexte de ce travail en présentant les concepts de base de la physiologie de la circulation cérébrale ainsi que les différentes modalités d'imagerie permettant d'estimer le débit sanguin cérébral. Ensuite, sont exposés les principes de la résonance magnétique nucléaire (RMN) et de l'imagerie par RMN. Enfin, la mesure de la perfusion cérébrale par ASL est présentée, en discutant d'abord des principaux schémas de marquage ASL existants, puis des modèles biophysiques permettant une quantification absolue de ce paramètre.
- **Chapitre 3** : Il décrit d'abord le protocole expérimental adopté lors des acquisitions pCASL réalisées au cours de ce travail de thèse ainsi que les étapes de traitement et de calculs numériques utilisées pour obtenir une quantification absolue de la perfusion. Ce protocole est ensuite employé dans le cadre de trois analyses distinctes : tout d'abord, l'effet du temps de post-marquage et la quantification du temps de transit artériel, puis l'effet du temps de marquage, et enfin l'effet de la synchronisation du début du marquage sur le signal ECG de l'animal. Ces trois études ont été réalisées chez le rat. Une dernière section présente une mesure du CBF par pCASL réalisée chez un primate non humain (Ouisiti, *Callithrix jacchus*).
- **Chapitre 4** : Ce chapitre traite de l'effet de l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique (OBHE) sur la mesure de la perfusion cérébrale par ASL. Une collaboration avec le Laboratoire d'Applications Thérapeutiques des Ultrasons (LabTAU) a permis de mettre en place un protocole d'ouverture transitoire de la BHE par l'application d'ultrasons de faible intensité combinée à l'injection intraveineuse de microbulles. La séquence pCASL a été utilisée dans ce contexte pour évaluer l'effet de l'ouverture de la BHE sur le temps de transit artériel (ATT) et pour établir un suivi spatio-temporel de l'évolution du CBF dans l'heure qui suit la procédure d'OBHE. Cette étude sera présentée sous la forme d'un article

scientifique (soumis à la revue *MRM - Magnetic Resonance in Medicine*, actuellement en cours de révision).

- **Chapitre 5** : Il examine l'effet des variations de la température corporelle de l'animal sur le débit sanguin cérébral. Cette étude a été menée afin d'identifier la variabilité interindividuelle du débit sanguin cérébral à une température donnée. Des acquisitions pCASL ont été réalisées chez des souris sous différentes températures allant de la normothermie à l'hypothermie modérée et dans des conditions de normoxie et d'hyperoxie. Des mesures du temps de relaxation longitudinale du tissu cérébral ont également été réalisées afin de prendre en compte l'impact possible de ce paramètre sur l'estimation du CBF.
- **Chapitre 6** : Ce chapitre est une application de l'IRM de perfusion pCASL combinée à l'IRM de diffusion pour l'étude de la réponse du tissu cérébral à la greffe d'un implant biodégradable chez le rat cérébro-lésé. Cette étude, qui est toujours en cours, est principalement exploratoire et vise à déterminer si le signal ASL peut constituer un biomarqueur prédictif de la régénération du tissu cérébral, en s'appuyant sur les résultats de l'analyse histologique des tissus après le sacrifice des animaux. Dans ce chapitre, nous présenterons également les résultats de la mesure pCASL réalisée sur un ouistiti cérébro-lésé, greffé avec un implant en matériau non dégradé, et présentant une infiltration très importante de l'implant à l'histologie.

Chapitre 2

État de l'art

2.1 Physiologie de la circulation cérébrale

2.1.1 Vascularisation cérébrale

Le cerveau est un organe très gourmand en énergie. En effet, alors qu'il ne représente qu'environ 2% de la masse corporelle, il reçoit entre 12% et 15% du débit sanguin provenant du cœur et consomme environ 60 % du glucose libéré dans la circulation systémique. Le cerveau consomme environ 20% de l'énergie totale pour assurer le maintien des fonctions électrophysiologiques et de l'homéostasie. Le cerveau est le seul organe qui ne dispose de presque aucune réserve énergétique. Par conséquent, l'activité neuronale dépend de la continuité de l'apport en oxygène et en glucose, qui sont fournis par la circulation sanguine et par conséquent, le débit sanguin cérébral.

Le système cérébro-vasculaire est constitué d'artères, les vaisseaux sanguins chargés de transporter le sang oxygéné du cœur vers les autres organes, et de veines, qui assurent le retour du sang appauvri en dioxygène et nutriments vers le cœur. La micro-vascularisation est constituée d'artérioles, de capillaires et de veinules. C'est au niveau des capillaires, reliant les artérioles aux veinules, que s'effectuent les échanges avec le tissu cérébral.

Les artères représentent un élément important pour la mesure de la perfusion cérébrale par IRM en particulier par la méthode de marquage de spins artériels (ASL, pour *Arterial Spin Labeling*). Le marquage des spins de l'eau du sang artériel, que l'on abordera plus en détail dans la section 2.3, est réalisé au niveau des artères carotides communes. Ce marquage impacte aussi les artères vertébrales. Ces artères se rejoignent au niveau du polygone de Willis qui se charge ensuite de redistribuer le sang aux différentes régions du cerveau (Figure 2.1).

2.1.2 Perfusion cérébrale et autorégulation

Le terme perfusion cérébrale est souvent utilisé pour désigner le débit sanguin cérébral, or en réalité, il traduit un ensemble de paramètres qui caractérisent les échanges entre le sang provenant de la micro-circulation et les tissus cérébraux :

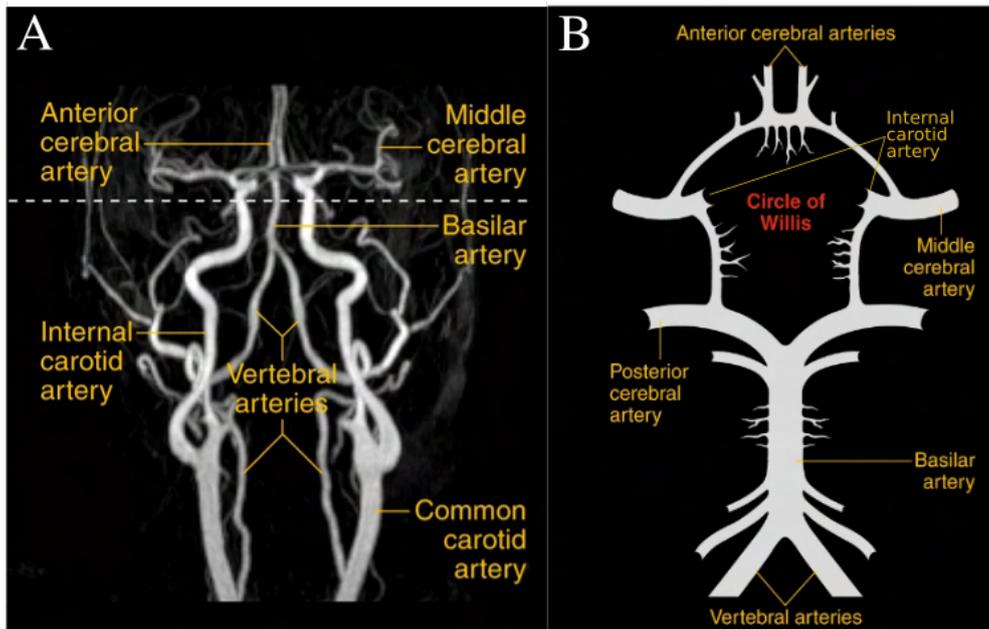


FIGURE 2.1 – Anatomie des principaux vaisseaux alimentant le cerveau humain A) obtenu par angiographie par IRM. B) Représentation schématique du polygone de Willis et de ses principales ramifications. [118]

- **Le débit sanguin cérébral** (CBF - *Cerebral Blood Flow*) est défini comme le volume de sang délivré par unité de temps à une masse déterminée de tissu. Il s'exprime en ml/min/100g de tissu. Le CBF varie en fonction de la structure cérébrale. Chez l'homme, les valeurs nominales au niveau de la substance grise varient entre 60 et 80 ml/min/100g de tissu et entre 20 et 30 ml/min/100g de tissu au niveau de la substance blanche [103].
- **Le volume sanguin cérébral** (CBV - *Cerebral Blood Volume*) représente le volume de sang contenu dans une quantité donnée de tissu cérébral.
- **La pression artérielle** (PA) est la pression du sang en circulation contre les parois des vaisseaux sanguins au niveau des artères principales. Elle est généralement exprimée en terme de pression systolique (pression maximale pendant un cycle cardiaque) et de pression diastolique (pression minimale entre deux cycles cardiaques).
- **La pression de perfusion cérébrale** (PPC) est le gradient de pression net à l'origine du flux sanguin cérébral au niveau des capillaires. La pression de perfusion et la pression artérielle sont reliées par l'équation :

$$PPC = PA - PIC, \quad (2.1)$$

avec PIC la pression intra-crânienne.

- **La saturation en oxygène** (SO_2) est une mesure de la quantité d'hémoglobine liée à l'oxygène par rapport à la quantité d'hémoglobine non liée.

- **La fraction d'extraction en oxygène** (OEF - *Oxygen Extraction fraction*) désigne la proportion d'oxygène sanguin extraite par un tissu pour maintenir sa fonction. Elle reflète notamment l'efficacité du transport en O_2 et peut être calculée à l'aide de l'équation : $OEF = (S_aO_2 - S_vO_2) / S_aO_2$ avec S_aO_2 et S_vO_2 respectivement la saturation artérielle et veineuse du sang en oxygène.
- **Le taux de consommation métabolique en dioxygène** ($CMRO_2$ - *Cerebral Metabolic Rate of O_2*) est un indice permettant de quantifier l'utilisation de l'oxygène dans le cerveau. Il est défini comme la quantité d'oxygène consommée par unité de masse de tissu et par unité de temps, et reflète la demande en oxygène du cerveau.

$$CMRO_2 = OEF \cdot CBF \cdot CaO_2,$$

avec CaO_2 la concentration d'oxygène dans le sang artériel.

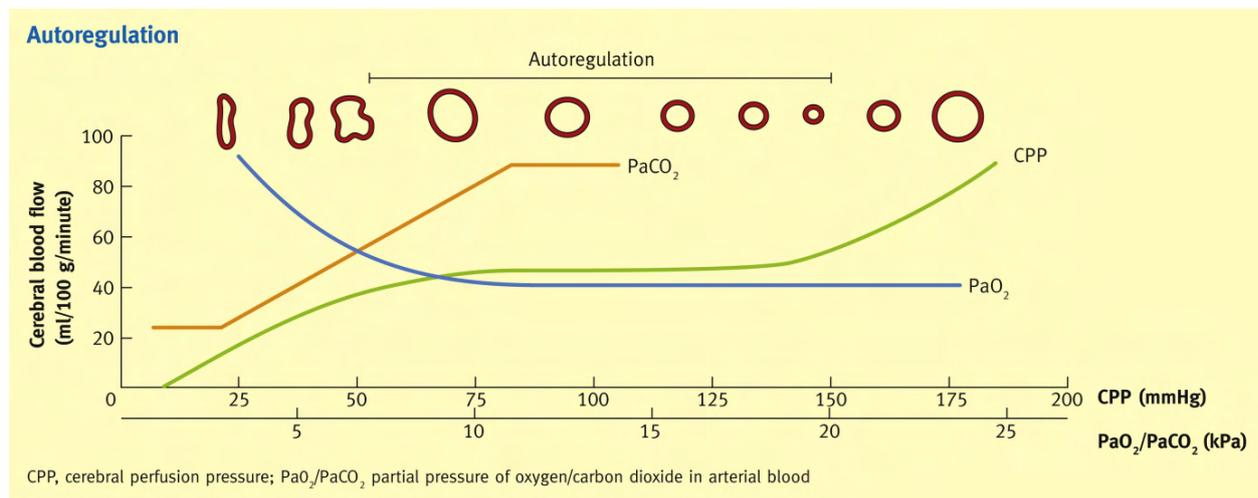


FIGURE 2.2 – Modifications du débit sanguin cérébral en fonction de la pression de perfusion cérébrale, de la pression partielle en O_2 et en CO_2 dans le cadre du processus d'autorégulation cérébrale [104].

La vascularisation cérébrale a la capacité de maintenir un débit sanguin stable malgré des variations de pression sanguine. On parle alors d'autorégulation cérébrale. Dans des conditions normales et en absence de pathologie, le débit sanguin cérébral est régulé par des modifications du diamètre des artérioles qui, à leur tour, entraînent des modifications de la résistance cérébrovasculaire, aboutissant à une vasoconstriction ou à une vasodilatation (Figure 2.2). Cette régulation fine est obtenue principalement grâce à la réactivité myogénique des artérioles cérébrales. Par conséquent, les artérioles se dilatent en réponse à une augmentation de la PPC et se contractent en réponse à une diminution de la PPC.

La régulation cérébrale intervient aussi pour répondre à une variation de la pression partielle en O_2 (pO_2) et en CO_2 (pCO_2) du sang artériel. Ainsi, en conditions d'hypoxie, où le niveau d'oxygène dans le sang est anormalement bas ($pO_2 < 80mmHg$), le CBF augmente afin de préserver

l'apport en oxygène du cerveau. L'augmentation de la pO_2 au niveau du sang artériel influence peu le CBF. En parallèle, la régulation cérébrale est très sensible aux variations de la pCO_2 . Ainsi, une augmentation de la pCO_2 (hypercapnie) induit une diminution du pH du sang artériel

2.1.3 La Barrière Hémato-Encéphalique

La barrière hémato-encéphalique (BHE) est une barrière de faible perméabilité qui délimite et protège le cerveau du reste de l'organisme; elle bloque les agents pathogènes circulants tout en permettant aux nutriments vitaux d'atteindre le cerveau. Elle joue aussi un rôle fondamental dans l'homéostasie cérébrale. Cette barrière vascularisée est composée de cellules endothéliales, d'astrocytes et de péricytes [7]. Les cellules endothéliales cérébrales accolées les unes aux autres forment des jonctions serrées qui servent de barrière de diffusion et empêche la majorité des substances hémotogènes d'entrer dans le cerveau, en particulier les molécules hydrophiles. Seules les petites substances lipophiles O_2 et CO_2 diffusent librement à travers cette membrane, alors que les nutriments (le glucose et les acides aminés) utilisent des transporteurs pour rentrer dans le cerveau. D'autres molécules plus larges (comme l'insuline) utilisent l'endocytose médiée par récepteurs spécifiques pour traverser la BHE.

En ce qui concerne le transport du fer à travers la BHE, ce dernier est finement régulé, permettant au cerveau d'obtenir la quantité de fer nécessaire tout en limitant les effets toxiques potentiels de ce minéral. Le passage du fer à travers la BHE est régulé par des protéines de transport spécifiques, appelées transferrine et récepteurs de la transferrine. La transferrine est une protéine qui se lie spécifiquement au fer, tandis que les récepteurs de la transferrine sont présents à la surface des cellules de la BHE.

Une augmentation de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique peut survenir dans certaines conditions pathologiques, en particulier lors d'un accident vasculaire cérébral (AVC) ou en présence d'une neuro-inflammation.

2.1.4 Pourquoi mesurer la perfusion cérébrale ?

L'imagerie de la perfusion cérébrale permet l'accès à des informations pertinentes pour le diagnostic et le traitement de nombreuses maladies neurologiques, comme par exemple dans le cas d'un AVC.

De nombreuses revues de la littérature ont établi les pathologies cérébrales où l'IRM de perfusion est d'une utilité majeure [133, 114, 37]. La mesure locale du débit sanguin cérébral par perfusion par marquage de spins artériels (ASL - *Arterial spin labeling*) s'applique ainsi dans les cas de :

Maladies cérébrovasculaires :

- *Ischémie aiguë et chronique* : L'ASL permet notamment de visualiser la zone dite de pénombre, qui décrit le tissu ischémique hypoperfusé entourant le noyau nécrosé de l'infarctus, et d'évaluer la probabilité de sauver ce tissu. Ce tissu est identifié par soustraction du volume d'hypoperfusion, défini avec les cartes de CBF obtenues par ASL, du volume irrémédiablement lésé qui se caractérise par une diffusion restreinte sur les cartes de diffusion obtenues par DWI (*Diffusion-Weighted magnetic resonance Imaging*) [47] (Figure 2.3). De plus, la reproductibilité de l'ASL permet un suivi postopératoire fiable du CBF au cours du temps [62].
- *Moyamoya* : une maladie rare et progressive qui affecte les vaisseaux sanguins du cerveau, entraînant un rétrécissement et un blocage des artères cérébrales et peut provoquer potentiellement des accidents vasculaires cérébraux (AVC). Cette pathologie est usuellement diagnostiquée par une angiographie par soustraction numérique (nécessitant une injection de produit de contraste), des méthodes non invasives, telles que l'ASL, ont été expérimentées et se sont révélées comparables à l'évaluation clinique standard [143].
- *Migraine* : Malgré sa forte prévalence, la physiologie et les mécanismes sous-jacents contribuant au développement de la migraine sont encore mal compris. Des études ont cependant démontré une relation entre l'altération du CBF et la manifestation de migraine en lien avec une hyperperfusion ou une hypoperfusion cérébrale focale, selon qu'il y ait eu vasodilatation ou vasoconstriction, respectivement [24].
- *Épilepsie* : L'ASL permet de localiser la zone épileptogène chez les patients atteints de MTLE (*Mesio-temporal lobe epilepsy*) de manière non invasive et reproductible. De plus, la détection d'asymétries dans les cartes de perfusion ASL permet d'identifier le phénomène de manière précoce, à savoir avant l'atrophie de l'hippocampe [96].

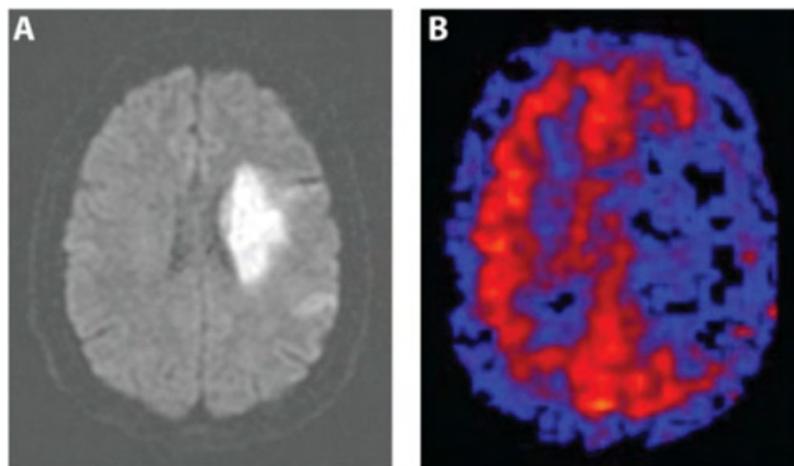


FIGURE 2.3 – Infarctus cérébral aigu avec pénombre. Image pondérée en diffusion (A) et image B pondérée en perfusion (PASL). La pénombre désigne la zone d'hypoperfusion plus étendue que la zone présentant une diffusion restreinte [133].

Tumeurs cérébrales : la mesure de la vascularisation tumorale est particulièrement importante

pour l'évaluation des gliomes et pour la prédiction de leur grade. Le caractère non invasif et reproductible de l'ASL en fait une méthode privilégiée pour suivre l'évolution de la tumeur tout au long du traitement [98].

Pathologies neuro-dégénératives : l'ASL a démontré son efficacité dans le diagnostic et le suivi de la progression de la maladie de Parkinson (PD) mais aussi dans l'évaluation de nouveaux traitements utilisés pour réduire les symptômes moteurs de la maladie [112]. En outre, les altérations du CBF évaluées par ASL sont considérées comme un biomarqueur intéressant associé à la dégénérescence neuronale. En effet, dans le cas de la maladie d'Alzheimer, les variations d'ASL reproduisent sensiblement les altérations du métabolisme cérébral mesurées par TEP-FDG [37].

Maladies infectieuses : Les infections causées par divers agents pathogènes peuvent altérer la circulation sanguine cérébrale dans le système nerveux central (SNC). Les examens traditionnels de la perfusion cérébrale pour les infections du système nerveux central se font en utilisant des modalités telles que la tomodensitométrie à contraste dynamique ou l'IRM avec injection d'agent de contraste paramagnétique. Cependant, l'ASL-IRM s'est avérée être une méthode efficace pour caractériser les anomalies fonctionnelles de la perfusion lors d'une infection du SNC et pour décrire le profil de variation du CBF en fonction du type d'infection [99].

2.1.5 Méthodes de mesure de la perfusion cérébrale

2.1.5.1 Mesures par IRM

L'IRM est couramment utilisée pour examiner les propriétés anatomiques et structurelles d'un organe. Cependant, il existe une multitude de biomarqueurs fonctionnels qu'il est possible de mesurer, dont le débit sanguin cérébral. Néanmoins, en comparaison avec des images anatomiques, l'enjeu du rapport signal/bruit (RSB) est plus important sur des images fonctionnelles, ce qui nécessite des temps d'acquisitions plus longs et peut générer des artefacts. Par ailleurs, l'intervention de modèles biophysiques complexes est indispensable et l'introduction d'hypothèses simplificatrices peut être facilement source d'erreur d'estimation ou d'interprétation.

L'**ASL** (ou *Arterial Spin Labelling*) permet une estimation absolue non invasive de la perfusion obtenue en marquant les noyaux d'hydrogène de l'eau présente dans le sang artériel. Cette technique repose sur des impulsions RF en amont de la région d'intérêt, affectant l'aimantation longitudinale du sang artériel et le temps de relaxation longitudinal apparent du tissu une fois perfusé par le sang marqué. L'ASL (en particulier la séquence pCASL) étant le sujet principal de ce manuscrit, plus de détails concernant la méthode sont apportés dans la section 2.3.

L'**IVIM** (ou *Intravascular incoherent motion*) est une méthode basée sur l'imagerie de diffusion [80]. La circulation de l'eau dans les capillaires sanguins s'apparente à un processus de diffusion, du fait de leur topologie en fin réseaux arborescents. Ainsi, dans les tissus biologiques,

les mouvements microscopiques de l'eau incluent à la fois la diffusion moléculaire et la micro-circulation du sang dans le réseau capillaire. Le modèle IVIM exploite cet effet de «pseudo-diffusion» afin d'évaluer de façon quantitative la micro-perfusion dans les tissus.

Tout comme l'ASL, l'IVIM présente l'avantage de ne pas nécessiter l'injection d'agent de contraste. Cependant, son utilisation en neurologie est principalement expérimentale en raison de son faible rapport signal/bruit et des fractions de perfusion faibles dans le cerveau. En dehors du cerveau, cette méthode a prouvé son utilité dans de nombreux organes abdominaux comme le foie, les reins ou encore le placenta [89, 95, 119].

La **DSC** (ou *Dynamic susceptibility contrast Imaging*) requiert l'injection intraveineuse d'un agent de contraste (un chélate de gadolinium) non diffusible (uniquement présent dans le milieu vasculaire) et ne traversant pas la barrière hémato-encéphalique (en absence de pathologies). Les hétérogénéités de champ magnétique créées par le passage de l'agent de contraste dans les vaisseaux entraînent une diminution des temps de relaxation T2 et T2* des tissus environnants [61] et le suivi du premier passage du bolus permet d'extraire des paramètres liés à la perfusion cérébrale (CBF, CBV, MTT).

La DSC bénéficie d'un rapport signal/bruit élevé par rapport à l'ASL. Cependant, l'utilisation d'un agent de contraste exogène limite son emploi. En effet, dans certains cas, de lésions rénales par exemple, les chélates de gadolinium sont contre-indiqués. En outre, l'accumulation d'agents de contraste à base de gadolinium dans le cerveau et dans d'autres organes a récemment suscité de nombreuses inquiétudes et les scans DSC sont donc maintenant déconseillés en dehors des cas relevant d'une absolue nécessité [115].

Le **signal BOLD** (*Blood-oxygenation level dependent*) utilise la variation du signal en contraste T2* pour mesurer des changements relatifs de débit sanguin cérébral [100]. L'activation neuronale entraîne une augmentation de la consommation d'oxygène, qui provoque à son tour un apport accru de sang par couplage hémodynamique. Cependant, le signal BOLD ne permet pas d'évaluer quantitativement le CBF, mais plutôt d'obtenir une variation du CBF liée à une activation neuronale. De plus, les variations dépendent à la fois du CBF et de la $CMRO_2$. Bien qu'elle ne nécessite pas l'utilisation d'agent de contraste, cette méthode ne permet pas directement d'isoler les contributions respectives du CBF et de la $CMRO_2$.

2.1.5.2 Autres méthodes

Outre les méthodes d'IRM, d'autres techniques permettent d'obtenir une estimation de la perfusion cérébrale, comme par exemple la tomographie par émission monophotonique (TEMP, ou SPECT - *Single Photon Emission Computed Tomography*) ou la tomographie par émission de positon (TEP, ou PET - *Positron Emission Tomography*), reposant sur l'utilisation de traceurs radioactifs et relevant donc de l'imagerie nucléaire. Historiquement, ces méthodes sont considérées comme les plus fiables, les plus précises et les premières à avoir permis de réaliser des cartes de perfusion cérébrale exploitables. Néanmoins, elles comportent des obstacles pratiques importants.

	<i>ASL</i>	<i>IVIM</i>	<i>DSC</i>
Agent de contraste	Endogène Diffusible	Endogène Non diffusible	Exogène Non diffusible
Principe physique	Inversion de l'aimantation longitudinale du sang artériel	Déplacement microscopique des molécules d'eau dû à la diffusion et à la perfusion capillaire	Augmentation de la susceptibilité magnétique lors du passage du bolus
Comportement du signal	Modification du temps de relaxation apparent du tissu ($T_{1,app}$)	La perfusion microscopique induit une atténuation du signal pondéré en diffusion à faible b	Variation des temps de relaxation T2 et T2*
Paramètres quantitatifs	CBF et ATT	f (fraction de perfusion), D^* coefficient de pseudo-diffusion, ADC	rCBF, rCBV, MTT
Avantages	- Non invasif et sans injection d'agent de contraste - Mesure robuste et absolue du CBF	- Non invasif et sans injection d'agent de contraste - Post-traitement simple	- Largement utilisée en routine clinique - Pipeline de traitement disponible et simple à exécuter
Inconvénients	- Faible RSB - Temps d'acquisition long - Sensible aux artefacts de mouvement - Mesure uniquement le CBF - DAS élevé	- Faible RSB - Temps d'acquisition long - Sensible aux artefacts de mouvement	- Invasif - Absence de quantification absolue - Sensible aux artefacts liés à la variation de susceptibilité

TABLE 2.1 – Tableau comparatif des différentes méthodes d'estimation du débit sanguin cérébral par IRM.

En effet, la nature radio-active du traceur injecté impose une réglementation stricte autour de l'utilisation de ses méthodes.

La **TEP** permet d'obtenir des paramètres quantitatifs décrivant l'hémodynamique cérébrale ; notamment le débit sanguin cérébral (CBF), le volume sanguin cérébral régional (rCBV), la fraction d'extraction d'oxygène régionale (rOEF), mais aussi le taux de consommation métabolique cérébral régional d'oxygène (rCMRO₂) ou de glucose. Pour la mesure de perfusion, les radio-traceurs utilisés sont ¹⁵O₂, C¹⁵O₂ et H₂¹⁵O, dont la demi-vie est de deux minutes [132]. Les courtes demi-vies exigent la production des radio-isotopes à proximité du site du scanner, ce qui représente un inconvénient non-négligeable. Cependant, l'amélioration de la résolution spatiale, la vitesse d'acquisition et la facilité de quantification du CBF permettent de contre-balancer cette limitation.

La **TEMP** fournit la distribution volumique d'un produit radio-pharmaceutique qui, selon sa nature, peut refléter l'activité hémodynamique cérébrale régionale. La mesure de perfusion par TEMP utilise essentiellement des radio-isotopes à base de technétium 99 [39]. Ce dernier a une demi-vie de six heures ce qui représente un avantage par rapport à la TEP, et facilite l'utilisation de cette méthode. Néanmoins, si cette technique permet d'obtenir une estimation relative du CBF, assez précise et reproductible, celle-ci ne constitue pas une mesure quantitative absolue, et nécessite de plus des corrections selon le traceur utilisé [71].

La tomodensitométrie (**TDM**) (ou CT-scan - *Computed Tomography*) pour la mesure de perfusion s'apparente dans le principe à la DSC, en utilisant le suivi temporel du passage d'un agent de contraste iodé injecté par voie intraveineuse, ou par inhalation du Xénon [137]. Bien que la TDM ne fait pas intervenir d'agent radioactif, elle nécessite l'utilisation de rayons-X et expose ainsi les patients à des doses non-négligeables de rayonnements ionisants.

Les **ultrasons** enfin, peuvent être utilisés pour évaluer le flux sanguin, soit par des mesures Doppler, soit par injection d'un agent de contraste [28]. Cependant, l'imagerie Doppler permet uniquement de visualiser le flux sanguin dans les gros vaisseaux. L'utilisation d'agents de contraste à base de microbulles permet, quant à elle, d'obtenir une information plus fine sur la perfusion. Elle fait l'objet de nombreux travaux de recherche récents mais nécessite une injection intra-veineuse.

2.2 Principes physiques de l'imagerie par résonance magnétique

L'IRM est basée sur le phénomène de résonance magnétique nucléaire (RMN) qui consiste à étudier les propriétés magnétiques des noyaux atomiques à l'aide d'ondes électromagnétiques radiofréquences (RF). Elle permet d'observer l'absorption et l'émission de rayonnements électromagnétiques lorsque les noyaux sont placés dans un champ magnétique statique. La RMN a été observée pour la première fois à la fin des années 1930 par Isidor Isaac Rabi et ses collègues de l'université de Columbia. Cette découverte leur a valu le prix Nobel de physique en 1944. La RMN a ensuite été développée en 1946 de manière simultanée mais indépendante par Purcell, Torrey et Pound [111] à Harvard et Bloch, Hansen et Packard [14] à Stanford. En 1952, Bloch et Purcell ont partagé le prix Nobel de physique en reconnaissance de leurs travaux pionniers dans le domaine de la RMN. Toutefois, à ce stade, la RMN était purement une expérience destinée à déterminer les moments magnétiques nucléaires des noyaux.

De part le niveau d'énergie limité des ondes RF appliquées, la RMN est une technique non invasive parfaitement adaptée aux mesures *in vivo*. L'intérêt croissant pour la caractérisation des propriétés de l'eau dans les tissus biologiques a conduit au travail de Damadian en 1971 [34], selon lequel les propriétés de RMN des tissus tumoraux malins diffèrent de celles des tissus normaux, et suggère ainsi que la RMN (du noyau de l'hydrogène : le proton) pourrait être utilisée pour des diagnostics cliniques.

Cependant, ce n'est qu'en 1973 que Lauterbur [79] et Mansfield et Grannell [94] ont présenté les premiers travaux consacrés à une des principales applications de la RMN, à savoir l'imagerie par résonance magnétique (IRM). En effet, ils réussirent à reconstruire des images bidimensionnelles en utilisant des gradients de champ magnétique spatialement dépendants.

Depuis, la RMN et l'IRM n'ont cessé de progresser, depuis des séquences relativement simples jusqu'à des techniques complexes impliquant des schémas d'acquisition ultra rapides et multiparamétriques.

Dans cette section, je présenterai quelques notions générales sur la résonance magnétique nucléaire.

2.2.1 Physique de la RMN

L'eau étant le principal composant des tissus humains ; 65-70 % dans le corps et 70-75 % dans le cerveau, l'imagerie médicale par résonance magnétique exploite principalement les propriétés physiques des noyaux d'hydrogène. En effet, en plus de son abondance naturelle importante, le noyau d'hydrogène est constitué d'un seul proton et peut être ainsi décrit comme un dipôle magnétique de moment angulaire non nul. Le moment angulaire j_n et le moment magnétique μ_n du

noyau d'hydrogène sont liés par le rapport gyromagnétique γ :

$$\mu_n = \gamma j_n \quad (2.2)$$

avec n , le noyau d'hydrogène et $\gamma = 2.67513 \cdot 10^8 \text{ rad.s}^{-1} \cdot \text{T}^{-1}$ le rapport gyromagnétique du ^1H .

En outre, le signal RMN varie en fonction de la quantité d'atomes étudié dans l'échantillon et de la valeur de son rapport gyromagnétique γ . En plus d'être l'isotope le plus abondant dans le corps humain, ^1H a la plus haute valeur de γ . Il présente donc une sensibilité très élevée en RMN.

2.2.1.1 Champ magnétique statique \vec{B}_0 et aimantation macroscopique

L'aimantation (macroscopique) désigne le moment magnétique local par unité de volume. En considérant un élément de volume V , le vecteur d'aimantation \vec{M} s'exprime par :

$$\vec{M} = \frac{1}{V} \cdot \sum_{\text{Proton} \in V} \vec{\mu}_p, \quad (2.3)$$

En l'absence de champ magnétique statique externe, les protons contenus dans un échantillon sont orientés de manière aléatoire dans les différentes directions de l'espace. Si il n'y a pas de direction privilégiée, la somme des vecteurs d'aimantation élémentaire est proche de zéro ($\sum \vec{\mu}_p = 0$), entraînant donc l'absence d'aimantation macroscopique. Dans le cas où les protons baignent dans un champ magnétique statique \vec{B}_0 , les spins tendent à s'aligner sur la direction du champ (Figure 2.4).

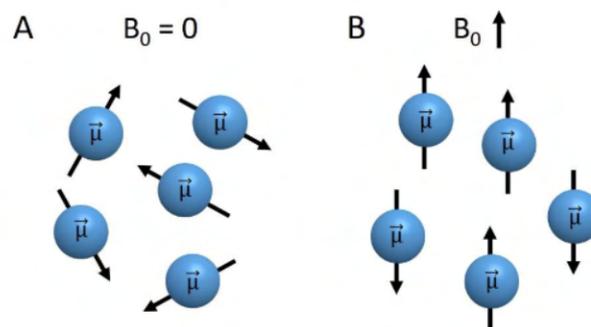


FIGURE 2.4 – A) Ensemble non aligné de spins (distribution isotrope) en l'absence de champ magnétique. Il n'y a pas d'aimantation résultante. B) Collection de spins alignés en présence d'un champ magnétique externe \vec{B}_0 , créant une aimantation nette. Les moments magnétiques ont été représentés de manière statique par souci de simplification.

En réalité, le moment magnétique des spins décrit un mouvement de rotation (précession) autour de l'axe principal de \vec{B}_0 , c'est le phénomène de précession. Ce phénomène s'apparente au mouvement d'une toupie autour de la composante gravitationnelle \vec{g} sous l'effet du champ de gravitation terrestre. La vitesse de précession des protons autour de \vec{B}_0 est liée à l'intensité du champ

magnétique statique \vec{B}_0 et au rapport gyromagnétique du noyau (ici du proton) par l'équation de Larmor :

$$w_0 = \gamma B_0, \quad (2.4)$$

avec w_0 la fréquence angulaire de Larmor ou la fréquence angulaire de précession.

Lorsqu'un ensemble de protons est soumis à un champ magnétique \vec{B}_0 , les protons se répartissent entre deux états d'énergie distincts (effet Zeeman); un état de basse énergie où le moment magnétique du noyau est orienté parallèlement à la direction de \vec{B}_0 et un état de plus haute énergie où l'orientation du moment magnétique est anti-parallèle à celle de \vec{B}_0 . Le niveau à basse énergie est légèrement plus occupé que le niveau à haute énergie (distribution de Boltzmann). A l'équilibre, le vecteur d'aimantation macroscopique résultante suit donc la direction et le sens de \vec{B}_0 .

2.2.1.2 Excitation et champ magnétique tournant \vec{B}_1

En considérant un référentiel (Ox,Oy,Oz) avec \vec{B}_0 orienté selon Oz, l'aimantation macroscopique à l'équilibre \vec{M}_0 est égale à la composante longitudinale $\vec{M}_{0,z}$. En effet, à l'équilibre les composantes transversales élémentaires des protons sont dispersées dans différentes directions, ils sont déphasés, la composante transversale résultante $\vec{M}_{0,x,y}$ est donc nulle.

Ainsi, avec uniquement un champ magnétique statique \vec{B}_0 , l'aimantation reste alignée sur l'axe du champ. En RMN et en IRM, un second *champ magnétique tournant* \vec{B}_1 à la fréquence w_r dans le plan transversal, est généré pour faire basculer l'aimantation dans ce plan. Pour cela, le champ \vec{B}_1 doit vérifier la condition de résonance : $w_r = w_0$ avec w_0 la fréquence de Larmor induite par \vec{B}_0 (Équation 2.4). Le champ \vec{B}_1 est aussi appelé champ radio-fréquence (RF) en référence à la gamme de fréquence dans laquelle se situe w_0 (9 kHz - 300 GHz).

En appliquant un champ \vec{B}_1 dans le plan transversal à la direction de \vec{B}_0 (Oz), l'aimantation macroscopique résultante bascule sur le plan (Ox,Oy). On parle alors d'excitation. L'excitation de l'échantillon par l'application d'une onde RF (à 90°) entraîne l'annulation de la composante longitudinale de l'aimantation \vec{M}_z par égalisation des protons présents sur les deux niveaux d'énergie, ainsi que l'apparition d'une composante transversale $\vec{M}_{x,y}$ par la mise en phase des spins. Une fois le champ RF à l'arrêt, le moment magnétique total revient progressivement à son état d'équilibre le long de l'axe z, générant ainsi un signal appelé signal de précession libre (ou FID - *Free Induction Decay*).

L'équation de Bloch permet de décrire l'évolution du vecteur d'aimantation résultante en fonction du temps :

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma \vec{M} \otimes \vec{B}_0, \quad (2.5)$$

Cette équation ne prend cependant pas en compte les effets de relaxation qui seront discutés à la prochaine section.

2.2.1.3 Relaxation

Le phénomène de relaxation désigne le retour à l'état d'équilibre de l'aimantation après une phase d'excitation. Elle implique des phénomènes inverse à l'excitation ; un retour des spins du niveau d'énergie haut vers le niveau d'énergie bas (antiparallèles \rightarrow parallèles) et un déphasage rapide des spins. Ces deux phénomènes sont respectivement responsables de la relaxation longitudinale (T_1) et de la relaxation transversale (T_2) présentées dans la Figure 2.5.

Relaxation longitudinale (T_1)

La relaxation longitudinale décrit le retour de l'aimantation \vec{M}_z à l'état d'équilibre \vec{M}_0 par échange d'énergie entre le système de spins et son environnement (son réseau). Pour cela, la relaxation longitudinale est aussi appelée relaxation spin-réseau. Ces échanges sont dus à des champs magnétiques oscillants créés par le mouvement des molécules environnantes contenant des spins. La possible proximité en fréquence de ces champs oscillants avec la fréquence de Larmor impacte la constante de temps du retour de M_z à l'équilibre qui définit le temps de relaxation T_1 .

Relaxation transversale (T_2)

La relaxation transversale désigne la perte de cohérence de phase des spins à l'arrêt de l'impulsion RF. La composante transversale de l'aimantation $M_{x,y}$ décroît progressivement jusqu'à s'annuler. Ce phénomène est aussi appelé relaxation spin-spin car il est la conséquence de l'interaction des spins entre eux.

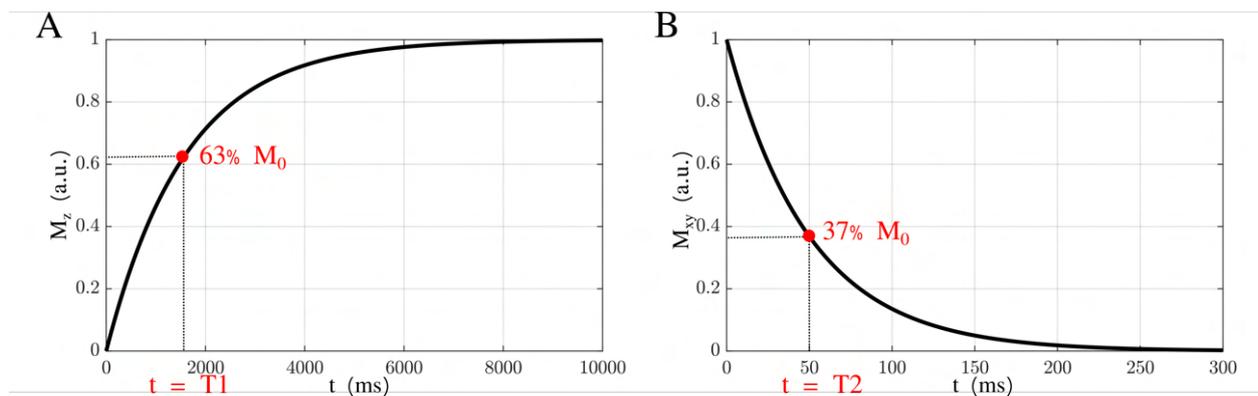


FIGURE 2.5 – Retour à l'équilibre des composantes longitudinale \vec{M}_z et transversale \vec{M}_{xy} après une impulsion RF à 90° .

Les temps de relaxation T_1 et T_2 dépendent des propriétés chimiques et physiques de l'environnement du spin, mais aussi de l'intensité du champ magnétique statique \vec{B}_0 . Ainsi, le T_1 augmente tandis que T_2 diminue avec l'augmentation de l'intensité du champ magnétique \vec{B}_0 [29].

En prenant en compte les effets de relaxation, les équations de Bloch deviennent :

$$\begin{cases} \frac{dM_x}{dt} = \gamma \cdot M_y \cdot B_0 - \frac{M_x}{T_2}, \\ \frac{dM_y}{dt} = \gamma \cdot M_x \cdot B_0 - \frac{M_y}{T_2}, \\ \frac{dM_z}{dt} = -\frac{M_z - M_0}{T_1}, \end{cases} \quad (2.6)$$

avec M_0 l'aimantation à $t = 0$,

Dans une acquisition en IRM/RMN, nous enregistrons l'aimantation complexe transversale qui est la combinaison des composantes M_x et M_y : $M_{x,y}(t) = M_x(t) + i \cdot M_y(t)$. Les équations de Bloch s'expriment alors :

$$\begin{cases} \frac{dM_{xy}}{dt} = \gamma \cdot M_{xy} \cdot B_0 - \frac{M_{xy}}{T_2}, \\ \frac{dM_z}{dt} = -\frac{M_z - M_0}{T_1}, \end{cases} \quad (2.7)$$

Pour résoudre ces équations, nous supposons que, pour $t=0$, l'aimantation est uniquement présente dans la direction (Oz). Cela permet de fixer les conditions initiales : $M_{xy}(t = 0) = 0$ et $M_z(t = 0) = M_0$. La solution des équations de Bloch est donc :

$$\begin{cases} M_{xy}(t) = M_0 \cdot e^{-\frac{t}{T_2}} \cdot e^{-i\omega_0 t}, \\ M_z(t) = M_0 \cdot (1 - e^{-\frac{t}{T_1}}), \end{cases} \quad (2.8)$$

On retrouve alors l'expression de l'évolution de l'aimantation transversale en fonction du temps. Le signal oscille à la fréquence de Larmor ω_0 au sein d'une enveloppe qui décroît avec la constante de temps T_2 . Cependant, en présence d'inhomogénéité du champ B_0 , la décroissance du signal se fait à un temps de relaxation plus court appelé T_2^* . L'évolution du FID dans les deux conditions est représenté Figure 2.6.

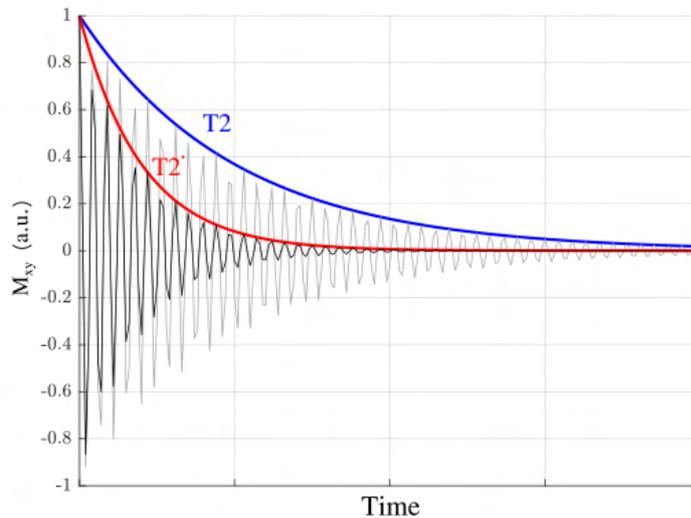


FIGURE 2.6 – Évolution temporelle de l'aimantation transversale complexe M_{xy} avec une relaxation T_2 pour la courbe grise et une relaxation T_2^* pour la courbe noire. L'enveloppe du signal est caractérisée par une décroissance en T_2 ou T_2^* pour les courbes bleu et rouge, respectivement.

2.2.2 Génération d'une image

Pour pouvoir analyser un échantillon complexe comme le cerveau, il est important de pouvoir localiser de manière précise la source du signal. Cela est effectué grâce à l'ajout de gradient. Ce terme désigne des variations linéaires de champ magnétique générées à l'aide de trois bobines de Helmholtz orientées dans les 3 directions de l'espace.

2.2.2.1 Encodage spatial d'une image

Le signal RM est ainsi localisé dans les trois dimensions à l'aide de trois gradients de champ magnétique distincts appelés (1) gradient de sélection de coupe (GSC), (2) gradient d'encodage de phase (GEP) et (3) gradient d'encodage de fréquence (GEF).

A l'application d'un gradient de champ, le champ magnétique varie en fonction de la position dans l'espace. En considérant un gradient orienté selon x , on a : $B(x) = |B_0| + G_x x$.

Par conséquent, la variation linéaire du champ induit une variation linéaire de la fréquence de précession en fonction de la position : $f(x) = \frac{\gamma}{2\pi} (|B_0| + G_x x)$.

Gradient de sélection de coupe

La première étape consiste à appliquer l'excitation RF dans une région localisée de l'espace. Cette étape est réalisée à l'aide d'une excitation sélective en fréquence combinée à un gradient de sélection de coupe. La direction du gradient (x , y ou z) conditionne l'orientation de la coupe, tandis que l'amplitude du gradient, associée aux paramètres de l'impulsion RF, détermine à la fois l'épaisseur et la position de la coupe. Une impulsion RF sélective en fréquence est caractérisée par deux paramètres principaux : sa fréquence centrale et sa largeur de bande (entre 1 et 2 kHz). Lorsqu'une telle impulsion est émise en présence du GSC, une région restreinte du tissu atteint la condition de résonance et absorbe l'énergie de l'onde RF. L'angle de l'impulsion appliqué dépend de la durée de l'impulsion RF et de l'amplitude.

La fréquence centrale de l'impulsion détermine l'emplacement précis excité par l'impulsion en présence du GSC. Différentes positions de la tranche sont ainsi obtenues en modifiant la fréquence centrale de l'onde RF. L'épaisseur de la coupe est déterminée par l'amplitude du gradient GSC (G_c) et la largeur de bande des fréquences (BW) de l'impulsion RF :

$$BW = \gamma \cdot G_c \cdot e \quad (2.9)$$

avec e l'épaisseur de coupe considéré.

Typiquement, pour obtenir une épaisseur de coupe donnée, l'amplitude du gradient GSC est modifiée à BW fixé. Ainsi, des coupes plus fines nécessitent des gradients de sélection de coupes plus intense.

A l'exception de certaines séquences, les acquisitions en IRM sont souvent effectuées en multi-coupes. Cela peut être obtenu en excitant de manière individuelle chaque coupe. Dans ce cas là,

l'amplitude du GSC et la bande passante de l'impulsion RF sont fixées, et seule la fréquence centrale est modifiée.

Gradient d'encodage en phase

Une fois la sélection de coupe réalisée, le signal d'aimantation transversale échantillonné provient de toute la coupe sans aucune information sur la localisation spatiale du signal dans les 2 dimensions restantes de l'image. Un gradient d'encodage de phase (GEP) intervient pour coder l'espace dans une des 2 dimensions restantes. A l'arrêt de l'impulsion RF et avant l'application du GEP, la fréquence de précession des spins est la même, égale à la fréquence de Larmor. Pendant son application, la fréquence de résonance est modifiée induisant un déphasage qui persiste après l'arrêt du gradient. Il en résulte que tous les protons précessent à une même fréquence mais avec des phases différentes. Ainsi, les protons d'une même rangée, perpendiculaire à la direction du GEP, auront tous la même phase.

Cependant, pour obtenir une image, il faut multiplier les différentes acquisitions en incrémentant à chaque acquisition le pas de phase. Par conséquent, pour obtenir une image avec 128 voxels dans la direction de la phase il faut répéter ce processus 128 fois en modifiant à chaque répétition le gradient d'encodage de phase.

Gradient d'encodage en fréquence

La dernière étape de l'encodage spatial consiste à appliquer un gradient d'encodage de fréquence, orthogonal aux 2 précédents gradients, pendant la réception du signal. Pour cette raison, le gradient d'encodage en fréquence est aussi appelé gradient de lecture. Ce dernier modifie donc les fréquences de précession des spins, et les protons d'une même rangée, perpendiculaire à la direction de ce gradient de lecture, auront ainsi tous la même fréquence.

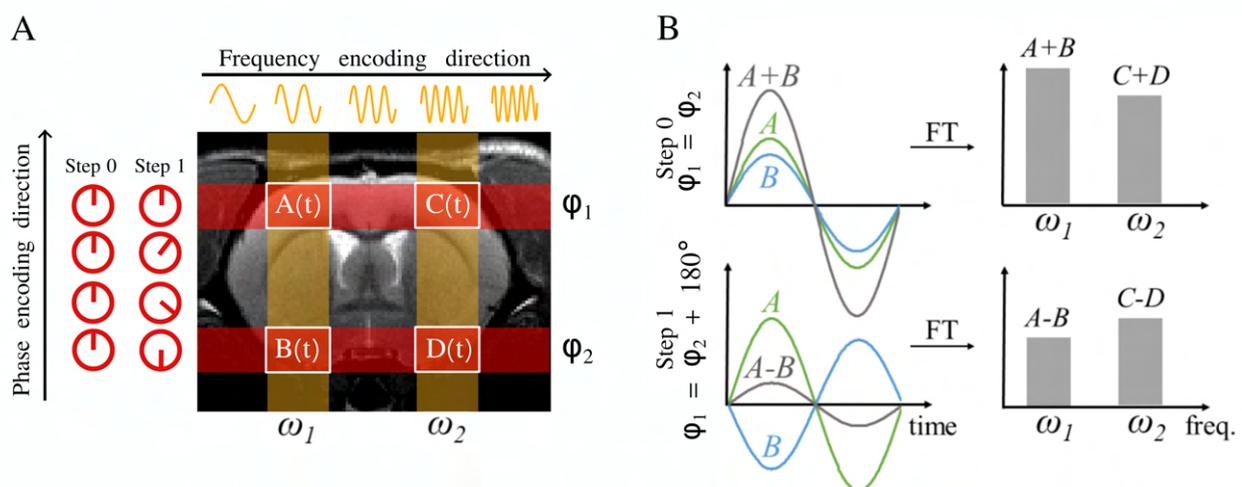


FIGURE 2.7 – Encodage spatial simplifié d'une image 2D en IRM. Après la sélection de coupe, sont appliqués A) un gradient d'encodage de phase et un gradient d'encodage en fréquence. Ce dernier est appliqué simultanément à l'échantillonnage du signal temporel. La transformée de Fourier B) permet ensuite de passer du domaine temporel vers le domaine fréquentiel et isoler ainsi la contribution de chaque voxel au signal RM. Figure inspirée de [16]

La Figure 2.7 illustre l'encodage spatial d'une coupe en 2D. Il est important de souligner que le signal RM provient de la population de protons contenue dans tout le volume excité. Le déphasage entre les différentes colonnes sur la direction de la phase et les variations de fréquence sur la direction de la lecture permettent de retrouver le signal provenant de chaque voxel par le biais de la Transformée de Fourier (TF). Dans l'exemple illustré Figure 2.7, avec uniquement deux pas de phase, la combinaison des signaux échantillonnés à chaque pas de phase permet de retrouver le signal $A(t)$ et $B(t)$ provenant de chacun des deux voxels :

$$A(t) = \frac{S_0(t) + S_1(t)}{2} \quad (2.10)$$

$$B(t) = \frac{S_0(t) - S_1(t)}{2} \quad (2.11)$$

avec $S_0(t)$ et $S_1(t)$ les signaux temporels mesurés au premier et second pas de phase respectivement.

2.2.2.2 Reconstruction de l'image

Après l'acquisition des signaux, on obtient une image complexe appelée communément espace k , espace temporel ou encore donnée brute. La transformée de Fourier 2D (dans la direction de la lecture et de l'encodage de phase) permet d'obtenir l'image complexe dans l'espace fréquentiel. Après une transformée de Fourier discrète, la matrice d'image est généralement affichée soit en magnitude du signal (Figure 2.8), soit en phase. Le choix des directions d'encodage de phase et de fréquence est habituellement effectué de manière à réduire les artefacts dans la zone étudiée.

Il est important de noter, comme mentionné précédemment, que chaque point du k -space contribue à tous les aspects (fréquence, phase et amplitude) de chaque voxel dans la coupe. Malgré cela, certains points contribuent de manière plus importante à certaines caractéristiques de l'image. Ainsi, le maximum du signal est contenu dans les lignes centrales de la matrice de données brutes. Ces lignes sont acquises avec un GEP de faible amplitude. Les variations d'amplitude du signal mesuré sont donc principalement dues aux différences entre les signaux inhérents aux tissus. Ces lignes sont principalement responsables du contraste de l'image.

En outre, les lignes extérieures de la matrice de l'image (de l'espace k) ont une amplitude de signal relativement faible et sont acquises avec un GEP à forte amplitude positive ou négative. Ces gradients produisent ainsi des fréquences élevées et fournissent principalement une définition des contours de l'image résultante après TF.

2.2.3 Séquences conventionnelles

Les séquences présentées dans cette section représentent les séquences principales utilisées en IRM. Il existe cependant une multitude d'autres séquences construites par des combinaisons plus

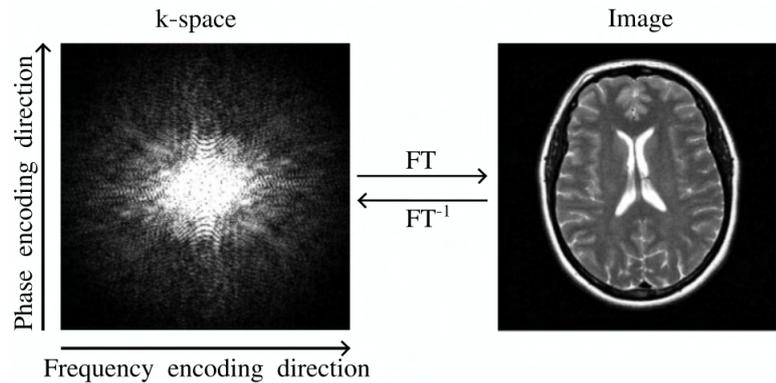


FIGURE 2.8 – Image en magnitude de A) la matrice dans le k-space et B) l'image obtenue après TF. [105]

ou moins complexes d'impulsions RF et de gradients. Leur objectif premier varie entre augmenter le contraste d'un tissu particulier par rapport au reste de l'image, optimiser le temps d'acquisition ou encore limiter les artefacts et cela sans altérer le rapport signal/bruit de l'image.

2.2.3.1 Echo de Spin

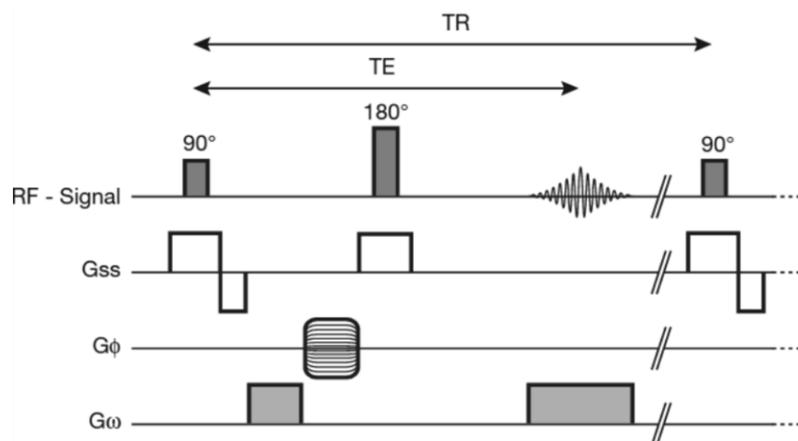


FIGURE 2.9 – Chronogramme de la séquence *Echo de Spin* conventionnelle [67].

La première séquence IRM est la séquence d'écho de spin (SE - *Spin Echo*) introduite par Hahn en 1950 [52]. Après une impulsion d'excitation RF de 90° , on obtient un signal temporel FID, qui décrit un signal sinusoïdal avec une enveloppe en exponentielle décroissante. Comme mentionné précédemment, la décroissance du signal est plus rapide que celle attendue en raison de la présence d'inhomogénéités du champ magnétique B_0 . La décroissance de l'aimantation transversale en T_2^* reflète ainsi les effets combinés de la relaxation T_2 et de la dispersion de phase provoquée par l'inhomogénéité du champ. L'application d'une impulsion RF de 180° après un temps $TE/2$, TE étant le temps d'écho, va permettre de rephaser les spins à TE induisant la génération d'un signal appelé *Echo de Spin*.

L'application de cette impulsion supplémentaire, appelée aussi impulsion de refocalisation, permet de s'affranchir des inhomogénéités \vec{B}_0 , et d'avoir accès au T_2 réel, et non au T_2^* correspondant au temps de relaxation intégrant les inhomogénéités de \vec{B}_0 . Le schéma de la séquence est présenté Figure 2.9.

2.2.3.2 Echo de Gradient

La séquence écho de gradient (GE - *Gradient Echo*) est une technique alternative à la séquence d'écho de spin, dont elle diffère sur deux points principaux :

- L'utilisation de champs de gradient pour générer le signal d'aimantation transversale
- L'utilisation d'angles de bascule de l'aimantation inférieurs à 90°

Par rapport aux séquences écho de spin, les séquences d'écho de gradient sont plus polyvalentes. A l'ajout de gradients de déphasage ou de rephasage à la fin de la séquence, un paramètre supplémentaire important est à spécifier en plus des TR et TE habituels. L'angle de bascule (usuellement désigné par θ ou α) est généralement égal ou proche de 90° pour une séquence SE, mais il est plus faible pour les séquences GE, et varie généralement entre 10 et 80° . A titre d'exemple, pour la séquence GE de base, dite FLASH (*Fast low angle shot*), les angles les plus grands confèrent à l'image une pondération plus importante en T_1 et les angles plus faibles donnent plutôt une pondération T_2^* .

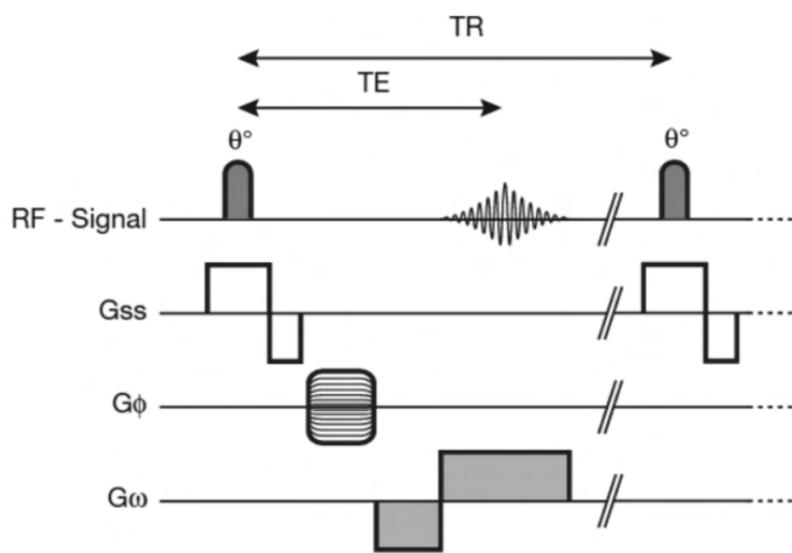


FIGURE 2.10 – Chronogramme d'une séquence *Echo de Gradient* conventionnelle [67].

L'écho de gradient est généré par le gradient d'encodage en fréquence, appliqué deux fois de suite, et dans des directions opposées : il est d'abord utilisé en sens inverse pour provoquer le déphasage transversal des protons en rotation, puis juste après, il est utilisé comme gradient de lecture pour réaligner les protons déphasés et permettre de générer un écho. Le schéma de la séquence est présenté Figure 2.10.

De plus, l'utilisation de faibles angles de bascule permet de conserver une partie de l'aimantation longitudinale d'origine, contrairement à l'impulsion de 90° utilisée dans l'écho de spin, qui élimine complètement l'aimantation longitudinale. Par conséquent, le temps de remontée de M_z est considérablement réduit, ce qui permet une acquisition d'image plus rapide en écho de gradient (GE).

Une autre caractéristique importante des séquences GE est que le déphasage des protons en rotation se produit à la suite d'une relaxation en T_2^* , qui est plus rapide qu'une relaxation en T_2 associée à la séquence d'écho de spin, et qui entraîne par conséquent l'utilisation d'un TE court. De plus, les acquisitions en écho de gradient sont très sensibles aux inhomogénéités du champ magnétique statique provoquant une perte importante de signal à l'interface air-tissu par exemple, où la variation de susceptibilité magnétique est importante.

2.2.4 Impulsions RF

L'application d'une impulsion RF est une étape principale à l'acquisition d'un signal RM. Grâce à celle-ci, l'aimantation longitudinale est basculée dans le plan perpendiculaire à la direction du champ statique \vec{B}_0 . Cela permet ensuite de recueillir le signal de \vec{M}_{xy} à l'aide de l'antenne de réception.

Pour obtenir une inversion complète de l'aimantation ($\vec{M} = -\vec{M}_z$), l'angle de bascule doit être égale à 180° . Ce dernier est lié à l'amplitude de l'impulsion RF B_1 et à durée d'application de l'impulsion T par la relation :

$$\theta = \gamma \cdot \int_0^T B_1(t) dt, \quad (2.12)$$

Ce type d'inversion "classique" présente une sensibilité importante aux inhomogénéités du champ tournant \vec{B}_1 ce qui peut induire une variabilité spatiale importante de l'angle de bascule appliqué.

Impulsions d'inversions adiabatiques

L'excitation adiabatique est un type particulier d'impulsion RF, qui ne se produit que sous certaines conditions limitées et provoque un mouvement relativement inhabituel de l'aimantation résultante. Le fonctionnement de ce type d'impulsion se base sur une excitation à ondes continues (CW - Continuous Wave). La RMN à onde continue, à l'opposé de la RMN impulsionnelle, est une technique "ancienne". Elle a été initialement employée par Bloch et Purcell dans leurs articles phares sur l'induction nucléaire et a été utilisée couramment dans les laboratoires entre les années 1940 et 1960 jusqu'à ce qu'elle soit largement remplacée par les techniques de RMN impulsionnelle.

Après la mise en précession des protons sous l'effet du champ magnétique statique \vec{B}_0 , un champ RF transversal (\vec{B}_1) est ensuite appliqué de manière graduelle. Pendant ce processus, l'amplitude de \vec{B}_1 est maintenue constante, mais sa fréquence (f_1) est progressivement augmentée depuis un niveau situé en dessous de la fréquence de résonance ($f_1 < f_0$), jusqu'à atteindre la fréquence de résonance ($f_1 = f_0$), puis au-delà de la fréquence de résonance ($f_1 > f_0$). Les différentes étapes de ce procédé sont représentées Figure 2.11.

