



HAL
open science

Mesure de la consommation cérébrale d'oxygène par IRM du ^1O : développements méthodologiques et étude de la réponse fonctionnelle chez le rongeur

Amélie Tourais

► **To cite this version:**

Amélie Tourais. Mesure de la consommation cérébrale d'oxygène par IRM du ^1O : développements méthodologiques et étude de la réponse fonctionnelle chez le rongeur. Imagerie. Université Paris-Saclay, 2023. Français. NNT : 2023UPAST116 . tel-04532850

HAL Id: tel-04532850

<https://theses.hal.science/tel-04532850>

Submitted on 4 Apr 2024

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.

Mesure de la consommation cérébrale d'oxygène par IRM du ^{17}O : développements méthodologiques et étude de la réponse fonctionnelle chez le rongeur

*Measurement of the cerebral oxygen consumption by ^{17}O MRI:
methodological developments and study of the functional response in
rodents*

Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay

École doctorale n°575, electrical, optical, bio : physics and engineering (EOBE)
Spécialité de doctorat : Physique et imagerie médicale
Graduate School : Sciences de l'ingénierie et des systèmes. Référent : Faculté des sciences
d'Orsay

Thèse préparée dans l'unité de recherche **Laboratoire des Maladies
Neurodégénératives : mécanismes, thérapies, imagerie (Université Paris-Saclay,
CEA, CNRS)**, sous la direction de **Céline BALIGAND**, Chercheuse

Thèse soutenue à Paris-Saclay, le 27 septembre 2023, par

Amélie TOURAIS

Composition du Jury

Membres du jury avec voix délibérative

Fawzi BOUMEZBEUR Directeur de recherche CEA, NeuroSpin, Université Paris Saclay	Président
Emmanuel BARBIER Directeur de recherche INSERM, GIN, Université Grenoble Alpes	Rapporteur & Examineur
Bénédicte JORDAN Professeure, Directrice de recherche FNRS, LDRI, Université catholique de Louvain	Rapporteuse & Examinatrice
Rémy GUILLEVIN PU-PH, Professeur de Radiologie, CHU de Poitiers, Université de Poitiers	Examineur
Itamar RONEN Professeur, Chair in Medical Physics and Academic Director of CISC, BSMS, University of Sussex	Examineur

REMERCIEMENTS

Je remercie tout d'abord les membres de mon jury pour avoir accepté d'évaluer mon travail de thèse. En particulier je remercie **Bénédicte Jordan** et **Emmanuel Barbier** pour leur rôle de rapporteur et **Fawzi Boumezbeur**, **Itamar Ronen** ainsi que **Rémy Guillevin** pour leur rôle d'examineur. Merci pour le temps consacré à ma thèse, votre présence à ma soutenance et vos retours constructifs.

Merci à **Romina Aron Badin** et **Philippe Hantraye** de m'avoir accueillie au sein de MIRCen ainsi qu'à **Gilles Bovento** pour son accueil au sein du Laboratoire des Maladies Neurodégénératives et pour ses précieux conseils et discussions scientifiques qui m'ont guidé pendant ces années.

Ma thèse a débuté sous le thème de la pandémie, ce qui n'a pas simplifié mon intégration. Fort heureusement, j'ai pu compter sur le dynamisme et la spontanéité de mon encadrante et bientôt directrice de thèse **Céline Baligand** pour me faire connaître aux membres du laboratoire malgré mon masque et les règles strictes de la Covid ! En parlant de dynamisme et spontanéité, je pense que ce sont les deux adjectifs qui te définissent le mieux puisque jamais je ne me suis ennuyée ne serait-ce qu'une seule seconde en trois années ! Je repense avec nostalgie aux sessions de programmation dans ton bureau, aux premières expériences d'inhalation d'oxygène-17 avec le reliquat de gaz enrichi de Julien, au jour où tu m'as fait découvrir la tarlatane et au kilomètre que j'ai utilisé depuis, à nos voyages et à tous ces délicieux restaurants, à toutes ces discussions scientifiques sans fin étayées de tes expressions loufoques. J'essaie de ne me pas me mettre la rate au court bouillon en me convaincant que nos chemins se recroiseront ! Un grand merci pour ces moments passés en duo, ta joie de vivre, tes conseils, ta présence et cette expérience unique qui m'a énormément appris.

Julien Valette, merci d'avoir endossé le rôle de directeur de thèse pendant ma première année et d'avoir continué à me guider jusqu'à la fin avec ta rigueur scientifique et ta vision globale de la RMN et du métabolisme cérébral que tu arrives toujours à expliquer avec simplicité. Merci aussi pour tes conseils pertinents qui m'ont permis plus d'une fois de rebondir lorsque je faisais face à un problème à l'IRM. Je garde aussi de bons souvenirs de ton partage de ta passion pour les avions, pour les voyages et la bonne bouffe bien copieuse !

Julien Flament, merci pour ta contribution et tes conseils notamment lors des réunions d'équipe et merci pour toutes tes interventions à l'IRM qui m'ont souvent sauvé la mise pour terminer mes acquisitions dans de bonnes conditions.

Je tiens aussi à exprimer ma profonde gratitude au laboratoire GIN et en particulier à **Emmanuel Barbier, Thomas Christen** et **Vasile Stupar** pour leur accueil et pour m'avoir offert l'opportunité de réaliser des mesures préliminaires inédites avec la crysonde ^{17}O . J'aimerais également les remercier chaleureusement pour les moments de convivialité partagés lors de ces quelques repas qui se sont déroulés dans une atmosphère agréable et détendue. Merci aussi à Bruker et à FLI d'avoir rendu ce projet possible.

Pendant ma thèse j'ai aussi pu compter sur les expertes de l'expérimentation animale MIRCenienne. Je tiens donc à te remercier **Martine** pour tes qualités de chirurgienne hors paires qui m'ont permis de compléter les résultats obtenus à l'IRM, sans oublier toutes ces heures passées en zone à jeuner qui ont pour la plupart valu le coup ! Merci **Mylène** pour ta formation à la pose de cathéters et à l'utilisation des pipettes de compète ! Enfin, merci **Marjorie** pour t'être formée en un temps record et pour avoir contribué aux dernières expériences de ma thèse.

Je tiens aussi à remercier **Didier** pour son aide précieuse au niveau instrumental et sa joie de vivre si communicative. **Olivier**, merci de m'avoir aidé à me mettre en selle au début de ma thèse et à maîtriser le modèle d'Atkinson. Merci **Nadja** d'avoir rendu les mesures TEP possible ! Merci à tous les deux pour votre bonne humeur et votre sympathie ! **Fortune**, j'ai apprécié ta compagnie lors des dosages de mes échantillons et ta gestion du CEC en TEP m'a soulagée lors des manips. Merci et bonne continuation à MIRCen ! **Frederic**, merci de m'avoir donné accès à l'appareil de mesure Cellvizio qui m'a permis d'obtenir de précieuses valeurs la quantification de CMRO_2 . **Marie-Laure**, merci d'avoir géré mes départs en mission, grâce à toi, j'ai pu parcourir la France, l'Europe et le Canada sans encombre ! **Noelle, Maria**, merci pour votre bonne humeur et votre bienveillance constante ! Merci aussi pour votre aide précieuse pour organiser les rencontres MIRCeniennes.

Les étudiants du 110 ! Merci à **Melissa**, tu as été mon premier contact à MIRCen après Céline et tu as contribué à ma décision d'intégrer MIRCen ! Merci car tu as été d'excellents conseils durant les 8 premiers mois de ma thèse. **Jean-Baptiste**, tu m'as fait découvrir le R+2 et son armée d'étudiants biologistes, ta passion pour le jeu mascarade (Je suis la Reine !), la bonne bouffe, les bonnes bières et les miettes par terre ! Pardon, ne me fais pas une Jboude parce que grâce à toi et à tout ça j'ai passé une infinité de bons moments à MIRCen et en dehors ! **Yohann**, la force tranquille du 110, tu as toi aussi fortement contribué à mon intégration au sein du groupe d'étudiants et tu as énormément animé mes journées, ou plutôt apaisé avec tes musiques de thalasso ! D'ailleurs, merci de m'avoir suivi à la natation malgré ta préférence pour les bains à remous ! **Sophie**, quelle bizarrerie ! Je crois que je suis ta plus grande fan, ces trois années avec toi c'était comme être coincée dans le film de E.T., à la fois étrange et touchante tu as été pour moi la co-thésarde rêvée ! **Eloïse**, je n'oublie pas ton $\ddot{\text{i}}$ ni tes conseils et nos discussions où l'on ne se regardait jamais dans les yeux à cause de cette poutre qui nous séparait ! Merci « l'adulte » de nous avoir supporté et de toujours rire à nos bêtises et

à nos blagues nulles ! **Rodrigo**, merci d'avoir lancé le musée du 110 même si je crois que toi tu fais de l'art et nous de l'art plastique ! Merci aussi pour ta gentillesse, ton sens du partage, notamment des snacks Thorlabs ! **Cameron**, tu es arrivé au milieu de l'action et tu as dû te jeter dans le grand bain rapidement ! Bravo pour ce grand plongeon en RMN et merci pour ton soutien en manip ou tu as su jouer le maître du temps et de la tarlatane. **Cécile**, tu es brillante n'en doute jamais ! J'ai apprécié passer la fin de ma thèse à tes côtés et n'oublie pas qu'un jour toi aussi tu auras fini !

Et puis il y a les étudiants du reste de MIRCen... **Mathilde**, mon choco ! Tu as enjolivé mes journées pendant ces années de dur labeur. J'ai pu compter sur toi un nombre de fois incalculable, tu as été et tu resteras ma valeur sûre ! N'oublie pas que toi aussi tu peux compter sur moi ! **Pauline**, Pauloche, c'était bien la pistoche ! Mais aussi nos moments partagés à MIRCen ainsi qu'en dehors des murs du labo. Je te souhaite le meilleur pour la suite et plein de chocolats Suisses ! **Miriam** ma meilleure amie Espagnole, ma voisine favorite mais aussi la personne la plus talentueuse que je connaisse. Merci parce que tu m'as beaucoup divertie et impressionnée pendant ces trois années. **Tom**, à la fois bosseur, gentil et drôle, tu as tout pour réussir ! Merci pour tes conseils sur les plantes que j'applique à la lettre ! Bon courage pour la suite et ne t'inquiète pas trop pour le grand déménagement. **P.A.**, ta spontanéité me fait rire depuis notre rencontre ! Je suis heureuse d'avoir croisé ta route, d'ailleurs je n'avais jamais vu de dinosaure avant. Merci pour tes conseils et pour avoir supporté ma lourdeur, je te souhaite le meilleur et plein de bonheurs ! **Nathan et Emma**, j'ai apprécié les moments partagés avec vous. Emma, félicitations pour ta persévérance, la fin du voyage est proche ! Nathan, force et honneur pour la suite ! **Sarah**, nos pauses running me manquent ! J'espère que tu continueras d'explorer la forêt de Clamart pendant ta dernière année ! Bon courage pour la dernière ligne droite ! **Charlotte, Fanny**, à travers vous j'ai pu voir ce que la thèse allait me réserver : des petits malheurs mais surtout de bons souvenirs, des pauses goûtés et une vidéo de thèse ! Merci pour votre écoute et vos conseils !

J'ai aussi pu compter sur le soutien de mes proches, loin de MIRCen mais près du cœur.

Merci aux **Cafiasses** (Claire, Apolline, Florette, Sarah, Solène, Rachelle) pour leur présence depuis tant d'années ainsi que pour leurs encouragements !

Justine, nous pouvons dorénavant ajouter le Doctorat en IRM dans notre longue liste de points communs ! Tu étais là avant même que je propose ma candidature à MIRCen et tu es restée à mes côtés jusqu'au bout alors je te remercie pour ta présence, tes conseils, ton soutien sans failles et ta joie de vivre qui me fait toujours autant sourire ! Évidemment, je remercie aussi Crapaud !

Lucile, merci pour ta bienveillance, ta générosité, ton écoute attentive et ta compréhension exceptionnelle de ma thèse. De plus, je tiens à te remercier spécialement pour ta relecture

du chapitre 1 !

Loïck, je suis reconnaissante d'avoir eu la chance d'être témoin de ton parcours entrepreneurial. Ta créativité et ton audace m'ont rappelé l'importance de poursuivre mes propres passions et de croire en mes capacités. Que notre lien fraternel continue de nous motiver et de nous encourager mutuellement dans nos projets futurs !

Sam, les mots me manquent pour t'exprimer ma gratitude pour ton soutien inconditionnel et ta présence précieuse tout au long de ma thèse qui ont été pour moi une source de réconfort et de motivation. Je suis profondément reconnaissante de t'avoir eu à mes côtés pendant cette période intense et je suis impatiente de partager de nombreux autres moments de bonheur et de réussite à tes côtés.

Mémé **Danielle**, même si les détails techniques de ma thèse peuvent te sembler complexes et abstraits, je suis touchée par ta fierté et ton enthousiasme à chaque étape de mon cheminement.

Enfin, je remercie mes parents. Vous avez cru en moi lorsque j'en doutais, vous m'avez encouragé lorsque j'étais découragée et vous m'avez poussée à donner le meilleur de moi-même. Je suis consciente de la chance que j'ai d'avoir des parents aussi dévoués et prêts à tout pour mon épanouissement. Merci de m'avoir permis d'aller si loin et même si ce n'est pas tout à fait fini, promis ma vie d'étudiante aura une fin !

TABLE DES MATIERES

Table des matières	2
Table des abréviations	6
Introduction générale	12
Chapitre 1 : Métabolisme énergétique cérébral	15
1 La production d'ATP par la cellule.....	15
1.1 La glycolyse	15
1.2 Le cycle de Krebs	19
1.3 La phosphorylation oxydative	21
1.4 Bilan énergétique complet	24
2 Composition et fonctionnement du système nerveux central	26
2.1 Description cellulaire du SNC.....	26
2.2 Description vasculaire du SNC	27
2.3 Fonction et métabolisme neuronal.....	27
2.4 Fonction et métabolisme astrocytaire	28
3 Le métabolisme glycolytique et oxydatif dans le cerveau.....	30
3.1 La consommation de glucose en excès de la consommation d'oxygène au repos.....	30
3.2 L'OGI lors d'une activation cérébrale	30
4 Activation fonctionnelle cérébrale	31
Chapitre 2 : Techniques d'imagerie du métabolisme oxydatif	34
1 TEP à l' ¹⁵ O.....	34
2 Méthodes RMN ¹ H	38
2.1 Principe de l'effet BOLD	38
2.2 Méthodes de BOLD calibré	40
2.3 Méthodes de BOLD quantitatif (qBOLD)	41
2.4 Quantification de la susceptibilité magnétique.....	43
3 Méthodes utilisant les noyaux X en RMN.....	44
3.1 Spectroscopie RMN du ¹³ C.....	46
3.2 Spectroscopie RMN du ³¹ P.....	49
3.3 L'IRM du ¹⁷ O.....	53
4 Conclusion.....	59
Chapitre 3 : Mesure de CMRO₂ et des paramètres de flux par IRM du ¹⁷O (théorie, modèles et simulations)	61
1 Principe de la mesure	61
2 Modèle 3-phases	62
2.1 Introduction au modèle 3-phases.....	62
2.2 Mise en équation.....	64
.....	64
2.3 Les paramètres de flux K _G et K _L	66
3 Modèle linéaire.....	67
3.1 Hypothèses et Mise en équation.....	67
3.2 Mesure de CBF dérivée d'une inhalation de ¹⁷ O ₂	68
4 Effet du T _c sur le choix du modèle et sur la détermination de CMRO ₂ , K _G et K _L	69

4.1 Introduction.....	69
4.2 Matériels et méthodes.....	69
4.3 Résultats.....	70
4.4 Discussion et conclusion.....	72
5 Effet du T_D sur la détermination de $CMRO_2$, K_G et K_L	73
5.1 Introduction.....	73
5.2 Matériels et méthodes.....	74
5.3 Résultats.....	74
5.4 Discussion et conclusion.....	75
6 Effet du SNR sur la détermination de $CMRO_2$ et des paramètres de flux.....	76
Chapitre 4 : Mises au point d'un protocole d'acquisition pour la mesure de $CMRO_2$ par IRM du ^{17}O.....	78
1 Effet de l'anesthésie sur les paramètres physiologiques.....	78
1.1 Choix de la méthode d'anesthésie : médétomidine.....	79
1.2 Caractérisation de l'effet de la médétomidine.....	80
1.3 Mesure de T_c pendant l'administration de médétomidine.....	84
2 Instrumentation.....	86
2.1 Administration du gaz enrichi en ^{17}O	86
2.2 Antenne radiofréquence à la fréquence de l' ^{17}O	95
3 Choix de la séquence d'acquisition.....	103
3.1 Principe de la séquence ZTE.....	105
3.2 Etude du gain apporté par une séquence ZTE en comparaison à une séquence CSI.....	106
4 Conclusion.....	108
Chapitre 5 : Mesure de $CMRO_2$ lors d'une activation neuronale induite par stimulation électrique de la patte.....	109
1 Choix et caractérisation d'un protocole d'activation du S1HL/FL par imagerie 1H -BOLD.....	110
1.1 Critères de sélection du protocole d'électrostimulation.....	110
1.2 Matériels et méthodes.....	111
1.3 Résultats.....	114
1.4 Conclusion.....	117
2 Mesure de $CMRO_2$ par IRM- ^{17}O lors d'une activation du S1HL/FL.....	118
2.1 Introduction.....	118
2.2 Matériels et méthodes.....	118
2.3 Résultats.....	121
3 Discussion et conclusion.....	127
Chapitre 6 : Est-il possible de repousser les limites de résolution en IRM-^{17}O avec une crysonde ? : Première mesure de $CMRO_2$ par IRM-^{17}O chez la souris à 9,4 T.....	133
1 Introduction théorique.....	134
1.1 Principe général.....	134
1.2 Gain théorique en SNR.....	135
2 Matériels et méthodes.....	136
2.1 Acquisitions avec la crysonde.....	136
2.2 Acquisitions avec l'antenne « chaude ».....	137
2.3 Traitement et analyse des données.....	137
3 Résultats.....	137
4 Discussion et conclusion.....	139

Discussion générale.....	141
Bibliographie.....	147
Annexe.....	170

TABLE DES ABBREVIATIONS

1

1,3-bisphoglycérate	
1,3BPG.....	14

2

2-phosphoglycérate	
2PG.....	15

3

3-phosphoglycérate	
3PG.....	14

A

acétyle coenzyme A	
acétyl-CoA.....	16
acide désoxyribonucléique	
ADN.....	13
adénosine di-phosphate	
ADP.....	13
aquaporine-4	
AQP4.....	26

B

barrière hémato-encéphalique	
BHE.....	26
Battements Par Minute	
BPM.....	77
Blood Oxygenation Level Dependent	
BOLD.....	35
BOLD quantitatif	
qBOLD.....	35

C

carbone-13	
¹³ C.....	11
Cerebral Blood Flow/Flux sanguin cérébral	
CBF.....	10
Cerebral Blood Volume/Volume Sanguin Cérébral	
CBV.....	36
Cerebral metabolic Rate of Glucose/Taux métabolique cérébral de consommation en glucose	
CMR _{glc}	10

Cerebral metabolic Rate of Oxygen/Taux métabolique cérébral de consommation en oxygène	
CMRO ₂	10
Chemical Shift Imaging	
CSI.....	98
coenzyme Q ₁₀	
CoQ ₁₀	20
Contrast to Noise Ratio/Rapport contraste sur bruit	
CNR.....	112
cortex somatosensoriel primaire	
S1.....	29
Créatine	
Cr.....	49
D	
d'adénosine tri-phosphate	
(ATP).....	10
désoxyhémoglobine	
désoxy-Hb.....	35
dihydroxyacétone phosphate	
DHAP.....	14
Durée d'inhalation	
T _D	62
E	
eau marquée à l' ¹⁷ O	
H ₂ ¹⁷ O.....	42
F	
flavine adénine dinucléotide	
FAD.....	17
Fluorescein isothiocyanate–dextran	
FITC-dextran.....	68
Fluorodéoxyglucose marqué au fluor 18	
¹⁸ F-FDG.....	28
Free Induction Decay/Signal d'induction libre	
FID.....	90
fructose 6-phosphate	
(F6P).....	14
fructose-1,6-bisphosphate	
F1,6BP.....	14
G	
glucose-6-phosphate	
G6P.....	14
glucose-6-phosphate isomérase	
GPI.....	14
Glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase	
GAPDH.....	14

H	
Hémoglobine	
Hb	50
I	
Imagerie par Résonance Magnétique	
IRM	11
IRM fonctionnelle	
fMRI.....	36
L	
Line Of Response/ligne de réponse	
LOR	31
Liquide Céphalo-Rachidien	
LCR.....	38
M	
magnésium	
Mg ²⁺	14
Magnetic Resonance Spectroscopy/Spectroscopie par résonance magnétique	
MRS	42
multi-Gradient-Echo	
MGE.....	38
Multi-Slice Multi-Echo/Multi-Coupes Multi-Echos	
MSME	94
N	
nicotinamide adénine dinucléotide (NAD ⁺)	14
nombre d'accumulations	
NA.....	83
O	
Oxygen Extraction Fraction/fraction d'extraction d'oxygène	
OEF	31
oxygène-15	
¹⁵ O	11
oxygène-17	
¹⁷ O	11
Oxygen-Glucose Index/Indice Oxygène-Glucose	
OGI	27
oxyhémoglobine	
oxy-Hb	35
P	
phosphate inorganique	
Pi.....	13
Phosphocréatine	
PCr	46

phosphofructokinase	
PFK.....	14
Phosphoglycérate kinase	
PGK.....	14
phosphoglycérate mutase	
PGM.....	15
phosphore-31	
³¹ P.....	42
Primary Somatosensory cortex of the Barrel Field	
S1BF.....	29
Primary Somatosensory cortex of the Fore Limb/Cortex primaire somatosensoriel des pattes antérieures	
S1FL.....	30
Primary Somatosensory cortex of the Hind Limb/Cortex somatosensoriel primaire des pattes postérieures	
S1HL.....	30
pseudo Continuous Arterial Spin Labeling	
pCASL.....	120
pyruvate kinase	
PK.....	15
Q	
Quantification de Susceptibilité Magnétique	
QSM.....	35
R	
radiofréquence	
RF.....	12
Receive coil/Antenne de réception	
Rx.....	90
Résonance Magnétique Nucléaire	
RMN.....	42
Respirations Par Minute	
RPM.....	77
S	
Saturation en Oxygène	
SO ₂	38
Signal to Noise Ratio/Rapport signal sur bruit	
SNR.....	11
SNR temporel	
SNRt.....	96
sodium-23	
²³ Na.....	123
<i>Spatial Response Function/Fonction de réponse spatiale</i>	
SRF.....	100
système nerveux central	
SNC.....	24
T	
Temps de circulation du sang	

T _C	64
Temps de Répétition	
TR	87
Temps d'Echo	
TE.....	83
Tomographie par Emission de Positons	
TEP.....	11
tractus corticospinal sensoriel	
CST.....	30
Transmit coil/Antenne d'émission	
Tx.....	90
transporteur monocarboxylate	
MCT	26
triose phosphate isomérase	
TPI.....	14
V	
vitesse du cycle de Krebs	
V _{TCA}	42
Voie Intraveineuse	
(IV).....	75
Volume effectif	
Veff.....	100
Z	
Zéro Temps d'Echo	
ZTE.....	87

INTRODUCTION GENERALE

Le cerveau est un organe complexe avec un métabolisme énergétique qui lui est propre, à propos duquel de nombreuses controverses subsistent (Bélanger et al. 2011; Fox 2012; Bak et Walls 2018; Barros et Weber 2018; Schurr 2018; Bordone et al. 2019).

Le métabolisme énergétique cellulaire est essentiel pour que la cellule exerce ses fonctions demandeuses en énergie. Pour répondre à leurs besoins énergétiques, les cellules produisent des molécules d'adénosine triphosphate (ATP) à partir du processus de glycolyse, qui peut se poursuivre dans leurs mitochondries avec un second processus de respiration cellulaire. Ainsi les cellules doivent être alimentées en glucose et en oxygène pour répondre à leurs besoins énergétiques.

Le cerveau, bien qu'il représente 2 % du poids du corps, est l'organe le plus énergivore et le principal consommateur de glucose (environ 20 % de l'énergie dérivée du glucose dans le corps est consommée dans le cerveau (Mergenthaler et al. 2013)). Ce substrat énergétique, ainsi que l'oxygène, sont approvisionnés aux tissus par le sang. Le cerveau est par conséquent très vascularisé.

La glycolyse permet la production de 2 molécules d'ATP tandis qu'à la fin du processus de respiration cellulaire, 36 molécules d'ATP sont produites. Malgré l'efficacité de la respiration cellulaire pour produire de l'énergie, les cellules cérébrales pourraient utiliser préférentiellement la glycolyse lors d'une activité présentant un besoin énergétique important (Fox et al. 1988; Madsen et al. 1995; Schurr 2018).

Pour étudier ce phénomène, il est possible de mesurer CMR_{glc} (en anglais, *Cerebral metabolic Rate of Glucose*) qui est un indicateur du taux de glucose consommé dans le cerveau, directement lié à l'activité de l'hexokinase, et de mesurer $CMRO_2$ (en anglais, *Cerebral metabolic Rate of Oxygen*) qui est un indicateur du taux d' O_2 consommé dans le cerveau, donc du taux de respiration cellulaire. Il est aussi possible de mesurer le flux sanguin cérébral appelé CBF (en anglais, *Cerebral Blood Flow*). Ainsi, dans la littérature, les travaux de Hyder et al. ont mesuré ces paramètres et rapportent un couplage entre l'augmentation de $CMRO_2$, l'augmentation de CMR_{glc} et l'augmentation de CBF, en réponse à une activité cérébrale (Hyder et al. 1996, 2001). A l'inverse, le groupe de Fox et al. sont en faveur d'un découplage

entre CMR_{glc} et $CMRO_2$ et un couplage entre CMR_{glc} et CBF, lors d'une activité cérébrale (Fox et al. 1988; Fox 2012). Ce second point de vue est d'ailleurs soutenu par les travaux de Mintun et al. (Mintun et al. 2001), qui suggèrent pendant une activation cérébrale, que l'augmentation importante de CBF serait régulée par d'autres facteurs que les besoins locaux en oxygène. En effet, sans apport d' O_2 à partir de CBF, le niveau d'oxygène tissulaire serait en excès par rapport au besoin. Au contraire, CBF et CMR_{glc} seraient étroitement liés car le débit sanguin est crucial dans l'apport de glucose, la principale source d'énergie pour les cellules, au tissu cérébral pour répondre aux besoins énergétiques en réponse à une activation. Pour se rapprocher d'un consensus, d'autres études ont tenté de mesurer ces paramètres pendant une activation cérébrale. Ainsi, des variations de $CMRO_2$ ont été mesurées chez l'homme (+ 5 %) à partir de la Tomographie par Emission de Positons (TEP) à l'oxygène-15 (^{15}O) en réponse à une stimulation visuelle (Fox et al. 1988), chez le rat (+ 200 % (Hyder et al. 1996) et + 15 % (Sonnay et al. 2016)) à partir de la spectroscopie du carbone-13 (^{13}C) en réponse à une stimulation électrique des pattes antérieures ou encore chez le chat (+ 32 %) à partir de la spectroscopie de l'oxygène 17 (^{17}O) en réponse à une stimulation visuelle (Zhu et al. 2009). Etant donné la variabilité de ces mesures, une question subsiste :

A quel point le métabolisme oxydatif est-il recruté lors d'une activation cérébrale ?

Pour apporter des éléments de réponse, nous souhaitons compléter la littérature en implémentant la méthode d'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) du ^{17}O , qui à ce jour a uniquement été utilisée pour mesurer une activation visuelle chez le chat (Zhu et al. 2009). Cette méthode de mesure présente de nombreux avantages par rapport aux autres techniques proposées dans la littérature, pour cartographier $CMRO_2$ dans le cerveau du rat lors d'une activation cérébrale. En effet, l'IRM du ^{17}O permet une mesure directe et quantitative de $CMRO_2$ en moins d'1 h à partir du signal de l' H_2O marquée en ^{17}O lors d'une expérience d'inhalation de gaz enrichi en ^{17}O . Avec cette méthode, il n'y a pas de limites intrinsèques à la résolution spatiale à condition d'avoir de bonnes conditions de signal sur bruit (SNR, en anglais *Signal to Noise Ratio*). Contrairement aux autres techniques cette méthode ne nécessite pas beaucoup de corrections.

Pour atteindre cet objectif, nous avons dans un premier temps effectué des simulations pour faire un choix entre deux modèles, proposés dans la littérature, pour la mise en équation des variations du signal de l' $H_2^{17}O$ et le calcul de $CMRO_2$: le modèle 3-phases (Atkinson et

Thulborn 2010) et le modèle linéaire, restreint à la période d'inhalation (Zhu et al. 2002), qui est une version simplifiée du modèle d'Atkinson et Thulborn. Ce travail de simulation a aussi permis d'étudier l'effet de certains paramètres tels que le temps de circulation du sang et le SNR sur la détermination de $CMRO_2$ (Chapitre 3). Dans un second temps, le protocole d'acquisition pour la mesure de $CMRO_2$ à partir de l'IRM du ^{17}O a été établi. Cela a consisté à 1) caractériser les effets de notre protocole d'anesthésie sur la physiologie de l'animal, qui peut impacter la quantification de $CMRO_2$, 2) développer un système de distribution de gaz enrichi en ^{17}O et un protocole d'administration des gaz pendant les expériences d'inhalation et de choisir une antenne radiofréquence (RF) à la fréquence de l' ^{17}O qui permet d'obtenir un bon volume de détection dans le cerveau du rat. Enfin, 3) une séquence adaptée à la détection du signal de l' $H_2^{17}O$ a été choisie (Chapitre 4). Grâce à ces développements et à l'établissement d'un protocole d'électrostimulation, des mesures de $CMRO_2$ ont pu être faites dans le cortex somatosensoriel activé par une électrostimulation des pattes antérieures et postérieures du rat (Chapitre 5). Enfin, une étude complémentaire a été effectuée chez la souris à 9,4 T avec une crysonde à la fréquence de l' ^{17}O pour étudier le gain en SNR que peut fournir une antenne refroidie, dans le but de cartographier $CMRO_2$ avec une meilleure résolution spatiale (Chapitre 6).

Ce manuscrit de thèse s'organise en six chapitres. Les chapitres 1 et 2 sont des chapitres introductifs décrivant le métabolisme énergétique cérébral et les techniques d'imageries du métabolisme oxydatif. Le chapitre 3 introduit les modèles proposés pour décrire les variations du signal de l' $H_2^{17}O$ et présente un travail original de simulation montrant l'importance du SNR des données acquises et du temps de circulation du sang sur la détermination de $CMRO_2$. Le chapitre 4 s'articule autour de la mise au point d'un protocole expérimental pour mesurer $CMRO_2$ au repos avec l'IRM- ^{17}O . Le chapitre 5 présente ensuite le développement d'un protocole d'électrostimulation et les résultats des premières mesures fonctionnelles de $CMRO_2$ par IRM- ^{17}O dans le cortex somatosensoriel. Enfin, le chapitre 6 présente une comparaison chez la souris entre des acquisitions avec une antenne RF « chaude » à 11,7 T et des acquisitions préliminaires avec une antenne cryo-refroidie à 9,7 T pour évaluer le gain en SNR apporté par cette technologie dans l'objectif d'augmenter la résolution spatiale des cartographies de $CMRO_2$.