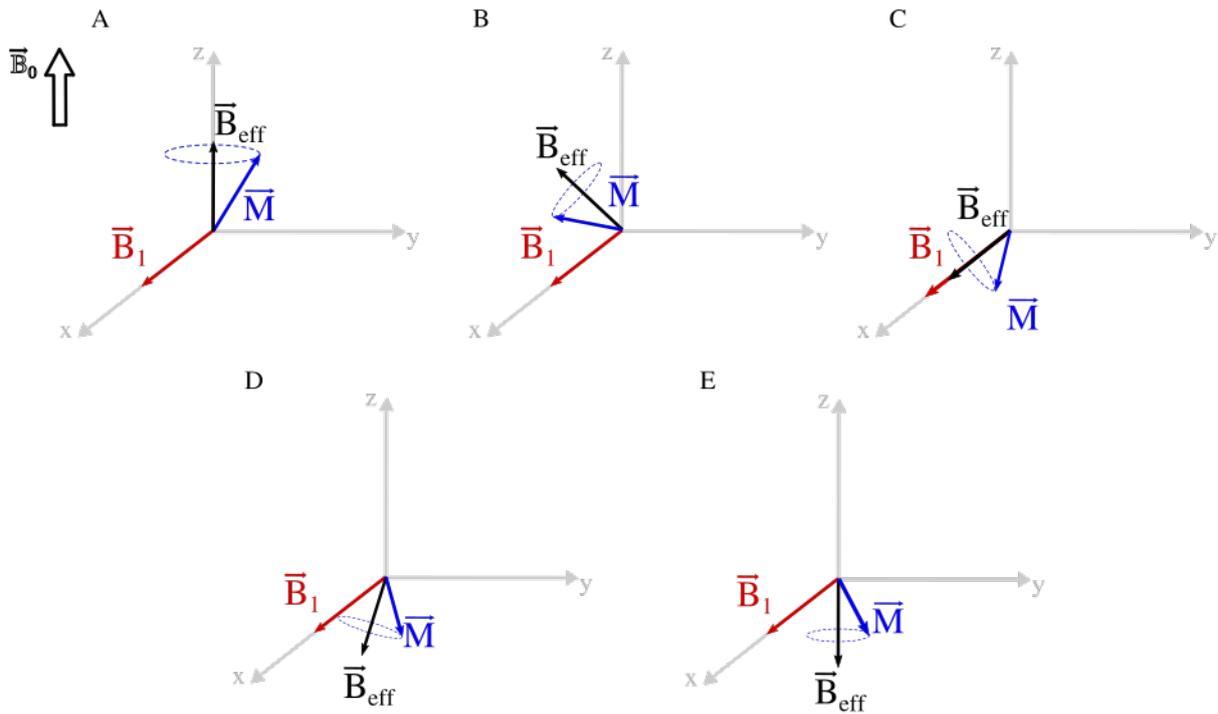


FIGURE 2.11 – Des spins en précession autour de \vec{B}_{eff} lors des différentes étapes d'une inversion adiabatique ; A) $f_1 \ll f_0$, B) $f_1 < f_0$, C) $f_1 = f_0$, D) $f_0 < f_1$ et E) $f_0 \ll f_1$ avec f_0 la fréquence de Larmor et f_1 la fréquence du champ magnétique tournant \vec{B}_1 . Si \vec{B}_{eff} vérifie la condition adiabatique, ces spins suivent la position de \vec{B}_{eff} jusqu'à l'inversion complète de l'aimantation \vec{M} .

Si le champ RF (\vec{B}_1) n'est pas exactement appliqué à la fréquence de Larmor, l'aimantation \vec{M} sera soumise à un mouvement de rotation autour de la direction d'un champ effectif \vec{B}_{eff} qui est orienté selon un angle donné relativement à la direction des champs \vec{B}_0 et \vec{B}_1 . En considérant que le champ \vec{B}_1 soit suffisamment intense et appliqué assez lentement, l'aimantation \vec{M} suivra progressivement la direction de \vec{B}_{eff} pendant le balayage en fréquence du champ \vec{B}_1 . C'est la condition d'adiabaticité. En effet, pour que le vecteur d'aimantation puisse "suivre" le champ effectif lorsqu'il change de direction, l'angle entre \vec{B}_{eff} et l'axe z doit changer plus lentement que la fréquence de précession des spins. La condition adiabaticité s'exprime mathématiquement comme suit :

$$\left| \frac{d\psi}{dt} \right| \ll \gamma |\vec{B}_{eff}|, \quad (2.13)$$

avec ψ l'angle entre \vec{B}_{eff} et l'axe z.

Les impulsions adiabatiques présentent de nombreux avantages. On peut en citer les points essentiels :

- Les impulsions adiabatiques sont considérées comme insensibles aux inhomogénéités de \vec{B}_1 .
- Inversion plus sélective, ce qui permet d'obtenir un profil de coupe beaucoup plus droit avec une longueur d'impulsion raisonnable.
- Permet de minimiser le débit d'absorption spécifique (DAS) lié à l'inversion : il est possible d'obtenir un angle d'inclinaison uniforme sur une large bande de fréquences.

C'est pour ces raisons que de nombreuses séquences IRM utilisent des impulsions adiabatiques dont l'ASL (*Arterial Spin Labelling*).

Inversion adiabatique induite par le flux

Ici le principe est similaire à celui décrit précédemment, cependant, l'inversion de l'aimantation ne se fait pas en variant la fréquence de l'onde RF mais est induite par le déplacement des spins sous l'effet du flux sanguin [42]. La modulation en fréquence se fait grâce à l'application d'un gradient de champ sur la direction (Oz) du flux sanguin qui va induire un déplacement de la fréquence de résonance des spins par rapport à la fréquence de Larmor (Figure 2.12). L'amplitude et la fréquence du champ RF restent fixes.

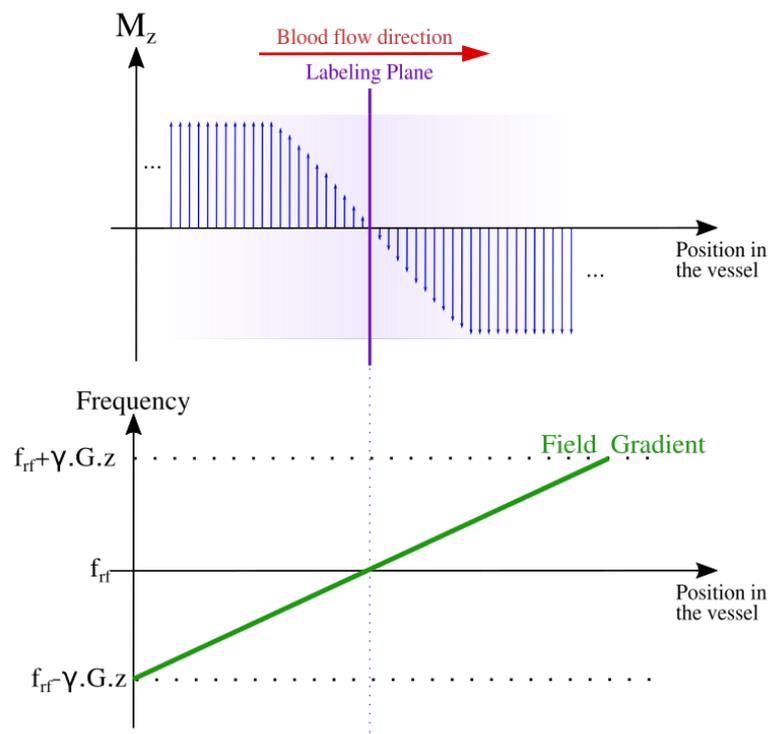


FIGURE 2.12 – Schéma d'une inversion adiabatique induite par le flux sanguin [55]

En considérant $(\vec{i}, \vec{j}, \vec{k})$ le référentiel tournant de référence, le champ magnétique \vec{B}_{eff} , représenté Figure 2.11, s'exprime :

$$\vec{B}_{eff} = B_1 \vec{i} + \frac{\Delta\omega(t)}{\gamma} \vec{k}, \quad (2.14)$$

avec $\Delta\omega$ la différence entre la fréquence des spins en mouvement et la fréquence au niveau du plan de marquage.

En présence d'un gradient de champ sur Oz, cette différence peut s'exprimer :

$$\Delta\omega(t) = \omega_{rf} - \gamma G_z r(t) = \gamma G_z (r_0 - r(t)), \quad (2.15)$$

avec ω_{rf} la fréquence de l'impulsion RF au niveau du plan de marquage (fréquence de résonance), $r(t)$ la position du spin en déplacement sous l'effet du flux sanguin en fonction du temps et r_0 la position du plan de marquage.

Au cours de leur déplacement, plus les spins approchent le plan de marquage ($r(t) \rightarrow r_0$), la différence $\Delta\omega(t) \rightarrow 0$ et donc le champ effectif $\vec{B}_{eff} \rightarrow \vec{B}_1$. Les spins sont en résonance lorsque $\vec{B}_{eff} = \vec{B}_1$ et l'aimantation du sang est inversée dans le plan transversal.

En s'éloignant du plan de marquage, le terme $\Delta\omega$ devient négatif et la composante $\frac{\Delta\omega(t)}{\gamma} \vec{k}$ recommence à augmenter mais dans le sens opposé, jusqu'à atteindre une inversion complète où l'aimantation du sang est alignée sur -z.

Dans les conditions d'une inversion adiabatique induite par le flux et en considérant les temps de relaxation transversale et longitudinale du sang artériel ($T_{2,b}, T_{1,b}$), le gradient de champ (G_z) et la vitesse de déplacement des spins (V_z), la condition d'adiabaticité devient :

$$\frac{1}{T_{2b}} \ll \frac{G_z V_z}{|\vec{B}_{eff}|} \ll \gamma |\vec{B}_{eff}|, \quad (2.16)$$

Cette équation permet de constater que les spins avec des vitesses d'écoulement faibles et élevées ne vérifient pas cette condition. Pour les spins de faible vitesse, la relaxation de l'aimantation longitudinale empêche l'inversion d'avoir lieu à la sortie de la coupe de marquage. Les spins de vitesse élevée, quant à eux, traversent le plan de marquage très vite, les spins n'ont alors pas le temps de connaître un balayage en fréquence suffisamment lent pour suivre la rotation du champ magnétique effectif \vec{B}_{eff} .

Cette forme d'inversion adiabatique induite par le flux présente toutefois une efficacité d'inversion limitée, en raison de la vitesse du sang variable dans le temps et dans l'espace et d'une impulsion effective plus longue qui est par conséquent, plus sensible aux effets de relaxation.

2.2.5 Plateforme d'imagerie : CREFRE-ENI

Les acquisitions IRM décrites dans ce manuscrit ont été effectuées sur l'IRM préclinique 7T (Biospec 70/16, Bruker, Ettlingen, Germany) au sein du service ENI (Exploration Non Invasive) du CREFRE (Centre Régional d'Exploration Fonctionnelle et de Ressources Expérimentales - UMS 006 Inserm/UPS).



FIGURE 2.13 – Appareil IRM préclinique utilisé lors de ces travaux de thèse : Biospec 70/16 (Bruker, Ettlingen, Germany).

Durant ces travaux de thèse, les principales études ont été effectuées chez le rat et/ou la souris. Toutefois, nous avons pu tester la séquence pCASL sur un marmouset (ouistiti, *Callithrix jacchus*). L'expérimentation à l'ENI-CREFRE est réalisée avec des contraintes sanitaires qui garantissent le maintien du statut sanitaire des animaux. Ainsi, pour les expériences *in vivo*, les animaux sont placés dans des cellules d'imagerie dédiées à chaque modèle animal (Équipement Vétérinaire Minerve SA, Esternay, France) permettant de préserver les statuts sanitaires, du SPF (*Specific Pathogen Free*) au conventionnel.



FIGURE 2.14 – Antennes et cellules disponibles sur l'IRM préclinique 7T du service ENI-CREFRE. (1) Cellule marmouset, (2) et (3) Cellules rat, (4) Cellule souris, (5) Antenne volumique émission/réception 72 mm, (6) Antenne surfacique 2x2 éléments tête rat, (7), (8) et (9) Antennes surfaciques de diamètre 30, 20 et 10 mm, respectivement.

Ci-après le détails des antennes et cellules utilisées :

- **Pour le rat :** Cellule rat (2.14-2)
 En émission : antenne volumique transmission/réception (D=72 mm) (2.14-5).
 En réception : antenne surfacique tête rat 2x2 éléments (2.14-6).
- **Pour la souris :** Cellule souris (2.14-4).
 En émission : antenne volumique transmission/réception (D=72 mm) 2.14-5.
 En réception : antenne surfacique (D= 10 mm) reliée à un pré-amplificateur (2.14-9).
- **Pour le marmouset :** Cellule marmouset (2.14-1).
 En émission : antenne volumique transmission/réception (D= 72 mm) (2.14-5).
 En réception : antenne surfacique (D= 30 mm) reliée à un pré-amplificateur (2.14-7).

2.3 La mesure de perfusion cérébrale par marquage de spins artériels

La méthode par marquage des spins artériels (ASL) permet de mesurer quantitativement le débit sanguin cérébral (CBF) [3]. Contrairement à d'autres techniques de mesure plus courantes, comme la TEP ou la TEMP, l'ASL ne nécessite pas l'injection d'un agent de contraste exogène [38]. L'ASL utilise l'eau du sang artériel comme traceur endogène, ce qui en fait une technique totalement non invasive.

Bien que cette technique soit de plus en plus utilisée pour imager divers organes (tel que les reins, le coeur, etc.) [20, 148, 70], l'ASL est particulièrement adaptée à l'imagerie du cerveau. Outre le fait que le cerveau soit un organe fortement perfusé, l'anatomie du réseau vasculaire cérébral favorise une efficacité d'inversion élevée. En effet, les artères carotides, qui acheminent le sang vers le cerveau, sont parallèles les unes aux autres au niveau du cou, ce qui facilite le marquage effectif des spins en entrée du cerveau [42].

Quel que soit le schéma de marquage utilisé, une acquisition ASL se compose toujours d'une paire d'images Label/Contrôle. Pour les acquisitions Labels, les protons présents dans le sang artériel sont labélisés en inversant leur aimantation longitudinale dans la région de marquage considérée. Cette région est sélectionnée de manière à ce que tout le sang alimentant l'ensemble du cerveau la traverse avant d'atteindre le cerveau. L'acquisition des images Contrôles se fait en répétant le même processus mais cette fois-ci sans marquage effectif du sang. La différence entre les deux images est directement proportionnelle à la perfusion du tissu [38]. En considérant que le signal provenant du tissu statique est le même entre les images Labels et Contrôles, la différence de signal entre les deux volumes provient uniquement du sang entrant dans le voxel de l'image [19].

Le faible rapport signal/bruit obtenu sur les cartes pondérées en perfusion constitue un frein à l'utilisation de l'ASL en routine clinique. En effet, la variation relative du signal ASL ($\Delta ASL = (M_{Contrôle} - M_{Label}) / M_{Contrôle}$) est de l'ordre de 1 à 7 %. Il est difficile de distinguer le signal du bruit. Pour pallier cela, il est nécessaire de calculer la moyenne de plusieurs paires *Label-Contrôle* (~ 30) afin d'obtenir des cartes de perfusion exploitables et des estimations robustes et précises du CBF [92], entraînant en contre-partie une augmentation significative des temps d'acquisitions.

En tenant compte d'une série de paramètres, dont l'efficacité de marquage, le temps de relaxation longitudinal du sang et du tissu et le coefficient de partition tissu/sang de l'eau dans le cerveau, et à travers des modèles biophysiques plus ou moins complexes [19, 102], il est possible d'obtenir une estimation quantitative du CBF.

2.3.1 Les principales méthodes d'ASL

Il existe trois méthodes pour réaliser l'ASL : le marquage de spin artériel continu (CASL), le marquage de spin artériel pulsé (PASL) et le marquage de spin artériel pseudo-continu (pCASL). Elles varient principalement au niveau du processus de marquage de spins, des régions d'inversion et des durées de marquages.

2.3.1.1 Pulsed Arterial Spin Labeling (PASL)

Dans l'ASL pulsé (PASL ou Pulsed-ASL), le marquage est réalisé en inversant une large tranche de sang artériel en utilisant une impulsion RF adiabatique de courte durée, qui entraîne l'inversion du sang dans une région spécifique. Plusieurs techniques PASL existent et varient en fonction de la méthode de marquage utilisée. Introduite par Kim et al. et Kwong et al. en 1995 [69, 74], la séquence PASL-FAIR (ou Flow Sensitive Alternating Inversion Recovery) est de loin la plus répandue en imagerie pré-clinique. Pour réaliser les acquisitions de marquage et de contrôle, des images sont acquises respectivement après une inversion sélective et une inversion non sélective (inversion globale). La séquence PASL-FAIR est schématisée Figure 2.15.

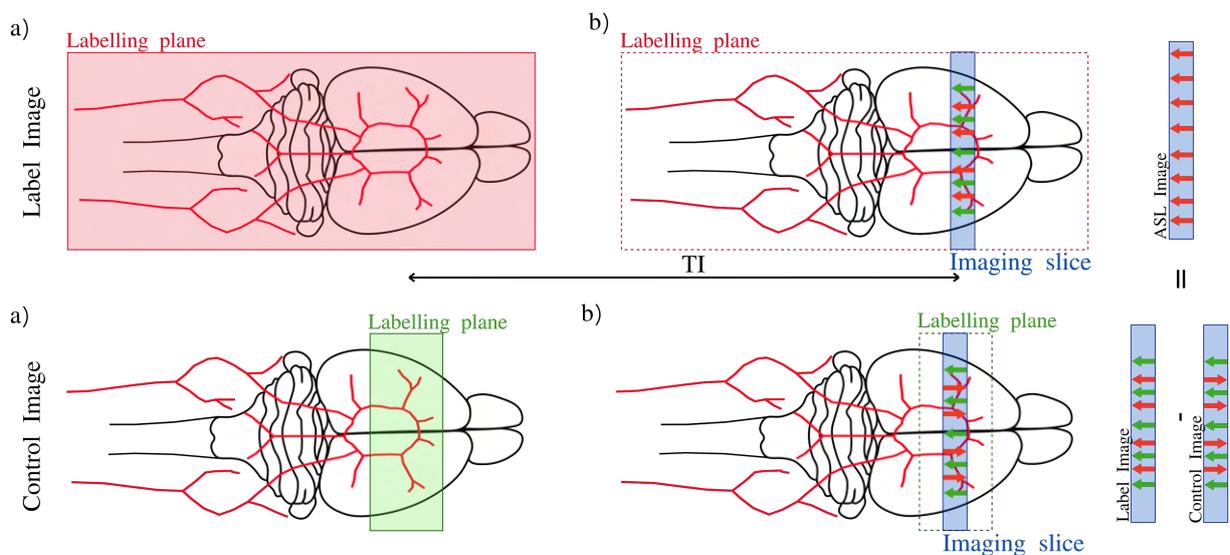


FIGURE 2.15 – Schéma illustrant le principe de la séquence PASL-FAIR. L'image marquée est obtenue à l'aide d'une large coupe d'inversion, (a) avec l'application d'une impulsion d'inversion non sélective. (b) L'image Label est acquise après un délai temporel (TI) et contient du sang artériel et veineux marqué. L'image contrôle est obtenue avec (a) la même impulsion d'inversion mais cette fois-ci avec sélection de coupe. La coupe de marquage est nécessairement plus large que la coupe d'imagerie Contrôle (b) acquise après un délai (TI). Les spins statiques provenant des tissus sont représentés par des flèches vertes et l'eau du sang par des flèches rouges (Les flèches rouges sont inversées pour l'eau marquée et non inversées dans le cas contraire). [44, 55]

Les images Labels sont obtenues après un délai avec une impulsion d'inversion non sélective. Par conséquent, tous les spins à l'intérieur et à l'extérieur du plan de l'image sont inversés. L'étendue spatiale de l'impulsion RF dépend des dimensions de l'antenne RF utilisée en émission. Cette technique présente l'avantage de marquer le flux sanguin entrant dans la coupe d'imagerie en provenance de plusieurs directions ; cependant, elle marque également le flux sanguin veineux. Les spins veineux inversés entrent dans l'image marquée et produisent un hyper-signal artéfactuel dans l'image de différence. Les images Contrôles sont acquises en utilisant une impulsion d'inversion sélective. Ainsi, et en raison du flux sanguin, les spins de l'eau inversés sont remplacés par des spins totalement relaxés (qui n'ont pas expérimenté l'impulsion d'inversion sélective). Pendant ce temps, les spins statiques restent inversés.

Comme les acquisitions Labels/Contrôles utilisent la même impulsion d'inversion, les effets de transfert d'aimantation tendent à s'annuler après soustraction. Cependant, pour compenser l'aspect imparfait de sélection de coupe sur l'inversion sélective, la coupe de marquage sélective doit être plus large que la coupe d'imagerie.

2.3.1.2 Continuous Arterial Spin Labeling (CASL)

La méthode CASL utilise des impulsions RF continues de longue durée (2 à 4 s) combinées à un gradient sélectif de coupe pour induire une inversion adiabatique de l'aimantation artérielle lors du déplacement des spins le long de la coupe de marquage [42]. Ce type d'impulsion d'inversion énoncé précédemment (Section 2.2.4) utilise une excitation en mode continu et permet, en ajustant les amplitudes des gradients et de l'impulsion RF, d'inverser les spins du sang artériel se déplaçant perpendiculairement à la coupe de marquage et dans une certaine gamme de vitesses. La première utilisation *in vivo* cette méthode dite "Inversion adiabatique induite par le flux" a permis de mesurer le CBF chez le rat et date de 1992 [136, 38].

La coupe de marquage de la session Label est généralement positionnée en amont du cerveau, de manière à couvrir une section des artères principales. Ces dernières doivent être parallèles à la direction du champ magnétique statique \vec{B}_0 . Chez le rat, le marquage, qui vise à inverser le sang au niveau des artères carotidiennes, est effectué avant la première bifurcation des carotides communes (Figure 2.16). En pratique, en utilisant une antenne volumique pour émettre l'impulsion de marquage, tout le volume couvert par l'antenne est exposé à cette onde continue. Cela a pour conséquence de saturer aussi l'aimantation longitudinale provenant des macromolécules. En effet, en raison de leur large bande spectrale (10 - 50kHz), les macromolécules sont sensibles aux impulsions hors résonance (à des fréquences différentes de la fréquence de résonance des protons de l'eau). L'aimantation des protons de l'eau est transférée vers celle des protons des macromolécules générant indirectement une diminution de signal des protons de l'eau. Ce phénomène est appelé transfert d'aimantation (MT ou *Magnetization Transfer*) [53].

Dans le cas de la séquence CASL, le signal récupéré durant la session Label est fortement contaminé par des effets de transfert d'aimantation, provoquant une diminution du signal mesuré.

Par conséquent, la réduction de l'aimantation mesurée n'est pas seulement due à l'afflux du sang marqué, mais aussi aux effets de MT, plus importants que ceux de la perfusion. Ce phénomène génère donc une surestimation du CBF. Pour compenser ces effets, une impulsion similaire est appliquée durant la session Contrôle avec une fréquence d'offset opposée à la fréquence de la coupe de marquage ($-\Delta f$), de manière à ce que, lors de la soustraction des images Label/Contrôle, les effets MT s'annulent. Cette méthode est basée sur l'hypothèse que le spectre fréquentiel des macromolécules est symétrique par rapport à f_0 . Toutefois, afin de conserver les mêmes effets MT entre les acquisitions Label/Contrôle, la coupe d'imagerie doit être située à équidistance des deux plans de marquage. Or, seule une tranche unique peut vérifier cette condition. Ainsi, le schéma CASL conventionnel ne permet pas de réaliser des images multi-coupes.

Notons aussi que l'hypothèse selon laquelle le spectre des macromolécules est parfaitement symétrique a été remise en question dans de nombreuses études qui ont mis en évidence un effet résiduel de MT qui persiste après la soustraction des images Label/Contrôle [108, 59].

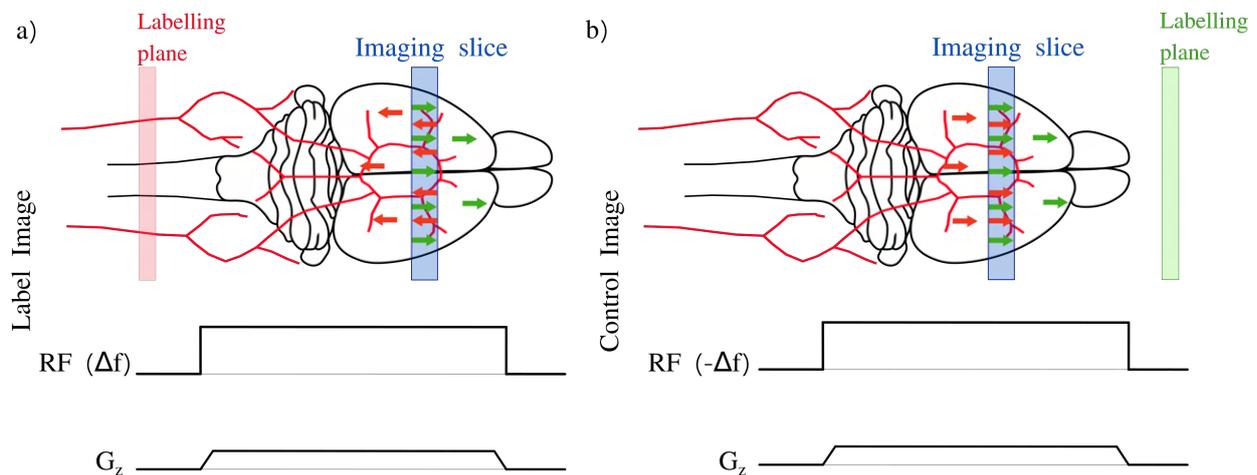


FIGURE 2.16 – Schéma illustrant le marquage de spin artériel continu par la séquence CASL. L'image contrôle est acquise avec un plan de marquage symétrique à celui utilisé dans l'image marquée par rapport au plan de l'image, afin de compenser les effets de transfert d'aimantation (MT). Le tissu statique est représenté par des flèches vertes, tandis que l'eau du sang est représentée par des flèches rouges (Les flèches rouges sont inversées pour l'eau marquée et non inversées dans le cas contraire). [44, 55]

L'inversion continue des spins permet d'obtenir une efficacité d'inversion élevée et donc un rapport Signal/Bruit plus important que les autres méthodes d'ASL [130]. Cependant, cette méthode présente des limites évidentes liées à l'application d'une onde RF continue. En effet, cela induit un dépôt d'énergie important au niveau des tissus avec des débits d'absorption spécifiques (DAS) élevés. Cette inversion continue présente ainsi des contraintes techniques et expérimentales qui limitent son utilisation selon l'équipement et le matériel disponible [15]. Il existe des approches pour surmonter ces limitations, notamment la séquence CASL à double antenne (dc-CASL ou double coil CASL), qui utilise deux antennes distinctes pour le marquage et l'imagerie,

respectivement [120, 144]. A des champs magnétiques statiques élevés, la séquence CASL avec une antenne supplémentaire positionnée au niveau du cou permet de supprimer les effets de transfert d'aimantation, et de couvrir tout le cerveau tout en diminuant le débit d'absorption spécifique (DAS) [57].

2.3.1.3 Pseudo-Continuous Arterial Spin Labeling (pCASL)

La séquence pCASL reproduit le schéma de la séquence CASL mais avec un marquage pseudo-continu [31]. A l'origine, la méthode fut développée comme une alternative pour les IRMs ne possédant pas d'amplificateurs RF avec un mode d'émission continue (continuous wave mode (CWM)). Lors des premières séquences pCASL proposées, la longue impulsion de marquage de la CASL a été remplacée par un train d'impulsions rectangulaires. Cependant, cette approche a donné lieu à la création de plans de marquage aliasés. Pour obtenir un plan de marquage plus sélectif, les impulsions rectangulaires ont été remplacées par des impulsions de type Hanning [31]. Et enfin, l'amplitude du gradient de champ appliqué pendant l'impulsion RF a été augmentée afin de supprimer tous les plans aliasés et de manière à satisfaire la condition :

$$\frac{G_{max}}{G_{ave}} \gg \frac{\Delta t}{OPT} \quad (2.17)$$

avec Δt (PRT - *Pulse Repetition Time*) la durée entre le début de deux impulsions successives, OPT (*One pulse time*) la durée d'une impulsion RF, G_{max} et G_{ave} sont respectivement la valeur maximale et moyenne du gradient appliqué durant l'impulsion de marquage.

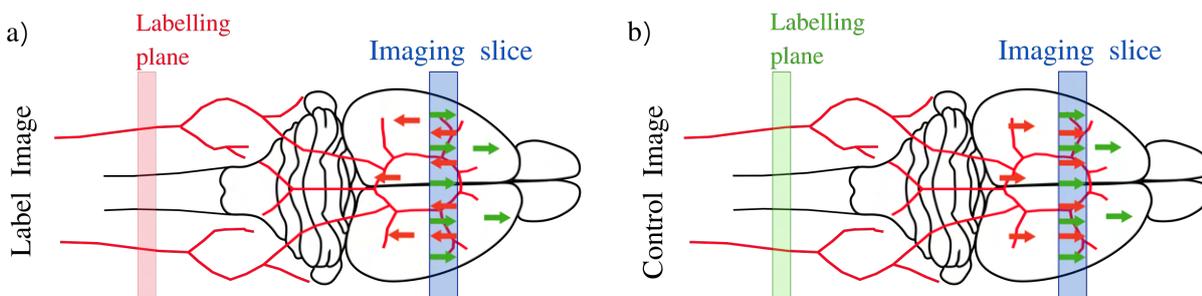


FIGURE 2.17 – Schéma illustrant le marquage de spin artériel pseudo-continu par la séquence pCASL. La coupe de marquage est positionnée au même endroit (avant la première bifurcation des carotides communes) pour les sessions Labels et Contrôles. Les impulsions d'inversions alternées et le gradient de champ appliqué conditionnent l'absence de marquage effectif des spins à la sortie de la coupe d'inversion dans les acquisitions contrôles. Le tissu statique est représenté par des flèches vertes, tandis que l'eau du sang est représentée par des flèches rouges (Les flèches rouges sont inversées pour l'eau marquée et non inversées dans le cas contraire). [44, 55]

Contrairement à la séquence CASL, l'utilisation d'un train d'impulsions RF permet de conserver la même fréquence entre les acquisitions Labels et Contrôle. Ainsi, le plan de marquage est

localisé à la même position par rapport à l'isocentre dans les deux sessions (Figure 2.17). Cependant, les impulsions RF de la session contrôle sont déphasées de 180° . Cela empêche l'inversion de l'aimantation des spins du sang artériel tout en induisant exactement les mêmes effets de MT dans la région d'intérêt.

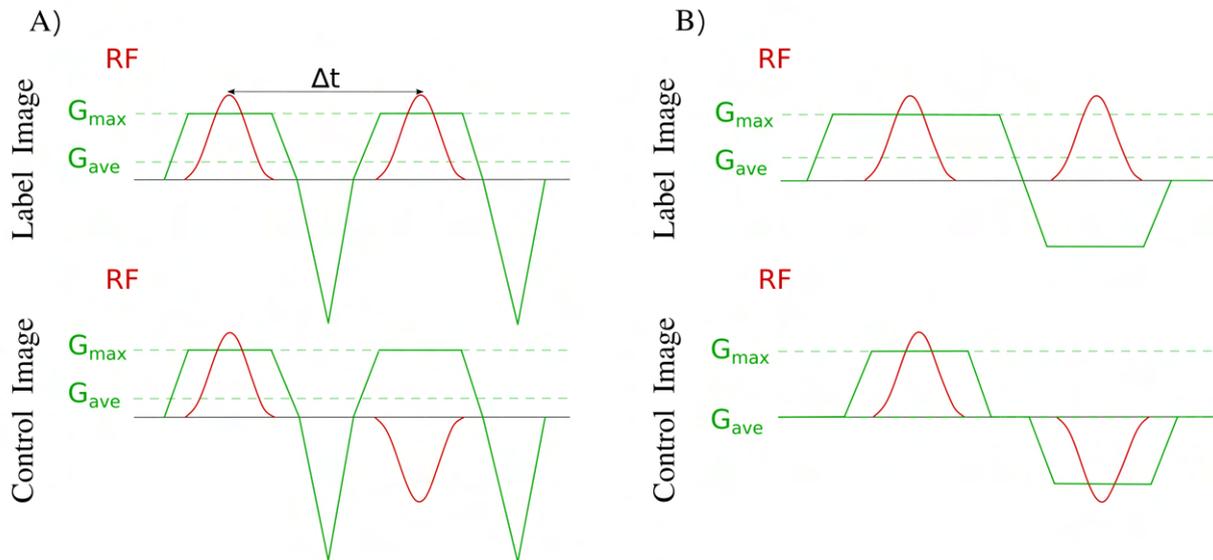


FIGURE 2.18 – Deux schémas de marquage ASL pseudo-continu : les méthodes A) *balanced* pCASL et B) *unbalanced* pCASL [140].

En outre, il faut aussi tenir compte de la position du plan de marquage par rapport au centre de l'aimant. En effet, le plan de marquage est situé au niveau du cou et c'est généralement le cerveau (ou la zone d'intérêt) que l'on positionne à l'isocentre. Pour pallier cela, un décalage en fréquence est appliqué aux impulsions RF du train d'impulsion de la séquence pCASL [31]. Ce décalage en fréquence est donné par : $\Delta\omega = \gamma G_{max} \Delta z$ avec Δz la distance entre le plan de marquage et le centre de l'aimant. Entre deux impulsions RF consécutives, le déphasage est donné par : $\Delta\phi_{th,L} = \gamma G_{ave} \Delta z \Delta t$. Cette relation est valable pour la session Label. Pour la session Contrôle, il faut tenir compte de l'alternance de signe entre deux impulsions RF consécutives : $\Delta\phi_{th,C} = \Delta\phi_{th,L} + 180^\circ$.

Il existe plusieurs stratégies de marquage pCASL, parmi lesquelles on peut citer, la séquence *balanced* pCASL et *unbalanced* pCASL, multiphase-pCASL [65], pCASL avec encodage temporel [125] ou encore la séquence *vessel encoded* pCASL [138].

Si on s'intéresse plus particulièrement aux séquences *balanced* et *unbalanced* pCASL, elles diffèrent principalement par leurs schémas de marquage (Figure 2.18). Dans les deux méthodes, la polarité des impulsions RF est constante pendant la session de marquage et alternée pendant la session de contrôle. Cependant, le gradient moyen entre deux impulsions RF consécutives est identique entre Label et Contrôle pour la méthode *balanced* pCASL et différent pour la méthode *unbalanced* pCASL.

Par conséquent, pour la séquence *unbalanced* pCASL, et en tenant compte de $G_{ave} = 0$ à la session contrôle, le déphasage appliqué entre deux impulsions RF consécutives est égale à 180° .

Dans ce manuscrit, les différentes études pCASL présentées ont été effectuées avec un schéma *unbalanced*. Cette dernière est moins sensible aux effets de *off-resonance* [140], tel que détaillé dans la section suivante.

2.3.2 La séquence pCASL à hauts champs : Correction des effets d'off-résonance

L'utilisation d'IRM avec des champs magnétiques à faible ou à haute intensité a fait l'objet ces dernières années de nombreux débats. En théorie, l'utilisation d'aimant à haut champ ou à ultra-haut champ est fortement avantageuse pour les méthodes de mesure de perfusion par ASL. En effet, cela permet d'améliorer considérablement le RSB et d'allonger le temps de relaxation longitudinal du traceur [146]. La séquence pCASL a cependant été longtemps considérée comme difficilement réalisable sur un IRM 7T [123] en raison des effets d'off-résonance qui impactent les régions où la fréquence de résonance des spins ne correspond pas à la fréquence de Larmor en raison des hétérogénéités du champ magnétique \vec{B}_0 . En outre, ces effets sont exacerbés lors de l'application d'un champ magnétique élevé. Ceci représente un défi majeur en recherche préclinique, particulièrement pour l'utilisation de la séquence pCASL. La tête des rongeurs comporte des zones remplies d'air (cavités nasales et auditives) proches de la zone de marquage qui compromettent fortement la correction des hétérogénéités du champ (shimming).

De nombreuses méthodes ont été proposées pour compenser ou corriger ses effets d'off-résonance qui impactent fortement l'efficacité d'inversion de la séquence pCASL. Une dégradation de l'efficacité de marquage entraîne une diminution du rapport signal/bruit des cartes de perfusion et peut entraîner des erreurs de quantification non négligeables si elle n'est pas prise en compte.

Les premières méthodes proposées portent sur la corrections des in-homogénéités du champ au niveau de la coupe de marquage :

- **Dual-shim pCASL** : Cette méthode part de l'hypothèse que les paramètres de shimming optimisés au niveau du volume d'imagerie ne sont pas adaptés à la coupe de marquage généralement distante de 10 à 20cm de la zone d'intérêt. Le CBF estimé et le RSB associé à cette estimation ont été évalués en présence d'une correction d'inhomogénéités *simple* au niveau du volume d'imagerie et *double* avec une correction simultanée au niveau des deux volumes d'imagerie et de marquage. Aucune différence significative n'a été retrouvée entre les CBF et RSB estimés par les deux méthodes [124].
- **Correction avec carte du champ B_0** : Cette méthode vise à compenser les inhomogénéités du champ magnétique dans la région de marquage à l'aide d'impulsions RF avec correction de phase et de gradient à 3T [60]. A partir d'une mesure des déformations locales du champ B_0 une phase additionnelle est appliquée entre deux impulsions RF successives et le gradient de sélection de coupe est modifié. Cette méthode a permis d'améliorer considérablement le RSB et l'efficacité de marquage. Une étude récente a étudié l'effet de

la correction par la carte de champs à 7T [117]. Dans l'approche simplifiée, un décalage moyen est calculé autour des artères principales au niveau de la carte de champ mesurée à la position de marquage. Cette méthode a permis d'augmenter considérablement le signal ASL mesuré avec cependant un maximum d'efficacité d'inversion limité à 68%.

- **pCASL multi-phase** : Cette méthode nécessite d'effectuer plusieurs acquisitions avec différentes phases pour les acquisitions Labels et Contrôles puis d'estimer le débit sanguin cérébral à partir de l'évolution du signal ASL en fonction de la phase par des modèles impliquant comme paramètre la vitesse du sang au niveau des artères. Cette méthode d'abord proposé chez l'homme [65] puis chez les rongeurs [78], permet d'améliorer les cartes de CBF estimées mais souffre d'un rapport Signal/Bruit faible par rapport aux autres méthodes de correction.
- **Pré-scan d'optimisation de la phase inter-impulsion RF** : Cette méthode est basée sur l'acquisition d'une série d'images pCASL Label/Contrôle à faible résolution avec différents déphasages appliqués au train impulsions RF de marquage [93] et permet ainsi d'estimer le décalage en phase qui maximisent le signal de perfusion mesuré (global) (ou par territoire vasculaire en ajoutant des gradients dans le plan (Ox,Oy)). Une étude récente a démontré l'efficacité de cette méthode en clinique à 7T avec un pré-scan pCASL qui balaye différente valeur de phase entre $-\pi$ et π [117] en utilisant une acquisition balanced pCASL et une résolution spatiale faible pour l'optimisation d'une acquisition par la séquence unbalanced pCASL.

La séquence unbalanced pCASL utilisée durant ces travaux de thèse est basée sur deux pré-scans d'optimisation de la phase inter-impulsions RF [56]. Les deux acquisitions permettent d'optimiser les acquisitions Label et Contrôle séparément en raison de la différence au niveau du gradient moyen appliqué lors de l'impulsion d'inversion adiabatique ($G_{ave} = 0$ pour les scans Contrôles et $G_{ave} \neq 0$ pour les scans Labels). Cette méthode sera abordée plus en détail dans le Chapitre 3.

2.3.3 Principes théorique de l'ASL - modèle à compartiment unique

Les méthodes d'estimation de la perfusion par ASL présentent l'avantage de fournir une quantification absolue et précise du CBF. En effet, la différence de signal (*Label - Control*) est directement proportionnelle à la perfusion.

Cependant, et comme souligné précédemment, un certain nombre d'autres facteurs contribuent au signal de différence, et ceux-ci doivent être pris en compte pour fournir une estimation précise de la perfusion. En effet, le schéma de marquage utilisé peut provoquer un signal indésirable dans l'image de différence qui n'est pas lié à la perfusion, mais par exemple, aux effets de transfert d'aimantation qui subsiste entre les images de marquage et de contrôle. Dans le cadre de cette section, on suppose que le signal dans l'image de différence contient des contributions de tout le sang perfusé, et uniquement du sang perfusé.

Le signal de différence peut être recueilli soit à un seul instant après le marquage, soit à plusieurs instants après le marquage, comme le montre la Figure 2.19. Ce temps est souvent appelé le temps d'inversion ou le délai post-marquage (PLD - *Post labeling delay*).

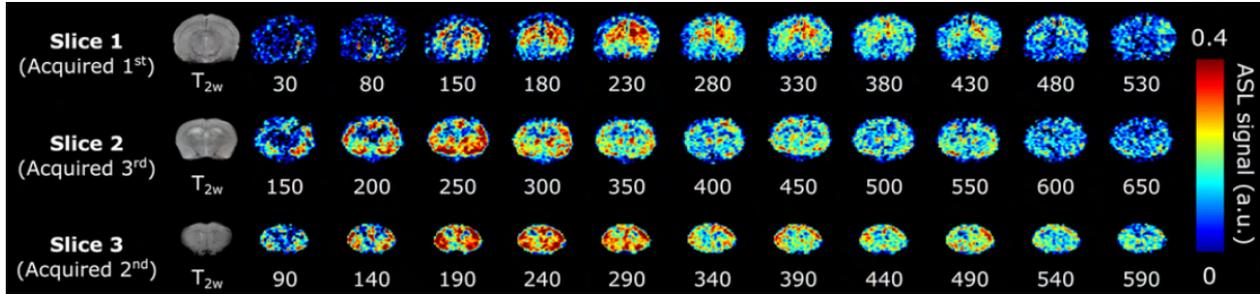


FIGURE 2.19 – Exemple d'images pondérées en perfusion obtenues avec un encodage temporel d'*Hadamard*, et les images anatomiques correspondantes (T_{2w}). Le nombre sous chaque carte indique le délai effectif post-marquage (PLD) en millisecondes [58].

2.3.3.1 Approche par l'équation de Bloch

L'équation de Bloch standard permet de décrire la décroissance de l'aimantation longitudinale, M , par la constante de temps T_1 , et est donnée par :

$$\frac{dM(t)}{dt} = \frac{M_0 - M(t)}{T_1} \quad (2.18)$$

avec M_0 l'aimantation à l'équilibre.

L'effet de l'arrivée du sang marqué au niveau du voxel peut être introduit dans l'équation précédente à travers l'ajout des termes M_a , qui décrit l'aimantation artérielle atteignant le tissu avec un certain débit f , et M_v l'aimantation veineuse qui décrit la diminution de l'aimantation causée par la circulation du sang marqué hors du voxel [38] :

$$\frac{dM(t)}{dt} = \frac{M_0 - M(t)}{T_1} + f(M_a(t) - M_v(t)) \quad (2.19)$$

avec $M(t)$ l'aimantation totale dans le voxel de tissu de l'image labellisée à l'instant t après marquage.

Par soucis de simplification, nous allons considérer les hypothèses principales du modèle uni-compartiment [38] dont le schéma est présenté Figure 2.20. Ce dernier suppose que l'eau atteint instantanément un état d'équilibre dans tout le voxel. Ainsi, l'aimantation du sang sortant du voxel est proportionnelle à l'aimantation du tissu. Le coefficient de proportionnalité est le coefficient de partition tissu/sang en eau λ . L'équation précédente peut donc s'écrire :

$$\frac{dM(t)}{dt} = \frac{M_0 - M(t)}{T_1} - \frac{f}{\lambda} \cdot M_v(t) + f \cdot M_a(t) \quad (2.20)$$

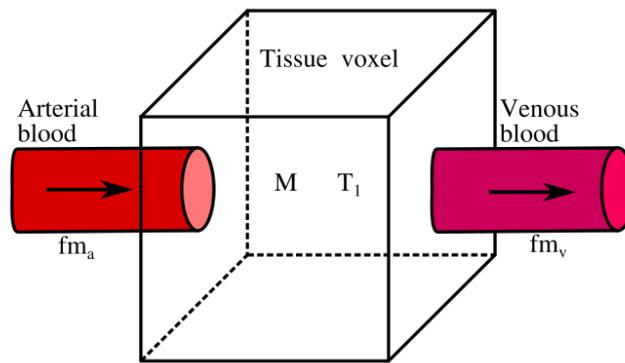


FIGURE 2.20 – Schéma d'un modèle physiologique à un compartiment [102]

En introduisant $\frac{1}{T_{1,app}} = \frac{1}{T_1} + \frac{f}{\lambda}$ le temps de relaxation longitudinal apparent du tissu en présence du sang marqué, on obtient :

$$\frac{dM(t)}{dt} = \frac{M_0}{T_1} - \frac{M(t)}{T_{1,app}} + f \cdot M_a(t) \quad (2.21)$$

En considérant une impulsion d'inversion continue au niveau des carotides, on obtient l'expression du débit en fonction de la différence de signal $\Delta M = M_{Control} - M_{Label}$:

$$f = \frac{1}{2} \cdot \frac{\lambda}{T_{1,app}} \cdot \frac{\Delta M}{M_0} \quad (2.22)$$

Cependant, il est important de noter que cette approche, introduite par Detre et al. en 1992 [38], n'est valable que dans le cas de la séquence CASL (Continuous Arterial Spin Labeling). En plus de considérer une efficacité d'inversion optimale (égale à 1), le raisonnement décrit dans cette section ne prend pas en compte la relaxation du sang au cours de son transit, de la coupe de marquage vers le voxel d'imagerie.

2.3.3.2 Approche par le modèle cinétique général

Pour corriger les différentes limitations liées à l'approche par l'équation de Bloch, BUXTON et al. ont présenté une description mathématique du modèle à un seul compartiment en utilisant trois fonctions :

- La fonction de distribution $c(t)$, qui représente le sang artériel marqué qui arrive dans le tissu
- La fonction de résidu $r(t - \tau)$, qui décrit la quantité de sang marqué dans le tissu à l'instant $t - \tau$
- la fonction $m(t - \tau)$, liée à la relaxation longitudinale de l'aimantation, qui traduit la fraction de M_z qui subsiste dans le tissu au temps $t - \tau$

avec τ est la durée du marquage

Ce modèle est appelé modèle cinétique général de quantification du CBF.

En intégrant les contributions des différentes fonctions, la différence de signal $\Delta M = M_{Control} - M_{Label}$ s'écrit :

$$\Delta M(t) = 2 \cdot \alpha \cdot M_{0b} \cdot f \cdot \int_0^t c(t) \cdot r(t - \tau) \cdot m(t - \tau) d\tau, \quad (2.23)$$

avec α l'efficacité d'inversion et M_{0b} l'aimantation du sang à l'équilibre

Ce modèle, de loin le plus utilisé dans la littérature, repose sur trois hypothèses principales :

- **Un bolus inversé uniforme** : le sang artériel inversé arrive de manière continue au niveau de la zone imagée après un délai Δt (qui correspond au temps de transit artériel - ATT) pendant une durée τ qui correspond à la durée du marquage. Cette hypothèse permet d'exprimer la fonction de distribution en fonction du temps de relaxation longitudinal du sang $T_{1,b}$. A un instant $t \in [\Delta t, \Delta t + \tau]$ et pour un marquage continu ou pseudo-continu, la fonction de distribution s'écrit $c(t) = e^{-\Delta t/T_{1,b}}$. Pour un marquage PASL par la séquence FAIR, $c(t) = e^{-t/T_{1,b}}$. La fonction de distribution est nulle en dehors de cet intervalle.
- **Modèle à un seul compartiment** : les échanges en eau entre le sang et le tissu cérébral sont considérés comme instantanés et la concentration d'eau marquée dans les veines est proportionnelle à la concentration d'eau marquée dans les tissus. Le rapport étant égal au coefficient λ de partition tissu/sang en eau. La fonction résidu s'écrit alors $r(t) = e^{-ft/\lambda}$
- **L'eau marquée est complètement extraite du capillaire vers le tissu** une fois arrivée dans le voxel. Elle relaxe alors directement à la constante de relaxation longitudinale du tissu T_1 . La fonction de relaxation s'écrit donc : $m(t) = e^{-t/\lambda}$.

La résolution de l'équation 2.23 combinées avec les hypothèses ci-dessous, permet de retrouver l'expression de la différence de signal ΔM [19].

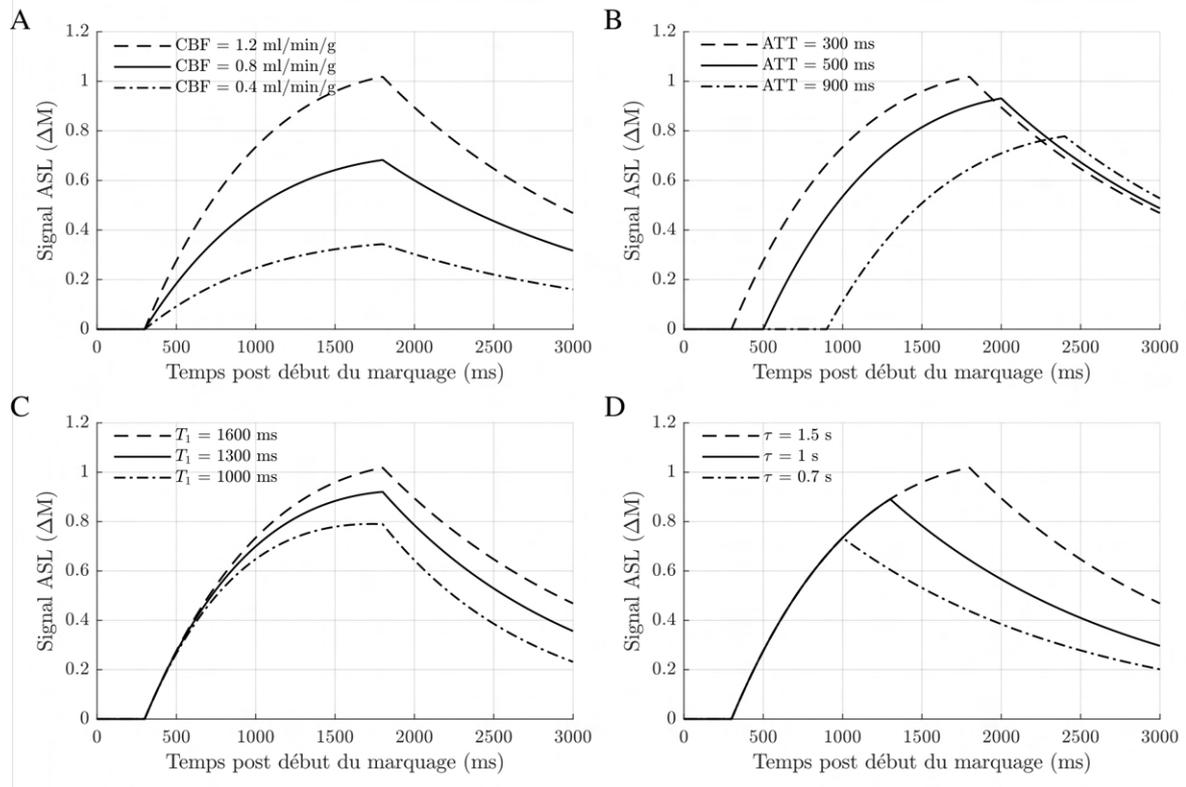


FIGURE 2.21 – Tracé de l'évolution du signal ASL (ΔM) en fonction du temps post-début du marquage de la séquence PASL-FAIR [19] et effet des différents paramètres A) CBF (f) B) ATT (Δt) C) T_1 et D) τ la durée de marquage (LT) sur l'évolution du signal. A l'exception des paramètres modifiés, les simulations numériques ont été effectuées avec les conditions : $CBF = 1.2 \text{ ml/min/g}$, $T_1 = 1600 \text{ ms}$, $\tau = 1.5 \text{ s}$ et $ATT = 300 \text{ ms}$.

Pour la séquence **PASL** :

$$\begin{cases} \Delta M(t) = 0, & 0 < t < \Delta t \\ \Delta M(t) = 2M_{0b}f(t - \Delta t)\alpha e^{-t/T_{1,b}}q_p(t), & \Delta t < t < \tau + \Delta t \\ \Delta M(t) = 2M_{0b}f\tau\alpha e^{-t/T_{1,b}}q_p(t), & \tau + \Delta t < t \end{cases} \quad (2.24)$$

Le terme sans dimension $q_p(t)$ traduit les contributions des temps de relaxation et de la clairance veineuse. Il s'exprime :

$$\begin{cases} q_p(t) = \frac{e^{kt}(e^{-k\Delta t} - e^{-kt})}{k(t - \Delta t)}, & \Delta t < t < \tau + \Delta t \\ q_p(t) = \frac{e^{kt}(e^{-k\Delta t} - e^{-k(\tau + \Delta t)})}{k\tau}, & \tau + \Delta t < t \end{cases} \quad (2.25)$$

avec $k = \frac{1}{T_{1,b}} - \frac{1}{T_{1,app}}$.

La figure 2.21 permet de visualiser l'évolution du signal ASL mesuré en utilisant la séquence FAIR-PASL au cours du temps qui suit le début de l'impulsion de marquage. Elle permet de mettre

en évidence l'impact des différents paramètres associés à la mesure de la différence de signal ASL.

Pour la séquence **CASL** et **pCASL** :

$$\begin{cases} \Delta M(t) = 0, & 0 < t < \Delta t \\ \Delta M(t) = 2M_{0b}fT_{1,app}\alpha e^{-\Delta t/T_{1,b}}q_{ss}(t), & \Delta t < t < \tau + \Delta t \\ \Delta M(t) = 2M_{0b}fT_{1,app}\alpha e^{-\Delta t/T_{1,b}}e^{-(t-\tau-\Delta t)/T_{1,app}}q_{ss}(t), & \tau + \Delta t \leq t \end{cases} \quad (2.26)$$

Le terme sans dimension $q_{ss}(t)$ permet d'isoler les termes liés à la convergence vers l'état stationnaire. Il s'exprime :

$$\begin{cases} q_{ss}(t) = 1 - e^{-(t-\Delta t)/T_{1,app}}, & \Delta t < t < \tau + \Delta t \\ q_{ss}(t) = 1 - e^{-\tau/T_{1,app}}, & \tau + \Delta t \leq t \end{cases} \quad (2.27)$$

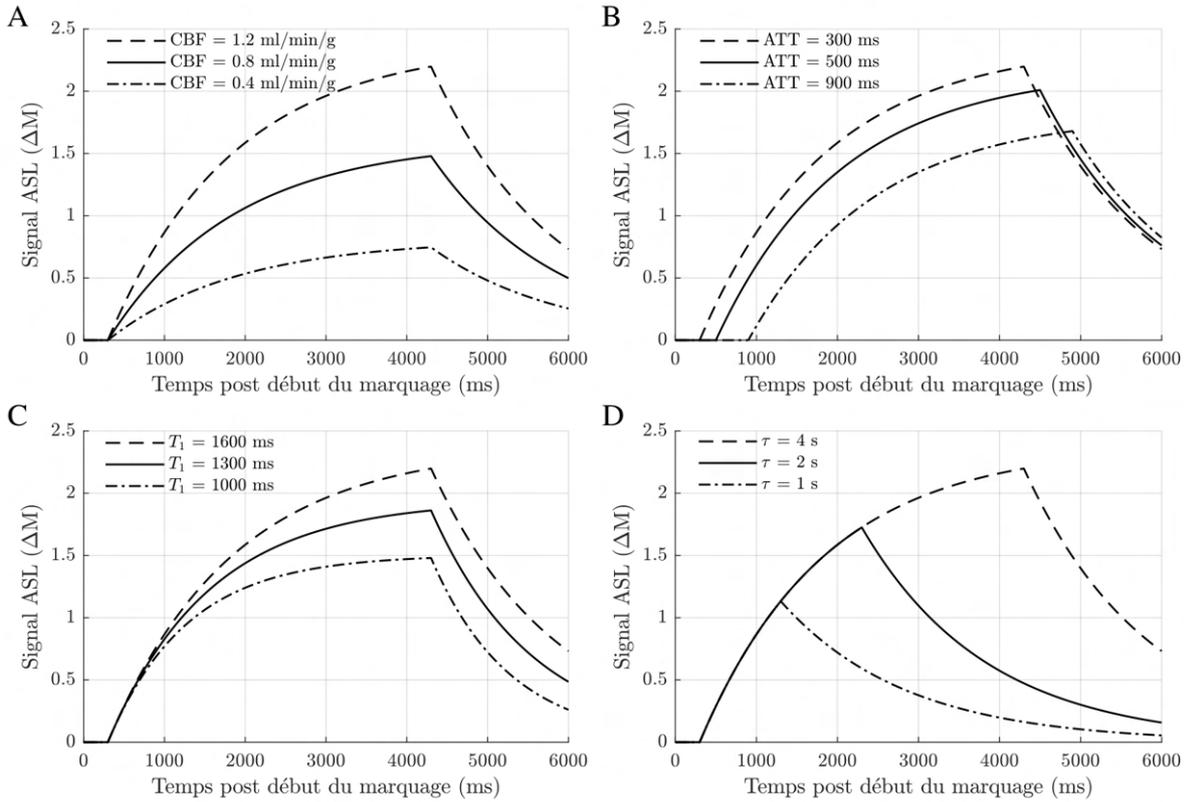


FIGURE 2.22 – Tracé de l'évolution du signal ASL (ΔM) en fonction du temps post-début du marquage de la séquence CASL (+ pCASL) [19] et effet des différents paramètres A) CBF (f) B) ATT (Δt) C) T_1 et D) τ la durée de marquage (LT) sur l'évolution du signal. A l'exception des paramètres modifiés, les simulations numériques ont été effectuées avec les conditions : $CBF = 1.2 \text{ ml/min/g}$, $T_1 = 1600 \text{ ms}$, $\tau = 4 \text{ s}$ et $ATT = 300 \text{ ms}$.

La Figure 2.22 permet de visualiser l'évolution du signal ASL, mesuré un utilisant les séquences à marquage continu ou pseudo-continu, au cours du temps qui suit le début de l'impulsion de marquage.

Comme souligné précédemment, la mesure de CBF peut être effectuée soit par le biais de plusieurs acquisitions pCASL à différents temps de post-marquage (pCASL multi-PLD), soit à un temps de post de marquage unique. Le choix des acquisitions à multi-PLD peut s'avérer pertinent pour tenir compte des variations d'ATT entre les différentes structures cérébrales. Cela permet aussi, en utilisant le modèle mono-compartmental (équation 2.26) d'obtenir des cartes d'ATT en plus des cartes de CBF.

Cependant, cette méthode, qui nécessite l'acquisition d'un nombre plus important de scans, peut s'avérer coûteuse en temps. Pour cette raison, la quantification du CBF est le plus souvent effectuée à PLD unique. Le choix de ce paramètre est toutefois crucial car il conditionne en partie le rapport signal/bruit de l'image obtenue après soustraction des volumes Label/Contrôle. Ainsi, et de manière à maximiser le RSB, on considère l'hypothèse selon laquelle l'ATT est égale au PLD pour un PLD égal à 300ms (chez le rat et la souris) [126, 58]. L'équation 2.26 permet alors de retrouver l'expression du CBF donnée par :

$$CBF = \frac{\lambda \Delta M \cdot e^{PLD/T_{1,b}}}{2\alpha M_0 T_{1,app} (1 - e^{-\tau/T_{1,app}})}, \quad (2.28)$$

Rappelons que α est l'efficacité d'inversion, λ le coefficient de partition tissu/sang en eau (0.9ml/g [54]), $T_{1,b}$ le temps de relaxation longitudinale du sang (égal à 2230ms à 7T [43]), τ représente le temps de marquage (LT) et $T_{1,app}$ le T_1 apparent du tissu.

Le modèle à deux compartiments

Le sang provenant d'une artère traverse le lit capillaire, depuis lequel s'effectuent les différents échanges avec l'hémoglobine des hématies, notamment la libération d'oxygène et la captation du CO_2 ; les hématies sont ensuite transportées vers une veine (Figure 2.23). Pour tenir compte de ces échanges, des modèles à deux compartiments, un compartiment capillaire et un compartiment tissulaire, ont fait l'objet d'études approfondies [102]. Ainsi, le processus d'échange de l'eau entre ces deux compartiments est conditionné par une constante d'échange, appelée produit de perméabilité de surface (PS), qui définit le taux d'aimantation échangé entre les deux compartiments.

La complexité de ces modèles à deux compartiments justifie leur faible utilisation. Mais la notion de perméabilité restreinte des capillaires à l'eau peut se révéler importante dans certaines conditions pathologiques. Ce modèle ne faisant pas l'objet d'une étude approfondie dans ce manuscrit, nous ne détaillerons pas sa description plus amplement mais le lecteur pourra se référer à l'article de PARKES et TOFTS pour plus d'informations.

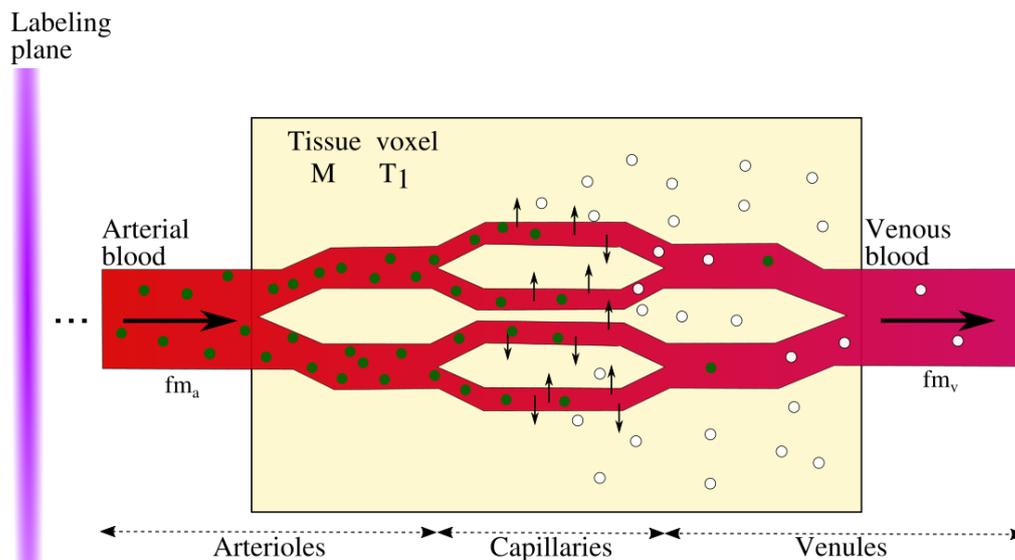


FIGURE 2.23 – Schéma d'un modèle physiologique à deux compartiments [102]. L'eau du sang marquée (cercles verts) entre dans le voxel d'imagerie avec une relaxation longitudinale au T_1 du sang artériel, $T_{1,b}$. Lorsque l'eau marquée pénètre dans le lit capillaire, les échanges d'eau ont lieu entre les deux compartiments, et la relaxation longitudinale se fait alors selon le T_1 du tissu.

2.4 La mesure de perfusion cérébrale par injection d'agent de contraste

Bien que les méthodes d'ASL soient de plus en plus utilisées en recherche comme en routine clinique, la mesure de la perfusion cérébrale est traditionnellement effectuée à l'aide de traceurs. Un traceur est une substance qui est transportée par le sang mais qui n'est pas métabolisée par le tissu. L'agent de contraste (AC) paramagnétique le plus commun est le Gadolinium (Gd). De manière succincte, le paramagnétisme décrit le comportement d'un milieu dépourvu de toute aimantation spontanée à acquérir, sous l'effet d'un champ magnétique externe, une aimantation orientée dans la même direction que le champ magnétique appliqué.

Un élément clé de la quantification de perfusion par DSC (*Dynamic Susceptibility Contrast*) est la barrière épithéliale présente le long des capillaires du cerveau qui sépare le sang circulant du liquide extracellulaire cérébral : la barrière hémato-encéphalique (BHE). Lorsque la BHE est intacte, l'AC est compartimenté dans les capillaires, ce qui entraîne des différences locales de susceptibilité au sein du voxel d'imagerie. Ces différences induisent des différences locales du champ magnétique affectant la fréquence de résonance locale des protons ce qui a pour conséquence de réduire l'aimantation transversale.

Le suivi de l'évolution du signal en contraste T_2^* lors du premier passage du bolus d'agent de contraste par la séquence DSC permet de caractériser la perfusion cérébrale [8]. En effet, l'IRM

à contraste de susceptibilité dynamique exploite la diminution de l'intensité du signal, c'est-à-dire l'aimantation transversale M_{xy} , en présence d'un agent paramagnétique. Ainsi, R_2^* (avec $R_2^* = 1/T_2^*$) varie linéairement en fonction de la concentration de l'agent de contraste dans le milieu [116] :

$$\Delta R_2^* = \kappa \cdot C, \quad (2.29)$$

avec C la concentration du traceur et κ une constante qui dépend du milieu et de l'intensité du champ magnétique statique.

A l'instant $t = TE$, le signal en GE s'exprime :

$$S(TE) = S_0 e^{-TE \cdot \Delta R_2^*}, \quad (2.30)$$

En tenant compte de la concentration de l'agent de contraste qui varie au cours du temps lors du passage du bolus dans le sang, l'équation 2.30 s'écrit :

$$S(TE) = S_0 e^{-\kappa \cdot TE \cdot C}, \quad (2.31)$$

En effectuant une série d'acquisitions dynamiques successives à TE constant, l'évolution du signal mesuré peut être décrite par l'équation :

$$S(t) = S_0 e^{-\kappa \cdot TE \cdot C(t)}, \quad (2.32)$$

Il est ainsi possible d'extraire l'évolution de la concentration du traceurs en fonction du signal dynamique par l'équation :

$$C(t) = \frac{1}{\kappa \cdot TE} \cdot \ln \frac{S(t)}{S_0}, \quad (2.33)$$

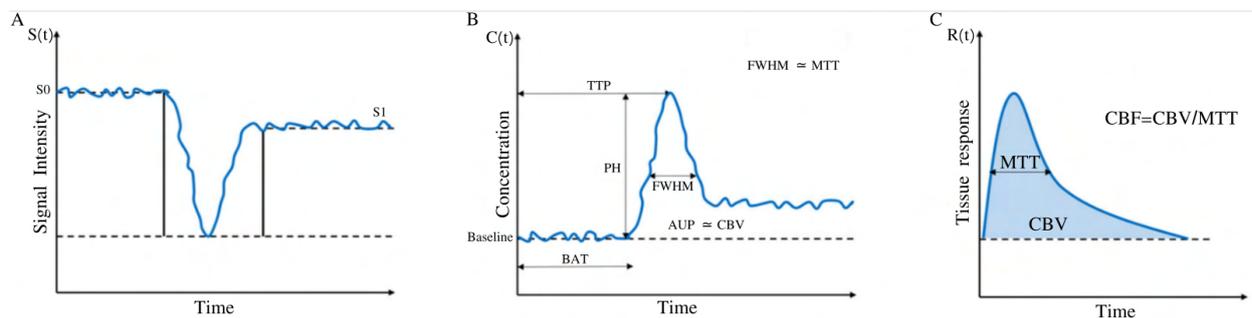


FIGURE 2.24 – A) Évolution temporelle du signal acquis en DSC lors du passage d'un bolus d'agent de contraste paramagnétique. B) Évolution de la concentration tissulaire du bolus en fonction du temps. C) Fonction de résidus impulsionnelle obtenue par déconvolution de la concentration tissulaire du bolus par la fonction d'entrée artérielle (AIF) [50].

Il est possible à partir de la courbe d'évolution de la concentration du traceur en fonction du temps, d'extraire des paramètres semi-quantitatifs relatifs à la perfusion cérébrale :

- Le temps d'arrivée du bolus (BAT ou *Bolus Arrival Time*)
- Le temps d'arrivée au pic (TTP ou *Time To Peak*)
- Le volume sanguin cérébral relatif (rCBV ou *Relative Cerebral Blood Volume*) qui est déterminé par l'aire sous la courbe (Figure 2.24-B)
- Le débit sanguin cérébral relatif (rCBF ou *Relative Cerebral Blood Flow*)
- Le temps de transit moyen (MTT ou *Mean Transit Time*) définit un temps moyen que met une molécule d'agent de contraste pour traverser le système vasculaire au niveau du voxel.

Les trois derniers paramètres vérifient la relation :

$$rMTT = \frac{rCBV}{rCBF}$$

Il est important de souligner que la quantification absolue des paramètres de perfusion dérivés n'est possible que si la fonction d'entrée artérielle (AIF - *Arterial Input Function*) est prise en compte dans l'analyse des données. L'AIF représente le profil d'entrée de la concentration du bolus vers le tissu en fonction du temps et permet de caractériser la dispersion du bolus avant son arrivée dans la région d'intérêt [21]. En tenant compte de l'AIF, la concentration du traceur en fonction du temps s'exprime :

$$C(t) = A \cdot CBF \cdot AIF(t) \otimes R(t) = CBF \cdot \int_0^t AIF(t') \cdot R(t-t') dt', \quad (2.34)$$

avec A un facteur de proportionnalité et $R(t)$ la fonction de résidu du tissu (également connue sous le nom de fonction de réponse impulsionnelle).

Ainsi, la quantification absolue de la perfusion nécessite de manière incontournable la mesure de l'AIF [21] et une opération de déconvolution pour éliminer la contribution de la dispersion temporelle associée à l'AIF sur le profil de la concentration tissulaire dans le temps.

Chapitre 3

Mise en place de la séquence pCASL

L'IRM de perfusion par ASL, permet la quantification non-invasive du débit sanguin cérébral (CBF), un bio-marqueur essentiel dans l'étude de la perfusion cérébrale. En effet, l'altération de la perfusion est responsable d'une large proportion de morbidité dans le monde et est liée à des changements physiopathologiques incluant les cancers, l'AVC, l'épilepsie et les maladies neuro-dégénératives.

Comme souligné par le consensus du Groupe d'étude sur la perfusion de l'ISMRM (International Society for Magnetic Resonance in Medicine) et du Consortium européen pour l'ASL dans la démence [3], les recherches actives autour de cette méthode ont permis d'obtenir des cartes de débit de haute qualité et en quelques minutes d'acquisition sur l'entièreté du volume cérébral. De plus, l'ASL permet d'obtenir des résultats similaires à ceux obtenus par la ^{15}O -TEP, sans avoir recours à un agent de contraste, ce qui représente un des principaux atouts de la méthode.

Dans un contexte de recherche clinique et pré-clinique fortement orienté autour des maladies cérébro-vasculaires et par l'acquisition récente d'un IRM pré-clinique à haut champ par le centre régional d'exploration fonctionnelle et de ressources expérimentales (CREFRE) de Toulouse, la mise en place de méthodes de mesure fiables et reproductibles du CBF est considérée comme cruciale. La collaboration avec Lydiane Hirschler, Jan Warnking et Emmanuel Barbier de l'équipe de *Neuroimagerie fonctionnelle et perfusion cérébrale* du *Grenoble Institut of Neuroscience* (GIN) a permis d'obtenir le programme compilé de la séquence pCASL, développé sur Paravision 6 par Lydiane Hirschler [55].

Le chapitre qui suit décrit les étapes principales d'implémentation et de validation de la séquence pCASL sur le matériel disponible au CREFRE.

3.1 La séquence pCASL avec correction de phase

L'utilisation d'IRM à haut champ présente plusieurs avantages qui varient selon l'application et la séquence utilisée, en permettant principalement l'augmentation des rapports signal/bruit et contraste/bruit. C'est le cas notamment de la séquence pCASL qui bénéficie d'un allongement des temps de relaxations longitudinaux favorisant ainsi l'augmentation du RSB. Cependant, les effets d'off-résonance, principalement dus aux inhomogénéités du champ \vec{B}_0 au niveau du plan de

marquage, augmentent avec l'intensité du champ statique. Cela a pour effet de réduire considérablement l'efficacité d'inversion et rend difficile l'utilisation de la séquence pCASL à haut champ [123].

3.1.1 La séquence un-balanced pCASL avec correction de phase

La séquence pCASL utilisée au cours de mes travaux de thèse permet de compenser les effets d'off-résonance par l'utilisation de deux pré-scans d'optimisation des phases associées aux acquisitions labels et contrôles. Rappelons que pour suivre l'évolution de la phase des spins en écoulement pendant l'inversion adiabatique, un incrément de phase entre deux impulsions successives s'applique :

$$\Delta\phi_{th,L} = \gamma G_{ave} \Delta z \Delta t, \quad (3.1)$$

γ étant le rapport gyromagnétique du proton, G_{ave} le gradient moyen appliqué lors du train d'impulsion RF, Δz la distance entre la coupe de marquage et le centre de l'aimant et Δt le délai entre deux impulsions RF pCASL successives.

Cependant, cette expression ne prend pas en compte les effets d'off-résonance présents en raison des inhomogénéités du champ \vec{B}_0 dans le plan de marquage.

En considérant Δf le décalage en fréquence, à l'équation 3.1, s'ajoutent les termes $2\pi\Delta f\Delta t$, un déphasage supplémentaire entre deux impulsions RF successives, et un décalage spatial de $-2\pi\Delta f/\gamma G_{max}$. Ainsi, l'incrément théorique en phase pour l'impulsion de marquage s'exprime :

$$\Delta\phi_{th,L} = \gamma G_{ave} \left(\Delta z - \frac{2\pi\Delta f}{\gamma G_{max}} \right) \Delta t + 2\pi\Delta f\Delta t, \quad (3.2)$$

avec G_{max} le gradient maximal appliqué lors du train d'impulsion RF.

Pour obtenir le déphasage théorique pour les acquisitions contrôles lors d'un schéma pCASL *unbalanced*, il suffit d'ajouter l'offset de 180° et remplacer $G_{ave} = 0$ au niveau de l'équation 3.2. On obtient de cette façon :

$$\Delta\phi_{th,C} = \pi + 2\pi\Delta f\Delta t. \quad (3.3)$$

Ainsi, il est nécessaire de connaître le décalage en fréquence Δf présent au niveau de la coupe de marquage afin d'évaluer de manière précise le déphasage à appliquer entre les impulsions d'inversion des acquisitions labels et contrôles. Un moyen direct d'obtenir une estimation absolue du décalage en fréquence est d'employer une séquence PRESS (*Point RESolved Spectroscopy*) ou d'utiliser une carte B_0 (obtenue à l'aide de deux acquisitions Echo de Gradient à deux temps d'écho différents). La séquence pCASL utilisée dans le cadre de ce projet est basée sur l'acquisition de deux pré-scans d'optimisation de phase.

L'objectif étant d'atteindre une efficacité d'inversion (EI) optimale, cette technique exploite la relation linéaire entre l'EI et l'intensité du signal ASL mesuré ($\Delta ASL = (M_{Controle} - M_{Label}) / M_{Controle}$)

en observant sa variation pour différentes valeurs de phase. Toutefois, les optimisations label et contrôle se font de manière séquentielle : d'abord l'optimisation de la phase label, où la phase optimale correspond à la valeur associée au maximum de la courbe ΔASL en fonction de ϕ ; suivie par l'optimisation de la phase contrôle, où il est nécessaire d'atteindre un déphasage de 180° par rapport à la phase qui vérifie $\Delta ASL = 0$, qui correspond au minimum de la courbe ΔASL en fonction de ϕ .

3.1.2 Protocole pCASL-CBF détaillé

Dans cette section, nous détaillerons les principales étapes constituant le protocole utilisé durant ces travaux de thèse pour l'acquisition et le calcul de cartes de CBF par la séquence unbalanced pCASL.

3.1.2.1 Acquisition

La mesure de perfusion cérébrale par la séquence pCASL nécessite un certain nombre d'ajustements et d'étapes schématisés sur la Figure 3.1. Avant de passer en revue chacune des séquences de ce protocole, nous allons d'abord présenter les principaux paramètres liés à l'inversion adiabatique des spins du sang artériel et qui ont été utilisés dans toutes les acquisitions pCASL réalisées au cours de ce travail de thèse.

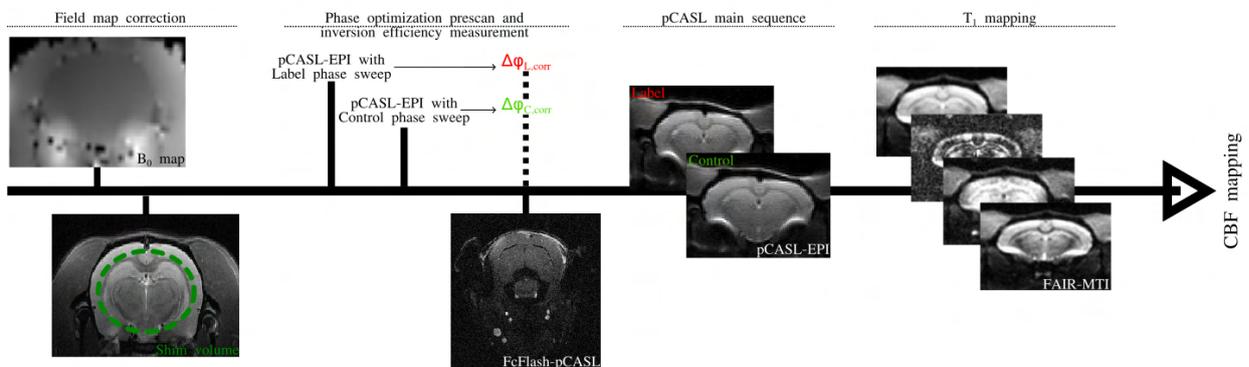


FIGURE 3.1 – Étapes et ajustements de la séquence pCASL pour la détermination du CBF.

Le train d'impulsions de marquage de la séquence pCASL est constitué d'impulsions RF en forme de fenêtre de Hanning d'une durée de $400\mu s$ répétées toutes les $800\mu s$ et ramenées à une amplitude B_1 moyenne de $3.5\mu T$. Durant l'impulsion d'inversion adiabatique, les gradients appliqués vérifient $G_{max}/G_{mean} = 45/5mT/m$.

Rappelons que les acquisitions pCASL associées à la carte T1 sont acquises avec un module de lecture EPI. Il est important dans ce cas, de choisir le même TE (Temps d'Écho) pour les différentes acquisitions effectuées. En effet, les acquisitions rapides sont sujettes à d'importantes déformations géométriques qui varient selon le TE utilisé. Comme l'obtention d'une carte de perfusion nécessite

un calcul numérique voxel par voxel, il est important d'avoir les mêmes déformations sur les différentes cartes calculées.

Correction des inhomogénéités du champ : Les acquisitions pCASL sont effectuées en EPI (*Echo Planar Imaging*), un module d'acquisition rapide qui permet de remplir la matrice de l'espace k avec un train d'échos de gradient à encodage spatial variable consécutif à l'impulsion d'excitation. Les acquisitions EPI sont extrêmement sensibles aux inhomogénéités du champ magnétique qui sont responsables de distorsions géométriques ou de la perte de signal localement sur l'image.

Pour réduire les inhomogénéités du champ B_0 et limiter les artefacts qui en résultent, il est donc indispensable d'effectuer une correction de champ (B_0 *shimming*). Cette étape permet de réduire les variations spatiales du champ magnétique B_0 en superposant un champ magnétique additionnel généré à l'aide de *bobines de shim*. Cette technique repose sur la connaissance exacte de la distribution du champ B_0 . Pour cette raison, il est nécessaire d'acquérir préalablement une carte de champ.

Une des méthodes les plus répandues est d'effectuer un *shimming* actif par harmoniques sphériques qui varie selon l'ordre des harmoniques en contrôlant la complexité de la correction appliquée. La correction du champ étant usuellement appliquée au niveau de la zone d'intérêt, le cerveau dans notre cas, ce processus peut induire une dégradation de l'homogénéité du champ en dehors de cette zone, en particulier au niveau du cou. Pour cette raison, il est recommandé de se contenter d'un *shimming* du second ordre qui impacte de manière modérée l'EI au niveau de la coupe de marquage.

Positionnement de la coupe de marquage : Le positionnement de la coupe de marquage est un élément clé de l'IRM de perfusion par pCASL. En effet, la coupe doit être perpendiculaire à la direction du flux car le marquage est effectué avec une inversion adiabatique induite par le flux. Pour le réaliser dans des conditions optimales, la coupe d'inversion doit être positionnée sur une section rectiligne et relativement uniforme des artères carotidiennes. L'acquisition d'un volume TOF (Time of Flight) permet de visualiser le réseau vasculaire, en particulier au niveau des entrées artérielles, et positionner correctement la coupe de marquage.

Pour la mise en place de la séquence pCASL sur l'IRM préclinique 7T (Bruker, Ettlingen, Germany), nous avons utilisé le protocole *TOF_3D_Flash* (sur Paravision 6) avec un TE = 2 ms ; un TR = 12 ms ; et une résolution spatiale de $136\mu\text{m} \times 136\mu\text{m} \times 252\mu\text{m}$ (FOV = 3.5cm x 3.5cm x 2.42cm). Chez le rat, la coupe d'inversion est positionnée au niveau du cou, à 20mm en moyenne de la commissure antérieure. Avec deux moyennages, le temps d'acquisition de cette séquence est de 8 min 08 sec.

Préscan d'optimisation de la phase label et contrôle : Avant d'aborder ce point, rappelons que l'optimisation de la phase doit nécessairement être effectuée après l'homogénéisation du

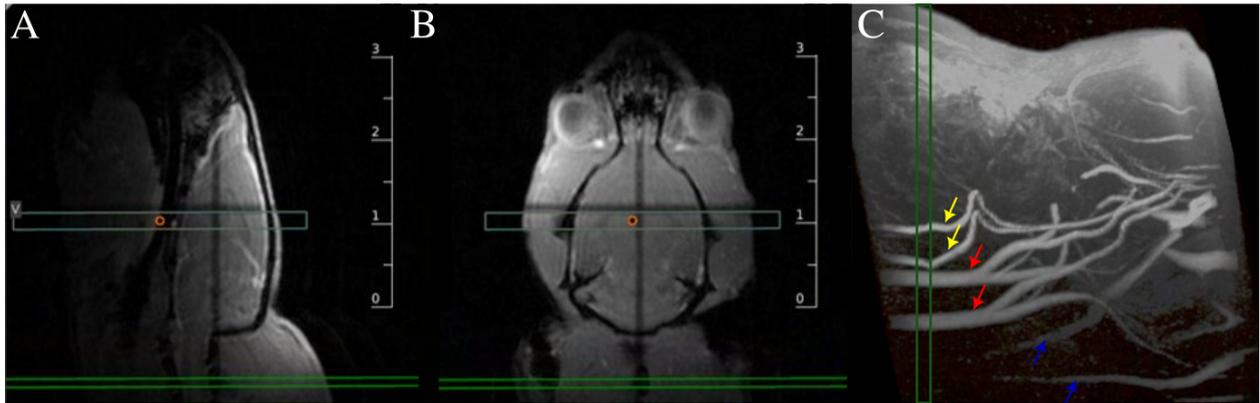


FIGURE 3.2 – Image anatomique en coupe sagittale (A) et horizontale (B) avec le positionnement de la coupe de marquage (en vert) et la coupe d’imagerie (en gris) et visualisation 3D du réseau vasculaire chez le rat (C) obtenu par TOF-3D avec une projection d’intensité maximale. Les flèches rouges et jaunes indiquent les entrées artérielles ; les carotides ou les vertébrales respectivement. En bleu sont indiquées les veines jugulaires.

champ B_0 . En effet, l’étape de *shimming* a un impact sur le décalage en fréquence et donc sur le déphasage entre les impulsions RF en question, que nous cherchons à optimiser.

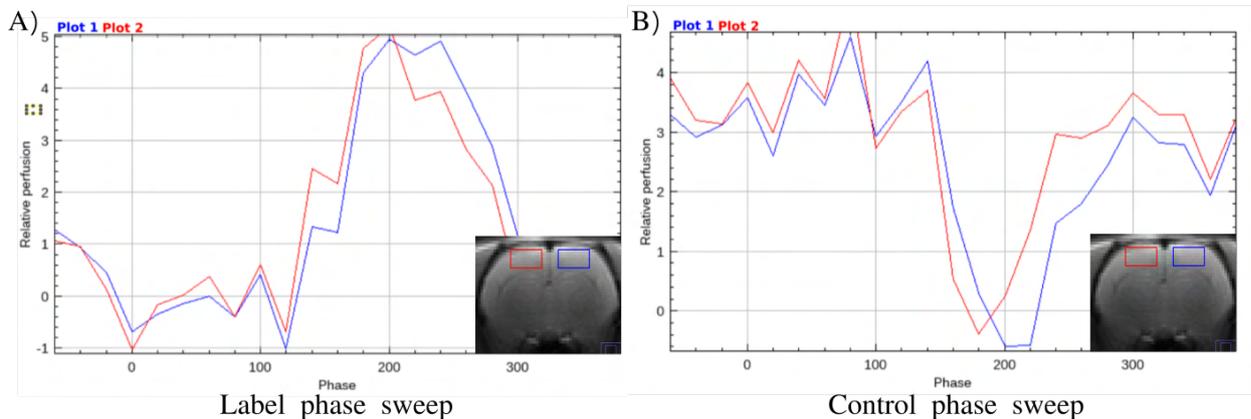


FIGURE 3.3 – Aperçu de l’évolution du signal ASL au cours du balayage en phase des acquisitions d’optimisation des phases inter-impulsions labels (A) et contrôles (B).

La correction de la phase entre les impulsions RF du train d’impulsions de marquage de la séquence pCASL se fait en deux étapes :

1. **Un préscan d’optimisation de la phase label** durant lequel des acquisitions pCASL-EPI sont effectuées en balayant différentes valeurs de phase pour les volumes labels avec $\phi_L \in [-80^\circ, 380^\circ]$ et un pas de balayage de 20° . Pour cette première étape, la phase des volumes contrôles est fixée à 0° .

A la suite de cette première acquisition, un module externe, fourni par nos collaborateurs de l’institut des neurosciences de Grenoble et disponible via ImageJ, permet de visualiser

rapidement l'évolution du signal ASL au cours du balayage en phase et identifier ainsi la phase pour laquelle le signal atteint son maximum. La phase optimale pour les acquisitions labels est ainsi fixée pour le reste du protocole.

2. **Un présacan d'optimisation de la phase contrôle** permet par balayage de phase, par le même procédé décrit précédemment, de déterminer la phase optimale pour les acquisitions contrôles. En effet, l'évolution du signal ASL au cours du balayage en phase permet d'identifier la valeur où le signal ASL atteint son minimum. La phase contrôle ϕ_C est alors obtenue en ajoutant à cette mesure un déphasage de 180° .

Les acquisitions précédentes sont effectuées à un $TE = 23.7ms$ et un $TR = 2900ms$. Le temps de marquage est fixé à $LT = 2500ms$ et le temps de post-marquage à $PLD = 300ms$. La résolution spatiale est fixée à $273\mu m \times 273\mu m \times 4mm$. La taille des voxels a été délibérément choisie de manière à garantir suffisamment de signal sans avoir besoin d'effectuer de moyennage. Les acquisitions d'optimisation durent 02 min 19 chacune, donnant une durée approximative totale d'environ 6 minutes en tenant compte de l'étape de traitement sur ImageJ.

Mesure de l'efficacité d'inversion : Cette étape permet d'évaluer la qualité de l'optimisation des phases labels/contrôles et d'estimer l'efficacité de l'inversion adiabatique appliquée. En effet, l'efficacité de marquage peut être différente selon le sujet et les conditions de l'expérience. Il est donc important d'obtenir une estimation de ce paramètre pour une quantification précise et reproductible du CBF.

La mesure de l'EI est effectuée grâce à une séquence Flash avec compensation de flux combinée avec un module de marquage pCASL. La coupe d'imagerie est positionnée à $5mm$ en aval de la coupe de marquage. Cette acquisition (pCASL-FcFlash) se fait avec un $TE = 5.2 ms$ et un $TR = 260 ms$.

Le choix du temps de marquage est important pour cette acquisition car le remplissage de la matrice de l'espace k se fait ligne par ligne. Le temps de marquage conditionne fortement le TR et donc le temps d'acquisition. Ainsi, pour les mesures d'efficacité d'inversion effectuées durant ces travaux de thèse, le temps de marquage a été fixé à $250ms$. Le but étant de pouvoir couvrir au moins un cycle cardiaque et intégrer les variations du signal ASL au cours des différentes phases du cycle.

Durant la mise en place du protocole de mesure de perfusion par pCASL, un plugin ImageJ a été créé dans le but de pouvoir estimer l'efficacité d'inversion au niveau des carotides directement sur le moniteur de l'IRM.

Acquisition pCASL : La séquence pCASL-EPI permet d'acquérir de manière entrelacée, des volumes labels (avec inversion des spins du sang artériel) et des volumes contrôles (sans inversion) avec un module de lecture 2D en EPI (Echo Planar Imaging).

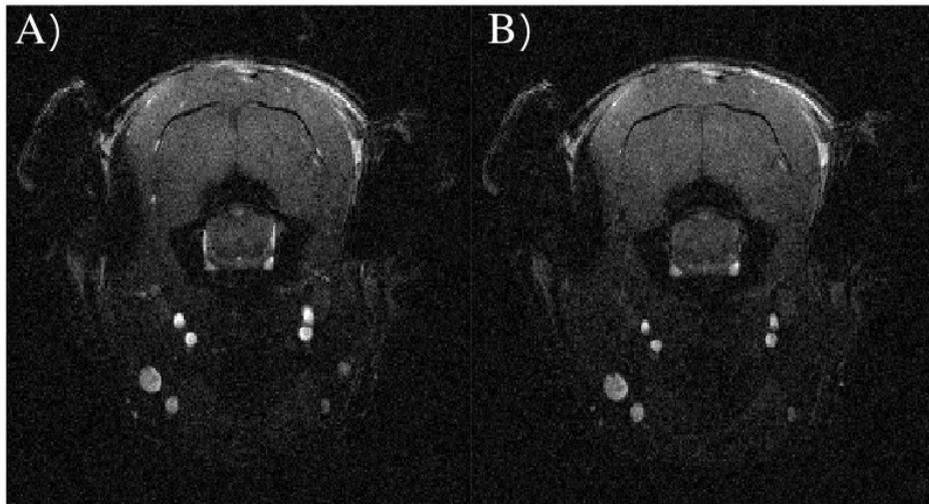


FIGURE 3.4 – Image en magnitude de la séquence Fc-Flash avec module de marquage pCASL avec (A) l’image contrôle et (B) l’image label.

L’objectif de cette section étant principalement d’énoncer les étapes du protocole de mesure de perfusion par pCASL, je mets uniquement en exergue l’importance de choisir avec précaution les paramètres liés à la préparation de l’acquisition du signal ASL par EPI et, en particulier, le temps de marquage (LT), le temps de post-marquage (PLD) et le nombre de répétitions. Nous verrons dans ce chapitre l’effet des deux premiers paramètres énoncés sur le signal ASL et la quantification du CBF qui en résulte. Le nombre de répétitions, lui, permet de compenser le rapport signal/bruit faible intrinsèque à l’ASL.

Mesure du temps de relaxation longitudinal T_1 : Une carte T_1 est acquise à l’aide d’une séquence d’inversion-récupération non sélective avec un module de lecture EPI (FAIR-EPI, Flow-sensitive Alternating IR), pour permettre la quantification absolue du débit sanguin cérébral (CBF). Les 16 temps d’inversion-récupération sont distribués entre 20ms et 7000ms, avec un TR = 10s et un TE = 23.7ms. Le temps d’acquisition de cette séquence est de 5 min 20 sec.

3.1.2.2 Quantification du CBF

Correction du mouvement : Les volumes labels/contrôles acquis à chaque répétition sont ré-alignés de manière à supprimer un possible mouvement de l’animal au cours des acquisitions pCASL. Le ré-alignement est effectué uniquement quand cela semble nécessaire après une vérification visuelle des volumes. Pour cela, le module *Realign-Estimate-Reslice* du logiciel *spm12* est utilisé [4].

Le calcul numérique des trois paramètres ci-dessous : EI, T_1 du tissu et CBF avec PLD unique a été effectué sur MP3 [17]¹.

1. Github : <https://github.com/nifm-gin/MP3>.

Efficacité d'inversion : L'efficacité d'inversion (IE) a été déterminée à partir d'une reconstruction complexe de la séquence pCASL-FcFLASH telle que :

$$IE = \left| \frac{M_C - M_L}{2M_C} \right| \quad (3.4)$$

où M_C et M_L sont les signaux complexes des expériences contrôles et labels, respectivement. Une région d'intérêt a été manuellement tracée pour délimiter chaque carotide. L'IE obtenue est ainsi une moyenne sur les deux carotides.

Si la coupe d'imagerie est en aval de la bifurcation de la carotide commune, la mesure est effectuée au niveau des artères carotides internes, alimentant le cerveau ; contrairement aux artères carotides externes qui alimentent le cou et le visage.

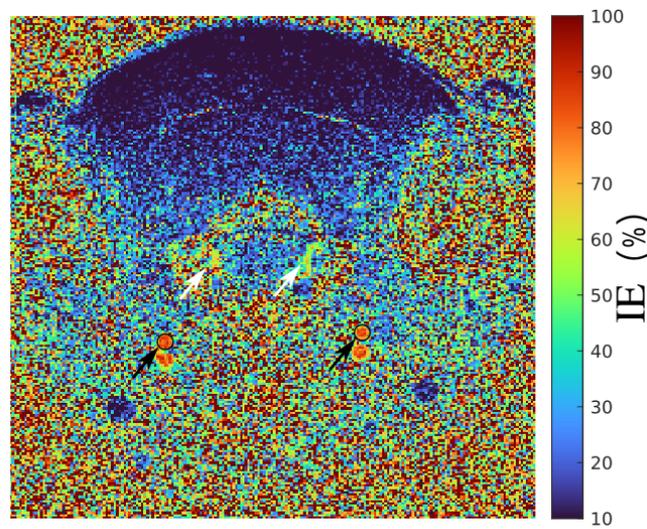


FIGURE 3.5 – Carte d'efficacité d'inversion calculée à partir de la séquence FcFlash-pCASL. Les flèches noires indiquent la position des régions délimitant une section des carotides internes, et ayant servies pour la mesure de l'IE. Les flèches blanches indiquent la position des artères vertébrales sur l'image.

Carte T_1 : Les cartes T_1 ont été obtenues en ajustant l'évolution du signal en fonction du temps d'inversion pour chaque pixel à l'équation suivante :

$$M_z(TI) = |M_0 \cdot (1 - 2 \cdot \kappa e^{\frac{-TI}{T_{1,t}}})| \quad (3.5)$$

avec $M_z(TI)$ le signal RM recueilli à chaque TI, M_0 l'aimantation à l'équilibre thermique, $T_{1,t}$ le temps de relaxation longitudinale du tissu, et κ l'efficacité d'inversion.

L'ajustement a été effectué en utilisant l'algorithme de Levenberg-Marquardt.

Carte CBF : Pour des acquisitions à PLD unique, un temps de transit artériel moyen est considéré pour l'ensemble des voxels égal à 300ms. La quantification absolue du CBF dépend alors du PLD choisi :

$$\begin{cases} \Delta M(PLD) = 2M_{0,t} f T_{1,t} \alpha e^{-\Delta t / T_{1,b}} q_{ss}(PLD) / \lambda, & \Delta t < PLD < \tau + \Delta t \\ \Delta M(PLD) = 2M_{0,t} f T_{1,t} \alpha e^{-\Delta t / T_{1,b}} e^{-(PLD - \tau - \Delta t) / T_{1,t}} q_{ss}(PLD) / \lambda, & \tau + \Delta t < PLD \end{cases} \quad (3.6)$$

Sachant que :

$$\begin{cases} q_{ss}(PLD) = 1 - e^{-(PLD - \Delta t) / T_{1,t}}, & \Delta t < PLD < \tau + \Delta t \\ q_{ss}(PLD) = 1 - e^{-\tau / T_{1,t}}, & \tau + \Delta t < PLD \end{cases} \quad (3.7)$$

Avec $\Delta M = M_C - M_L$, Δt le temps de transit artériel (ATT), τ le temps de marquage (LT), λ le coefficient de partition tissus/sang en eau, α l'efficacité d'inversion et le $T_{1,t}$ et $T_{1,b}$ les temps de relaxation longitudinaux du tissu cérébral et du sang artériel respectivement.

3.2 Test et validation de la séquence pCASL

Cette section regroupe les premiers essais effectués avec la séquence pCASL avec correction de phase. Ces tests ont permis de prendre en main et de mieux comprendre cette méthode ainsi que l'impact de certains paramètres tels que le temps de post-marquage (PLD) et le temps de marquage (LT). J'aborderai aussi en fin de section l'utilisation de cette séquence chez un modèle pré-clinique primate (Marmouset, Ouistiti ou Callithrix jacchus) qui fait l'objet, au sein de l'équipe (iDREAM-ToNIC), d'un protocole de recherche pour la récupération fonctionnelle post-AVC. .

3.2.1 Temps de post marquage (PLD) et estimation du temps de transit artériel

Le délai de post-marquage (PLD) est un paramètre majeur de l'ASL car il conditionne le rapport signal/bruit (RSB) des cartes de perfusion obtenues. Bien qu'il soit possible d'effectuer une quantification absolue et robuste du CBF à partir d'acquisitions à PLD unique, cette estimation se base sur une approche globale moyenne de l'ATT. De nombreuses études ont utilisé la pCASL à PLD multiples pour réduire l'erreur induite par cette simplification sur la mesure de débit cérébral sanguin. Toutefois, le protocole multi-PLD prend plus de temps et conduit à un RSB plus faible à temps d'acquisition égal.

L'objectif de l'étude, présentée ci-dessous, est d'étudier l'effet du PLD sur le signal ASL, afin d'identifier la valeur optimale de ce paramètre pour des acquisitions pCASL à PLD unique.

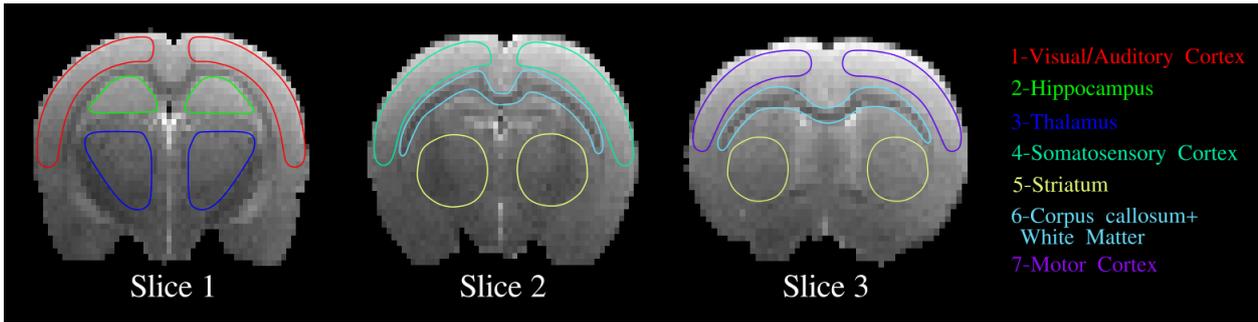


FIGURE 3.6 – Coupe anatomique du cerveau du rat avec ROIs. Seule la coupe 1 a été considérée pour l'étude pCASL multi-PLD.

Matériels et Méthodes :

- *Animaux* : Cette étude a été réalisée sur 4 rats (Femelles Wistar, âge : 20-30 semaines, poids : 350 ± 50 g). Les animaux ont d'abord été anesthésiés à l'aide d'une chambre à induction avec un mélange 3% d'isoflurane/ O_2 . Puis, ils sont transférés dans une cellule type *tête de rat* qui permet la contention de la tête avec mordus et barres d'oreilles, le maintien de l'anesthésie (2%) et la régulation de la température par des conduits d'air chauffé (avec une consigne $T_{Cellule} = 40^\circ\text{C}$).
- *IRM* : Le protocole de mise en place et d'optimisation appliqué dans cette étude est décrit dans la Section 3.1.2. Les acquisitions sont réalisées avec les conditions suivantes : pCASL à PLD multiples (10; 50; 100; 150; 200; 250; 300; 400; 700; 1100 ms), temps de marquage (LT) fixé à $LT = 2\text{sec}$, TE à 23.7ms et le TR varie entre 2500 et 3100 ms (selon le temps de post-marquage). Chaque acquisition pCASL comporte 50 répétitions. La résolution spatiale choisie est de $273\mu\text{m} \times 273\mu\text{m} \times 2\text{mm}$ pour des matrices de $128 \times 128 \times 3$. En ne tenant pas compte de l'étape d'optimisation de la phase, les acquisitions pCASL multi-PLD durent environ 40 minutes.
- *Traitement des données* : Le signal ASL local a été calculé voxel à voxel par la formule :

$$\Delta ASL = \frac{M_C - M_L}{M_C} \quad (3.8)$$

Les cartes de CBF et de temps de transit artériel (ATT) ont été estimées par ajustement du signal ASL calculé à partir du modèle de quantification standard [19], à l'aide de l'algorithme Levenberg-Marquardt à deux inconnues (CBF et ATT). Le temps de relaxation T_1 est obtenu à partir de l'acquisition FAIR-MTI. λ , le coefficient de partition cerveau-sang de l'eau est fixé à $0,9\text{mL/g}$ [54], $T_{1,b} = 2230\text{ms}$ Le temps de relaxation longitudinale du sang artériel [43] et l'efficacité d'inversion estimée à partir de la séquence FcFlash-pCASL. La valeur de $M_{0,t}$ a été estimée à l'aide de l'image contrôle de l'expérience ASL corrigée par un facteur : $[1 - e^{-\frac{TR}{T_{1,t}}}]^{-1}$ pour compenser l'effet de la relaxation longitudinale intervenue durant le TR.

Pour comparer les cartes de CBF obtenues par acquisitions pCASL multi-PLD et PLD unique, nous avons calculé l'erreur absolue moyenne (MAE, Mean Absolute Error) suivant la formule :

$$MAE = \frac{\sum |CBF_{mPLD} - CBF_{sPLD}|}{N},$$

où CBF_{mPLD} désigne les cartes de perfusions obtenues par pCASL multi-PLD et CBF_{sPLD} celles obtenues avec un PLD unique. Cette dernière estimation a été aussi effectuée avec le modèle à un seul compartiment [19] mais en considérant un ATT global de 300 ms [126, 58]. N désigne le nombre de voxels constituant la zone d'intérêt.

Les régions structurales considérées ont été tracées manuellement et sont représentées Figure 3.6.

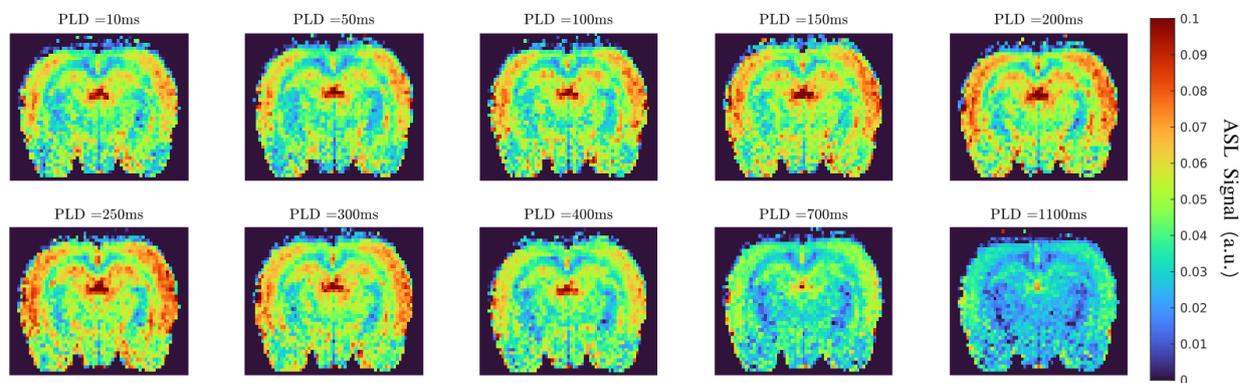


FIGURE 3.7 – Évolution du signal ASL pour différentes valeurs de temps de post-marquage (PLD).

Résultats :

La mesure de l'efficacité d'inversion moyenne du marquage pCASL sur les 4 expériences est de $EI = 83.2 \pm 2\%$.

La Figure 3.7 permet de visualiser l'effet du PLD sur le signal ASL. Les valeurs sont élevées pour les PLDs courts, avec un maximum situé entre 200ms et 300ms, puis elles diminuent avec l'augmentation du PLD. Nous retrouvons cette évolution bi-phasique sur les moyennes obtenues pour les trois régions d'intérêt (Figure 3.8 A). Ainsi, la courbe caractéristique du signal ASL est similaire à celle du modèle à un seul compartiment de Buxton [19] pour les paramètres pCASL considérés. L'ajustement des données obtenues sur ce même modèle, en considérant comme inconnues le CBF et l'ATT, a permis d'obtenir des cartes d'ATT (Figure 3.8 B).

Les valeurs d'ATT pour les régions étudiées sont présentées dans la Figure 3.9. Nous constatons que ces valeurs sont comprises entre $\sim 200ms$ et $\sim 500ms$. En effet, la valeur moyenne du temps de transit est estimée à $308 \pm 161ms$, $244 \pm 19ms$ et $277 \pm 53ms$ au niveau des régions du cortex auditif/visuel, de l'hippocampe et du thalamus, respectivement.

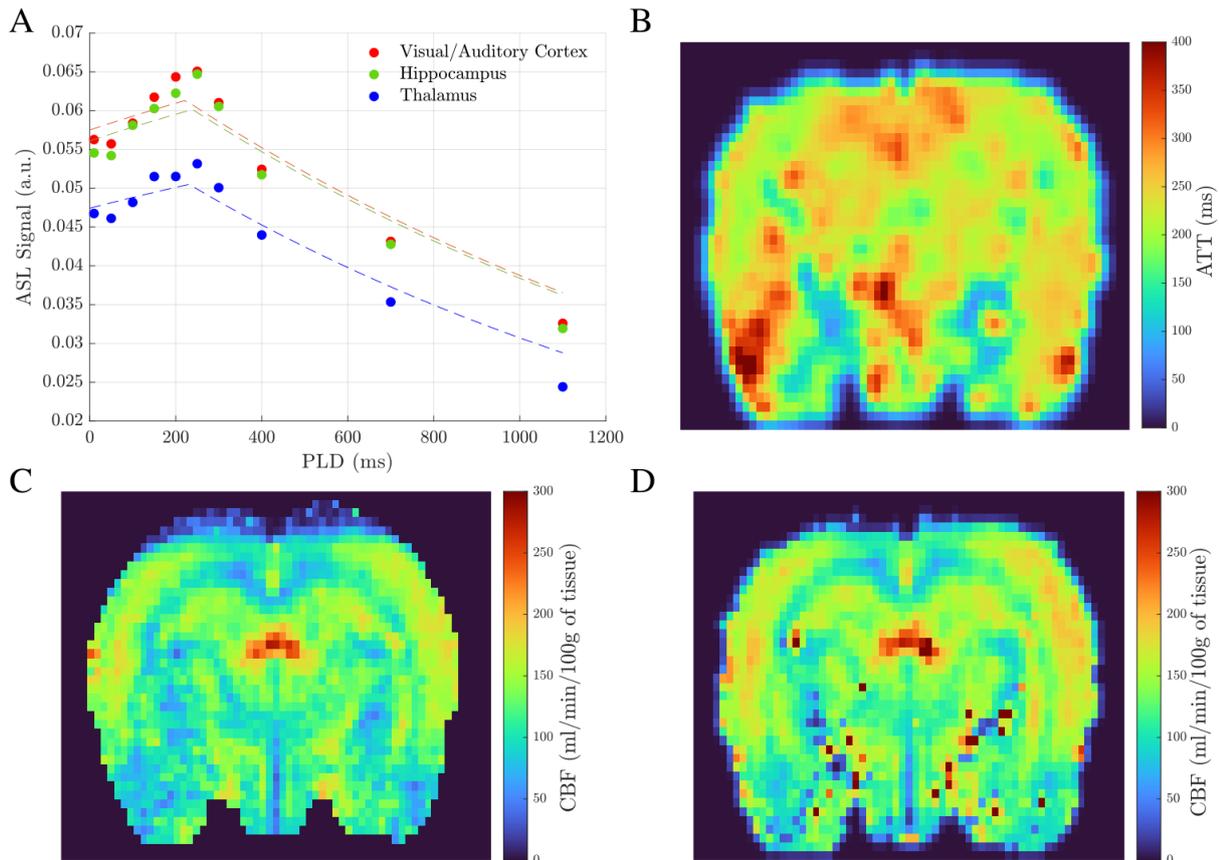


FIGURE 3.8 – (A) Évolution du signal ASL en fonction du PLD pour différentes structures cérébrales. Pour chaque région, le nuage de points représente les données ASL mesurées expérimentalement. La ligne discontinue décrit le résultat de l'ajustement des données avec le modèle de quantification standard du CBF [19]. (B) Exemple de carte anatomique d'ATT obtenue avec la séquence pCASL à PLD multiples (avec filtrage gaussien d'écart-type $\sigma = 1$). (C) Carte de CBF estimée par PLD simple et (D) par PLD multiple.

La Figure 3.9 permet d'évaluer l'effet des acquisitions pCASL à PLD unique (égale à 300ms) sur l'estimation de la perfusion cérébrale. Nous pouvons constater que la mesure par pCASL multi-PLD présente un CBF estimé systématiquement plus élevé que la mesure à PLD unique.

Discussion :

L'objectif de cette étude a été d'évaluer la faisabilité de la mesure de l'ATT combinée avec l'estimation du CBF par la séquence pCASL chez le rat. Il est important de souligner que pour cette étude, nous avons fait le choix d'utiliser un schéma d'acquisition pCASL "séquentiel" où le temps de post-marquage (PLD) a été modifié pour chaque scan (10 au total). Il existe cependant une multitude de schémas d'acquisitions construits de manière à réduire le temps de l'acquisition [51] comme par exemple : *Hadamard encoded ASL* [135, 30]. L'implémentation d'une séquence

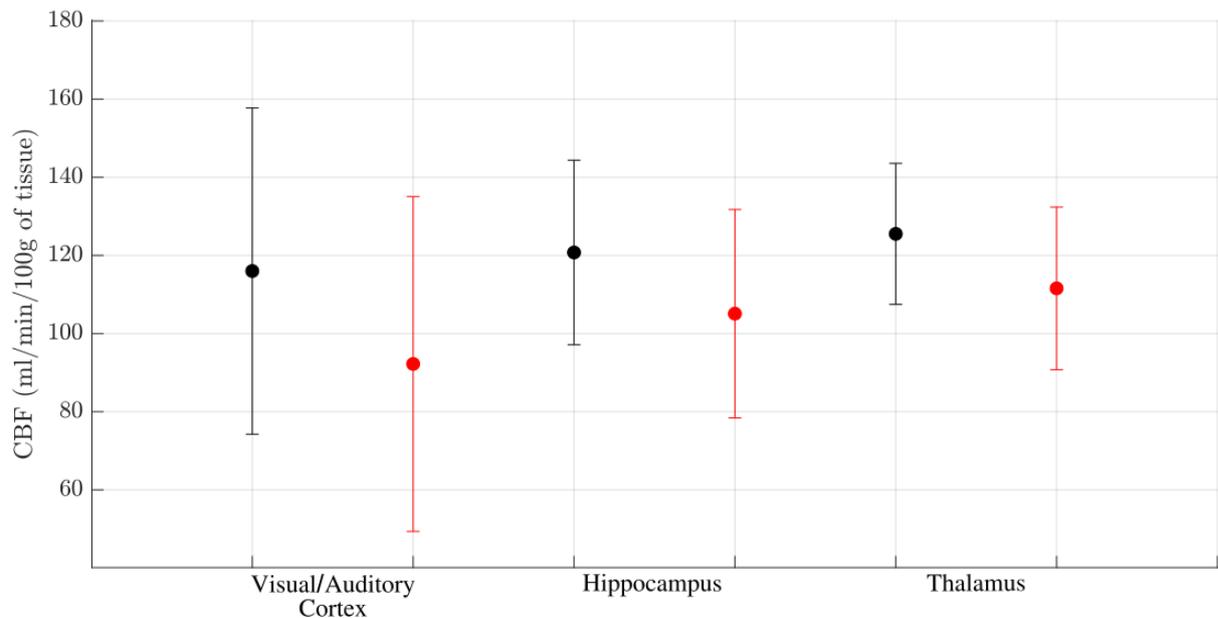


FIGURE 3.9 – Valeurs quantitatives de CBF obtenues par pCASL multi-PLD (en noir) et avec un PLD unique de 300ms (en rouge). Les valeurs présentées pour les différentes régions décrivent la moyenne et la déviation standard sur l'échantillon d'animaux étudiés ($n=4$).

pCASL avec encodage temporel étant coûteuse en temps et en ressources, l'utilisation de la méthode séquentielle permet d'avoir des résultats préliminaires de mesures du temps de transit artériel, avec cependant, une intégration plus difficile dans un protocole de recherche pré-clinique si les contraintes de temps sont trop importantes.

Les estimations obtenues du temps de transit sont proches de la littérature [9, 126, 135]. Malgré cela, il est important de noter que la robustesse de cette quantification est fortement liée au rapport signal/bruit des acquisitions car celui-ci conditionne la convergence de l'ajustement non linéaire par l'algorithme de Levenberg-Marquardt utilisé dans cette étude. En outre, la reproductibilité des mesures entre les différents sujets est correcte avec, toutefois, une distribution des valeurs assez étendue pour la ROI corticale ($308 \pm 161ms$). Ce résultat semble provenir de la variabilité des distorsions géométriques présentes au niveau du haut du crâne qui détériore ainsi le signal ASL mesuré dans cette région. En effet, avec un encodage en phase orienté sur la direction Dorso-Ventrale, on constate une compression du volume cérébral et une perte de signal importante au niveau des bords du cerveau.

Cette étude a aussi permis de comparer les estimations du CBF par les méthodes pCASL à PLD simple et pCASL à PLD multiple. La mesure pCASL avec un $PLD = 300ms$ est plus faible que la mesure pCASL multi-PLD. Ce résultat est cohérent avec une précédente étude [58] ayant utilisé la séquence Hadamard-encoded pCASL pour l'estimation de l'ATT chez la souris. Cependant, l'étude chez la souris présente des acquisitions avec des temps de marquage différents (0.5s pour la séquence *time-encoded* pCASL et 3s pour la séquence pCASL à PLD unique). La différence de

CBF a alors été expliquée par l'effet du retour veineux plus important pour des temps de marquage long et qui provoque une sous-estimation du débit cérébral mesuré.

L'analyse de l'écart quadratique moyen entre le CBF_{mPLD} et CBF_{sPLD} permet de visualiser l'évolution de la MAE en fonction du PLD pour un sujet de l'étude (Figure 3.10). La MAE atteint un minimum pour un temps de post-marquage compris entre 200ms et 300ms. Le choix de fixer le PLD à 300ms est donc approprié pour les acquisitions pCASL à PLD unique chez des sujets sains.

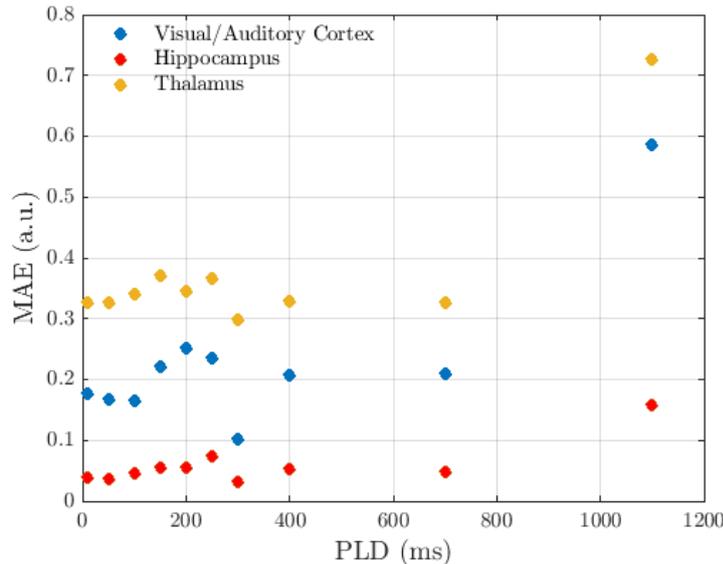


FIGURE 3.10 – Variation de l'erreur absolue moyenne en fonction du PLD pour les différentes régions étudiées.

Cette étude a permis de souligner l'importance de la mesure de l'ATT pour une estimation robuste du CBF. Pour limiter le temps d'acquisition de la méthode multi-PLD séquentielle, des travaux de recherches suggèrent d'effectuer des acquisitions préliminaires avec une résolution spatiale dégradée [33] afin d'obtenir une carte d'ATT locale à intégrer dans la quantification du CBF, et ce dans le but d'éviter une sous-estimation du débit cérébral engendrée par une sur-estimation du temps de transit, et réciproquement. En outre, la mesure de l'ATT est particulièrement importante dans le cadre de pathologies cliniques impliquant une réduction du débit [32, 46] et peut contenir des informations hémodynamiques complémentaires à la mesure du CBF.

Cette étude pCASL multi-PLD a été effectuée avec une seule coupe par soucis de simplicité et pour étudier la faisabilité de la méthode. Dans le cas d'une séquence pCASL à plusieurs coupes, une attention particulière doit être accordée au temps d'acquisition effectif des coupes après le temps de marquage. En effet, la lecture de la séquence étant en 2D, les coupes sont acquises de manière séquentielle (souvent entrelacée) espacées d'un délai qui dépend de nombreux paramètres dont le module de lecture EPI et le TR de la séquence. Le PLD effectif pour chaque coupe est donc nécessairement différent d'une coupe à l'autre. Ainsi, pour une acquisition en multi-PLD, il est pertinent de choisir des valeurs de PLD faiblement espacées avec un temps de répétition minimal.

3.2.2 Temps de marquage

Le temps de marquage est un paramètre essentiel dans l'estimation de la perfusion par pCASL, son effet sur le signal ASL mesuré dépend principalement des temps de relaxation longitudinaux mais aussi du CBF. Nous pouvons constater cela grâce aux équations du modèle cinétique général de quantification de la perfusion par ASL [19].

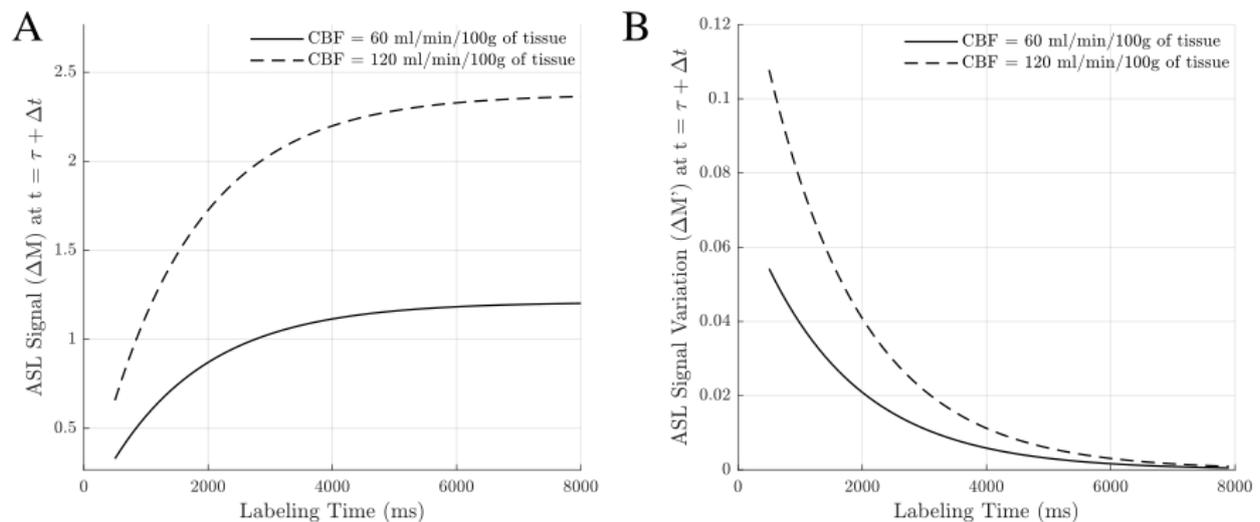


FIGURE 3.11 – (A) Simulation de l'évolution du signal ASL (à $t = \tau + \delta t$) en fonction du temps de marquage (LT) et (B) la dérivée première de cette courbe en fonction de LT pour deux valeurs de débit.

La Figure 3.11-A représente la variation du signal ASL acquis à un temps $t = \tau + \Delta t$ (τ étant la durée du marquage et Δt le temps d'arrivée du bolus au voxel d'imagerie (ATT)) en fonction du délai de marquage (LT) pour deux valeurs de CBF fixées. Nous pouvons constater que pour une même valeur de débit, ΔASL varie grandement en fonction du LT, en particulier pour les temps de marquage courts. Cela est d'autant plus vrai pour les débits élevés (Figure 3.11-B). La prise en compte du temps de marquage est donc essentielle dans la quantification absolue de CBF. Cependant, en absence d'un rapport signal/bruit (RSB) suffisant, l'utilisation de temps de marquage courts peut entraîner une sous-estimation du CBF. D'autre part, les temps de marquage longs peuvent être plus sensibles à l'effet du retour veineux, notamment dans les zones à fort débit sanguin [102]. Comme l'effet du retour veineux n'est pas pris en compte dans le modèle simplifié de quantification du CBF [19], cela pourrait conduire à une sous-estimation du débit sanguin.

Ainsi, le choix d'un temps de marquage adapté repose sur un compromis entre l'augmentation du rapport signal/bruit et le dépôt d'énergie plus important au niveau des tissus exposés. Notons aussi qu'à partir de certaines valeurs de LT, l'évolution du rapport Signal/Brui n'est plus vraiment avantageuse face au dépôt d'énergie produit. Malgré cela, la question de l'effet du LT a été très peu étudiée en recherche clinique et pré-clinique.

L'objectif de cette partie est de quantifier l'effet du délai de marquage sur la quantification du CBF. Cette étude regroupe plusieurs expériences chez le rat suivant le protocole de mesure de perfusion par ASL décrit précédemment avec différentes valeurs de LT.

Matériels et Méthodes :

- *Animaux* : Cette étude a été réalisée sur 5 rats (Femelles Wistar, âge : 20-30 semaines, poids : 350 ± 50 g). Le positionnement des animaux et les conditions d'anesthésie sont similaires à ceux décrits dans la Section 3.2.1.
- *IRM* : Le protocole de mise en place et d'optimisation appliqué dans cette étude est identique à celui décrit dans la section précédente ; avec des acquisition pCASL à différents temps de marquage (LT) : 1 sec ($n = 2$) ; 2 sec ($n = 4$) ; 4 sec ($n = 4$) et 10 sec ($n = 1$). n représente le nombre d'acquisitions pCASL réalisées pour une même condition de LT sur différents rats. Le temps de post-marquage (PLD) a été fixé à $PLD = 300ms$, le TE à $23.7ms$ et le TR est de 1500ms, 2500ms, 4500ms et 10500ms pour les différents temps de marquage considérés. Chaque acquisition pCASL comporte 50 répétitions. La résolution spatiale choisie est de $273\mu m \times 273\mu m \times 2mm$ pour des matrices de taille égale à $128 \times 128 \times 3$.
- *Traitement des données* : Le signal ASL local a été calculé voxel à voxel pour chaque temps de marquage par la formule énoncée précédemment (équation 3.8) dans la Section 3.2.1. Pour chaque acquisition, les cartes anatomiques du CBF ont été obtenues à partir du modèle à un seul compartiment de Buxton [19], avec un temps de transit artériel fixé à $300ms$. Les régions structurales considérées ont été tracées manuellement au niveau des deux hémisphères et sont représentées Figure 3.6. Une moyenne des voxels pour chaque structure (au niveau des hémisphères droit et gauche combiné) a été réalisée. Pour comparer les valeurs de CBF obtenues pour différents temps de marquage. Le rapport signal/bruit a été mesuré pour chaque ROI suivant la formule :

$$RSB = \frac{\mu_{ROI}}{\sigma_{ROI}}, \quad (3.9)$$

μ_{ROI} et σ_{ROI} correspondent respectivement à la moyenne et à la déviation standard du CBF sur la région considérée.

Résultats :

La Figure 3.12 permet de visualiser l'effet du temps de marquage sur le signal ASL mesuré. Ce paramètre impacte l'intensité du signal ASL qui augmente avec l'allongement de la durée du marquage. Ce résultat est en accord avec les prédictions du modèle de quantification du CBF (Figure 3.11) et s'explique par l'accumulation du sang marqué au niveau du voxel pendant la durée du marquage.

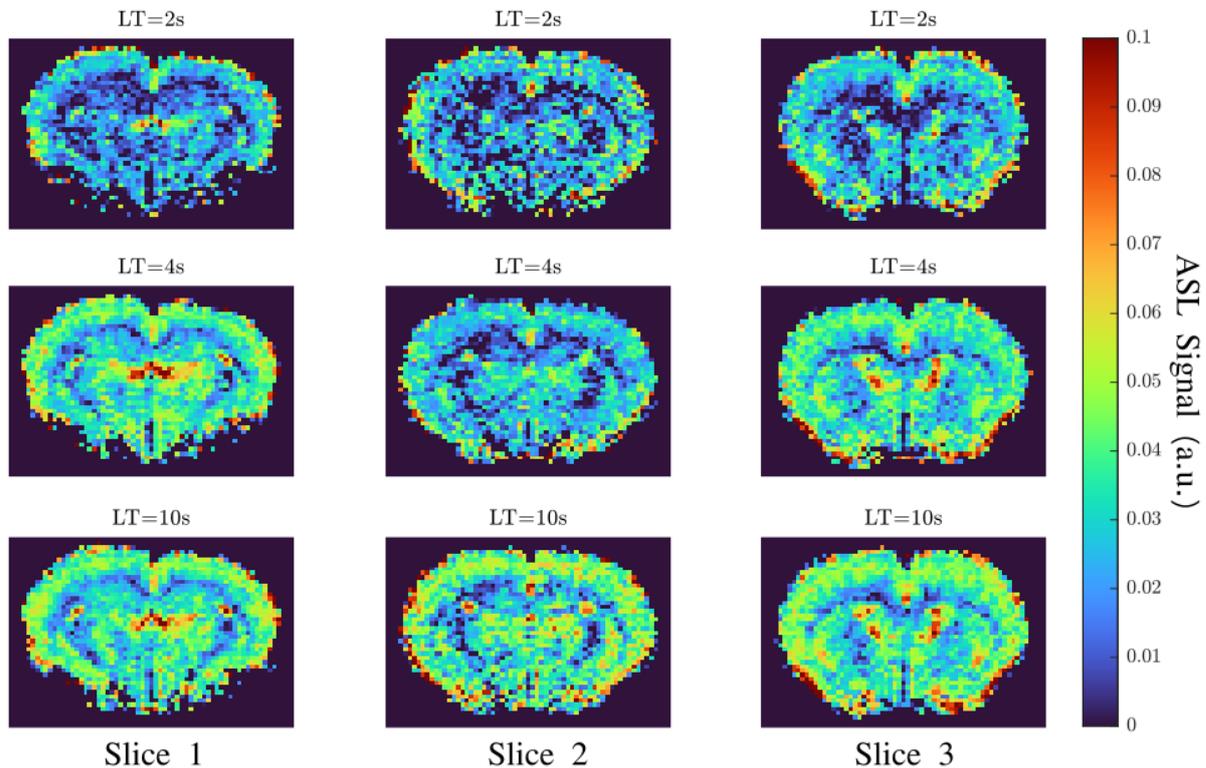


FIGURE 3.12 – Évolution du signal ASL pour différentes valeurs de temps de marquage (LT).