Chapitre 1 : METABOLISME ENERGETIQUE CEREBRAL

1 LA PRODUCTION D'ATP PAR LA CELLULE

La molécule d'ATP est constituée d'adénine liée à trois groupements phosphate par l'intermédiaire d'un ribose (aldopentose, ose constitué de cinq éléments carbonés ainsi que d'une fonction aldéhyde). L'hydrolyse d'une liaison entre deux groupements phosphate de l'ATP produit un phosphate inorganique (Pi) et une molécule d'adénosine di-phosphate (ADP) et permet, *in vivo*, de libérer une énergie d'environ 60 kJ par mole d'ATP (14,7 kcal.mol⁻¹) (Erecińska et Silver 1989).

L'ATP occupe une place centrale dans le métabolisme et la signalétique cellulaire. Son implication dans le stockage et le transport d'énergie la rend essentielle à une multitude de processus cellulaires consommateurs d'énergie. Par exemple, la molécule d'ATP est recrutée pour la division cellulaire, la réplication de l'acide désoxyribonucléique (ADN), la fabrication de protéines, la transcription et la traduction de gènes.

Le cerveau est l'organe du corps le plus demandeur en énergie. Selon la littérature, 75 à 80 % de l'énergie produite serait consommée par des processus neuronaux (le reste serait utilisé par les cellules gliales), notamment par l'activité des pompes ioniques qui rétablissent le gradient électrochimique afin de maintenir les potentiels membranaires face à la génération constante de potentiels d'action et de potentiels synaptiques. La majorité de l'énergie utilisée par les neurones serait d'ailleurs consommée au niveau des synapses (Harris et al. 2012; Magistretti et Allaman 2015; Rajendran et al. 2016).

L'ATP nécessaire aux divers processus cellulaires demandeurs en énergie n'est pas stocké en grande quantité dans les cellules et a besoin d'être synthétisé localement par un processus complexe qui se décompose en plusieurs étapes : ❶ glycolyse et ❷ respiration cellulaire qui sont décrites ci-dessous.

1.1 La glycolyse

La glycolyse constitue la première étape de la production d'ATP. Il s'agit d'un processus de décomposition du glucose qui se déroule en 10 étapes dans le cytosol des cellules afin de

cataboliser du pyruvate et de produire deux molécules d'ATP à partir d'une molécule de glucose (Rigoulet et al. 2020)(Figure 1).

On peut scinder le processus de glycolyse en deux phases. Les cinq premières étapes constituent la première phase de la glycolyse qui se caractérise par un besoin en énergie, sous la forme de deux molécules d'ATP par molécule de glucose. Les cinq étapes suivantes constituent la deuxième phase de la glycolyse qui se caractérise par une libération d'énergie, en produisant quatre molécules d'ATP.

- ❶ Phosphorylation d'une molécule de glucose en glucose-6-phosphate (G6P) **à partir d'une molécule d'ATP**. Cette réaction est catalysée par une enzyme intitulée hexokinase (HK) qui nécessite la présence d'un cation de magnésium (Mg^{2+}) en tant que coenzyme (i.e. permet l'activation de la fonction catalytique de l'enzyme auquel il est associé (Faurie 2023)).
- ❷ Réarrangement de G6P en fructose 6-phosphate (F6P) avec l'aide d'une enzyme intitulée glucose-6-phosphate isomérase (GPI) (réaction d'isomérisation).
- ❸ Phosphorylation de F6P en une molécule de fructose-1,6-bisphosphate (F1,6BP) **à l'aide d'une molécule d'ATP**. Le phosphofructokinase (PFK) sert de catalyseur à la réaction et un cation de magnésium (Mg^{2+}) sert de coenzyme.
- ❹ Clivage du F6P, à l'aide de l'enzyme Aldolase, en deux molécules à 3 carbones, isomères l'une de l'autre, le dihydroxyacétone phosphate (DHAP) et le GAP.
- ❺ Seul le GAP est dégradé dans la suite du processus de glycolyse. L'enzyme triose phosphate isomérase (TPI) permet de convertir le DHAP en GAP.

A partir de cette étape, la seconde phase de la glycolyse prend place :

- ❻ Oxydation de GAP par le coenzyme nicotinamide adénine dinucléotide (NAD^+) puis phosphorylation de la molécule à l'aide d'un groupement phosphate. Le Glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase (GAPDH) est l'enzyme qui catalyse cette réaction à l'issue de laquelle NAD devient $NADH$ en récupérant un hydrogène de GAP qui devient du 1,3-bisphoglycérate (1,3BPG) et un proton H^+ est libéré avec la création d'une liaison double.

- 7 Le Phosphoglycérate kinase (PGK) transfère un groupement phosphate depuis le 1,3BPG à un ADP **pour former de l'ATP** et une molécule de 3-phosphoglycérate (3PG).
- 8 L'enzyme phosphoglycérate mutase (PGM) relocalise le groupement phosphate du 3PG formant ainsi du 2-phosphoglycérate (2PG).
- 9 L'énolase (enzyme) retire une molécule d'H₂O du 2PG pour donner du phosphoénolpyruvate (PEP).
- 10 Le pyruvate kinase (PK) transfère un phosphore depuis le PEP vers l'ADP pour former du pyruvate et de l'ATP.

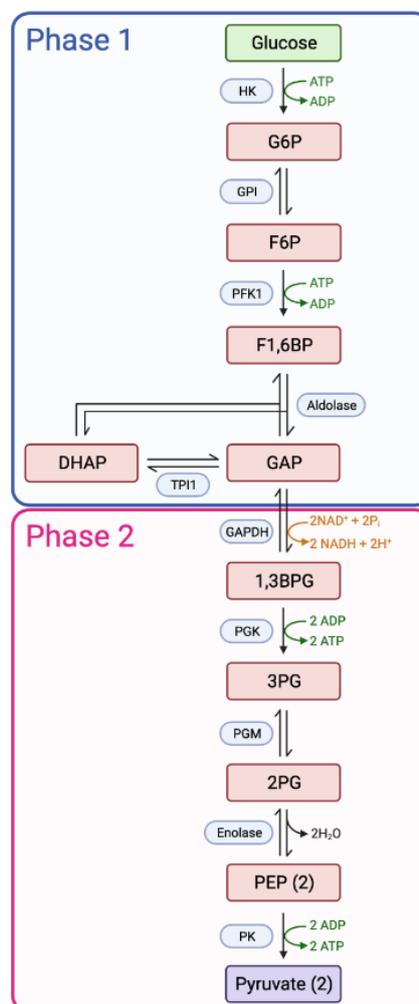
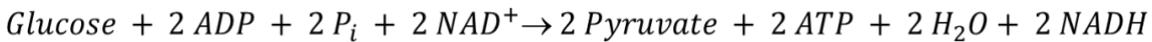


Figure 1 **Représentation schématique des différentes étapes de la glycolyse** (adapté de «Glycolysis » de [Biorender.com](https://www.biorender.com) (2023))

L'équation bilan de la glycolyse est la suivante :



En résumé, les étapes 1 à 3 de la glycolyse consomment 2 molécules d'ATP et les étapes 7 à 10 en produisent 4, le nombre de molécules d'ATP net produit est donc de 2 ATP. Au côté de ces deux molécules d'ATP, deux NADH et deux molécules de pyruvate sont produites.

Plusieurs voies de dégradation du pyruvate existent et la régulation de leur utilisation peut varier en fonction des conditions physiologiques et des tissus (disponibilité en oxygène, activités enzymatiques). Le pyruvate peut former du lactate (Figure 2) sous l'action de la lactate déshydrogénase (LDH). Cette réaction ne requiert pas d'oxygène.

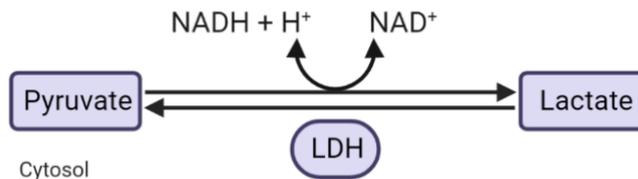


Figure 2 **Réaction de conversion du pyruvate en lactate**, catalysée par l'enzyme lactate déshydrogénase (LDH). (Figure créée à partir de [BioRender.com](https://www.biorender.com))

En présence d'oxygène, le processus de dégradation du pyruvate peut se poursuivre avec sa décarboxylation oxydative pour former de l'acétyl-CoA dont l'oxydation se poursuit par le cycle de Krebs (Chapitre 1 Partie 1.2) et par la phosphorylation oxydative (Chapitre 1 Partie 1.3).

1.2 Le cycle de Krebs

Le cycle de Krebs se compose de huit réactions enzymatiques organisées en cycle dont le premier substrat est l'acétyl coenzyme A (acétyl-CoA) obtenu par la décarboxylation du pyruvate issu de la glycolyse (Figure 3).

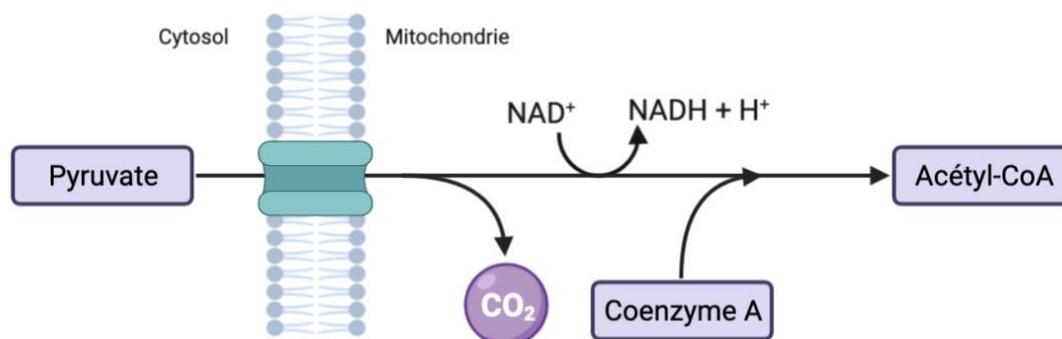


Figure 3 **Réaction de décarboxylation du pyruvate.** (Figure créée avec [BioRender.com](https://www.biorender.com).)

Le cycle de Krebs se décrit en huit étapes, décrites ci-dessous (Figure 4).

- 1 Synthèse du Citrate à partir de la réaction entre l'Acétyl-CoA et l'Oxalo-acétate.
- 2 Isomérisation du Citrate en Isocitrate (réaction de déshydratation suivie d'une réaction d'hydratation).
- 3 L'Isocitrate est oxydé en Oxalosuccinate avec la réduction du NAD⁺ en NADH, sa forme réduite. Puis l'Oxalosuccinate est décarboxylé en α -Cétoglutarate et produit une molécule de CO₂.
- 4 L' α -Cétoglutarate subit une décarboxylation oxydative et produit le Succinyl-CoA et un CO₂ en utilisant le CoA issu de l'étape 1 et la réduction de NAD⁺ en NADH.
- 5 Le Succinyl-CoA libère le CoA pour produire du Succinate. Cette réaction génère de l'énergie qui permet de produire une molécule d'ATP à partir d'un ADP et d'un P_i.
- 6 Le Succinate est oxydé en Fumarate à l'aide de flavine adénine dinucléotide (FAD) qui

est réduite en FADH_2 .

- 7 Hydratation du Fumarate en Malate (consomme un H_2O).
- 8 Oxydation du Malate en Oxalo-acétate à l'aide de la réduction d'un NAD en NADH .

L'Oxalo-acétate peut ensuite être utilisé dans un nouveau cycle.

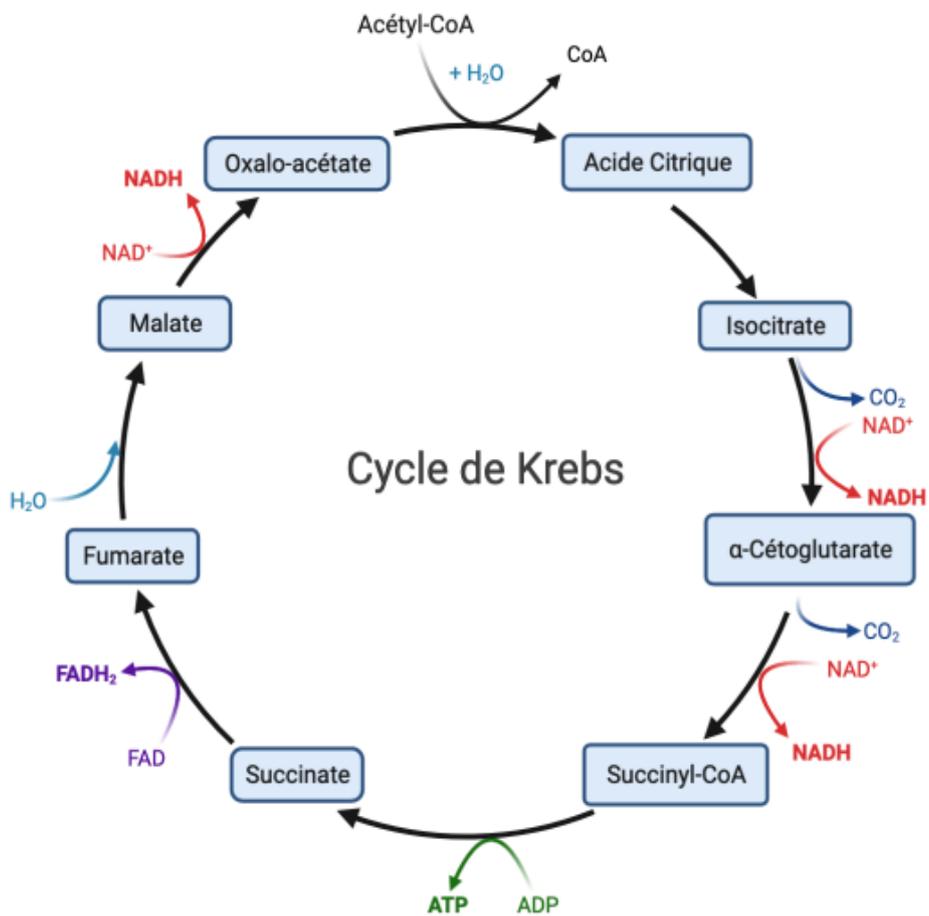
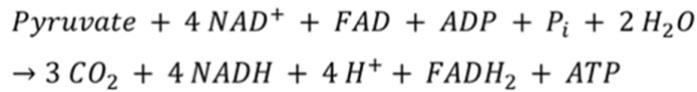


Figure 4 **Les huit étapes du cycle de Krebs.** (Figure adaptée de « Krebs cycle » de [BioRender.com](https://www.biorender.com) (2023).)

L'équation bilan du cycle de Krebs est la suivante (en prenant la décarboxylation du pyruvate en compte) :



1.3 La phosphorylation oxydative

La phosphorylation oxydative a lieu dans la membrane interne des mitochondries. Cette membrane joue le rôle de barrière et permet le maintien d'un gradient de concentration entre l'espace intermembranaire, riche en protons, et la matrice mitochondriale, pauvre en protons.

La membrane des mitochondries se compose de cinq types de complexes protéiques (Figure 5). Les complexes I, III et IV pompent directement des protons depuis la matrice vers l'espace intermembranaire, permettant ainsi de maintenir le gradient de protons à travers la membrane.

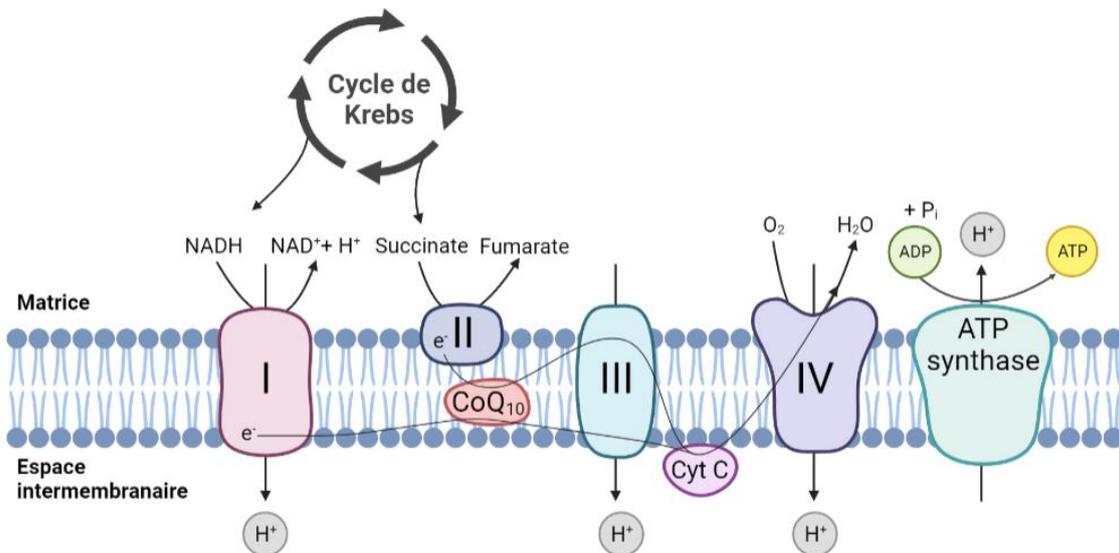


Figure 5 **Représentation des complexes mitochondriaux et de leurs fonctions.** (Figure créée à partir [BioRender.com](https://www.biorender.com).)

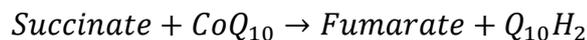
Les complexes numérotés de I à IV forment une chaîne de transport d'électrons aussi appelée chaîne respiratoire qui catalyse l'oxydation de coenzymes réduites qui sont notamment produites par le cycle de Krebs.

- Le complexe I, aussi connu sous le nom de NADH déshydrogénase, issu du cycle de

Krebs, réceptionne deux électrons à partir de l'oxydation du NADH ($NADH \rightarrow NAD^+ + H^+ + 2e^-$) et les transmet à des centres d'oxydoréduction organisés en chaîne, présents au sein du complexe. Cette réduction utilise une molécule d'oxygène pour accepter un électron. Une petite quantité d'énergie est libérée à chaque fois qu'un électron passe d'un centre à l'autre et cette énergie est utilisée par le complexe I pour pomper des protons depuis la matrice vers l'espace intermembranaire. Le dernier centre d'oxydoréduction, réceptionnant les électrons, donne deux électrons à l'ubiquinone, aussi appelé coenzyme Q₁₀ (CoQ₁₀) (Bandara et al. 2021).



- Le complexe II, aussi connu sous le nom de succinate déshydrogénase, ne contribue pas directement au maintien du gradient de concentration. Il catalyse l'oxydation du succinate en fumarate qui fournit l'énergie nécessaire à la réduction du FAD (Flavine Adénine Dinucléotide) en FADH₂. Cette réduction utilise une molécule d'oxygène pour accepter un électron. Puis, FADH₂ transfère des électrons à des centres d'oxydoréductions situés au sein du complexe II. Le dernier centre d'oxydoréduction de la chaîne donne ensuite ces électrons au CoQ₁₀ (Moog et Favier 2022).

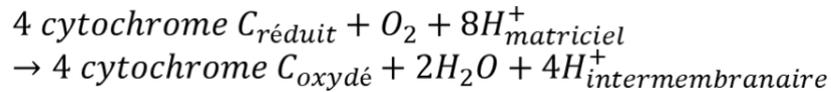


- CoQ₁₀ transmet ensuite ces deux électrons provenant du complexe I ou II au complexe III. L'un des électrons peut être recyclé par le complexe III plus tard, pendant que l'autre électron est acheminé au complexe IV par la protéine cytochrome C.



- La chaîne de transport d'électrons se termine au sein du complexe IV. Le cytochrome C transfère des électrons un à un au complexe IV où une série de réactions, nécessitant quatre électrons, convertit une molécule d'oxygène en deux molécules d'eau. Huit protons en tout sont extraits de la matrice, quatre sont utilisés pour produire les molécules d'eau et les quatre autres intègrent l'espace intermembranaire où ils peuvent contribuer à la phosphorylation oxydative en réintégrant la matrice via le complexe V, l'ATP synthase. Si l'on prive la chaîne respiratoire d'oxygène, celle-ci

s'arrête de fonctionner et la synthèse d'ATP n'a pas lieu. Donc, le bon fonctionnement de la chaîne respiratoire est directement tributaire d'un accès approprié à l'oxygène.



- L'ATP synthase F_1F_0 (ou complexe V), F_1 (pour 'Fraction 1') faisant référence à la partie du complexe au contact de la matrice mitochondriale, F_0 (pour 'Fraction Olygomycine') correspondant à la partie du complexe intégrée à la membrane, fonctionne grâce au gradient de protons, décrit précédemment. En effet, le flux de protons traversant le complexe via son canal protonique met en rotation F_0 qui, telle une turbine, génère l'énergie nécessaire à la synthèse de l'ATP par le complexe F_1 (Ahmad et al. 2023) (Figure 6).

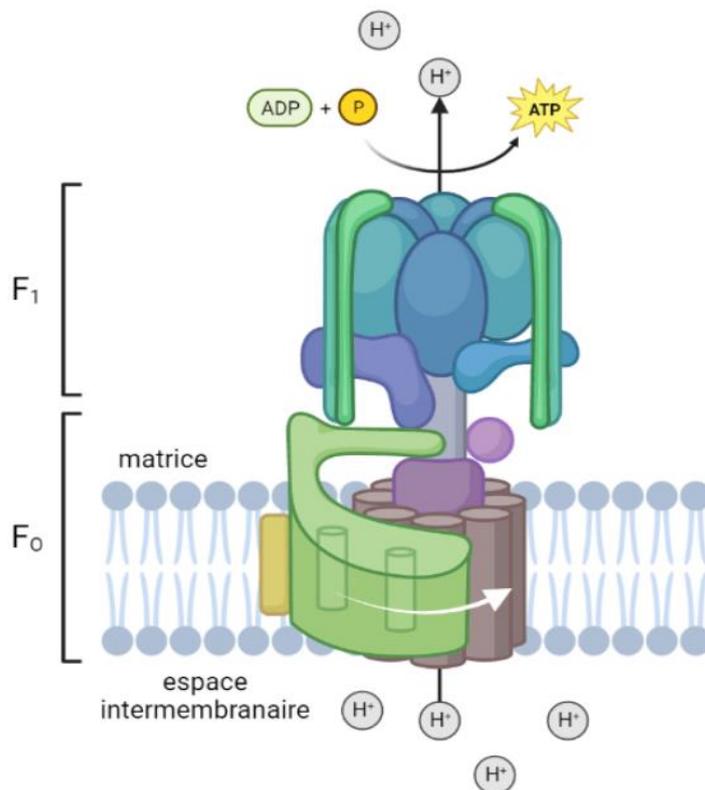


Figure 6 **Représentation schématique du complexe ATP synthase** traversé par un flux protonique (flèche montante noire) qui, en induisant la rotation (flèche blanche) de la fraction F_0 génère l'énergie nécessaire à la production d'ATP. (Figure créée avec [BioRender.com](https://www.biorender.com).)

Une molécule de NADH donnée à la chaîne respiratoire génère un gradient de protons

suffisamment important pour synthétiser 3 molécules d'ATP. En effet, pour une molécule de NADH, les complexes I, III et IV pompent chacun un proton de la matrice vers l'espace extracellulaire, ils réintègrent ensuite la matrice via le complexe V qui synthétise un ATP par proton. Une molécule de FADH₂ donne approximativement deux ATP, car FADH₂ est utilisé à partir du complexe II et active seulement les pompes à protons des complexes III et IV (Whitehouse et Moore 2013; Kühlbrandt 2015; Martínez-Reyes et Chandel 2020).

1.4 Bilan énergétique complet

Dans le cytosol, la glycolyse synthétise 2 ATP, 2 NADH et 2 pyruvates. La conversion du pyruvate en Acétyl-CoA produit 2 NADH. Au sein des mitochondries, le cycle de Krebs produit 6 NADH, 2 FADH₂, 2 CO₂ et 2 ATP. Pour finir, la chaîne respiratoire consomme 6 O₂ et produit 6 H₂O ainsi que 32 ATP grâce aux 8 NADH, 2 Q₁₀H₂ et 2 FADH₂ précédemment fournis :

$$(8 \text{ NADH}_{\text{matriciel}} \times 3 \text{ ATP}) + (2 \text{ Q}_{10}\text{H}_2 \times 2 \text{ ATP}) + (2 \text{ FADH}_2 \times 2 \text{ ATP}) = 32 \text{ ATP}.$$

Au total, 32 molécules d'ATP sont produites lorsque la respiration mitochondriale est mise en jeu (2 ATP_{Glycolyse} + 2 ATP_{Krebs} + 32 ATP_{Chaîne-respiratoire}).

Ce bilan énergétique s'applique aux cellules cérébrales (Figure 7)

On remarque que la production d'ATP est bien plus efficace lorsque le processus de respiration cellulaire est utilisé. Cependant, en présence d'oxygène, il a été constaté que la phosphorylation oxydative n'est pas systématiquement empruntée. Ce phénomène a été découvert par Otto Warburg dans les cellules cancéreuses où la production de lactate, qui soutient notamment l'angiogenèse et donc la croissance tumorale, augmente au détriment de la phosphorylation oxydative (Végran et al. 2011; San-Millán et Brooks 2017). Cette découverte ne se limite cependant pas aux cellules cancéreuses. Par exemple, l'activité neuronale entraîne une augmentation de la glycolyse, accompagnée d'une augmentation plus faible de la consommation en oxygène ce qui suggère une dissociation entre les deux processus lors d'une demande énergétique aiguë, alors que le métabolisme oxydatif fournit la majorité de l'ATP (Yellen 2018). Ce point sera abordé dans la partie 3 de ce chapitre.

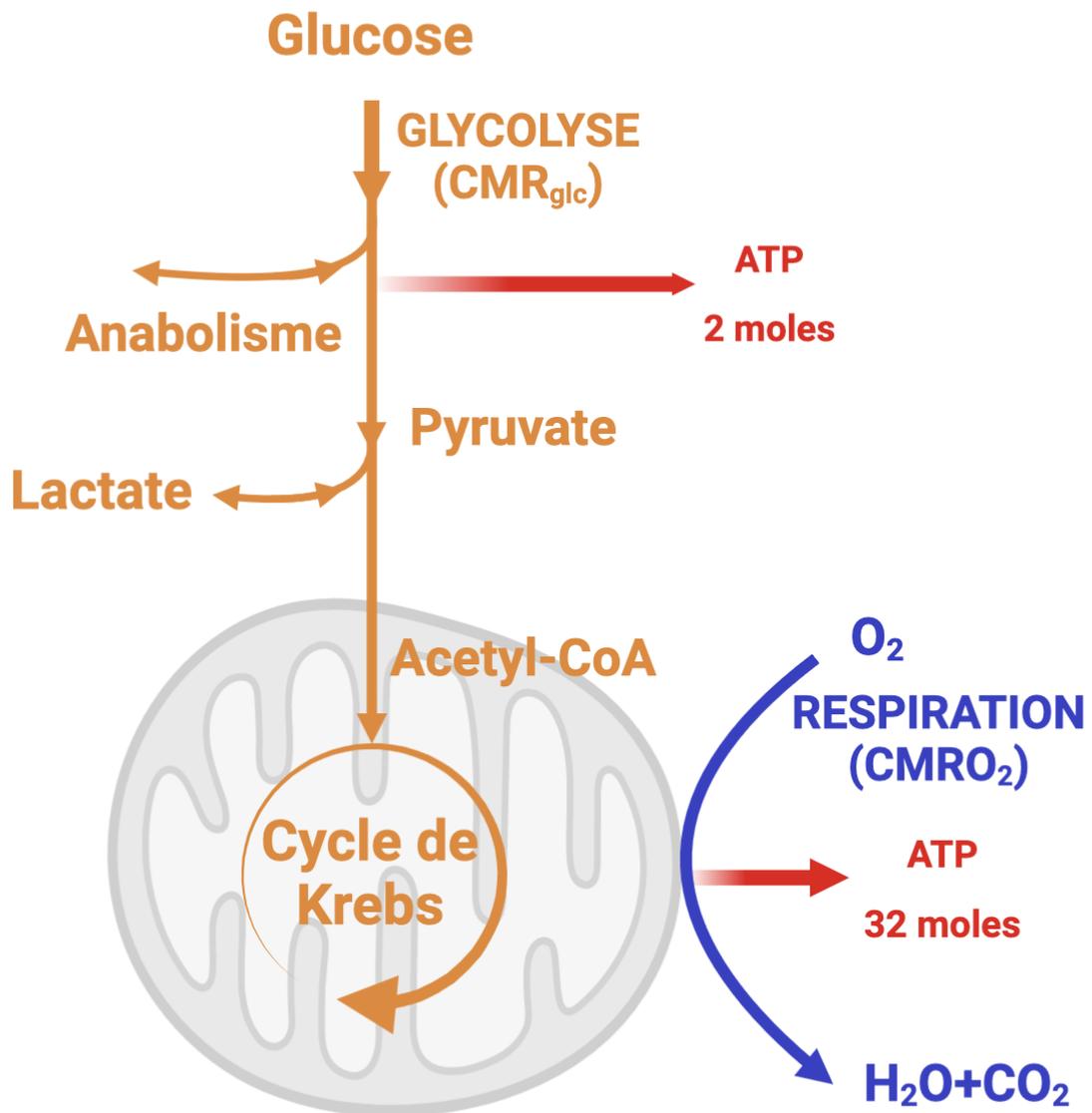


Figure 7 **Représentation schématique du métabolisme énergétique cérébral**, avec $CMRO_2$ le taux de consommation en oxygène cérébral et CMR_{glc} le taux de consommation en glucose cérébral. (Figure créée à partir de [BioRender.com](https://www.biorender.com).)