Les tableaux 3.1 et 3.2 présentés ci-dessous, résument les valeurs du signal ASL et CBF mesurées au niveau des différentes structures anatomiques présentées dans la Figure 3.6, pour différents temps de marquage et moyennées sur les sujets de l'étude.

Ces résultats ont permis de vérifier numériquement les prédictions du modèle de quantification à un seul compartiment [19]. L'évolution du signal ASL en fonction du LT est rapportée (Figure 3.13) pour deux valeurs caractéristiques de débits (valeurs basses au niveau de la ROI Corps Calleux et Substance Blanche sous corticale et valeurs hautes au niveau de la ROI Cortex Visuel et Auditif). Ces deux évolutions suivent une loi exponentielle ($f(x) = A \cdot (1 - \exp(-x/B))$). La constante de temps associée étant plus longue pour les faibles débits, l'effet du temps de marquage est donc plus important pour les débits élevés.

Compte tenu du faible nombre de sujets, et afin de comparer statistiquement les valeurs de CBF obtenues pour différents LT, les estimations par ROIs ont été réparties selon deux catégories. Une première à débit faible : $CBF < 60 \text{ ml/min/100g}$ de tissu et une seconde à débit élevé : $CBF > 60 \text{ ml/min/100g}$ de tissu.

Le test statistique non paramétrique d'égalité des moyennes (Wilcoxon apparié) n'a pas permis d'identifier des différences significatives entre les valeurs de CBF estimées par la séquence pCASL à différents temps de marquage ($p\text{-value} > 0.05$). Les résultats de cette analyse sont présentés dans le tableau 3.3 pour les deux groupes : CBF élevé et CBF faible.

	ASL Signal (a.u.)			
	LT = 1 s (n=2)	LT = 2 s (n=4)	LT = 4 s (n=4)	LT = 10 s (n=1)
Visual/Auditory Cortex	0.018 ± 0.003	0.027 ± 0.003	0.036 ± 0.008	0.043
Hippocampus	0.014 ± 0.009	0.019 ± 0.009	0.024 ± 0.006	0.032
Thalamus	0.015 ± 0.008	0.022 ± 0.005	0.026 ± 0.009	0.038
Somatosensory Cortex	0.021 ± 0.001	0.029 ± 0.003	0.035 ± 0.007	0.044
Corpus Callosum + WM	0.000 ± 0.000	0.006 ± 0.002	0.013 ± 0.008	0.018
Striatum	0.010 ± 0.004	0.017 ± 0.002	0.022 ± 0.005	0.036
Motor Cortex	0.022 ± 0.001	0.030 ± 0.001	0.037 ± 0.006	0.044

TABLE 3.1 – Les valeurs du signal ASL obtenues sur les régions d'intérêt pour différents temps de marquage et moyennées sur les différentes expériences regroupées dans cette étude.

	CBF (ml/min/100g of tissue)			
	LT = 1 s (n=2)	LT = 2 s (n=4)	LT = 4 s (n=4)	LT = 10 s (n=1)
Visual/Auditory Cortex	62.12 ± 11.8	67.50 ± 4.43	84.57 ± 14.3	92.78
Hippocampus	47.25 ± 15.0	47.68 ± 16.1	55.44 ± 12.8	68.87
Thalamus	66.25 ± 20.2	67.48 ± 12.3	72.84 ± 22.2	95.53
Somatosensory Cortex	79.49 ± 15.5	78.25 ± 10.3	81.18 ± 14.6	95.97
Corpus Callosum + WM	33.16 ± 10.7	30.18 ± 2.7	40.95 ± 12.6	50.16
Striatum	75.05 ± 27.7	70.27 ± 14.0	70.83 ± 10.5	89.48
Motor Cortex	80.89 ± 16.1	81.25 ± 9.56	86.10 ± 10.5	95.06

TABLE 3.2 – CBF estimé sur les régions d'intérêt pour différents temps de marquage et moyenné sur les différentes expériences regroupées dans cette étude.

Cependant, l'analyse du RSB permet de souligner des différences claires entre les différentes acquisitions et notamment pour les ROIs avec un débit cérébral élevé. Pour ce groupe ($CBF > 60 \text{ ml/min/100g}$), le RSB augmente de $24 \pm 6\%$ entre les temps de marquage à 1 et 2 secondes. De même, entre 2 et 4 secondes de LT, le RSB augmente de $25 \pm 15\%$ ($p\text{-value} < 0.05$). Les résultats présentent une variabilité plus importante pour le groupe à faible débit ($CBF < 60 \text{ ml/min/100g}$) avec une augmentation du RSB de $20 \pm 13\%$ entre 1 et 2 secondes de marquage et de $15 \pm 16\%$ entre 2 et 4 secondes ($p\text{-value} > 0.05$). Le détail des résultats des tests statistiques est présenté dans le tableau 3.4.

Discussion :

L'objectif de l'étude décrite dans cette section est de confirmer expérimentalement l'effet du

	$CBF < 60 \text{ ml/min/100g of tissue}$	$CBF > 60 \text{ ml/min/100g of tissue}$
LT = 1s and 2s	p-value = 0.87 ($N_{ROIs} = 4$)	p-value = 0.09 ($N_{ROIs} = 13$)
LT = 2s and 4s	p-value = 0.43 ($N_{ROIs} = 5$)	p-value = 0.19 ($N_{ROIs} = 16$)

TABLE 3.3 – Résultats du test de Wilcoxon apparié comparant les estimations du CBF obtenues à différentes valeurs de temps de marquage (LT).

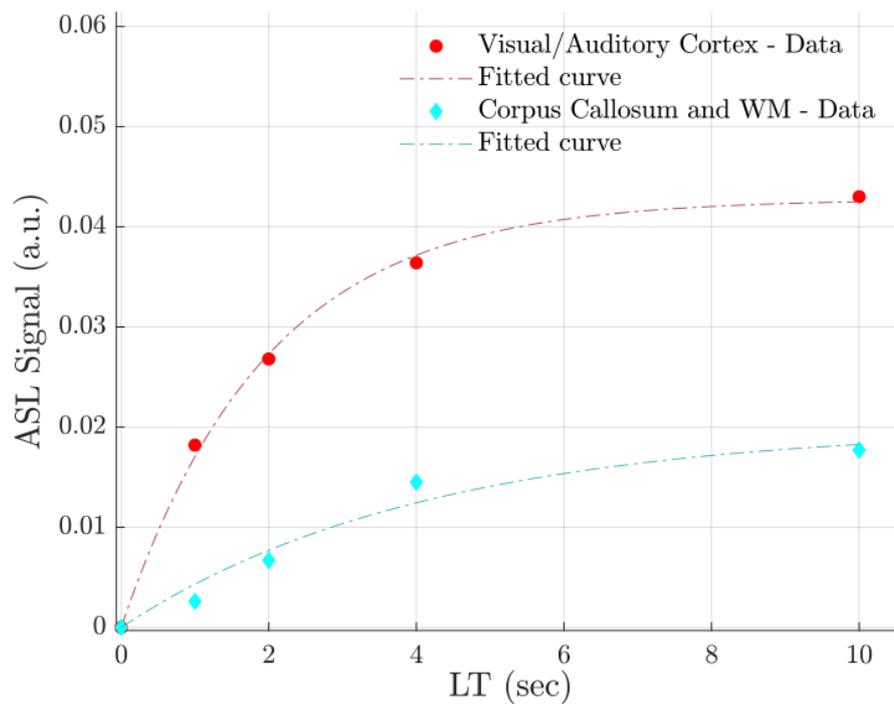


FIGURE 3.13 – Evolution du signal ASL mesuré en fonction du temps de marquage pour deux ROIs. L’ajustement a été effectué par l’algorithme de Levenberg-Marquardt.

temps de marquage sur le signal ASL et le RSB spatial associé à cette mesure. Le modèle général de quantification du CBF [19] permet de constater que le signal ASL n’augmente pas linéairement en fonction du LT (Figure 3.11). Ainsi, le choix du temps de marquage optimal est un compromis entre l’augmentation du RSB, l’augmentation du temps d’acquisition et le dépôt d’énergie au niveau des tissus.

En accord avec les prédictions du modèle (Figure 3.13), l’effet de l’allongement du temps de marquage est plus rapidement limité pour les débits faibles que pour les débits élevés. Ainsi, le rendement atteint ses limites autour de 4 et 2 secondes pour les faibles et hauts débits respectivement. Cependant, pour les différentes valeurs de LT étudiées, nous n’avons pas trouvé de différences significatives entre les estimations de CBF bien que le RSB spatial soit significativement plus important au temps de marquage plus long (Tableau 3.4). Ce résultat est en accord avec une étude effectuée chez l’homme à 3T [149] qui a démontré qu’il est possible d’améliorer l’efficacité du RSB dans la séquence pCASL en optimisant le LT sans entraîner d’erreur de mesure significative du CBF. Dans cette même étude, le temps de marquage optimal se situe entre 3 et 4 secondes mais dépend d’autres paramètres tels que le PLD.

Améliorer le rapport signal/bruit est un objectif important en particulier pour les zones à faibles débit. Un RSB trop faible peut provoquer une sous-estimation du CBF. Dans notre étude, les résultats permettent de conclure qu’un temps de marquage de 1 seconde permet d’obtenir une mesure fiable du CBF moyen sur une région. Une étude avec plus de sujets et des temps de marquage plus

	$CBF < 60ml/min/100g$ of tissue	$CBF > 60ml/min/100g$ of tissue
LT = 1s and 2s	p-value = 0.12 ($N_{ROIs} = 4$)	p-value = $2.4 \cdot 10^{-4}$ ($N_{ROIs} = 13$)
LT = 2s and 4s	p-value = 0.19 ($N_{ROIs} = 5$)	p-value = $1.9 \cdot 10^{-6}$ ($N_{ROIs} = 16$)

TABLE 3.4 – Résultats du test de Wilcoxon apparié comparant les rapports signal/bruit (RSB) des estimations du CBF obtenues à différentes valeurs de temps de marquage (LT).

courts (de l'ordre de 500 ms) permettrait de consolider ce résultat.

L'augmentation du LT bénéficie principalement aux régions à haut débit. Ainsi, pour améliorer la mesure de CBF au niveau des régions à faible débit, augmenter le nombre de répétitions serait plus avantageux que rallonger le temps de marquage pour des temps d'acquisition comparables.

En outre, un allongement du LT est susceptible d'induire une sous-estimation du CBF, avec un effet plus important au niveau des structures hautement perfusées. Cet effet est provoqué par le passage des spins marqués du tissu cérébral vers la circulation veineuse considérée comme négligeable pour les modèles à un ou deux compartiments [19, 102]. Cependant, l'augmentation du LT présente l'avantage de réduire la sensibilité de la mesure au temps de transit artériel (ATT) [84].

Le choix du temps de marquage dans le contexte de la recherche pré-clinique ou clinique à haut champ est, de plus, guidé par des problématiques liées au SAR (*Specific Absorption Rate*). L'énergie absorbée durant l'application d'une impulsion RF entraîne une augmentation de la température de l'échantillon exposé qui est proportionnelle au carré de la fréquence RF (B_0) [27]. Pour cette raison, il est recommandé d'utiliser un temps de marquage de 1800 ms en clinique comme un compromis valable entre l'augmentation du RSB et les inconvénients liés à un dépôt d'énergie plus important. Chez le petit animal, et en absence de régulation stricte du SAR autorisé, le temps de marquage utilisé se situe généralement entre 2 et 4 secondes.

3.2.3 Synchronisation du marquage au signal ECG

La séquence pCASL fait appel à un marquage effectué par le biais d'une inversion adiabatique induite par le flux, et dépend nécessairement de la vitesse d'écoulement du sang au niveau des artères [5, 88]. De plus, les paramètres de la séquence pCASL sont optimisés pour des valeurs de vitesses moyennes du cycle cardiaque [55]. Or, entre les phases de systole et de diastole, les vitesses d'écoulement du sang artériel chez le rat varient entre 5cm/s et 50cm/s. Ainsi, la pulsation cardiaque entraîne une modulation de l'efficacité d'inversion en raison de la vitesse d'écoulement qui varie dans le temps et qui contribue potentiellement à augmenter la variabilité du signal ASL. Pour cette raison, des études ont porté sur l'effet de la synchronisation des acquisitions pCASL avec le signal ECG (Électrocardiogramme) [129], en s'intéressant plus précisément au début ou à la fin de la période de marquage. La synchronisation des acquisitions IRM avec le signal ECG est

une pratique très répandue particulièrement en IRM cardiaque et permet notamment d'obtenir des images anatomiques du coeur durant les différentes phases du cycle.

Le module natif de synchronisation des séquences avec des évènements externes de ParaVision 6.0.1 ne permettant pas de cibler la fin du marquage, cette étude présente donc les résultats de la synchronisation du début du marquage, qui correspond au mode *Trigger Per Phase Step*.

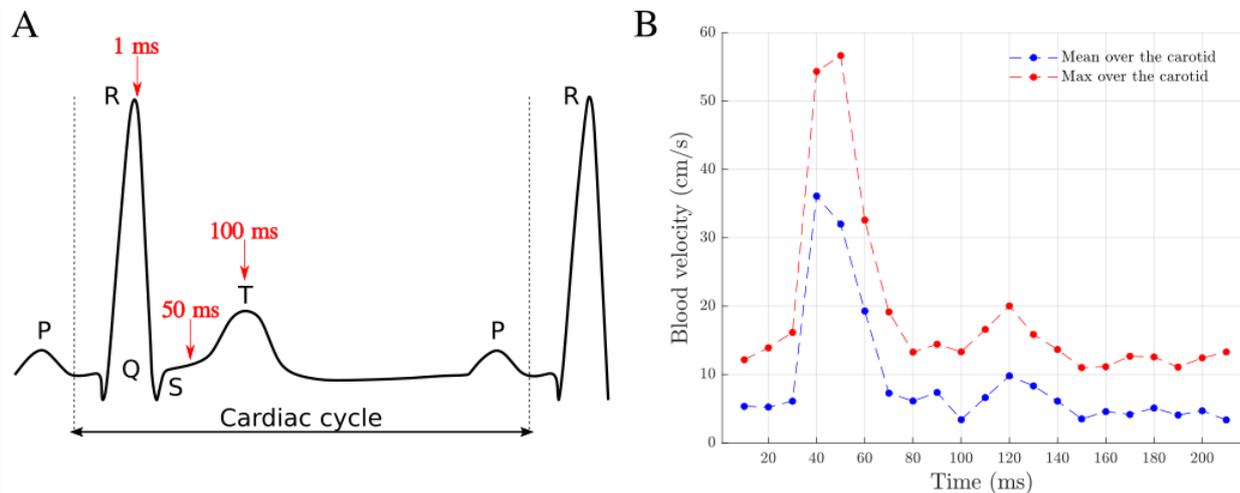


FIGURE 3.14 – A) Schéma d'un cycle cardiaque. Les différents délais de déclenchement (TD) du marquage pCASL sont indiqués en rouge (à 1ms, 50ms et 100ms). B) Évolution de la vitesse d'écoulement du sang au niveau des carotides au cours d'un cycle cardiaque (moyenne sur les carotides). (Protocole *Velocity map* sur ParaVision 6.0.1) avec $TE = 3.9ms$, $TR = 15ms$, $FA = 20^\circ$ et une dynamique de débit (Flow Range) à 40 cm/s.

Matériels et Méthodes :

- *Animaux* : cette étude a été réalisée sur 3 rats (des femelles Wistar, âge : 20-30 semaines, poids : $350 \pm 50g$). Le positionnement des animaux et les conditions d'anesthésie sont similaires à ceux décrits dans la section 3.2.1. Des électrodes ont été positionnées sur les pattes de l'animal (patte avant droite et patte arrière gauche) pour permettre la mesure du signal ECG de l'animal.
- *Simulation* : un modèle numérique en 1D a été mis en œuvre pour étudier l'effet du changement de vitesse pendant le cycle cardiaque sur l'efficacité de l'inversion pCASL. La simulation a été effectuée en se basant sur une résolution des équations de Bloch en présence de spins en mouvement à vitesse constante (script Matlab développé par Jan Warnking du Grenoble Institut of Neuroscience, disponible sur github.com/nifm-gin/). Des impulsions de la forme d'une fenêtre de Hanning ont été utilisées avec les mêmes paramètres utilisés sur la séquence pCASL *in-vivo* chez le rat ($OPT = 400\mu s$, $PRT = 800\mu s$, $B_{1,ave} = 3.5\mu T$, $G_{max} = 45mT/m$, $G_{mean} = 5mT/m$, $T_{1,b} = 2230ms$, [43] $T_{2,b} = 68ms$ [73]).
- *IRM* : le protocole de mise en place et d'optimisation de la phase inter-impulsion de la séquence pCASL appliqué dans cette étude est similaire à celui décrit dans la section 3.1.2.1.

	Rat 1	Rat 2	Rat 3
LT	{3840 ms ; 1920 ms ; 960 ms}	{4070 ms ; 2160 ms ; 1080 ms}	{4000 ms ; 2000 ms}
TD	{1 ms ; 50 ms ; 100 ms}	{1 ms ; 50 ms ; 100 ms}	{1ms}

TABLE 3.5 – Récapitulatif des conditions expérimentales pour chaque rat de l'étude.
(LT : Temps de marquage ; TD : Délai de déclenchement)

Les acquisitions pCASL ont été effectuées avec un TE de 15ms et une résolution spatiale de $326\mu m \times 326\mu m \times 1mm$ pour des matrices de taille égale à $92 \times 92 \times 7$ (mêmes paramètres que pour l'acquisition FAIR-MTI). Chaque acquisition pCASL comporte 30 répétitions. Pour les deux premiers sujets de l'étude, trois temps de marquage ont été choisis en fonction de la fréquence cardiaque de l'animal au début de l'expérience. Pour le troisième sujet, deux temps de marquage à 4000ms et 2000ms ont été choisis. Les délais de déclenchement (TD - *Trigger Delay*) ont été choisis de manière à couvrir les premières parties du cycle cardiaque, où la vitesse d'écoulement du sang dans les carotides est maximale (Figure 3.14). Un récapitulatif des conditions expérimentales pour chaque sujet est présenté dans le tableau 3.5.

- *Traitement des données* : Pour chaque répétition pCASL, les cartes anatomiques de CBF ont été obtenues à partir du modèle à un seul compartiment de Buxton [19] avec un ATT égal à 300ms. Afin de compenser le faible RSB spatial de la méthode, la totalité du cerveau présent sur la première coupe du volume a été considérée. Cela permet aussi de se passer des variabilités de PLD effectif entre les différentes coupes (acquisition en 2D), car elles sont susceptibles d'introduire un bruit supplémentaire. Une moyenne sur la région pour chaque répétition a permis de visualiser l'évolution dynamique du CBF estimé pour chaque condition.

Pour évaluer l'impact de la synchronisation du marquage avec le signal ECG sur les estimations de CBF obtenues, le rapport signal/bruit temporel a été mesuré pour chaque sujet suivant la formule :

$$RSB = \frac{\mu_{ROI}}{\sigma_{ROI}}, \quad (3.10)$$

où μ_{ROI} et σ_{ROI} sont, respectivement, la moyenne et la déviation standard du CBF dynamique sur la région considérée.

Pour compléter l'analyse des résultats, les paramètres suivants ont été considérés :

- *CBF-Dyn* : la valeur de début obtenue pour chaque répétition et pour les différentes acquisitions pCASL réalisées.
- *CBF-Mean* : la moyenne temporelle du CBF au cours de 30 répétitions pour chaque acquisition pCASL.
- *CBF-STD* : la déviation standard des mesures de CBF sur chacune des 30 répétitions.
- *CBF-SNR* : définie par l'équation 3.10.

LT (ms)	Rat 1			Rat 2			Rat 3	
	3840	1920	960	4070	2160	1080	2000	4000
Sans synchro.	21.7	22.0	20.0	16.5	16.9	17.5	30.9	20.3
Déclenchement à 1ms	3.5	2.1	25.8	3.1	1.5	0.8	2.2	10.7
Déclenchement à 50ms	3.4	2.0	2.5	3.4	1.1	0.9	-	-
Déclenchement à 100ms	3.3	2.3	1.5	3.2	0.9	0.7	-	-

TABLE 3.6 – RSB Temporel des acquisitions pCASL dans les différentes conditions expérimentales étudiées pour chaque rat de l'étude.

- *End of Labeling/Label ou /Control* : la durée (en ms) entre la fin du marquage et le dernier pic d'ECG qui la précède pour les acquisitions labels et contrôles.
- *End of Labeling/Label ou /Control - Mean* : la moyenne de *End of Labeling/Label ou /Control* pour chaque acquisition pCASL.
- *End of Labeling/Label ou /Control - STD* : la déviation standard de *End of Labeling/Label ou /Control* pour chaque acquisition pCASL.
- *Delta End of Labeling* : la différence entre les paramètres *End of Labeling/Label* et *End of Labeling/Control* pour chaque acquisition pCASL.

Les variables relatives aux temps entre la fin du marquage et l'ECG ont été extraites de l'enregistrement ECG de l'animal. Un exemple d'enregistrement ECG est présenté Figure 3.15.

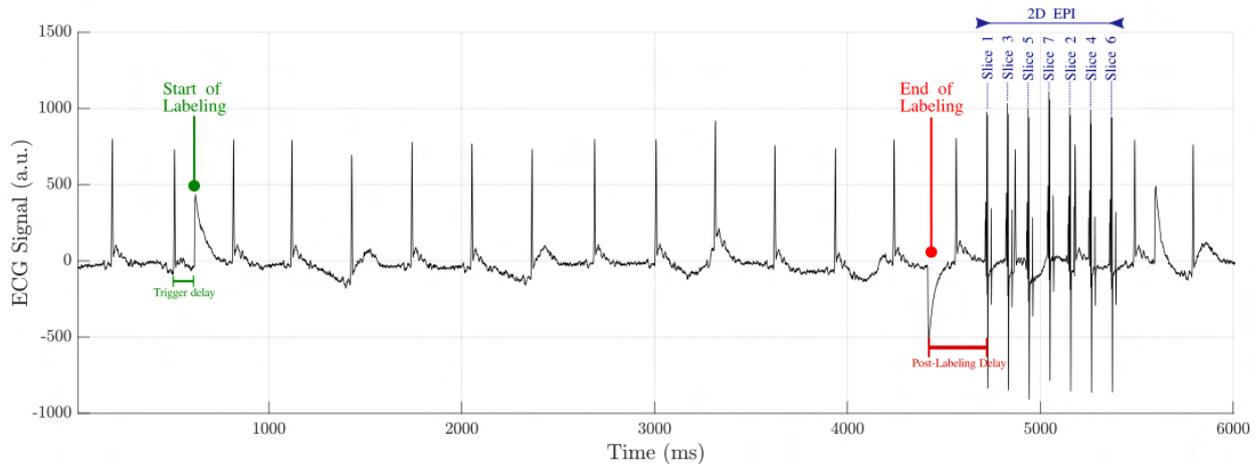


FIGURE 3.15 – Aperçu du signal ECG de l'animal au cours de l'acquisition de la séquence pCASL. L'ECG est parasité par des signaux induits par les différentes commutations des gradients de champ magnétique (courants de Foucault) appliquées durant la séquence.

Résultats :

La Figure 3.16 présente les résultats de la simulation de l'effet d'une inversion adiabatique sur l'aimantation longitudinale des spins de l'eau contenue dans le sang artériel en mouvement. Sur la Figure 3.16a sont représentés les profils d'inversion de M_z pour différentes vitesses. On peut

constater que pour les spins statiques ($v_b = 0$ cm/s), seuls les spins présents au niveau de la coupe sont inversés. La Figure 3.16b permet de visualiser la variation de l'EI, prélevée à 5mm en aval de la coupe d'inversion, en fonction de la vitesse. On constate que l'EI atteint rapidement des valeurs élevées pour des vitesses supérieures à 100 mm/s, avec un maximum atteint à 250 mm/s et 95% d'EI suivi d'une diminution progressive pour les valeurs de vitesses plus élevées, mais varie de 6 à 90% d'EI pour des vitesses entre 40 mm/s et 100 mm/s.

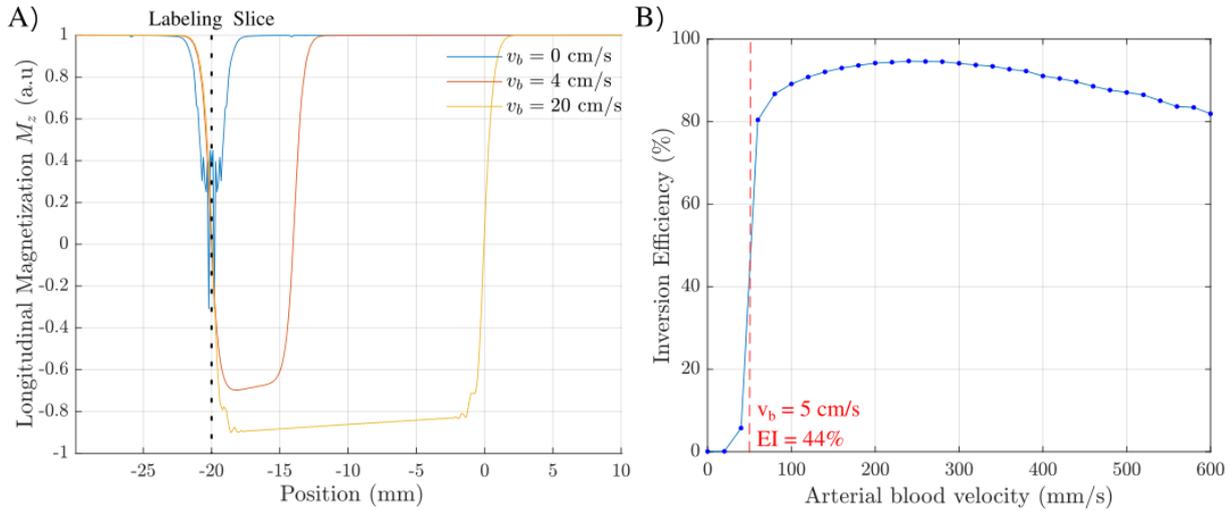


FIGURE 3.16 – A) Évolution de l'aimantation longitudinale M_z lors d'une inversion adiabatique pour différentes valeurs de vitesse d'écoulement du sang artériel. B) Variation de l'efficacité d'inversion en fonction de la vitesse d'écoulement du sang artériel.

Dans cette étude, nous avons réalisé des acquisitions pCASL chez le rat en synchronisant le début du marquage avec l'onde R de l'ECG et un retard allant de 1 ms à 100 ms. Ce résultat a pu être validé à partir de l'enregistrement du signal ECG, où le début et la fin du marquage ainsi que l'acquisition EPI produisent un signal artéfactuel (courants de Foucault) visible et facilement identifiable (Figure 3.15).

La Figure 3.17 permet de visualiser la dégradation de la stabilité du CBF-Dyn au cours de 30 répétitions pCASL pour les 3 temps de marquage (LT) et pour les différents temps de déclenchement. Le RSB temporel est fortement dégradé lors des acquisitions pCASL avec *trigger*, ce qui traduit une dégradation importante de la stabilité de l'estimation au cours du temps (Tableau 3.6).

Pour évaluer la dépendance entre le CBF mesuré et les autres paramètres de l'étude, une matrice de corrélation est présentée sur la Figure 3.17a. On constate une faible corrélation ($\rho = -0.13$; p -value = 0.01) entre le CBF-Dyn et le délai du déclenchement (*Trigger delay*), mais pas de corrélation significative entre le CBF-Dyn et les variables *End of Labeling/Label* ($\rho = -0.04$; p -value = 0.48) et *End of Labeling/Control* ($\rho = -0.06$; p -value = 0.29).

La matrice de corrélation des variables après moyennage des volumes CBF-Dyn pour chaque acquisition pCASL est présentée sur la Figure 3.18b. On remarque que la variable *CBF-STD* est positivement corrélée avec les variables *End of Labeling/Label - STD* ($\rho = -0.04$; p -value = 0.08)

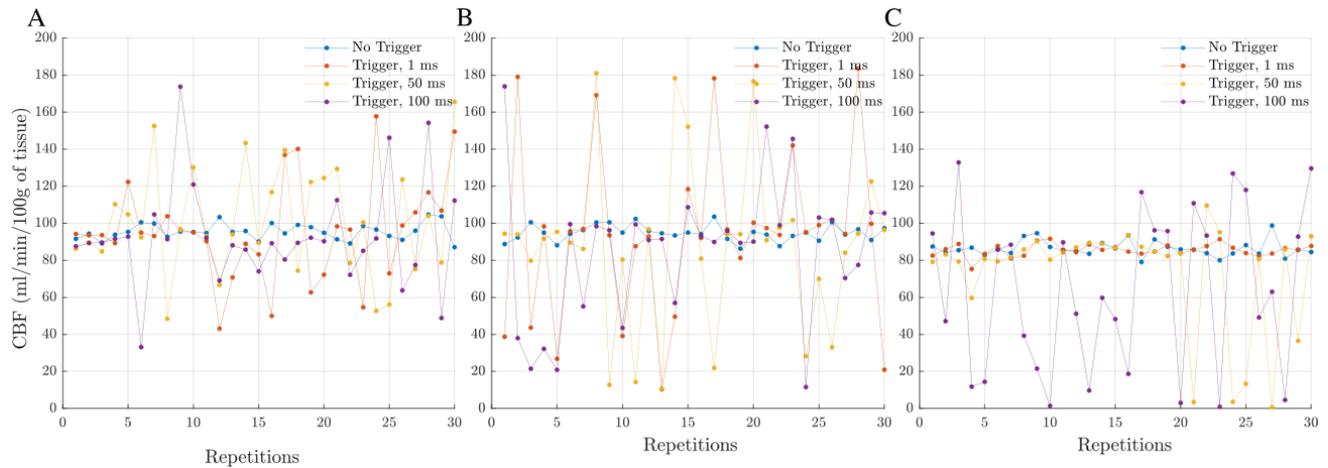


FIGURE 3.17 – Évolution temporelle du CBF pour différents temps de marquage dans le cas d’une synchronisation ECG et pour trois délais de déclenchement différents. A) LT = 3840 ms, B) LT = 1920 ms et C) 960 ms. En bleu sont représentées les acquisitions pCASL sans synchronisation.

et *End of Labeling/Control - STD* ($\rho = 0.53$; $p\text{-value} = 0.08$). De plus, la variable *Delta End of Labeling*, qui décrit la différence entre le délai de la fin de marquage par rapport au dernier pic d’ECG pour les volumes labels et contrôles, impacte négativement les estimations du *CBF-Mean* ($\rho = -0.59$; $p\text{-value} = 0.05$).

Discussion :

Cette étude a été motivée par l’analyse des vitesses artérielles au niveau des carotides durant un cycle cardiaque. En effet, durant la diastole qui représente 60% du cycle cardiaque chez le rat [147], les vitesses d’écoulement du sang peuvent atteindre des valeurs très basses ($5.3 \pm 2.0\text{cm/s}$ de valeur moyenne sur les deux carotides calculée chez un rat sain, soit près de 10 fois moins que durant la phase de systole (Figure 3.14)). Ces grandes variations, liées aux conditions physiologiques de l’animal, nous ont ainsi conduit à étudier leur impact sur les mesures de perfusion par le biais des simulations numériques ainsi que des expérimentations *in-vivo* présentées dans cette section.

La simulation numérique de l’évolution de l’EI en fonction de la vitesse d’écoulement du sang indique des valeurs d’inversion faibles associées à la phase de diastole. Cependant, cette simulation en 1D ne reproduit pas parfaitement les conditions d’inversion réelles où l’EI peut être impactée par les effets d’off-résonance ou encore par un positionnement de la coupe de marquage imparfaitement perpendiculaire à la direction du flux.

Les expériences *in-vivo* ont démontré un effet inattendu de la synchronisation. Le RSB temporel lié à la quantification du CBF dynamique ont été réduits de 93% pour les LTs courts (environ 1000ms) et de 77% pour les LTs long (environ 4000ms). Ce résultat est la conséquence d’une variabilité très grande des valeurs obtenues pour les acquisitions pCASL avec *trigger*, et ce quel que soit le temps de déclenchement appliqué.

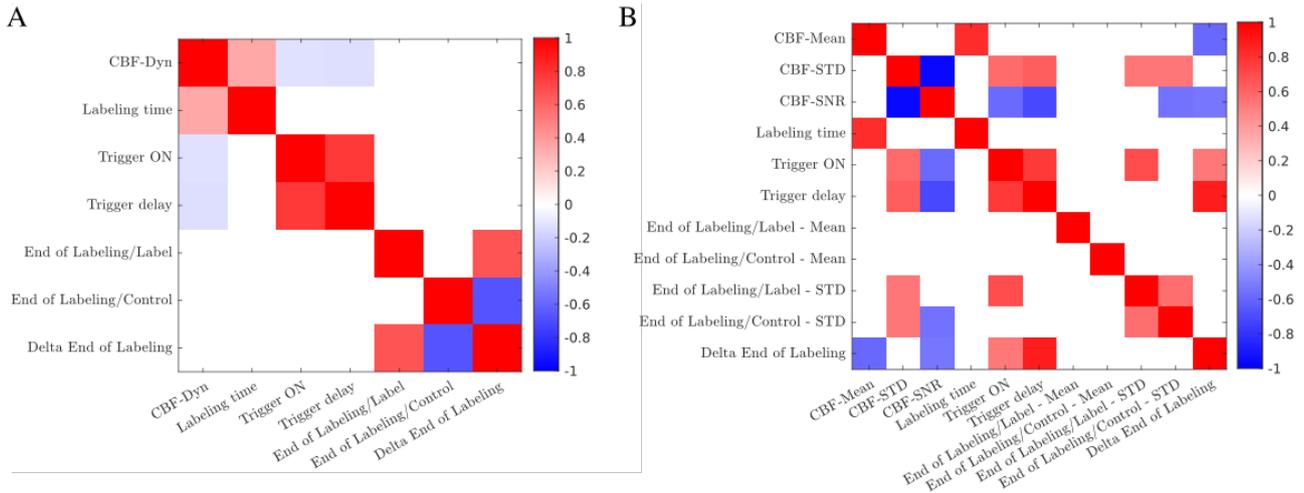


FIGURE 3.18 – Matrice de corrélations (*Spearman*) entre les différents paramètres de l'étude avant (A) et après (B) moyennage temporel des acquisitions pCASL. Les corrélations affichées vérifient nécessairement : $p\text{-value} < 0.1$.

Une analyse de corrélation a été effectuée chez un rat afin de mieux comprendre l'origine de ce résultat. À l'exception d'une corrélation négative faible entre le CBF-dyn et le délai de déclenchement, la matrice de corrélation (Figure 3.17), à l'échelle des répétitions, n'a pas permis d'expliquer la variabilité importante introduite par la synchronisation du début du marquage à l'ECG. Cependant, l'analyse effectuée sur les valeurs moyennes et leurs déviations standards au cours du temps pour les différentes acquisitions pCASL souligne l'impact de la variable *Delta End of Labeling*. Sur la Figure 3.19, on peut constater que la dispersion des valeurs de *End of Labeling/Label* ou de *Control* contribue à augmenter la dispersion des valeurs du CBF dynamique obtenues. Ce résultat souligne l'importance de la fin du marquage et sa contribution dans le signal ASL mesuré [129].

Le choix des temps de déclenchement (à 1, 50 et 100 ms) cible la phase de systole, où les vitesses d'écoulement sont plus élevées (25cm/s, valeur moyenne sur les deux carotides calculée chez un rat sain (Figure 3.14). Cependant, en considérant un temps de marquage de l'ordre d'un cycle cardiaque, nous espérons faire coïncider la fin du marquage avec la phase de systole. Cependant, nous avons réalisé que les spins à la fin de bolus, qui possèdent une vitesse élevée, atteignent le tissu plus rapidement, et que leur aimantation longitudinale diminuait plus vite à cause des différences de temps de relaxation T_1 entre le tissu et le sang artériel (1950 ms dans la substance grise [139] et 2230 ms pour le sang artériel à 7T [43]).

Compte tenu des objectifs de cette étude, nous nous sommes intéressés uniquement à l'effet de la synchronisation cardiaque en raison de son lien direct avec les variations de la vitesse du flux sanguin artériel au niveau des carotides. Cependant, il est très courant, notamment en IRM cardiaque, de réaliser les acquisitions en synchronisation avec le rythme respiratoire [77]. Ceci est particulièrement utile afin de limiter les perturbations du signal ECG produites par les impulsions musculaires de la cage thoracique. Il serait donc intéressant par la suite d'analyser l'effet potentiel

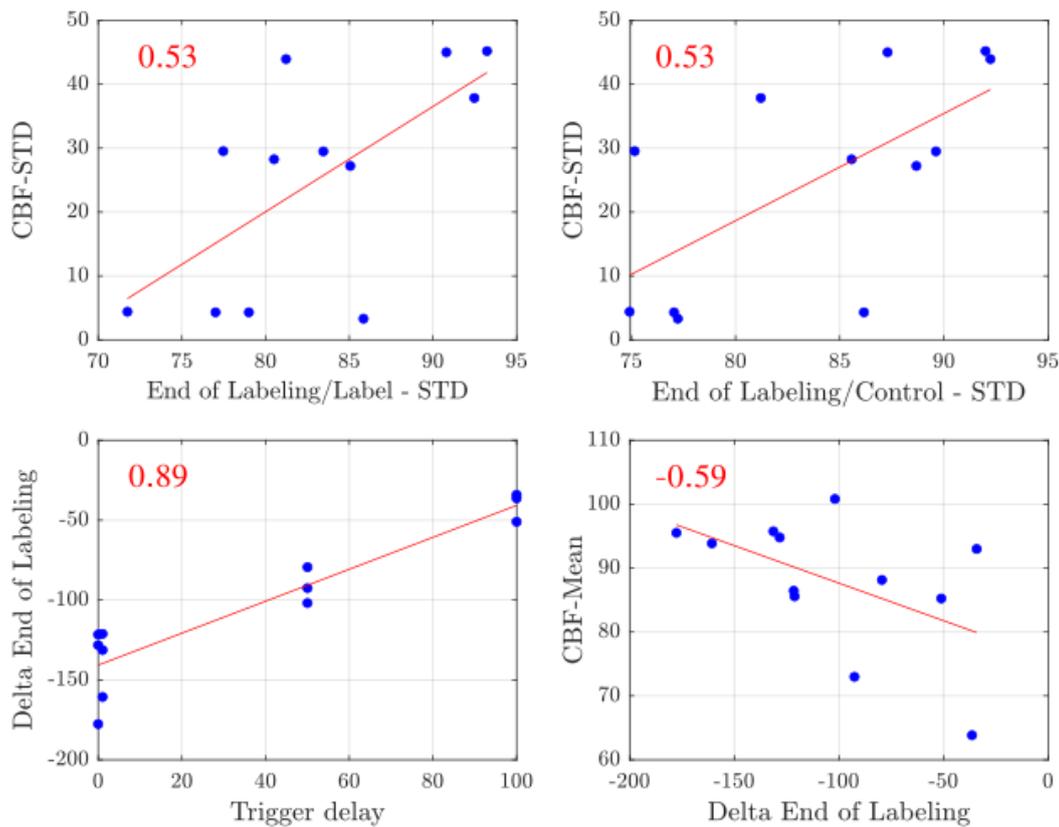


FIGURE 3.19 – Nuage de points de la corrélation (*Spearman*, p -value<0.1) obtenue entre différentes variables de l'étude.

du signal respiratoire sur la stabilité de la mesure du CBF par ASL.

Les résultats présentés dans cette étude ne permettent pas de tirer des conclusions quantitatives sur l'impact de la synchronisation du marquage sur l'estimation du CBF. Il est cependant évident que, dans les acquisitions réalisées, la synchronisation du début de marquage à la phase de systole dégrade la stabilité de l'estimation au cours du temps. Concernant une possible synchronisation en fin de marquage, celle-ci induirait une variabilité des temps de marquage, en considérant que le début du marquage commence à une phase aléatoire du cycle cardiaque mais que la fin est nécessairement effectuée à une période fixe après l'arrivée du dernier pic d'ECG. Sur un modèle pré-clinique tel que le rongeur, avec des temps de marquage longs et des fréquences cardiaques élevées (correspondant à un cycle d'une durée comprise entre 250 et 350 ms) cela ne risque pas de produire une grande dispersion des valeurs du CBF estimées, mais l'enjeu est bien plus présent chez l'homme car les temps de marquage sont généralement égaux à deux fois la durée d'un cycle cardiaque (de l'ordre d'une seconde).

Enfin, la synchronisation des séquences en IRM implique nécessairement un allongement des temps d'acquisition, de moindre mesure quand il faut attendre le prochain déclenchement pour lancer la répétition suivante, mais de manière plus importante si la fréquence cardiaque de l'animal change et perturbe ainsi le réglage du *blanking* qui permet la détection des pics de l'ECG

malgré le signal artéfactuel généré par l'activation des gradients. La synchronisation de la lecture (2D, EPI) avec l'ECG constituerait une autre piste d'investigation. Dans la suite ParaVision, cette technique est disponible sous le nom de *Trigger Per Volume Step*. Néanmoins, celle-ci entraînerait des variations du PLD, et, comme nous l'avons déjà évoqué, le signal ASL mesuré est très sensible à la valeur du PLD effectif.

Au vu de nos résultats et des différents éléments discutés précédemment, la synchronisation du début des temps de marquage avec l'ECG, dans nos conditions expérimentales, semble entraîner une grande variabilité des mesures de CBF. Très peu d'études ont examiné l'influence du cycle cardiaque sur la stabilité du signal pCASL et leurs résultats convergent vers le constat que le déclenchement du début et de la fin de l'étiquetage ne présente aucune incidence concrète sur l'amélioration de la stabilité du signal ASL [141, 129]. Par ailleurs, cette étude met en lumière l'importance de mesurer l'efficacité d'inversion au niveau des entrées artérielles pour une quantification absolue du CBF afin de tenir compte d'une quelconque variation inter-individuel de l'EI liée au changement de la fréquence cardiaque ou de la vitesse d'écoulement du sang.

3.2.4 Test sur un modèle préclinique primate : Le Marmouset

Le marmouset commun (*Ouistiti*, *Callithrix jacchus*) offre un compromis pertinent en termes de proximité à l'homme et de facilité d'intégration dans les protocoles de recherche préclinique. En effet, le cerveau des marmousets est 4 fois plus gros que celui des rats, avec un rapport substance blanche/substance grise plus élevé. De plus, le réseau artériel encéphalique du marmouset est très similaire à celui de l'homme [110]. Mais bien qu'il ait été utilisé dans de nombreuses études pour le développement de stratégies thérapeutiques [11], il y a très peu de quantifications absolues du débit cérébral sanguin [142]. Cette section présente une étude de faisabilité de la mesure du CBF par la séquence pCASL (avec deux pré-scans de correction du déphasage inter-impulsions RF) [56] sur un modèle pré-clinique primate non-humain. L'animal étudié fait partie d'un protocole de test de bio-implant greffé à la suite d'une lésion provoquée par injection de malonate [82]. Le modèle préclinique de lésion par l'injection de malonate permet de reproduire les effets d'un accident vasculaire cérébral avec des déficits sensorimoteurs reproductibles et durables. Ce modèle ainsi que les mesures de CBF au niveau de la lésion seront discutés dans le Chapitre 5.

Matériels et Méthodes :

- *Animaux* : cette étude a été réalisée sur un marmouset (*Callithrix jacchus* mâle, élevé en laboratoire, âge : 9 ans et 7 mois, poids : 280g). Pour son déplacement de l'animalerie vers la plateforme d'imagerie, l'animal a reçu une injection de 300 μ l d'Alfaxan (7 mg/kg, Alfaxan®, Worcestershire, UK). Ensuite, dans l'IRM, l'anesthésie a été maintenue par inhalation du mélange isoflurane/O₂ dont le niveau varie entre 0.5% et 2% selon le rythme respiratoire de l'animal. La cellule d'imagerie est thermorégulée à 40°C.

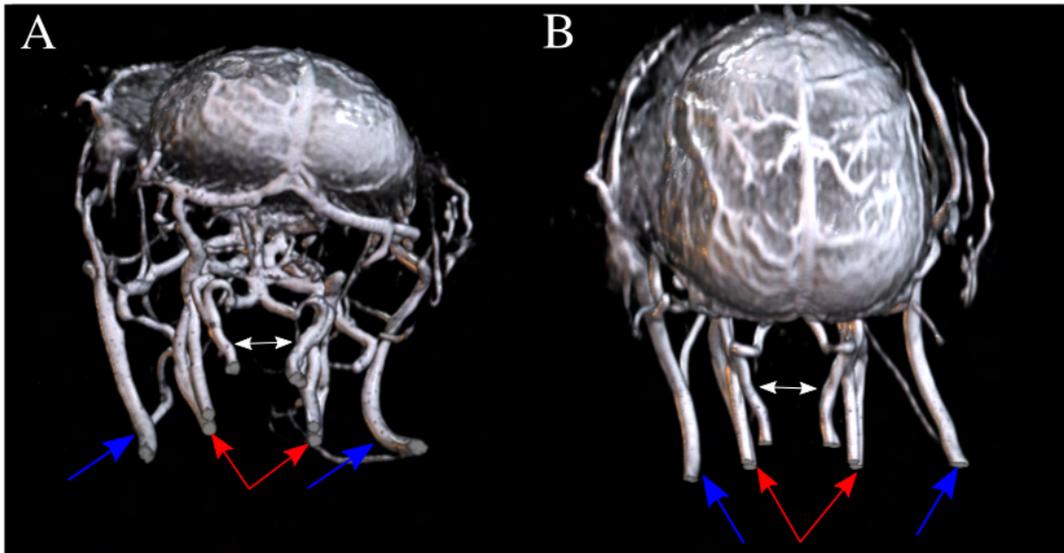


FIGURE 3.20 – Visualisation 3D du réseau vasculaire chez un marmouset sain obtenu à partir d'une acquisition TOF-3D. Les flèches rouges et blanches indiquent les entrées artérielles ; les carotides et vertébrales respectivement. En bleu sont indiquées les veines jugulaires. (A) Vue de l'arrière du cerveau (B) Vue du dessus.

- *IRM* : le protocole de mise en place et d'optimisation de la phase inter-impulsion de la séquence pCASL appliqué dans cette étude est similaire à celui décrit dans la section 3.1.2.1. Cependant, pour des raisons de gestion du temps, il n'a pas été possible d'acquérir une carte T1 (FAIR-MTI) et une imagerie de réseau artériel (TOF-3D). Une connaissance préalable du réseau vasculaire du marmouset (Figure 3.21) a permis de positionner la coupe de marquage à 16mm du centre du volume d'intérêt (Figure 3.22).

La séquence pCASL a été acquise avec un PLD égal à 300ms, un LT fixé à 4sec, un TE à 19ms et un TR à 5400ms. Chaque acquisition pCASL comporte 50 répétitions. La résolution spatiale choisie est de $292\mu\text{m} \times 292\mu\text{m} \times 0.8\text{mm}$ pour des matrices de taille égale à $120 \times 120 \times 22$. Le temps d'acquisition total est de 09 min 02 sec.

En considérant l'antenne surfacique utilisée en réception (cf 2.2.5) et la distance entre l'antenne (positionnée sur le haut du crâne) et les carotides, les paramètres de la séquence Fc-Flash EPI ont été adaptés afin d'améliorer le RSB de l'image calculée : avec une LT de 350ms, un TE de 5.12ms, un TR de 360ms et 2 moyennages. La résolution spatiale de la carte d'EI obtenue est égale à $137\mu\text{m} \times 137\mu\text{m} \times 1\text{mm}$. Le temps d'acquisition total est de 06 min 09 sec.

- *Traitement des données* : Les cartes anatomiques de CBF ont été obtenues à partir du modèle à un seul compartiment de Buxton [19], où le temps de transit artériel a été considéré égal à 300ms et le temps de relaxation longitudinale du tissu égal à 1670ms (valeur moyenne entre le T_1 de la substance grise et blanche [41]).

Afin de quantifier le CBF au niveau de la substance blanche et de la substance grise, les

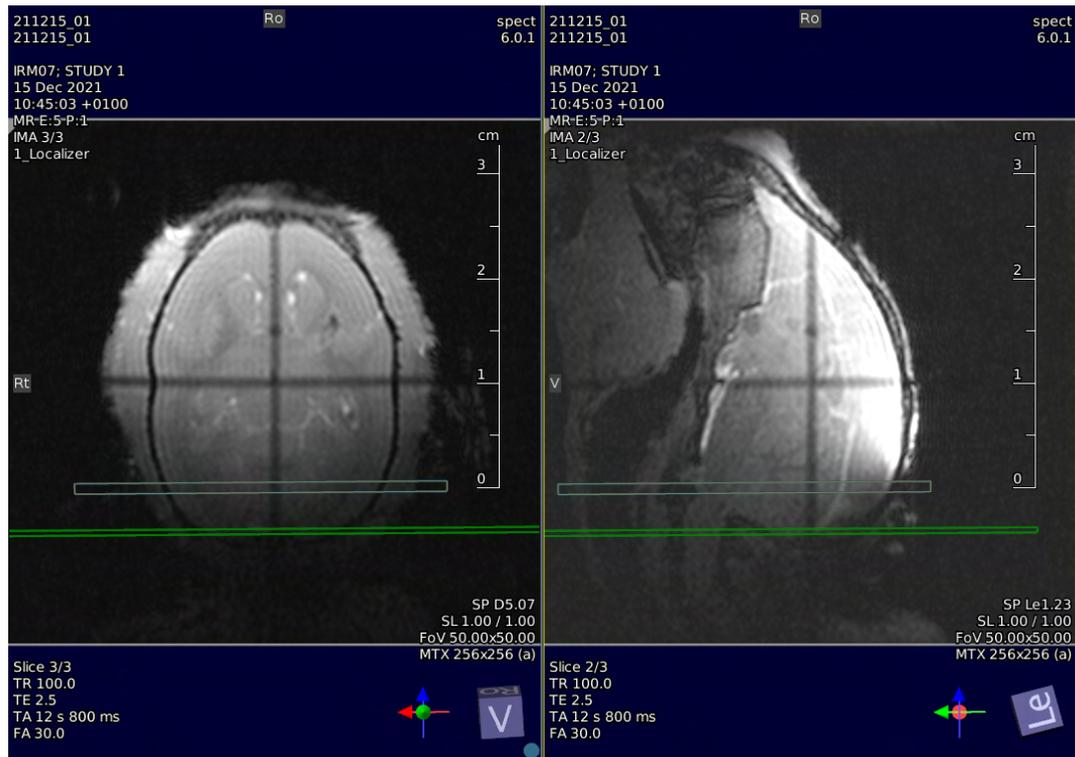


FIGURE 3.21 – Positionnement de la coupe d’inversion de la séquence pCASL (en vert) et de la coupe de mesure de l’efficacité d’inversion (en gris) sur deux coupes horizontale et sagittale du cerveau du marmouset.

volumes 5D pCASL acquis ont été moyennés puis recalés à un atlas anatomique du marmouset [91] pour permettre la segmentation automatique des deux volumes. Le recalage a été effectué à l’aide de la fonction *antsRegistrationSyN* (transformation rigide + affine + déformable) de ANTs [6].

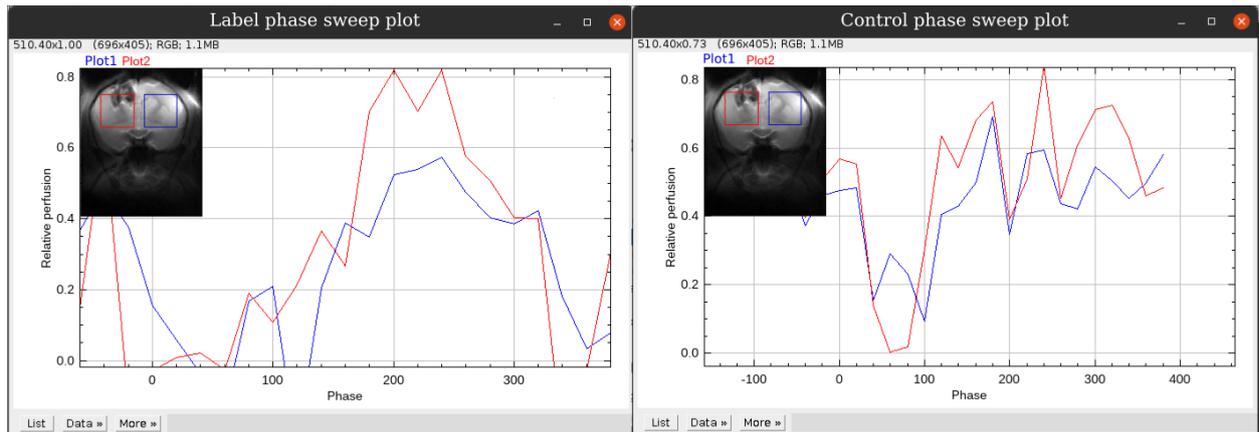


FIGURE 3.22 – Aperçu de l'évolution du signal ASL (ou de la perfusion relative) au cours du balayage en phase des acquisitions d'optimisation des phases inter-impulsions labels (B) et contrôles mesurés chez le marmouset.

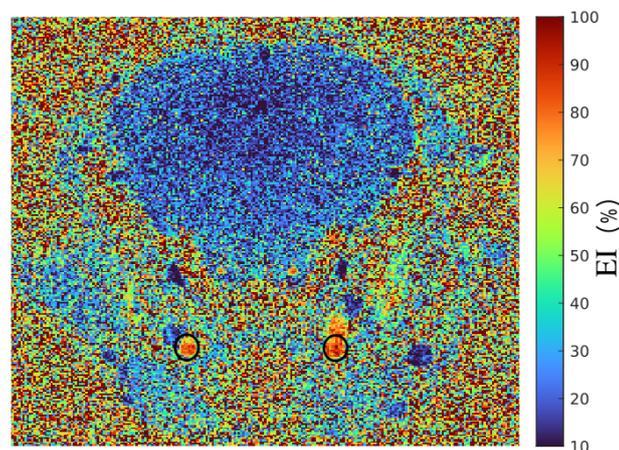


FIGURE 3.23 – Efficacité d'inversion par séquence Fc-Flash pCASL chez le marmouset, les carotides sont entourées en noir.

Résultats :

Les pré-scans d'optimisation de phase ont permis d'identifier le déphasage optimal entre les impulsions RF du train de marquage de la séquence pCASL pour les acquisitions labels et contrôles (Figure 3.22). La mesure de l'efficacité d'inversion par la séquence Fc-Flash+pCASL a permis de valider cette étape d'optimisation ; la valeur d'EI obtenue au niveau des carotides est de $83.7 \pm 7.4\%$ (Figure 3.23).

La mesure de débit par la séquence pCASL a permis de quantifier le CBF sur différentes coupes coronales du cerveau du marmouset présentées Figure 3.24. Les images quantitatives du CBF ont révélé un contraste marqué entre les flux sanguins de la substance blanche (WM) et grise (GM). La segmentation des deux volumes a permis de retrouver des valeurs de débit égales à $CBF_{WM} = 24.38 \pm 14.48 \text{ ml/min/100g}$ de tissus et $CBF_{GM} = 38.74 \pm 17.43 \text{ ml/min/100g}$ de tissus. La segmentation des deux volumes sur une coupe ainsi que la distribution des valeurs de débit

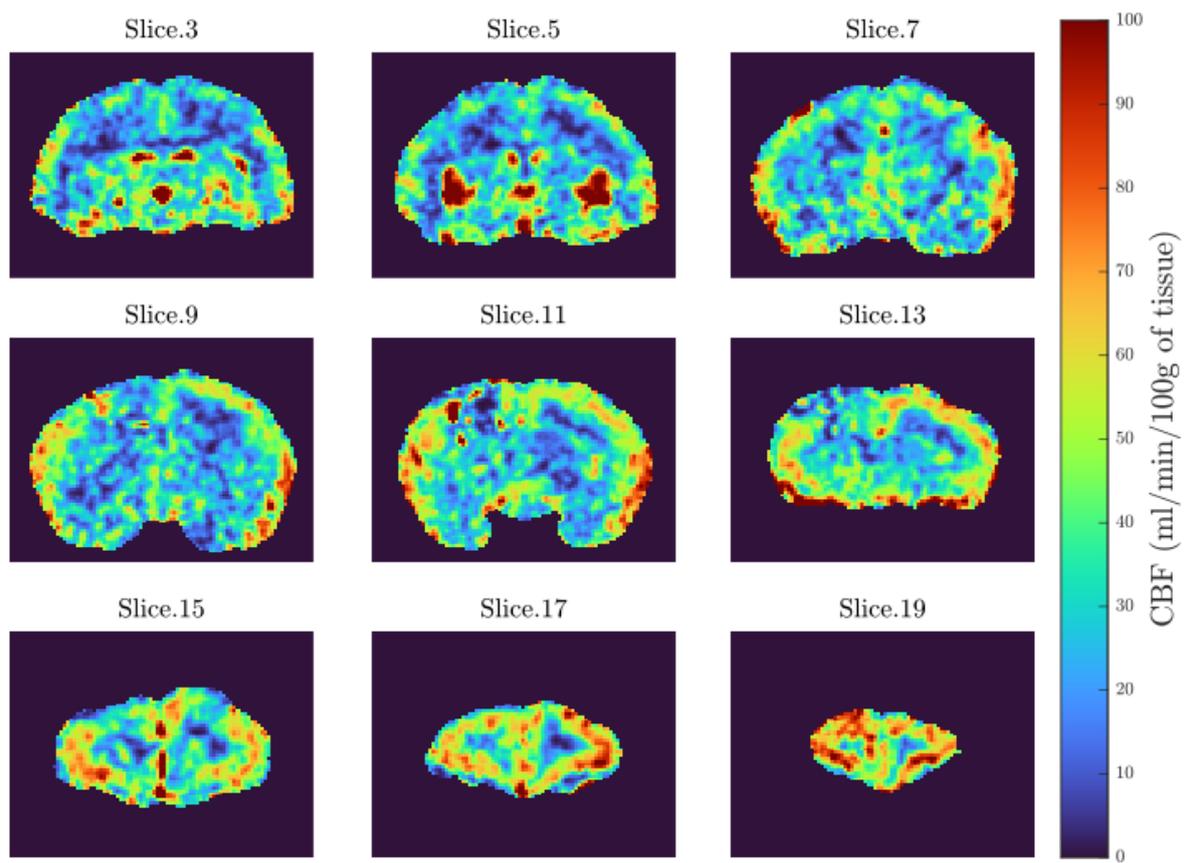


FIGURE 3.24 – Cartes coronales de CBF obtenues par pCASL chez le marmouset (avec filtrage gaussien $\sigma = 1$).

mesurées sont présentées Figure 3.25.

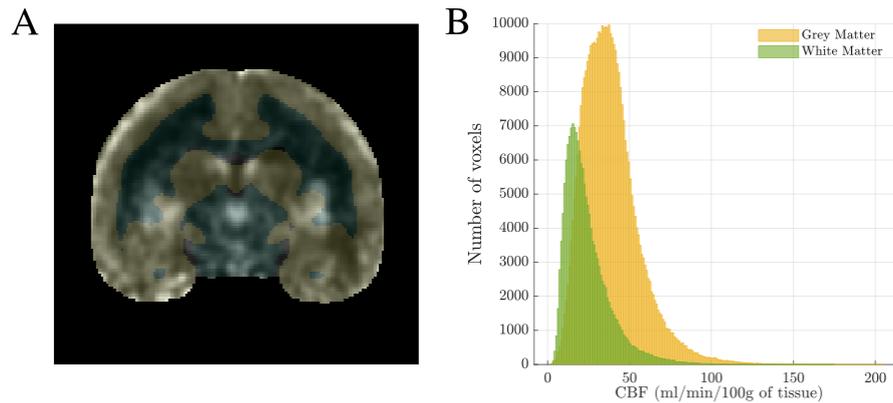


FIGURE 3.25 – A) Segmentation des zones de substances blanche et grise superposées sur une carte de perfusion du marmouset étudié. B) Distribution des valeurs du CBF estimé au niveau des substances blanche et grise.

Discussion :

Compte tenu de la singularité de cette étude, les résultats obtenus à partir des 2 pré-scans de correction du déphasage des trains d'impulsion RF des acquisitions labels et contrôles sont aussi présentés. Ainsi, nous pouvons observer sur la Figure 3.22 que l'évolution de la perfusion relative en fonction de la phase appliquée est très bruitée mais l'identification des valeurs minimales et maximales reste néanmoins possible. Il est important de souligner que par la présente étude, nous avons utilisé la méthode de compensation des phénomènes d'off-résonances par l'utilisation de pré-scans d'optimisation de la phase inter-impulsions RF du train de marquage de la séquence unbalanced pCASL [56] dans des conditions de débit, et donc de signal ASL relativement faibles. La mesure d'EI au niveau des carotides ($\sim 84\%$) est tout à fait comparable aux résultats obtenus chez le rongeur et permet de valider cette méthode d'optimisation de l'acquisition pCASL chez le marmouset.

Les valeurs de débits obtenus chez le marmouset sont proches de celles retrouvées chez l'homme ($CBF_{GM} = 58 \pm 13 \text{ ml/min/100g}$ et $CBF_{WM} = 23 \pm 3 \text{ ml/min/100g}$ [103], valeurs obtenues par CASL chez des sujets masculins d'âge égale à 44 ± 12 ans). Elles sont néanmoins plus faibles que les valeurs de CBF mesurées chez le macaque ($CBF_{GM} = 104 \pm 3 \text{ ml/min/100g}$ et $CBF_{WM} = 45 \pm 6 \text{ ml/min/100g}$ (n=6) [145] avec la séquence CASL (antenne de marquage dédiée) et une anesthésie à 1% isoflurane/ O_2). Comme préalablement mentionnée dans la partie Matériels et Méthodes de la section 3.2.4, l'absence de mesure *in-vivo* du temps de relaxation longitudinal du tissu, qui a été remplacé par une valeur constante sur la totalité du volume cérébral étudié, présente une limitation majeure à cette étude et néglige par conséquent les variations structurales de T_1 présentent notamment entre substance blanche et substance grise.

La valeurs de l'ATT a été fixé à 300ms en considérant les similarités entre les vitesses d'écoulement du sang artériel, $10.1 \pm 2.1 \text{ cm/s}$ (carotide droite, et $9.8 \pm 2.2 \text{ cm/s}$: carotide gauche) que

nous avons mesurées chez le rat [72] et 11.3 ± 0.5 cm/s (carotide droite, et 10.7 ± 0.3 cm/s carotide gauche) mesurées chez le marmouset (données non publiées, [48]). La quantification du CBF chez le marmouset peut être améliorée en déterminant plus précisément le temps de transit artériel (ATT), ce qui nécessite une acquisition pCASL supplémentaire à différents temps de post-marquage (PLD) et en identifiant le temps qui permet d'obtenir le maximum du signal ASL (cf Section 3.2.1). Par ailleurs, compte tenu des faibles valeurs de débits mesurées, un meilleur RSB serait obtenu en utilisant une antenne multi-éléments, adaptée à la morphologie du crâne du marmouset, plutôt que l'antenne de surface en boucle simple de 30mm utilisée pour cette étude. Le RSB spatial (cf Equ. 3.9), en absence de filtrage Gaussien, est de 1.3 pour la substance grise et 1.4 pour la substance blanche sur la totalité du volume cérébral. Une autre manière d'augmenter le RSB pourrait être d'augmenter le nombre de répétitions qui dans cette étude a été fixé à 50 avec un temps de marquage de 4 secondes. Cependant, au-delà de ce nombre, l'inversion appliquée par l'antenne volumique induit un dépôt d'énergie importants qui peut conduire à un échauffement du tissu [57].