2 COMPOSITION ET FONCTIONNEMENT DU SYSTEME NERVEUX CENTRAL

2.1 Description cellulaire du SNC

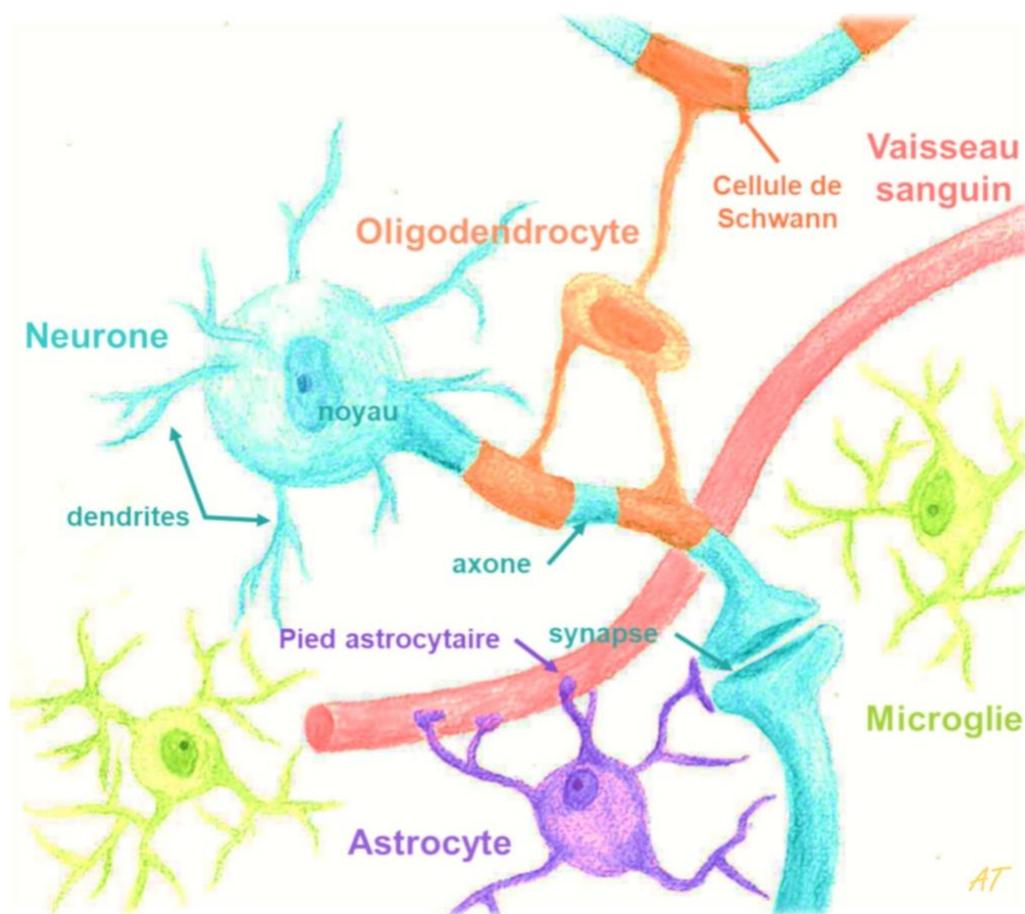


Figure 8 **Représentation schématique de l'organisation cellulaire et vasculaire du SNC.**

Le système nerveux central (SNC) renferme une multitude de réseaux constitués de milliards de neurones. Leurs axones sont protégés par la gaine de myéline, constituée d'oligodendrocytes qui font partie de la famille des cellules gliales avec les astrocytes et la microglie (Figure 8). Les cellules gliales possèdent des fonctions structurelles et métaboliques importantes au sein du SNC et sont présentes dans notre cerveau en quantité non négligeable. Par exemple dans la littérature, un ratio glie-neurone moyen de 3 est estimé dans le cerveau humain (en incluant la substance blanche) (Azevedo et al. 2009). Hormis quelques exceptions, des études publiées rapportent dans les différentes régions du cerveau une majorité d'oligodendrocytes (45-75 % des cellules gliales), suivis par les astrocytes (19-40 %), tandis que la microglie contribue à hauteur de 10 % (Bartheld et al. 2016) .

Les neurones et les cellules gliales fonctionnent indépendamment ou de façon complémentaire. Par conséquent, le comportement métabolique de chacun de ces types cellulaires est différent. On trouve dans la littérature de nombreux articles qui caractérisent le comportement neuronal et astrocytaire tandis que les autres cellules gliales, comme la microglie, restent encore mal connues. En effet, les cellules microgliales sont reconnues comme les cellules immunitaires du SNC grâce à leurs capacités phagocytaires (Kreutzberg 1996) mais elles occuperaient d'autres fonctions importantes comme celle de maintenir l'homéostasie du cerveau (Arnoux 2014). En ce qui concerne les oligodendrocytes, ils forment avec les cellules de Schwann, la gaine de myéline qui entoure les axones. Ils contribuent notamment à augmenter la vitesse et l'efficacité de la transmission des signaux neuronaux et sont essentiels au fonctionnement et à la survie des neurones (Skoff et Benjamins 2014).

2.2 Description vasculaire du SNC

Le système vasculaire cérébral est constitué d'un réseau dense d'artères, de capillaires et de veines, qui sont principalement alimentés en sang par deux artères carotides et deux artères vertébrales faisant le lien avec le reste du corps (Agarwal et Carare 2021). Selon une analyse quantitative de Kirst et al. (Kirst et al. 2020), la longueur totale du réseau vasculaire cérébral serait de 144 ± 2 m par hémisphère, mais sa répartition n'est pas homogène.

Les vaisseaux sanguins du cerveau sont organisés de manière hiérarchique, les grandes artères se ramifiant en artérioles plus petites, qui se ramifient à leur tour en capillaires qui constituent les plus petits vaisseaux sanguins et assurent l'apport d'oxygène et de nutriments, tel que le glucose, au tissu cérébral. Les veines récupèrent ensuite le sang désoxygéné et le ramènent au cœur. Cette organisation complexe est cruciale pour maintenir un flux sanguin adéquat et fournir des nutriments aux cellules cérébrales (Agarwal et Carare 2021).

2.3 Fonction et métabolisme neuronal

Les neurones sont des cellules nerveuses qui transmettent et traitent des informations à partir de signaux électriques. Ils participent à des fonctions cognitives et sensorielles, ainsi qu'au maintien de gradients ioniques (Shulman et al. 2004; Bélanger et al. 2011). Ces

fonctions sont à l'origine d'un besoin en énergie significativement plus important pour les neurones que pour les cellules gliales. En effet, l'activité neuronale consommerait approximativement 80 à 95 % de l'énergie dans le SNC et les cellules gliales seulement 5 à 20 % (Pellerin 2005).

Le métabolisme neuronal désigne les processus par lesquels les neurones génèrent et utilisent de l'énergie pour remplir leurs fonctions. Leur principale source d'énergie est le glucose, qu'ils récupèrent majoritairement à partir du milieu extracellulaire par l'intermédiaire d'un transporteur appelé GLUT3. L'expression et l'activité de ce transporteur peut être influencée par divers facteurs comme l'activité synaptique et l'expression d'hormones comme l'insuline (Peng et al. 2021). En plus du glucose, les neurones peuvent aussi recruter d'autres substrats énergétiques, depuis l'espace extracellulaire, comme le lactate, formé à partir de la glycolyse, ou les corps cétoniques (en anglais, *Ketone bodies*). Ces derniers sont des molécules produites par le foie pendant des périodes de jeûne ou de faible consommation d'hydrates de carbone. Ces deux types de molécules sont absorbés par les neurones par l'intermédiaire d'un transporteur monocarboxylate (MCT) appelé MCT2 pour ensuite être convertis en la molécule d'acétyl-CoA qui est impliquée dans la première étape du cycle de Krebs (López-Ojeda et Hurley 2023).

En accord avec leurs besoins en énergie, les neurones utilisent beaucoup le métabolisme oxydatif (plus efficace que la glycolyse seule pour produire de l'ATP) par rapport aux cellules gliales (Lebon et al. 2002; Itoh et al. 2003; Bouzier-Sore et al. 2006; Boumezbeur et al. 2010) et choisiraient même préférentiellement le lactate au glucose en tant que substrat énergétique quand ils sont tous deux présents (Itoh et al. 2003; Bouzier-Sore et al. 2006; Bélanger et al. 2011), même si ce point reste controversé (Díaz-García et al. 2017; Bak et Walls 2018; Yellen 2018).

2.4 Fonction et métabolisme astrocytaire

Les astrocytes occupent des fonctions essentielles au niveau structurel, synaptique, métabolique, vasculaire et homéostatique (ions et neurotransmetteurs). Ils doivent leur nom à leur forme d'étoile caractérisée par des prolongements de natures différentes servant notamment de support aux structures cérébrales. Certains de ces prolongements se terminent sous forme de pieds astrocytaires qui enveloppent la surface des capillaires

sanguins et participent ainsi au maintien de la barrière hémato-encéphalique (BHE) (Figure 8) (Sofroniew et Vinters 2010; Cabezas et al. 2014). Au-delà de leur rôle structurel, les pieds astrocytaires expriment des protéines à leur surface telles que l'aquaporine-4 (AQP4), contribuant à rendre perméable aux molécules d'eau la membrane qu'elle occupe. Les astrocytes présentent aussi des prolongements synaptiques qui viennent au contact des terminaisons neuronales pré- et postsynaptiques pour former des synapses tripartites (Pellerin 2018). Ces prolongements expriment des canaux ioniques et divers récepteurs et transporteurs, notamment spécifiques du glutamate qui sont sensibles aux neurotransmissions glutamatergiques. Ainsi, ils participent au métabolisme neuronal en plus de recycler les neurotransmetteurs et de réguler la synapto-génèse et les transmissions synaptiques (Haim et Rowitch 2017). De plus, les astrocytes expriment le transporteur de glucose GLUT1 (Morgello et al. 1995) et des transporteurs MCT, tels que MCT1 et MCT4. Contrairement à MCT4 qui est exclusivement exprimé par les astrocytes, GLUT1 et MCT1 sont aussi exprimés par les cellules endothéliales de la BHE. GLUT1 est ainsi responsable du transport de glucose du sang vers l'espace extracellulaire du SNC et de la même manière MCT1 du transport de lactate, de corps cétoniques et de pyruvate. MCT1 et MCT4 étant des transporteurs bidirectionnels, les astrocytes peuvent aussi bien absorber ou relâcher du lactate dans l'espace extracellulaire (Camandola et Mattson 2017). Il a été montré que les astrocytes reposent majoritairement sur la glycolyse, ils récupèrent du glucose depuis le sang et le dégradent en lactate à partir de la glycolyse pour le relâcher dans l'espace extracellulaire via les MCT1/4 (Pellerin et al. 2007; Mangia et al. 2009).

L'ensemble des transporteurs énoncés précédemment, ainsi que le comportement métabolique des astrocytes attestent de leur participation active au :

- couplage neurovasculaire : le couplage entre l'activité neuronale et l'augmentation du CBF.
- couplage neurométabolique : le couplage entre l'activité neuronale et le métabolisme énergétique (Figley et Stroman 2011; Magistretti et Allaman 2015).

3 LE METABOLISME GLYCOLYTIQUE ET OXYDATIF DANS LE CERVEAU

3.1 La consommation de glucose en excès de la consommation d'oxygène au repos

Dans le cerveau sain, au repos, le rapport entre le taux métabolique cérébral de consommation en oxygène (CMRO₂) et le taux métabolique cérébral de consommation en glucose (CMR_{glc}), appelé OGI (en anglais, Oxygen-Glucose Index) est légèrement inférieur au maximum théorique de 6 établi par la relation stœchiométrique : $C_6H_{12}O_6 + 6 O_2 \rightarrow 6 CO_2 + 6 H_2O$. Par exemple, à partir de mesures TEP à l'¹⁵O pour déterminer CMRO₂ (méthode décrite dans le Chapitre 2) et de mesures TEP au Fluorodéoxyglucose marqué au fluor 18 (¹⁸F-FDG) pour déterminer CMR_{glc}, chez des sujets sains au repos, Hatazawa et al. et Frackowiak et al. rapportent des valeurs d'OGI de 5,3 et 5,8, respectivement (Frackowiak et al. 1988; Hatazawa et al. 1988). Ce phénomène pourrait provenir en partie d'un besoin en lactate, qui serait une molécule importante pour maintenir un fonctionnement normal au repos.

En effet, le lactate occuperait des fonctions de signalisation et serait impliqué dans la régulation de la fonction cérébrale incluant la plasticité synaptique, la neurogénèse, la neuroprotection, le CBF et servirait de substrat énergétique pour les neurones (Dienel 2019; Cai et al. 2022). Néanmoins, la production de lactate ne serait pas l'unique raison pour laquelle le métabolisme du glucose est préféré au métabolisme oxydatif au repos. Par exemple, la glycolyse permet la production rapide d'ATP au niveau subcellulaire, où le taux de renouvellement de l'ATP est élevé. Elle sert aussi de support à des événements spécifiques dépendant de l'énergie, tels que l'activité des pompes ioniques de la membrane plasmique, l'approvisionnement en ATP pour le transport axonal (processus par lequel diverses molécules, y compris des protéines et des organites, sont transportées le long de l'axone d'un neurone) (Zala et al. 2013; Mandal et Drerup 2019) ou encore l'activité des terminaisons postsynaptiques contenant significativement moins de mitochondries qu'au niveau présynaptique (Delgado et al. 2019).

3.2 L'OGI lors d'une activation cérébrale

L'activation cérébrale fait référence à la stimulation des cellules cérébrales entraînant une

augmentation des activités de signalisation, des flux ioniques et de la demande en ATP.

Pendant l'activité cérébrale, le besoin en ATP augmente. Dans ce contexte, CBF augmente, notamment pour approvisionner le cerveau en glucose et en oxygène. Le métabolisme du glucose et de l'oxygène augmentent pour fournir l'énergie nécessaire. Mais certaines études rapportent une diminution de l'OGI par rapport à l'état basal (Fox et al. 1988; Madsen et al. 1995), suggérant une consommation de glucose en excès de la consommation en oxygène lors d'une activation. Cependant, la diminution de l'OGI et le découplage entre $CMRO_2$ et CBF n'est pas soutenu par certaines études, qui au contraire suggèrent une augmentation de $CMRO_2$ couplée à celle de CMR_{glc} et de CBF lors d'une activité cérébrale (Hyder et al. 1996, 1998; Hermán et al. 2006). Le couplage ou le découplage entre l'augmentation de $CMRO_2$, CMR_{glc} et CBF lors d'une activation cérébrale reste controversé (Fox 2012) et soulève un besoin important de nouvelles études pour réconcilier les résultats et interprétations conflictuels.

4 ACTIVATION FONCTIONNELLE CEREBRALE

L'activation fonctionnelle d'une zone cérébrale spécifique peut être induite par une stimulation exogène, de type sensorielle ou motrice. Parmi les stimuli sensoriels, la stimulation visuelle est souvent utilisée chez l'homme pour mesurer l'activation correspondante dans le cortex visuel et consiste la plupart du temps à montrer un échiquier en rotation au sujet (Fox 2012; DeYoe et Raut 2014; Jaeger et al. 2023).

Il est aussi possible d'activer le cortex somatosensoriel primaire (S1), une région impliquée dans le traitement du touché et de la proprioception. Chez le rongeur, une partie de cette région est organisée en tonneaux (en anglais, S1BF pour *Primary Somatosensory cortex of the Barrel Field*), qui correspondent chacun à une vibrisse du museau de l'animal du côté opposé. Plus précisément, les vibrisses sont reliées au cortex somatosensoriel par la voie somatosensorielle du réseau trijumeau. Chaque follicule associé à une vibrisse de la moustache est innervé par plusieurs terminaisons périphériques d'afférences primaires. Les somas des neurones sensoriels primaires sont situés dans le ganglion trijumeau, et leurs projections centrales distribuent leurs branches dans les noyaux trijumeaux du tronc cérébral où se trouvent des connections synaptiques avec des neurones qui se projettent jusqu'au thalamus de l'hémisphère opposé. A partir du thalamus, trois voies afférentes atteignent les

niveaux corticaux, dont le S1 (Figure 9). (Diamond et al. 2008; Fernández-Montoya et al. 2018).

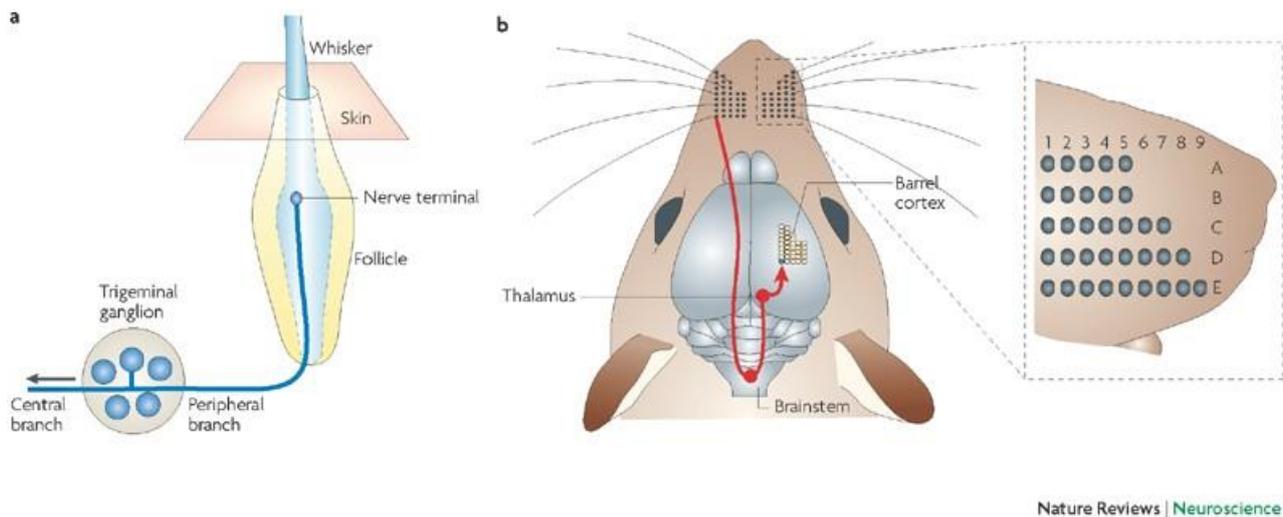


Figure 9 **a**. Représentation du follicule d'une vibrisse et d'une terminaison nerveuse périphérique reliée au soma d'un nerf trijumeau situé dans le ganglion trijumeau ou la branche centrale distribue sa branche **b**. au tronc cérébral où se trouve le noyau trijumeau et une connexion synaptique avec les axones des neurones de deuxième ordre. Ces neurones traversent la ligne médiane et se dirigent vers les noyaux somatosensoriels thalamiques. Les neurones thalamiques se projettent ensuite vers les tonneaux du cortex somatosensoriel primaire (flèche rouge). Les vibrisses forment une grille bidimensionnelle de cinq rangées de chaque côté du museau, chaque rangée contenant cinq à neuf moustaches d'une longueur comprise entre 15 et 50 mm (voir encadré). (Figure de l'article de Diamond et al., 2008)

Une autre partie d'intérêt pour l'activation fonctionnelle dans le S1 chez le rongeur est le S1FL/HL (en anglais, S1FL pour *Primary Somatosensory cortex of the Fore Limb* ou S1HL pour *Hind Limb*) qui correspond aux pattes antérieures et postérieures de l'animal. Le S1 et les pattes sont reliés à la moelle épinière par le tractus corticospinal sensoriel (CST), une voie neuronale qui sous la forme de CST moteur est aussi connectée au cortex moteur. La moelle épinière est responsable de la transmission des commandes motrices du cortex moteur aux muscles, y compris ceux des pattes, via les motoneurones, et de la transmission des informations sensorielles des pattes vers le S1 via des interneurones spinaux (Ueno et al. 2018).

En résumé, le S1 est étroitement relié à des zones du corps grâce à une organisation

nerveuse qui permet la transmission d'informations sur le mouvement, le toucher et d'autres entrées sensorielles au cortex somatosensoriel. Les pattes du rongeur sont reliées différemment au cortex somatosensoriel que les vibrisses, indiquant que l'activation neuronale et la réponse métabolique à une stimulation est potentiellement différente entre ces deux éléments.

Dans cette thèse, nous proposons une mesure du métabolisme oxydatif lors d'une stimulation des pattes du rat. Un protocole de stimulation des vibrisses du rat a aussi été établi et est présenté en annexe.

Chapitre 2 : TECHNIQUES D'IMAGERIE DU METABOLISME OXYDATIF

En 1945, Kety et Schmidt estimaient, pour la première fois, la consommation d'oxygène dans le cerveau à partir de mesures de concentration en N₂O dans des prélèvements artérioveineux au niveau de la jugulaire après une inhalation de N₂O gazeux en s'appuyant sur le principe de Fick (Kety et Schmidt 1945). Cette estimation se fait selon l'équation suivante :

$$CMRO_2 = C_A \cdot CBF \cdot OEF$$

Avec C_A , la concentration artérielle en oxygène, CBF, le flux sanguin cérébral et OEF, la fraction d'extraction d'oxygène (*Oxygen Extraction Fraction*, en anglais), la fraction d'extraction d'oxygène des capillaires vers les tissus cérébraux : $OEF = \frac{C_A - C_V}{C_A}$, avec C_V , la concentration veineuse en oxygène.

Cette méthode est très invasive et ne fournit des informations qu'à l'échelle de l'organe entier. Des techniques d'imagerie peuvent alors être utilisées pour obtenir une information spatialement résolue comme la TEP et l'IRM. Ces dernières rendent, par exemple, possible la cartographie de CMRO₂, à condition que le contraste mesuré soit sensible à l'oxygénation. Dans ce chapitre, la mesure de CMRO₂ par TEP à l'¹⁵O sera présentée, puis l'IRM du métabolisme oxydatif sera détaillée en deux parties, la première sera axée sur les méthodes ¹H et la seconde sur l'utilisation des noyaux X.

1 TEP A L'¹⁵O

La TEP à l'¹⁵O est la méthode de référence pour mesurer CMRO₂. Pour cette mesure, un radiotracteur émetteur de positons est administré puis, par interaction avec les électrons de leur environnement, les positons entraînent un processus d'annihilation se traduisant par l'émission de deux photons d'énergie égale (511 KeV) dans des directions opposées. Ces photons peuvent être détectés en coïncidence au niveau de la couronne de détecteurs de la caméra TEP. Seuls les photons détectés dans une courte fenêtre de coïncidence (de l'ordre de quelques nanosecondes (Basu et al. 2011)) sont sélectionnés. Ensuite, le lieu de l'annihilation peut être localisé sur la ligne de réponse (LOR pour *Line Of Response* en anglais) qui relie les deux détecteurs dans lesquels les photons ont interagi. La détection d'un grand nombre d'évènements permet ensuite de former une image TEP (Daghighian et al. 1990)

(Figure 10).

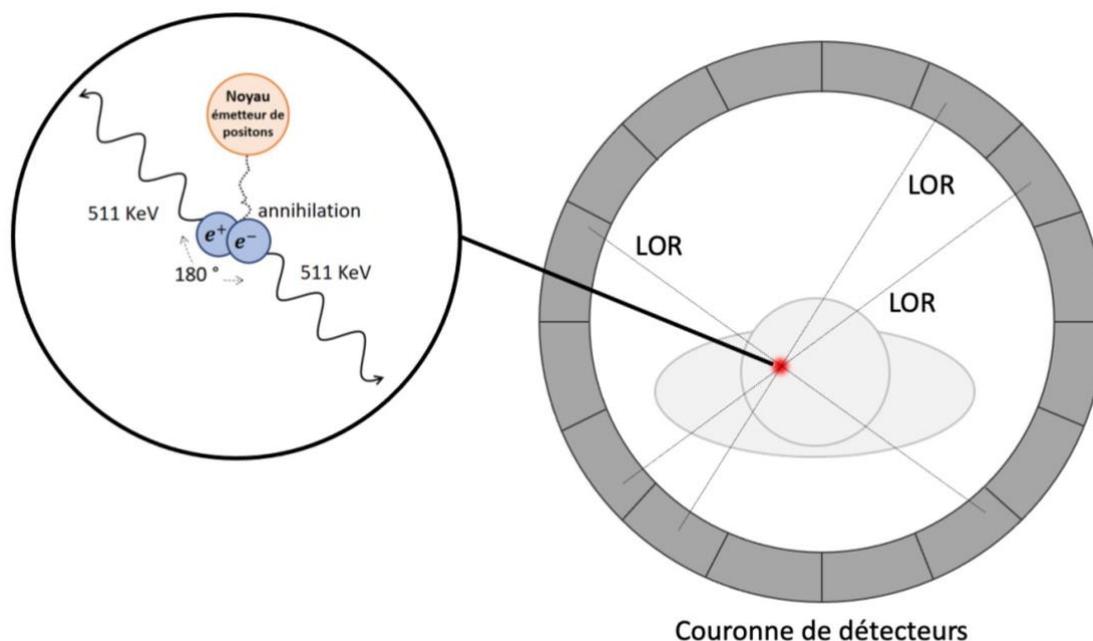


Figure 10 Représentation schématique du phénomène d'annihilation et du principe de détection en TEP.

Pour mesurer $CMRO_2$ à l'aide de cette technique, l' ^{15}O est utilisé en tant que traceur et administré sous forme gazeuse. Une manipulation précautionneuse est requise pour limiter les fuites de gaz ionisant qui pourraient irradier inutilement le sujet et l'opérateur et ajouter du signal parasite. L' ^{15}O a une courte demi-vie de 122 secondes rendant nécessaire la présence d'un cyclotron à proximité de la caméra. Une fois inhalé, les échanges entre les poumons et les vaisseaux sanguins permettent à l' $^{15}O_2$ de se lier à l'hémoglobine et d'être distribué via la circulation sanguine aux tissus. Le rapport entre l'oxygène sanguin prélevé par les tissus et le flux sanguin peut être caractérisé avec l'OEF (Fan et al. 2020). L' $^{15}O_2$ peut ensuite être réduit dans les cellules en $H_2^{15}O$ par la chaîne d'électrons. L'eau marquée en ^{15}O circule, par la suite, dans tout le corps et toutes les formes de l' ^{15}O contribuent au signal TEP. Notons que l' ^{15}O sous forme dissoute dans les tissus et le sang est négligeable par rapport à l' ^{15}O lié à l'hémoglobine et l'eau marquée en ^{15}O .

La détermination de $CMRO_2$ repose sur l'application du principe de Fick (Ter-Pogossian et al. 1970; Raichle et al. 1976; Frackowiak et al. 1980; Mintun et al. 1984). Il est donc nécessaire

d'effectuer plusieurs acquisitions pour quantifier le CBF et l'OEF et d'attendre quelques minutes (~7-10 minutes) entre les différentes mesures pour laisser le temps à la radioactivité de diminuer de quelques demi-vies. Les mesures de $CMRO_2$ avec la TEP à l' ^{15}O sont donc particulièrement longues (Kudomi et al. 2013). Par conséquent, en condition *in vivo*, où les paramètres physiologiques évoluent constamment, une erreur non-négligeable dans la détermination de $CMRO_2$ est introduite (Fan et al. 2020). De plus, la résolution spatiale de cette technique reste limitée même si des progrès ont été obtenus avec le développement de nouveaux scanners et logiciels TEP. Par exemple, chez l'homme, le développement de TEP-3D a permis de réduire la résolution spatiale dans le plan à 4,5-4,8 mm (Magota et al. 2017; Wagatsuma et al. 2017; Fan et al. 2020) par rapport aux anciens scanner 2D où elle était plutôt de l'ordre d'une dizaine de mm (Ter-Pogossian et al. 1982; Mintun et al. 1984; Pantano et al. 1985; Fan et al. 2020). Cependant, la résolution spatiale de la technique reste intrinsèquement limitée par les propriétés physiques de l'émetteur de positons et surtout par leur libre parcours moyen. Si ce problème est peu limitant pour la TEP au ^{18}F -FDG (libre parcours moyen (eau) = 0,6 mm (Conti et Eriksson 2016)), il le devient pour celle à l' ^{15}O où l'énergie des particules émises est quasiment 3 fois plus importante (Van Camp et al. 2012), avec un libre parcours moyen de 3 mm (Conti et Eriksson 2016). De plus, la dispersion du gaz d' ^{15}O participe à la réduction du contraste des images et peut diminuer la sensibilité de détermination de $CMRO_2$ dans les différentes structures cérébrales adjacentes rendant alors nécessaire l'utilisation de corrections (Ferreira et al. 2002; Magota et al. 2017; Wangerin et al. 2018).

La TEP à l' ^{15}O est d'autant plus complexe chez le petit animal pour diverses raisons. La résolution spatiale est, dans ce cas, plus limitée comme les volumes imagés sont plus petits. De plus, chez ce dernier, le faible volume sanguin rend difficile le prélèvement d'échantillons en série pour déterminer la fonction d'entrée artérielle du traceur, essentielle pour les études dynamiques et la modélisation cinétique. A l'échelle du petit animal, la quantité de diffusé et de coïncidences aléatoires augmentent et la quantité injectable du radiotraceur est limitée complexifiant ainsi la répétition des acquisitions.

Date	Auteurs	CMRO ₂ ($\mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$)	Sujet	Anesthésie
2006	S-H. Yee	2,08 ± 0,15	Rat (n = 10)	α -chloralose
2008	T. Temma	1,96 ± 0,18	Rat (n = 4)	chloral-hydrate
2012	M. Kobayashi	2,78 ± 0,19	Rat (n = 10)	chloral-hydrate
2013	T. Watabe	1,44 ± 0,19 3,76 (après correction de volume partiel)	Rat (n = 8)	midazolam, xylazine, butorphanol
2014	T. Temma	2,24 ± 0,16	Rat (n = 10)	α -chloralose
2019	C. M. Macaïsa	3,14 ± 0,40	Rat (n = 9)	midazolam, xylazine, butorphanol
2004	H. Ito	1,47 ± 0,22 (comparaison multicentrique)	Humain (n = 70)	N.A.
2011	J. P. Bremmer	1,37 ± 0,09	Humain (n = 10)	

Tableau 1 **Liste non exhaustive de valeurs de CMRO₂ mesurées par TEP-¹⁵O dans le cerveau entier d'hommes et de rats.**

Toutefois, divers travaux ont été réalisés chez le rat (Tableau 1) (Yee et al. 2006; Temma et al. 2008, 2014; Kobayashi et al. 2012; Watabe et al. 2013; Macaïsa et al. 2019) démontrant la faisabilité de cette méthode pour mesurer CMRO₂ à l'échelle du cerveau entier chez le rongeur. Chez l'homme, de nombreuses mesures de CMRO₂ à l'état basal ont été effectuées (Ito et al. 2004; Bremmer et al. 2011) (Tableau 1). Fox et al. ont, par exemple, quantifié le changement de CMRO₂ en réponse à une stimulation visuelle dans le cortex visuel (Fox et al. 1988) et ont rapporté un ΔCMRO_2 de 5 % entre l'état basal et l'état activé (Figure 11).

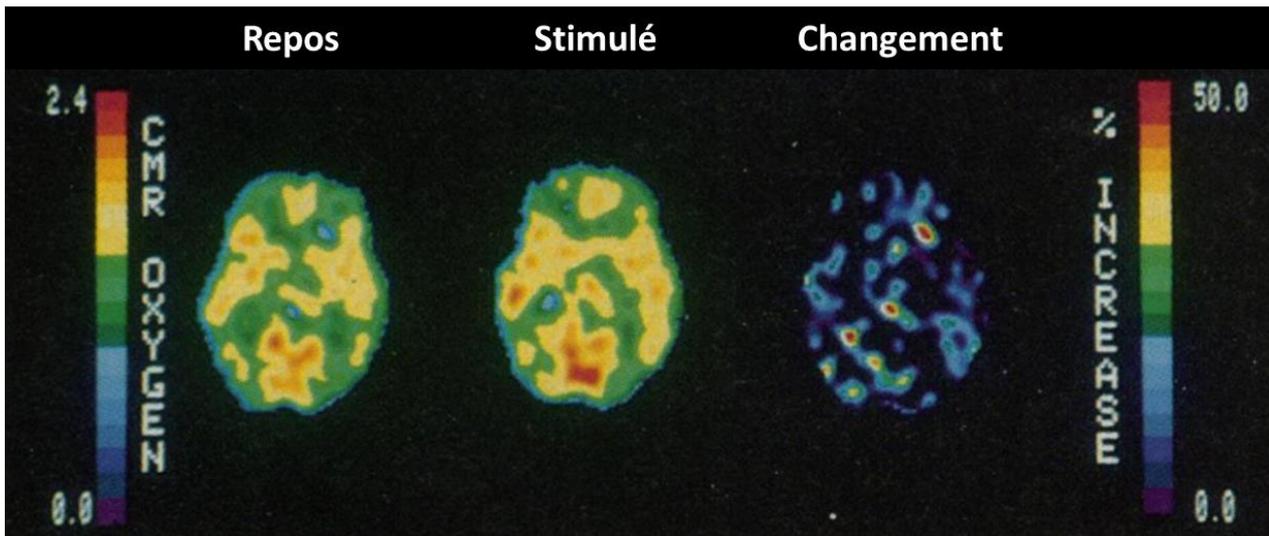


Figure 11 **Mesure de CMRO₂ dans un cerveau humain avec la TEP-¹⁵O**, au repos (gauche), pendant une stimulation visuelle (milieu) avec le pourcentage de différence (droite). (Figure adaptée de l'article de Fox et al., 1988)

En parallèle, des méthodes d'imagerie RMN ont été développées pour mesurer CMRO₂. Ces approches offrent de nouvelles perspectives d'acquisitions mieux résolues spatialement et temporellement avec un bon rapport signal sur bruit (SNR).

2 METHODES RMN ¹H

Les méthodes d'imagerie RMN constituent une approche non-invasive et non-irradiante et sont facilement accessibles grâce à la disponibilité importante de scanners IRM cliniques et précliniques. Comme pour la TEP à l'¹⁵O, il est possible de déterminer CMRO₂ de manière relative à partir de méthodes RMN à la fréquence de l'hydrogène-1 (¹H) en appliquant le principe de Fick avec le BOLD calibré (Blood Oxygenation Level Dependent). Pour déterminer CMRO₂ de façon quantitative, des méthodes complémentaires de BOLD quantitatif (qBOLD) et de quantification de susceptibilité magnétique (QSM) ont, par la suite, été développées. Dans cette partie, le principe de l'effet BOLD sera décrit puis nous aborderons les méthodes de BOLD calibré, de qBOLD et de QSM.

2.1 Principe de l'effet BOLD

L'effet BOLD repose sur des différences de susceptibilité magnétique entre l'oxyhémoglobine (oxy-Hb) et la désoxyhémoglobine (désoxy-Hb). Contrairement à l'oxy-

Hb, la molécule de désoxy-Hb a des électrons non appariés. Comme la susceptibilité magnétique est proportionnelle au nombre d'électrons non appariés, la désoxy-Hb est paramagnétique et l'oxy-Hb, dépourvue d'électrons non appariés, est diamagnétique (Pauling et Coryell 1936). Par conséquent, lorsque l'oxy-Hb libère un oxygène pour donner une molécule de désoxy-Hb, une importante perturbation du champ magnétique a lieu au niveau du vaisseau sanguin réduisant les temps de relaxation T2 et T2*. Des séquences d'écho de spin et d'écho de gradient peuvent être utilisées pour étudier l'effet BOLD sur les temps de relaxation T2 et T2*, respectivement. Cependant, le contraste sera meilleur avec les séquences d'écho de gradient (Ogawa et al. 1990) car, contrairement au T2, la sensibilité des mesures pondérées en T2* n'est pas dépendante de la taille des vaisseaux sanguins (Boxerman et al. 1995; Christen et al. 2013).

L'effet BOLD peut être utilisé en IRM fonctionnelle (fMRI) au repos ou lors de stimulations pour mesurer la différence de signal entre une période d'activation et une période de repos. Pendant les périodes d'activation, le flux sanguin cérébral (CBF) et le volume sanguin cérébral (CBV) augmentent induisant une diminution de désoxy-Hb dans le sang. Ce phénomène est à l'origine d'un contraste BOLD positif important au niveau de la région activée. Cependant, les variations de signal dépendent également d'autres paramètres ayant un impact sur le T2 et le T2* tels que la perfusion de sang oxygéné (CBF), le volume sanguin (CBV) et le taux d'utilisation de l'oxygène (CMRO₂) compliquant l'interprétation physiologique du signal. Ainsi, le signal BOLD (S) dépend de l'équilibre entre ces paramètres hémodynamiques et métaboliques et peut être exprimé à partir du principe de Fick :

$$\frac{\Delta S}{S} = A \left(\frac{\frac{\Delta CBF}{CBF} - \frac{\Delta CMRO_2}{CMRO_2}}{1 + \frac{\Delta CBF}{CBF}} - \frac{\Delta CBV}{CBV} \right)$$

Les fractions $\frac{\Delta CBF}{CBF}$, $\frac{\Delta CMRO_2}{CMRO_2}$, $\frac{\Delta CBV}{CBV}$ sont, respectivement, les variations de flux sanguin, de consommation d'O₂ et de volume sanguin. Le paramètre A est une constante physiologique dépendante de B₀, définie par cette équation : $A = C v_{max} (1 - Y_{OEF}) b T E$ avec C, un facteur de proportionnalité, v_{max}, le déplacement en fréquence de la susceptibilité de la désoxyhémoglobine en fonction du champ magnétique, (1-Y_{OEF}), la différence d'oxygénation artérioveineuse pour un OEF basal, b, la fraction volumique du sang et TE, la valeur du temps d'écho de gradient (Hyder et al. 1998, 2001; Shulman et al. 2002; Hyder et al. 2010).

En conclusion, la mesure conventionnelle de la réponse BOLD ne permet pas de quantifier l'oxygénation à l'état basal ni même les changements d'oxygénation lors d'une activation cérébrale. Cette technique donne uniquement une information qualitative en permettant notamment de localiser l'activité neuronale en réponse à une stimulation et en donnant une information relative à un état basal (Fox et Raichle 2007) complexe car influencée par une combinaison de composantes vasculaires et métaboliques. De nombreuses applications sont rapportées dans la littérature notamment chez le rat pour étudier la réponse BOLD à différents types de stimulus comme, par exemple, une stimulation électrique des pattes (Hyder et al. 1994), une stimulation des vibrisses (Yang et al. 1996) et une stimulation olfactive (Yang et al. 1998; Xu et al. 2000). Cependant, pour obtenir une évaluation plus précise de l'activité fonctionnelle du cerveau, la méthode de BOLD calibré a été développée pour déterminer $\Delta\text{CMRO}_2/\text{CMRO}_2$ (Englund et al. 2020), un paramètre plus pertinent pour étudier l'activité physiologique.

2.2 Méthodes de BOLD calibré

Les premiers développements et applications de la méthode de BOLD calibré ont été effectués à la fin des années 90 (Davis et al. 1998; Mandeville et al. 1999) et ont initié les premières interprétations physiologiques du signal BOLD.

Pour déterminer CMRO_2 à partir de cette méthode de BOLD, plusieurs acquisitions indépendantes pour mesurer le signal BOLD, CBF et CBV sont nécessaires. Pour quantifier des variations de CMRO_2 , il est possible de faire des acquisitions de référence dans des conditions d'hyperoxie (O_2 en excès) ou d'hypercapnie (CO_2 en excès). En revanche, cette méthode ne permet pas d'obtenir des valeurs absolues de CMRO_2 et les calibrations en hypo/hyperoxie pourraient surestimer de 5 à 8% les variations CMRO_2 en réponse à un stimulus d'après Blockley et al. (Blockley et al. 2013).

Il est aussi important de noter que les acquisitions successives, nécessaires avec cette méthode, multiplient les sources de bruit et augmentent la probabilité d'introduire des erreurs. Cela est d'autant plus vrai que cette approche demande d'effectuer ces acquisitions dans trois états différents (normoxie, hyperoxie, hypoxie). Ainsi, il est important d'adopter un regard critique sur les résultats obtenus et de mettre en place des procédures de validation. Cette méthode a été, cependant, utilisée dans de nombreuses études chez

l'homme (Leontiev et al. 2007; Chen et Pike 2010; Driver et al. 2017; Englund et al. 2020) et en préclinique (Kida et al. 2000; Hyder 2004; Herman et al. 2013). En effet, il s'agit d'une approche intéressante pour mesurer $CMRO_2$ puisqu'elle est peu coûteuse, peut être appliquée à partir d'IRM conventionnelle et permet d'atteindre une résolution temporelle et spatiale plus intéressantes que la méthode de mesure $TEP-^{15}O$ ou encore les méthodes de spectroscopie du ^{13}C et du ^{17}O qui seront détaillées dans la partie 3 de ce chapitre.

2.3 Méthodes de BOLD quantitatif (qBOLD)

L'imagerie BOLD conventionnelle repose sur des acquisitions à TE unique utilisant seulement une image $T2^*$. L'utilisation de séquences à TE multiples (multi-Gradient-Echo (MGE)) permet d'obtenir des cartographies $T2^*$ qui sont sensibles à la présence de désoxy-Hb dans le voxel. De plus, il est nécessaire de séparer la contribution conjointe de l'information vasculaire et de l'information d'oxygénation au signal.

Un modèle mathématique reposant sur un nombre important d'hypothèses a été développé afin de décrire l'évolution du signal RMN en présence de désoxy-Hb et de pouvoir différencier le CBV de la saturation en oxygène au niveau extravasculaire (Yablonskiy et Haacke 1994). Ainsi, le modèle peut être ajusté au signal mesuré in vivo pour générer des cartes de CBV et de saturation en oxygène (SO_2) (An et Lin 2000). Le modèle a ensuite été complexifié pour s'étendre à d'autres milieux (milieu intravasculaire, liquide céphalo-rachidien (LCR), inhomogénéités macroscopiques) (He et Yablonskiy 2007). Cette méthode rend alors possible la quantification de l'effet BOLD à l'état basal. Or, étant donné que sa détermination dépend d'un modèle complexe comportant de nombreux paramètres à ajuster, il est impératif d'avoir un bon SNR pour séparer de manière optimale la contribution vasculaire de la contribution de l'oxygénation au signal.

Néanmoins, afin de simplifier le modèle, il est possible de :

1. Faire l'acquisition de cartes de CBV en utilisant des agents de contrastes pour bien visualiser les vaisseaux ;
2. Corriger le phénomène de déphasage induit par les inhomogénéités macroscopiques à l'origine d'artefacts dans les mesures. Pour cela, il est nécessaire de faire de longues acquisitions 3D ou, pour accélérer le processus, d'utiliser, lors de l'analyse, un algorithme de correction basé sur la méthode de fonction d'étalement du voxel

(Yablonskiy et al. 2013).

Théoriquement, à partir d'un certain temps caractéristique, l'évolution du signal RMN extravasculaire, qui décroît exponentiellement jusque-là, peut être décrit par un comportement plus complexe qui inclût des effets d'inhomogénéités du champ et qui permet de négliger le T2 du sang, valeur relativement courte à haut champ (Lin et al. 2012). Dans ces conditions, Christen et al. ont décrit l'évolution du signal RMN (Christen et al. 2011) par :

$$S(t) = C \cdot F(t) \cdot e^{[-R_{2t}t - BV_f \cdot \gamma \cdot \Delta\chi_0 \cdot \frac{4}{3} \cdot Hct \cdot (1 - ISO_2) \cdot B_0 t]}$$

Avec les paramètres suivants :

- C, une constante de proportionnalité (dépendante notamment de la densité de spin, de l'angle de bascule, du champ magnétique, etc)
- F(t), la fonction de déphasage provenant des inhomogénéités macroscopiques, qui peut être mesurée ou corrigée
- R_{2t} , le temps de relaxation transverse des tissus, qui peut être mesuré
- BV_f , la fraction de volume sanguin, qui peut être mesurée
- γ , le rapport gyromagnétique
- $\Delta\chi_0$, la différence de susceptibilité magnétique entre désoxy-Hb et oxy-Hb
- Hct, la proportion d'hématocrites.
- ISO_2 , la saturation locale en oxygène

A ce stade, à part la saturation locale en oxygène, l'ensemble des paramètres du modèle est connu. En ajustant ce modèle exponentiel au signal obtenu à partir des acquisitions MGE, la saturation en oxygène dans le cerveau peut être cartographiée à partir de l'association de cartographies T2*, CBV et T2. Christen et al. ont appliqué cette méthode dans le cerveau de rat et ont pu générer des cartographies de saturation en oxygène et comparer des cartographies dans différentes conditions d'oxygénation (Figure 12) (Christen et al. 2014).

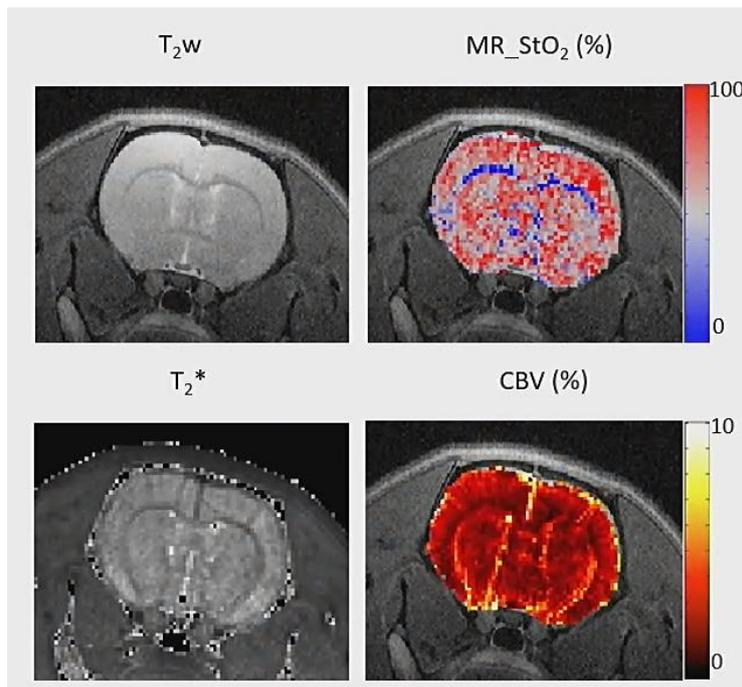


Figure 12 **Cartographies pondérée en T2, de T2*, de CBV et cartographie résultante de saturation en oxygène**, obtenues dans des conditions de normoxie chez le rat (Figure extraite de l'article de Christen et al., 2014).

Pour conclure, le qBOLD permet d'obtenir une mesure quantitative et résolue de la saturation en oxygène dans le cerveau mais demande, comme les techniques précédemment présentées, des acquisitions multiples qui nécessitent de longues durées d'acquisition. L'utilisation d'agents de contraste nécessaires pour cartographier le CBV présente une toxicité importante et est à l'origine d'effets indésirables chez l'homme et le petit animal (Rogosnitzky et Branch 2016). Enfin, les hypothèses sur lesquelles repose le modèle, notamment le fait de négliger les sources de susceptibilité magnétique, engendrent des erreurs dans la détermination de la saturation en oxygène de certains types de tissus. Pour obtenir l'information sur la susceptibilité magnétique, une autre approche appelée QSM peut être utilisée. Cette dernière se base sur l'interprétation de la phase du signal, contrairement au qBOLD basé sur le signal en magnitude, et permet de cartographier de manière quantitative la susceptibilité magnétique dans le cerveau.

2.4 Quantification de la susceptibilité magnétique

La méthode de QSM s'appuie sur la phase du signal Gradient-Echo en supposant que le

déplacement de phase provient essentiellement de la susceptibilité magnétique induite par des inhomogénéités de champ. Ainsi, il est envisageable d'étudier les variations de susceptibilité magnétique de différents tissus et, parmi différentes applications possibles, de quantifier l'oxygénation du sang veineux et des tissus cérébraux telle que l'OEF, la saturation en oxygène veineuse ou encore $CMRO_2$. Par exemple, Fan et al. ont rapporté, en accord avec des valeurs d'IRM- 1H (Leenders et al. 1990; Bulte et al. 2012; Wise et al. 2013) et de TEP- ^{15}O (Ito et al. 2004) de la littérature, un $CMRO_2$ moyen chez l'homme ($n = 12$) de $1,51 \pm 15 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ (Fan et al. 2012) et Zhang et al., un $CMRO_2$ de $1,53 \pm 26,4 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ($n = 13$) (Zhang et al. 2015) (Liu et al. 2015). En préclinique, l'estimation de $CMRO_2$ avec la méthode de QSM chez le rongeur n'a pas été explorée dans la littérature mais des études intéressantes chez le rat ont été rapportées pour étudier les changements de saturation en oxygène au niveau microveineux (Hsieh et al. 2016, 2017) dans le but de développer le QSM fonctionnel qui pourrait servir d'alternative au BOLD-fMRI pour étudier l'activation neuronale en réponse à un stimulus (Shih et al. 2021).

Cette technique prometteuse repose cependant sur une analyse et une modélisation complexe qui se fondent sur de nombreuses hypothèses. Elle s'affranchit aussi des variations de la fraction de volume sanguin (BV_f) pour estimer la susceptibilité magnétique des tissus et du sang. Au contraire, la méthode qBOLD néglige les variations de susceptibilité des tissus et estime BV_f . Afin d'améliorer l'estimation de $CMRO_2$ et de la saturation en oxygène, une nouvelle approche combinant les méthodes complémentaires de QSM et de qBOLD a été suggérée (Cho et al. 2018) et a permis d'obtenir des résultats prometteurs chez l'homme avec des cartographies de $CMRO_2$ plus comparables avec les valeurs de la littérature obtenues à partir de mesures PET- ^{15}O (Delphin 2022) que les études utilisant seulement le QSM ou le qBOLD. Mais à ce stade, la méthode de QSM et la méthode combinée de QSM et de qBOLD reposent toujours sur des hypothèses négligeant la diffusion de l'eau et supposant une géométrie vasculaire simplifiée qui sont des éléments difficiles à intégrer dans un modèle mathématique.

3 METHODES UTILISANT LES NOYAUX X EN RMN

En RMN, la mesure du signal de l' 1H est conventionnellement utilisée, notamment parce qu'il est naturellement très abondant in vivo (99,99 %) et peut être détecté avec une sensibilité importante. Cependant, il est possible d'étudier d'autres noyaux que l' 1H possédant un spin

nucléaire non nul, appelés noyaux X. Chaque isotope possédant un spin nucléaire non nul a une fréquence de résonance qui lui est propre, la fréquence de Larmor (f_0). Si l'on considère un champ magnétique fixe, plus la fréquence du signal émis par un isotope est élevée et plus la sensibilité de détection est importante. Le signal RMN est aussi proportionnel à la quantité de noyaux dans l'échantillon : $SNR \propto c \cdot I(I + 1) \cdot \gamma^2$, avec c , la concentration, $\gamma = \frac{2\pi f_0}{B_0}$, le rapport gyromagnétique et I , le moment magnétique de spin du noyau considéré. Pour les noyaux naturellement peu abondants, il est possible d'administrer un substrat enrichi en cet isotope pour suivre son signal.

La possibilité d'étudier les noyaux X en RMN présente un avantage lorsqu'il s'agit d'étudier des métabolites tissulaires. Par exemple, le signal RMN du phosphore-31 (^{31}P), naturellement abondant (100 %), permet de détecter des molécules phosphorées dans les tissus dont certains métabolites clés du métabolisme énergétique cérébral (ATP, PCr, Pi). Plus précisément, la spectroscopie du transfert de saturation du ^{31}P (^{31}P -MRS) permet de mesurer la vitesse de production d'ATP (V_{ATP}), étroitement liée à CMRO_2 . En effet, la synthèse de l'ATP est en partie entraînée par le processus de phosphorylation oxydative qui nécessite de l'oxygène. Par conséquent, une augmentation de CMRO_2 entraînerait une augmentation de la V_{ATP} , étant donné qu'une plus grande quantité d'ATP est nécessaire pour répondre aux besoins énergétiques du cerveau. Le signal RMN du ^{13}C peut également être utilisé et est particulièrement adapté à la mesure de flux métaboliques. La faible abondance naturelle de cet isotope (1.1%) permet de mesurer l'incorporation du marquage ^{13}C dans les métabolites suite à l'administration d'un substrat enrichi. Cette méthode de spectroscopie RMN du ^{13}C (^{13}C -MRS) par enrichissement isotopique est d'ailleurs considérée comme référence pour mesurer des flux métaboliques et notamment la vitesse du cycle de Krebs (V_{TCA}). V_{TCA} dépend de la quantité d'oxygène consommée par le cerveau et est donc directement liée à CMRO_2 . Enfin l' ^{17}O a une très faible abondance naturelle (0,037 %) et l'étude de son signal est moins fréquente mais permet de suivre, de manière dynamique, la production d'eau marquée à l' ^{17}O (H_2^{17}O) suite à l'administration d' ^{17}O gazeux. Les isotopes ^{31}P , ^{13}C et ^{17}O occupent tous un rôle essentiel dans l'étude du métabolisme énergétique cérébral. Par conséquent, les méthodes de détection du signal de ces noyaux par résonance magnétique nucléaire (RMN) seront exposées dans cette section.

3.1 Spectroscopie RMN du ^{13}C

Parmi les isotopes du carbone, seul le ^{13}C est observable par RMN en raison de son spin nucléaire de $1/2$. Cependant, il fait face à des problèmes de sensibilité en raison de sa faible abondance naturelle, qui s'élève à seulement 1,07 %. Néanmoins, cette contrainte peut être surmontée en injectant des substrats enrichis en ^{13}C dans le but d'améliorer la sensibilité de détection et de suivre l'activité de flux métaboliques avec une méthode de ^{13}C -MRS dynamique (Figure 13). Les substrats administrés peuvent être enrichis de façon sélective au niveau d'un carbone précis de la molécule. Par exemple, pour le glucose enrichi, le ^{13}C peut être positionné sur le premier $[1-^{13}\text{C}]\text{Glc}$, et le deuxième $[1,2-^{13}\text{C}_2]\text{Glc}$ ou encore le sixième $[1,6-^{13}\text{C}_2]\text{Glc}$ carbone.

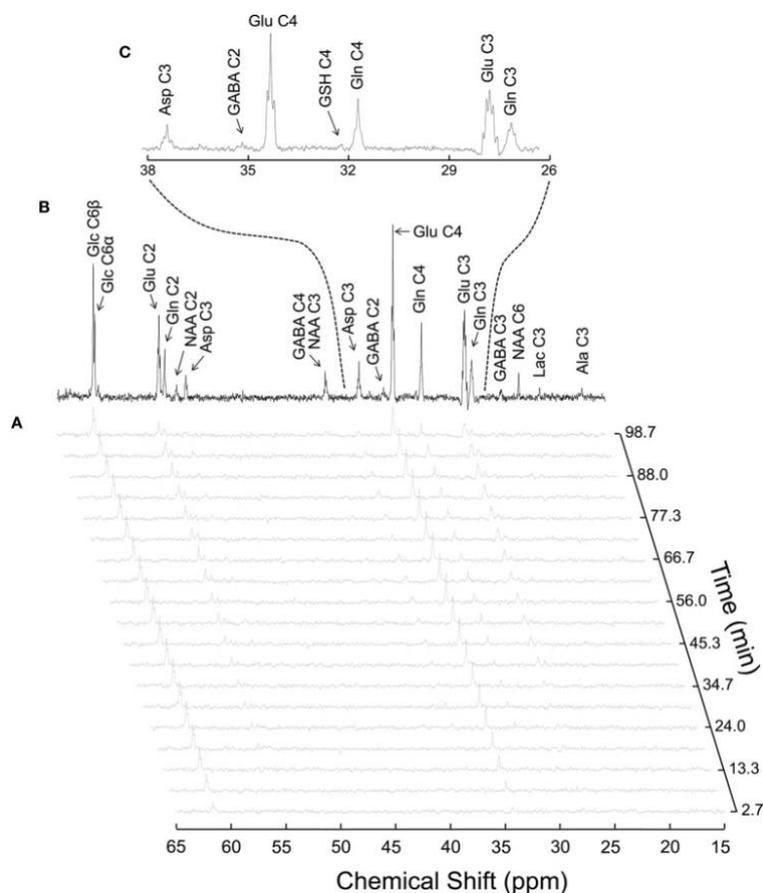
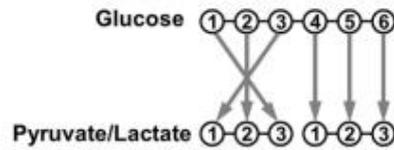


Figure 13 **Spectre ^{13}C acquis dans un volume de 320 ml d'un cerveau de rat à 14,1 T pendant l'infusion de $[1,6-^{13}\text{C}]\text{Glc}$.** A. montre les 100 premières min d'enrichissement isotopique du tissu cérébral en ^{13}C à partir du $[1,6-^{13}\text{C}]\text{Glc}$ plasmatique, avec une résolution temporelle de 5,3 min (128 acquisitions avec un temps de répétition (TR) de 2,5 ms). Le spectre

B. a été acquis pendant 1,8 h et a débuté 3,5 h après le début de l'infusion de [1,6-¹³C]. C. est une extension de B. entre 26 et 38 ppm, où sont visibles les multiplets des différents isotopes isomères de la glutamine (Gln), du glutamate (Glu) et de l'aspartate (Asp). (Figure extraite de l'article de Duarte, Lanz et Gruetter, 2011)

En traversant la BHE, le glucose marqué en position 1 et 6 peut ensuite être métabolisé, au niveau intracellulaire, depuis la glycolyse jusqu'au cycle de Krebs. L' α -Cétoglutarate est notamment marqué et échange avec le glutamate qui est marqué en position C4 au premier tour puis en position C3 au deuxième tour du cycle de Krebs (Rodrigues et al. 2013). La vitesse d'enrichissement du C4 puis du C3 est dépendante de la vitesse du cycle de Krebs, V_{TCA} (Figure 14). Le marquage progressif des différents atomes de carbone dépend du marquage initial du substrat administré. La détection du glutamate $^{13}C4$ et $^{13}C3$ par RMN permet ainsi de mesurer V_{TCA} (Boumezbeur et al. 2005; Rodrigues et Cerdán 2005) à partir de laquelle il est possible d'estimer $CMRO_2$ grâce à la corrélation existante entre ces deux paramètres et les modèles établis dans la littérature : $CMRO_2 \approx 3 \cdot V_{TCA}$ (Hyder et al. 1996; Kida et al. 2000; Gruetter et al. 2001)

A Glycolysis



B AcCoA synthesis and TCA cycle

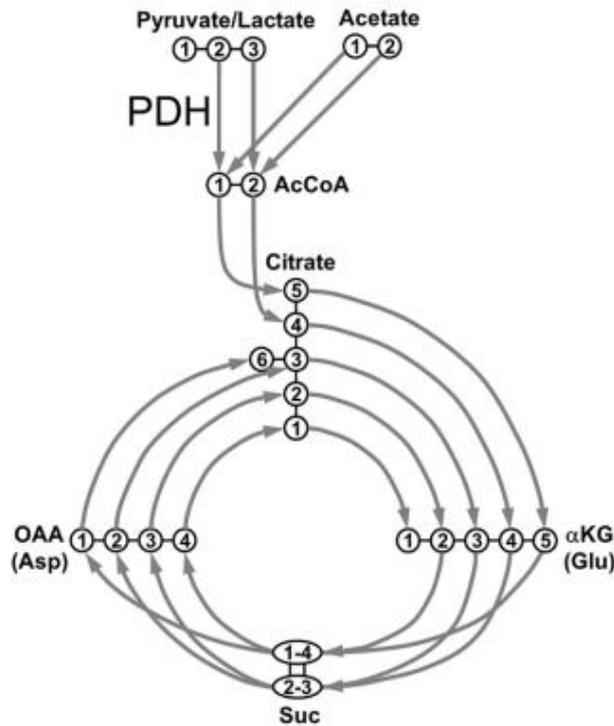


Figure 14 **Incorporation du ^{13}C exogène aux atomes de carbone au cours des étapes de la glycolyse et du cycle de Krebs.** (Figure adaptée de l'article de Rodrigues, Valette et Bouzier-Sore, 2013)

Cette approche a été appliquée à l'étude de variations de CMRO_2 en réponse à une activation fonctionnelle à l'aide de détection du ^{13}C directe (Hyder et al. 1996) et indirecte (spectroscopie à la fréquence de l' ^1H pour étudier les effets de couplage avec le ^{13}C exogène : $^1\text{H}[^{13}\text{C}]\text{-MRS}$) (Hyder et al. 1997; Sonnay et al. 2016) chez le rat (Figure 15) et chez l'homme (Chen et al. 2001) mais les résultats rapportés sont très différents (ΔCMRO_2 de 15 % à 200

%).

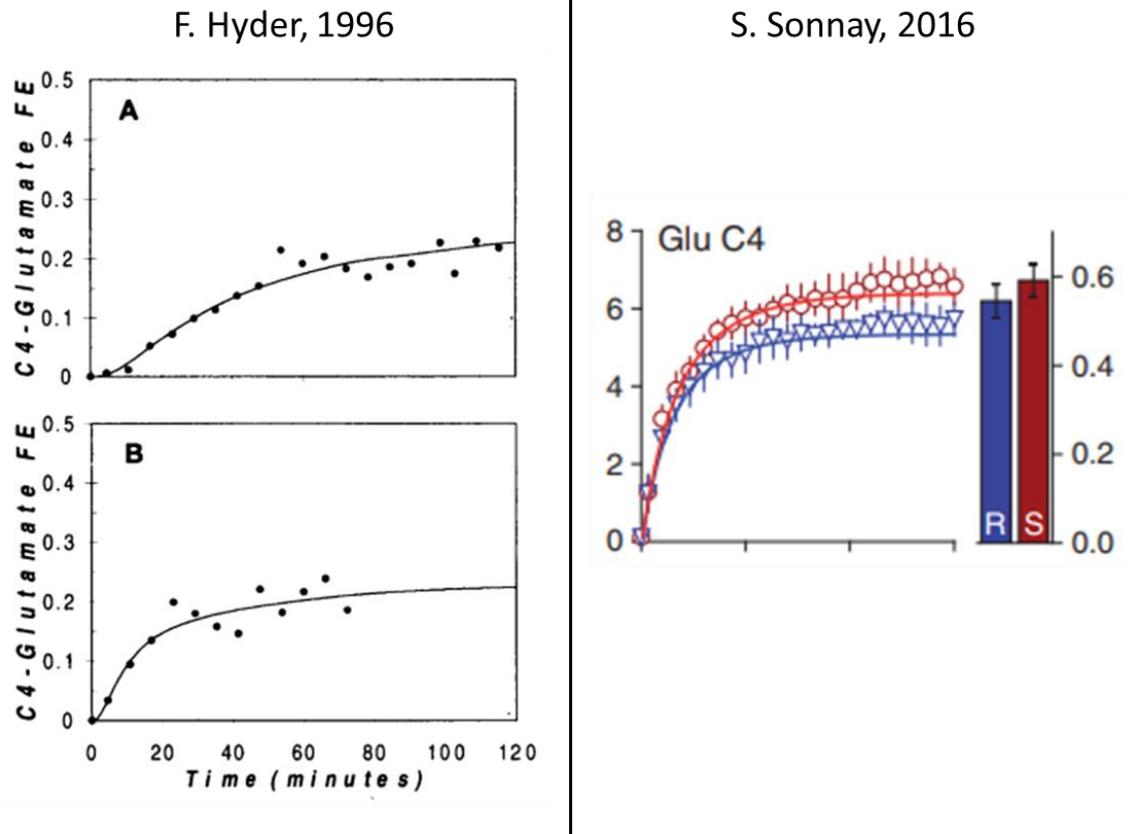


Figure 15 **Courbes moyennes d'enrichissement en ^{13}C du glutamate au repos (courbe A et courbe bleue) et pendant une stimulation (courbe B et courbe rouge) des pattes antérieures de rats obtenues à partir de $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ permettant d'estimer V_{TCA} puis CMRO_2 (Figures adaptées des articles de F. Hyder, 1996 et S. Sonnay, 2016).**

La méthode de ^{13}C -MRS avec injection de gluc enrichi permet de mesurer V_{TCA} . Cette technique de mesure présente toutefois une faible sensibilité de détection. Des stratégies d'optimisation existent telles que l'utilisation d'IRM à haut champ magnétique ou encore l'accumulation de signal sur de longues durées.