Enfin, la mesure présentée préalablement nécessite une étude de reproductibilité pour être validée, notamment chez des sujets sains (non lésés) et dans des conditions d'acquisitions et d'anesthésie similaires. Ces résultats obtenus par pCASL constituent néanmoins une réelle avancée pour l'investigation des mesures de perfusion cérébrale chez le marmouset compte tenu de la très grande difficulté à utiliser des techniques avec agent de contraste (suivi du bolus) sur cet animal. En effet, la pause de cathéter pour l'injection intraveineuse de l'AC chez ce modèle animal est particulièrement difficile à réaliser.

3.3 Synthèse

Les travaux présentés dans ce chapitre ont permis, en premier lieu, d'étudier la mesure de perfusion par la séquence pCASL obtenue par le modèle de quantification du CBF à compartiment unique de Buxton [19]. L'analyse de l'effet de certains paramètres tels que le temps de marquage et le temps de post-marquage souligne un aspect important de cette méthode : le RSB intrinsèque faible. L'optimisation du temps de marquage et le nombre de répétitions réalisées permettent d'améliorer considérablement le RSB mais doivent être choisis de manière précautionneuse à la lumière du DAS élevé généré par l'acquisition dans les conditions actuelles possibles (i.e. avec une antenne volumique en émission).

En outre, nous avons investigué l'effet de la synchronisation du début du marquage de la séquence pCASL au signal ECG de l'animal. Cette étude a été motivée par la différence importante qui existe entre les vitesses d'écoulement du sang artériel en phase de systole et en phase de diastole. Les résultats présentés dans cette section, et qui montrent une perturbation majeure de la stabilité du signal ASL en présence d'une synchronisation ECG, sont difficiles à expliquer.

D'après les acquisitions pCASL réalisées dans le cadre de cette étude, la synchronisation du début du marquage avec le signal ECG ne semble pas pertinente.

Cette section a aussi compris les résultats d'une acquisition pCASL réalisée chez le marmouset. Lors de cette expérience, les acquisitions TOF pour la visualisation des entrées artérielles, et FAIR-MTI pour la mesure du T_1 du tissu n'ont pas pu être réalisées. L'acquisition a tout de même permis d'obtenir des cartes du CBF avec un bon contraste entre la substance blanche et la substance grise avec cependant un RSB faible qu'il est possible d'améliorer en utilisant une antenne plus performante en réception.

Chapitre 4

Effet de l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique sur le débit sanguin cérébral

La barrière hémato-encéphalique (BHE) limite considérablement l'administration de médicaments et l'efficacité du traitement des pathologies cérébrales, notamment les maladies neurodégénératives et les tumeurs. En effet, seuls les agents dont le poids moléculaire est inférieur à 400Da peuvent naturellement traverser la BHE [101]. Cependant, la BHE peut être ouverte en toute sécurité par l'application d'ultrasons pulsés de faible intensité combinés à l'injection intraveineuse de microbulles (MB+US). La variation de la pression acoustique entraîne l'oscillation, l'expansion et la contraction des microbulles, produisant ainsi des forces mécaniques sur les parois des vaisseaux et entraînant une augmentation temporaire de la perméabilité de la BHE.

Plusieurs essais cliniques ont été menés ou sont actuellement en cours pour évaluer l'efficacité de l'ouverture de la BHE pour le traitement de la sclérose latérale amyotrophique, de la maladie d'Alzheimer débutante ou encore des glioblastomes [1, 134, 45]. Malgré cela, l'effet de cette procédure sur la perfusion cérébrale a été peu étudié.

Cette étude a aussi été menée afin d'investiguer l'origine artéfactuelle ou physiologique de l'effet de l'ouverture de la BHE sur le signal ASL. En effet, le modèle général de quantification du débit [19] se base sur l'hypothèse de l'échange extrêmement rapide entre le milieu vasculaire et le tissu cérébral au niveau des capillaires. La BHE peut être endommagée de manière induite, par exemple par l'application d'ultrasons, mais aussi en présence de tumeurs ou de lésions. Le but de cette étude est donc également de valider cette hypothèse.

Pour cela, l'ouverture de la barrière a été induite au niveau de l'hémisphère droit du cerveau du rat. Un premier protocole d'acquisition a été réalisé avec des acquisitions pCASL multi-PLD, dans le but d'étudier l'impact de l'ouverture de la BHE sur le temps de transit artériel du tissu exposé aux ultrasons. Un second protocole a été réalisé avec des acquisitions pCASL à PLD unique, combinées avec une mesure de perfusion cérébrale par injection d'agent de contraste (séquence DSC - *Dynamic Susceptibility Contrast*). Ce dernier protocole a pour objectif l'étude de la variation spatio-temporelle du CBF au niveau de l'hémisphère exposé aux ultrasons.

Le travail présenté dans ce chapitre a été soumis au journal MRM (*Magnetic Resonance in Medicine*) et est actuellement en cours de révision. Il est le fruit d'une collaboration de l'équipe iDREAM avec le Laboratoire d'Applications Thérapeutiques des Ultrasons (LabTAU, Lyon). Suite à cette collaboration, a été remis à l'équipe un système composé d'un générateur de fonction (HP33120A, Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA), d'un amplificateur de puissance (Kalmus Engineering, Rock Hill, SC, USA) et d'un transducteur piézo-électrique plat de 10mm. La calibration de l'appareil a été réalisée dans l'eau, ce qui a permis d'estimer la pression acoustique induite en fonction de la tension choisie en entrée.

4.1 Article : Evidence of cerebral hypoperfusion consecutive to ultrasound-mediated blood-brain barrier opening in rats

Evidence of cerebral hypoperfusion consecutive to ultrasound-mediated blood-brain barrier opening in rats

Wafae Labriji¹, Julien Clauzel¹, Jean-Louis Mestas², Maxime Lafond², Cyril Lafon², Anne-Sophie Salabert^{1,3}, Lydiane Hirschler⁴, Jan M. Warnking⁵, Emmanuel Luc Barbier⁵, Isabelle Loubinoux¹, Franck Desmoulin^{1,6}.

¹ToNIC, Toulouse NeuroImaging Center, Université de Toulouse, INSERM, UPS, Toulouse, France

²LabTAU, INSERM, Centre Léon Bérard, Université Lyon 1, Univ Lyon, F-69003, Lyon, France

³Centre Hospitalo-Universitaire de Toulouse, Toulouse, France

⁴Department of Radiology, C. J. Gorter Center for High Field MRI, Leiden University Medical Center, 2333 ZA Leiden, The Netherlands

⁵Univ. Grenoble Alpes, Inserm, U1216, Grenoble Institut Neurosciences, 38000 Grenoble, France

⁶CREFRE-Anexplo, Université de Toulouse, INSERM, UPS, ENVT, Toulouse, France

1 Introduction

Neurodegenerative diseases and cerebral tumors affect millions of people worldwide. Clinical and preclinical research are actively working to improve our understanding of these neurological pathologies and provide effective treatments to reduce the progression of the associated symptoms. However, the essential role that the Blood-Brain Barrier (BBB) plays in regulating inputs to the brain is becoming a critical constraint in the development of pharmacological treatments. Indeed, only drugs with a molecular weight smaller than 400 Da can naturally cross the BBB [29]. Major efforts have been deployed to overcome this problem [25].

Several studies have explored the potential of ultrasound to disrupt the BBB in order to overcome this limitation [17]. The method selected for its low tissue damage, reversibility and transient nature [32, 3] is the use of low intensity pulsed ultrasound combined with microbubble intravenous injection (MB+US). The change in acoustic pressure causes microbubble to oscillate, expand and contract, producing mechanical forces on the vessel walls that temporarily increase the BBB permeability. Despite the fact that this phenomenon is still poorly understood, several hypotheses exist. Thus, to avoid irreversible tissue damage, it is recommended to adopt a stable cavitation regime, i.e., that the resulting microbubble size oscillation is stable, and stay away from the inertial cavitation regime as it can break down membranes of nearby cells and is more likely to induce edema or hemorrhage [50, 26]. Stable cavitation generates mechanical stress on BBB endothelial cells, depending on the ultrasound amplitude and frequency, and microbubble size relative to that of the blood vessels. Ultrasound combined with microbubble injection enhances the passage of molecules across the BBB by various means [36], but predominantly through the paracellular pathway due to the enlargement of tight junctions under the effect of the induced mechanical stress [37].

Complex regulatory mechanisms are involved to maintain the equilibrium between perfusion supply and brain tissue consumption; such as myogenic tone, neurogenic response, metabolic mechanism and endothelial mechanism [27]. In order to progressively translate into clinical trials [34], many preclinical studies have been conducted to investigate the safety profile of the BBB opening procedure in healthy mammals. This showed a reduction in neurovascular response following the blood-brain barrier disruption [10]. As cerebral perfusion enables the oxygen supply necessary for the oxidative metabolism process of neurons, it is highly important to investigate any secondary effect of US-induced BBB opening on cerebral perfusion. Recently, a functional-

MRI study of the neurovascular response after MB+FUS-induced BBB opening demonstrated an attenuated hemodynamic response to both external stimulation and hypercapnia challenge [48]. Apart from a recent study[43], the effects of BBB opening on cerebral blood flow have been understudied, and several questions related to this topic remain unanswered[49].

The aim of this work is to investigate the effect of BBB opening by MB+US on cerebral perfusion measured by MRI in rats. Several techniques are used to quantify CBF using magnetic resonance imaging: exogenous labeling methods, based on dynamic tracking of contrast agent transit, and endogenous methods based on arterial spin labeling (ASL) of blood water [12, 21]. A first experiment was conducted to explore the impact of this procedure on the ASL signal and the associated estimation of cerebral blood flow and arterial transit time, using the pCASL (pseudo-Continuous Arterial Spin Labeling) MRI sequence[23]. This experiment enabled the analysis of CBF maps from 40 minutes to 60 minutes after the opening of the BBB and the assessment of arterial transit time in the impacted area. The outcomes motivated a second experiment, focused on studying, at an early stage of BBB opening, the spatio-temporal evolution of CBF change using pCASL. A DSC-MRI[8] (dynamic susceptibility contrast MRI) acquisition was used to validate and complete the obtained results.

2 Methods

2.1 Animal preparation

Animals were treated according to the Council of the European Communities guidelines (EU Directive 2010/63). This protocol was approved by the "Direction Départementale de la Protection des Populations de la Haute – Garonne" and the "Comité d'éthique pour l'expérimentation animale Midi-Pyrénées" (protocol n° 16780).

Twelve healthy Wistar female rats (Janvier Labs, France) were used with 5 animals (13-18 weeks old, weight: 300 ± 20 g) included in the first experimental group (Experiment 1) and 5 animals (34-38 weeks old, weight: 400 ± 30 g) included in the second experimental group (Experiment 2). Animals were first anesthetized using an induction chamber with 3% of Isoflurane/ O_2 . A catheter was placed on the rat lateral tail vein while anesthetized with 2% of Isoflurane/ O_2 over a heating plate. The catheter has been used for both microbubble injection and contrast agent injection. For the imaging experiments, animals were placed in a dedicated rat head Imaging Cell (Équipement Vétérinaire Minerve SA, Esternay, France) which allows to preserve the animal health status (specific-pathogen-free) where Isoflurane/ O_2 level was delivered from a nose cone and maintained at 2%. The imaging cell enables temperature regulation through heated air channels such that the animal's body temperature was kept constant to $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$. Respiratory rate was maintained around 60 ± 10 breaths per minute. All animal handling was carried out in a biological safety cabinet.

The animals received a dose of 0.5 mmol/kg of Gadolinium (Dotarem®, Guerbet, France) followed by a 300 μL flush of saline.

2.2 BBB opening procedure: MB+US

To ensure good coupling between the transducer and the skull, the animal's head was shaved with an electrical razor and depilatory cream. An ultrasonic gel couplant was then applied to the shaved surface of the animal's head. Prior to sonication, animals received an injection of 200 μL of microbubbles (SONOVUE, 8 $\mu\text{L}/\text{mL}$ Bracco®, Milan, Italy) followed by a 300 μL flush of saline.

Sonovue microbubbles consist of an ultrasound contrast agent composed of sulfur hexafluoride trapped in phospholipid microspheres with an average diameter of about $2.5 \mu\text{m}$ [35].

Ultrasound were induced in the right hemisphere of rat brains with a 10 mm flat transducer operating at a center frequency of 1.13 MHz. The 25 ms duration 1.13 MHz sine pulses has been created using a function generator (HP33120A, Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA) at a pulse repetition frequency of 1 Hz. The signal was then amplified by a LA200H power amplifier (Kalmus Engineering, Rock Hill, SC, USA) and transmitted to the 50Ω transducer (in-house impedance matching network). The overall sonication time was set to 2 minutes. Pulse wave parameters have been optimized to allow the opening of the blood-brain barrier without causing major alteration of the brain tissue. A preliminary study presented in the appendix 6 allowed to identify a minimum acoustic pressure threshold to safely open the BBB.

The peak negative pressure was set to 0.5 MPa (as calibrated in water) which corresponds to 0.38 MPa and 0.30 MPa accounting for the 25% and 40% attenuation loss due to transmission through the skull in the first and second animal group, respectively [28].

2.3 Magnetic Resonance Imaging

Animals were imaged on a 7T preclinical MRI scanner (Biospec 70/16, Bruker, Ettlingen, Germany) equipped with a volume transmit coil and a 2×2 elements surface receive coil. Anatomical T_2 -weighted (T_2w) images were acquired using a spin-echo sequence (TR/TE = 2500/33 ms; in-plane resolution, $0.137 \times 0.137 \text{ mm}^2$; slice thickness, 1 mm; RARE-factor, 8; acquisition time $T_{acq} = 2 \text{ min } 40 \text{ s}$). For CBF quantification, and to confirm BBB opening, T_1 maps of the brain tissue $T_1(T_{1,t})$ were acquired with a non-selective inversion recovery (IR) spin-echo EPI sequence (TR/TE = 10 000/15 ms; in-plane resolution, $0.326 \times 0.326 \text{ mm}^2$; slice thickness, 1 mm; 17 inversion times (TI) between 20 and 9000 ms; number of averages $NA = 2$; $T_{acq} = 5 \text{ min } 40 \text{ s}$).

The pCASL sequence applied in the two protocols described hereafter uses an unbalanced pCASL scheme (with null mean gradient during the Control acquisitions) preceded by two interpulse phase correction prescans designed to reduce the tagging efficiency loss in pCASL and improve CBF estimation accuracy [19].

Blood water spins were inverted using a localized labeling plane placed at the level of the rat neck (at 10 mm from the magnet isocenter and 20 mm from the anterior commissure). The labeling pulse train consisted of $400 \mu\text{s}$ Hanning-window-shaped RF pulses repeated every $800 \mu\text{s}$ and scaled to an average B1 amplitude of $3.5 \mu\text{T}$ during the RF pulse train. G_{max}/G_{mean} were set to 45/5 mT/m.

Following the phase optimization scans for each Label and Control set, the resulting inversion efficiency (IE) was measured 5 mm downstream the label plane with a flow compensated gradient-echo sequence.

All EPI (Echo Planar Imaging) acquisitions were performed after a global second order shimming over the brain volume (Map Shim Bruker protocol) to minimize the geometric distortions related to the EPI readout without strongly affecting the field homogeneity at the level of the labeling slice.

Experiment 1

After the animal preparation and the MB+US BBB opening (BBBO) localized on the right hemisphere (n=5), images were acquired with the experimental time line given in Figure 1, as following:

- Anatomical T_2w image,

- T_1 map (before contrast agent injection) ($T_{1,pre-Gado}$),
- pCASL phase optimization step and Inversion Efficiency measurements,
- Five pCASL scans with different post-labeling-delays: PLDs = [300 10 1100 200 700] ms and a labeling time of: LT = 2 sec (TR/TE = 3100/15 ms; in-plane resolution, $0.326 \times 0.326 \text{ mm}^2$; slice thickness, 2 mm; number of repetitions: NR = 35 interleaved Label/Control scans; $T_{acq} = 3 \text{ min}$),
- T_1 map (after contrast agent injection) ($T_{1,post-Gado}$).

Experiment 2

To describe the spatio-temporal evolution; a second experimental protocol, given in Figure 1, was designed including CBF estimation before and several minutes after MB+US BBB opening ($n = 5$). Acquisitions were successively:

Before BBB opening:

- T_1 map (before sonication) ($T_{1,pre-US}$),
- pCASL phase correction step and inversion efficiency measurements,
- One pCASL scan for reference CBF quantification with a single PLD = 300 ms and a labeling time of LT = 2 sec (TR/TE = 2600/15 ms; in-plane resolution, $0.326 \times 0.326 \text{ mm}^2$; slice thickness, 1 mm; number of repetitions: NR = 35 interleaved Label/Control scans; $T_{acq} = 3 \text{ min}$).

Special caution was taken to keep the animal cell in the same location in the magnet in order to ensure a consistent high inversion efficiency of the pCASL scans since the measured phase corrections are strongly correlated with the resonance frequency in the carotids at the labeling plane [19].

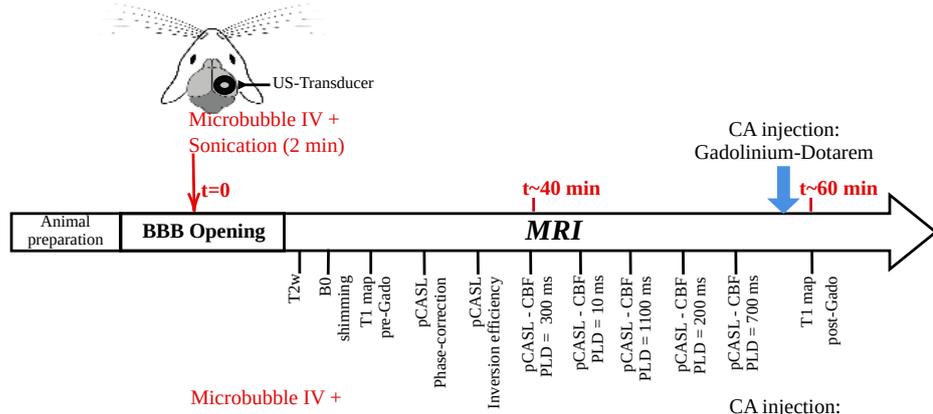
After BBB opening:

- A set of pCASL acquisitions (nine scans) acquired directly after putting back the animal in the magnet (between 5 to 8 minutes following BBB procedure),
- Diffusion map with EPI readout for apparent diffusion constant (ADC) quantification were acquired at b-values of 0 and 800 s/mm^2 and 3 diffusion directions (TR/TE = 2500/20 ms; in-plane resolution, $0.326 \times 0.326 \text{ mm}^2$; slice thickness, 1 mm; $T_{acq} = 3 \text{ min } 20 \text{ s}$),
- T_1 map (after sonication and before Gadolinium injection) ($T_{1,pre-Gado}$),
- Dynamic susceptibility contrast (DSC) scan with an IV CA injection 30 s after the beginning of the acquisition (TR/TE = 500/10 ms; in-plane resolution, $0.390 \times 0.390 \text{ mm}^2$; slice thickness, 1 mm; for 300 scans during 2 min 30 s),
- T_1 map (after Gadolinium injection) ($T_{1,post-Gado}$)
- Anatomical T_2w image.

2.4 Data processing

The MRI data were reconstructed and analyzed using MP3 software [6] developed in MATLAB (The MathWorks Inc, Natick, MA). Before any processing, all EPI acquisitions were realigned to correct for any possible movement of the animal during the experiment using ANTs. For each

a) Experiment 1



b) Experiment 2

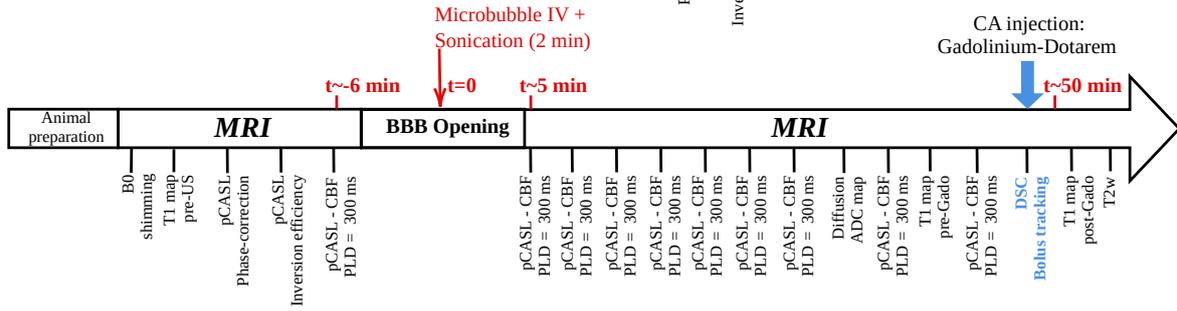


Figure 1: Experimental time line that describes the two experiments conducted in this study. For both, the opening of the BBB was performed outside the magnet under a bio-safety cabinet and Gado-Dota intravenous injection have been conducted 50 minutes after. The time $t=0$ corresponds to the ending of the sonication.

pCASL scan, the repetitions were realigned to the first volume and all EPI acquisitions have been realigned to a pCASL averaged volume acquired in the middle of the experiment.

Selection of regions of interest: The BBB-disrupted (or BBBO) region was identified using the difference between T_1 maps obtained before and after the Gado-Dota injection. BBBO regions are regions such that

$$\Delta T_1 = (T_{1,pre-Gado} - T_{1,post-Gado}) > 50ms \quad (1)$$

CBF map analysis was made for the whole brain and in cortical, hippocampal, thalamic and striatal regions. Then, results are displayed for the whole brain and the cortex. This choice was motivated by the disparity of effects observed in the rest of the structures between the different subjects of the study.

T_1 mapping: T_1 maps were obtained by fitting signal evolution as a function of the inversion time pixel by pixel to the following equation using the Levenberg-Marquardt algorithm:

$$M_z(TI) = |M_0 \cdot (1 - 2 \cdot \kappa e^{-\frac{TI}{T_{1,t}}})| \quad (2)$$

where $M_z(TI)$ is the MR signal collected at each TI, M_0 is the magnetization at thermal equilibrium, $T_{1,t}$ is the longitudinal relaxation time constant of the tissue, and κ is the inversion efficiency.

Apparent Diffusion Coefficient (ADC): has been automatically computed by the online processing tool included in the ParaVision 6.1 software package of the MRI scanner.

Arterial transit time (ATT): is defined as the duration for the tagged blood to flow from the labeling plane to the vascular or the tissue compartments. It has been estimated in parallel with CBF assessment of Experiment 1 using the Levenberg-Marquardt algorithm to approximate ASL signal $\Delta M/M_c$ evolution as function of PLD as given by the Buxton model [7] where ΔM is the signal difference between control and label acquisitions averaged over repetitions. This estimation

is based on one additional hypothesis: CBF and ATT change during multi-PLD pCASL acquisitions is considered to be negligible.

pCASL - CBF maps: of Experiment 2 were computed using the general kinetic model for quantitative perfusion imaging with ASL [7], while considering a single compartment model based on the assumption that the rate of exchange between the vascular environment and the brain tissue is extremely fast. Assuming that the post-labeling delay is higher than the arterial transit time, one has:

$$CBF = \frac{6000 \cdot \lambda \cdot \Delta M \cdot e^{\frac{\Delta t}{T_{1,b}}} \cdot e^{\frac{PLD - \Delta t}{T_{1,t}}}}{2 \cdot IE \cdot T_{1,t} \cdot M_{0,t} \cdot (1 - e^{\frac{-\tau}{T_{1,t}}})} \quad (3)$$

where $T_{1,t}$ is the apparent T_1 of tissue obtained from the T_1 map; $T_{1,b}$ is the longitudinal relaxation time of blood (2230 ms at 7T) [13]; $M_{0,t}$ is the tissue magnetization at thermal equilibrium, τ is the labeling time, Δt is the arterial transit time, λ the brain-blood partition coefficient of water (0.9mL/g) [18] and IE the inversion efficiency. $M_{0,t}$ was estimated using the control image of the ASL experiment multiplied by $[1 - e^{\frac{-TR}{T_{1,t}}}]^{-1}$ to correct for incomplete T_1 relaxation during the TR.

For pCASL-CBF quantification of Experiment 2, the arterial transit time (Δt) has been fixed to 300 ms [20, 46].

DSC - Perfusion measurements: have been computed using the DSC-MRI toolbox [31]. The arterial input function was identified semi-automatically, and contrast extravasation correction was performed using an algorithm based on T_1 enhancement suppression that decreases the estimated rCBV artifactually [5]. DSC analyses provided relative quantification of cerebral blood flow (rCBF), cerebral blood volume (rCBV) and mean transit time (rMTT).

Visualisation of the spatio-temporal evolution of CBF in the Cortex: to study the propagation of CBF alteration in rat cortex, that can be approximated by a circular section on a 2D slice, we extracted the spatial evolution over time of the ASL signal from the middle dorsal side to the lateral side of the cortex. To do so, we converted our matrix, initially in cartesian coordinates, into polar coordinates (r, θ) . The center of the new system has been defined by considering a circle that best crosses the different voxels of the cortical area. This allows to consider a constant average radius throughout the cortex. An angular step of 0.5° has been chosen in order to properly sample the evolution of the signal. Then, the voxels contributions have been averaged given the considered angular step. This process has been performed for each of the 35 repetitions of the 10 pCASL scans of Experiment 2 to obtain ASL signal evolution maps along the cortex over pCASL scans. The obtained maps were finally highly smoothed with a 2D Gaussian filter. The propagation speed was calculated from the level curves plotted on the obtained maps, considering $v = (R \cdot \Delta\theta) / \Delta t$ with R the average radius, $\Delta\theta$ the angle range and Δt the time range obtained as $\Delta t = n \cdot 2 \cdot TR$, with TR pCASL repetition time (for each *Label/Control*) and n the number of scans.

2.5 Statistical Analysis

All data are expressed as mean \pm SD. Paired t-test or Wilcoxon signed rank test (when normality test failed) have been used to evaluate the differences between BBBO regions and contralateral regions in the case of DSC perfusion maps and to evaluate the significant decrease and recovery of CBF obtained from pCASL scans. Normal distribution hypothesis have been tested using the Anderson-Darling test. A *p* - value < 0.05 was considered significant. Pearson correlation coefficient has been used to evaluate the linear correlation between pCASL-CBF and DSC-rCBF measurements.

3 Results

Experiment 1

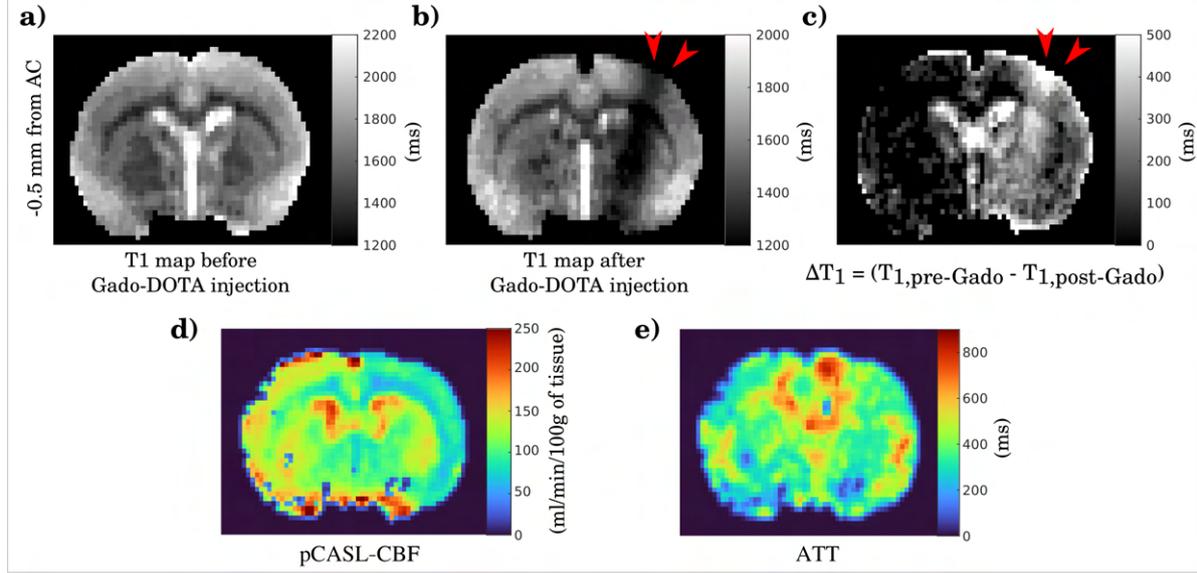


Figure 2: Coronal T_1 maps (a) before and (b) after Gadolinium injection for one typical subject. T_1 decrease is indicative of BBB permeation to Gado-Dota and allows to locate the BBB opening area. (c) was obtained from the subtraction of the tissue T_1 before and after Gadolinium injection. To highlight the effective opening of the BBB, values less than 50 ms were set to zero. d) Corresponding CBF and e) ATT maps with a non-local blood flow decline associated with delayed arterial transit time in the US-exposed hemisphere (AC, anterior commissure). The red arrows shown in (b) and (c) indicate the positioning of the transducer over the right hemisphere of the animal.

Figure 2 displays typical T_1 maps acquired before and after Gadolinium injection. Contrast agent injection was performed 60 minutes following BBB opening. ΔT_1 , obtained from the subtraction of the tissue T_1 before and after contrast agent injection has been thresholded at $\Delta T_1 > 50m$ based on the obtained values over the control hemisphere found to be $\Delta T_{1,no-BBBO} = 38.9 \pm 13.8ms$ ($T_{1,pre-Gado} = 1610.9 \pm 37.4ms$ and $T_{1,post-Gado} = 1572.0 \pm 46.7ms$). Meanwhile, $\Delta T_{1,BBBO} = 233.1 \pm 183.6ms$ was found on the US-exposed hemisphere ($T_{1,pre-Gado} = 1660.8 \pm 36.1ms$ and $T_{1,post-Gado} = 1427.8 \pm 150.9ms$). Significant difference is found between $\Delta T_{1,BBBO}$ and $\Delta T_{1,no-BBBO}$ and confirms the effective opening of the BBB in the US-exposed hemisphere ($p = 0.008$; unpaired Wilcoxon test).

The corresponding obtained CBF map, on Figure 2, illustrate a visible decrease in cerebral perfusion over the sonicated region combined with a slight increase in the ATT. Computed CBF values for BBBO regions (whole brain) and BBBO cortical regions, for the five rats, are displayed in Figure 3. Absolute CBF quantification taking into account the ATT through multi-PLD acquisitions indicated a $29.6 \pm 15.1\%$ decrease between BBBO regions ($CBF_{BBBO} = 91.5 \pm 20.7ml/min/100g$ of tissue) compared to the contralateral region ($CBF_{no-BBBO} = 130.0 \pm 14.8ml/min/100g$ of tissue) ($p = 0.01$; paired t-test). The same measurements performed only on the cortical areas allows to obtain a similar result (a decrease of $41.1 \pm 16.2\%$ with $CBF_{BBBO} = 88.1 \pm 13.7ml/min/100g$ of tissue against $CBF_{no-BBBO} = 149.6 \pm 16.2ml/min/100g$ of tissue) ($p = 0.008$; paired t-test).

pCASL-multi PLD scans allowed to reconstruct the ASL signal evolution according to the post-labeling time as shown in Figure 4 for one typical subject. The ASL signal of BBBO impacted regions seems to reach its maximum value later than its symmetric in the unexposed hemisphere.

Indeed, the mean measured arterial transit time (ATT) over the BBBO regions ($ATT_{BBBO} = 533 \pm 121$ ms) is higher than the estimated ATT in the contralateral hemisphere ($ATT_{no-BBBO} = 409 \pm 93$ ms) ($p = 0.04$; Wilcoxon signed-rank test).

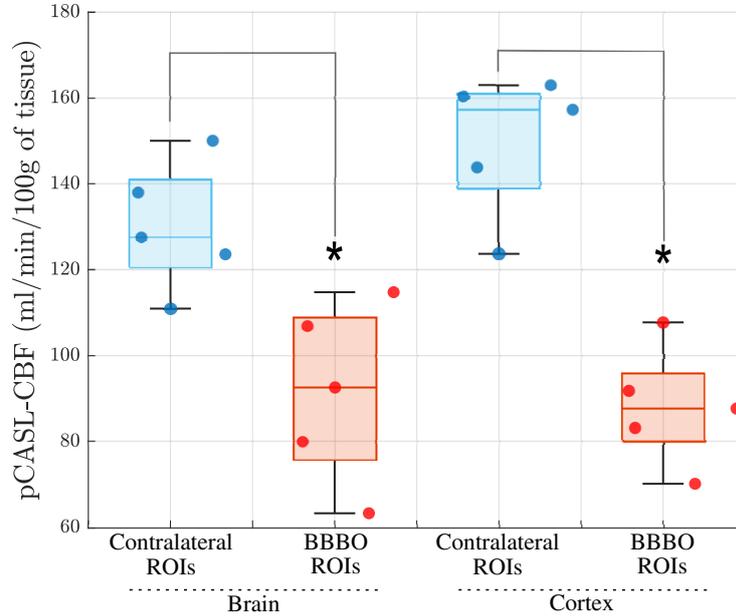


Figure 3: CBF assessment computed over BBBO and contralateral regions in the whole hemisphere ($p = 0.01$; paired t-test) and cortex ($p = 0.008$; paired t-test), respectively for the Experiment 1 ($n=5$).

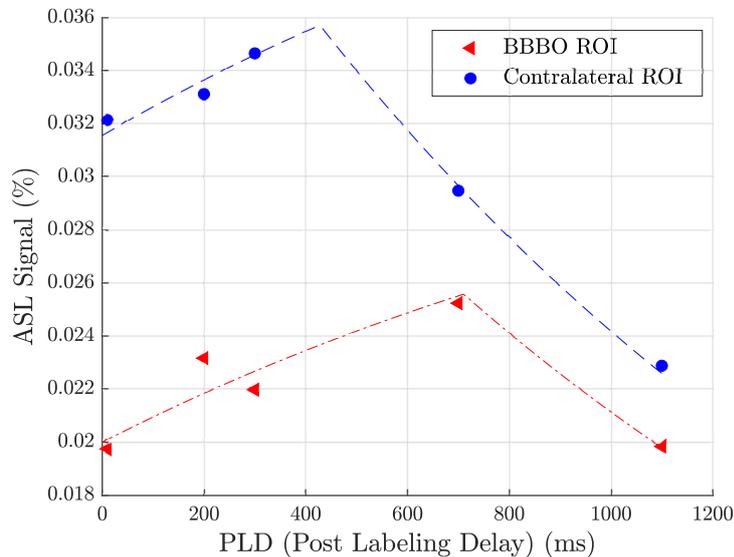


Figure 4: ASL signal evolution according to the post labeling delay for the BBBO region and the contralateral region for a typical subject. The filled circles and triangles are the acquired data while the dashed lines represent the corresponding model fit.

Experiment 2

Calculated T_1 maps for the second experiment are similar to those described in Figure 2. The results show a decrease of tissue T_1 after Gado-Dota injection at the level of the US-exposed hemisphere ($T_{1,pre-Gado} = 1702.8 \pm 21.4ms$ and $T_{1,post-Gado} = 1480.0 \pm 221.2ms$) in com-

parison with the contra-lateral hemisphere ($T_{1,pre-Gado} = 1693.0 \pm 67.9ms$ and $T_{1,post-Gado} = 1625.7 \pm 58.8ms$). Indeed, significant difference has been found between the obtained ΔT_1 at the level of the US-exposed hemisphere ($\Delta T_{1,BBBO} = 226.5 \pm 225.4$) in comparison with the contralateral hemisphere ($\Delta T_{1,no-BBBO} = 63.6 \pm 23.4$) ($p = 0.03$; unpaired Wilcoxon test).

Figure 5 indicates a reduction in CBF at the level of the exposed hemisphere, followed by a gradual recovery. However, one can observe that different structures of the same US-exposed hemisphere were not affected in the same way by CBF alteration.

The extracted CBF profiles are presented on Figure 6 for BBBO ROIs and cortical BBBO ROIs. Following temporal interpolation, the obtained CBF estimation has been double normalized to contralateral CBF and reference CBF (acquired before BBBO) in order to reduce inter-subject variability. CBF estimation at $t=0$ is assumed to be equal to the reference value of CBF.

For each profile, CBF evolution is described for the BBBO region and the complementary i.e. with no evidence of BBB opening (revealed by no Gado-Dota extravasation). Displayed profiles have a similar pattern showing a sharp decrease followed by a partial recovery after 50 min. Thus, on the whole hemisphere, CBF decreased at 14 minutes by $22.3\% \pm 5.8\%$ ($p = 0.03$; paired t-test) for BBBO regions and $14.7\% \pm 8.9\%$ for the complementary parts ($p=0.05$; paired t-test). Then, the decrease in perfusion subsides to $12.3\% \pm 4.5\%$ ($p = 0.01$; paired t-test) for BBBO regions and $10.0 \pm 7.0\%$ for the complementary regions ($p = 0.04$; paired t-test) at 48 min. On the cortical structure, the measured impact was more pronounced and reached $30.8\% \pm 5.8\%$ decrease at 18 minutes for BBBO regions ($p = 0.02$; paired t-test) and a $21.4 \pm 7.0\%$ for the complementary ($p = 0.05$; paired t-test). Then, the decrease in perfusion subsides to $13.0 \pm 7.2\%$ ($p = 0.03$; paired t-test) for BBBO regions and $13.6 \pm 5.3\%$ for the complementary region ($p = 0.17$; paired t-test) at 48 min.

Perfusion maps (Figure 7) obtained by the bolus tracking method are consistent with the last pCASL-CBF measurements obtained before contrast agent injection. Displayed results from DSC-rCBF maps, Figure 8, indicates a $15\% \pm 4\%$ decrease between BBBO region and contralateral region. Meanwhile, pCASL-CBF indicates a $22\% \pm 15\%$ decrease ($p = 0.04$; paired t-test). The effect of BBB opening on the pCASL-CBF and DSC-rCBF were similar ($p = 0.32$; paired t-test). Nevertheless, the expected correlation between pCASL-CBF and DSC-rCBF, which is observed at the contralateral regions ($R^2 = 0.59$, $p = 0.13$), is no longer valid in the BBBO regions ($R^2 = 0.006$, $p = 0.9$).

For the estimated cerebral blood volume (rCBV) maps, a small decrease has been found between BBBO regions (0.31 ± 0.16 a.u.) and contralateral regions (0.35 ± 0.19 a.u.) ($p = 0.06$; paired t-test). A slight increase in the mean transit time (rMTT) was measured in the sonicated area (11.1 ± 2.6 a.u.) compared to its contralateral (10.6 ± 2.3 a.u.) ($p = 0.03$; paired t-test).

The ADC maps showed no significant difference between the BBBO regions ($714 \pm 23\mu m^2/s$) and the contralateral regions ($712 \pm 20\mu m^2/s$) ($p = 0.73$; paired t-test).

The spatio-temporal analysis described in Figure 9, allowed us to observe the propagation of the cerebral perfusion decrease from the dorsal cortex to the ventral cortex within a slice. Surprisingly, there is not a strict spatial correspondence between the hypoperfusion spreading and the impact of BBB opening estimated from the difference in T_1 , before and after the contrast agent injection. Indeed, hypoperfusion onset (between 0 and 15°) is more medial than the highest BBBO impact (between 20 and 30°). The mean velocity of the hypoperfusion propagation was estimated to be $560 \pm 45\mu m/min$.

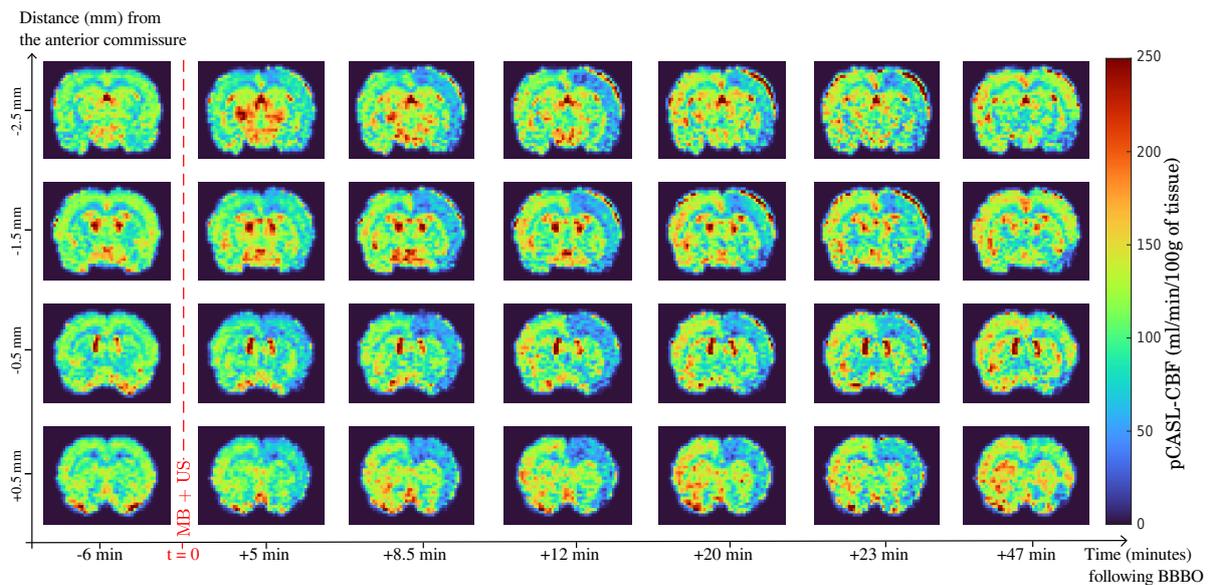


Figure 5: Coronal slices CBF maps depicts blood flow evolution during the Experiment 2 for one rat, measured before and several times following BBB opening procedure. Altered CBF is clearly visible: a first phase of CBF decrease is followed by a progressive recovery with an estimated recovery in the 50 minutes following sonication.

4 Discussion

The aim of this study was to further investigate the effect of BBB opening using ultrasound combined with microbubble injection on brain perfusion. The results of the experiments highlighted a decrease in CBF with strong evidences of transient non-local vasoconstriction, lasting for around 60 minutes following 0.38 MPa US-induced BBB opening, with a significant impact on arterial transit time. The maximum perfusion decreases were different between the animal experimental groups with 41% and 31% in the first and second group, respectively. Difference in attenuation loss due to transmission through the skull could explain that discrepancy. Indeed, effective acoustic pressures estimated from animal weight [28] was 0.38 and 0.3 MPa in the first and second group, respectively. In a previous study performed with comparable experimental conditions to our Experiment 1, a similar 50% decrease of CBF was measured [43].

The lack of impact on ADC supports that this BBB opening procedure is safe with no potential cytotoxic edema that could be induced by hypoperfusion [39] neither vasogenic edema by the controlled increase of blood barrier permeability [44].

The absolute quantification of cerebral blood flow using ASL is based on biophysical models that describe the longitudinal magnetization evolution of tagged spins, through the successive compartments, from arterial blood to brain tissue [54, 41]. In addition, the role of arterial transit time in precise CBF mapping has been widely discussed. [52]. Indeed, in the present study, a decrease in CBF combined with an increase in ATT was measured in the BBBO region. Such increase in ATT has been associated with an upstream impact or vasoconstriction at the level of feeding arteries [46] or arterioles [33] that leads to an underestimation of CBF [16][11].

Perfusion mapping, in this article, was achieved using the general kinetic model for CBF quantification [7] based on the assumption that labeled water in the blood is a freely diffusible endogenous tracer [12, 7]. However, it has been shown that this assumption is not always valid in the brain [30, 42], especially for high blood flow rate, where water extraction fraction tends to be

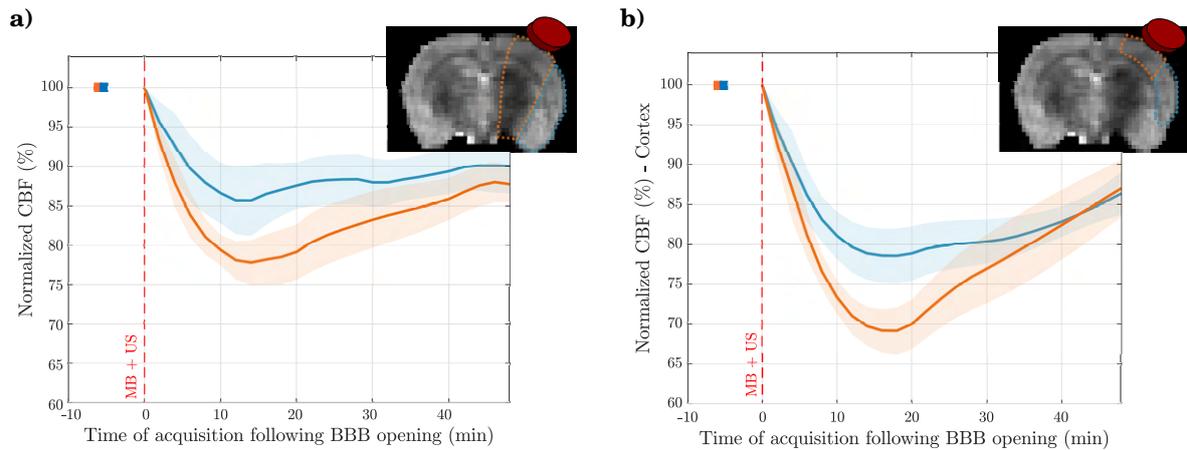


Figure 6: Temporal normalized CBF profiles for the BBBO regions (orange curve), and complementary regions (blue curve), a) in the whole BBBO region and b) cortical BBBO region. The complementary refers to the rest of the hemisphere where BBBO has not been proven. The solid line is the mean over $n = 5$ rats and the shaded regions depict the standard error of the mean.

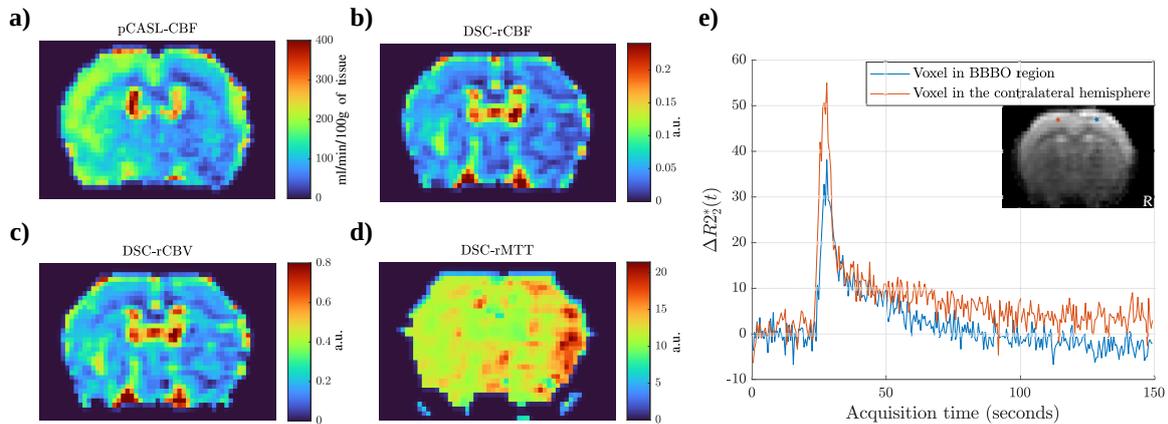


Figure 7: Obtained perfusion maps from DSC-MRI for one typical subject compared to a) pCASL-CBF map; b) DSC-rCBF map, c) DSC-rCBV map and d) DSC-rMTT map. e) BBBO impact on DSC-MRI time course during the first pass of Gado-Dota bolus (blue curve) compared to DSC-MRI time course in the unexposed hemisphere (orange curve) [53].

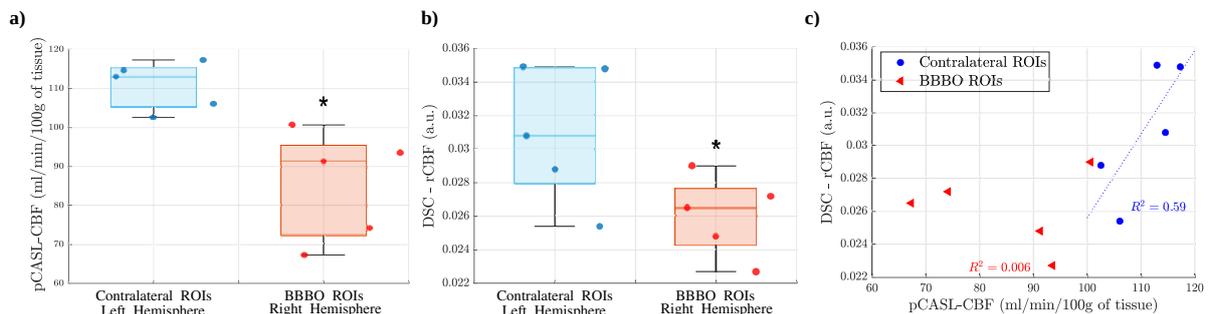


Figure 8: Evaluation of CBF obtained by ASL and DSC-MRI at 50 minutes following MB+US. a) pCASL-CBF significantly lower in BBBO regions ($p = 0.03$; paired t-test). b) DSC-rCBF also significantly lower in BBBO regions ($p = 0.004$; paired t-test). c) pCASL-CBF versus DSC-rCBF scatter-plot for the $n = 5$ animals of the Experiment 2.

lower [38]. As a result, the BBB plays a role in the exchange restriction between the vascular environment and the brain tissue. Several studies have investigated the effect of BBB opening on CBF

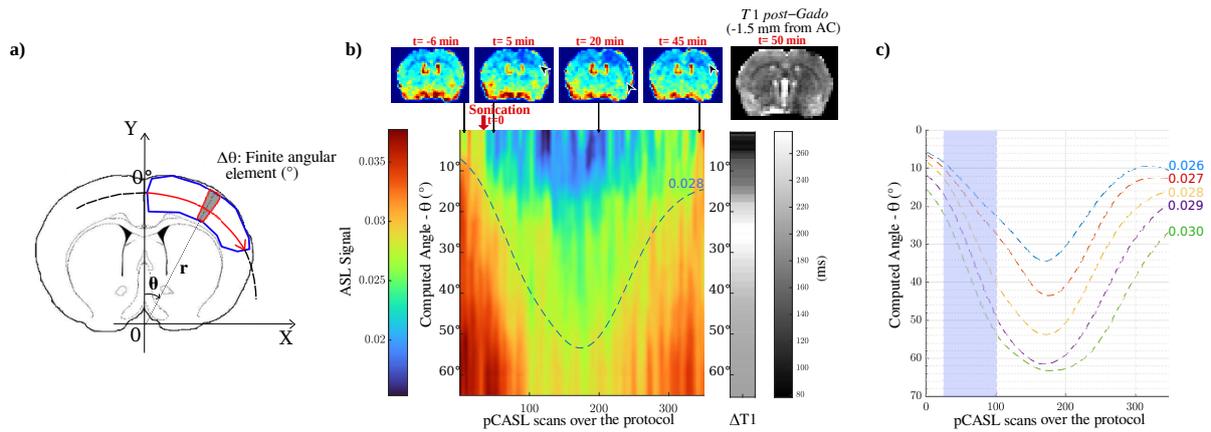


Figure 9: Hypoperfusion spreading through the cortex. a) Representative scheme of the method used to study the propagation of hypoperfusion through the cerebral cortex: for a given center in spherical coordinates (r, θ) , cortex voxels were averaged with an angular binning of 0.5° . 0° corresponds to the dorsal part of the cortex, and the angular rotation is clockwise. b) Obtained map of the cortical spreading hypoperfusion through time. The $\Delta T_1 = (T_{1,pre-Gado} - T_{1,post-Gado})$ change according to the angle allows to localize the impact of the ultrasound (higher impact corresponds to the maximum value of ΔT_1). Black arrows on the CBF maps describe the visible progression of hypoperfusion through the cortex. c) Level curves plotted for several ASL signal values as a function of time (pCASL scans). The shaded area indicates the slope considered to calculate the mean propagation velocity of the wave at 0.03 between 7 minutes to 12 minutes following BBBO procedure.

measurement through intravenous injection of Mannitol [45, 38] and they reported an increase in CBF measured by ASL and DSC-MRI.

Thus, for the same effect, BBB opening by MB+US or by Mannitol injection has contradictory consequences on cerebral blood flow. The above mentioned elements rule out the hypothesis that the observed hypoperfusion is the consequence of BBB opening and support the assumption that the observed CBF decrease is the result of a myogenic reaction to the mechanical strain applied the vessel walls by oscillating microbubbles during sonication.

Different research groups have studied the secondary effects related to BBB opening using ultrasound combined with microbubble injection [49]. Several evidences suggest that MB+US impacts the cerebral vascular system and affects the proper functioning of cerebral blood flow. An in vivo study in mice showed in average a reduction of 60% in the diameter of arteries and arterioles following sonication, as observed by optical imaging, followed by a progressive recovery within 20 to 600 seconds [33]. Results in rats reported a reduction in vessel diameter in only 25% of the vessels exposed to MB+US[9]. In the same study, an inverse correlation has been found between vessel size and vasoconstriction impact, with a stronger impact in smaller diameter vessels. Thus, the outcomes described in this article are consistent with previous findings, since the observed CBF reduction can be an effect of vessels vasoconstriction.

BBB plays an essential role in protecting brain tissue but also in mediating and regulating the neurovascular coupling. Evidences from fMRI studies have shown that BBB disruption affects this function through a significant decrease in the neurovascular response to stimulus [48] without affecting CBF baseline (at rest). However, CBF measurement in this study was performed 1 hour following sonication. Given the above-described CBF recovery approximately 1 hour after MB+US, the lack of effect on cerebral perfusion is understandable. The same group has demonstrated a reduced functional connectivity, using resting state fMRI, in rats after FUS-BBB opening targeted to the right somatosensory cortex [47]. However, no clear statement can be made about the changes in CBF through fMRI studies, since the BOLD signal originates from both CBF and

CMRO₂ (Cerebral metabolic rate of oxygen) contributions.

Another key element to take into account is the inflammatory response triggered by the BBB disruption. Indeed, some research studies have detected, within the BBB opening area, the presence of inflammatory markers (microglia) by immuno-fluorescent staining [40, 22]. The inflammatory response may interfere with the vascular neuro-regulatory system. However, those studies have not explored neuroinflammation in the hour following BBB opening and have found inflammatory bio-markers several hours after. Therefore, they could not provide an appropriate answer to the above mentioned phenomenon, that occurs immediately after MB+US.

The DSC perfusion acquisitions support the hypoperfusion highlighted through pCASL scans. ASL and DSC results are comparable in the non-US exposed hemisphere, in agreement with the literature [24] whereas it is not valid in the hemisphere with BBB opening. A possible explanation for this is that the increase in surface permeability affects the acquisitions and the respective quantification models related to each method in distinct ways [45]. Indeed, ASL may overestimate CBF due to the increase in BBB surface permeability and DSC, meanwhile, may overestimate CBF due to the impact of Gado-Dota extravasation on the T_2^* signal change. In addition, a similar weak correlation between CBF values from the ASL and DSC was observed when the transit time is more delayed [53]. This finding supports the observed delayed ATT albeit its estimation has some limitations, notably the limited number of multi-PLD scans in the experiment and a possible variation of CBF during the scans considering the results of Experiment 2.

Expansion of CBF decrease beyond the BBBO region highlights the non-local aspect of the observed phenomenon and suggests that hypoperfusion requires lower acoustic pressure than the pressure required to make the BBB permeable to Gado-Dota. In addition, the performed spatio-temporal analysis allows to establish some points of similarity with the cortical spreading depression (CSD) phenomenon. CSD is a relatively slow depolarization wave that leads to the suppression of brain activity. The evolution of CBF over time following electrically induced CSD was investigated [14], a transient suppression of brain activity was measured by EEG with a 35% reduction in cerebral blood flow, 4 minutes following CSD onset and a complete recovery after 200 minutes following CSD onset. This hypoperfusion spreaded at 5mm/min measured by EEG. Similar results were obtained in mice following CSD induced by traumatic brain injury (TBI) [4]. Nonetheless, the spreading velocity computed with the cortical spreading maps reported in the present study is 10 times slower, and suggests a dependency between the strength of the induced mechanical stimulation and the spreading velocity of hypoperfusion through the cortex. The effect of CSD on blood flow have been extensively investigated and several studies reported a large transient increase in CBF occasionally preceded by a brief hypoperfusion [2]. This phenomenon is likely dependent on the used species and the mechanism involved in the induction of CSD.

5 Conclusions

This study provided strong evidence of a non-local transient hypoperfusion following blood-brain barrier opening by ultrasound combined with intravenous injection of microbubbles identified using pCASL and DSC-MRI. The reported outcomes are in agreement with previous studies that show a decrease in vascular and neurovascular response in the sonicated region. These results may appear counter-intuitive since we would expect an increase in perfusion correlated with a BBB opening. However, we obviously have to count on the physiological reaction to US stimulation. The analysis of the findings suggests a CSD-like phenomena resulting from the mechanical

strain generated by microbubble expansion induced by sonication. Intracranial EEG monitoring following BBB opening can be useful to confirm this hypothesis and better characterize the observed hypoperfusion propagation.

In our study, T_{2w} , T_{1w} , and ADC scans showed no abnormal hyper- or hypointense voxels in the target regions, meaning that no MRI-detectable edema or microhemorrhage was caused by the procedure, confirming that the method can safely and effectively open the BBB, as demonstrated in very recent clinical trials for the treatment of amyotrophic lateral sclerosis, mild Alzheimer's disease or glioblastoma [1, 15, 51]. Investigating the effects of MB+US BBB opening on cerebral perfusion is a crucial element to improve our understanding of this method and to broaden its applications in clinical therapy.

Acknowledgments

Non-Invasive Exploration service (Dr. C. Pestourie, Dr. J. Piraquive) and animal experiment facilities (C. Baudelin) of the US006/CREFRE-Anexplo Inserm/UT3/ENVT are gratefully acknowledged.

Financial disclosure

None reported.

Conflict of interest

The authors declare no potential conflict of interests.

6 APPENDIX

Preliminary experiment to select the appropriate acoustic pressure

A preliminary study has been conducted to identify the acoustic pressure threshold that results in minimal BBB opening in rat brain. This experiment was performed with the same equipment as previously described in the materials and methods Section 2.2. It was performed on 10 rats (Females, Wistar, 34-38 weeks old, weight: 400 ± 30 g). Animal anesthesia, BBB opening procedure and contrast agent injection are as described in the previous Section 2.2. In order to have the same conditions as the main study, gadolinium injection was performed between 50 to 60 minutes following the opening of the BBB. For this purpose, we measured the impact of BBBO on the longitudinal relaxation time of tissue for 6 different values of acoustic pressure (0.28MPa (n=1); 0.37MPa (n=2); 0.42MPa (n=2); 0.46MPa (n=1); 0.51MPa (n=2); 0.61MPa (n=2)). T_1 maps have been acquired after gadolinium intravenous injection (0.5 mmol/kg of Dotarem®, Guerbet, France) using a non-selective inversion recovery (IR) spin-echo EPI sequence (TR/TE = 10 000/15 ms; in-plane resolution, 0.326×0.326 mm²; slice thickness, 1 mm; 17 inversion times (TI) between 20 and 9000 ms; number of averages $NA = 2$; $T_{acq} = 5$ min 40 s).

The achieved results are presented for each acoustic pressure level on Figure 10a. For the different performed sessions, the success rate of BBB opening was 0% for the acoustic pressure at 0.28MPa, 50% for 0.37MPa and 0.42MPa and 100% for the remaining.

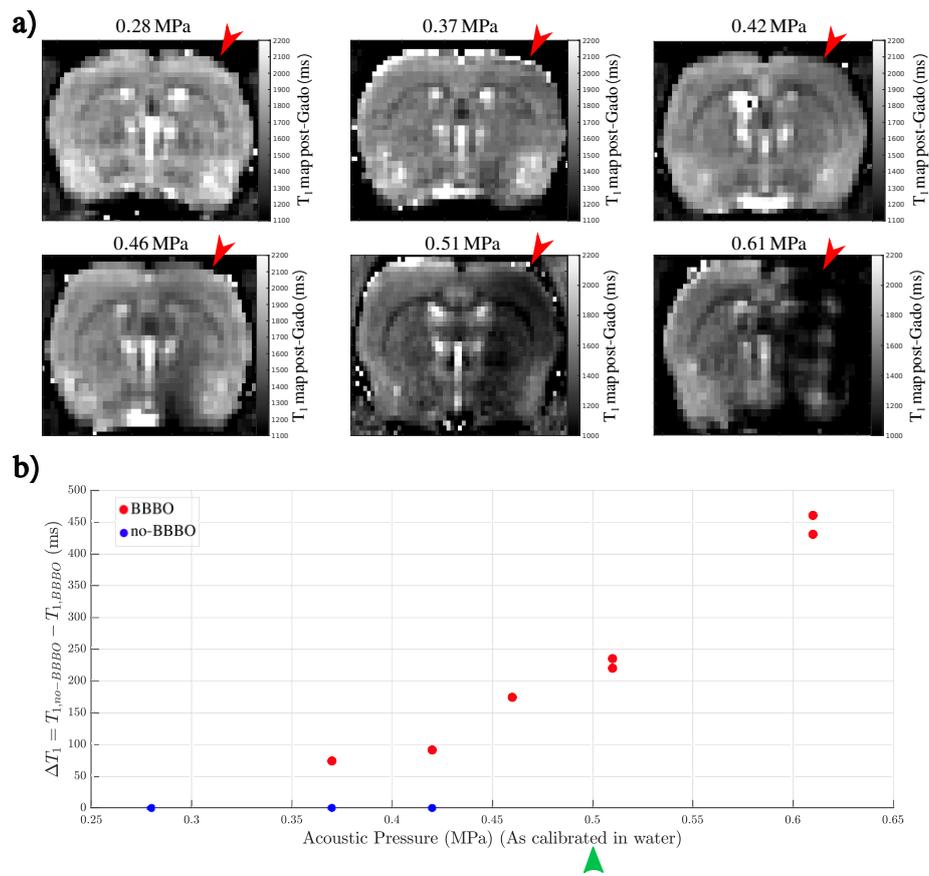


Figure 10: Preliminary experiment results: a) Computed tissue T_1 maps following Gadolinium injection. Coronal images are shown for different acoustic pressure levels used for BBB opening in the right hemisphere of rat brain. b) Resulting tissue T_1 difference between the BBBO region and its symmetric for the applied acoustic pressure levels. ($\Delta T_1 = T_{1,no-BBBO} - T_{1,BBBO}$).

Since we were unable to acquire a T_1 map prior to gadolinium injection in these experiments, the region impacted by the barrier opening was delineated from visual inspection of the T_1 maps and from comparing the ultrasound exposed hemisphere relative to the contralateral hemisphere. Thus, for the $T_{1,BBBO}$ estimate, the mean over the manually drawn region has been computed. Then, $T_{1,no-BBBO}$ was estimated from the mean value of voxels in the symmetric region.

Among all the animals with an effective opening of the BBB, the impacted volume is about $2.65 \pm 0.18 \text{cm}^3$. The obtained results from $\Delta T_1 = T_{1,no-BBBO} - T_{1,BBBO}$ for each acoustic pressure, are displayed on Figure 10b. Over the studied pressure range, the ΔT_1 value shows a growing tendency as a function of the applied acoustic pressure.

The green arrow indicates the acoustic pressure selected for the main study experiments where the acquisitions have been performed at 0.5MPa (calibrated in water).

References

- [1] Agessandro Abrahao, Ying Meng, Maheleth Llinas, Yuexi Huang, Clement Hamani, Todd Mainprize, Isabelle Aubert, Chinthaka Heyn, Sandra E Black, Kullervo Hynynen, et al. First-in-human trial of blood-brain barrier opening in amyotrophic lateral sclerosis using mr-guided focused ultrasound. *Nature communications*, 10(1):1–9, 2019.
- [2] Cenk Ayata, Hwa Kyoung Shin, Salvatore Salomone, Yasemin Ozdemir-Gursoy, David A Boas, Andrew K Dunn, and Michael A Moskowitz. Pronounced hypoperfusion during spreading depression in mouse cortex. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 24(10):1172–1182, 2004.
- [3] Kevin Beccaria, Michael Canney, Lauriane Goldwirt, Christine Fernandez, Clovis Adam, Julie Piquet, Gwennhael Autret, Olivier Clément, Cyril Lafon, Jean-Yves Chapelon, et al. Opening of the blood-brain barrier with an unfocused ultrasound device in rabbits. *Journal of neurosurgery*, 119(4):887–898, 2013.
- [4] James Bouley, David Y Chung, Cenk Ayata, Robert H Brown Jr, and Nils Henninger. Cortical spreading depression denotes concussion injury. *Journal of neurotrauma*, 36(7):1008–1017, 2019.
- [5] JL Boxerman, KM Schmainda, and RM Weisskoff. Relative cerebral blood volume maps corrected for contrast agent extravasation significantly correlate with glioma tumor grade, whereas uncorrected maps do not. *American Journal of Neuroradiology*, 27(4):859–867, 2006.
- [6] Clément Brossard, Olivier Montigon, Fabien Boux, Aurélien Delphin, Thomas Christen, Emmanuel L Barbier, and Benjamin Lemasson. Mp3: medical software for processing multi-parametric images pipelines. *Frontiers in Neuroinformatics*, 14:594799, 2020.
- [7] Richard B Buxton, Lawrence R Frank, Eric C Wong, Bettina Siewert, Steven Warach, and Robert R Edelman. A general kinetic model for quantitative perfusion imaging with arterial spin labeling. *Magnetic Resonance in Medicine*, 40(3):383–396, 1998.
- [8] F Calamante, DG Gadian, and A Connelly. Quantification of perfusion using bolus tracking magnetic resonance imaging in stroke: assumptions, limitations, and potential implications for clinical use. *Stroke*, 33(4):1146–1151, 2002.

- [9] Eunice E Cho, Jelena Drazic, Milan Ganguly, Bojana Stefanovic, and Kullervo Hynynen. Two-photon fluorescence microscopy study of cerebrovascular dynamics in ultrasound-induced blood–brain barrier opening. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 31(9):1852–1862, 2011.
- [10] Po-Chun Chu, Hao-Li Liu, Hsin-Yi Lai, Chung-Yin Lin, Hong-Chieh Tsai, and Yu-Cheng Pei. Neuromodulation accompanying focused ultrasound-induced blood-brain barrier opening. *Scientific reports*, 5(1):1–12, 2015.
- [11] Weiyang Dai, Tamara Fong, Richard N Jones, Edward Marcantonio, Eva Schmitt, Sharon K Inouye, and David C Alsop. Effects of arterial transit delay on cerebral blood flow quantification using arterial spin labeling in an elderly cohort. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 45(2):472–481, 2017.
- [12] John A Detre, John S Leigh, Donald S Williams, and Alan P Koretsky. Perfusion imaging. *Magnetic Resonance in Medicine*, 23(1):37–45, 1992.
- [13] Mircea C Dobre, Kâmil Uğurbil, and Malgorzata Marjanska. Determination of blood longitudinal relaxation time (t_1) at high magnetic field strengths. *Magnetic resonance imaging*, 25(5):733–735, 2007.
- [14] Robert B Duckrow. Regional cerebral blood flow during spreading cortical depression in conscious rats. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 11(1):150–154, 1991.
- [15] Stephane Epelbaum, Ninon Burgos, Michael Canney, Dawn Matthews, Marion Houot, Mathieu D Santin, Carole Desseaux, Guillaume Bouchoux, Sebastian Stroer, Cyril Martin, et al. Pilot study of repeated blood-brain barrier disruption in patients with mild alzheimer’s disease with an implantable ultrasound device. *Alzheimer’s Research & Therapy*, 14(1):1–13, 2022.
- [16] Audrey P Fan, Jia Guo, Mohammad M Khalighi, Praveen K Gulaka, Bin Shen, Jun Hyung Park, Harsh Gandhi, Dawn Holley, Omar Rutledge, Prachi Singh, et al. Long-delay arterial spin labeling provides more accurate cerebral blood flow measurements in moyamoya patients: a simultaneous positron emission tomography/mri study. *Stroke*, 48(9):2441–2449, 2017.
- [17] Kushan Gandhi, Anita Barzegar-Fallah, Ashik Banstola, Shakila B Rizwan, and John NJ Reynolds. Ultrasound-mediated blood–brain barrier disruption for drug delivery: A systematic review of protocols, efficacy, and safety outcomes from preclinical and clinical studies. *Pharmaceutics*, 14(4):833, 2022.
- [18] Peter Herscovitch and Marcus E Raichle. What is the correct value for the brain-blood partition coefficient for water? *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 5(1):65–69, 1985.
- [19] Lydiane Hirschler, Clément S Debacker, Jérôme Voiron, Sascha Köhler, Jan M Warnking, and Emmanuel L Barbier. Interpulse phase corrections for unbalanced pseudo-continuous arterial spin labeling at high magnetic field. *Magnetic Resonance in Medicine*, 79(3):1314–1324, 2018.
- [20] Lydiane Hirschler, Leon P Munting, Artem Khmelinskii, Wouter M Teeuwisse, Ernst Suidgeest, Jan M Warnking, Louise van der Weerd, Emmanuel L Barbier, and Matthias JP van Osch. Transit time mapping in the mouse brain using time-encoded pcal. *NMR in Biomedicine*, 31(2):e3855, 2018.

- [21] Geon-Ho Jahng, Ka-Loh Li, Leif Ostergaard, and Fernando Calamante. Perfusion magnetic resonance imaging: a comprehensive update on principles and techniques. *Korean journal of radiology*, 15(5):554–577, 2014.
- [22] Robin Ji, Maria E Karakatsani, Mark Burgess, Morgan Smith, Maria F Murillo, and Elisa E Konofagou. Cavitation-modulated inflammatory response following focused ultrasound blood-brain barrier opening. *Journal of controlled release*, 337:458–471, 2021.
- [23] Youngkyoo Jung, Eric C Wong, and Thomas T Liu. Multiphase pseudocontinuous arterial spin labeling (mp-pcasl) for robust quantification of cerebral blood flow. *Magnetic Resonance in Medicine*, 64(3):799–810, 2010.
- [24] Delgerdalai Khashbat, Takashi Abe, Mungunbagana Ganbold, Seiji Iwamoto, Naoto Uyama, Saho Irahara, Youichi Otomi, Masafumi Harada, Teruyoshi Kageji, and Shinji Nagahiro. Correlation of 3d arterial spin labeling and multi-parametric dynamic susceptibility contrast perfusion mri in brain tumors. *The Journal of Medical Investigation*, 63(3.4):175–181, 2016.
- [25] Jessica M Larsen, Douglas R Martin, and Mark E Byrne. Recent advances in delivery through the blood-brain barrier. *Current topics in medicinal chemistry*, 14(9):1148–1160, 2014.
- [26] N McDannold, N Vykhodtseva, and K Hynynen. Targeted disruption of the blood-brain barrier with focused ultrasound: association with cavitation activity. *Physics in Medicine & Biology*, 51(4):793, 2006.
- [27] GEORGE Mchedlishvili. Physiological mechanisms controlling cerebral blood flow. *Stroke*, 11(3):240–248, 1980.
- [28] Meaghan A O'Reilly, Aidan Muller, and Kullervo Hynynen. Ultrasound insertion loss of rat parietal bone appears to be proportional to animal mass at submegahertz frequencies. *Ultrasound in medicine & biology*, 37(11):1930–1937, 2011.
- [29] William M Pardridge. The blood-brain barrier: bottleneck in brain drug development. *NeuroRx*, 2(1):3–14, 2005.
- [30] Laura M Parkes and Paul S Tofts. Improved accuracy of human cerebral blood perfusion measurements using arterial spin labeling: accounting for capillary water permeability. *Magnetic Resonance in Medicine*, 48(1):27–41, 2002.
- [31] Denis Peruzzo, Alessandra Bertoldo, Francesca Zanderigo, and Claudio Cobelli. Automatic selection of arterial input function on dynamic contrast-enhanced mr images. *Computer methods and programs in biomedicine*, 104(3):e148–e157, 2011.
- [32] Antonios N Pouliopoulos, Nancy Kwon, Greg Jensen, Anna Meaney, Yusuke Niimi, Mark T Burgess, Robin Ji, Alicia J McLuckie, Fabian A Munoz, Hermes AS Kamimura, et al. Safety evaluation of a clinical focused ultrasound system for neuronavigation guided blood-brain barrier opening in non-human primates. *Scientific reports*, 11(1):1–17, 2021.
- [33] Scott B Raymond, Jesse Skoch, Kullervo Hynynen, and Brian J Bacskai. Multiphoton imaging of ultrasound/optison mediated cerebrovascular effects in vivo. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 27(2):393–403, 2007.

- [34] Ali R Rezai, Manish Ranjan, Pierre-François D’Haese, Marc W Haut, Jeffrey Carpenter, Umer Najib, Rashi I Mehta, J Levi Chazen, Zion Zibly, Jennifer R Yates, et al. Noninvasive hippocampal blood- brain barrier opening in alzheimer’s disease with focused ultrasound. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(17):9180–9182, 2020.
- [35] Michel Schneider. Characteristics of sonovue™. *Echocardiography*, 16:743–746, 1999.
- [36] Nickolai Sheikov, Nathan McDannold, Natalia Vykhodtseva, Ferenc Jolesz, and Kullervo Hynynen. Cellular mechanisms of the blood-brain barrier opening induced by ultrasound in presence of microbubbles. *Ultrasound in medicine & biology*, 30(7):979–989, 2004.
- [37] Nickolai Sheikov, Nathan McDannold, Shipra Sharma, and Kullervo Hynynen. Effect of focused ultrasound applied with an ultrasound contrast agent on the tight junctional integrity of the brain microvascular endothelium. *Ultrasound in medicine & biology*, 34(7):1093–1104, 2008.
- [38] Afonso C Silva, Weiguo Zhang, Donald S Williams, Alan P Koretsky, and Alan P Koretsky. Estimation of water extraction fractions in rat brain using magnetic resonance measurement of perfusion with arterial spin labeling. *Magnetic Resonance in Medicine*, 37(1):58–68, 1997.
- [39] J Marc Simard, Thomas A Kent, Mingkui Chen, Kirill V Tarasov, and Volodymyr Gerzanich. Brain oedema in focal ischaemia: molecular pathophysiology and theoretical implications. *The Lancet Neurology*, 6(3):258–268, 2007.
- [40] Sanhita Sinharay, Tsang-Wei Tu, Zsofia I Kovacs, William Schreiber-Stainthorp, Maggie Sundby, Xiang Zhang, Georgios Z Papadakis, William C Reid, Joseph A Frank, and Dima A Hammoud. In vivo imaging of sterile microglial activation in rat brain after disrupting the blood-brain barrier with pulsed focused ultrasound:[18f] dpa-714 pet study. *Journal of neuroinflammation*, 16(1):1–11, 2019.
- [41] KS St. Lawrence and J Wang. Effects of the apparent transverse relaxation time on cerebral blood flow measurements obtained by arterial spin labeling. *Magnetic Resonance in Medicine*, 53(2):425–433, 2005.
- [42] KS St. Lawrence, JA Frank, and AC McLaughlin. Effect of restricted water exchange on cerebral blood flow values calculated with arterial spin tagging: a theoretical investigation. *Magnetic Resonance in Medicine*, 44(3):440–449, 2000.
- [43] Vasile Stupar, Anthony Delalande, Nora Collomb, Claire Rome, and Emmanuel L Barbier. Impact of focused ultrasound on cerebral blood flow. Joint Annual Meeting ISMRM-ESMRMB, Paris, France, 2018.
- [44] Wei-Shen Su, Min-Lan Tsai, Sin-Luo Huang, Shing-Hwa Liu, and Feng-Yi Yang. Controllable permeability of blood-brain barrier and reduced brain injury through low-intensity pulsed ultrasound stimulation. *Oncotarget*, 6(39):42290, 2015.
- [45] Yoji Tanaka, Tsukasa Nagaoka, Govind Nair, Kikuo Ohno, and Timothy Q Duong. Arterial spin labeling and dynamic susceptibility contrast cbf mri in postischemic hyperperfusion, hypercapnia, and after mannitol injection. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 31(6):1403–1411, 2011.

- [46] David L Thomas, Mark F Lythgoe, Louise van der Weerd, Roger J Ordidge, and David G Gadian. Regional variation of cerebral blood flow and arterial transit time in the normal and hypoperfused rat brain measured using continuous arterial spin labeling mri. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 26(2):274–282, 2006.
- [47] Nick Todd, Yongzhi Zhang, Michael Arcaro, Lino Becerra, David Borsook, Margaret Livingstone, and Nathan McDannold. Focused ultrasound induced opening of the blood-brain barrier disrupts inter-hemispheric resting state functional connectivity in the rat brain. *Neuroimage*, 178:414–422, 2018.
- [48] Nick Todd, Yongzhi Zhang, Margaret Livingstone, David Borsook, and Nathan McDannold. The neurovascular response is attenuated by focused ultrasound-mediated disruption of the blood-brain barrier. *Neuroimage*, 201:116010, 2019.
- [49] Nick Todd, Cleide Angolano, Christiane Ferran, Anna Devor, David Borsook, and Nathan McDannold. Secondary effects on brain physiology caused by focused ultrasound-mediated disruption of the blood–brain barrier. *Journal of Controlled Release*, 324:450–459, 2020.
- [50] Yao-Sheng Tung, Fotios Vlachos, James J Choi, Thomas Deffieux, Kirsten Selert, and Elisa E Konofagou. In vivo transcranial cavitation threshold detection during ultrasound-induced blood–brain barrier opening in mice. *Physics in Medicine & Biology*, 55(20):6141, 2010.
- [51] Hong-Jian Wei, Pavan S Upadhyayula, Antonios N Pouliopoulos, Zachary K Englander, Xu Zhang, Chia-Ing Jan, Jia Guo, Angeliki Mela, Zhiguo Zhang, Tony JC Wang, et al. Focused ultrasound-mediated blood-brain barrier opening increases delivery and efficacy of etoposide for glioblastoma treatment. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 110(2):539–550, 2021.
- [52] Joseph G Woods, Michael A Chappell, and Thomas W Okell. Designing and comparing optimized pseudo-continuous arterial spin labeling protocols for measurement of cerebral blood flow. *NeuroImage*, 223:117246, 2020.
- [53] Tae Jin Yun, Chul-Ho Sohn, Moon Hee Han, Hyun-Seung Kang, Jeong Eun Kim, Byung-Woo Yoon, Jin Chul Paeng, Seung Hong Choi, Ji-hoon Kim, In Chan Song, et al. Effect of delayed transit time on arterial spin labeling: correlation with dynamic susceptibility contrast perfusion magnetic resonance in moyamoya disease. *Investigative Radiology*, 48(11):795–802, 2013.
- [54] Weiguo Zhang, Donald S Williams, and Alan P Koretsky. Measurement of rat brain perfusion by nmr using spin labeling of arterial water: in vivo determination of the degree of spin labeling. *Magnetic Resonance in Medicine*, 29(3):416–421, 1993.

List of Figures

1	Experimental time line that describes the two experiments conducted in this study. For both, the opening of the BBB was performed outside the magnet under a bio-safety cabinet and Gado-Dota intravenous injection have been conducted 50 minutes after. The time $t=0$ corresponds to the ending of the sonication.	5
2	Coronal T_1 maps (a) before and (b) after Gadolinium injection for one typical subject. T_1 decrease is indicative of BBB permeation to Gado-Dota and allows to locate the BBB opening area. (c) was obtained from the subtraction of the tissue T_1 before and after Gadolinium injection. To highlight the effective opening of the BBB, values less than 50 ms were set to zero. d) Corresponding CBF and e) ATT maps with a non-local blood flow decline associated with delayed arterial transit time in the US-exposed hemisphere (AC, anterior commissure). The red arrows shown in (b) and (c) indicate the positioning of the transducer over the right hemisphere of the animal.	7
3	CBF assessment computed over BBBO and contralateral regions in the whole hemisphere ($p = 0.01$; paired t-test) and cortex ($p = 0.008$; paired t-test), respectively for the Experiment 1 ($n=5$).	8
4	ASL signal evolution according to the post labeling delay for the BBBO region and the contralateral region for a typical subject. The filled circles and triangles are the acquired data while the dashed lines represent the corresponding model fit.	8
5	Coronal slices CBF maps depicts blood flow evolution during the Experiment 2 for one rat, measured before and several times following BBB opening procedure. Altered CBF is clearly visible: a first phase of CBF decrease is followed by a progressive recovery with an estimated recovery in the 50 minutes following sonication.	10
6	Temporal normalized CBF profiles for the BBBO regions (orange curve), and complementary regions (blue curve), a) in the whole BBBO region and b) cortical BBBO region. The complementary refers to the rest of the hemisphere where BBBO has not been proven. The solid line is the mean over $n = 5$ rats and the shaded regions depict the standard error of the mean.	11
7	Obtained perfusion maps from DSC-MRI for one typical subject compared to a) pCASL-CBF map; b) DSC-rCBF map, c) DSC-rCBV map and d) DSC-rMTT map. e) BBBO impact on DSC-MRI time course during the first pass of Gado-Dota bolus (blue curve) compared to DSC-MRI time course in the unexposed hemisphere (orange curve) [53].	11
8	Evaluation of CBF obtained by ASL and DSC-MRI at 50 minutes following MB+US. a) pCASL-CBF significantly lower in BBBO regions ($p = 0.03$; paired t-test). b) DSC-rCBF also significantly lower in BBBO regions ($p = 0.004$; paired t-test). c) pCASL-CBF versus DSC-rCBF scatter-plot for the $n = 5$ animals of the Experiment 2.	11

- 9 Hypoperfusion spreading through the cortex. a) Representative scheme of the method used to study the propagation of hypoperfusion through the cerebral cortex: for a given center in spherical coordinates (r, θ) , cortex voxels were averaged with an angular binning of 0.5° . 0° corresponds to the dorsal part of the cortex, and the angular rotation is clockwise. b) Obtained map of the cortical spreading hypoperfusion through time. The $\Delta T_1 = (T_{1,\text{pre-Gado}} - T_{1,\text{post-Gado}})$ change according to the angle allows to localize the impact of the ultrasound (higher impact corresponds to the maximum value of ΔT_1). Black arrows on the CBF maps describe the visible progression of hypoperfusion through the cortex. c) Level curves plotted for several ASL signal values as a function of time (pCASL scans). The shaded area indicates the slope considered to calculate the mean propagation velocity of the wave at 0.03 between 7 minutes to 12 minutes following BBBO procedure. 12
- 10 Preliminary experiment results: a) Computed tissue T_1 maps following Gadolinium injection. Coronal images are shown for different acoustic pressure levels used for BBB opening in the right hemisphere of rat brain. b) Resulting tissue T_1 difference between the BBBO region and its symmetric for the applied acoustic pressure levels. ($\Delta T_1 = T_{1,\text{no-BBBO}} - T_{1,\text{BBBO}}$). 15

4.2 Synthèse

Cette étude examine l'effet de l'ouverture de la BHE (barrière hémato-encéphalique) sur les estimations du débit sanguin cérébral par ASL. L'ouverture de la BHE a été réalisée en utilisant des ultrasons pulsés combinés à l'injection intraveineuse de microbulles. Cette méthode a été validée dans des études précédentes [10] et est reconnue pour préserver les tissus de dommages irréversibles [109]. Une étude préliminaire, dans laquelle différentes valeurs de pression acoustique ont été testées, nous a permis d'identifier un seuil minimal permettant l'ouverture de la BHE dans le cadre de nos conditions expérimentales et avec les outils à notre disposition.

L'étude a révélé une hypoperfusion transitoire non locale constatée après ouverture de la BHE par ultrasons combinée à l'injection intraveineuse de microbulles, et identifiée à partir des séquences pCASL et DSC. Cette dernière a été réalisée avec une injection intraveineuse de Gadolinium. De plus, les résultats obtenus sont en accord avec les études précédentes qui ont montré une diminution de la réponse vasculaire et neurovasculaire dans la région soniquée [128, 127]. L'analyse spatio-temporelle des cartes de CBF suggère un phénomène qui s'apparente à une dépression corticale envahissante, résultant du stress mécanique induit par l'expansion des microbulles lors de la sonication.

L'analyse des acquisitions T_2 , T_1 et ADC, réalisée dans le cadre de cette étude, n'a pas révélé d'hyper- ou hypointensité visible au niveau des régions exposées aux US, ce qui signifie qu'aucun œdème ou micro-hémorragie détectable par ces acquisitions n'a été causé par la procédure. Cependant, il est fondamental d'étudier l'effet de la BBBO sur la perfusion cérébrale, car de nombreuses recherches ont recours à cette procédure pour faciliter l'administration de médicaments à des régions spécifiques du cerveau [23]. Par conséquent, une diminution du CBF peut avoir un impact négatif sur les résultats en limitant le transport de ces molécules.

D'un point de vue méthodologique, nous avons pu mettre en avant lors de cette étude, la fiabilité de la mesure de la perfusion cérébrale par la séquence pCASL en présence d'une BHE endommagée en comparaison avec la séquence DSC basée sur le suivi du premier passage de l'agent de contraste paramagnétique. En effet, cette dernière est basée sur la compartimentation de l'agent de contraste dans les capillaires, ce qui entraîne des différences locales de susceptibilité au sein du voxel d'imagerie et influe sur le signal pondéré T_2^* . Parallèlement, le signal ASL est très faiblement affecté par l'ouverture de la BHE. Cela est dû à la différence relativement faible entre les temps de relaxation T_1 du sang et du tissu par rapport au taux d'échange à travers la BHE [40]. Il est donc difficile de distinguer les contributions du marquage intravasculaire et extravasculaire au signal ASL total, même en cas de perméabilité augmentée de la BHE.

Chapitre 5

Effet de l'hypothermie sur le débit cérébral sanguin

Cette étude a été réalisée dans le cadre de la préparation de mesures de la consommation métabolique cérébrale en oxygène par IRM chez la souris. Tout d'abord, nous avons souhaité identifier la variabilité interindividuelle du débit sanguin cérébral à une température donnée. Puis, évaluer la sensibilité de cette mesure aux variations de la température corporelle de l'animal.

5.1 Introduction

L'objectif principal de cette étude est d'étudier la fiabilité et la reproductibilité de la mesure de perfusion cérébrale réalisée à partir de la séquence pCASL. En effet, le débit sanguin cérébral étant un paramètre particulièrement régulé, il est important de caractériser les facteurs confondants de la méthode afin de déterminer ses limites pour l'investigation des variations physiologiques de la perfusion cérébrale. Dans cette étude, nous avons évalué l'effet de la température sur le CBF estimé par pCASL. Ce paramètre, qui peut connaître une variabilité importante chez les animaux anesthésiés, n'est pas systématiquement relevé au cours des acquisitions par IRM, durant lesquelles l'animal est placé dans une cellule thermorégulée à une température de consigne. Un grand nombre d'études ont été menées pour étudier l'effet de l'hypothermie sur le métabolisme cérébral, et en particulier sur la consommation métabolique d' O_2 . Des recherches antérieures suggèrent un effet protecteur de l'hypothermie (modérée) qui limite les dommages cellulaires secondaires en cas d'ischémie et de traumatisme crânien grave [63, 22].

Dans le cadre de cette étude, les acquisitions pCASL ont été réalisées pendant le refroidissement progressif de l'animal. La baisse de température corporelle est consécutive à une diminution de la température nominale du lit. L'animal anesthésié ayant perdu une partie de sa capacité d'autorégulation thermique, sa température diminue progressivement par échange thermique avec les composants de la cellule d'imagerie, qui est, à son tour, en échange avec l'air ambiant de la pièce (à 21°C).

Avant de détailler le protocole et les résultats liés à cette étude, il est important de souligner que nous avons mesuré uniquement la température rectale de l'animal. L'utilisation de la séquence

pCASL, en particulier à haut champ, induit un dépôt d'énergie important au niveau du volume exposé en raison de la longue impulsion RF de marquage qui permet l'inversion des spins au niveau des entrées artérielles. Par conséquent, un dépôt d'énergie plus élevé au niveau du cerveau par rapport au reste du corps risque d'induire des différences importantes entre la température cérébrale et la température rectale. Ainsi, une précédente étude chez le rat [57], a mis en évidence des différences entre les températures rectales et cérébrales durant les acquisitions pCASL, avec un gradient qui augmente en fonction de l'intensité du champ B_1 et le nombre de répétitions influençant la durée totale de la séquence. Chez la souris, de part sa petite taille (10 fois plus faible que celle du rat), l'antenne volumique utilisée (72mm de diamètre intérieur) conduit à un dépôt d'énergie sur l'ensemble du corps. Ainsi, une augmentation de la température cérébrale sera associée à une augmentation de la température corporelle de l'animal. Afin de prendre le plus de précautions possibles, nous avons imposé un délai d'arrêt de 5 minutes entre les différentes acquisitions réalisées. Ceci pour éviter l'accumulation du dépôt d'énergie, au niveau du tissu, au cours du temps et de limiter un potentiel gradient de température entre le cerveau et le rectum.

5.2 Matériels et Méthodes

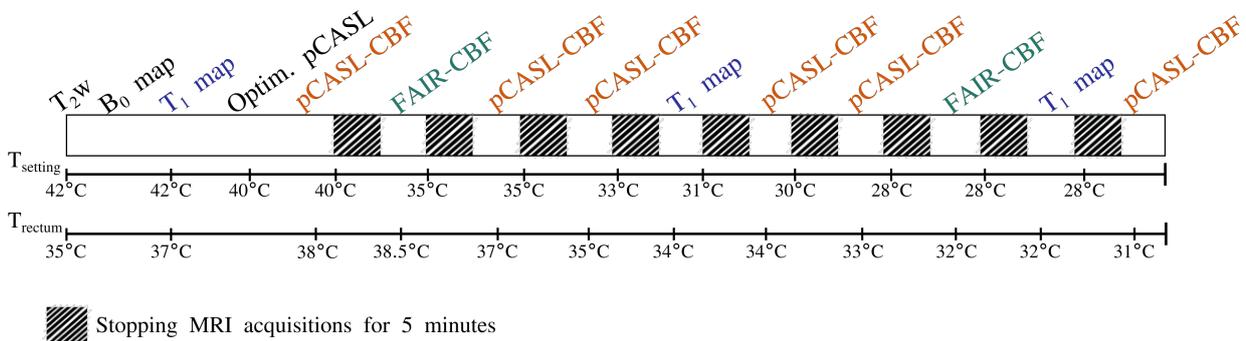


FIGURE 5.1 – Diagramme chronologique de l'expérience avec les acquisitions IRMs réalisées pendant le refroidissement progressif de l'animal.

- **Animaux** : l'étude a été réalisée sur 14 souris (6 femelles et 8 mâles (C57BL/6J (Invigo, France), âgées de 14 semaines pour les mâles, et 20 semaines pour les femelles et un poids de 28 ± 5 g). Une sonde rectale a été posée au début de l'expérience chez tous les sujets de l'étude afin d'évaluer les variations de température corporelle des animaux. À l'IRM, l'anesthésie a été induite par inhalation du mélange Isoflurane/Air à 4% puis maintenue avec un mélange gazeux composé de 1.5% d'isoflurane combiné soit avec un flux d'air (i.e. 21% O_2) soit avec un flux de dioxygène pur. La cellule d'imagerie est thermorégulée grâce à un flux d'air chauffé à la température de consigne ($T_{setting}$) qui circule dans le lit supportant l'animal. Tout d'abord, l'animal a été chauffé à ($T_{setting} = 42^\circ C$) jusqu'à ce qu'il atteigne une température corporelle stable située entre 37.5 et 38.5°C. La température de

consigne est ensuite progressivement réduite jusqu'à 30°C si la respiration de l'animal au cours des acquisitions le permet.

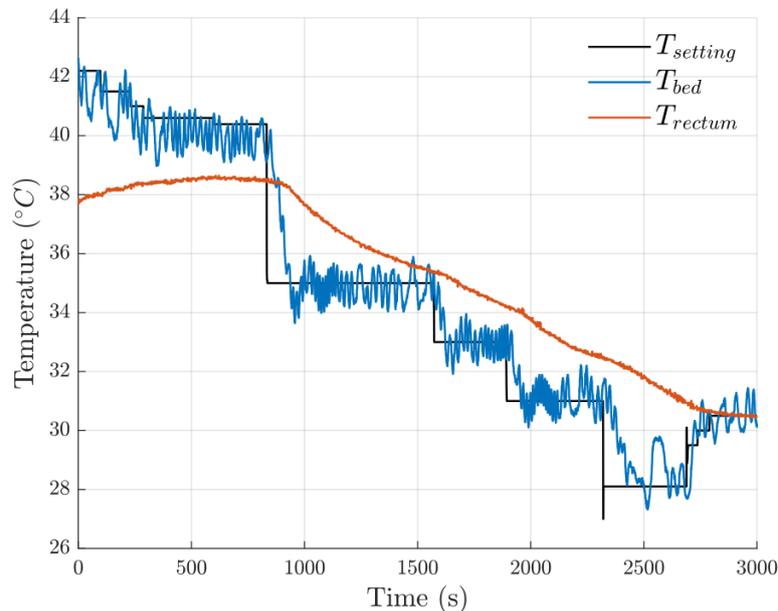


FIGURE 5.2 – Évolution de la température corporelle (T_{rectum}) au cours de l'expérience pour un sujet, T_{bed} étant la température effective du lit et $T_{setting}$ la température de consigne.

Quel que soit le stade d'avancement de l'expérience, les acquisitions ont été systématiquement interrompues si la respiration de l'animal descendait en dessous du seuil de 20 cycles par minute. Pour cette raison, un animal a été exclu de l'étude. Sur les 13 animaux restants, 7 acquisitions ont été réalisées sous O_2 (4 mâles et 3 femelles) et 6 ont été réalisées sous air (3 mâles et 3 femelles).

- *IRM* : des images anatomiques en pondération T_2w du cerveau de la souris ont été obtenues avec la séquence T2 Turbo-RARE avec un TE et un TR respectivement de 33ms et 2500ms, un facteur RARE à 8, 4 moyennages, des coupes coronales avec une résolution spatiale de $0.062 \times 0.062 \times 0.800 \text{ mm}^3$ pour une matrice de $256 \times 256 \times 11$ voxels. Le temps d'acquisition est de 5 min 20 sec.

La perfusion cérébrale a été mesurée à différentes températures corporelles de l'animal à l'aide de la séquence *unbalanced* pCASL en EPI à 2 dimensions (TE/TR = 16ms/4000ms et BW = 300 kHz). Les paramètres liés à l'impulsion de marquage sont identiques à ceux utilisés chez le rat (OPT/PRT = $400\mu\text{s}/800\mu\text{s}$, $B_1 = 3.5\mu\text{T}$ et $G_{max}/G_{mean} = 45/5\text{mT}/\text{m}$). Les temps de marquage et de post-marquage ont été fixés respectivement à 3 secs et 300 ms. La résolution spatiale choisie est de $0.174 \times 0.174 \times 1$ pour des matrices de $92 \times 92 \times 7$ voxels. Chaque acquisition pCASL comporte 30 répétitions. Le temps d'acquisition est de 4 min. La séquence FcFlash pCASL a été acquise afin de mesurer l'efficacité d'inversion associée au marquage de la séquence pCASL. Les paramètres suivants ont été considérés :

TE/TR = 6ms/262ms, LT = 250ms, matrice de 256x256 avec une résolution spatiale de $0.062 \times 0.062 \times 1 \text{ mm}^3$. La coupe de marquage a été positionnée à environ 10 mm du volume d'imagerie et le temps total d'acquisition est de 4 min 28 sec.

La quantification de la perfusion cérébrale a également été réalisée avec la méthode PASL-FAIR (Flow-sensitive alternating inversion recovery) combinée à un module de lecture en EPI dont les paramètres sont similaires à ceux de la séquence pCASL. La taille de matrice ainsi que la résolution spatiale sont également identiques, avec une acquisition sur une coupe unique à cause des limitations techniques de la méthode. Seize IR distribuées entre 35ms et 2000ms et un TR de 12sec. Temps d'acquisition : 5 min 37 sec.

Les mesures du temps de relaxation longitudinale T_1 du tissu cérébral ont été obtenues par la séquence FAIR-EPI en 2D (IR non-sélective). Les paramètres du module EPI sont similaires à ceux de la séquence pCASL. Temps d'acquisition : 5 min 40 sec.

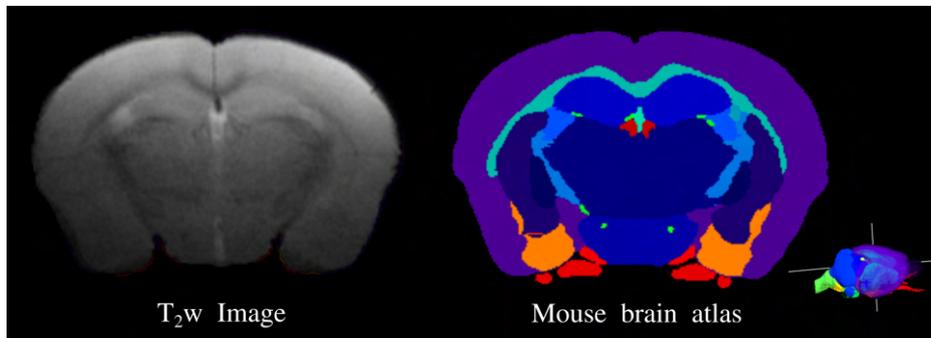


FIGURE 5.3 – Coupe coronale T_2w d'un cerveau sain de souris et de la section correspondante dans l'atlas souris de Waxholm [64].

- *Traitement des données :*

Nous avons tout d'abord procédé à un recalage rigide entre les cartes de T_1 et CBF avec l'imagerie anatomique T_2w . Le cerveau a été dans un premier temps masqué sur toutes les acquisitions. Le recalage (par l'algorithme *Normalized mutual information* de SPM) a permis d'aligner les acquisitions EPI avec l'image T_2w et de corriger tout mouvement éventuel de l'animal pendant l'expérience. Nous avons ensuite appliqué la coregistration pour superposer les images anatomiques T_2w de chaque animal à un atlas du cerveau de la souris et obtenir ainsi un marquage anatomique des structures cérébrales. La transformation appliquée l'a été également pour tout le reste des acquisitions pour une même session.

Les cartes de perfusion (CBF) ont été obtenues en suivant le protocole décrit dans le Chapitre 3 en considérant un modèle à compartiment unique [19] et un temps de transit artériel (ATT) de 300ms. Rappelons que pour une acquisition avec la séquence pCASL, le CBF est établi par l'équation :

$$CBF = \frac{\lambda \Delta M \cdot e^{PLD/T_{1,b}}}{2\alpha M_0 T_{1,app} (1 - e^{-\tau/T_{1,app}})}, \quad (5.1)$$

où α est l'efficacité d'inversion, λ le coefficient de partition tissu/sang en eau ($0.9ml/g$ [54]), $T_{1,b}$ le temps de relaxation longitudinale du sang (égal à $2230ms$ à $7T$ [43]), τ le temps de marquage (LT) et $T_{1,app}$ le T_1 apparent du tissu.

L'efficacité d'inversion a été fixée à 87% pour tous les animaux de l'étude. L'acquisition Fc-Flash pCASL n'a pas pu être exploitée en raison du faible rapport signal/bruit des mesures. L'antenne boucle simple de $5mm$ utilisée ne permet pas d'atteindre un RSB suffisant au niveau des entrées artérielles avec les conditions d'acquisitions utilisées.

En premier lieu, le temps de relaxation longitudinale du tissu T_1 a été arbitrairement fixé à $1600ms$ pour tout le volume et ce, quelle que soit la température corporelle de l'animal. Ces valeurs seront par la suite corrigées pour tenir compte des variations des temps de relaxation T_1 du tissu et du sang en condition d'hypothermie.

Pour étudier la variation du CBF en fonction de la température rectale de l'animal, nous avons effectué un ajustement linéaire par la méthode des moindres carrés afin de retrouver les coefficients β et α qui vérifient :

$$CBF(T_{rectum}) = \alpha_{cbf} \cdot T_{rectum} + \beta_{cbf}. \quad (5.2)$$

Sur la base de cette équation, nous avons établi le pourcentage de variation du CBF par $^{\circ}C$ de température corporelle de l'animal. Pour des températures comprises entre $32^{\circ}C$ et $38^{\circ}C$, on obtient :

$$\Delta_{cbf} = \frac{CBF(T_0 + \Delta T) - CBF(T_0)}{CBF(T_0)}, \quad (5.3)$$

avec $\Delta T = 6^{\circ}C$ et $T_0 = 32^{\circ}C$, on trouve :

$$\Delta_{cbf} = \frac{\alpha_{cbf} \Delta T}{\alpha_{cbf} T_0 + \beta_{cbf}}. \quad (5.4)$$

Nous noterons Δ_{cbf}^r , le pourcentage de variation du CBF par $^{\circ}C$ obtenu à partir de l'équation :

$$\Delta_{cbf}^r = \frac{\Delta_{cbf}}{\Delta T} = \frac{\alpha_{cbf}}{\alpha_{cbf} T_0 + \beta_{cbf}}. \quad (5.5)$$

De même, pour les variations du temps de relaxation longitudinale du tissu T_1 , nous avons effectué un ajustement linéaire par la méthode des moindres carrés afin de retrouver les coefficients α et β qui vérifient :

$$T_1(T_{rectum}) = \alpha_{T_1} \cdot T_{rectum} + \beta_{T_1}. \quad (5.6)$$

Grâce à cette approximation, on obtient le pourcentage de variation du T_1 par $^{\circ}C$ avec l'équation :

$$\Delta_{T_1}^r = \frac{\alpha_{T_1}}{\alpha_{T_1} T_0 + \beta_{T_1}}. \quad (5.7)$$

- *Traitement du signal de respiration* : L'analyse décrite dans cette section a été réalisée pour 9 animaux de l'étude. 2 animaux ont été exclus car le rapport signal/bruit du signal respiratoire ne permettait pas de les exploiter. Sur les 7 animaux restants, 3 étaient sous air et 4 sous dioxygène.

Les signaux relatifs à la respiration et la température ont été enregistrés au cours de chaque session afin d'analyser les variations de la fréquence respiratoire de l'animal au cours de la décroissance de sa température corporelle.

La transformée de Fourier (TF) du signal de respiration a été obtenue avec une transformation de Fourier discrète rapide (FFT - *Fast Fourier Transform*) en considérant une fréquence d'échantillonnage de 500 Hz. Cette fréquence a été déduite de la durée de l'acquisition, obtenue à partir de la date de création et de dernière modification du fichier, et le nombre de points qu'il contient. Un spectrogramme a été calculé à partir de ses données, en calculant la TF du signal à différents instants sur une fenêtre glissante de 20s. Un exemple de spectrogramme et de signal de respiration temporel correspondant, pour un animal type, est présenté Figure 5.4. La fréquence principale du signal, qui correspond à celle de la respiration, a été extraite à l'aide d'un algorithme de détection de maximum locaux. Un exemple de l'évolution de la fréquence respiratoire $f_{\text{resp}}(t)$ au cours de la session est présenté Figure 5.5A. Afin d'obtenir la variation de la fréquence respiratoire en fonction de la température corporelle, le signal de la température en fonction du temps (Figure 5.2) a été sous-échantillonné pour avoir la même fréquence que $f_{\text{resp}}(t)$. Le résultat pour un animal type est illustré Figure 5.5B. La pente de la droite qui approche le plus cette évolution a été calculée pour les différents animaux de l'étude.

La fréquence de la pulsation cardiaque est identifiable sur le spectrogramme du signal de respiration mais sa faible amplitude et le bruit présent sur les signaux dans le domaine fréquentiel ne permettent pas de tracer de manière automatique et simple l'évolution de la fréquence cardiaque au cours du temps et en fonction de la température corporelle comme précédemment décrit pour la fréquence respiratoire. Pour y remédier, nous avons relevé manuellement la fréquence cardiaque identifiée sur le spectrogramme (Figure 5.4) pour 3 valeurs de température, situées entre $[37.5-38.5^{\circ}\text{C}]$, $[34.5-35.5^{\circ}\text{C}]$ et $[31-33^{\circ}\text{C}]$.

- *Analyse statistique* : Un test de Wilcoxon non-apparié a été utilisé afin d'étudier les différences qui existent entre les mesures faites sous dioxygène pur et celles effectuées sous air (21% de O_2). La différence entre les valeurs pour chaque structures cérébrales analysées a été considérée significative si la condition $p - \text{value} < 0.05$ est vérifiée.

Afin de décrire la variabilité interindividuelle de l'estimation du CBF par pCASL, nous avons calculé le coefficient de variation (CV) à partir du rapport entre l'écart-type et la moyenne pour chaque région d'intérêt considérée.

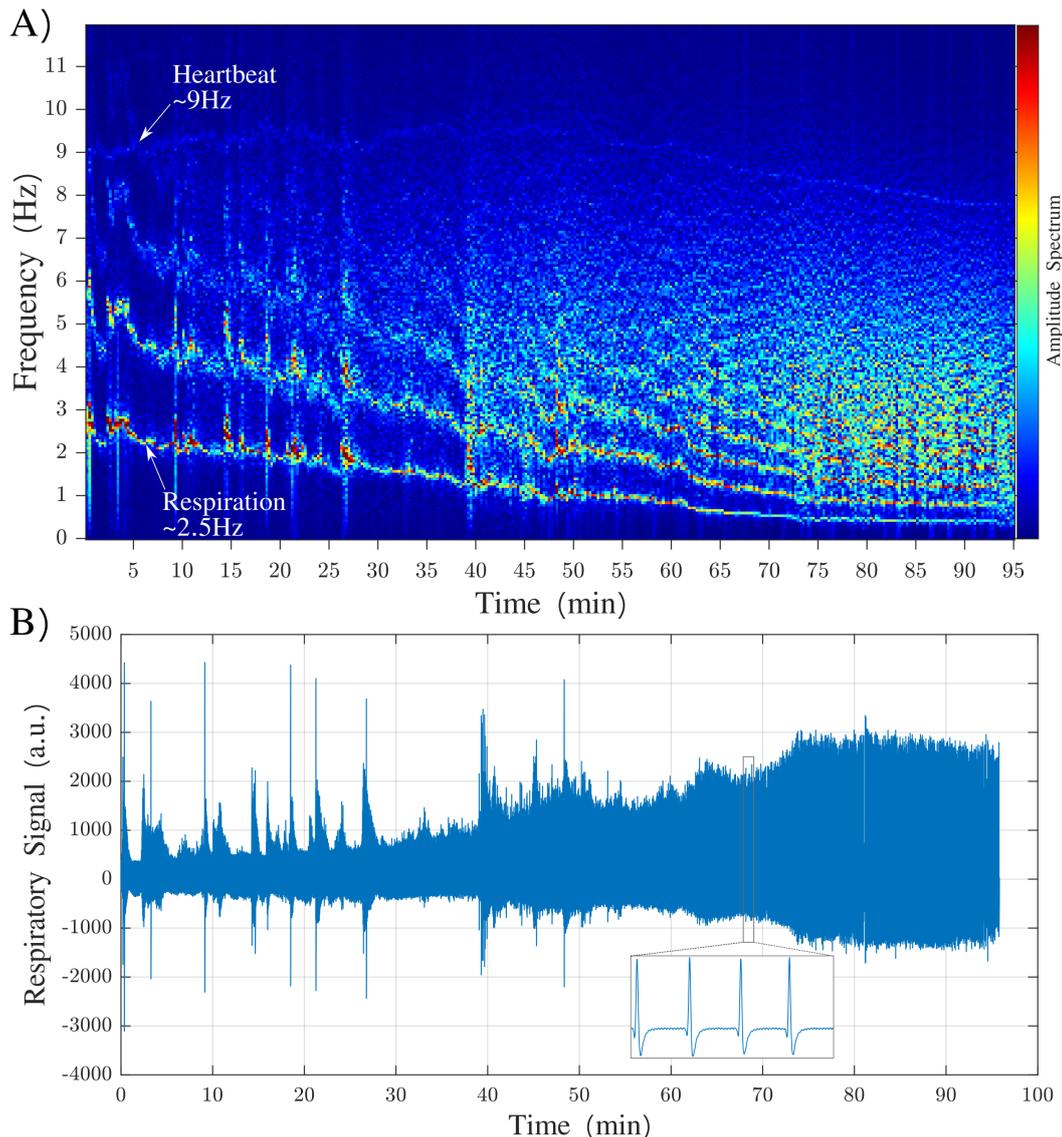


FIGURE 5.4 – A) Spectrogramme du signal de la respiration mesuré au cours de la diminution progressive de la température corporelle pour un animal type. B) Le signal de la respiration en domaine temporel.

5.3 Résultats

Les cartes de CBF obtenues pour un animal type, sous O_2 , sont présentées Figure 5.6. La Figure 5.7 illustre les données recueillies pour les régions du cerveau considérées. Les mesures de perfusion cérébrale au cours de la baisse progressive de la température corporelle de l'animal ont permis de mettre en évidence une baisse importante et linéaire du CBF dans tout le volume cérébral imagé et pour les deux conditions O_2 et air.

Le pourcentage de variation du CBF par $^{\circ}C$, Δ_{cbf}^r , permet de quantifier la décroissance du débit par unité de température pour chaque animal de l'étude. La Figure 5.8 révèle une différence significative de Δ_{cbf}^r entre les conditions O_2 et air auxquelles les animaux ont été exposés.

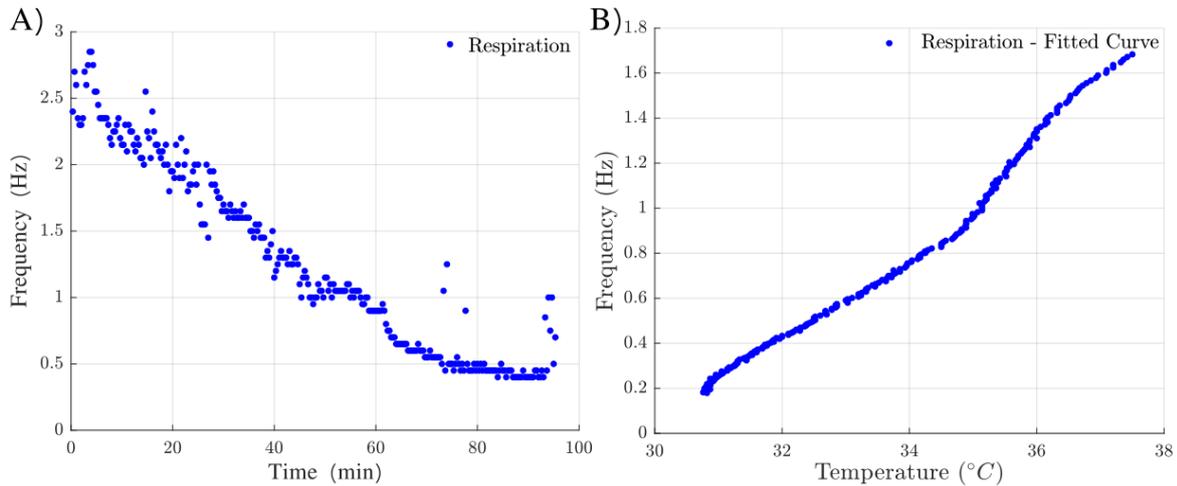


FIGURE 5.5 – A) Évolution de la fréquence respiratoire au cours du temps et B) en fonction de la température corporelle pour un animal type.

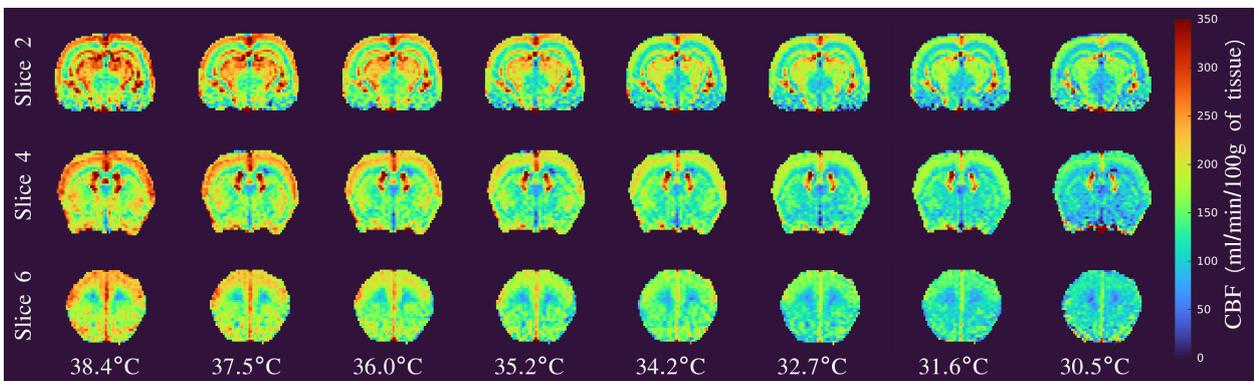


FIGURE 5.6 – Carte de CBF (ml/min/100g de tissu) obtenues par pCASL chez un animal type de l'étude (sous air) durant le refroidissement progressif de l'animal.

Les mesures du temps de relaxation longitudinale permettent de constater une diminution linéaire du T_1 du tissu cérébral en fonction de la température. Le tableau 5.1 présente les coefficients de corrélation entre le T_1 du tissu et la température corporelle pour lesquelles tous les échantillons des animaux de l'étude ont été regroupés. Le coefficient de corrélation ρ atteint des valeurs élevées en particulier pour les animaux sous O_2 . Par ailleurs, la Figure 5.9 illustre des profils différents pour les conditions O_2 et air. En effet, on observe une diminution plus rapide du T_1 du tissu lors de la diminution de la température T_{rectum} pour les souris ayant respiré de l' O_2 au cours de l'expérience par rapport aux souris ayant respiré de l'air.

Sur la base des résultats précédents et en accord avec la littérature, nous avons fait l'hypothèse que le temps de relaxation T_1 du tissu varie linéairement avec la température corporelle de l'animal. Sur cette base, nous avons pu déterminer les temps de relaxation correspondant à la température de l'animal pour chacune des acquisitions pCASL. De plus, nous avons tenu compte de la variation du temps de relaxation $T_{1,b}$ du sang artériel en fonction de la température. La mesure *in-vivo* du $T_{1,b}$ étant difficile, nous nous sommes appuyés sur les résultats d'une étude réalisée à 7T qui

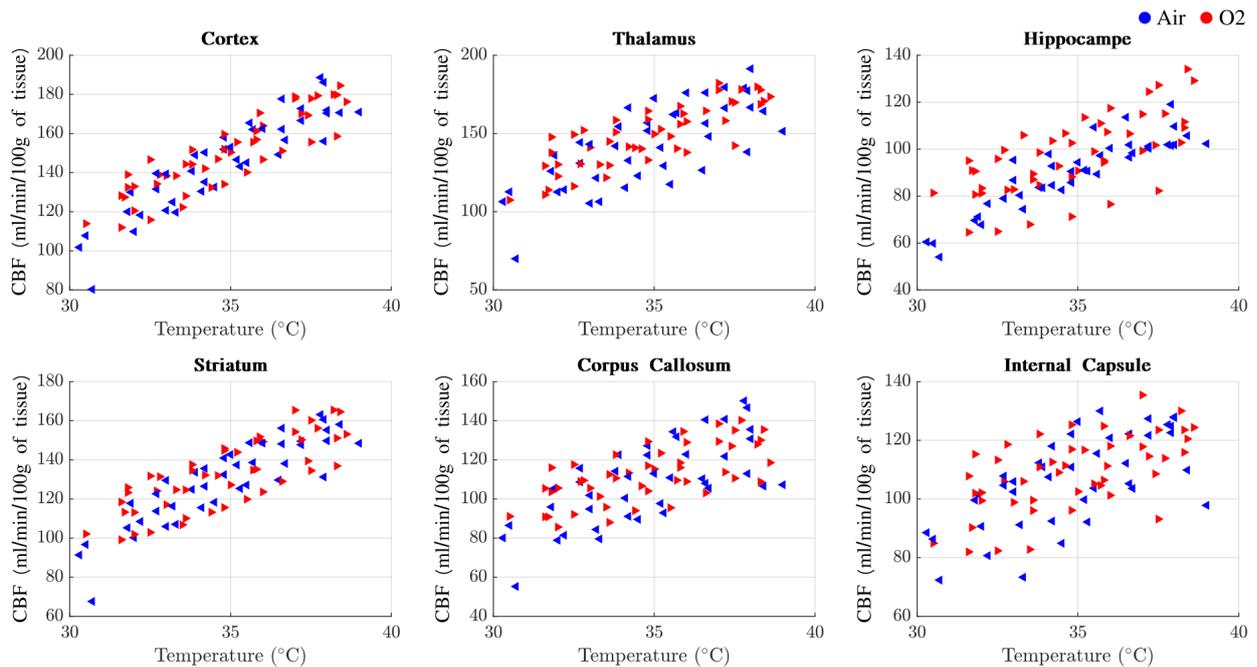


FIGURE 5.7 – Débit sanguin cérébral mesuré par la séquence pCASL durant le refroidissement progressif de l'animal pour différentes structures cérébrales. Les mesures présentées concernent les acquisitions effectuées sous air ($n = 6$) et sous oxygène pur ($n = 7$).

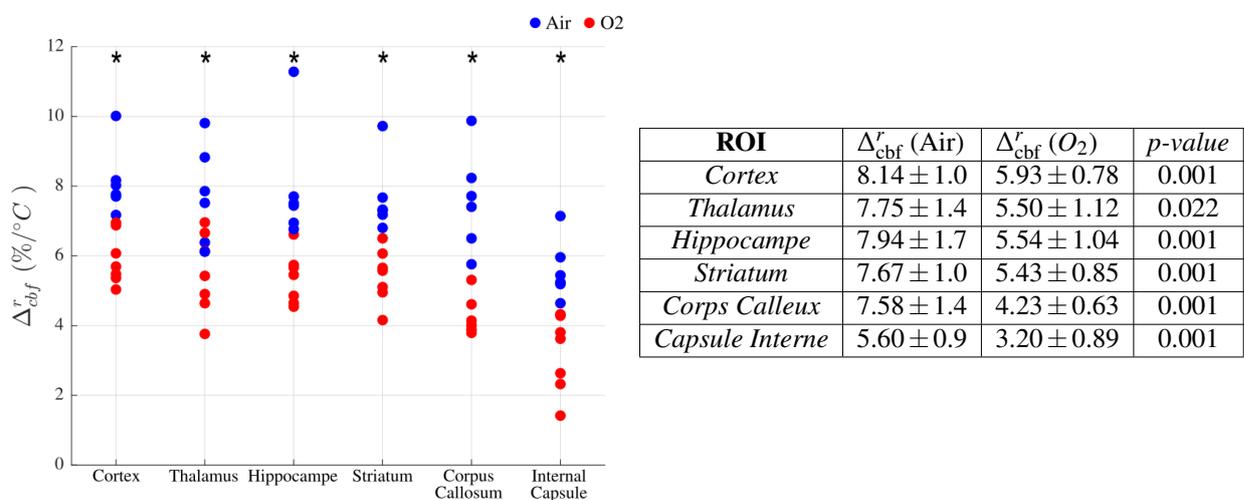


FIGURE 5.8 – Pourcentage de variation de la perfusion cérébrale en fonction des conditions expérimentales (*Air* ou O_2) obtenu pour chaque sujet de l'étude (sans tenir compte des variations de T_1).

rapporte les valeurs de T_1 obtenues sur des échantillons de sang veineux humain où de l'oxygène pur a été insufflé pour obtenir du sang artériel [113]. L'expression $T_{1,b}(T) = 37.4 \cdot T + 899.5$ [113] a été utilisée pour les acquisitions effectuées sous air et sous oxygène. Les mesures précédemment présentées (Figure 5.7) ont ainsi été corrigées afin de tenir compte des variations des temps de relaxation longitudinale du tissu et du sang artériel. Le pourcentage de variation du CBF par $^{\circ}C$,

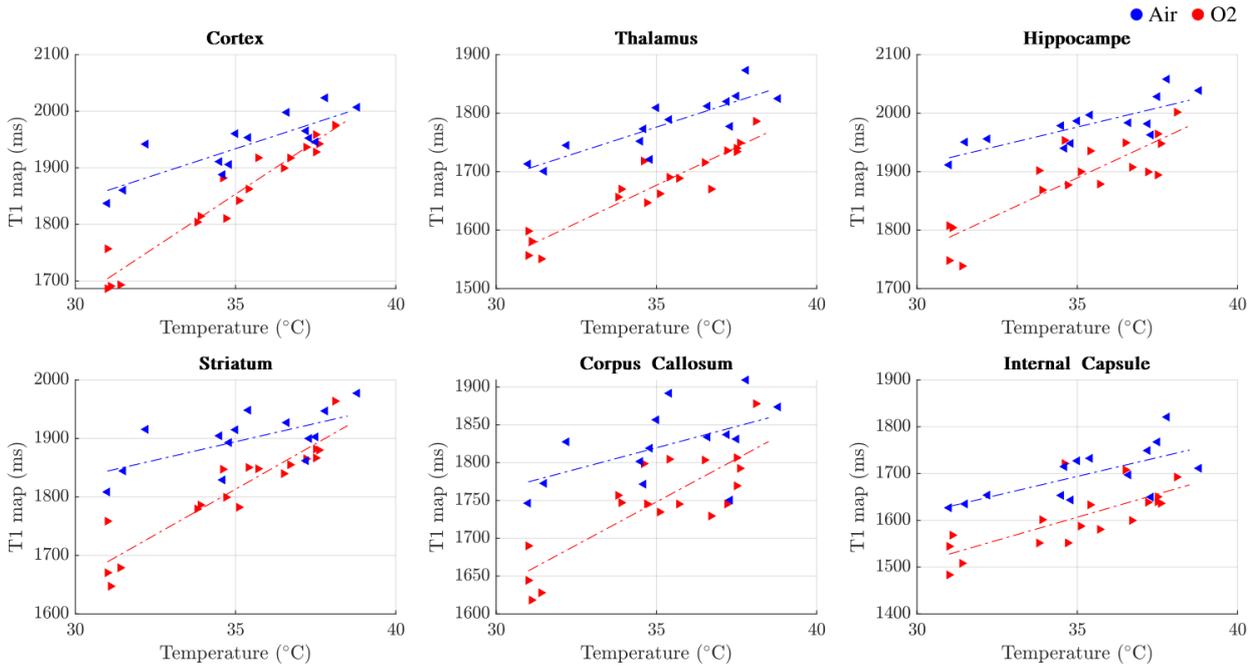


FIGURE 5.9 – Temps de relaxation longitudinale du tissu cérébral en fonction de la température corporelle de l’animal pour différentes structures cérébrales et pour des mesures réalisées sous air (n = 6) ou sous oxygène pur (n = 7).

Δ_{cbf}^r , après correction, pour les différents animaux de l’étude est présentée Figure 5.10. Nous observons que les mesures Δ_{cbf}^r sont plus faibles pour les deux conditions, air et oxygène, ce qui est cohérent avec une sous-estimation du CBF pour les basses températures résultant d’une surestimation des temps de relaxation T_1 du tissu et du sang. Par ailleurs, malgré les corrections apportées, des différences significatives subsistent entre les acquisitions réalisées sous air et sous oxygène (Figure 5.10).

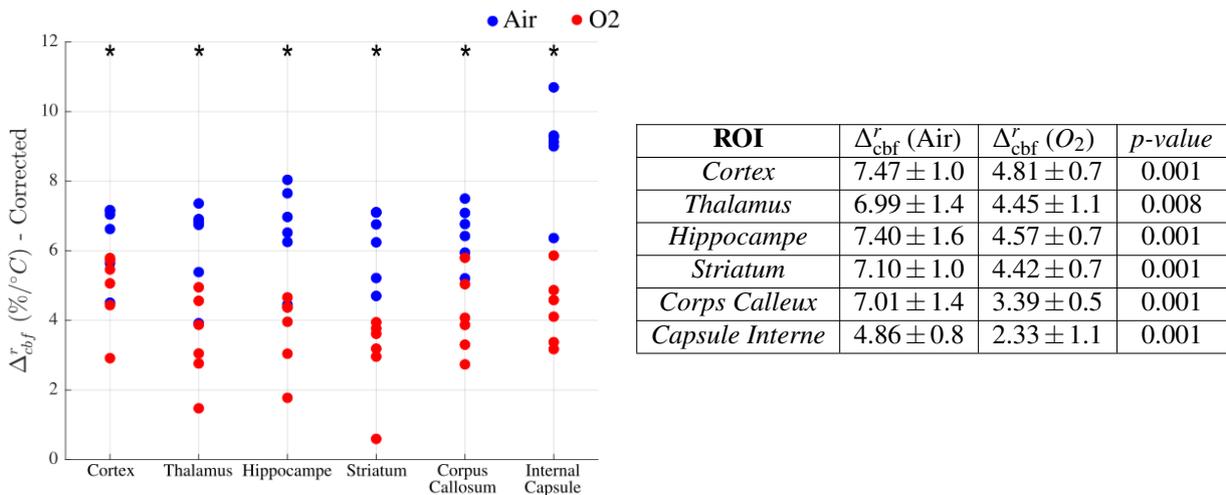


FIGURE 5.10 – Pourcentage de variation de la perfusion cérébrale en fonction des conditions expérimentales (air ou O₂) obtenu pour chaque sujet de l’étude (En tenant compte des variations de T_1 du tissu et du sang artériel).

ROI	Air				O ₂			
	α_{T_1}	β_{T_1}	$\Delta_{T_1}^r$	($\rho, p - value$)	α_{T_1}	β_{T_1}	$\Delta_{T_1}^r$	($\rho, p - value$)
<i>Cortex</i>	18.47	1287.45	0.98	(0.83, $2 \cdot 10^{-4}$)	37.42	543.92	2.15	(0.97, $\leq 10^{-6}$)
<i>Thalamus</i>	17.70	1156.41	1.03	(0.85, $1 \cdot 10^{-4}$)	25.97	768.00	1.62	(0.94, $\leq 10^{-6}$)
<i>Hippocampe</i>	13.12	1516.91	0.68	(0.79, $8 \cdot 10^{-4}$)	25.43	999.27	1.40	(0.86, $4 \cdot 10^{-6}$)
<i>Striatum</i>	12.56	1454.63	0.68	(0.64, 0.014)	31.08	725.31	1.81	(0.93, $\leq 10^{-6}$)
<i>Corps Calleux</i>	11.29	1424.53	0.63	(0.54, 0.045)	22.78	950.04	1.36	(0.83, $2 \cdot 10^{-6}$)
<i>Capsule Interne</i>	16.09	1130.59	0.98	(0.68, 0.008)	19.74	915.76	1.28	(0.74, $5 \cdot 10^{-4}$)

TABLE 5.1 – Résultats de l’ajustement linéaire des mesures du temps de relaxation longitudinale du tissu T_1 en fonction de la température rectale de l’animal. β (en ms) représente le taux de variation du T_1 en fonction de la température et α (en ms°C) l’ordonnée à l’origine.