3.2 Spectroscopie RMN du ^{31}P

Le ^{31}P est le seul isotope du phosphore visible par RMN grâce à un spin nucléaire de $\frac{1}{2}$ et peut être détecté avec une bonne sensibilité grâce à son abondance naturelle de 100 %. Le ^{31}P -MRS permet de détecter, de manière non-invasive, des métabolites phosphorés comme

la phosphocréatine (PCr), le P_i et l'ATP qui font partis des principaux acteurs du métabolisme énergétique cérébral (Figure 16) De ce fait, cette méthode est couramment utilisée pour étudier le métabolisme énergétique. Par exemple, V_{ATP} peut être mesurée à partir du P_i et V_{PCr} à partir de la PCr. V_{ATP} est directement couplé à $CMRO_2$. En effet, l'ATP est en partie synthétisée par le processus de phosphorylation oxydative. Par conséquent, une augmentation de $CMRO_2$ entraînerait une augmentation de V_{ATP} , étant donné qu'une plus grande quantité d'ATP est nécessaire pour répondre aux besoins énergétiques du cerveau. De manière similaire, V_{PCr} est aussi un indicateur du taux de production d'ATP puisque pendant les périodes de forte demande énergétique, la PCr peut donner un groupe phosphate à l'ADP, formant ainsi de l'ATP.

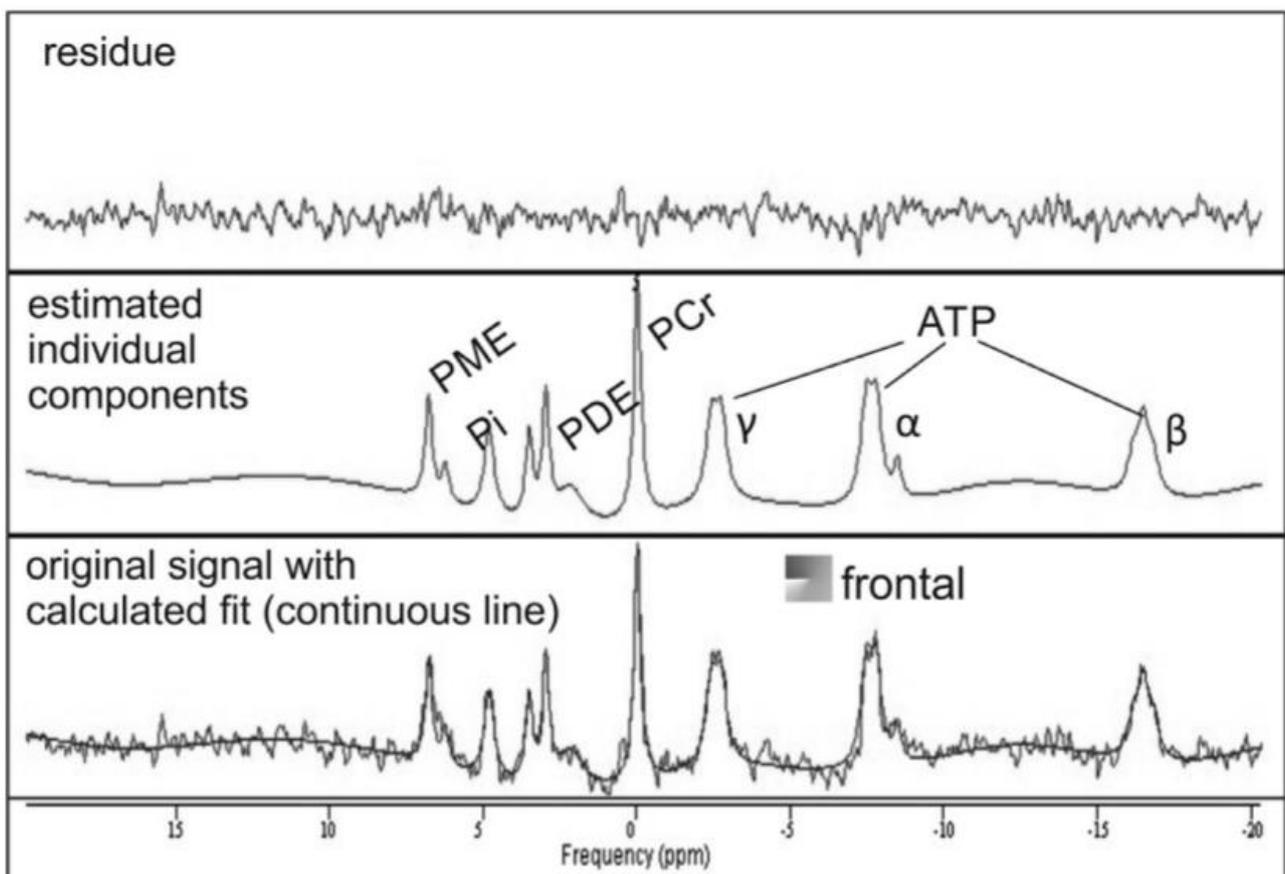


Figure 16 **Représentation d'un spectre ^{31}P dans un voxel obtenu à partir d'une acquisition de ^{31}P -MRS dans le cerveau d'un sujet humain.** Le graphique du bas représente un exemple de spectre d'un voxel ajusté dans le cerveau, le graphique du milieu montre les métabolites individuels estimés avec le fit et le graphique du haut représente les résiduelles. (Figure adaptée de l'article de Rietzler et al. 2022)

Pour expliquer la méthode de mesure de V_{ATP} par transfert d'aimantation, reprenons la réaction d'hydrolyse de l'ATP énoncée dans le Chapitre 1 Partie 1 :



Ces trois molécules sont identifiables dans les spectres de ^{31}P . La molécule d'ATP est caractérisée par trois pics de résonance différents, identifiés par α , β et γ , qui représentent les trois groupements phosphores de la molécule (Figure 17).

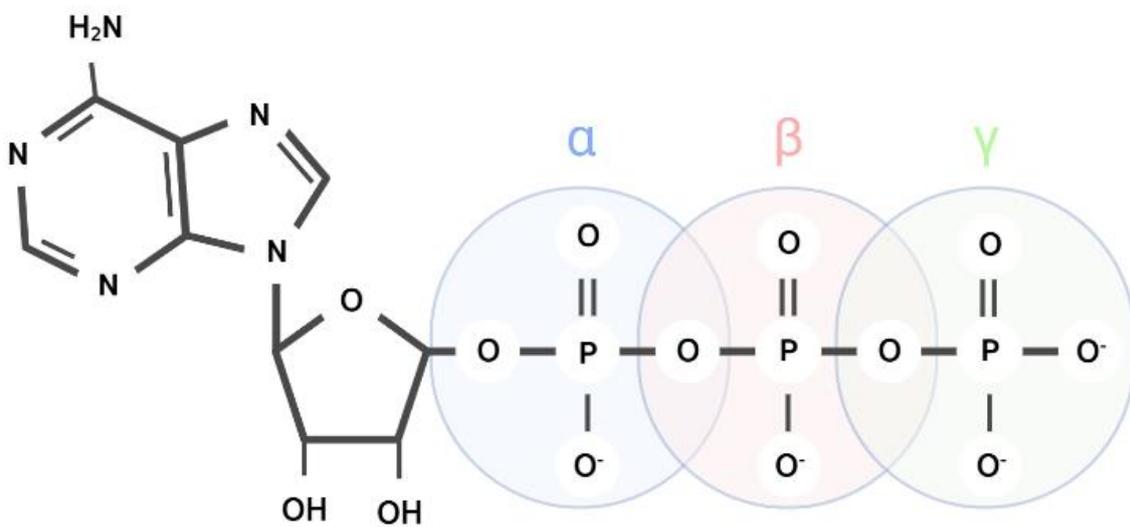


Figure 17 **Représentation des groupements phosphates de l'ATP.** (Figure créée avec [BioRender.com](https://www.biorender.com).)

P_i , à un seul pic de résonance et l'ADP présente deux pics de résonance, α et β provenant de ses deux groupements phosphates. La faible concentration d'ADP dans la cellule rend cependant la détection de son pic de résonance compliquée. Lorsque la molécule d'ATP est synthétisée, le P_i vient se greffer à l'ADP et est à l'origine du pic de résonance γ . Les échanges chimiques entre P_i et l'ATP peuvent être identifiés lors d'une acquisition dynamique par la technique de transfert d'aimantation. Cela consiste ici à saturer le groupement phosphate γ de l'ATP afin d'annuler la contribution du flux d'aimantation de l'ATP vers le P_i ($ATP \rightarrow P_i$) pour observer uniquement le flux d'aimantation du P_i vers l'ATP ($P_i \rightarrow ATP$) caractérisés par une diminution du signal de la concentration du P_i (Brown et al. 1977). En augmentant progressivement le temps de saturation, la vitesse d'échange entre ces deux molécules (V_{ATP})

peut être alors mesurée.

Tel que mentionné dans le Chapitre 1, les molécules d'ATP sont produites à différentes étapes de la glycolyse et de la respiration cellulaire et seule une partie de cette production contribue au bilan énergétique (2 ATP pour la glycolyse et 32 ATP quand le glucose est complètement oxydé). La V_{ATP} mesurée n'est pas spécifique à la production nette d'ATP car les molécules d'ATP produites à certaine étape de la glycolyse (Figure 1) et consommées à des étapes ultérieures peuvent aussi contribuer aux échanges magnétiques. Cependant, la contribution glycolytique à la V_{ATP} mesurée serait négligeable dans le cerveau (Lei et al. 2003) contrairement à ce qui a pu être observé dans le foie du rat (Thoma et Uğurbil 1987) ou le myocarde du rat (Kingsley-Hickman et al. 1987). Plus tard, l'apparition d'IRM à haut champ a permis d'augmenter la résolution spectrale et d'identifier une seconde résonance pour le P_i (Tiret et al. 2016). Cette résonance correspondrait au P_i extracellulaire qui ne contribue pas à la synthèse d'ATP. Ainsi, lorsque les deux résonances du P_i ne sont pas différenciées, un biais significatif est intégré dans la mesure du flux d'aimantation $P_i \rightarrow ATP$.

De manière similaire à la mesure de la variation d'amplitude du P_i , il est également envisageable de mesurer la variation d'amplitude de la PCr afin de déterminer V_{PCr} . Il est d'ailleurs plus facile de quantifier les variations d'amplitude de la résonance de la PCr car son abondance dans la cellule, et par conséquent l'intensité de son pic de résonance, est plus importante que celle du P_i . La PCr permet le stockage de l'énergie dans la cellule et libère un P_i pour former de la créatine (Cr) et permettre la conversion d'un ADP en ATP lorsqu'il y a un besoin énergétique. La mesure de V_{PCr} reflète donc le flux de régénération du stock d'ATP à partir de la PCr et permet de quantifier indirectement la vitesse de production d'ATP.

Pour estimer la $CMRO_2$ à partir de V_{PCr} ou de V_{ATP} , les hypothèses suivantes sont nécessaires :

- La variation de V_{ATP} est seulement due aux changements de $CMRO_2$.
- Le taux de production d'ATP par la réaction de la créatine kinase (V_{PCr}) est négligeable par rapport à V_{ATP} .
- Le taux de production d'ATP par la glycolyse est négligeable par rapport à V_{ATP} .

La méthode de ^{31}P -MRS est, à première vue, une technique attractive pour étudier le flux

métabolique cérébral énergétique mais la faible concentration du phosphore dans les tissus limite fortement le SNR. Il est donc nécessaire d'augmenter le temps et le volume d'acquisition pour accumuler plus de signal et augmenter la sensibilité de détection. La méthode dynamique de ^{31}P -MRS a par conséquent une faible résolution temporelle et spatiale rendant les applications chez le petit animal compliquées même si il est possible d'améliorer sa résolution spatiale en utilisant un IRM à haut champ (≥ 7 T) (Lu et al. 2014; van de Bank et al. 2015; Budinger et Bird 2018; Korzowski et al. 2021).

3.3 L'IRM du ^{17}O

3.3.1 Les propriétés magnétiques du noyau d' ^{17}O

L' ^{17}O est le seul isotope de l'oxygène dont le moment magnétique peut-être détecté par RMN. L'abondance naturelle du ^{17}O n'est que de 0,037 %, soit presque 30 fois inférieure à celle du ^{13}C et 2700 fois inférieure à celle du ^1H et du ^{31}P . Par ailleurs, le rapport gyromagnétique (γ) du ^{17}O est 7,4 fois plus faible que celui du ^1H . Ces propriétés diminuent fortement la sensibilité de détection RMN pour le noyau d' ^{17}O , mais cette faible abondance naturelle permet un faible bruit de fond et par conséquent une bonne dynamique de signal pour suivre l'incorporation d'agents exogènes enrichis en ^{17}O , suite à l'administration de dioxygène enrichi en ^{17}O ou d' H_2^{17}O . Lorsque du dioxygène enrichi en ^{17}O est administré au sujet, il se lie à l'hémoglobine (Hb^{17}O_2) du sang au niveau des poumons et entre dans les tissus cérébraux via la circulation sanguine où il peut être métabolisé par les cellules en H_2^{17}O . Le ^{17}O sous forme gazeuse ou dissoute dans l'eau a des propriétés paramagnétiques à cause de ses deux électrons appariés qui le rendent indétectable en RMN. L' Hb^{17}O_2 est aussi indétectable en RMN à cause de sa relaxation T2 très rapide en raison d'un mouvement de rotation très lent du complexe d' HbO_2 à l'origine d'un pic de résonance d' ^{17}O très large. Ainsi, seul le signal de l' H_2^{17}O est détectable avec une approche directe de RMN- ^{17}O (Zhu et Chen 2011).

L'utilisation de hauts champs magnétiques s'est avérée être d'un avantage significatif pour la détection du signal de l' ^{17}O . Dans la littérature, des mesures d'abondance naturelle de l' H_2^{17}O dans le cerveau de rats montrent que le SNR est 4,1 fois plus important à 9,4 T (n=5) (Zhu et al. 2001) et, dans un fantôme, environ 5 fois plus important à 11 T et environ 11 fois plus important à 17,6 T par rapport à un champ de 4,7 T (Thelwall et al. 2003). De plus, il a

été démontré que les temps de relaxation de l'¹⁷O ne sont pas affectés par le champ magnétique statique (B₀) utilisé (Tableau 2) (Zhu et al. 2001; Thelwall et al. 2003).

Ce phénomène s'explique par les mécanismes de relaxation de l'¹⁷O qui sont différents des noyaux avec un moment de spin I = 1/2. En effet, les noyaux avec un moment de spin I > 1/2 comme l'¹⁷O (I = 5/2) peuvent avoir un moment quadrupolaire électrique qui provient de la distribution inégale, entre les niveaux d'énergie, des charges électriques nucléaires. La distribution ne se fait donc pas selon une symétrie sphérique contrairement aux noyaux avec un spin nucléaire de 1/2. Le moment quadrupolaire de l'¹⁷O peut interagir localement avec les gradients de champs électriques et provoquer un mouvement moléculaire qui induit des fluctuations temporelles de champs magnétique qui peuvent déterminer le processus de relaxation longitudinale (T1) et transversale (T2).

Plus précisément, la vitesse de relaxation peut s'exprimer à partir de la fonction de densité spectrale J(ω) qui se définit de la façon suivante :

$$J(\omega) = \frac{\tau_c}{1 + \omega^2 \tau_c^2}$$

Avec ω, la fréquence de Larmor et τ_c, le temps de corrélation correspondant au temps nécessaire pour avoir une rotation moléculaire de l'ordre de 1 radian.

Dans l'eau, on se place dans un milieu très peu visqueux, τ_c est donc très court et comme l'ordre de grandeur des fréquences de mesures utilisées en RMN est inférieur au GHz, on peut dire que ω²τ_c² ≪ 1. Dans ces conditions, on se situe dans un régime de couplage fort caractérisé par le fait que J(ω) devient indépendant de la fréquence de Larmor et donc du champ magnétique B₀ (Palmas et Canet 2012).

Dans l'H₂¹⁷O, le régime de « rétrécissement extrême » est applicable, si l'on considère que l'eau liée prend une place minoritaire, et en négligeant le phénomène de couplage entre l'¹⁷O et les ¹H au sein de la molécule, les temps de relaxation T1 et T2 sont approximativement égaux et peuvent être décrits par l'équation suivante :

$$\frac{1}{T_2} \cong \frac{1}{T_1} = \frac{3\pi^2}{10} \left(\frac{2I + 3}{I^2(2I - 1)} \right) \left(1 + \frac{\eta^2}{3} \right) \left(\frac{e^2 q Q}{h} \right)^2 \tau_c$$

Avec I , le moment de spin, η , le paramètre d'asymétrie ($0 \leq \eta \leq 1$), et $\left(\frac{e^2qQ}{h}\right)$, la constante de couplage quadrupolaire. D'après la littérature, dans le cas de l' H_2^{17}O , $\left(\frac{e^2qQ}{h}\right) = -8,1 \text{ MHz}$, $\eta = 0,7$ et $\tau_c = 2,7 \cdot 10^{-12} \text{ s}$ (Glaser 1966) et $I = 5/2$. L'application numérique de cette équation permet d'estimer les valeurs de T1 et de T2 à environ 5,1 ms.

Dans des échantillons biologiques, le couplage entre l' ^{17}O et le ^1H ne peut plus être ignoré et il en est de même pour les échanges protoniques dans la direction transversale. Ces processus réduisent le T2 et le T2* (Tableau 1.) de façon indépendante du T1 (Meiboom 1961; Zhu et Chen 2011).

Date	Auteurs	Champ magnétique (T)	T1 (ms)	T2 (ms)	T2* (ms)	Sujet
2001	X-H. Zhu	4,7	$4,47 \pm 0,14$	$3,03 \pm 0,08$	$1,79 \pm 0,04$	Rat
		9,4	$4,84 \pm 0,18$	$3,03 \pm 0,09$	$1,80 \pm 0,06$	
2008	R. A. de Graaf	11,7	$4,92 \pm 0,23$	$3,01 \pm 0,31$	N.A.	Rat
2010	I. C. Atkinson	9,4	N.A.	~3 ms	N.A.	Homme
2014	R. Borowiak	3	N.A.	N.A.	$1,9 \pm 0,2$	Homme (cortex visuel)
2016	H. M. Wiesner	16,4	$6,84 \pm 0,67$	N.A.	$1,77 \pm 0,04$	Rat

Tableau 2 **Liste non exhaustive de valeurs de temps de relaxation de l' ^{17}O** , mesurés à différents champs magnétiques dans le cerveau chez l'homme et le rat.

Les temps de relaxation de l' H_2^{17}O sont par conséquent très courts par rapport à ceux observés en RMN conventionnelle du ^1H (Tableau 2). Dans ces conditions, il devient nécessaire d'adopter des méthodes d'imagerie rapide qui seront détaillées dans le Chapitre 4 Partie 3. En effet, le T1 de l' H_2^{17}O , d'environ 4 ms à 6 ms et le T2*, de l'ordre de 2 ms (Tableau 2) demandent de récupérer le signal RMN juste après l'excitation (Zhu et al. 2001; de Graaf et al. 2008; Atkinson et Thulborn 2010; Borowiak et al. 2014; Wiesner et al. 2016).

L'acquisition du signal RMN du ^{17}O de manière indirecte ou directe présente un grand potentiel pour fournir des informations sur le métabolisme de l'oxygène.

3.3.2 Détection indirecte du ^{17}O

La détection indirecte de l' ^{17}O repose sur la mesure de la relaxation T2 de l' ^1H issue du couplage scalaire entre l' ^{17}O et l' ^1H dans les molécules d' H_2^{17}O (Meiboom 1961). Hopkins et Barr ont montré que le T2 diminue linéairement avec la concentration d' H_2^{17}O perfusée

(Hopkins et Barr 1987). L' ^{17}O a, par la suite, été utilisé comme traceur pour étudier qualitativement la distribution de l' H_2^{17}O à partir des effets du couplage ^1H - ^{17}O sur la relaxation T2 (Hopkins et Barr 1987; Hopkins et al. 1988; Arai et al. 1990; Hopkins et al. 1991; Kwong et al. 1991).

L'introduction de la méthode de découplage de l'interaction spin-spin ^1H - ^{17}O (Ronen et Navon 1994) a ensuite permis d'étudier quantitativement la distribution d' H_2^{17}O (Reddy et al. 1996; Ronen et al. 1997; Stolpen et al. 1997; Charagundla et al. 2000). Le principe de cette méthode repose sur l'utilisation d'une impulsion de radiofréquence à la fréquence de l' ^{17}O qui supprime le couplage ^1H - ^{17}O et augmente ainsi le T2 des hydrogènes de l' H_2^{17}O . L'intensité du signal est directement liée à la concentration de ^{17}O dans l'échantillon et la distribution de l' H_2^{17}O peut être quantifiée à l'aide du différentiel entre des images avec et sans découplage (de Crespigny et al. 2000).

Une autre méthode de détection indirecte de l' ^{17}O basée sur l'IRM T1 ρ a aussi été implémentée et consiste à étudier l'effet d'altération du T1 ρ induit par la concentration d' H_2^{17}O (Reddy et al. 1995; Charagundla et al. 1998). Le T1 ρ décrit la relaxation du réseau de spin dans le référentiel tournant. Pour l'étudier, une impulsion de radiofréquence de « verrouillage de spin » est appliquée et génère une décroissance exponentielle de l'aimantation en T1 ρ dépendante de l'amplitude de l'impulsion. Comme pour la relaxation T2, le T1 ρ est sensible au couplage ^1H - ^{17}O et aux échanges d' ^1H entre l' H_2^{16}O et l' H_2^{17}O (Meiboom 1961). Cependant, in vivo, d'autres processus peuvent avoir un effet sur le T1 ρ et peuvent compliquer la quantification. De plus, il est difficile d'obtenir en amont la dispersion T1 ρ intrinsèque des tissus pour obtenir une quantification absolue (Zhu et al. 2005). Malgré ces limitations, cette méthode a permis de déterminer CMRO₂ chez l'animal (Tailor et al. 2004; Mellon et al. 2009, 2010)

Les méthodes indirectes offrent une meilleure résolution spatiale intrinsèque que les méthodes directes puisqu'elles bénéficient de la bonne sensibilité de détection de l' ^1H . La quantification absolue de la concentration d' H_2^{17}O par les méthodes indirectes peut cependant être affectée/biaisée par la sensibilité des effets de couplages ^1H - ^{17}O aux variations de pH et de température. C'est la raison pour laquelle les méthodes directes ont suscité plus d'intérêt ces dernières années et ont connu des développements prometteurs.

3.3.3 Détection directe de l'¹⁷O

La détection directe du signal de l'¹⁷O pour étudier la perfusion sanguine et le métabolisme oxydatif dans les tissus biologiques à partir d'¹⁷O₂ inhalé ou d'H₂¹⁷O injecté a été introduite au début des années 90 (Arai et al. 1990, 1991; Pekar et al. 1991; Fiat et al. 1992, 1993; Pekar et al. 1995; Mateescu et Cabrera 1997; Arai et al. 1998). Cette technique a été utilisée pour quantifier CMRO₂ chez l'homme (Atkinson et Thulborn 2010; Hoffmann et al. 2011, 2014; Kurzhunov et al. 2017, 2018; Niesporek et al. 2018; Paech et al. 2020), le rongeur (Zhang et al. 2004; Zhu et al. 2007; Cui et al. 2013a; Zhu et al. 2013a; Lou et al. 2016; Wiesner et al. 2016; Neveu et al. 2017; Baligand et al. 2021; Wiesner et al. 2021), le chat (Pekar et al. 1991; Zhu et al. 2009) et le porc (Mellon et al. 2009). Parmi ces études, Zhu et al. ont notamment mesuré à partir d'¹⁷O-MRS, une augmentation de 32% de CMRO₂ dans le cortex visuel du chat pendant une stimulation visuelle (Figure 18) (Zhu et al. 2009). Cependant, la faible sensibilité de cette technique a fortement limité son développement et la littérature rapportant une mesure de CMRO₂ par IRM du ¹⁷O reste à ce jour limitée, avec une vingtaine

d'articles cliniques et précliniques confondus sur une quarantaine d'années.

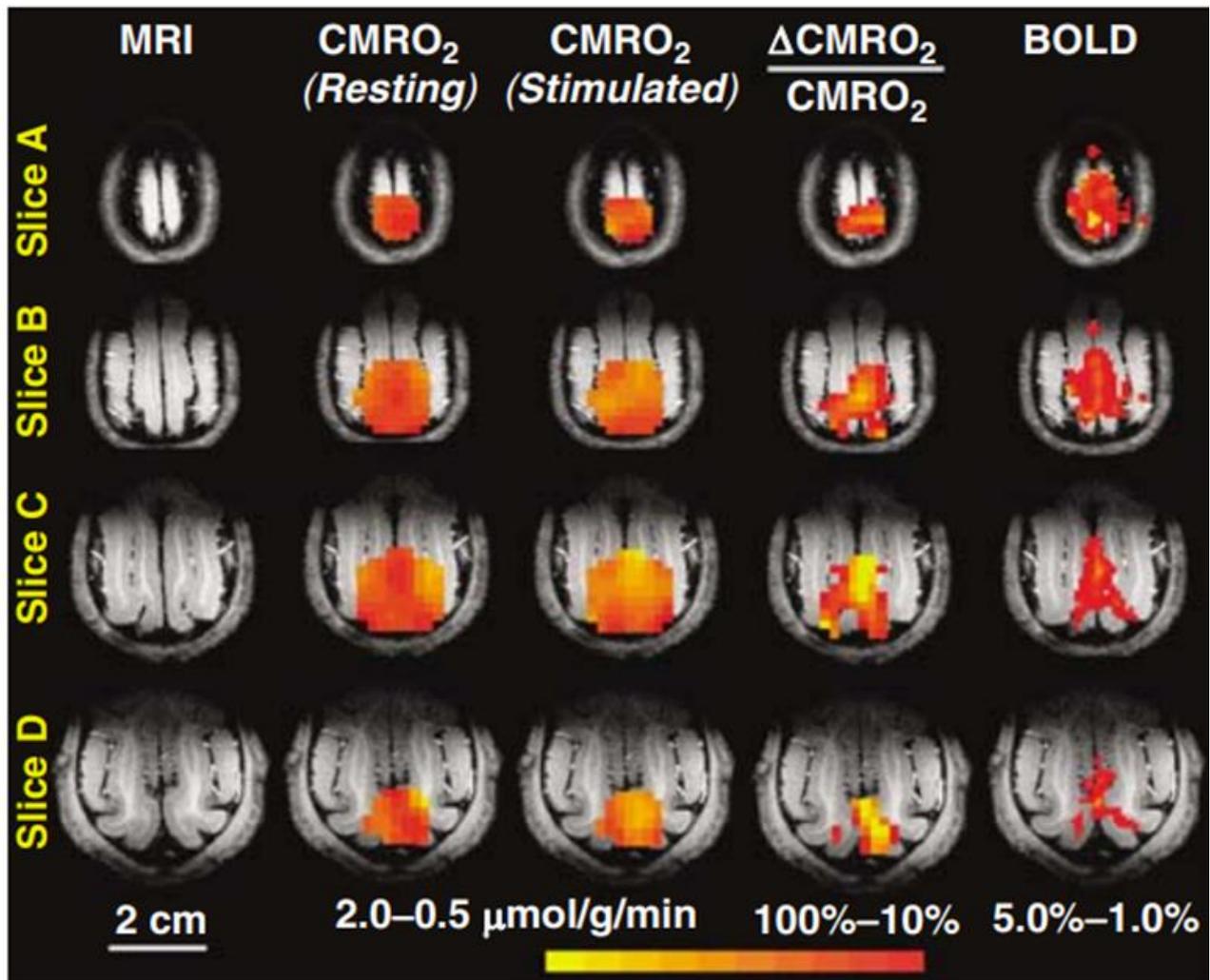


Figure 18 **Représentation des cartographies 3D de CMRO₂ obtenues dans le cerveau d'un chat représentatif de l'étude d'imagerie ¹⁷O-MRS** avec de gauche à droite, les images IRM anatomiques, la carte de CMRO₂ au repos, la carte de CMRO₂ stimulée, la carte de ΔCMRO_2 et enfin la carte de BOLD-fMRI (Figure adaptée de l'article de Zhu et al., 2009).

Cette technique présente deux avantages majeurs par rapport à la TEP à l'¹⁵O :

- Premièrement, les modifications du signal H₂¹⁷O détectées lors de l'inhalation de dioxygène gazeux ¹⁷O₂ proviennent uniquement de l'eau produite par le métabolisme. En effet, comme expliqué précédemment, le ¹⁷O₂ gazeux ou l'¹⁷O lié à l'hémoglobine n'ont pas un signal détectable par RMN. Le signal endogène de H₂¹⁷O à l'abondance naturelle peut être utilisé comme référence, ce qui simplifie

grandement la modélisation. La vitesse de marquage de l'eau par le ^{17}O est lié au taux de consommation d' O_2 par le cycle de Krebs et la chaîne de transport d'électrons associée. Ainsi, cette approche est idéale car elle permet de cartographier CMRO_2 sans acquisitions ou estimations supplémentaires contrairement à l'ensemble des techniques précédemment énoncées.