En admettant une variation linéaire du CBF en fonction de la température corporelle de l’animal, nous avons calculé par interpolation linéaire les valeurs de débit pour chaque animal de l’étude à exactement $T = 37^\circ\text{C}$. Les résultats sont présentés Figure 5.11. Ces derniers ne montrent aucune différence significative dans l’estimation de la perfusion entre les animaux ayant respiré de l’air pendant l’acquisition et ceux ayant respiré de l’oxygène pur ($p - value > 0.37$).

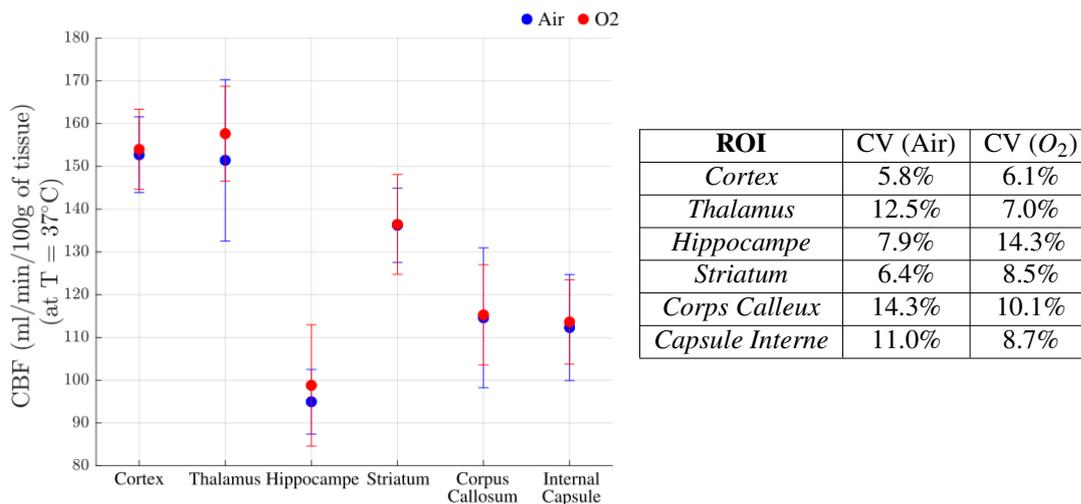


FIGURE 5.11 – Mesure du débit cérébral sanguin par pCASL chez la souris en condition de normothermie (37°C) et les valeurs des coefficients de variation (CV) associées.

Les mesures de perfusion obtenues à partir de la séquence FAIR-PASL sont en accord avec les résultats précédents (Figure 5.12), avec une différence persistante entre les mesures effectuées à l’O₂ et celles effectuées à l’air.

Le suivi de la fréquence respiratoire permet de constater une diminution importante de la fréquence respiratoire au cours du refroidissement de l’animal. En effet, pour un animal type, la fréquence respiratoire passe de 2.5 Hz à 38°C (150 cycles/minutes) à 0.4Hz à 32°C (24 cycles/minutes).

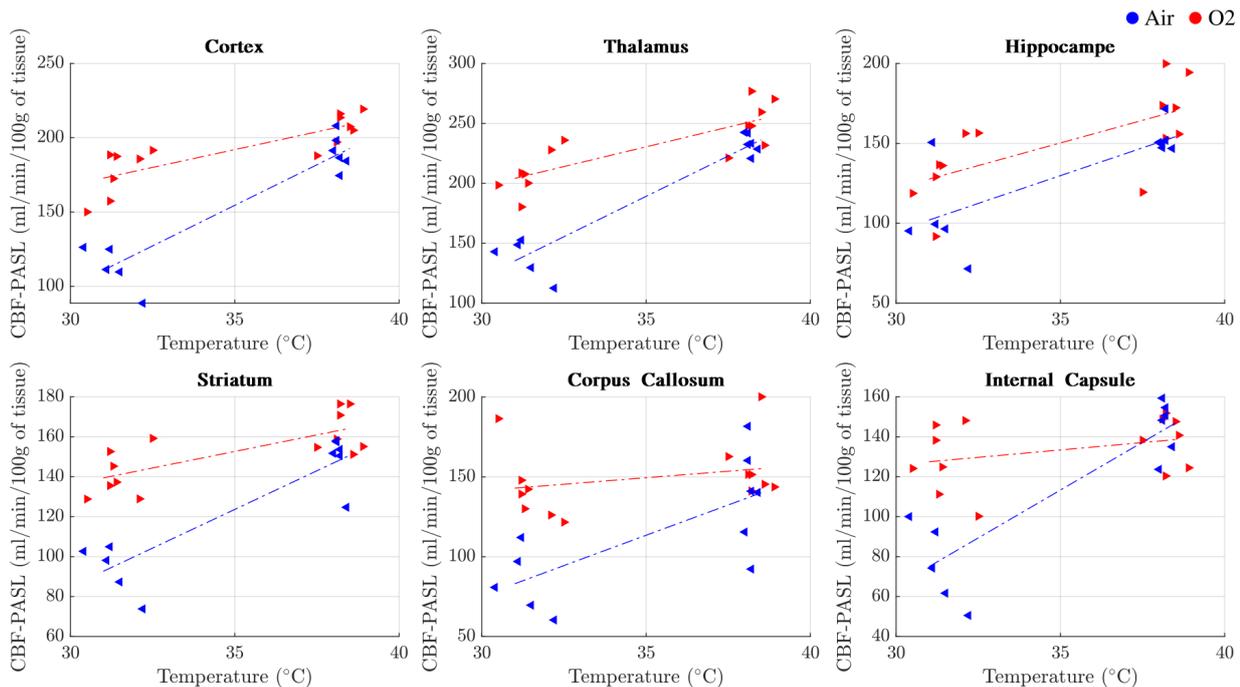


FIGURE 5.12 – Débit sanguin cérébral mesuré par la séquence PASL-FAIR en conditions de normothermie et d'hypothermie modérée pour différentes structures cérébrales. Les mesures présentées concernent les acquisitions effectuées sous air ($n=7$) et sous oxygène pur ($n=7$).

Cependant, nous avons constaté une variabilité importante au niveau de la pente mesurée et nous n'avons pas pu mettre en évidence de différence significative entre les pentes de l'évolution de $f_{respi}(T_{rectum})$ chez les animaux sous oxygène pur ($0.19 \pm 0.03 \text{ Hz}/^\circ\text{C}$) et ceux sous air ($0.23 \pm 0.05 \text{ Hz}/^\circ\text{C}$) (Wilcoxon non-apparié, p -value = 0.62).

Par ailleurs, le suivi de la fréquence cardiaque extraite à partir de la transformée de Fourier du signal de respiration permet de mettre en évidence une différence nette et visible entre les conditions expérimentales O_2 /Air. La Figure 5.13 permet de constater que la fréquence cardiaque décroît plus rapidement chez les souris anesthésiées avec un mélange isoflurane/air (Air : $0.51 \pm 0.08 \text{ Hz}/^\circ\text{C}$ et O_2 : $0.22 \pm 0.02 \text{ Hz}/^\circ\text{C}$, p -value = 0.05).

Finalement, les valeurs de débit sanguin cérébral (CBF) obtenues chez les souris mâles et femelles à 37°C ont été comparées. Une première analyse en comparant les deux sexes pour les deux conditions expérimentales séparément n'a pas révélé de différence significative, bien qu'une tendance soit visible au niveau de la Figure 5.14-A. L'absence de significativité peut être attribuée à la taille de l'échantillon (sous normoxie : 3 mâles et 3 femelles et sous hyperoxie : 4 mâles et 3 femelles). En se basant sur l'absence de différence entre les quantifications de CBF à 37°C entre les deux conditions d'oxygénation (Figure 5.11), une deuxième analyse a été effectuée, cette fois en regroupant les résultats des souris mâles et femelles (Figure 5.14-B). Les résultats montrent une différence significative entre les sexes, avec un débit sanguin cérébral plus élevé chez les souris mâles pour cinq des structures étudiées (cortex, thalamus, striatum, corps calleux et au niveau de

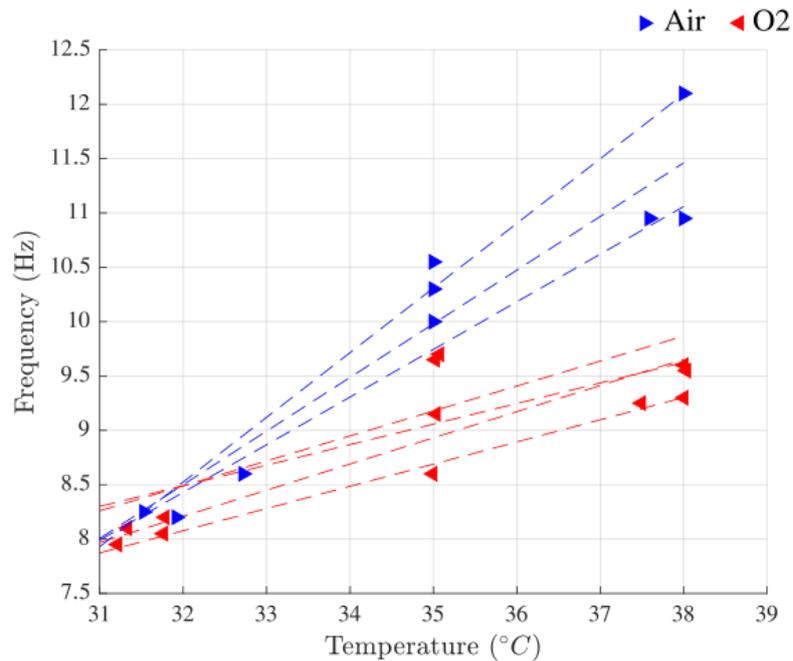


FIGURE 5.13 – Variation de la fréquence cardiaque des animaux en fonction de la température corporelle selon le gaz respiré durant l’expérience ; oxygène pur ($n = 4$) ou air ($n = 3$).

la capsule interne). Les mesures de CBF réalisées au niveau de l’hippocampe ne vérifient pas ce résultat.

5.4 Discussion

Le présent travail décrit l’effet de l’hypothermie sur le débit sanguin cérébral dans deux conditions respiratoires distinctes, à savoir la normoxie (air) et l’hyperoxie, évalué *in-vivo* par ASL chez la souris.

Une analyse préliminaire des estimations du CBF par pCASL, sans tenir compte des variations du T_1 tissulaire et artériel, a montré une différence significative entre le pourcentage de perte de perfusion en normoxie et en hyperoxie. Cette différence demeure significative même après avoir pris en compte les variations des temps de relaxation longitudinale en fonction de la température de l’animal.

En condition de normoxie, nous avons obtenu des valeurs de Δ_{cbf}^r en moyenne de $7.47 \pm 1\%/^{\circ}C$, mesurées au niveau du cortex ($n=6$) cohérentes avec la littérature [63, 49, 12], comme pour l’évolution du T_1 au niveau du tissu en fonction de la température corporelle de l’animal [97, 13]. En effet, nous avons constaté une relation linéaire entre le T_1 du tissu et la température sur la gamme de températures étudiées [30-38°C]. Notons que les études ayant porté sur la corrélation entre le T_1 et la température ont essentiellement été effectuées *in-vitro* post-mortem. Notre étude *in-vivo* ici illustre des différences importantes entre les profils d’évolution du $T_1(T_{rectum})$

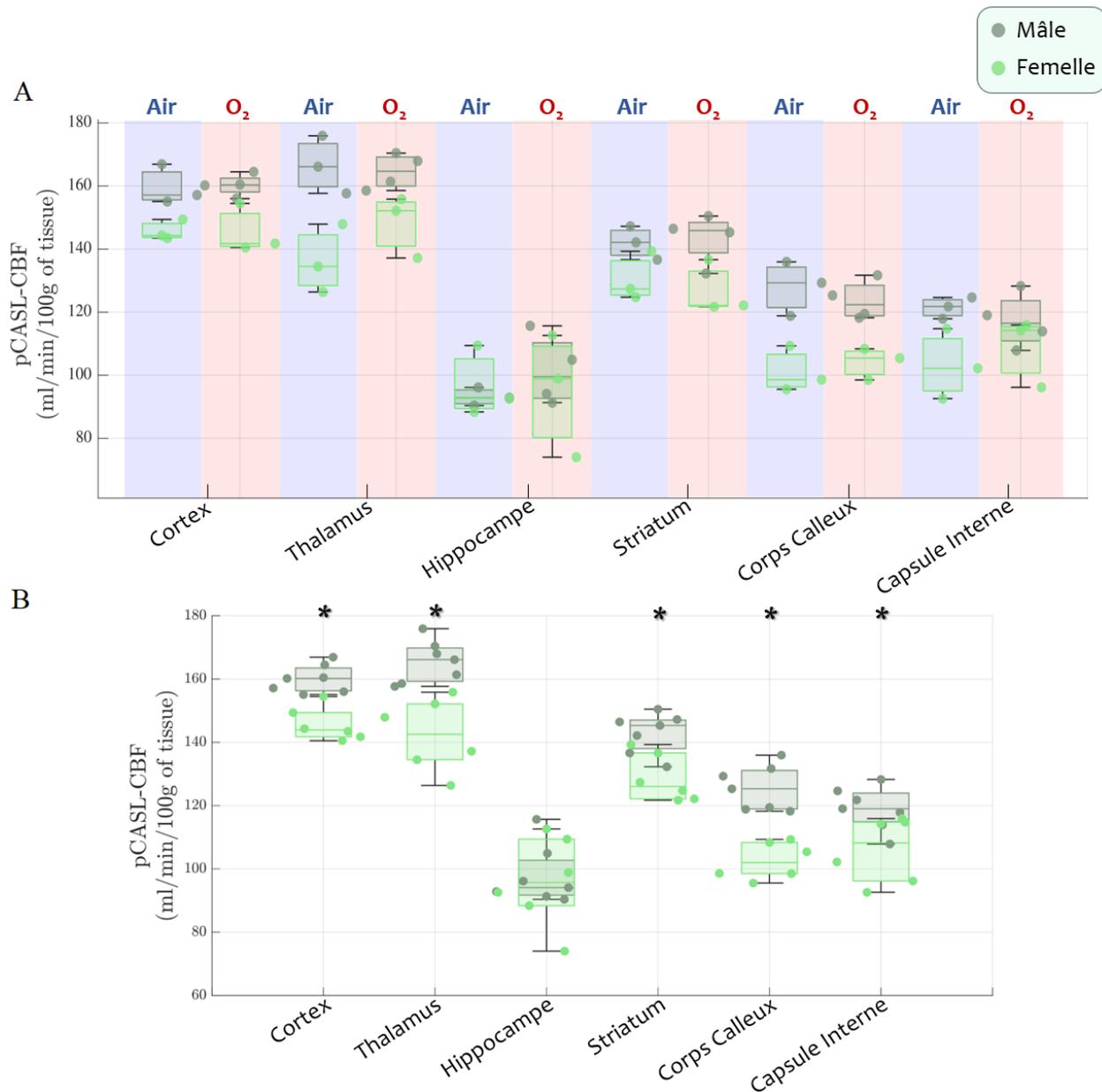


FIGURE 5.14 – Différences de débit sanguin cérébral chez la souris en fonction du sexe. A) Mesures de CBF obtenues en condition de normoxie (sous air) et en condition d'hyperoxie (sous O₂). B) En regroupant les deux conditions d'oxygénation (*) différence significative pour p-value < 0.05).

sous normoxie et hyperoxie. Ce résultat met en évidence l'effet de la fraction d'oxygène inspirée FIO_2 (pO_2) sur le T_1 du tissu. Il a été rapporté dans de précédentes études la dépendance du T_1 du sang à la pO_2 qui varie en condition de normoxie et d'hyperoxie principalement en raison de l'effet paramagnétique de la fraction dissoute d'oxygène (sous air : $pO_2 \approx 100\text{mmHg}$ et sous O₂ : $pO_2 > 600\text{mmHg}$). Ainsi, le T_1 du tissu cérébral est systématiquement plus faible chez les souris sous oxygène pur (Figure 5.9).

Cette expérience illustre aussi l'effet de la température sur la pO_2 . La solubilité des gaz diminuant avec la température, nous remarquons que la différence entre les T_1 du tissu mesurés dans les conditions Air ou O_2 est plus importante à 32°C qu'à 37°C . Cependant, il est important de rappeler que l'oxygène est transporté par le sang principalement sous sa forme liée à l'hémoglobine et très peu sous sa forme dissoute. La saturation en oxygène, SO_2 , qui décrit la proportion d'hémoglobine oxygénée par rapport à l'hémoglobine non oxygénée, est déjà très élevée dans des conditions de normoxie (proche de 98% pour une $pO_2 \approx 100\text{mmHg}$) et donc très peu affectée par l'augmentation de fraction d'oxygène inspiré (FiO_2). Par ailleurs, des études ont montré une absence de corrélation entre le T_1 du sang et la SO_2 [90]. Le changement de T_1 du tissu à basse température, observé dans des conditions de normoxie et d'hyperoxie, ne peut donc être attribué qu'au changement de la pO_2 sanguine. Ce résultat est toutefois impressionnant compte tenu de la faible fraction du volume sanguin contenu dans le tissu cérébral ($\sim 5\%$ au niveau de la substance grise [25]).

Les variations du T_1 sanguin n'ayant pas pu être mesurées pendant les acquisitions en hypothermie, nous nous sommes appuyés sur la littérature disponible pour les corrections des estimations du CBF par ASL. Cependant, nous n'avons pas considéré l'effet de la pO_2 différente en conditions de normoxie et d'hyperoxie sur le $T_{1,b}$ du sang artériel. Toutefois, des études précédentes à 1.5T, ont mis en évidence une différence de $T_{1,b}$, faible mais significative, de l'ordre de $142 \pm 37\text{ms}$, entre les mesures effectuées *in-vivo* chez des sujets sains respirant de l'air ambiant ou de l' O_2 pur [122].

Par ailleurs, il est important de souligner que l'équation considérée pour les variations du $T_{1,b}$ en fonction de la température [113] a été obtenue à partir d'un échantillon de sang veineux où de l'oxygène pur a été injecté. Or, en absence d'une mesure exacte de la pO_2 des échantillons de sang, ces derniers devraient contenir une concentration élevée en oxygène dissous. L'étude peut être mise en parallèle avec une étude similaire effectuée à 3T où il a été démontré que le $T_{1,b}$ suit la loi : $T_{1,b} = 22.3 \cdot T + 919.4$. Bien que l'on puisse émettre l'hypothèse que le $T_{1,b}$ est plus sensible aux variations de température à 7T par rapport à 3T, comme il est mentionné dans la première étude [113], ces deux études sont en réalité incomparables compte tenu de la différence qu'il y a au niveau du protocole de préparation des échantillons de sang.

À travers les mesures du CBF effectuées par pCASL à $T_{\text{rectum}} = 37^\circ\text{C}$, nous avons constaté une absence de différence entre les mesures sous air et sous oxygène. Les résultats de la littérature concernant l'effet de l'hyperoxie sur le débit sanguin cérébral sont très variables et peu concluants. Il a été constaté chez l'homme, et par le biais de la séquence PASL-QUIPSS2, des variations de perfusion relativement faibles (moins de 10%) [18]. Des travaux menés sur le petit animal ont démontré une vasoconstriction importante de la circulation sanguine périphérique en conditions hyperoxiques [121]. Une régulation en faveur du maintien des besoins vitaux en nutriments du cerveau est probablement responsable de l'absence de diminution significative du CBF dans nos résultats.

Durant cette étude, un suivi de l'évolution de la fréquence respiratoire a été effectué. L'évolution de f_{Resp} en fonction de T_{rectum} a été comparé entre les expériences sous air et sous O_2 pur. Tout d'abord, nous avons observé une diminution graduelle de la fréquence respiratoire lors de la baisse de la température de l'animal, en accord avec la littérature [106]. Cependant, aucune différence significative n'a été retrouvée entre les deux groupes, sous O_2 et sous air. Par ailleurs, l'analyse du spectrogramme du signal de la respiration a permis d'identifier les fréquences cardiaques et de suivre leurs variations en fonction de la température chez les animaux de l'étude. La différence observée est cohérente avec l'évolution du CBF mesuré et constitue un facteur important permettant d'expliquer les différences observées de Δ_{cbf}^r entre les deux conditions d'hyperoxie et de normoxie.

En calculant les coefficients de variations (CV) des estimations du CBF chez les différents animaux de l'étude à 37°C, à partir des résultats présentés Figure 5.11, on retrouve en moyenne, 9.65% et 9.14% en condition de normoxie ($n = 6$) et d'hyperoxie ($n = 7$), respectivement. Par ailleurs, les estimations du CBF, réalisées pendant cette étude, ne tiennent pas compte de la mesure de l'efficacité de l'inversion (EI) au niveau de l'influx artériel. Une éventuelle variabilité interindividuelle de l'EI aura un impact négatif sur le coefficient de variabilité du CBF. Compte tenu de ces éléments, la variabilité obtenue peut être considérée comme satisfaisante.

Enfin, cette étude met en évidence une différence significative de CBF en fonction du sexe de l'animal avec un débit plus élevé chez les souris mâles. La différence d'âge relativement faible entre les deux groupes (souris mâles et souris femelles), de l'ordre de 6 semaines, a été négligé en se basant sur de précédentes études de la variation du CBF en fonction de l'âge [2]. L'effet du sexe sur le CBF a été très peu étudié chez le rongeurs. Chez l'homme, des études ont montré qu'il existe certaines différences de CBF entre les hommes et les femmes, différences qui varient en fonction des lobes étudiés avec un débit sanguin cérébral globalement plus élevé chez les femmes [2]. Une seconde étude, réalisée en utilisant une acquisition pCASL multi-PLD, a mis en évidence un débit sanguin cérébral plus élevé chez les femmes associés à un allongement de l'ATT chez les hommes [66]. Par conséquent, et afin de consolider le résultat obtenues durant cette étude chez la souris, une acquisition pCASL multi-PLD permettra une quantification plus robuste du CBF en tenant compte d'éventuelle variation de l'ATT.

5.5 Synthèse

L'étude présentée dans ce chapitre met en lumière l'importance du suivi des paramètres physiologiques de l'animal durant les acquisitions par IRM pour une estimation fiable du débit cérébral sanguin par ASL.

La température de l'animal pendant l'anesthésie peut être sujette à des fluctuations importantes si elle n'est pas constamment contrôlée. Dès l'induction et durant la préparation de l'animal jusqu'à son placement dans l'IRM, la température corporelle de la souris peut atteindre des valeurs en-dessous de 34°C. Lorsque la température de consigne du lit est de 42°C, l'animal est rapidement

réchauffé, mais sans la moindre correction de la température de consigne, la température de l'animal continue d'augmenter au cours du temps et son débit cérébral sanguin aussi. Par conséquent, la surveillance de la température corporelle de l'animal est plus critique dans le cas d'acquisitions longues. C'est certainement le cas pour les estimations de la perfusion cérébrale par la séquence pCASL où la phase d'optimisation et le nombre élevé de répétitions requises pour obtenir un bon RSB contribuent à augmenter le temps effectif de la mesure.

Pour le moment, cette étude a été réalisée uniquement chez la souris mais les résultats liés au pourcentage de variation du CBF en fonction de la température peuvent facilement être extrapolés aux rats. Toutefois, en considérant la corpulence plus importante du rat par rapport à la souris, on peut considérer que sa température corporelle est plus stable au cours des acquisitions. Par conséquent, les estimations du CBF devraient également présenter une moindre variabilité. Cette hypothèse peut être confirmée en reproduisant cette étude chez les rats.

Les discussions que nous avons présentées dans les limites de cette étude soulèvent quelques points importants concernant la valeur du temps de relaxation longitudinale T_1 sanguin, utilisée pour l'estimation du CBF. Ainsi, il est nécessaire de garder à l'esprit que les valeurs qui existent dans la littérature ont été principalement acquises *in-vitro* et dans des conditions physiologiques différentes de celles du sang *in-vivo*. Ainsi, une erreur systématique, liée à l'incertitude de l'estimation du T_1 artériel, est présente dans la quantification absolue du CBF par ASL.

Cependant, dans le contexte d'une étude de groupe qui n'implique aucune variation de la pression sanguine partielle en O_2 , l'erreur liée à l'estimation du T_1 du sang artériel peut être négligée. Sous réserve que toutes les expériences soient rigoureusement réalisées dans les mêmes conditions expérimentales et physiologiques des animaux.

Nous avons également démontré la possibilité d'extraire la fréquence cardiaque de l'animal pendant l'expérience à partir du signal respiratoire. Par contre, cela n'a pas été réalisable chez la totalité des animaux inclus dans l'étude. En effet, le positionnement du ballonnet plus ou moins proche du thorax est responsable d'une variation de la contribution du signal de l'ECG qui peut alors être extrêmement faible lorsque le ballonnet est situé loin du thorax. Il est alors préférable de placer le capteur de pression sur ce dernier, près du cœur, en surveillant la contamination du signal de respiration.

Chapitre 6

Application à un modèle préclinique d'ischémie chez le rat

L'équipe iDREAM de ToNIC que j'ai intégrée dans le cadre de ma thèse travaille sur plusieurs thématiques de recherche liées à l'accident vasculaire cérébral (AVC). Un modèle préclinique de rat a été établi puis validé pour reproduire les conséquences d'un AVC de type ischémique. Les lésions induites au niveau du cortex moteur conduisent à un déficit moteur spécifique. La récupération, établie par des tests comportementaux, est progressive dans les mois suivant la lésion. Un des projets de recherche de l'équipe porte sur la construction et l'étude de bio-implants biodégradables, en tant que nouvel instrument thérapeutique, pour l'amélioration de la récupération post-AVC (sujet de thèse en cours de Julien Clauzel). Dans ce contexte, je suis intervenue dans ce projet pour étudier l'effet des implants sur le tissu cérébral environnant et évaluer *in-vivo* la présence d'un tissu reconstruit. Ainsi, j'ai développé un protocole d'acquisition IRM et réalisé une étude sur plusieurs animaux porteurs de différents types d'implants. Bien qu'elles soient des caractéristiques majeures dans leurs effets thérapeutiques, je ne discuterai pas dans ce chapitre de la nature et de l'architecture tridimensionnelle des bio-implants utilisés car cela dépasse le cadre de ces travaux. Un article est actuellement en cours de rédaction par l'équipe, regroupant les différentes parties de cette étude pilote, à savoir, le choix des matériaux, les tests *in-vitro*, l'imagerie *in-vivo* par IRM, les tests comportementaux et l'histologie combinée aux marquages par immuno-fluorescence.

6.1 Introduction

Les accidents vasculaires cérébraux (AVC) constituent la deuxième cause de mortalité à l'échelle mondiale et représente la première cause nationale de handicap acquis chez l'adulte en France. Il existe deux causes principales de l'AVC : l'occlusion d'une artère (AVC ischémique) ou la rupture d'une artère (AVC hémorragique). L'AVC ischémique est le type d'AVC le plus courant. Il se produit lorsqu'une artère est complètement obstruée (occlusion), entraînant une réduction importante ou l'arrêt de la circulation sanguine également appelée ischémie. Ainsi, privées d'oxygène et de nutriments, les cellules cérébrales sont en souffrance et si la perfusion n'est pas rétablie dans les 5 minutes qui suivent, la mort du tissu cérébral est irrémédiablement enclenchée [86].

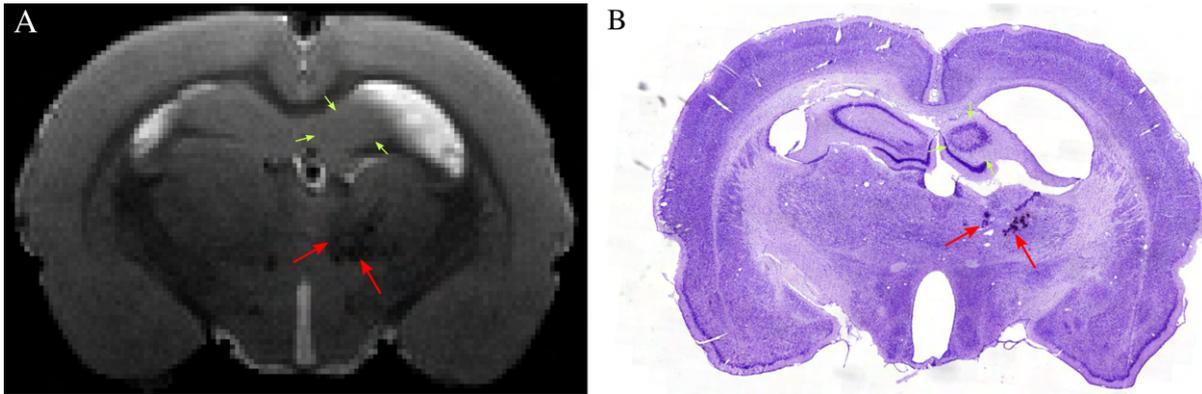


FIGURE 6.1 – A) Coupe coronale en pondération T_2 chez un rat avec une lésion localisée au niveau du cortex moteur à 9 mois post-lésion. B) Coupe histologique ¹ chez un rat cérébro-lésé à 3 mois post-lésion (coloration au crésyl violet). Les flèches rouges pointent vers un signal hypo-intense en T_2w qui correspond à des neurones pycnotiques visibles sur la coupe histologique. L'atrophie de l'hippocampe est visible sur les deux images et est indiquée avec des flèches jaunes.

Pour limiter les séquelles d'un AVC, la thrombolyse (dissolution du caillot sanguin qui obstrue l'artère) ou la thrombectomie (pose d'un *stent retriever*) sont actuellement les seuls traitements disponibles permettant de revasculariser le tissu cérébral et de limiter la mort cellulaire dans la zone touchée. En raison de la fenêtre thérapeutique limitée de ces interventions, les efforts des recherches précliniques et cliniques se sont concentrés autour de stratégies neuro-protectrices susceptibles de limiter l'expansion du foyer ischémique ou de thérapies favorisant la régénération et la fonctionnalité des tissus. Dans ce contexte, l'injection intracérébrale de malonate (un inhibiteur de la succinate déshydrogénase) a été utilisée dans notre équipe pour reproduire les effets d'un AVC ischémique chez le rongeur. Le malonate provoque des lésions focales en induisant une mort cellulaire hypoxique et excitotoxique en bloquant le cycle de Krebs et la chaîne respiratoire, essentiels à la production d'ATP. L'injection intracérébrale de malonate localisée au niveau du cortex moteur primaire est utilisée par notre équipe pour produire des lésions corticales focales chez les rats [35, 26] et le marmouset [82].

De nombreuses études ont été menées dans l'équipe iDREAM de ToNIC afin de caractériser les lésions provoquées par injection intra-corticale de malonate et évaluer la capacité de thérapies innovantes pour favoriser la récupération fonctionnelle associée à une reconstruction du tissu cérébral, comme l'injection intranasale de facteurs de croissance neuronale (NGF, *Nerve Growth Factor*) [26]. Ces dernières années, de nombreuses équipes se sont intéressées aux cellules souches qui, grâce à leur capacité à se différencier en cellules neurales et à libérer des facteurs neurotrophiques [35], sont considérées comme un traitement prometteur dans les cas de lésions cérébrales post-AVC ou traumatiques. Dans ce contexte, les biomatériaux ont prouvé leur effet positif sur l'amélioration de la transplantation des cellules souches au niveau de la lésion. Des études précliniques déjà publiées sur des rats et des marmousets utilisant des implants en silicone semi-rigide

1. Réalisée par Colitti Nina, Ingénieure d'étude à ToNIC, iDREAM.

(PDMS - Poly-Di-Méthyl-Siloxane) ont abouti à des résultats encourageants. [35, 83, 81]. Nous verrons dans ce chapitre les résultats de l'acquisition pCASL chez un marmouset (primate non-humain), avec une lésion induite par injection de malonate et localisée au niveau du cortex moteur. L'animal a été greffé avec un implant en PDMS. La description du protocole IRM chez cet animal, effectué à 9 mois post-implant, est présentée dans le Chapitre 3. Par ailleurs, un essai clinique est actuellement en cours pour évaluer le bénéfice de ces bio-implants sur la régénération cérébrale chez des patients souffrant de traumatismes crâniens graves.

Cependant, l'aspect non biodégradable du PDMS représente un inconvénient majeur pour sa substitution complète par un néo-tissu. En effet, l'implant doit être progressivement remplacé par le tissu en régénération, tout en conservant son intégrité suffisamment longtemps pour permettre l'infiltration des cellules et favoriser la repousse axonale [131]. C'est pourquoi l'équipe s'est récemment orientée vers l'évaluation *in-vivo* de la biocompatibilité de matériaux biodégradables (polymères) imprimés en 3D. Pour ma part, j'ai participé à la caractérisation anatomique et fonctionnelle par IRM de la réponse de l'environnement cérébral à ces nouveaux implants. Pour la recherche translationnelle préclinique, l'IRM offre un suivi longitudinal *in-vivo* indispensable et permet l'identification de biomarqueurs qui peuvent être validés, après sacrifice de l'animal, par histologie associée à des marqueurs d'immuno-fluorescence spécifiques aux progéniteurs neuro-naux par exemple.

Cette étude a d'abord porté sur un suivi longitudinal par IRM de perfusion et de diffusion réalisé sur un rat lésé au cerveau sans implant. Le même protocole d'IRM a été employé pour analyser l'impact de l'implant, inséré à 9 jours au niveau du site de la lésion, sur le tissu cérébral environnant. Une analyse a été effectuée spécifiquement au niveau du thalamus et de l'hippocampe afin de mettre en évidence d'éventuelles lésions secondaires provoquées à la suite de l'injection du malonate au niveau du cortex moteur. De précédentes études impliquant l'injection de cette même toxine ont mis en évidence par histologie un hippocampe parsemé (Figure 6.1). De plus, les substances blanches et grises semblent fortement comprimées sous l'effet de la dilatation ventriculaire engendrée par la perte de tissu cérébral (Figure 6.1). Par ailleurs, il a aussi été observé, au niveau du thalamus, des neurones pycnotiques qui témoignent de l'atteinte par la lésion de la substance blanche sous-corticale.

6.2 Matériels et Méthodes

- *Animaux* : l'étude a été réalisée sur 6 rats (Femelles Sprague-Dawley, âgées de 14 semaines au moment de la lésion, avec un poids de 350 ± 50 g). L'induction de la lésion a été effectuée en suivant la procédure décrite dans de précédentes études de l'équipe [26]. Neuf jours après avoir induit des lésions localisées dans le cortex moteur primaire (de l'hémisphère

contrôlant le membre antérieur dominant), 4 rats ont été greffés avec un implant de différents matériaux : Polycaprolactone (PCL), Poly-Ethylene-Glycol Diacrylate (PEG-DA) à 200kPa et 500kPa de module de Young et PEG-Gelatin Methacrylate (PEG-Gel-MA)¹.

A l'IRM, l'anesthésie a été induite par inhalation du mélange Isoflurane/O₂ à 4% puis maintenue entre 1.5% et 2.5% durant les acquisitions selon le rythme respiratoire de l'animal. La cellule d'imagerie est thermorégulée à 40°C.

- *IRM* : le suivi temporel de la lésion par IRM a été effectué sur le rat contrôle lésé sans implants à [2 6 10 14 18 22 36] semaines post-lésion. Les acquisitions suivantes ont été effectuées (avec l'installation décrite dans la section 2.2.5) :

1. *Image anatomique T_{2w}* : séquence T2 Turbo-RARE avec un TE et un TR respectivement de 35.7ms et 5452ms, coupes coronales avec une résolution spatiale de 0.137x0.137x0.500 mm³ pour une matrice de 256x256x48. Temps d'acquisition : 17 min 27 sec.
2. *Imagerie de perfusion* : l'optimisation des déphasages inter-impulsions du train de marquage de la séquence pCASL, ainsi que la mesure de l'efficacité d'inversion au niveau des carotides ont été décrites dans le Chapitre 3. La séquence pCASL-EPI a été acquise avec les paramètres suivants : un TE et un TR de 15ms et 5000ms respectivement, BW à 312.5 kHz, coupes coronales avec une résolution spatiale de 0.326x0.326x0.800 mm³ pour une matrice de 92x92x18, 50 répétitions, un temps de marquage (LT) de 4s et un temps de post-marquage (PLD) de 300ms. Temps d'acquisition : 8 min 20 sec. La carte T₁ a été acquise avec la séquence FAIR-MTI en EPI (les paramètres de lecture sont les mêmes que ceux de la séquence pCASL) avec un TR de 10s et 17 inversions-récupérations entre 20 et 9000 ms de TI. Le temps d'acquisition est de 2 min 50 sec.
3. *Imagerie de diffusion* : séquence DTI-EPI avec les paramètres suivants : un TE et un TR de 33.3ms et 6500ms respectivement, BW à 357 kHz, 5 volumes avec b = 0 ; 30 directions de diffusion avec b = 700 s/mm², 5 moyennages, coupes coronales avec une résolution spatiale de 0.176x0.176x0.800 mm³ pour une matrice de 170x170x48. Temps d'acquisition : 18 min 57 sec.

Le même protocole a été utilisé pour les rats avec implant. Les conditions expérimentales ainsi que les acquisitions IRM effectuées pour chaque animal sont résumées dans le tableau 6.1.

- *Traitement des données* : les cartes de perfusion (CBF) ont été obtenues en suivant le protocole décrit dans le Chapitre 3 en considérant un modèle à compartiment unique [19] et un temps de transit artériel (ATT) de 300ms.

Les cartes de fraction d'anisotropie (FA) et de diffusivité moyenne (MD) et radiale (RD) ont été calculées avec l'outil *DTIFIT* de FSL. Les vecteurs des valeurs (effectives) et directions

1. Conception et impression réalisées par Julien Clauzel, Doctorant à ToNIC, iDREAM.

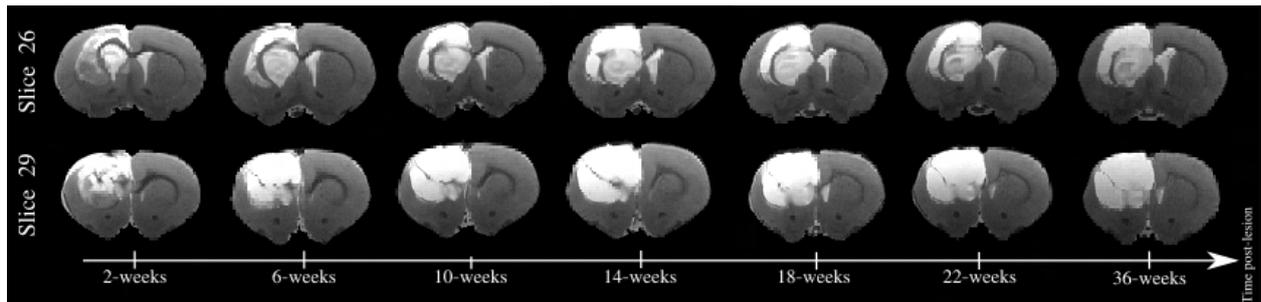


FIGURE 6.2 – Coupes coronales en T_2w du suivi longitudinal du rat sham B1R, lésé sans implant.

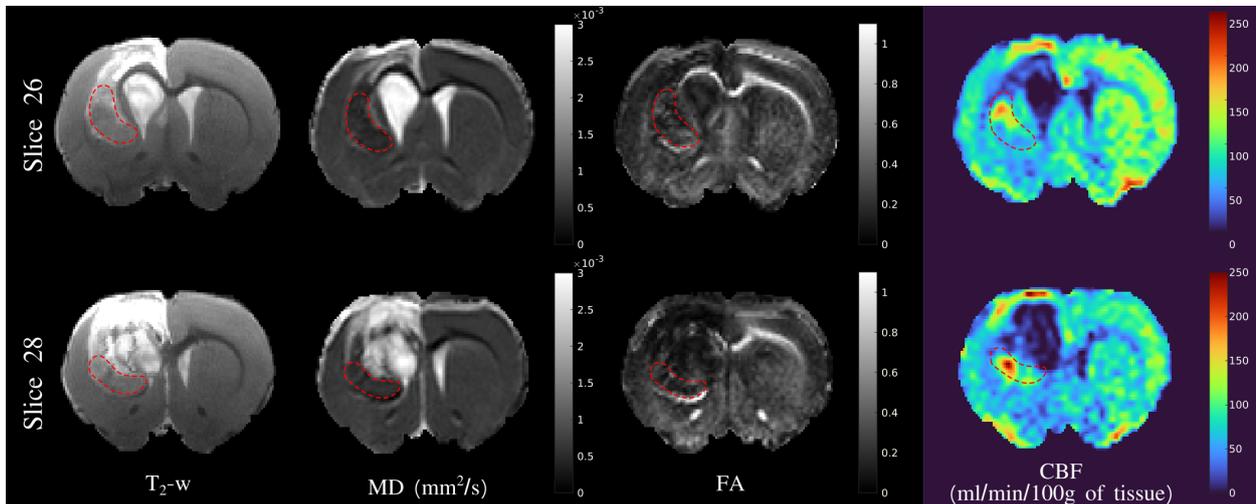
de b ont été extraites du fichier *method* du dossier *Brucker* pour chacune des acquisitions effectuées (Clés : *PVM_DwEffBval* et *PVM_DwDir*).

Les images anatomiques T_2w ont été utilisées afin d'identifier la zone lésée (pour le rat lésé sans implant) ou l'implant et de délimiter manuellement les différentes régions d'intérêt :

1. Lésion/Implant que l'on notera *Lésion* sur les figures par souci de simplicité.
 2. La région symétrique de la lésion dans l'hémisphère controlatéral.
 3. Le tissu péri-lésionnel qui a été obtenu par transformation morphologique avec soustraction d'une dilatation (élément cubique de 3 pixels de côté) et une érosion (élément cubique de 1 pixel de côté) de la région délimitant la lésion (ou l'implant).
 4. Structures anatomiques non impactées par la lésion : l'hippocampe et le thalamus tracés manuellement sur 2mm (4 coupes de l'image T_2w), en amont de la commissure antérieure, en se basant sur l'atlas du cerveau de rat de Paxinos et Watson [107].
- *Analyse statistique* : les objectifs étant de vérifier d'une part la capacité des implants élaborés à supporter la procédure d'implantation et d'autre part d'évaluer la biocompatibilité des matériaux utilisés, cette étude pilote a porté sur un animal par implant évalué (Tableau 6.1). Par conséquent, les résultats et analyses présentés dans cette section ne seront que descriptifs. Les variations observées entre l'hémisphère ipsilatéral et controlatéral seront évaluées par un test non-paramétrique de Wilcoxon non-apparié. L'hypothèse nulle (c'est à dire qu'il n'existe pas de différence entre les deux mesures) est rejetée si la *p-value* est inférieure à 0.0001. Ce seuil a été fixé à partir de l'acquisition effectuée sur le rat contrôle (sans lésion, sans implant), en considérant l'hypothèse que chez un rat sain, il n'y a pas de différence entre les deux hémisphères pour les différents paramètres étudiés (CBF, FA, MD, RD).

Rat	B2R (Contrôle)	B1R (Sham)	B1N (Avec Implant)	B2N (Avec Implant)	B3N (Avec Implant)	B3R (Avec Implant)
Conditions	Non lésé	Lésé, sans implant	Implant : PEG-DA 200	Implant : PEG-DA 500	Implant : PCL	Implant : PEG-GLMA
Points Temporels	1 fois	2, 6, 10, 14, 18, 22, et 36 semaines post-lésion	2, 6, 10 semaines post-lésion	2, 6, 10 semaines post-lésion	2 semaines post-implant	2 semaines post-implant

TABLE 6.1 – Conditions expérimentales pour les différents sujets de l'étude.

FIGURE 6.3 – Coupes coronales en T_2w et cartes de MD, FA et CBF associées du rat sham B1R, lésé sans implant. Acquisition effectuée à 2 semaines post-Lésion. En rouge est délimité le tissu pseudo-lésé.

6.3 Résultats

Rat B1R (Lésé sans Implant)

L'injection intracérébrale de malonate a induit chez ce rat sham (lésé sans implant) une lésion visible en hypersignal sur l'image anatomique en pondération T_2 (Figure 6.2), avec une hétérogénéité importante au sein du tissu lésé probablement due à une diffusion inhomogène de la toxine. À 2 semaines, le cerveau présente, en périphérie de la lésion, un tissu de signal intermédiaire en T_2w , avec une diffusivité moyenne restreinte par rapport au tissu cortical et une hyper-perfusion localisée observée sur les cartes de CBF (Figure 6.3). Ce tissu, que l'on appellera dans cette section "pseudo-lésion", est contourné en rouge sur la Figure 6.3.

Les cartes de CBF mettent en évidence une absence de perfusion au niveau de la lésion, en accord avec le processus de mort du tissu engendrée par la toxine. Toutefois, la mesure de perfusion dans la zone lésée, à 2 semaines, reste conséquente (65% par rapport à l'hémisphère controlatéral). Cette valeur est due à une perfusion de luxe qui subsiste après la perte du tissu cérébral (Figure 6.4). Ensuite, la perfusion baisse pour atteindre des valeurs autour de 20% à 14 semaines. Le tissu péri-lésionnel présente des valeurs de perfusion intermédiaire entre le tissu sain et la lésion (Figure 6.4).

Le suivi temporel de la perfusion cérébrale chez le rat lésé sans implant (Figure 6.4) met aussi en évidence une perturbation du débit dans les différentes zones étudiées en dehors du tissu lésé,

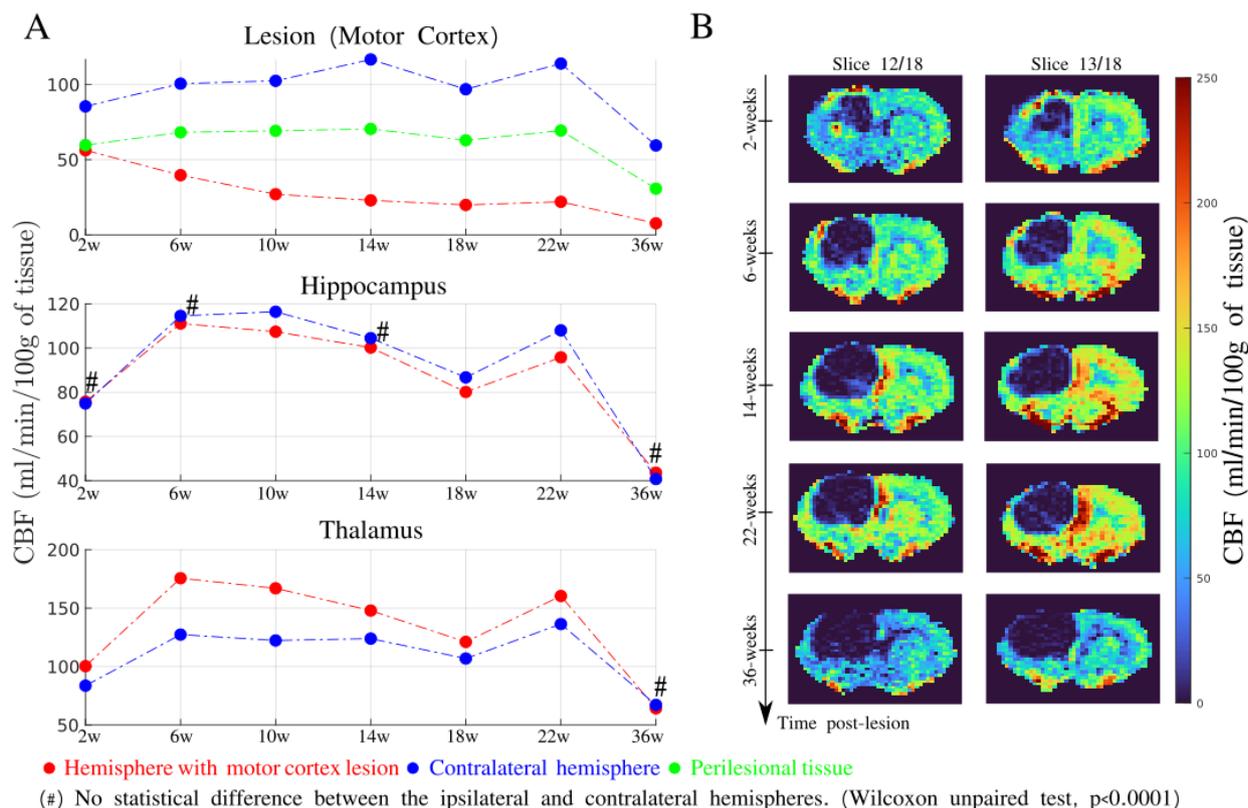


FIGURE 6.4 – Suivi longitudinal de A) l'évolution de la perfusion cérébrale du rat sham B1R lésé sans implant et B) les cartes de CBF associées.

en particulier au niveau du thalamus où on observe une augmentation systématique du CBF par rapport à l'hémisphère controlatéral, avec un retour à l'équilibre observé après 36 semaines post-lésion. En ce qui concerne l'hippocampe, les mesures de perfusion sont systématiquement inférieures aux mesures dans l'hémisphère controlatéral bien que le seuil de significativité n'est pas été toujours atteint. De plus, l'hyper-signal observé sur les cartes de perfusion et relatif au tissu pseudo-lésé en périphérie de la lésion disparaît au cours du temps (Figure 6.4).

Les cartes de diffusion révèlent une fraction d'anisotropie très faible et une diffusivité moyenne et radiale élevées au niveau de la lésion (Figure 6.5) en cohérence avec la nature du milieu liquide occupant le volume lésionnel. On constate, au niveau du thalamus, une FA significativement plus importante au niveau de l'hémisphère lésé par rapport à l'hémisphère controlatéral et cela à partir de 6 semaines suivant l'injection de la toxine. À l'opposé, on observe une réduction faible mais significative de la FA au niveau de l'hippocampe à partir de 14 semaines post-lésion (Figure 6.5) et des valeurs de MD et RD significativement plus importantes.

Rat B1N (Implant en PEG-200) :

La Figure 6.6A illustre l'évolution longitudinale de l'implant facilement identifiable sur les coupes en T_2w grâce à la nature du matériau (Hydrogel). Sur ces images, l'implant est intégralement apparent, ce qui permet de reconnaître nettement son architecture caractéristique d'une construction en 3D. Un tissu pseudo-lésé est aussi visible à 24h post-implant (c'est à dire, neuf

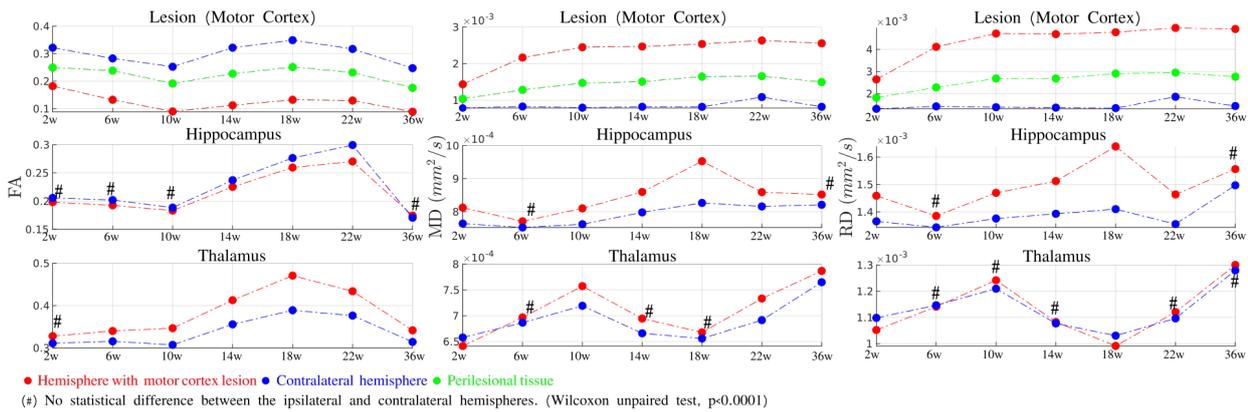


FIGURE 6.5 – Suivi longitudinal de l'évolution des indicateurs de diffusion du rat sham B1R, lésé sans implant.

jours post-lésion). D'autre part, des tissus de nature singulière se développent autour de l'implant et évoluent au cours du temps post-greffe. En premier lieu, un tissu visible en hypo-signal en T_2w est observable à partir de 4 semaines post-greffe dans la Figure 6.6A (indiqué par des flèches bleues). L'imagerie par diffusion suggère la nature fibreuse de ce tissu. En effet, ce dernier présente une fraction d'anisotropie très élevée visible sur la Figure 6.7. De plus, l'implant est entouré d'un milieu avec un signal similaire à celui du cortex en pondération T_2 mais qui présente une diffusivité moyenne plus faible observable sur la Figure 6.7. Le suivi longitudinal et l'analyse des images anatomiques ont révélé l'existence de bulles de gaz piégées à l'intérieur de l'implant. Ces dernières sont visibles sur l'IRM à 8 semaines post-chirurgie et témoignent d'une activité bactérienne d'origine infectieuse (indiquée par des flèches rouges sur la Figure 6.6). Les observations réalisées à partir de l'IRM de diffusion suggèrent un rejet de l'implant associé à la formation d'un abcès.

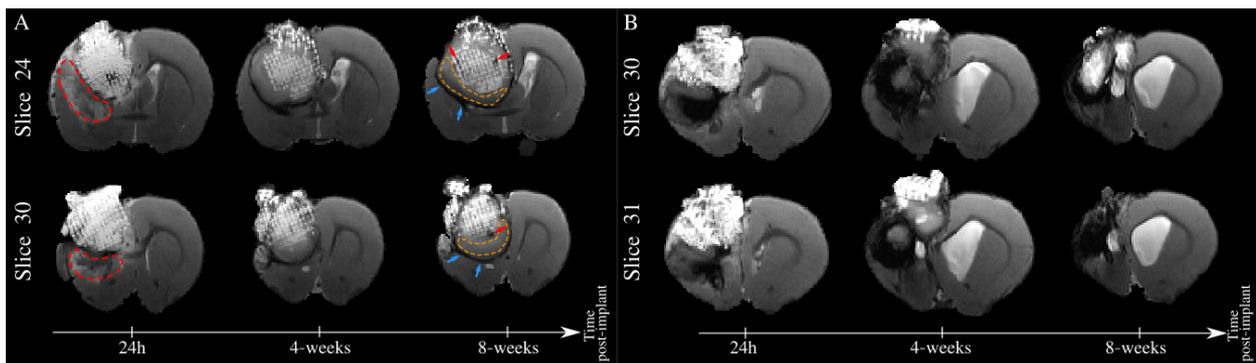


FIGURE 6.6 – Coupes coronales en T_2w du suivi longitudinal des rats A) B1N avec l'implant PEG-200 et B) B2N avec l'implant PEG-500. Les bulles de gaz observées chez le rat B1N sont indiquées par des flèches rouges et le tissu infectieux autour de l'implant est délimité par des lignes discontinues oranges.

Enfin, l'acquisition par ASL permet de noter une absence de perfusion au niveau de l'implant et ce jusqu'à 8 semaines post-chirurgie. Nous constatons aussi la présence d'un hypersignal en perfusion, visible à 24 heures, associé au tissu pseudo-lésé et qui s'efface au cours du temps pour

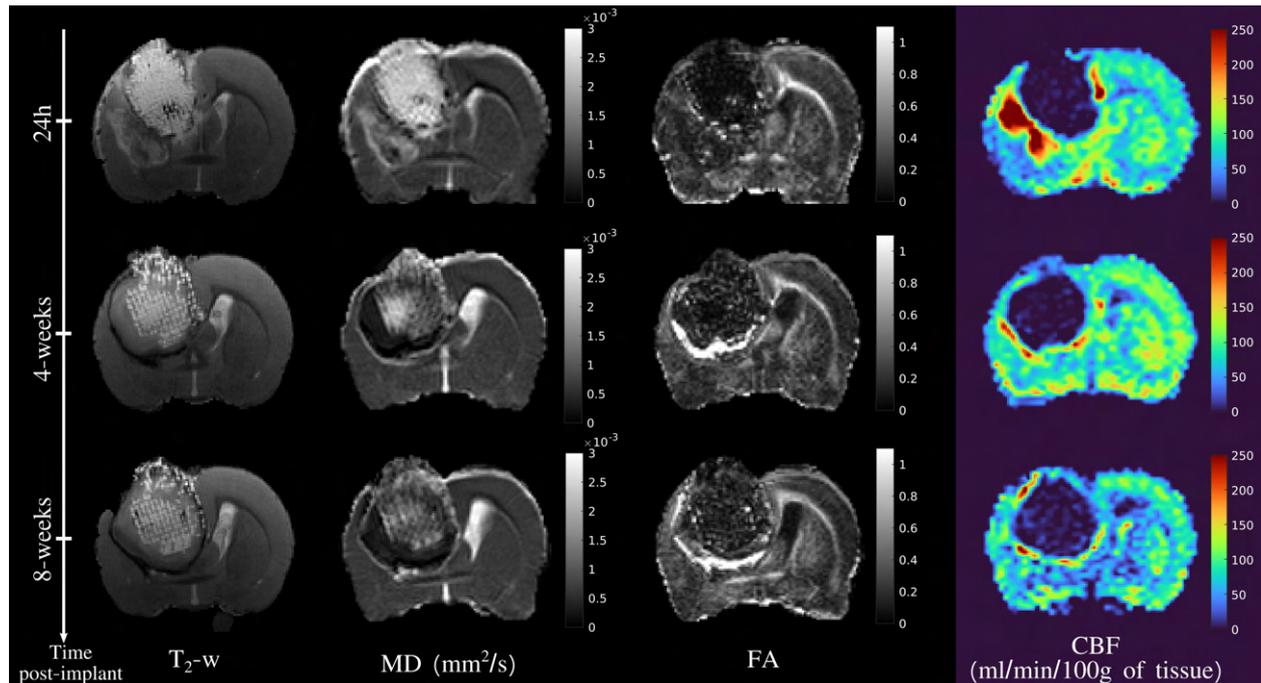


FIGURE 6.7 – Coupes coronales en T_2w et cartes de MD, FA et CBF du rat B1N lésé avec un implant en PEG-200. Acquisition effectuée à 2, 4 et 8 semaines post-greffe de l'implant.

laisser place à une hyperperfusion localisée autour de l'implant, et dont l'intensité diminue au cours du temps (Figure 6.7).

Rat B2N (Implant en PEG-500) :

Présenté Figure 6.6B, le suivi longitudinal par IRM permet de visualiser *in-vivo* l'évolution de l'implant PEG-500. Ce dernier est clairement visible au niveau de l'hémisphère lésé, 24 heures après la transplantation. Cependant, il n'est pas possible de distinguer son architecture, ce qui indique que sa structure guidante a été altérée pendant la transplantation. De plus, on constate sur la Figure 6.6B que l'implant a été progressivement repoussé vers l'extérieur du cerveau. Cette réaction semble avoir été causée par une dilatation ventriculaire et une hémorragie importante et sévère consécutive à la transplantation. Cette hémorragie est visible en hypo-signal sur l'imagerie T_2w .

Rat B3N (Implant en PCL) :

La Figure 6.8 présente les résultats de l'imagerie anatomique, de perfusion et de diffusion pour le rat B3N greffé avec un implant en PCL. Les acquisitions ont été effectuées 2 semaines après la transplantation. On retrouve sur l'image T_2w , au niveau de la lésion, un signal caractéristique lié à la présence du matériau (polymère) avec une densité en proton très faible, qui explique le signal faible en T_2w dans certains voxels. Toutefois, d'autres voxels au niveau de l'implant présentent un signal élevé en T_2w qui témoigne d'une infiltration importante du matériau. Par ailleurs, un tissu pseudo lésé est aussi visible en périphérie de la lésion, ce tissu présente une diffusivité restreinte associée à la perfusion élevée que nous pouvons constater sur la Figure 6.8. La mesure par ASL

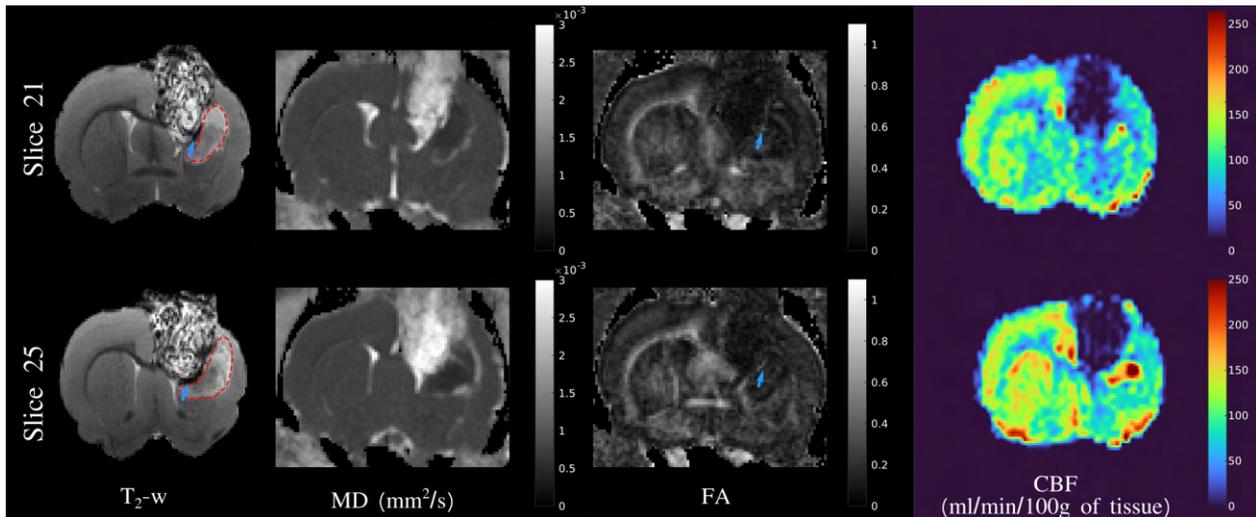


FIGURE 6.8 – Coupes coronales en T_2w et cartes de MD, FA et CBF associées du rat B3N, lésé avec un implant en PCL. Acquisition effectuée à 2 semaines post-Implant.

n'a pas permis de mettre en évidence de perfusion au niveau de l'implant. Au niveau des cartes de diffusion (MD et FA), l'implant présente visuellement une diffusivité moyenne élevée associée à une fraction d'anisotropie faible par rapport à l'hémisphère sain.

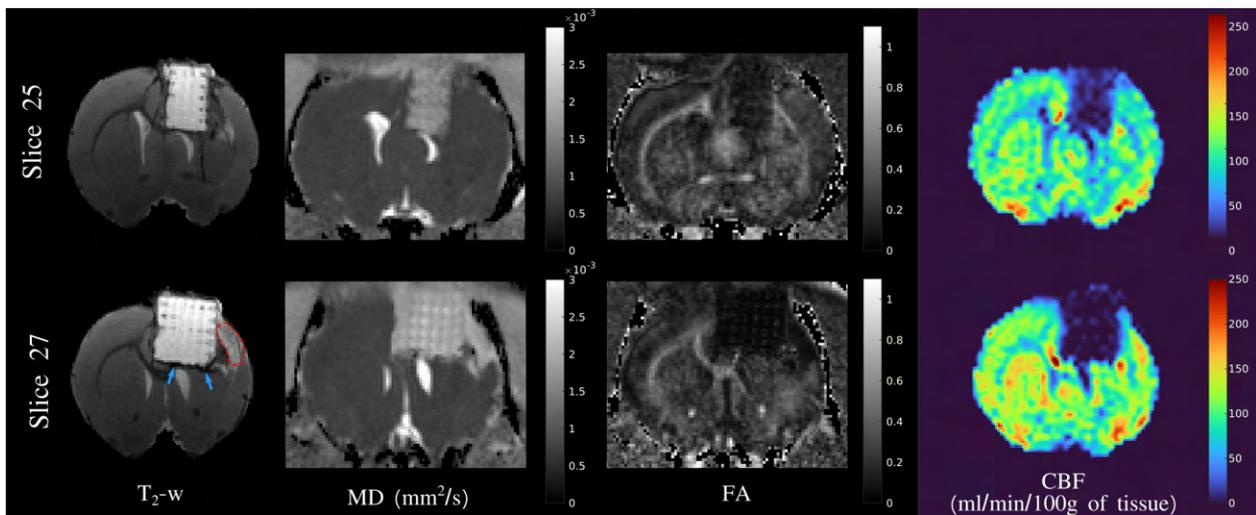


FIGURE 6.9 – Coupes coronales en T_2w et cartes de MD, FA et CBF associées du rat B3R, lésé avec un implant en PEG-GLMA. Acquisition effectuée à 2 semaines post-Implant.