- Deuxièmement, il n'y a pas de limite intrinsèque à la résolution spatiale, à condition que la sensibilité de détection soit suffisante. Mais, comme pour le ^{13}C et le ^{31}P , il est primordial de trouver des stratégies afin d'améliorer la sensibilité et, par conséquent, la résolution spatiale de cette méthode d'acquisition. Ce point fait partie des objectifs de cette thèse et les développements accomplis seront détaillés dans la partie 2.2 du Chapitre 5. Chapitre 5.2

4 CONCLUSION

Depuis la première estimation de la consommation en oxygène dans le cerveau par Kety et Schmidt (Kety et Schmidt 1945), de nombreuses techniques ont été développées pour étudier le métabolisme oxydatif et énergétique, essentielles pour comprendre le fonctionnement du cerveau. Il est difficile de faire un choix parmi les méthodes existantes étant donné qu'elles présentent toutes des avantages et des inconvénients. La TEP à l' ^{15}O possède une limite intrinsèque à sa résolution spatiale, repose sur des acquisitions longues et plusieurs corrections doivent être appliquées pour obtenir une valeur de CMRO_2 exploitable. Les méthodes IRM- ^1H ont beaucoup évoluées ces dernières années et ont notamment permis de passer d'une estimation relative à une estimation absolue de CMRO_2 . Cependant, ces techniques requièrent un long temps d'acquisition et utilisent des modèles complexes basés sur des hypothèses pouvant introduire des erreurs dans l'estimation de CMRO_2 . Enfin, il reste nécessaire de valider ces techniques à partir d'autres outils de mesure de CMRO_2 . La méthode de ^{13}C -MRS permet aussi d'estimer CMRO_2 indirectement mais souffre d'une faible sensibilité de détection et nécessite alors de faire de longues acquisitions. La ^{31}P -MRS possède une faible résolution spatiale et temporelle. Enfin, l'IRM du ^{17}O présente, comme les techniques utilisant le ^{13}C et le ^{31}P , des limitations de sensibilité de détection mais permet une détection directe de CMRO_2 sans besoin de corrections supplémentaires et sans limitation intrinsèque de la résolution spatiale. Dans ce projet de thèse, nous avons choisi de mettre en œuvre l'IRM du ^{17}O pour mesurer les variations de

CMRO₂ dans le cadre d'une stimulation fonctionnelle chez le rongeur.

Chapitre 3 : MESURE DE CMRO₂ ET DES PARAMETRES DE FLUX PAR IRM DU ¹⁷O (THEORIE, MODELES ET SIMULATIONS)

1 PRINCIPE DE LA MESURE

Pour déterminer CMRO₂ à partir de données IRM du ¹⁷O, il faut suivre l'incorporation de dioxygène, marqué en ¹⁷O, au cours du temps dans le métabolisme cellulaire à partir de la production d'eau marquée (H₂¹⁷O). Pour cela, le sujet doit inhaler du dioxygène enrichi en ¹⁷O (enrichissement de 70% dans les bouteilles de gaz que nous nous procurons auprès du fournisseur : Nukem Isotopes).

L'expérience se décompose en 3 phases (Figure 19) :

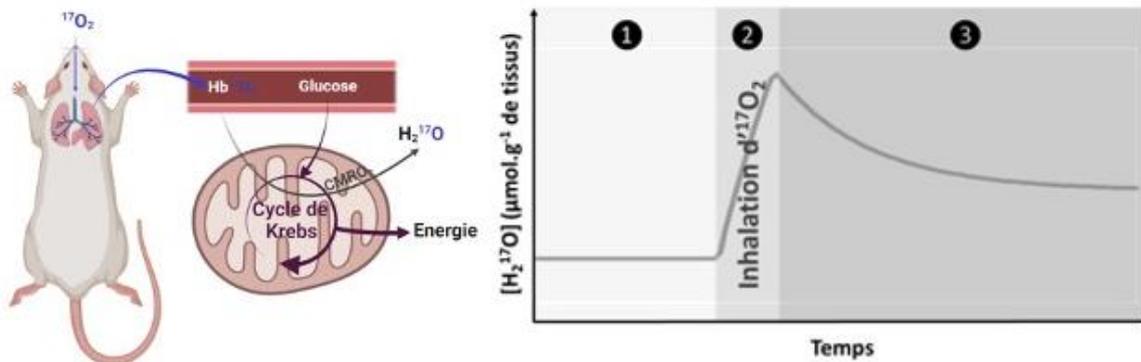


Figure 19 **Représentation du processus métabolique aboutissant à l'augmentation du signal RMN de l'eau marquée lors de l'inhalation de l'¹⁷O₂**. Le signal RMN correspond à ❶ l'abondance naturelle en H₂¹⁷O avant l'inhalation d'¹⁷O₂, à ❷ l'H₂¹⁷O produite en excès de l'abondance naturelle par le métabolisme oxydatif mitochondrial pendant l'inhalation d'¹⁷O₂ et à ❸ la période de clairance de l'H₂¹⁷O après l'inhalation d'¹⁷O₂.

❶ Avant l'inhalation, le signal RMN correspond à l'abondance naturelle d'H₂¹⁷O dans les tissus, l'¹⁷O sous forme de gaz ou lorsqu'il est lié à l'hémoglobine n'étant pas détectable.

❷ Pendant l'inhalation, l'utilisation d'une molécule de ¹⁷O₂ par le métabolisme cellulaire oxydatif produit deux molécules d'eau marquée en ¹⁷O (H₂¹⁷O), ce qui résulte en une

augmentation du signal RMN de l' H_2^{17}O . Le taux d'augmentation du signal est lié au taux de consommation d'oxygène par le cycle de Krebs.

③ Après la période d'inhalation, l' H_2^{17}O produit est progressivement remplacé par de l' H_2^{16}O pour finalement atteindre un nouvel état d'équilibre apparent, c'est la phase de clairance. Le niveau de l'abondance naturelle est récupéré quelques jours plus tard, le temps que l'eau se renouvelle entièrement.

Différents modèles ont été proposés pour la mise en équation des variations du signal de l' H_2^{17}O et le calcul de CMRO_2 et ces derniers seront présentés dans les parties 2 et 3 de ce chapitre. Un modèle restreint à la phase d'inhalation a d'abord été proposé (Zhu et al. 2002) et, par la suite, un modèle simplifié a été dérivé de ce dernier (Zhang et al. 2004). Un modèle plus complet décrivant les 3 phases de l'expérience a été proposé par Atkinson et Thulborn (Atkinson et Thulborn 2010). Pour simplifier l'exposé, nous partirons du modèle complet d'Atkinson (Partie 2) avant d'aborder les modèles restreints et simplifiés (Partie 3).

2 MODELE 3-PHASES

Le modèle proposé par Atkinson et Thulborn décrit les variations du signal de l' H_2^{17}O avant, pendant et après une inhalation de gaz enrichi en ^{17}O par le sujet et prend en compte différentes variables physiologiques (Atkinson et Thulborn 2010).

2.1 Introduction au modèle 3-phases

Pour établir le modèle, il faut considérer un voxel d'intérêt qui se compose de tissu cérébral et se divise en plusieurs compartiments. Les échanges entre l'eau intracellulaire et l'eau extracellulaire sont très rapides (Quirk et al. 2003) formant ensemble, un compartiment d'«eau tissulaire». Ce compartiment est alimenté en eau par les mitochondries. En effet, elles récupèrent de l'oxygène qui a diffusé à travers la BHE, à partir du compartiment sanguin jusqu'au compartiment d'«oxygène tissulaire», pour le métaboliser en H_2O à la fin de la chaîne respiratoire. L'eau présente dans le sous-compartiment d'«eau tissulaire» peut soit rester dans le compartiment, soit diffuser dans un compartiment pouvant accueillir de l'eau (comme le compartiment du LCR ou le compartiment sanguin) ou soit être consommée par une réaction chimique (Figure 20).

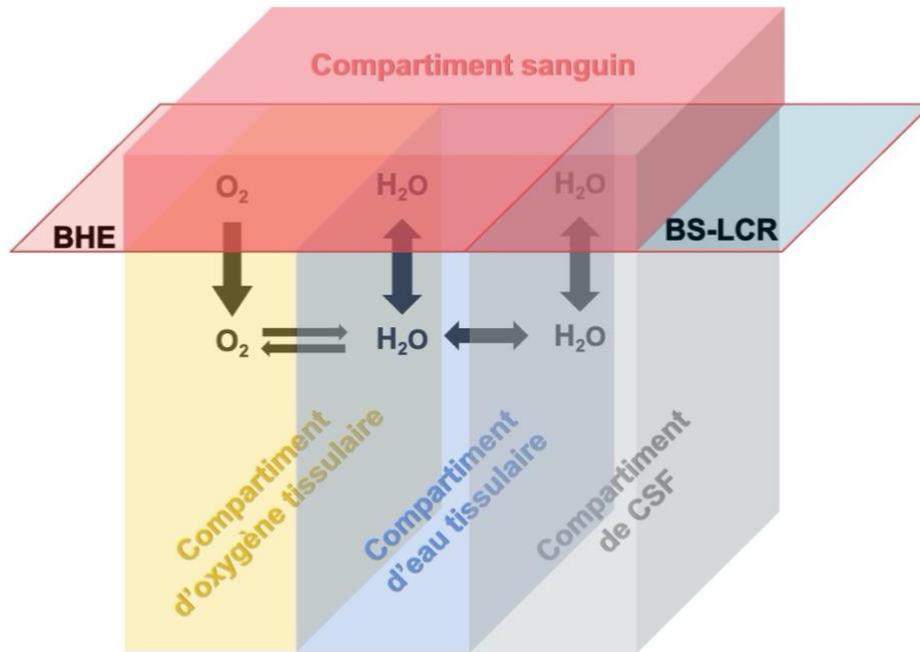


Figure 20 **Représentation de la compartimentation et des échanges dans un voxel de tissu cérébral.** Les flèches verticales représentent la diffusion à travers la BHE ou un gradient osmotique pour la barrière sang-LCR (BS-LCR) selon les compartiments, la flèche horizontale à double sens représente une diffusion/gradient osmotique d' H_2O , la flèche horizontale qui va de la gauche vers la droite, une production d' H_2O grâce aux mitochondries, la flèche horizontale qui va de la droite vers la gauche, une conversion d' H_2O en O_2 .

Ainsi, les variations du signal d' $H_2^{17}O$ dans le voxel d'intérêt dépendent de 3 facteurs. Leurs contributions au signal mesuré doivent être prises en compte de façon conjointe pour déterminer avec précision la consommation d'oxygène :

- ❶ Le taux de réduction local d' $^{17}O_2$ en $H_2^{17}O$: **CMRO₂**.
- ❷ Le taux de d'échange d' $H_2^{17}O$ du sang vers le tissu provenant du métabolisme d'autres organes du corps : **K_G**.
- ❸ Le taux de perte en $H_2^{17}O$ par diffusion vers le sang ou par consommation métabolique : **K_L**.

A partir de cette description, on constate que la circulation sanguine occupe une place importante dans les échanges entre le sang et les tissus cérébraux. Par conséquent, la recirculation d' $H_2^{17}O$ peut contribuer au signal mesuré et doit être considérée en plus de la production locale d' $H_2^{17}O$.

2.2 Mise en équation

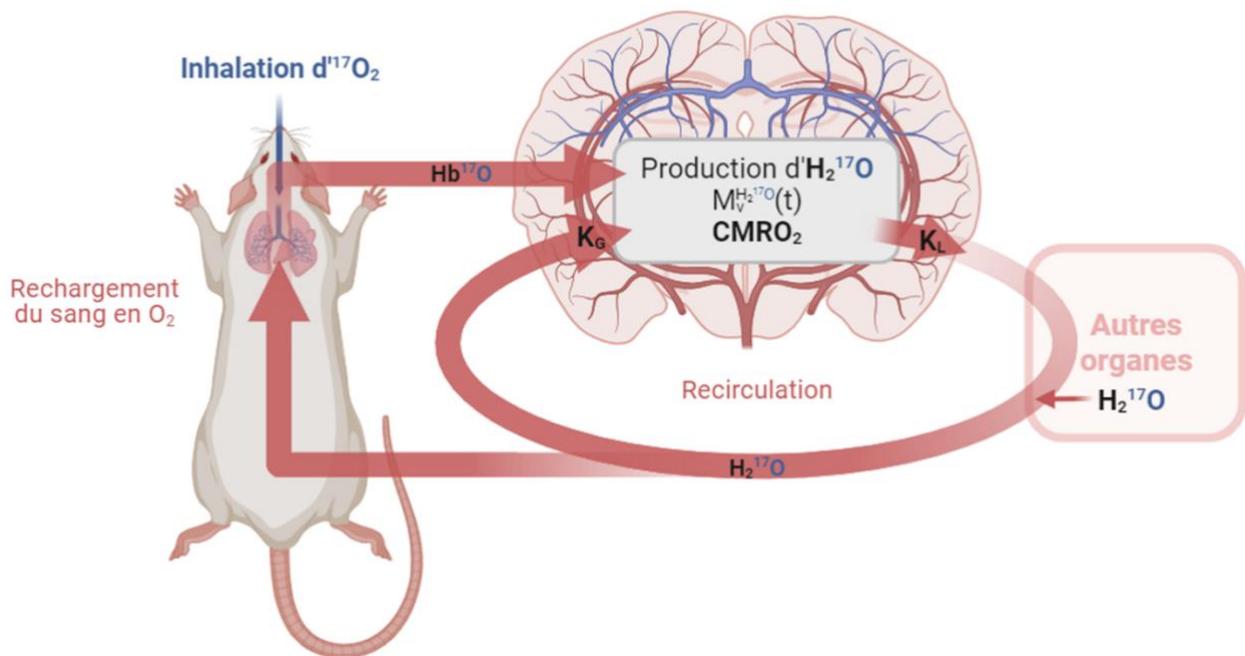


Figure 21 **Représentation schématique du modèle 3-phases** résumant les échanges d' $H_2^{17}O$ dans le voxel d'intérêt, composé de tissu cérébral, avec le compartiment sanguin. Les constantes K_G et K_L représentent le gain (diffusion depuis le sang vers le comp. intracellulaire) et la perte en $H_2^{17}O$ (diffusion depuis les mitochondries vers le sang) et $CMRO_2$, la conversion de l' O_2 en $H_2^{17}O$ dans le voxel (Figure créée à partir de www.biorender.com).

La

Figure 21 illustre le modèle 3-phases avec la production et l'élimination de l'eau au niveau du voxel d'intérêt selon les trois paramètres définis précédemment. La quantité d' $H_2^{17}O$ contenue dans le voxel à l'instant t peut ainsi être décrite par l'équation suivante :

$$\frac{dM_v^{H_2^{17}O}(t)}{dt} = 2 \cdot CMRO_2 \cdot A^{17O}(t) - K_L \cdot M_v^{H_2^{17}O}(t) + K_G \cdot B^{H_2^{17}O}(t)$$

$M_v^{H_2^{17}O}$ représente le nombre de moles d' $H_2^{17}O$ en excès de l'abondance naturelle dans le voxel, $A^{17}O$ est la fraction artérielle d' ^{17}O en excès de l'abondance naturelle, $B^{H_2^{17}O}$ est la quantité d' $H_2^{17}O$ sanguin en excès de l'abondance naturelle et le facteur 2 prend en compte la conversion d'une mole d'oxygène en deux moles d' H_2O par le processus de respiration cellulaire (Chapitre 1 Partie1).

Les termes $A^{17}O(t)$ et $B^{H_2^{17}O}(t)$ évoluent selon les 3 phases suivantes :

Avant l'inhalation d' O_2 enrichi ($t < T_A$), le modèle considère que l' ^{17}O détectable dans l'eau est stable, le signal est donc constant. Pendant l'inhalation ($T_A \leq t \leq T_B$), $A^{17}O(t)$ augmente progressivement de 0 à α , avec α , la fraction d'enrichissement du gaz en excès de l'abondance naturelle. Puis, après l'inhalation, ($t > T_B$), la fraction d' ^{17}O retourne progressivement à 0. Ces transitions dépendent de l'allure à laquelle l'hémoglobine se lie avec du $^{17}O_2$ dans les poumons, décrite par le débit ρ , le rapport entre la fraction de différence artério-veineuse pulmonaire F_{A-V} (qui correspond à la capacité du sang veineux à se recharger avec de l'oxygène dans les poumons) et le temps de circulation moyen du sang T_C . Le sang enrichi en ^{17}O atteint ensuite les cellules où l' $^{17}O_2$ peut être consommé dans les mitochondries et être métabolisé en $H_2^{17}O$. L'eau marquée produite peut rester dans le compartiment tissulaire que l'on associe au voxel d'intérêt ou en être évacuée avec un débit K_L . Pendant ce temps, l' $H_2^{17}O$ recirculante, produite en dehors du voxel d'intérêt (notamment par les autres organes du corps), peut aussi atteindre le voxel d'intérêt avec un débit K_G . Après la période d'inhalation ($t > T_B$), l' $H_2^{17}O$ présente dans les tissus est progressivement éliminée à la vitesse d'échange K_L et remplacée par de l' $H_2^{17}O$, à l'abondance naturelle, à la vitesse d'échange K_G .

La variation d' $A^{17}O(t)$ peut ainsi être décrite selon l'équation différentielle d'ordre 1 suivante :

$$\frac{dA^{17}O(t)}{dt} = \begin{cases} 0 & t < T_A \\ \rho\alpha - \rho A^{17}O(t) & T_A \leq t \leq T_B \\ -\rho A^{17}O(t) & t > T_B \end{cases}$$

Ce qui donne, après résolution, et en intégrant S_{TA} , la saturation du sang en oxygène au temps T_A :

$$A^{17O}(t) = \begin{cases} 0 & t < T_A \\ \alpha(1 - ST_A e^{-\rho(t-T_A)}) & T_A \leq t \leq T_B \\ \alpha(1 - ST_A e^{-\rho(T_B-T_A)}) e^{-\rho(t-T_B)} & t > T_B \end{cases}$$

Jusqu'à l'instant t , la quantité d' H_2^{17O} dans le sang est proportionnelle à la quantité totale d' 17O délivré dans tout le corps. $B^{H_2^{17O}}(t)$ est donc proportionnelle à l'intégrale de $A^{17O}(t)$:

$$B^{H_2^{17O}}(t) \propto \int_0^t A^{17O}(t) dt$$

Après intégration, nous avons alors :

$$B^{H_2^{17O}}(t) \propto \begin{cases} 0 & t < T_A \\ \alpha(t - T_A) - \frac{\alpha}{\rho} ST_A (1 - e^{-\rho(t-T_A)}) & T_A \leq t \leq T_B \\ \alpha(T_B - T_A) - \frac{\alpha}{\rho} ST_A (1 - e^{-\rho(T_B-T_A)}) e^{-\rho(t-T_B)} & t > T_B \end{cases}$$

Les expressions de $A^{17O}(t)$ et de $B^{H_2^{17O}}(t)$ peuvent être intégrées dans l'équation principale pour décrire $M_v^{H_2^{17O}}(t)$ comme :

$$M_v^{H_2^{17O}}(t) = \begin{cases} 2\alpha \cdot CMRO_2 \left(\frac{1}{K_L} - \frac{ST_A e^{-\rho(t-T_A)}}{K_L - \rho} \right) + \alpha \frac{K_G}{K_L} \left(t - T_A + \frac{K_L ST_A e^{-\rho(t-T_A)}}{\rho(K_L - \rho)} - \frac{1}{\rho} - \frac{1}{K_L} \right) + c \cdot e^{-K_L(t-T_A)} + D & t < T_A \\ 2\alpha \cdot CMRO_2 \left(\frac{ST_A e^{-\rho T_D}}{K_L - \rho} \right) e^{-\rho(t-T_B)} + \alpha \frac{K_G}{K_L} \left(T_D + \frac{1 - ST_A}{\rho} \right) - \alpha K_G \left(\frac{1 - ST_A e^{-\rho T_D}}{\rho(K_L - \rho)} \right) e^{-\rho(t-T_B)} - c(1 - e^{-\rho K_L T_D}) (e^{-K_L(t-T_B)}) + D & t > T_B \end{cases}$$

Avec $c = \frac{2\alpha \cdot CMRO_2 \cdot (\rho - K_L + K_L ST_A)}{K_L(K_L - \rho)} - \alpha \frac{K_G}{K_L} \left(\frac{K_L ST_A}{\rho(K_L - \rho)} - \frac{ST_A}{\rho} - \frac{1}{K_L} \right)$, $T_D = T_B - T_A$ est la durée d'inhalation, et D est la concentration, en abondance naturelle, d' H_2^{17O} dans le tissu cérébral.

2.3 Les paramètres de flux K_G et K_L

Par définition, nous avons $K_G > K_L$. En effet, la compartimentation mitochondriale de l'eau marquée (produite par la respiration cellulaire) peut ralentir son flux de sortie (K_L) par rapport à son flux d'entrée (K_G). L' H_2^{17O} produite localement doit traverser les deux couches lipidiques de la membrane mitochondriale avant d'entrer dans le cytosol, puis la membrane cellulaire pour atteindre l'espace extracellulaire, pour enfin rejoindre la circulation sanguine.

En comparaison, le flux d'eau marquée circulante est seulement déterminé par la perfusion sanguine et le flux d'entrée dans la cellule, limité par le passage de la BHE. L'évacuation plus lente de l'eau marquée produite localement a été démontrée *in vivo* en comparant la cinétique d'élimination de l' $H_2^{17}O$ produite lors d'une inhalation à celle d'un bolus intraveineux d' $H_2^{17}O$ exogène (Zhu et al. 2013b). Les constantes de temps mesurées dans l'étude par Zhu et al. suggèrent une perméabilité restreinte de la membrane mitochondriale. Plus récemment, une étude a mis en avant à partir de simulations que le rapport K_G/K_L détermine le niveau d'équilibre atteint à la fin de la troisième phase de l'expérience, et celle de clairance, quelle que soit la variation de $CMRO_2$ entre les différents tissus. Cela suggère que les contributions relatives du gain et de la perte de signal dues à la recirculation et à la perfusion restent les mêmes dans les différents types de tissus (Wiesner et al. 2021). Dans leurs conditions expérimentales chez le rat, ce rapport était de 1,5. Enfin, on peut constater, en définissant les paramètres K_G et K_L , qu'ils sont proportionnels à CBF ($K_G = CBF \times$ le flux dû à la diffusion de l'eau du sang vers le tissu; $K_L = CBF \times$ le flux dû à la diffusion de l'eau des mitochondries vers le sang). Les variations de K_G et K_L sont donc directement proportionnelles aux variations de CBF et peuvent ainsi servir d'index pour évaluer la réactivité vasculaire cérébrale lors d'une activation fonctionnelle, par exemple. En revanche, le rapport K_G/K_L est indépendant du flux sanguin et de la diffusivité à travers la BHE mais pourrait servir d'index pour la diffusion à travers la membrane mitochondriale.

3 MODELE LINEAIRE

3.1 Hypothèses et Mise en équation

Le modèle linéaire a été proposé avant le modèle 3-phases par le *Center for Magnetic Resonance Research* de l'Université du Minnesota (Zhang et al. 2004), à partir d'un modèle complet mais restreint à la période d'inhalation (Zhu et al. 2002), pour déterminer $CMRO_2$ grâce au signal d'inhalation de $^{17}O_2$. Ce modèle inclut uniquement la phase d'inhalation et la décrit linéairement comme $CMRO_2 = \frac{a}{2\alpha f_1}$, avec a , la pente du signal pendant la période d'inhalation, α , la fraction d'enrichissement en ^{17}O du dioxygène gazeux inhalé et f_1 , le facteur de conversion de $CMRO_2$ en $\mu\text{mol.g}(\text{de tissu cérébral})^{-1}.\text{min}^{-1}$.

Pour appliquer ce modèle simplifié, il faut faire l'hypothèse qu'il n'y a pas d'effet non-linéaire intégré par la recirculation d' $H_2^{17}O$. Cela permet de considérer que la concentration en $H_2^{17}O$

dans le sang augmente linéairement lors d'une courte inhalation d' ^{17}O . Cette hypothèse est valide lorsque les échanges sont suffisamment rapides pour être considérés comme étant instantanés. Cela signifie que, par rapport à la vitesse de production d' H_2^{17}O par les mitochondries, un équilibre est rapidement atteint entre l' H_2^{17}O métaboliquement produite par tous les organes du corps et l' H_2O du sang veineux (Zhang et al. 2004). Ceci revient à considérer que le paramètre de recirculation du sang $T_c \rightarrow 0$ s et que, par conséquent, le taux de rafraîchissement du sang en $^{17}\text{O}_2$, $\rho \rightarrow \infty$.

Ce modèle a été utilisé plusieurs fois dans la littérature pour calculer CMRO_2 dans des modèles rongeurs (Zhang et al. 2004; Zhu et al. 2013a; Lou et al. 2016). Ces études, réalisées sous anesthésie à (α -chloralose, kétamine/xylazine, isoflurane) avec des courtes périodes d'inhalation allant de 2 à 2,5 minutes, montrent bien une production d' H_2^{17}O linéaire pendant la période d'inhalation d' ^{17}O , ce qui suggère que les hypothèses du modèle simplifié sont valides dans ces conditions expérimentales. Cependant, on pourrait remettre cette méthode en question dans des circonstances où les conditions physiologiques de l'animal ne permettent plus d'avoir un comportement linéaire, par exemple, dans le cas où T_c augmenterait à cause d'un ralentissement du rythme cardiaque.

3.2 Mesure de CBF dérivée d'une inhalation de $^{17}\text{O}_2$

Le groupe l'Université du Minnesota a également établi empiriquement une relation de proportionnalité directe entre le taux de décroissance exponentielle de la phase de clairance (K_w) et CBF (Zhu et al. 2013b). Cette relation s'appuie sur le fait que l' H_2^{17}O produit localement peut être utilisé comme traceur sanguin endogène après la période d'inhalation. CBF peut ainsi être exprimé selon l'équation suivante : $\text{CBF} = A \times K_w$, où A est une constante déterminée empiriquement. Dans leur étude, Zhu et al. ont établi que $A = 1,86$, à partir d'une régression linéaire entre des mesures de CBF (obtenue par une sonde laser Doppler insérée dans le cortex du rat) et du taux de décroissance d' H_2^{17}O . Ces mesures ont été effectuées dans un modèle de rat, sous différents types d'anesthésie (α -chloralose, pentorbital, isoflurane). Pour estimer CBF à partir d'une inhalation de $^{17}\text{O}_2$ dans un contexte différent, chez un autre modèle animal ou avec un protocole d'anesthésie différent, par exemple, un étalonnage correct de cette constante pourrait être nécessaire.

4 EFFET DU T_C SUR LE CHOIX DU MODELE ET SUR LA DETERMINATION DE $CMRO_2$, K_G ET K_L

4.1 Introduction

Dans le cas du modèle linéaire, l'hypothèse de $T_C \rightarrow 0$ s peut être remise en cause selon l'espèce étudiée (souris, rat, humain) et les conditions expérimentales (anesthésie) qui sont des facteurs impactant la valeur de T_C . Dans cette partie, nous souhaitons déterminer l'effet de l'hypothèse $T_C \rightarrow 0$ s du modèle simplifié sur la détermination de $CMRO_2$ et des paramètres K_G et K_L .

4.2 Matériels et méthodes

Des courbes d'inhalation d' ^{17}O de 4 minutes ont été simulées selon le modèle 3-phases avec différentes valeurs de T_C : 3 s, 9 s et 20 s correspondant respectivement aux valeurs attendues pour la souris, le rat, et l'homme, et $T_C = 1.10^{-10}$ s correspondant à l'hypothèse du T_C nul du modèle linéaire. Un $CMRO_2$ nominal de $2,5 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$, un K_G nominal de $0,9 \text{ min}^{-1}$ et un K_L nominal de $0,4 \text{ min}^{-1}$ ont été choisis sur la base des valeurs obtenues dans nos mesures préliminaires. Le modèle 3 phase a ensuite été ajusté aux courbes simulées et la différence entre les valeurs nominales et ajustées de $CMRO_2$, K_G et K_L a été estimée en %.

Le modèle linéaire a ensuite été ajusté sur la période d'inhalation des courbes simulées pour estimer l'erreur générée avec ce modèle en fonction de la valeur de T_C . Pour estimer l'erreur générée sur $CMRO_2$ dans les conditions de mesures de Zhang et al. dans le cerveau de souris, une autre courbe a été simulée avec un T_D de 2 minutes et un T_C de 3 secondes (cette valeur chez la souris pourrait cependant être différente selon l'anesthésique utilisé).

4.3 Résultats

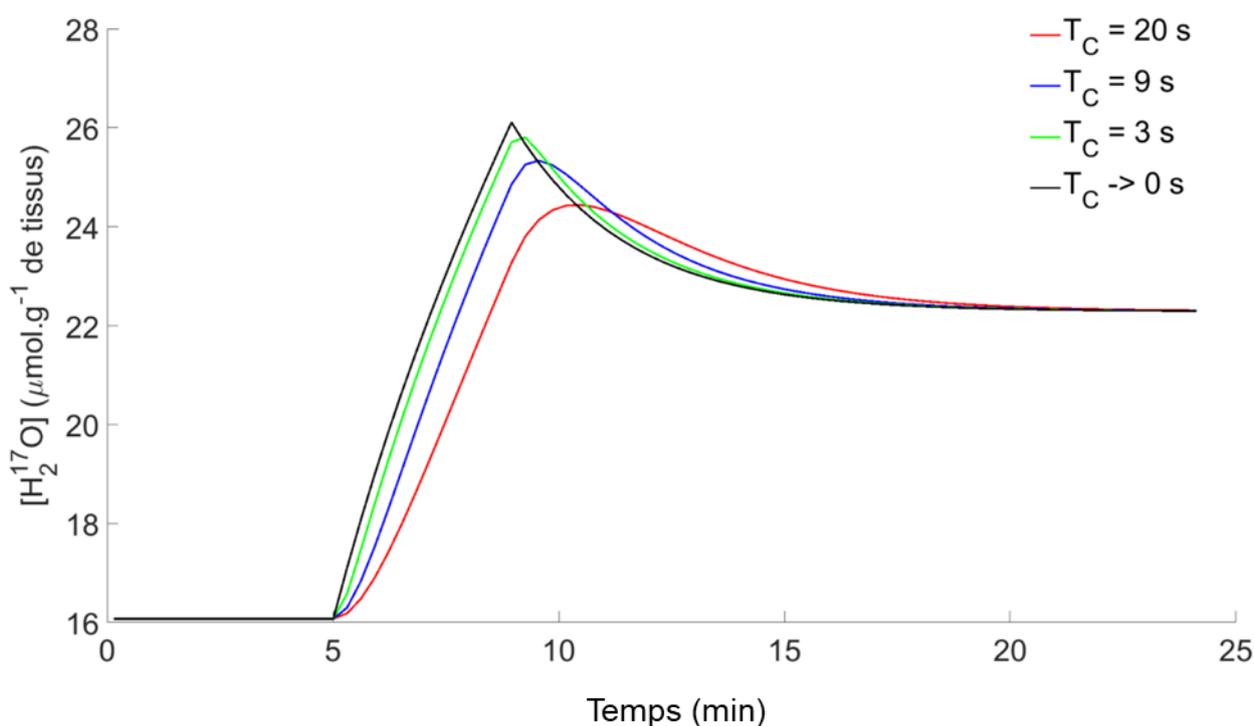


Figure 22 **Simulation de courbes d'inhalation de gaz enrichi en ^{17}O avec différents T_c hypothétiquement caractéristiques de la souris (3 s), du rat (9 s) et de l'homme (20 s)** (CMRO_2 nominal = $2,5 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$, K_G nominal = $0,9 \text{ min}^{-1}$ et $K_L = 0,4 \text{ min}^{-1}$).

La Figure 22 montre que T_c affecte grandement l'allure des courbes pendant la période d'inhalation et que celles-ci s'éloignent de la linéarité quand T_c augmente.

Les résultats de l'ajustement du modèle 3-phases à nos simulations sont présentés dans le Tableau 3 pour étudier l'erreur générée sur l'estimation des paramètres lorsque l'hypothèse de $T_c \rightarrow 0$ seconde est faite.

T_c (s)	CMRO_2 ajusté avec $T_c = 0$ s ($\mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$)	Erreur sur CMRO_2 (%)	K_G ajusté avec $T_c = 0$ s (min^{-1})	Erreur sur K_G (%)	K_L ajusté avec $T_c = 0$ s (min^{-1})	Erreur sur K_L (%)
3	2,20	- 12	0,67	- 26	0,30	- 25
9	1,80	- 28	0,34	- 62	0,16	- 60
20	1,40	- 44	-0,12	- 113	-0,03	- 107

Tableau 3 **Valeurs des paramètres CMRO_2 , K_G et K_L obtenues à partir de l'ajustement du modèle 3-phases sur les données simulées** (CMRO_2 nominal = $2,5 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$, K_G nominal = $0,9 \text{ min}^{-1}$ et $K_L = 0,4 \text{ min}^{-1}$) **et erreur induite par l'hypothèse $T_c \rightarrow 0$ s sur leur**

détermination par rapport à leur valeur nominale.

Nous pouvons constater, à partir des résultats du Tableau 3, que cette hypothèse génère une sous-estimation importante des paramètres de sortie du modèle 3-phases, et ce, dès que T_C atteint quelques secondes.

Les résultats de l'ajustement du modèle linéaire sur la période d'inhalation des données simulées sont présentés dans le Tableau 4. Nous pouvons constater que même avec un T_C de 3 secondes, $CMRO_2$ est sous-estimé de façon importante et comme attendu, cette sous-estimation augmente avec T_C .

T_C (s)	$CMRO_2$ ajusté ($\mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$)	Erreur sur $CMRO_2$ (%)
3	1,79	- 28
9	1,73	- 31
20	1,44	- 42

Tableau 4 **Valeurs de $CMRO_2$ obtenues à partir de l'ajustement du modèle linéaire sur les données simulées** ($CMRO_2$ nominal = $2,5 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$, K_G nominal = $0,9 \text{ min}^{-1}$ et $K_L = 0,4 \text{ min}^{-1}$) **et erreur par rapport à la valeur nominale de $2,5 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$.**

En considérant $T_C = 3 \text{ s}$ et en réduisant le temps d'inhalation (T_D) à ~ 2 minutes (Figure 23) pour se rapprocher des conditions expérimentales du groupe de l'Université du Minnesota (Zhang et al. 2004), l'erreur engendrée par l'hypothèse $T_C \rightarrow 0 \text{ s}$ sur la détermination de $CMRO_2$ est de - 12 % (valeur obtenue de $2,19 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$). Si l'on ajuste le modèle linéaire à la période d'inhalation de 2 minutes, une valeur de $2,01 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ est obtenue, soit - 20 % d'erreur sur l'estimation de ce paramètre.

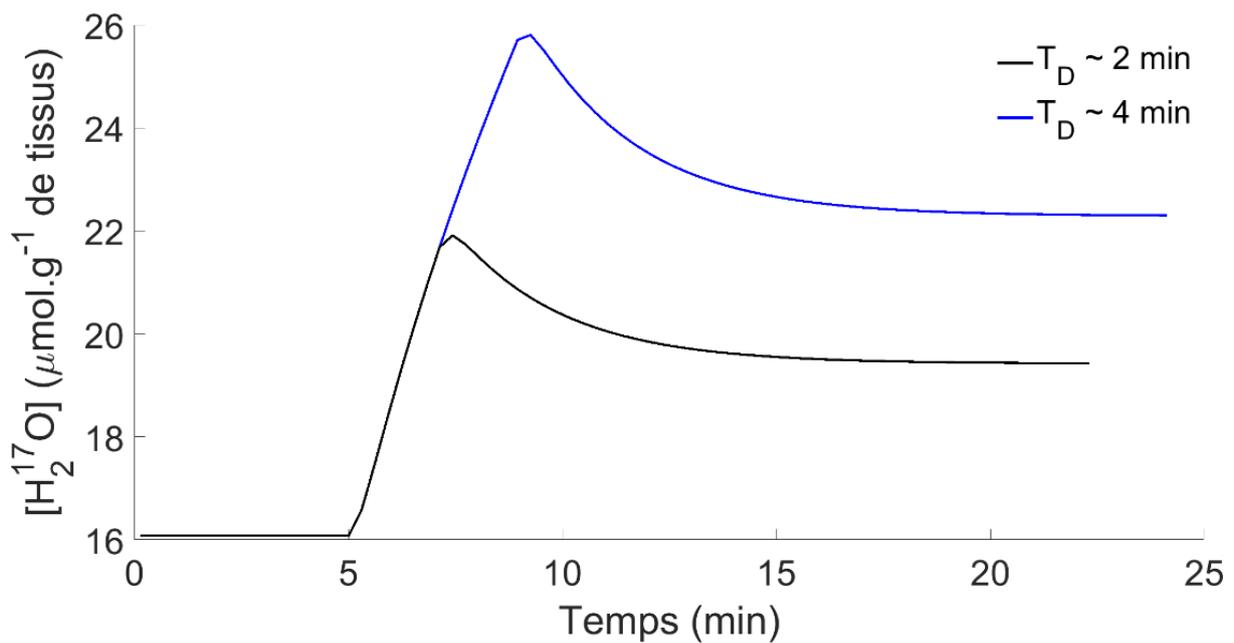


Figure 23 **Simulation de courbes d'inhalation de gaz enrichi en ^{17}O avec un T_c de 3 s et un T_D de ~2 min et ~4 min** (CMRO_2 nominal = $2,5 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$, K_G nominal = $0,9 \text{ min}^{-1}$ et $K_L = 0,4 \text{ min}^{-1}$).

4.4 Discussion et conclusion

D'après le Tableau 3, l'hypothèse $T_c \rightarrow 0$ s génère une sous-estimation importante des paramètres de sortie du modèle 3-phases dès que T_c atteint quelques secondes. Or, dans une étude chez la souris anesthésiée (uréthane), une valeur de T_c de 3 secondes a été mesurée à partir de l'enregistrement du premier et du second passage d'un traceur sanguin fluorescent (FITC-dextran) dans une artère cérébrale (Rovainen et al. 1993). Dans ces conditions, le modèle linéaire n'est pas applicable avec un T_D de 4 minutes. La réduction de T_D à 2 minutes permet, toutefois, de réduire l'erreur avec ce modèle.

Chez l'homme ou dans des modèles animaux plus gros que la souris, on s'attend à ce que le rythme cardiaque et la circulation sanguine soient plus lents et que T_c soit donc plus long. La température corporelle ainsi que le type et la dose d'anesthésie utilisés peuvent aussi avoir un effet sur ce paramètre. Par exemple, Sirmipiltze et al. ont constaté chez le rat que le rythme cardiaque diminuait de moitié pendant la première heure d'anesthésie à la médétomidine avant de se stabiliser (Sirmipiltze et al. 2019) et une comparaison chez le rat de différents anesthésiques (pentorbital, isoflurane, kétamine/xylazine et

tiletamine/zolazepam) montre que le rythme cardiaque est le plus élevé sous pentorbital tandis qu'il est le moins élevé sous kétamine/xylazine (Redfors et al. 2014). Ainsi, la valeur de T_c , dépendante du rythme cardiaque, peut être très différente selon l'anesthésique utilisé. Dans ces conditions, et à partir de nos résultats de simulation, nous recommandons l'utilisation du modèle 3-phases pour quantifier $CMRO_2$ dans des modèles plus gros que la souris et de mesurer la valeur de T_c dans les conditions expérimentales. L'objectif de cette thèse est donc de mesurer $CMRO_2$ dans le cerveau du rat à partir du modèle 3-phases car il permet de prendre en compte la taille de l'animal, le plus large volume sanguin et le rythme cardiaque plus lent conduisant à un T_c plus long que chez la souris. De plus, comme l'anesthésie peut avoir un fort impact sur T_c , nous avons choisi de mesurer T_c expérimentalement dans nos conditions d'anesthésie et de température afin d'éliminer cette source d'erreur dans notre quantification. Les résultats de ces expériences sont présentés dans Chapitre 4 Partie 1.3

5 EFFET DU T_D SUR LA DETERMINATION DE $CMRO_2$, K_G ET K_L

5.1 Introduction

Nous avons vu précédemment qu'un comportement linéaire pendant la période d'inhalation peut être observé avec un temps d'inhalation T_D très court. Ceci suggère que selon T_D , l'allure de la courbe peut être différente et donc que la sensibilité du modèle 3-phases aux paramètres $CMRO_2$, K_G et K_L peut varier.

Dans des conditions où le SNRt des mesures serait bas, augmenter T_D pour augmenter le nombre de points pendant la deuxième phase du signal devrait améliorer la sensibilité de mesure de $CMRO_2$. Cependant, le dioxygène enrichi en ^{17}O utilisé pour nos expériences est très coûteux. Il apparaît donc important d'évaluer avec précision l'apport théorique d'une augmentation de T_D avant toute implémentation expérimentale. Très récemment, des expériences avec de longs temps d'inhalation chez le rat ont été réalisées et publiées par Wiesner et al. (Wiesner et al. 2021). Leurs résultats montrent que la sensibilité de mesure de $CMRO_2$ n'augmente pas linéairement avec la durée d'inhalation dans leurs conditions. Dans cette partie, nous présentons un travail de simulations pour évaluer 1) la sensibilité du modèle aux différents paramètres au cours des différentes phases de l'expérience d'inhalation et 2) l'impact de T_D sur la détermination de $CMRO_2$ dans nos conditions.

5.2 Matériels et méthodes

Pour étudier la sensibilité du modèle en fonction du temps, nous avons simulé une courbe d'inhalation d' ^{17}O normale avec un T_D de 4 minutes qui permettrait de limiter le coût des expériences. Un CMRO_2 nominal de $2,5 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$, un K_G nominal de $0,9 \text{ min}^{-1}$ et un K_L nominal de $0,4 \text{ min}^{-1}$ ont été choisis. Six autres courbes ont ensuite été simulées avec, à chaque fois, une variation de $\pm 10\%$ appliquée à l'un des paramètres du modèle. Le CMRO_2 nominal de la courbe devient ainsi $2,25 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ et $2,75 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ pour une variation de -10% et de $+10\%$, respectivement. Le K_G nominal devient $0,81 \text{ min}^{-1}$ et $0,99 \text{ min}^{-1}$ pour une variation de -10% et de $+10\%$, respectivement. Le K_L nominal devient $0,36 \text{ min}^{-1}$ et $0,44 \text{ min}^{-1}$ pour une variation de -10% et de $+10\%$, respectivement. La sensibilité du modèle à cette variation a ensuite été calculée à partir de la différence entre la courbe normale et la courbe avec une variation : $\text{Sensibilité (\%)} = \text{abs}\left(\frac{S_{\pm 10} - S_{\text{normal}}}{S_{\text{normal}}}\right) \cdot 100$

Pour évaluer avec précision l'apport théorique d'une augmentation de T_D , nous avons utilisé la même méthode mais cette fois-ci avec un T_D long de 15 minutes qui est celui utilisé par Wiesner et al. dans leur article (Wiesner et al. 2021).

5.3 Résultats

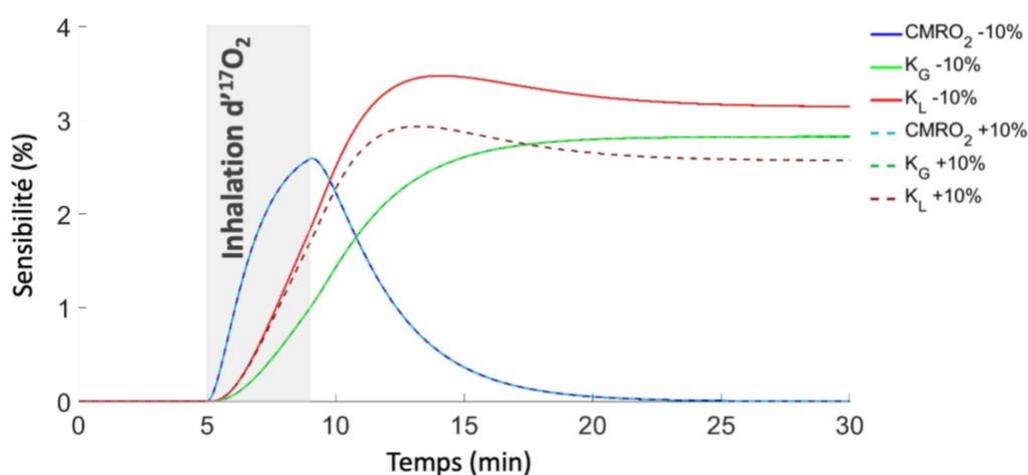


Figure 24 **Sensibilité du modèle 3-phases à des variations de $\pm 10\%$ des paramètres CMRO_2 , K_G et K_L ($T_D = 4 \text{ min}$).**

Pour un T_D de 4 minutes, la sensibilité du modèle à CMRO_2 augmente progressivement

pendant la période d'inhalation et est optimale à la fin et juste après la période d'inhalation. Pour les paramètres K_G et K_L , la sensibilité augmente progressivement à partir de l'inhalation et atteint un plateau après une dizaine de minutes de clairance (Figure 24).

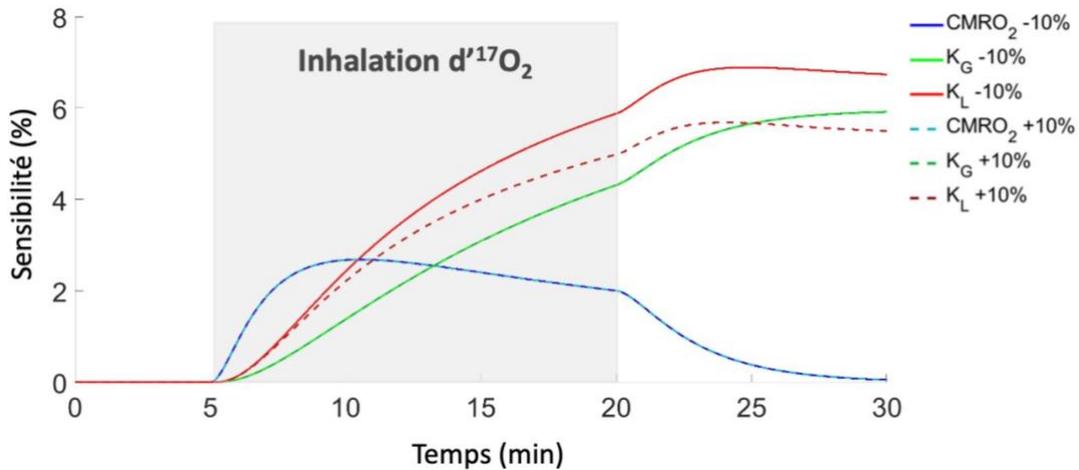


Figure 25 **Sensibilité du modèle 3-phases à des variations de $\pm 10\%$ des paramètres $CMRO_2$, K_G et K_L pour une inhalation longue d' ^{17}O ($T_D = 15$ min)**

La Figure 25 montre que la sensibilité du modèle atteint un maximum au bout de 6 minutes puis elle se stabilise jusqu'à la fin de l'inhalation. La sensibilité aux paramètres K_G et K_L augmente dès le début de l'inhalation et domine la sensibilité à $CMRO_2$ à partir de 10 minutes pour K_L et 13 minutes pour K_G .

5.4 Discussion et conclusion

Wiesner et al. ont utilisé un T_D de 15 minutes afin de s'assurer qu'une quantité suffisante d' $^{17}O_2$ était délivrée aux tissus étudiés. Selon eux, cette durée d'inhalation plus longue a permis une augmentation plus importante de la concentration de $H_2^{17}O$, nécessaire pour mesurer et analyser avec précision $CMRO_2$. A partir de nos courbes de sensibilité, on constate, au contraire, que la sensibilité du modèle atteint un maximum au bout de 6 minutes avant de se stabiliser. A cause de l'accumulation d' $H_2^{17}O$ recirculante dans le sang, la sensibilité aux paramètres K_G et K_L domine celle de $CMRO_2$ à partir d'une dizaine de minutes. Ainsi, l'utilisation d'une longue période d'inhalation est favorable à la mesure des paramètres de flux K_G et K_L . Comme notre objectif est en priorité de déterminer $CMRO_2$, il ne semble pas nécessaire d'utiliser un T_D allant au-delà de 6 minutes dans notre travail, en

se référant au maximum de la courbe de sensibilité à $CMRO_2$ (Figure 25). Avec un T_D de 4 minutes, l'effet de recirculation d' $H_2^{17}O$ n'est pas prépondérant pendant la période d'inhalation et les derniers points de la période d'inhalation sont les plus sensibles à $CMRO_2$. Afin d'affiner le choix du T_D entre 1 et 6 minutes, il est nécessaire de prendre en compte le SNR des données acquises. En effet, la sensibilité de mesure de $CMRO_2$ varie avec T_D mais surtout avec le SNR des courbes d' $H_2^{17}O$ obtenues. Il est donc important de connaître le T_D optimal selon les conditions de SNR.

6 EFFET DU SNR SUR LA DETERMINATION DE $CMRO_2$ ET DES PARAMETRES DE FLUX

Afin de déterminer l'effet du SNR des acquisitions sur la sensibilité de mesure de $CMRO_2$ ainsi que des paramètres de flux K_G et K_L , nous avons utilisé une approche Monte Carlo consistant à simuler 1000 courbes d'inhalation d' ^{17}O ($CMRO_2$ nominal = $2,5 \mu mol \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$, K_G nominal = $0,9 min^{-1}$ et $K_L = 0,4 min^{-1}$) avec différentes valeurs de T_D (1 s à 6 s) et de SNR (1 à 50) puis nous avons ajusté le modèle 3-phases aux courbes simulées.

Les Figure 26 et Figure 27 représentent, sous forme de cartes de chaleur, la dispersion définie à $2 \cdot \text{écart-type}$ et le biais de détection de $CMRO_2$, K_G et K_L en fonction du SNR à différentes valeurs de T_D .

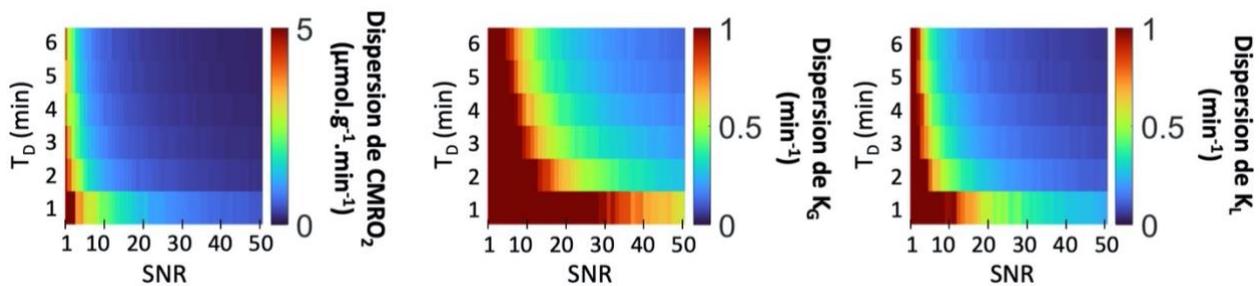


Figure 26 **Cartes de chaleur montrant le seuil de détection (2σ) de $CMRO_2$, K_G , K_L pour une gamme de valeurs de SNR (1 à 50), différents T_D (1 à 6 min) et les valeurs nominales des paramètres ($CMRO_2$ nominal = $2,5 \mu mol \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$, K_G nominal = $0,9 min^{-1}$ et $K_L = 0,4 min^{-1}$).**

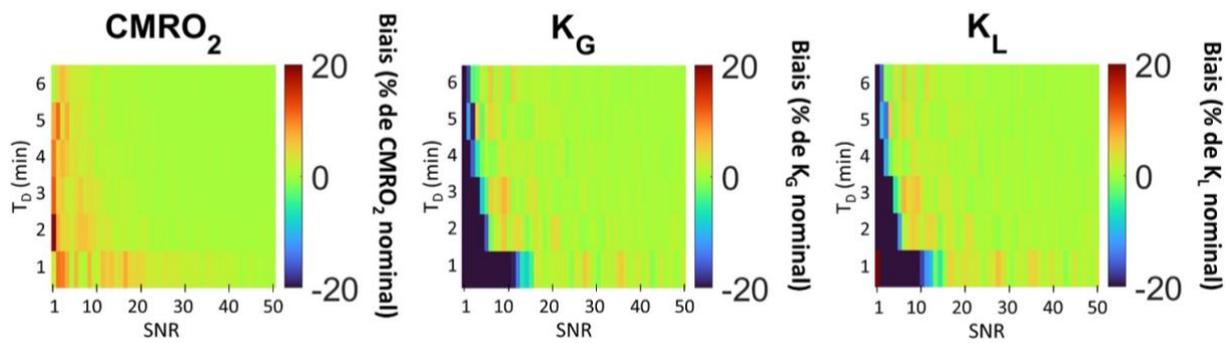


Figure 27 **Cartes de chaleur montrant le biais pour $CMRO_2$, K_G , K_L** pour une gamme de valeurs de SNR (1 à 50), différents T_D (1 à 6 min) et les valeurs nominales des paramètres ($CMRO_2$ nominal = $2,5 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$, K_G nominal = $0,9 \text{ min}^{-1}$ et $K_L = 0,4 \text{ min}^{-1}$).

Ces cartes mettent bien en avant l'impact de T_D et du SNR sur la détermination des paramètres du modèle. A partir d'un SNR de 10, l'augmentation du T_D au-delà de 4 minutes n'apporte plus de gain significatif en sensibilité de détection de $CMRO_2$. Quant au biais sur la détermination de $CMRO_2$, il est plutôt limité et devient presque nul à partir d'un SNR de 20 et d'un T_D de 3 minutes (biais = 0,25 %). Dans la littérature, une étude a mesuré une augmentation de 15 % de $CMRO_2$ dans le S1FL du rat à partir d'acquisition de $^1\text{H}[^{13}\text{C}]\text{-MRS}$ (Sonnay et al. 2016), ce qui correspondrait à une augmentation de $CMRO_2$ de $0,37 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ dans les conditions de nos simulations. Si l'on adopte un T_D de 4 minutes, le seuil de détection (fixé à de 2σ) atteint 15 % à partir d'un SNR de 20, il faudra donc se situer dans des conditions de $\text{SNR} \geq 20$ pour détecter une telle augmentation. Dans ces mêmes conditions, le biais sur la détermination de K_G est de 0,08 % et le seuil de détection de ± 42 %. Le biais sur la détermination de K_L est de 0,28 % et le seuil de détection de ± 38 %.

Avec ce travail de simulation, nous possédons maintenant un outil pour déterminer le T_D optimal pour nos mesures à partir du SNR de nos acquisitions. Cet outil sera mis en application à partir des valeurs de SNR obtenues dans nos données expérimentales pour établir notre protocole de mesure de $CMRO_2$ avec l'IRM- ^{17}O (Chapitre 4) et servira de support d'interprétation des données in-vivo (Chapitre 5).

Chapitre 4 : MISES AU POINT D'UN PROTOCOLE D'ACQUISITION POUR LA MESURE DE CMRO₂ PAR IRM DU ¹⁷O

Pour mesurer CMRO₂, il est nécessaire de limiter l'effet des conditions expérimentales sur les conditions physiologiques de l'animal. Selon la définition du modèle 3-phase (Chapitre 3 Partie 2), la quantification de CMRO₂ à partir des données d'IRM du ¹⁷O dépend de la valeur de certains paramètres physiologiques comme la saturation du sang en oxygène (S_{TA}) ou encore le temps de circulation du sang (T_C). Ces paramètres physiologiques sont d'ailleurs étroitement liés au rythme cardiaque et respiratoire ainsi qu'à la température de l'animal.

Par ailleurs, dans la littérature, des études ont démontré qu'une augmentation passive de la température corporelle ou de la température locale au niveau du cerveau aboutie à l'augmentation de CMRO₂ de 5 à 10% par degré Celsius (Bain et al. 2014, 2020). Une autre étude rapporte une diminution de CMRO₂ en condition d'hypoxie (apport en oxygène réduit) et une augmentation en condition d'hyperoxie (excès d'apport en oxygène) (Xu et al. 2012).

Nous avons par conséquent validé un protocole expérimental permettant de mesurer CMRO₂ dans des conditions physiologiques stables.

L'IRM du ¹⁷O présente d'autres difficultés. D'après les simulations présentées dans le Chapitre 3, nos conditions de SNR ont un impact sur l'erreur de mesure et ne sont pas favorable à la détermination robuste et précise de CMRO₂. Pour augmenter le SNR de nos mesures, des choix stratégiques au niveau instrumental et des séquences d'acquisition ont été faits.

Dans ce chapitre, nous détaillerons **1)** le choix et la caractérisation d'un protocole d'anesthésie compatible avec la mesure de CMRO₂, **2)** les développements instrumentaux effectués pour administrer le ¹⁷O₂ gazeux facilement et avec précision, puis le choix d'une antenne de détection RF et **3)** d'une séquence pour détecter avec une bonne sensibilité le signal de l'H₂¹⁷O et pour acquérir le signal rapidement après excitation.

1 EFFET DE L'ANESTHESIE SUR LES PARAMETRES PHYSIOLOGIQUES

Le type d'anesthésie et la dose utilisée peuvent avoir un effet sur le rythme cardiaque et le

rythme circulatoire ce qui affecte la valeur du paramètre T_C . Pour une quantification précise de $CMRO_2$, il est important de connaître T_C dans les conditions d'anesthésie utilisée. Il est aussi important de choisir un protocole d'anesthésie qui minimise les perturbations de l'état physiologique de base de l'animal.

1.1 Choix de la méthode d'anesthésie : médétomidine

L'isoflurane est un anesthésique volatil souvent utilisé en expérimentation animale. Facile d'utilisation, il augmente cependant le niveau de lactate (Valette et al. 2007), réduit la réponse glycolytique (Park et al. 2017) et a un effet vasodilatateur qui limite significativement la réponse BOLD lors d'une activation fonctionnelle (Aksenov et al. 2015). Par conséquent, le consensus pour les expériences d'imagerie fonctionnelle et métabolique chez le rongeur est d'utiliser l'isoflurane à petite dose ($\leq 0.5\%$) et de le combiner à de la médétomidine (Grandjean et al. 2014, 2022), un α_2 -agoniste possédant un effet sédatif puissant et entraînant une vasoconstriction (Kint et al. 2020). Certains groupes ont utilisé l'isoflurane pour des mesures d'IRM du ^{17}O comprenant une inhalation de dioxygène enrichi (Cui et al. 2013b; Zhu et al. 2013a; Lou et al. 2016; Neveu et al. 2017). Or, pour nos mesures, l'administration de l'isoflurane est compliquée car le système d'administration du gaz enrichi en ^{17}O que nous avons développé (décrit dans la partie 2.1) n'est pas adapté. En effet, il serait possible d'incorporer l'isoflurane au gaz enrichi en ^{17}O dans notre système mais cette opération ne nous permet pas de maîtriser la dose d'isoflurane administrée et génère ainsi un risque pour l'animal et une potentielle diminution de la fraction d'enrichissement en ^{17}O , α , du gaz envoyé. Pour mettre en place un protocole d'anesthésie optimal, nous nous sommes donc inspirés d'études d'imagerie fonctionnelle qui utilisent uniquement la médétomidine (Adamczak et al. 2010; Sirmipilatzte et al. 2019). Le protocole d'anesthésie que nous avons choisi de valider consiste à administrer la médétomidine par voie intraveineuse (IV) à une dose de $0,6 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (Adamczak et al. 2010).

Dans le cadre de ce travail de thèse, l'influence de l'anesthésie sur la glycémie et la lactatémie doit être connue et maîtrisée puisque la disponibilité de ces substrats est étroitement liée au métabolisme énergétique. De plus, ce travail de thèse s'inscrit dans un projet scientifique plus large pour lequel il est envisagé de 1) déterminer le rôle du glucose et du lactate dans les réponses métaboliques et hémodynamiques induites par une activation cérébrale et 2) de combiner l'IRM du ^{17}O et TEP au ^{18}F -FDG pour étudier la consommation de glucose dans

le cerveau et fournir à terme une mesure de l'OGI ($OGI = \frac{CMRO_2}{CMR_{glc}}$). Comme le glucose endogène et le ^{18}F -FDG sont en compétition pour les mêmes transporteurs (GLUT-1, GLUT-3), une glycémie élevée affecte la sensibilité des mesures de TEP. Pour ces raisons, nous avons également caractérisé les effets du protocole d'anesthésie en termes de glucose et lactate sanguin tout en monitorant les paramètres physiologiques de l'animal (saturation en O_2 , rythme respiratoire, rythme cardiaque, T_c).

1.2 Caractérisation de l'effet de la médétomidine

1.2.1 Effet de la sédation sur le glucose et le lactate sanguin

Afin de caractériser l'effet de notre protocole d'anesthésie sur la quantité de lactate et de glucose dans le sang, des prélèvements sanguins ont été effectués chez 5 rats (femelles, Wistar, 2-4 mois, 245 ± 22 g) après une mise à jeun (8 heures, pendant la nuit) et sans mise à jeun, sous médétomidine ($0,6 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$). Le lactate et le glucose sanguin ont ensuite été dosés avec un analyseur (Analox GM9). Pendant les mesures sous médétomidine, la température, le rythme respiratoire, le rythme cardiaque et la saturation en oxygène dans le sang ont été monitorés (PalmSAT[®]2500 Series).

Ces mesures ont révélé une augmentation progressive mais modérée de la glycémie sous médétomidine lorsque l'animal est à jeun (de $5,2 \pm 1,2$ à $8,7 \pm 3,0 \text{ mmol.L}^{-1}$). Lorsque l'animal n'était pas à jeun, l'augmentation de glycémie était, en tout point de mesure, significativement plus importante qu'à jeun (de $9,3 \pm 1,5$ à $16,5 \pm 1,7 \text{ mmol.L}^{-1}$). Le lactate sanguin, quant à lui, a atteint un état stable environ 30 min après l'arrêt de l'isoflurane ($0,36 \pm 0,02 \text{ mmol.L}^{-1}$ à jeun et $0,40 \pm 0,02 \text{ mmol.L}^{-1}$ non à jeun) et était significativement ($p < 0,0001$) plus concentré en condition non à jeun qu'à jeun, pour le premier point de mesure (sous isoflurane) (Figure 28).

Au vu de ces résultats, nous concluons que le protocole augmente faiblement la glycémie lorsqu'il est pratiqué à jeun. Il semble donc préférable d'utiliser la médétomidine pour nos expériences. Cependant, dans la littérature des études montrent que, suite à une mise à jeun, l'amplitude de la réponse BOLD à un stimulus externe diminue (Anderson et al. 2006; Driesen et al. 2007; Chechko et al. 2015; Kohn et al. 2016). L'effet vasoconstricteur de la médétomidine ne peut qu'intensifier la diminution de la réponse BOLD à une activation

fonctionnelle. Nous avons par conséquent choisi de faire nos développements avec le protocole non à jeun dans un premier temps.