Rat B3R (Implant en PEG-GLMA) :

La Figure 6.9 présente les résultats de l'imagerie anatomique, de perfusion et de diffusion pour le rat B3N greffé avec un implant en hydrogel constitué de PEG-GLMA. De part sa teneur très élevée en eau, l'implant présente un hypersignal en T_2w . Ainsi, l'architecture 3D de la structure est facilement identifiable sur les images anatomiques. Les trous de forme cubique de $300\mu m$ de côté ont été élaborés afin de pouvoir accueillir les cellules neurales d'un néo-tissu reconstruit. L'imagerie T_2w permet de constater la présence de ces trous mais avec un effet de volume partiel

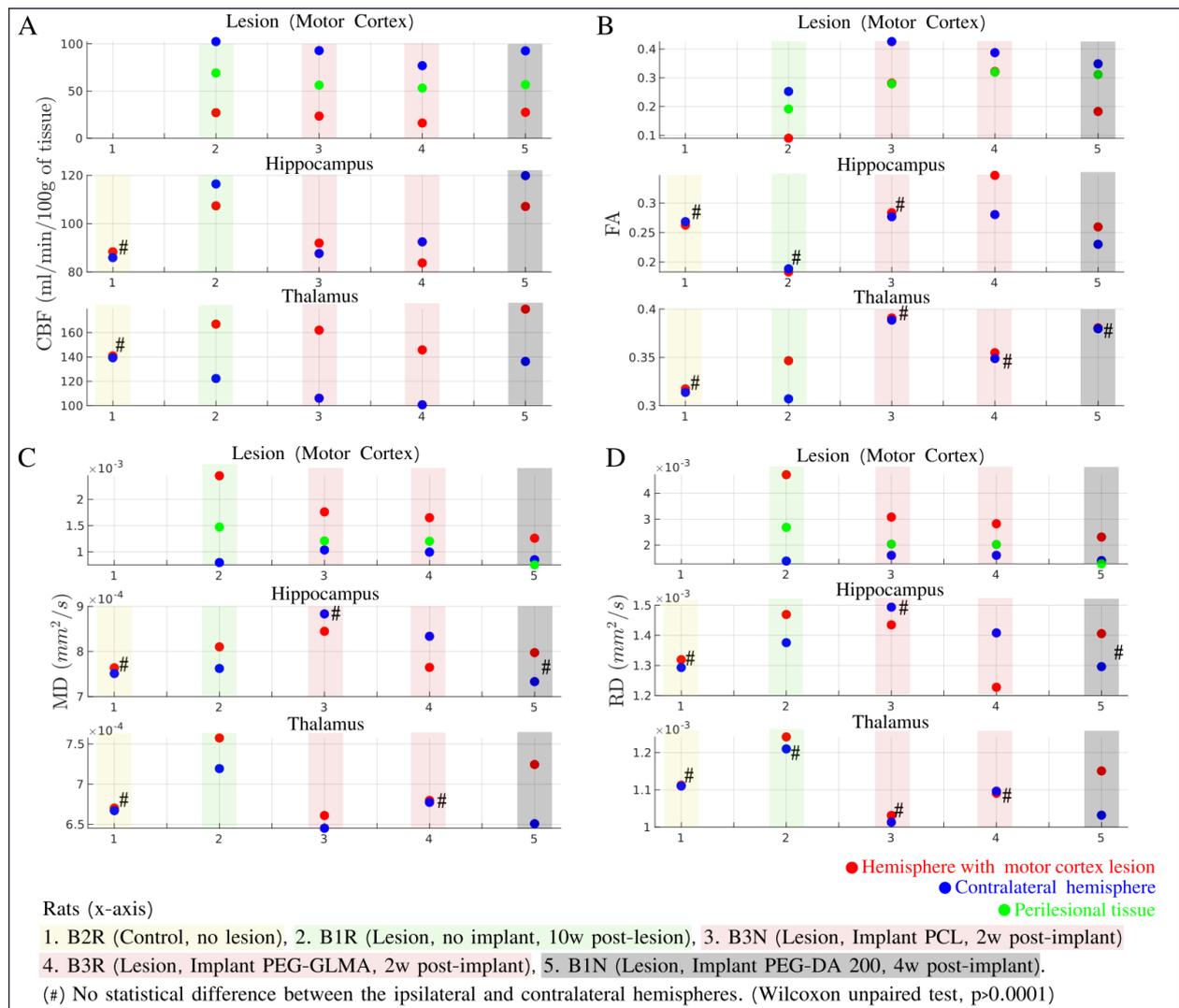


FIGURE 6.10 – Résultats des acquisitions IRM en perfusion (CBF) et en diffusion (FA, MD, et RD) évaluées au niveau de la lésion/implant, de l'hippocampe et du thalamus.

prédominant compte tenu de la taille des voxels ($137 \times 137 \times 500 \mu\text{m}$). De plus, cet effet est encore plus marqué sur les cartes MD et FA obtenues par imagerie de diffusion où la taille des voxels est de $176 \times 176 \times 800 \mu\text{m}$. Ainsi, on constate sur la Figure 6.9 que le matériau présente une diffusivité moyenne élevée et une fraction d'anisotropie très faible. Par ailleurs, les trous semblent présenter une diffusivité faiblement isotrope. Toutefois, il est difficile de distinguer le signal provenant des trous sur les cartes de MD, où on remarque, entre le maillage de l'implant, des valeurs faibles de diffusivité fortement contaminées par l'effet de volume partiel et des artefacts liés au mouvement de l'animal durant l'acquisition. Enfin, on retrouve un tissu avec des propriétés de diffusivité restreinte et de forte anisotropie qui borde les côtés de l'implant et qui présente un hyposignal en T_2w . Ce tissu, signalé par des flèches bleues sur la Figure 6.9, présente le même profil de fibrose que celui décrit ci-dessus.

Concernant la mesure de CBF, il n'y a pas de perfusion visible au sein de l'implant sur l'acquisition pCASL effectuée à 2 semaines post-transplantation. Toutefois, un hypersignal est présent de manière localisée à certains endroits en périphérie de l'implant visiblement associé à un tissu pseudo-lésé (Figure 6.9).

Enfin, la Figure 6.10 présente les résultats des quantifications de CBF, FA, MD et RD pour les différentes régions étudiées et les rats de l'étude (à l'exception du rat B2N où l'implant PEG-500 a été repoussé vers l'extérieur du cerveau suite à une dilatation ventriculaire importante). Tout d'abord, on constate une augmentation significative du CBF au niveau du thalamus chez tous les sujets cérébro-lésés de l'étude par rapport à l'hémisphère controlatéral. La perfusion au niveau de l'hippocampe est elle plus basse chez tous les animaux à l'exception du rat B3N (avec un implant en PCL) où le débit est légèrement plus élevé.

Les rats avec les implants en PCL et en PEG-GLMA présentent des quantifications similaires et comparables au niveau des différentes régions étudiées à l'exception de l'hippocampe. Cette différence pourrait être expliquée par la différence de taille entre les deux implants et donc de volume occupé dans le cerveau (Implant en PCL : 6.25mm^3 , en PEG-GLMA : 6.88mm^3).

Les 3 matériaux (non éjectés) de l'étude chez le rongeur présentent des marqueurs de diffusion différents comparés à ceux observés chez le rat lésé sans implant (Figure 6.10). En effet, la présence de l'implant au niveau de la lésion tend à restreindre la diffusion des molécules d'eau (MD et RD plus faibles chez les rats greffés) et à impacter l'anisotropie de la diffusion liée à l'architecture des motifs 3D qui constituent l'implant. Le tissu péri-lésionnel présente globalement des caractéristiques intermédiaires entre le cœur de la lésion/implant par rapport à la ROI controlatérale avec des valeurs de diffusivité moyenne (MD) globalement plus faibles chez les rats greffés (associées à des valeurs de FA plus élevées) par rapport au rat lésé sans implant.

Au niveau du thalamus et de l'hippocampe, les résultats ne sont pas très cohérents et varient d'un sujet à l'autre dans cette étude en raison de la variabilité des conditions expérimentales. Cependant, on remarque, chez le rat B1N (avec l'implant PEG-200), des valeurs de MD et de RD particulièrement élevées par rapport à l'hémisphère controlatéral au niveau du thalamus (Figure 6.10). Cette différence de diffusivité révèle vraisemblablement une dégénérescence axonale au niveau du thalamus, également observée chez le rat lésé sans implant.

De plus, on constate, chez le rat B3R (avec l'implant PEG-GLMA), une augmentation de la FA et une diminution de la MD et la RD au niveau du thalamus et à deux semaines post-greffé de l'implant (Figure 6.10). Ce résultat, que l'on ne retrouve pas chez les autres animaux de l'étude, traduit une densité axonale élevée au niveau de l'hippocampe de l'hémisphère greffé induite par une compression de la structure sous l'effet de la transplantation.

Marmouset (Implant en PDMS) :

Malgré le faible rapport signal/bruit associé à la mesure du CBF sur le marmouset dans nos conditions d'acquisitions, un signal est visible autour et entre les implants en PDMS au niveau du site de la lésion (Figure 6.11). Lors de cette étude, l'implant, de part sa taille et le volume

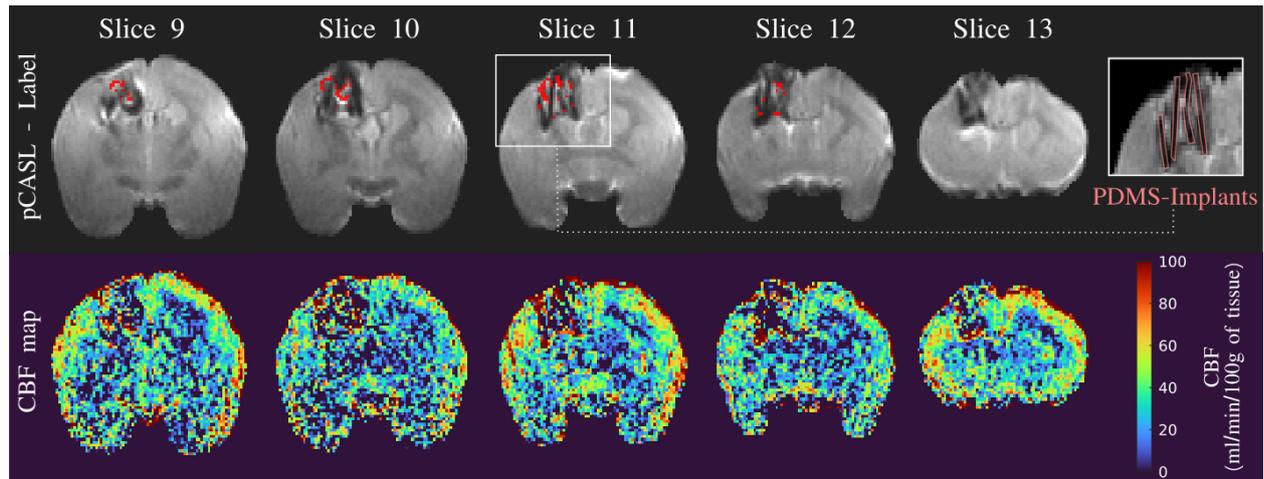


FIGURE 6.11 – Coupes coronales de CBF chez le marmouset cérébro-lésé avec des implants en PDMS greffés sur le site de la lésion.

qu'il occupe, contribue à la réduction du signal provenant du tissu reconstruit potentiellement présent au niveau de l'implant. Malgré cela, le CBF dans la lésion a été estimé à 36.30 ± 59.1 ml/min/100g de tissu contre 39.01 ± 32.8 ml/min/100g de tissu au niveau de la ROI controlatérale. Afin de distinguer les voxels présentant un signal ASL significativement plus important que le bruit intrinsèque de la méthode, un test statistique d'égalité des moyennes a été effectué entre le signal provenant d'un même voxel pour les 50 répétitions labels et contrôles. Les voxels au sein de la lésion vérifiant une p -value < 0.05 (Wilcoxon apparié) sont indiqués en rouge sur la Figure 6.11. Ces voxels se situent en bordures de lésion mais aussi entre les implants.

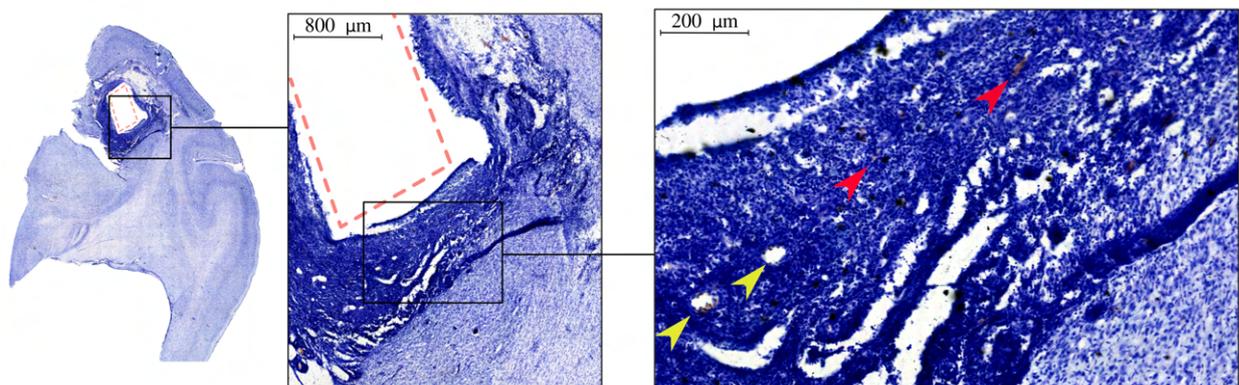


FIGURE 6.12 – Coupe histologique avec coloration au cresyl¹ de l'hémisphère lésé avec un implant en PDMS chez le marmouset. Zoom sur le tissu environnant de l'implant avec un réseau de capillaires établi visible avec présence d'hématies (les flèches jaunes et rouges indiquent respectivement des sections transversales et radiales au travers des vaisseaux).

1. Réalisée par Lorenne Robert, Assistante-Ingénieur à ToNIC.

6.4 Discussion

Cette étude s'inscrit dans le cadre d'un projet innovant qui vise à élaborer de nouvelles thérapies afin de stimuler la régénération neuronale après une atteinte focale au niveau du cortex moteur. L'approche actuellement envisagée repose sur l'utilisation d'implants guidants, biocompatibles et biodégradables. L'IRM, par son caractère non invasif et non ionisant, joue un rôle clé dans l'évaluation et le suivi de ces thérapies, notamment pour assurer leur transfert vers la recherche clinique.

Cette étude met en évidence des valeurs de perfusion très basses, mesurées par pCASL, au niveau de la lésion par rapport à l'hémisphère opposé (-30% de CBF). Ce résultat était attendu en raison de l'impact de la toxine entraînant une perte de substance dans le cerveau. Cependant, les valeurs mesurées au sein de la lésion sont non-nulles. Deux raisons principales peuvent expliquer ce résultat : le bruit intrinsèque lié à la méthode pCASL et l'effet de volume partiel induit par la taille des voxels. En outre, une petite fraction des spins marqués trouve son chemin vers la lésion via le réseau capillaire environnant et est susceptible de contribuer aussi au signal ASL mesuré.

Le suivi longitudinal par IRM d'un rat cérébro-lésé a été étudié jusqu'à 9 mois post-lésion. Cela a permis d'évaluer la stabilité de la lésion localisée au niveau du cortex moteur et la survenue d'éventuelles lésions secondaires au niveau du thalamus et de l'hippocampe. Nous avons constaté une perfusion élevée au niveau du thalamus probablement induite par une mauvaise régulation suite à la perte de matière au niveau de la lésion. Cette augmentation s'apparente à ce qui s'appelle une perfusion de luxe (*Luxury Perfusion*), où les apports sanguins dépassent les besoins énergétiques du tissu. Ce phénomène a été précédemment décrit dans des études cliniques chez des patients en phase subaiguë d'un AVC ischémique et provient d'un débit sanguin supérieur aux besoins énergétiques du tissu [36]. De plus, ce défaut de régulation a mis plus de 22 semaines à être compensé chez le rat lésé contrôle. Cependant, on observe aussi ce phénomène de perfusion de luxe avec des valeurs de CBF anormalement élevées, en périphérie de la lésion, au niveau du tissu "pseudo-lésé". Nous avons utilisé cette terminologie pour désigner les zones avec un signal en T_2w intermédiaire et une MD faible. Ces résultats sont représentatifs d'un gonflement cellulaire qui traduit une atteinte importante du tissu (oedème cytotoxique) et le déclenchement d'un processus inflammatoire [68], potentiellement responsables des valeurs élevées de débit visibles sur les cartes de CBF (Figure 6.3). Notons aussi que ce tissu a été observé par IRM chez les différents rongeurs de l'étude avec les mêmes caractéristiques : un signal T_2w intermédiaire, un CBF élevé et une diffusivité restreinte.

L'étude menée sur les rats cérébro-lésés et transplantés nécessite une analyse plus approfondie et une comparaison des observations obtenues par IRM avec une analyse histologique complète. Ainsi, nous pourrions mieux caractériser la nature des tissus observés, ainsi que l'environnement présent au sein des cavités des implants.

L'acquisition pCASL chez le marmouset cérébro-lésé et greffé avec des implants en PDMS a mis en évidence un signal ASL autour et entre les implants. Compte tenu du faible RSB, la présence

de possibles artefacts a été envisagée et/ou corrigée. Ainsi, avant la quantification du CBF (par le modèle de Buxton [19]), les volumes labels et contrôles ont été recalés afin de supprimer tous les artefacts liés au mouvement. L'effet des inhomogénéités du champ B_0 impacterait de manière similaire les acquisitions labels et contrôles. Les homogénéités possibles du champ B_1 sont aussi à exclure car les efficacités d'inversion sont comparables au niveau des carotides droite et gauche, respectivement de $84.6 \pm 7.2\%$ et $83.1 \pm 4.5\%$. Finalement, la présence avérée d'une perfusion détectée par les acquisitions pCASL est attestée par l'analyse histologique du tissu présent autour des implants. En effet, on remarque les signes d'une vascularisation (Figure 6.12 avec, en particulier, la présence d'hématies et de capillaires). Une analyse plus approfondie par marquage immuno-fluorescent permettra de visualiser les cellules endothéliales spécifiques aux vaisseaux.

6.5 Synthèse

Cette étude a mis en évidence l'intérêt de l'IRM de perfusion pour l'étude et le suivi longitudinal de l'angiogenèse qui accompagne la réparation/régénération tissulaire. En effet, la mesure du CBF permet d'avoir une information précoce sur la viabilité du tissu, avant que ce dernier ne devienne fonctionnel. De plus, l'IRM de perfusion a été combinée à l'acquisition par diffusion pour mieux caractériser les zones altérées.

Les acquisitions effectuées chez les rats greffés, et au vue des délais d'imagerie post-implantation, n'ont pas permis de distinguer un signal ASL au sein de l'implant. Cependant, le volume occupé par l'implant dans la lésion, qui ne donne pas de signal en ASL, réduit fortement le signal mesuré sur l'ensemble de la région. L'augmentation de la résolution spatiale ou du nombre de moyennage pourrait conduire à de meilleurs résultats, mais doit rester dans une limite raisonnable compte tenu du dépôt d'énergie élevé lié à la méthode.

En ce qui concerne la biocompatibilité des bio-implants, à l'exception du rat qui a montré les signes d'une réaction significative à un corps étranger, l'étude ne permet pas à ce stade de déterminer le candidat idéal en termes de réponse inflammatoire modérée et de dégradabilité. Par conséquent, les études futures comprendront un plus grand nombre d'animaux par condition et seront réalisées avec un suivi longitudinal plus long.

Par ailleurs, les résultats de cette étude soulignent la fiabilité de la mesure de perfusion par ASL dans le contexte d'une lésion provoquée par l'injection d'une toxine avec une altération locale de la barrière hémato-encéphalique. Le faible rapport signal/bruit intrinsèque de la méthode, qui représente un inconvénient majeur dans la détection de valeurs de débit relativement faibles, pourrait être compensé par l'utilisation d'une antenne réceptrice de type cryosonde plus performante.

Enfin, dans un contexte d'étude exploratoire et de faisabilité, l'examen histologique joue un rôle majeur pour valider le bien fondé des observations obtenues par IRM et la caractérisation de potentiels biomarqueurs. De plus, et afin de faciliter l'interprétabilité des IRM cérébrales en présence d'implant, il est important de réaliser des acquisitions préalables avec des implants fixés dans

une solution gélifiée. Cette technique permettrait de caractériser les propriétés électromagnétiques et la porosité des implants, en dehors du contexte chirurgical, qui pourrait causer des hémorragies ou des déformations de la structure de l'implant lors de la greffe.

Chapitre 7

Conclusion générale

7.1 Conclusion

Cette thèse s'articule autour de trois thèmes principaux : plusieurs développements méthodologiques autour de l'ASL, la validation du modèle de quantification simplifié du CBF en présence d'une barrière hémato-encéphalique ouverte et enfin, l'acquisition et le traitement de données IRM précliniques dans le cas d'un modèle préclinique d'AVC ischémique chez le rat.

Tout au long de cette étude, nous avons tenté d'analyser les différents paramètres qui influencent le RSB final des cartes de perfusion afin de les optimiser. L'étude a révélé que la séquence pCASL avec correction des phases inter-impulsions RF [55] permet d'obtenir des estimations robustes du CBF, chez le rat, la souris, et le marmouset. Bien que la séquence n'ait pas été développée initialement à cet effet, nous avons réussi à obtenir une estimation du temps de transit artériel chez le rat. Cette acquisition a aussi donné lieu à l'étude de l'erreur que l'on néglige en considérant un ATT uniforme et constant lors des acquisitions à PLD unique. Cette étude souligne la nécessité de réaliser des mesures d'ATT à basse résolution pour chaque animal, en plus de l'acquisition unique PLD pCASL, en particulier pour les études précliniques impliquant une atteinte possible du réseau artériel. L'étude de l'effet du temps de marquage (LT) fait également partie de l'optimisation des paramètres de la séquence pCASL en vue d'améliorer le RSB final. Les résultats obtenus chez le rat sont en accord avec la littérature [19, 149]. Ce travail démontre que l'allongement du temps de marquage présente un intérêt évident pour améliorer le RSB à bas débit sanguin, mais de façon plus limitée qu'à des débits élevés. De plus, sur la gamme des valeurs de temps de marquage considérée, nous n'avons pas trouvé de différence significative entre les valeurs de CBF moyen bien que le RSB spatial soit plus élevé pour les temps de marquage longs. Par ailleurs, les travaux réalisés chez le rat sur l'effet de la synchronisation du début du marquage avec l'ECG de l'animal n'ont pas révélé d'avantages visibles sur la stabilité temporelle du signal ASL.

L'étude de l'effet de l'hypothermie sur le débit sanguin cérébral a été réalisée pour étudier la variabilité interindividuelle de l'estimation du CBF par pCASL dans des conditions normoxiques et hyperoxiques chez la souris. Cette étude révèle une diminution significative du CBF liée à la baisse de la température de l'animal. En parallèle, nous avons mesuré l'effet de la température sur les temps de relaxation longitudinale du tissu cérébral qui intervient dans l'estimation du CBF

et qui diminue également en hypothermie. Les acquisitions n'ont également révélé aucune différence à 37°C entre le CBF mesuré en hypoxie et en hyperoxie, bien qu'elle soit associée à une fréquence cardiaque différente entre les deux conditions. Ce résultat est intéressant au regard des études cliniques réalisées chez l'homme, qui présentent une variabilité importante et un manque de consensus sur la conséquence de l'augmentation de la FiO_2 sur le débit sanguin cérébral.

Une partie de ce travail de thèse porte sur l'exploration de l'effet de l'ouverture de la BHE par des ultrasons combinés à l'injection de microbulles sur le flux sanguin cérébral chez le rat. Cette étude démontre que l'ouverture de la BHE par la méthode US+MS induit une hypoperfusion temporaire au niveau de l'hémisphère cible. De plus, une analyse spatio-temporelle des changements dans l'hypoperfusion a permis d'établir certains points de similitude avec le phénomène de dépression corticale. Des résultats associés à cette étude ont été présentés dans plusieurs conférences : en 2021 au congrès de la Société Française de Résonance Magnétique en Biologie et Médecine (SFRMBM) ainsi qu'au congrès de la Société européenne de résonance magnétique en médecine et en biologie (ESMRMB - *European Society for Magnetic Resonance in Medicine and Biology*) et enfin, en 2022 au congrès de la Société internationale de résonance magnétique en médecine (ISMRM - *International Society for Magnetic Resonance in Medicine*) [75], en plus d'un article en cours de révision [76].

Enfin, la mesure de perfusion par pCASL réalisée sur des animaux cérébro-lésés souligne l'intérêt de cette méthode pour la caractérisation de l'angiogenèse qui favorise la réparation et la régénération du tissu lésé. Dans le cadre des travaux de l'équipe iDREAM, qui sont fortement orientés vers la recherche de thérapies innovantes pour stimuler et favoriser la récupération motrice post-AVC, la séquence pCASL représente un indicateur fiable de la viabilité du tissu cérébral. Les acquisitions réalisées, principalement exploratoires, devront être validées ultérieurement par une analyse histologique approfondie.

7.2 Perspectives

D'un point de vue méthodologique, la séquence pCASL [55] utilisée dans le cadre de ces travaux de thèse répond parfaitement aux problématiques de l'ASL à haut champ (sensibilité aux effets d'off-résonance) et a permis d'obtenir des cartes de perfusion chez le rat, la souris et le marmouset. Cependant, des acquisitions supplémentaires pour l'estimation de l'ATT, avec des acquisitions pCASL multi-PLD à basse résolution, amélioreraient la robustesse de la mesure en réduisant les hypothèses considérées. Par ailleurs, et afin de se conformer aux recommandations du document de consensus sur les pratiques relatives à l'utilisation de l'ASL en clinique [3], un module de lecture 3D devrait être implémenté à la place de la présente lecture 2D. Cela pourrait contribuer à améliorer le RSB sur les cartes de perfusion obtenues mais aussi, à supprimer l'effet de la durée entre l'acquisition des différentes coupes du volume. En effet, sur les acquisitions 2D, bien que le PLD effectif de chaque coupe soit corrigé en aval en fonction du temps inter-coupes, le RSB peut

être très fortement impacté notamment en présence de plusieurs coupes d'imagerie. Par ailleurs, l'étude de l'effet de l'hypothermie sur l'estimation du CBF a permis de souligner l'importance de la mesure du T_1 du tissu pour une mesure robuste du CBF par ASL. Cependant, et malgré les défis méthodologiques importants que cela implique, nous pensons qu'il serait préférable d'effectuer une mesure *in-vivo* du T_1 du sang artériel. Des mesures *in-vivo* au niveau des carotides sont envisageables [87] mais nécessitent d'être approfondies et leur effet sur la reproductibilité de la mesure du CBF validé.

Les méthodes d'ASL présentent un intérêt croissant pour l'estimation du débit sanguin cérébral, qui constitue un biomarqueur majeur dans l'étude de diverses pathologies neurologiques, mais aussi, parce qu'il représente une étape clé vers la quantification de la consommation métabolique d'oxygène ($CMRO_2$). La quantification de la $CMRO_2$ à travers les méthodes d'IRM multiparamétrique quantitative dépendante du niveau d'oxygène dans le sang (mqBOLD) combinées à l'ASL, est un indicateur fondamental du fonctionnement normal du cerveau. Nous pensons que la mise en place d'un pipeline de mesure de la $CMRO_2$ est une étape nécessaire pour une caractérisation complète de la viabilité des tissus dans le modèle préclinique d'AVC ischémique. Différentes méthodes existent pour évaluer ce paramètre par IRM, comme l'utilisation d'un agent de contraste paramagnétique pour l'estimation de la SO_2 au niveau du tissu, afin d'obtenir une estimation locale de la $CMRO_2$. Cependant, les méthodes ne nécessitant pas une injection de produit de contraste sont préférables, compte tenu de l'effet inconnu que cela pourrait avoir sur le cerveau, mais aussi du coût conséquent occasionné par ces acquisitions. Plusieurs méthodes ont été développées ces dernières années en recherche clinique, basées sur le principe de l'ASL, pour obtenir une quantification du CBV [85], mais peu ont été testées en pratique en recherche préclinique.

Enfin, la méthode de mesure de perfusion testée et validée durant ce travail de thèse, constituera sans doute un outil intéressant dans l'étude de la régénération du tissu cérébral post-AVC. Toutefois, une étude longitudinale portant sur un plus grand nombre d'animaux et une analyse histologique à différents stades de l'étude mériteraient d'être réalisées. De plus, une association de la mesure ASL avec des acquisitions IRMf d'activation ciblant le déficit moteur induit par la lésion serait très pertinente pour mettre en évidence la fonctionnalité du tissu régénéré. L'ASL et l'IRMf, combinées à des études comportementales, devraient permettre de caractériser pleinement le processus de récupération motrice dans le modèle préclinique d'AVC ischémique chez le rat provoqué par l'injection intracérébrale de malonate.

Bibliographie

- [1] Agessandro ABRAHAO et al. « First-in-human trial of blood–brain barrier opening in amyotrophic lateral sclerosis using MR-guided focused ultrasound ». In : *Nature communications* 10.1 (2019), p. 1-9.
- [2] Joseph SR ALISCH et al. « Sex and age-related differences in cerebral blood flow investigated using pseudo-continuous arterial spin labeling magnetic resonance imaging ». In : *Aging (Albany NY)* 13.4 (2021), p. 4911.
- [3] David C ALSOP et al. « Recommended implementation of arterial spin-labeled perfusion MRI for clinical applications : a consensus of the ISMRM perfusion study group and the European consortium for ASL in dementia ». In : *Magnetic resonance in medicine* 73.1 (2015), p. 102-116.
- [4] John ASHBURNER et al. « SPM12 manual ». In : *Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, London, UK* 2464 (2014), p. 4.
- [5] Sina ASLAN et al. « Estimation of labeling efficiency in pseudocontinuous arterial spin labeling ». In : *Magnetic resonance in medicine* 63.3 (2010), p. 765-771.
- [6] Brian B AVANTS, Nick TUSTISON, Gang SONG et al. « Advanced normalization tools (ANTS) ». In : *Insight j* 2.365 (2009), p. 1-35.
- [7] Praveen BALLABH, Alex BRAUN et Maiken NEDERGAARD. « The blood–brain barrier : an overview : structure, regulation, and clinical implications ». In : *Neurobiology of disease* 16.1 (2004), p. 1-13.
- [8] Emmanuel L BARBIER, Laurent LAMALLE et Michel DÉCORPS. « Methodology of brain perfusion imaging ». In : *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 13.4 (2001), p. 496-520.
- [9] Emmanuel L BARBIER et al. « Perfusion imaging using dynamic arterial spin labeling (DASL) ». In : *Magnetic Resonance in Medicine* 45.6 (2001), p. 1021-1029.
- [10] Kevin BECCARIA et al. « Opening of the blood-brain barrier with an unfocused ultrasound device in rabbits ». In : *Journal of neurosurgery* 119.4 (2013), p. 887-898.
- [11] A BERT et al. « The marmoset monkey : a multi-purpose preclinical and translational model of human biology and disease ». In : *Drug discovery today* 17.21-22 (2012), p. 1160-1165.

- [12] Gergely BERTALAN et al. « The influence of body temperature on tissue stiffness, blood perfusion, and water diffusion in the mouse brain ». In : *Acta Biomaterialia* 96 (2019), p. 412-420.
- [13] C BIRKL et al. « Temperature dependency of T1 relaxation time in unfixed and fixed human brain tissue ». In : *Biomedical Engineering/Biomedizinische Technik* 58.SI-1-Track-L (2013), p. 000010151520134290.
- [14] F. BLOCH. « Nuclear Induction ». In : *Phys. Rev.* 70 (7-8 oct. 1946), p. 460-474. DOI : [10.1103/PhysRev.70.460](https://doi.org/10.1103/PhysRev.70.460). URL : <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRev.70.460>.
- [15] Ajna BOROGOVAC et Iris ASLLANI. « Arterial Spin Labeling (ASL) fMRI : Advantages, Theoretical Constrains and Experimental Challenges in Neurosciences ». In : *International journal of biomedical imaging* 2012 (fév. 2012), p. 658101. DOI : [10.1155/2012/658101](https://doi.org/10.1155/2012/658101).
- [16] Fabien BOUX. « Méthodes statistiques pour l'imagerie vasculaire par résonance magnétique : application au cerveau épileptique ». Thèse de doct. Université Grenoble Alpes, 2020.
- [17] Clément BROSSARD et al. « MP3 : medical software for processing Multi-Parametric images pipelines ». In : *Frontiers in Neuroinformatics* 14 (2020), p. 594799.
- [18] Daniel P BULTE et al. « Cerebral perfusion response to hyperoxia ». In : *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 27.1 (2007), p. 69-75.
- [19] Richard B BUXTON et al. « A general kinetic model for quantitative perfusion imaging with arterial spin labeling ». In : *Magnetic Resonance in Medicine* 40.3 (1998), p. 383-396.
- [20] Yu-zhe CAI et al. « Diagnostic value of renal perfusion in patients with chronic kidney disease using 3D arterial spin labeling ». In : *Journal of magnetic resonance imaging* 46.2 (2017), p. 589-594.
- [21] Fernando CALAMANTE. « Arterial input function in perfusion MRI : a comprehensive review ». In : *Progress in nuclear magnetic resonance spectroscopy* 74 (2013), p. 1-32.
- [22] Hanbing CHEN et al. « A meta-analysis of the effects of therapeutic hypothermia in adult patients with traumatic brain injury ». In : *Critical Care* 23.1 (2019), p. 1-12.
- [23] Ko-Ting CHEN, Kuo-Chen WEI et Hao-Li LIU. « Theranostic strategy of focused ultrasound induced blood-brain barrier opening for CNS disease treatment ». In : *Frontiers in pharmacology* 10 (2019), p. 86.
- [24] Zhiye CHEN et al. « Evaluation of gray matter perfusion in episodic migraine using voxel-wise comparison of 3D pseudo-continuous arterial spin labeling ». In : *The journal of headache and pain* 19.1 (2018), p. 1-8.

- [25] Thomas CHRISTEN et al. « High-resolution cerebral blood volume imaging in humans using the blood pool contrast agent ferumoxytol ». In : *Magnetic resonance in medicine* 70.3 (2013), p. 705-710.
- [26] Nina COLITTI et al. « Long-Term Intranasal Nerve Growth Factor Treatment Favors Neuron Formation in de novo Brain Tissue ». In : *Frontiers in Cellular Neuroscience* 16 (2022).
- [27] Christopher M COLLINS et Zhangwei WANG. « Calculation of radiofrequency electromagnetic fields and their effects in MRI of human subjects ». In : *Magnetic resonance in medicine* 65.5 (2011), p. 1470-1482.
- [28] David COSGROVE et Nathalie LASSAU. « Imaging of perfusion using ultrasound ». In : *European journal of nuclear medicine and molecular imaging* 37.1 (2010), p. 65-85.
- [29] LE CROOKS et al. « Magnetic resonance imaging : effects of magnetic field strength. » In : *Radiology* 151.1 (1984), p. 127-133.
- [30] Weiyang DAI, Ajit SHANKARANARAYANAN et David C ALSOP. « Volumetric measurement of perfusion and arterial transit delay using hadamard encoded continuous arterial spin labeling ». In : *Magnetic resonance in medicine* 69.4 (2013), p. 1014-1022.
- [31] Weiyang DAI et al. « Continuous flow-driven inversion for arterial spin labeling using pulsed radio frequency and gradient fields ». In : *Magnetic Resonance in Medicine* 60.6 (2008), p. 1488-1497.
- [32] Weiyang DAI et al. « Effects of arterial transit delay on cerebral blood flow quantification using arterial spin labeling in an elderly cohort ». In : *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 45.2 (2017), p. 472-481.
- [33] Weiyang DAI et al. « Reduced resolution transit delay prescan for quantitative continuous arterial spin labeling perfusion imaging ». In : *Magnetic resonance in medicine* 67.5 (2012), p. 1252-1265.
- [34] Raymond DAMADIAN. « Tumor detection by nuclear magnetic resonance ». In : *Science* 171.3976 (1971), p. 1151-1153.
- [35] Carole DAVOUST et al. « Regenerative potential of primary adult human neural stem cells on micropatterned bio-implants boosts motor recovery ». In : *Stem cell research & therapy* 8.1 (2017), p. 1-14.
- [36] AR DEIBLER et al. « Arterial spin-labeling in routine clinical practice, part 3 : hyperperfusion patterns ». In : *American Journal of Neuroradiology* 29.8 (2008), p. 1428-1435.
- [37] John A DETRE et al. « Applications of arterial spin labeled MRI in the brain ». In : *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 35.5 (2012), p. 1026-1037.
- [38] John A DETRE et al. « Perfusion imaging ». In : *Magnetic resonance in medicine* 23.1 (1992), p. 37-45.

- [39] Georg DEUTSCH et al. « Regional stability of cerebral blood flow measured by repeated technetium-99m-HMPAO SPECT : implications for the study of state-dependent change ». In : *Journal of Nuclear Medicine* 38.1 (1997), p. 6-13.
- [40] Ben R DICKIE, Geoff JM PARKER et Laura M PARKES. « Measuring water exchange across the blood-brain barrier using MRI ». In : *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* 116 (2020), p. 19-39.
- [41] Matthias A DIERINGER et al. « Rapid parametric mapping of the longitudinal relaxation time T1 using two-dimensional variable flip angle magnetic resonance imaging at 1.5 Tesla, 3 Tesla, and 7 Tesla ». In : *PLoS One* 9.3 (2014), e91318.
- [42] W Thomas DIXON et al. « Projection angiograms of blood labeled by adiabatic fast passage ». In : *Magnetic resonance in medicine* 3.3 (1986), p. 454-462.
- [43] Mircea C DOBRE, Kâmil UĞURBIL et Malgorzata MARJANSKA. « Determination of blood longitudinal relaxation time (T1) at high magnetic field strengths ». In : *Magnetic resonance imaging* 25.5 (2007), p. 733-735.
- [44] Odilo ENGEL et al. « Modeling stroke in mice-middle cerebral artery occlusion with the filament model ». In : *JoVE (Journal of Visualized Experiments)* 47 (2011), e2423.
- [45] Stephane EPELBAUM et al. « Pilot study of repeated blood-brain barrier disruption in patients with mild Alzheimer's disease with an implantable ultrasound device ». In : *Alzheimer's Research & Therapy* 14.1 (2022), p. 1-13.
- [46] Audrey P FAN et al. « Long-delay arterial spin labeling provides more accurate cerebral blood flow measurements in moyamoya patients : a simultaneous positron emission tomography/MRI study ». In : *Stroke* 48.9 (2017), p. 2441-2449.
- [47] Jens FIEHLER et al. « Cerebral blood flow predicts lesion growth in acute stroke patients ». In : *Stroke* 33.10 (2002), p. 2421-2425.
- [48] Caroline FONTA et al. « Effect of ageing on the cerebral hemodynamics in the marmoset monkey ». In : *FENS Forum* 2022. 2022.
- [49] Fernando Pavel GONZÁLEZ-IBARRA, Joseph VARON et Elmer G LÓPEZ-MEZA. « Therapeutic hypothermia : critical review of the molecular mechanisms of action ». In : *Frontiers in neurology* 2 (2011), p. 4.
- [50] Lelio GUIDA et al. « Hemodynamic Imaging in Cerebral Diffuse Glioma—Part A : Concept, Differential Diagnosis and Tumor Grading ». In : *Cancers* 14.6 (2022), p. 1432.
- [51] M GÜNTHER. « Highly efficient accelerated acquisition of perfusion inflow series by cycled arterial spin labeling ». In : *Proc Intl Soc Mag Reson Med*. T. 15. 2007, p. 380.
- [52] Erwin L HAHN. « Spin echoes ». In : *Physical review* 80.4 (1950), p. 580.

- [53] RM HENKELMAN, GJ STANISZ et SJ GRAHAM. « Magnetization transfer in MRI : a review ». In : *NMR in Biomedicine : An International Journal Devoted to the Development and Application of Magnetic Resonance In Vivo* 14.2 (2001), p. 57-64.
- [54] Peter HERSCOVITCH et Marcus E RAICHLE. « What is the correct value for the brain-blood partition coefficient for water ? » In : *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 5.1 (1985), p. 65-69.
- [55] Lydiane HIRSCHLER. « Developments in preclinical arterial spin labeling ». Thèse de doct. Université Grenoble Alpes (ComUE), 2017.
- [56] Lydiane HIRSCHLER et al. « Interpulse phase corrections for unbalanced pseudo-continuous arterial spin labeling at high magnetic field ». In : *Magnetic Resonance in Medicine* 79.3 (2018), p. 1314-1324.
- [57] Lydiane HIRSCHLER et al. « SAR comparison between CASL and pCASL at high magnetic field and evaluation of the benefit of a dedicated labeling coil ». In : *Magnetic Resonance in Medicine* 83.1 (2020), p. 254-261.
- [58] Lydiane HIRSCHLER et al. « Transit time mapping in the mouse brain using time-encoded pCASL ». In : *NMR in Biomedicine* 31.2 (2018), e3855.
- [59] Jun HUA et al. « Quantitative description of the asymmetry in magnetization transfer effects around the water resonance in the human brain ». In : *Magnetic Resonance in Medicine* 58.4 (2007), p. 786-793.
- [60] Hesamoddin JAHANIAN, Douglas C NOLL et Luis HERNANDEZ-GARCIA. « B0 field inhomogeneity considerations in pseudo-continuous arterial spin labeling (pCASL) : effects on tagging efficiency and correction strategy ». In : *NMR in Biomedicine* 24.10 (2011), p. 1202-1209.
- [61] Geon-Ho JAHNG et al. « Perfusion magnetic resonance imaging : a comprehensive update on principles and techniques ». In : *Korean journal of radiology* 15.5 (2014), p. 554-577.
- [62] Li JIANG et al. « Reliability and reproducibility of perfusion MRI in cognitively normal subjects ». In : *Magnetic resonance imaging* 28.9 (2010), p. 1283-1289.
- [63] Q JIANG et al. « The effect of hypothermia on transient focal ischemia in rat brain evaluated by diffusion-and perfusion-weighted NMR imaging ». In : *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 14.5 (1994), p. 732-741.
- [64] G Allan JOHNSON et al. « Waxholm space : an image-based reference for coordinating mouse brain research ». In : *Neuroimage* 53.2 (2010), p. 365-372.
- [65] Youngkyoo JUNG, Eric C WONG et Thomas T LIU. « Multiphase pseudocontinuous arterial spin labeling (MP-PCASL) for robust quantification of cerebral blood flow ». In : *Magnetic resonance in medicine* 64.3 (2010), p. 799-810.

- [66] Meher R JUTTUKONDA et al. « Characterizing cerebral hemodynamics across the adult lifespan with arterial spin labeling MRI data from the Human Connectome Project-Aging ». In : *Neuroimage* 230 (2021), p. 117807.
- [67] Bruno KASTLER et al. *Comprendre l'IRM*. Elsevier, 2011.
- [68] Masahito KAWABORI et Midori A YENARI. « Inflammatory responses in brain ischemia ». In : *Current medicinal chemistry* 22.10 (2015), p. 1258-1277.
- [69] Seong-Gi KIM. « Quantification of relative cerebral blood flow change by flow-sensitive alternating inversion recovery (FAIR) technique : application to functional mapping ». In : *Magnetic resonance in medicine* 34.3 (1995), p. 293-301.
- [70] Frank KOBER et al. « Myocardial arterial spin labeling ». In : *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance* 18.1 (2016), p. 1-16.
- [71] Masamichi KOYAMA et al. « SPECT imaging of normal subjects with technetium-99m-HMPAO and technetium-99m-ECD ». In : *Journal of nuclear medicine* 38.4 (1997), p. 587-592.
- [72] Dorothee KREIS et al. « Assessment of parameters influencing the blood flow velocities in cerebral arteries of the rat using ultrasonographic examination ». In : *Neurological Research* 33.4 (2011), p. 389-395.
- [73] Lisa C KRISHNAMURTHY et al. « Dependence of blood T2 on oxygenation at 7 T : in vitro calibration and in vivo application ». In : *Magnetic resonance in medicine* 71.6 (2014), p. 2035-2042.
- [74] Kenneth K KWONG et al. « MR perfusion studies with T1-weighted echo planar imaging ». In : *Magnetic Resonance in Medicine* 34.6 (1995), p. 878-887.
- [75] Wafae LABRIJI et al. « Evidence of a cortical hypoperfusion spreading following local ultrasound Blood Brain Barrier opening in the rat brain. » In : *Proc. ISMRM 31st Annu. Meet. London, England, UK* (2022).
- [76] Wafae LABRIJI et al. « Submitted article : Evidence of cerebral hypoperfusion consecutive to ultrasound-mediated blood-brain barrier opening in rats ». In : *Magnetic resonance in medicine* (2022).
- [77] Martina LADROVA et al. « Monitoring and synchronization of cardiac and respiratory traces in magnetic resonance imaging : a review ». In : *IEEE Reviews in Biomedical Engineering* 15 (2021), p. 200-221.
- [78] James R LARKIN et al. « Quantitative blood flow measurement in rat brain with multiphase arterial spin labelling magnetic resonance imaging ». In : *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 39.8 (2019), p. 1557-1569.

- [79] Paul C LAUTERBUR. « Image formation by induced local interactions : examples employing nuclear magnetic resonance ». In : *nature* 242.5394 (1973), p. 190-191.
- [80] Denis LE BIHAN et al. « MR imaging of intravoxel incoherent motions : application to diffusion and perfusion in neurologic disorders. » In : *Radiology* 161.2 (1986), p. 401-407.
- [81] Alice LE FRIEC. « Evolution of corticospinal tract integrity in stroked marmoset monkeys : Towards a bioimplant and stem cell therapeutic strategy ». Thèse de doct. Toulouse 3, 2020.
- [82] Alice LE FRIEC et al. « A reproducible new model of focal ischemic injury in the marmoset monkey : MRI and behavioural follow-up ». In : *Translational Stroke Research* 12.1 (2021), p. 98-111.
- [83] Alice LE FRIEC et al. « Enhancing plasticity of the central nervous system : drugs, stem cell therapy, and neuro-implants ». In : *Neural plasticity* 2017 (2017).
- [84] R Marc LEBEL et al. « The many advantages of arterial spin labeling with long label duration ». In : *Proceedings of the 23rd Annual Meeting of the ISMRM, Toronto, Canada*. 2015, p. 2333.
- [85] Hyunyeol LEE et Felix W WEHRLI. « Venous cerebral blood volume mapping in the whole brain using venous-spin-labeled 3D turbo spin echo ». In : *Magnetic Resonance in Medicine* 84.4 (2020), p. 1991-2003.
- [86] Jin-Moo LEE et al. « Brain tissue responses to ischemia ». In : *The Journal of clinical investigation* 106.6 (2000), p. 723-731.
- [87] Wenbo LI et al. « Fast measurement of blood T1 in the human carotid artery at 3T : Accuracy, precision, and reproducibility ». In : *Magnetic resonance in medicine* 77.6 (2017), p. 2296-2302.
- [88] Yang LI et al. « Cardiac-triggered pseudo-continuous arterial-spin-labeling : a cost-effective scheme to further enhance the reliability of arterial-spin-labeling MRI ». In : *Magnetic resonance in medicine* 80.3 (2018), p. 969-975.
- [89] Yáo T LI et al. « Liver intravoxel incoherent motion (IVIM) magnetic resonance imaging : a comprehensive review of published data on normal values and applications for fibrosis and tumor evaluation ». In : *Quantitative imaging in medicine and surgery* 7.1 (2017), p. 59.
- [90] Ai-Ling LIN et al. « Blood longitudinal (T 1) and transverse (T 2) relaxation time constants at 11.7 Tesla ». In : *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine* 25.3 (2012), p. 245-249.
- [91] Cirong LIU et al. « A resource for the detailed 3D mapping of white matter pathways in the marmoset brain ». In : *Nature neuroscience* 23.2 (2020), p. 271-280.

- [92] Thomas T LIU et Gregory G BROWN. « Measurement of cerebral perfusion with arterial spin labeling : Part 1. Methods ». In : *Journal of the International Neuropsychological Society* 13.3 (2007), p. 517-525.
- [93] Wen-Ming LUH et al. « Pseudo-continuous arterial spin labeling at 7 T for human brain : estimation and correction for off-resonance effects using a Prescan ». In : *Magnetic Resonance in Medicine* 69.2 (2013), p. 402-410.
- [94] Peter MANSFIELD et Peter K GRANNELL. « NMR'diffraction'in solids ? » In : *Journal of Physics C : solid state physics* 6.22 (1973), p. L422.
- [95] Wei MAO et al. « Intravoxel incoherent motion diffusion-weighted imaging for the assessment of renal fibrosis of chronic kidney disease : a preliminary study ». In : *Magnetic resonance imaging* 47 (2018), p. 118-124.
- [96] Ashima MITTAL et al. « Role of interictal arterial spin labeling magnetic resonance perfusion in mesial temporal lobe epilepsy ». In : *Annals of Indian Academy of Neurology* 24.4 (2021), p. 495.
- [97] TR NELSON et SM TUNG. « Temperature dependence of proton relaxation times in vitro ». In : *Magnetic resonance imaging* 5.3 (1987), p. 189-199.
- [98] Di NINGNING et al. « Perfusion imaging of brain gliomas using arterial spin labeling : correlation with histopathological vascular density in MRI-guided biopsies ». In : *Neuroradiology* 59.1 (2017), p. 51-59.
- [99] Tomoyuki NOGUCHI et al. « Arterial spin-labeling in central nervous system infection ». In : *Magnetic Resonance in Medical Sciences* (2016), mp-2015.
- [100] Seiji OGAWA et al. « Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. » In : *proceedings of the National Academy of Sciences* 87.24 (1990), p. 9868-9872.
- [101] William M PARDRIDGE. « The blood-brain barrier : bottleneck in brain drug development ». In : *NeuroRx* 2.1 (2005), p. 3-14.
- [102] Laura M PARKES et Paul S TOFTS. « Improved accuracy of human cerebral blood perfusion measurements using arterial spin labeling : accounting for capillary water permeability ». In : *Magnetic Resonance in Medicine* 48.1 (2002), p. 27-41.
- [103] Laura M PARKES et al. « Normal cerebral perfusion measurements using arterial spin labeling : reproducibility, stability, and age and gender effects ». In : *Magnetic Resonance in Medicine* 51.4 (2004), p. 736-743.
- [104] Tomas PARTINGTON et Andrew FARMERY. « Intracranial pressure and cerebral blood flow ». In : *Anaesthesia & Intensive Care Medicine* 15.4 (2014), p. 189-194.

- [105] Cynthia B PASCHAL et H Douglas MORRIS. « K-space in the clinic ». In : *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 19.2 (2004), p. 145-159.
- [106] Mathieu PASQUIER et al. « Vital signs in accidental hypothermia ». In : *High Altitude Medicine & Biology* 22.2 (2021), p. 142-147.
- [107] George PAXINOS, Charles RR WATSON et Piers C EMSON. « AChE-stained horizontal sections of the rat brain in stereotaxic coordinates ». In : *Journal of neuroscience methods* 3.2 (1980), p. 129-149.
- [108] James PEKAR et al. « Perfusion imaging with compensation for asymmetric magnetization transfer effects ». In : *Magnetic resonance in medicine* 35.1 (1996), p. 70-79.
- [109] Antonios N POULIOPOULOS et al. « Safety evaluation of a clinical focused ultrasound system for neuronavigation guided blood-brain barrier opening in non-human primates ». In : *Scientific reports* 11.1 (2021), p. 1-17.
- [110] S PUENTES et al. « Internal capsule stroke in the common marmoset ». In : *Neuroscience* 284 (2015), p. 400-411.
- [111] E. M. PURCELL, H. C. TORREY et R. V. POUND. « Resonance Absorption by Nuclear Magnetic Moments in a Solid ». In : *Phys. Rev.* 69 (1-2 jan. 1946), p. 37-38. DOI : [10.1103/PhysRev.69.37](https://doi.org/10.1103/PhysRev.69.37). URL : <https://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRev.69.37>.
- [112] Swati RANE et al. « Arterial spin labeling detects perfusion patterns related to motor symptoms in Parkinson's disease ». In : *Parkinsonism & related disorders* 76 (2020), p. 21-28.
- [113] Swati D RANE et John C GORE. « Measurement of T1 of human arterial and venous blood at 7 T ». In : *Magnetic resonance imaging* 31.3 (2013), p. 477-479.
- [114] Ahmed Abdel Khalek Abdel RAZEK et al. « Clinical applications of arterial spin labeling in brain tumors ». In : *Journal of computer assisted tomography* 43.4 (2019), p. 525-532.
- [115] Moshe ROGOSNITZKY et Stacy BRANCH. « Gadolinium-based contrast agent toxicity : a review of known and proposed mechanisms ». In : *Biometals* 29.3 (2016), p. 365-376.
- [116] Bruce R ROSEN et al. « Perfusion imaging with NMR contrast agents ». In : *Magnetic resonance in medicine* 14.2 (1990), p. 249-265.
- [117] Gaël SAÏB, Alan P KORETSKY et S Lalith TALAGALA. « Optimization of pseudo-continuous arterial spin labeling using off-resonance compensation strategies at 7T ». In : *Magnetic Resonance in Medicine* 87.4 (2022), p. 1720-1730.
- [118] Samantha SCHAEFFER et Costantino IADECOLA. « Revisiting the neurovascular unit ». In : *Nature Neuroscience* 24.9 (2021), p. 1198-1209.

- [119] Nathalie SIAUVE et al. « Assessment of human placental perfusion by intravoxel incoherent motion MR imaging ». In : *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine* 32.2 (2019), p. 293-300.
- [120] Afonso C SILVA et al. « Multi-slice MRI of rat brain perfusion during amphetamine stimulation using arterial spin labeling ». In : *Magnetic resonance in medicine* 33.2 (1995), p. 209-214.
- [121] Bob SMIT et al. « Effects of hyperoxia on vascular tone in animal models : systematic review and meta-analysis ». In : *Critical Care* 22.1 (2018), p. 1-16.
- [122] Eiji TADAMURA et al. « Effect of oxygen inhalation on relaxation times in various tissues ». In : *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 7.1 (1997), p. 220-225.
- [123] Wouter M TEEUWISSE, Andrew G WEBB et Matthias JP van OSCH. « Arterial spin labeling at ultra-high field : all that glitters is not gold ». In : *International Journal of Imaging Systems and Technology* 20.1 (2010), p. 62-70.
- [124] Wouter M TEEUWISSE et al. « 2-shim or not 2-shim, that is a question in pseudo continuous arterial spin labeling ». In : *Proc. ISMRM 22rd Annu. Meet. Milan, Italy* 24 (2014), p. 4808.
- [125] Wouter M TEEUWISSE et al. « Time-encoded pseudocontinuous arterial spin labeling : basic properties and timing strategies for human applications ». In : *Magnetic resonance in medicine* 72.6 (2014), p. 1712-1722.
- [126] David L THOMAS et al. « Regional variation of cerebral blood flow and arterial transit time in the normal and hypoperfused rat brain measured using continuous arterial spin labeling MRI ». In : *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 26.2 (2006), p. 274-282.
- [127] Nick TODD et al. « Secondary effects on brain physiology caused by focused ultrasound-mediated disruption of the blood-brain barrier ». In : *Journal of Controlled Release* 324 (2020), p. 450-459.
- [128] Nick TODD et al. « The neurovascular response is attenuated by focused ultrasound-mediated disruption of the blood-brain barrier ». In : *Neuroimage* 201 (2019), p. 116010.
- [129] Jasper VERBREE et Matthias JP van OSCH. « Influence of the cardiac cycle on pCASL : cardiac triggering of the end-of-labeling ». In : *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine* 31.1 (2018), p. 223-233.
- [130] Jiongjiong WANG et al. « Comparison of quantitative perfusion imaging using arterial spin labeling at 1.5 and 4.0 Tesla ». In : *Magnetic Resonance in Medicine* 48.2 (2002), p. 242-254.
- [131] Yanchao WANG, Hong TAN et Xuhui HUI. « Biomaterial scaffolds in regenerative therapy of the central nervous system ». In : *BioMed research international* 2018 (2018).

- [132] Yasuyoshi WATANABE, Benita B HYLLBRANT et Bengt LÅNGSTRÖM. « Tracing oxygen metabolism by use of positron emitter Oxygen-15 ». In : *Biochemical and biophysical research communications* 231.1 (1997), p. 131-134.
- [133] Jonathan M WATTS, Christopher T WHITLOW et Joseph A MALDJIAN. « Clinical applications of arterial spin labeling ». In : *NMR in Biomedicine* 26.8 (2013), p. 892-900.
- [134] Hong-Jian WEI et al. « Focused ultrasound-mediated blood-brain barrier opening increases delivery and efficacy of etoposide for glioblastoma treatment ». In : *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics* 110.2 (2021), p. 539-550.
- [135] Jack A WELLS et al. « In vivo Hadamard encoded continuous arterial spin labeling (H-CASL) ». In : *Magnetic Resonance in Medicine* 63.4 (2010), p. 1111-1118.
- [136] Donald S WILLIAMS et al. « Magnetic resonance imaging of perfusion using spin inversion of arterial water ». In : *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89.1 (1992), p. 212-216.
- [137] Max WINTERMARK et al. « Comparative overview of brain perfusion imaging techniques ». In : *Stroke* 36.9 (2005), e83-e99.
- [138] Eric C WONG. « Vessel-encoded arterial spin-labeling using pseudocontinuous tagging ». In : *Magnetic Resonance in Medicine* 58.6 (2007), p. 1086-1091.
- [139] PJ WRIGHT et al. « Water proton T₁ measurements in brain tissue at 7, 3, and 1.5 T using IR-EPI, IR-TSE, and MPRAGE : results and optimization ». In : *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine* 21.1 (2008), p. 121-130.
- [140] Wen-Chau WU et al. « A theoretical and experimental investigation of the tagging efficiency of pseudocontinuous arterial spin labeling ». In : *Magnetic Resonance in Medicine* 58.5 (2007), p. 1020-1027.
- [141] Wen-Chau WU et al. « Physiological modulations in arterial spin labeling perfusion magnetic resonance imaging ». In : *IEEE transactions on medical imaging* 28.5 (2009), p. 703-709.
- [142] Cecil Chern-Chyi YEN, Wen-Yang CHIANG et Afonso C SILVA. « Measuring of Whole Brain Perfusion in the Awake Marmoset Using Continuous Arterial Spin Labeling ». In : *Proc. ISMRM 25rd Annu. Meet. Honolulu, HI, USA* (2017), p. 2180.
- [143] Greg ZAHARCHUK et al. « Arterial spin-labeling MRI can identify the presence and intensity of collateral perfusion in patients with moyamoya disease ». In : *Stroke* 42.9 (2011), p. 2485-2491.
- [144] Weiguo ZHANG et al. « NMR measurement of perfusion using arterial spin labeling without saturation of macromolecular spins ». In : *Magnetic resonance in medicine* 33.3 (1995), p. 370-376.

-
- [145] Xiaodong ZHANG et al. « Quantitative basal CBF and CBF fMRI of rhesus monkeys using three-coil continuous arterial spin labeling ». In : *Neuroimage* 34.3 (2007), p. 1074-1083.
- [146] Xiaofei ZHANG et al. « In vivo blood T1 measurements at 1.5 T, 3 T, and 7 T ». In : *Magnetic resonance in medicine* 70.4 (2013), p. 1082-1086.
- [147] Yanxia ZHAO et al. « Measurement of two new indicators of cardiac reserve in humans, rats, rabbits, and dogs ». In : *Journal of Biomedical Science and Engineering* 2013 (2013).
- [148] Zungho ZUN et al. « Non-invasive placental perfusion imaging in pregnancies complicated by fetal heart disease using velocity-selective arterial spin labeled MRI ». In : *Scientific reports* 7.1 (2017), p. 1-10.
- [149] Zungho ZUN et al. « What Is the ideal labeling duration for pseudocontinuous arterial spin labeling ». In : *Proceedings of the 22nd Annual Meeting of the ISMRM, Milan, Italy*. T. 4566. 2014.

Résumé

Le marquage de spin artériel (ASL) est une technique d'imagerie par résonance magnétique qui permet de mesurer de manière non invasive la perfusion dans le cerveau et d'autres organes du corps. Des résultats prometteurs issus de la recherche clinique et préclinique ont démontré l'utilité de l'ASL dans le diagnostic et le suivi des accidents vasculaires cérébraux, des tumeurs, ou encore de certaines pathologies neurodégénératives. C'est dans ce cadre que s'inscrivent les travaux de cette thèse. En premier lieu, l'implémentation, le test et la validation de la séquence *pseudo-continuous* ASL (pCASL) sur une IRM préclinique 7T ont été effectués. La méthode a ensuite été utilisée pour étudier les changements de perfusion cérébrale en cas d'hypothermie, qui montre une diminution de la perfusion sur le modèle de la souris de $7.5\%/C^\circ$ en normoxie et $4.8\%/C^\circ$ en hyperoxie normobare au niveau du cortex. Une seconde étude a été menée sur l'estimation du débit sanguin cérébral (CBF) lors de l'ouverture de la barrière hémato-encéphalique (BHE) par ultrasons combinés à l'injection de microbulles. Une hypoperfusion temporaire dans l'hémisphère ciblé a été constatée, elle résulte du stress mécanique induit par l'expansion des microbulles lors de la sonication. Cette étude valide la fiabilité de la mesure du CBF par ASL dans le cas d'une BHE endommagée. Enfin, une dernière étude a été consacrée à la mesure de la perfusion en présence d'une lésion cérébrale afin d'étudier les processus de néo-angiogenèse nécessaires au maintien de l'intégrité des tissus post-lésion. Les résultats obtenus sont encourageants dans la perspective d'identifier un biomarqueur *in-vivo* de la régénération cérébrale. Ces travaux renforcent la validité de la séquence pCASL pour déterminer de manière fiable et reproductible le débit sanguin cérébral chez le petit animal.

Abstract

Arterial spin labeling (ASL) is a magnetic resonance imaging method that measures perfusion in the brain and other organs of the body, in a non-invasive way. Promising results from clinical and preclinical research have demonstrated the benefits of ASL in the diagnosis and monitoring of stroke, tumors, and several neurodegenerative diseases. This thesis's work fits within this framework. First, attention was paid to the implementation, testing and validation of the pCASL sequence on a preclinical 7T MRI. This method has then been used to study the changes in cerebral blood flow (CBF) during hypothermia, resulting in a decrease in perfusion of $7.5\%/C^\circ$ in normoxia and $4.8\%/C^\circ$ in normobaric hyperoxia in the mouse model. Afterwards, a second study was conducted for the estimation of CBF by ASL during the blood-brain barrier (BBB) opening by ultrasound combined with microbubble injection. A temporary hypoperfusion has been identified in the targeted hemisphere, it occurs after the mechanical stress induced by microbubble expansion during sonication. This study highlights the reliability of CBF measurement by ASL in case of a damaged BBB. Finally, a last study was dedicated to the measurement of perfusion under brain injury conditions. It has enabled the neo-angiogenesis processes necessary to maintain the integrity of post-injured tissues to be characterized. The obtained findings are encouraging in the perspective of identifying an *in-vivo* biomarker of brain tissue regeneration. Thus, the validity of the pCASL sequence is strengthened to ensure a reliable and reproducible measurement of cerebral blood flow in small animals.