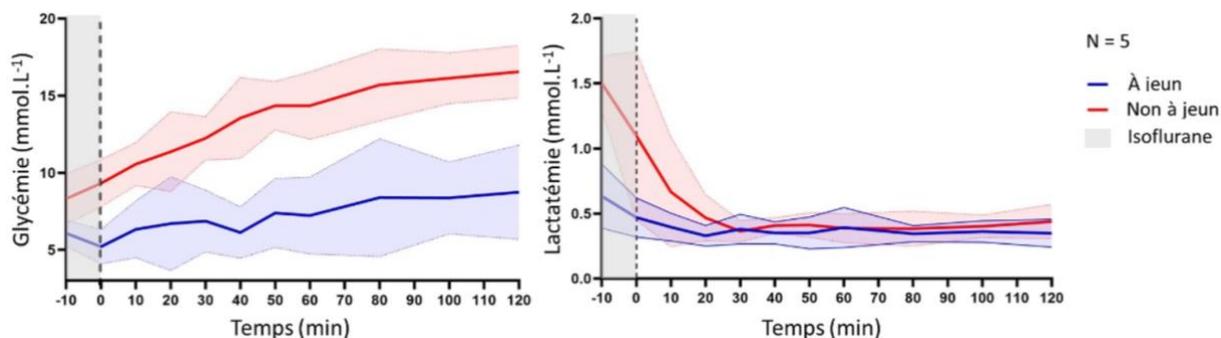


Figure 28 **Effet de la sédation sur la glycémie et la lactatémie** mesuré à partir de prélèvements sanguins chez 5 rats à jeun et non à jeun. L'anesthésie est induite avec 4 % d'isoflurane dans un mélange air/O₂, 1:1), puis maintenue avec 1,5-2 % d'isoflurane pendant 21 ± 4 minutes pour permettre de placer un cathéter artériel pour les prélèvements d'échantillons sanguins et un cathéter veineux pour injecter la médétomidine. L'infusion de médétomidine débute à -10 minutes et l'encadré gris représente la période durant laquelle l'isoflurane est graduellement diminué jusqu'à suppression totale (-10 à 0 minutes).

1.2.2 Effet de la médétomidine sur le rythme respiratoire et cardiaque

Au cours de ces mesures, la température a été maintenue à 37,2 ± 0,3 °C. Le suivi des constantes physiologiques a montré qu'en moyenne la saturation en oxygène mesurée était stable (SpO₂ = 98 ± 0,7 % en condition à jeun et non à jeun), la fréquence respiratoire a augmenté de 47 ± 11 respirations par minute (RPM) à 51 ± 18 RPM chez les rats à jeun et a diminué très légèrement de 72 ± 16 RPM à 66 ± 2,8 RPM chez les rats non à jeun. La fréquence cardiaque a diminué de 359 ± 9,54 battements par minute (BPM) à 223 ± 25,0 BPM chez les rats à jeun et de 344 ± 92 BPM à 171 ± 45 BPM chez les rats non à jeun (Figure 29).

Ces variations, notamment la diminution du rythme cardiaque, sont attendues étant donné l'effet vasoconstricteur connu de la médétomidine. Avec ces éléments, nous pouvons anticiper que notre protocole d'anesthésie a un effet non négligeable sur le paramètre Tc

du modèle 3-phases.

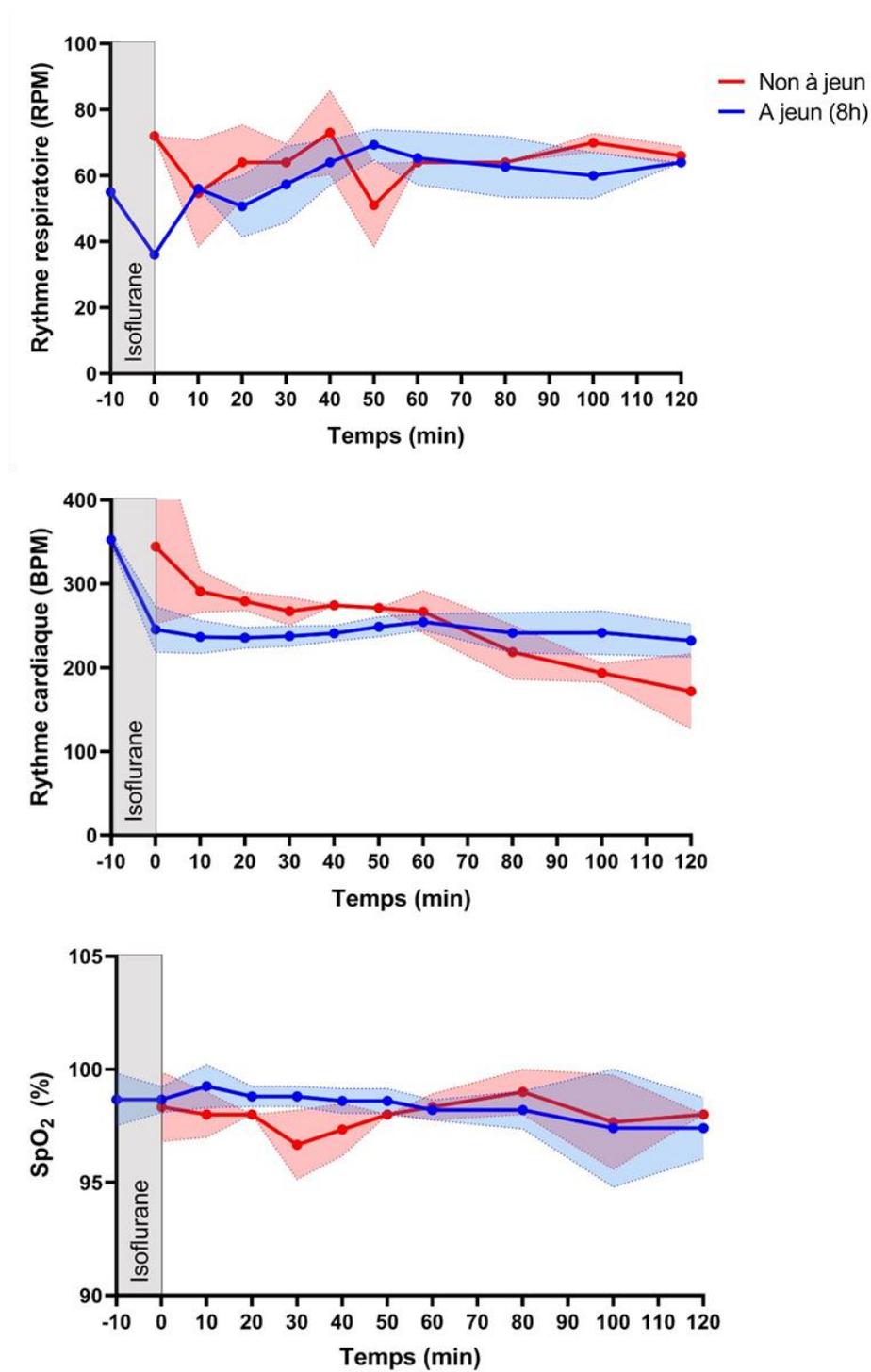


Figure 29 **Effet de la sédation sur les constantes physiologiques monitorées** (rythme cardiaque, rythme respiratoire et SpO₂).

1.3 Mesure de T_C pendant l'administration de médétomidine

D'après les simulations du Chapitre 3 Partie 4, T_C est un paramètre important sur lequel repose le choix du modèle et dont la bonne estimation permet de limiter les erreurs sur la détermination des paramètres de sorties du modèle 3-phases ($CMRO_2$, K_G et K_L). Il est donc primordial de mesurer T_C dans nos conditions expérimentales. Les valeurs de T_C qui sont rapportées dans la littérature ont été mesurées avec des anesthésiques différents de la médétomidine (Sapirstein 1958). Par conséquent, nous avons mesuré T_C expérimentalement avec notre protocole d'anesthésie.

Pour cela, nous avons suivi le passage d'un agent de contraste intravasculaire fluorescent (FITC-Dextran) avec un endoscope laser confocal (Cellvizio®, ProflexZ™) chez 10 rats (femelles, Wistar, 7-11 mois, 325 ± 31 g) non à jeun. Les animaux ont été sédatisés avec de l'isoflurane pour 1) effectuer une ouverture au niveau de la carotide permettant d'exposer les veines et capillaires de cette zone afin de placer la sonde à microscopie confocale de l'endoscope laser, 2) positionner un cathéter au niveau de la veine fémorale pour injecter le marqueur sanguin fluorescent et 3) positionner un cathéter veineux caudal pour l'infusion de médétomidine. Une fois le système en place, l'infusion de médétomidine ($0,6 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$) a été débutée et l'isoflurane graduellement diminué jusqu'à suppression totale. Le marqueur fluorescent a ensuite été injecté avant l'infusion de médétomidine puis 15, 30 et 45 minutes après. A chaque injection, le premier puis le second passage du sang ont été enregistrés, dans des capillaires situés dans la zone carotide, avec l'endoscope laser confocal (résolution temporelle = 85 ms, résolution axiale = 5 μm , résolution latérale = 1,8 μm , distance de fonctionnement = 30 μm , FOV maximum = $240 \times 200 \mu\text{m}^2$ (Figure 30).

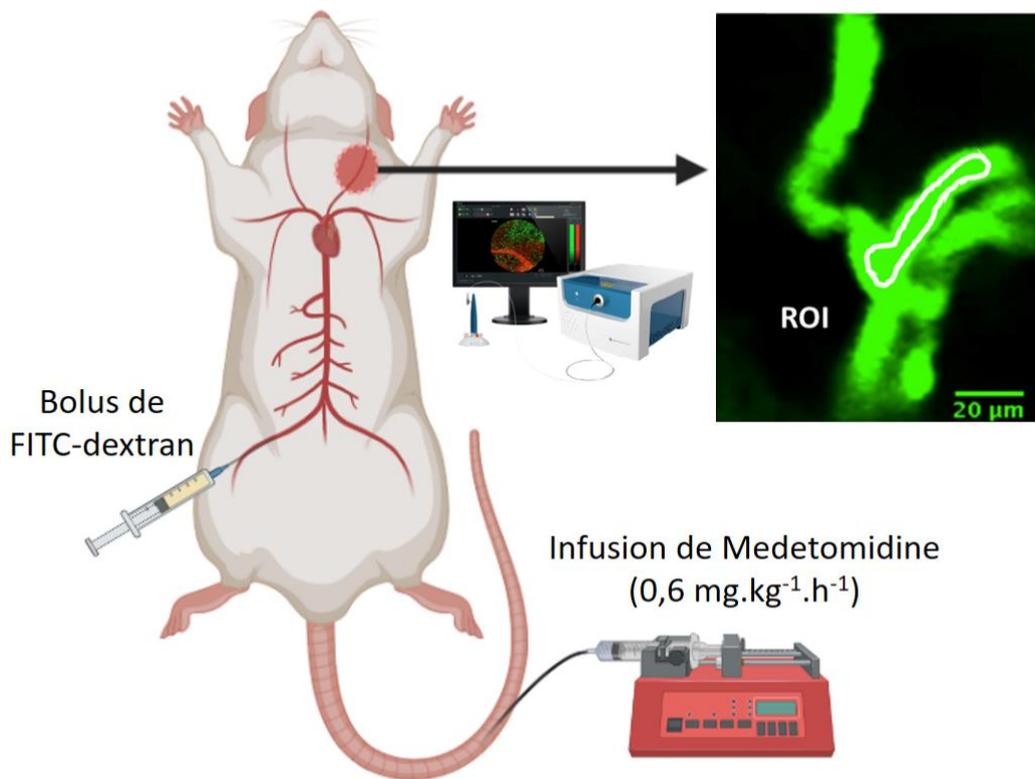


Figure 30 **Mesure de la circulation du sang à l'aide de l'endoscope laser (Cellvizio®)**. Un cathéter caudal est placé en IV pour administrer la medetomidine et un cathéter fémoral est placé en IV pour administrer le bolus de FITC-dextran. Les vaisseaux situés au niveau de l'artère carotide sont exposées de façon à imager le premier puis le second passage du bolus avec la sonde à microscopie confocale.

Avant la transition à la médétomidine, lorsque les animaux étaient sous isoflurane, $T_C = 6,1 \pm 1,1$ s. Après la transition à la médétomidine, T_C a augmenté jusqu'à atteindre $9,1 \pm 0,6$ secondes après 30 à 45 minutes de perfusion (Figure 31). Selon le dosage de substrats dans le sang que nous avons effectué (Partie 1.2.1), la quantité de lactate était stable à partir d'une trentaine de minutes après l'arrêt de l'isoflurane. Les rythmes cardiaque et respiratoire semblaient atteindre un plateau à partir de 30 à 40 minutes d'infusion de médétomidine. Il en est de même pour T_C qui s'est stabilisé et a atteint une valeur moyenne de 9,1 s.

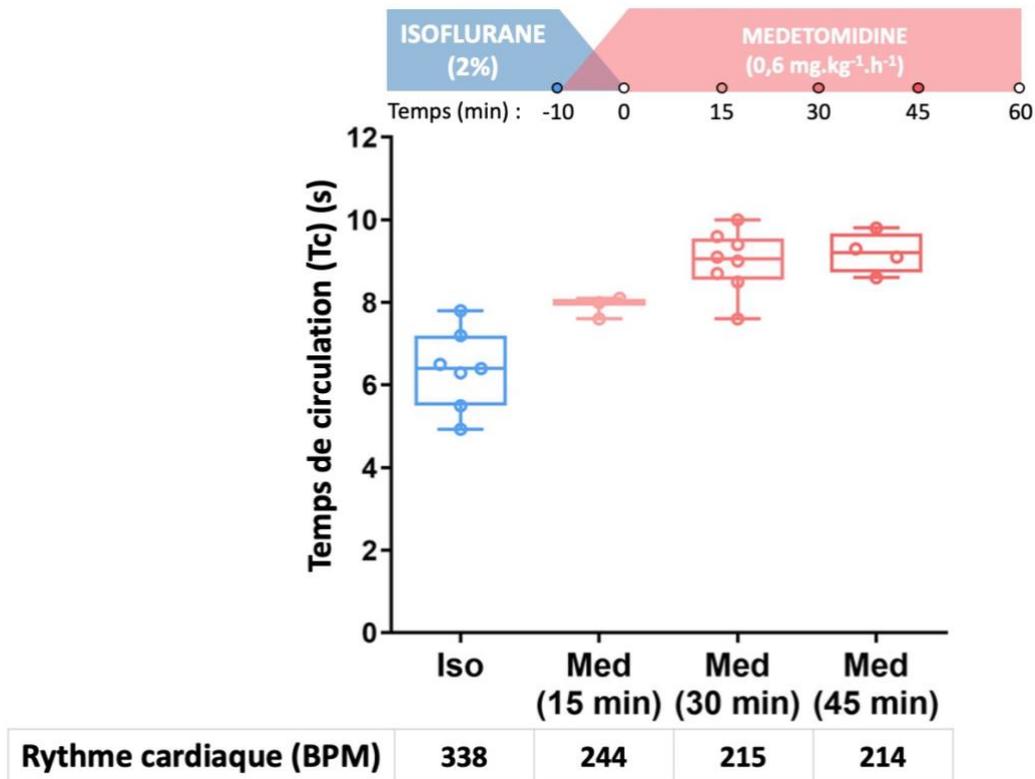


Figure 31 **Valeurs de T_c en fonction de la durée et des conditions d'anesthésie** mesurées à partir de la détection d'un agent de contraste intravasculaire fluorescent, avec les valeurs du rythme cardiaque associées.

Ces résultats montrent une stabilisation des paramètres physiologiques avec notre protocole d'anesthésie après une demi-heure. Ces éléments sont à prendre en compte pour la conception des expériences de mesure de $CMRO_2$ dans le cerveau du rat, avec un début des mesures après 30 minutes de médétomidine, et l'utilisation de la valeur de T_c de ~9 secondes pour le calcul de $CMRO_2$ à partir du modèle 3-phases.

2 INSTRUMENTATION

2.1 Administration du gaz enrichi en ^{17}O

2.1.1 Développement d'un système de distribution automatique d' $^{17}O_2$

Pour administrer le dioxygène gazeux enrichi en ^{17}O , un système a été développé au laboratoire (avant le début de ce projet de thèse). Cette version initiale, à déclenchement manuel, était composée d'une seringue en acrylique, étanche, de 500 ml (Hamilton®) et

d'un pousse seringue motorisé, commandé par un microcontrôleur (Arduino, Uno R3). Une interface graphique tactile permettait de programmer les paramètres d'inhalation (volume, durée, marche, arrêt du moteur) (Figure 32).



Figure 32 **Photo du système d'administration de dioxygène gazeux enrichi en ^{17}O .**

Dans le cadre de cette thèse, nous avons reprogrammé le microcontrôleur de façon à permettre une activation soit manuelle soit automatique, déclenchée/arrêtée à l'aide d'un signal TTL (0-5 V). Nous avons également modifié le code des séquences d'imagerie utilisées pour mesurer le signal de l' H_2^{17}O afin de pouvoir programmer l'envoi d'un signal TTL au pousse seringue directement à partir du scanner et déclencher l'inhalation au moment souhaité.

2.1.2 Administration d'un mélange de 80 % de N_2 et de 20 % d' O_2

La plupart des études IRM du ^{17}O ont administré un mélange de dioxygène (O_2) et d'azote (N_2) (Neveu et al. 2017; Wiesner et al. 2021) ou de protoxyde d'azote (N_2O) (Zhu et al. 2002; Zhang et al. 2004; Zhu et al. 2007; Cui et al. 2013b; Lou et al. 2016; Wiesner et al. 2021) à l'animal pendant les acquisitions permettant de se rapprocher de la composition de l'air (~80 % N_2 / 20 % O_2) et des conditions physiologiques naturelles de l'animal.

Pour être en adéquation avec la littérature, nous avons dans un premier temps développé un système d'administration d'un mélange gazeux N_2 (80 %)/ O_2 (20 %) permettant d'effectuer facilement la transition entre l' $^{16}\text{O}_2$ et l' $^{17}\text{O}_2$ (Figure 33)

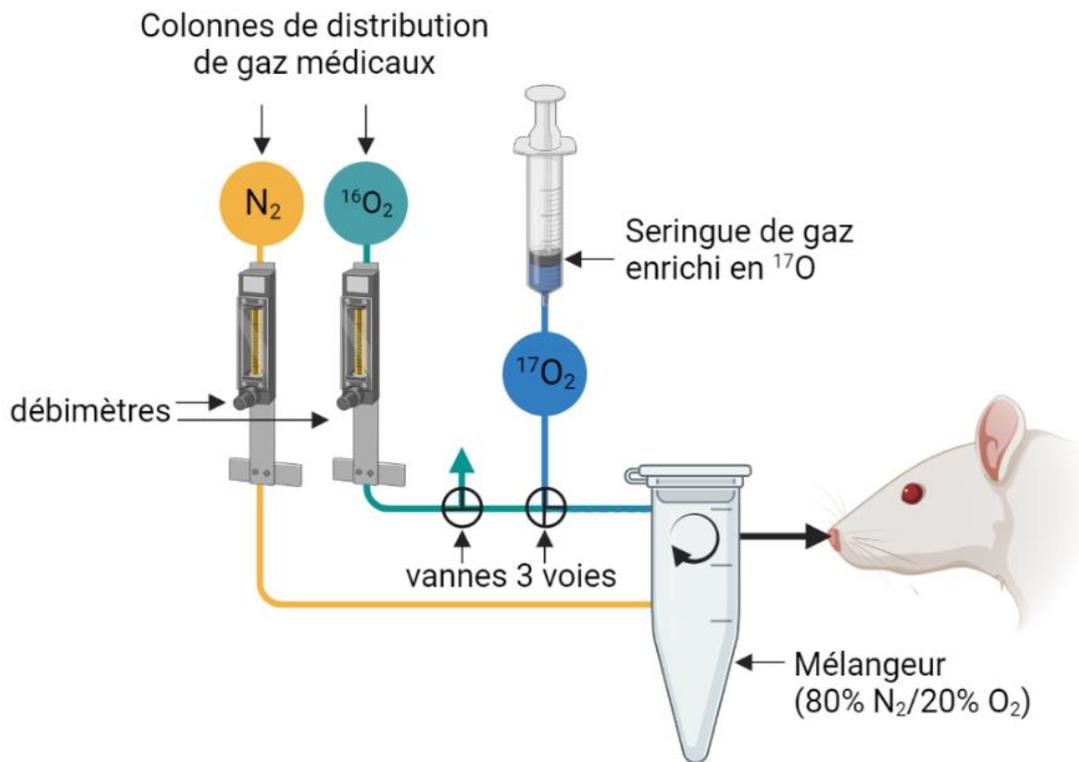


Figure 33 **Schéma du système de distribution du mélange d'azote et de ¹⁶O₂ alterné manuellement avec du ¹⁷O₂ lors que le pousse seringue est activé.**

Pour évaluer le système et ses potentiels effets sur l'animal pendant les expériences, nous avons placé un rat dans l'IRM et fait des acquisitions gradient echo-echo planar (GE-EPI) (TR/TE = 1000/15 ms, nombre d'accumulations (NA) = 1, BW = 27,9 kHz, FOV = 32 x 16 cm², matrice = 128 x 64, épaisseur de coupe = 0,75 mm) afin de mesurer les variations de signal BOLD dans le cerveau. Pendant ce temps, un mélange gazeux avec 80 % de N₂ et 20 % d'¹⁶O₂ a été administré à l'aide des débitmètres (0,4 L.min⁻¹ de N₂ et de 0,1 L.min⁻¹ d'¹⁶O₂) pendant 8 minutes puis le pousse seringue contenant de l'¹⁶O₂ a été activé avec un débit de 0,1 L.min⁻¹ et les vannes ont été tournées de façon à ce que l'¹⁶O₂ soit libéré dans l'air ambiant et que l'¹⁶O₂ du pousse seringue atteigne le mélangeur. Au bout de 4 minutes, la seringue était vidée et les vannes à nouveau ajustées pour retourner dans la configuration initiale pendant 8 minutes supplémentaires.

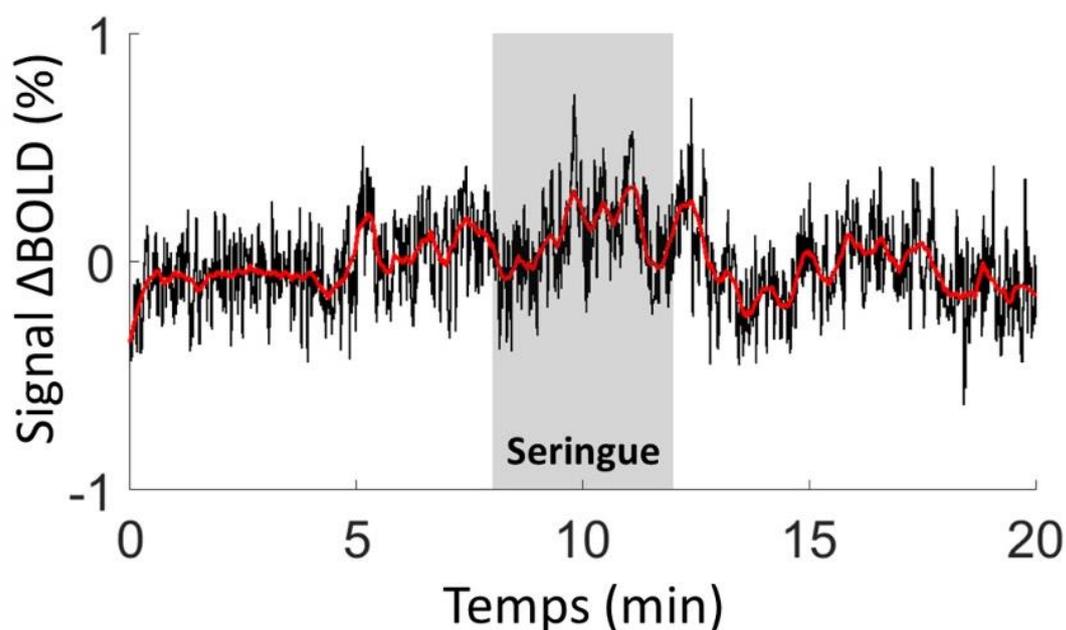


Figure 34 **Réponse BOLD mesurée dans le cerveau du rat pendant une expérience d'inhalation d'un mélange de N_2 ($0,4 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$) / $^{16}\text{O}_2$ ($\sim 0,1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$)** provenant de la colonne de distribution de gaz, alterné avec de l' $^{16}\text{O}_2$ provenant de la seringue ($0,1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$) pendant 4 minutes, représenté par la zone grisée (normalisation effectuée sur les points entre 2 et 4 minutes d'acquisition) avec, en rouge, le signal lissé par un filtre de Savitzky-Golay (polynôme d'ordre 50).

La réponse BOLD mesurée dans le cerveau du rat au cours de cette expérience était plutôt stable (Figure 34) entre les points acquis avant, pendant et après l'utilisation du pousse seringue. De façon cohérente avec ces observations, le rythme respiratoire a très légèrement varié (67-78 RPM). On peut ainsi supposer que l'approvisionnement en $^{16}\text{O}_2$ était stable entre les deux voies d'administration utilisées. Notons que l'écran tactile du pousse seringue permet un réglage précis et robuste du débit d' O_2 sortant de la seringue. Le réglage du débit des gaz provenant des colonnes de distribution, au contraire, se fait à l'aide de manomètres qui sont très imprécis lorsqu'il s'agit de les régler en dessous de $0,2 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$. Avec ce système, il est très difficile d'obtenir un niveau d' $^{16}\text{O}_2$ stable et identique entre les expériences. De plus, il n'est pas possible dans nos conditions de vérifier l'efficacité du mélangeur. Il est donc envisageable que les gaz se mélangent mal et que l'animal inspire des trains de gaz chargés en azote alterné avec des trains de gaz chargés en oxygène. Pour compléter cette expérience de caractérisation, des mesures de saturation en oxygène auraient été nécessaires mais

l'instrumentation disponible au laboratoire ne le permet pas. La stabilité de la réponse BOLD a donc été utilisée comme indicateur indirect de cette donnée physiologique.

Suite à cela, nous avons fait le choix d'utiliser 100 % d'O₂ pour nos mesures afin de 1) maximiser l'enrichissement en ¹⁷O lors des inhalations de gaz enrichi et 2) minimiser les variations de saturation en oxygène pendant l'expérience. Si nous souhaitons plus tard utiliser un mélange avec 80 % de N₂ et 20 % d'O₂, il faudra alors développer un système de distribution plus fiable composé d'électrovannes qui pourraient être déclenchées automatiquement par les séquences IRM utilisées.

2.1.3 Administration de 100% d'O₂

Le choix du débit d'O₂ administré à l'animal est un point important pour nos expériences d'inhalation d'¹⁷O₂. Nous souhaitons minimiser le débit afin de réduire le coût de nos mesures (le dioxygène gazeux enrichi en ¹⁷O₂ est très coûteux) tout en conservant un enrichissement en ¹⁷O important afin d'avoir une bonne sensibilité de mesure et conserver des conditions compatibles avec la physiologie de l'animal.

Pour nos expériences à 3-phases (acquisitions pré, pendant et post inhalation), nous utilisons le système représenté en Figure 35, qui permet d'administrer de l'¹⁶O₂ (provenant de la colonne de distribution de gaz) avant et après la période d'inhalation d'¹⁷O₂ qui elle se fait à partir du pousse seringue. Pendant l'inhalation d'¹⁷O₂, la vanne en sortie de la seringue est tournée de façon à ce que l'animal reçoive uniquement de l'¹⁷O₂ et la vanne en amont est tournée de façon à libérer l'¹⁶O₂ dans l'air ambiant pour éviter de créer une surpression dans la ligne de ¹⁶O₂ et une variation trop forte de ¹⁶O₂ en début de phase 3 retour à l'¹⁶O₂).

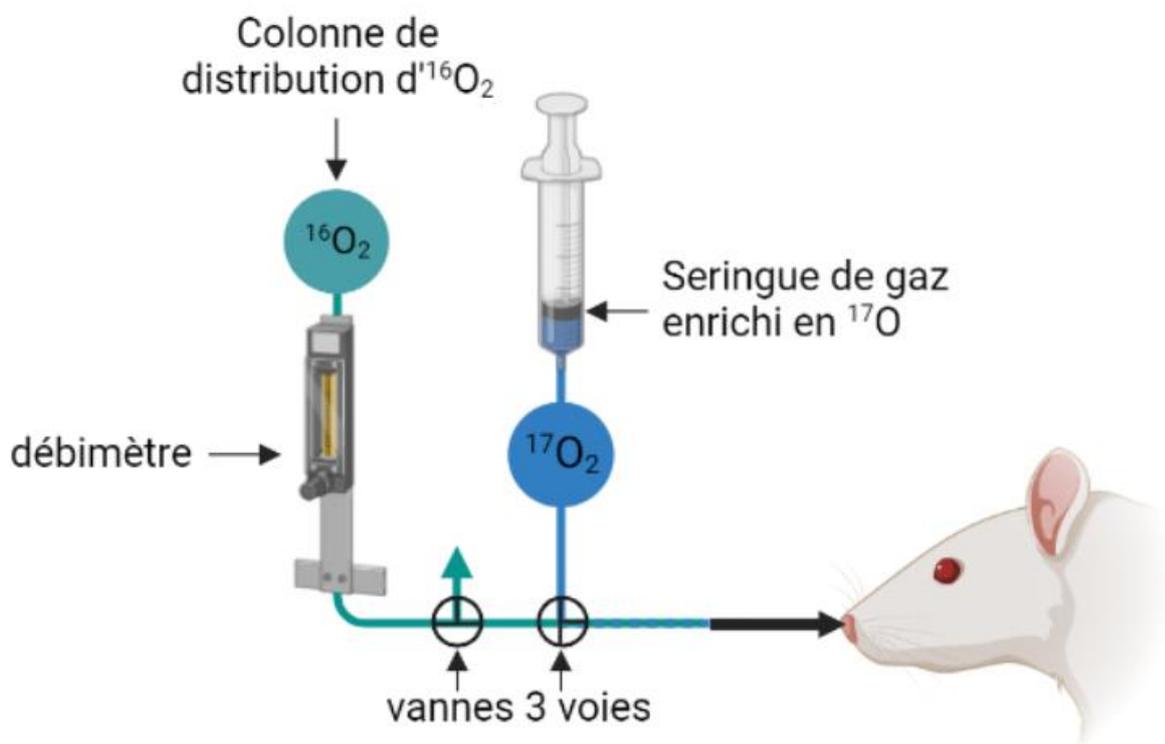


Figure 35 **Schéma du système de distribution $^{16}\text{O}_2$ alterné manuellement avec du $^{17}\text{O}_2$ lorsque le pousse seringue est activé.**

Pour établir le débit d' O_2 idéal pour nos mesures, nous avons commencé par régler le débitmètre de l' $^{16}\text{O}_2$ au minimum, c'est-à-dire entre $0,1$ et $0,2 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, puis le débit du pousse seringue a été réglé à $0,1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$. Afin d'étudier l'effet BOLD et l'effet sur la respiration de l'animal, nous avons mesuré la réponse BOLD et monitoré le rythme respiratoire de l'animal lors d'une expérience d'inhalation alternant 8 minutes d'administration d' $^{16}\text{O}_2$ provenant de la colonne de distribution de gaz avec 4 minutes d'administration d' $^{16}\text{O}_2$ provenant du pousse seringue (Figure 36).

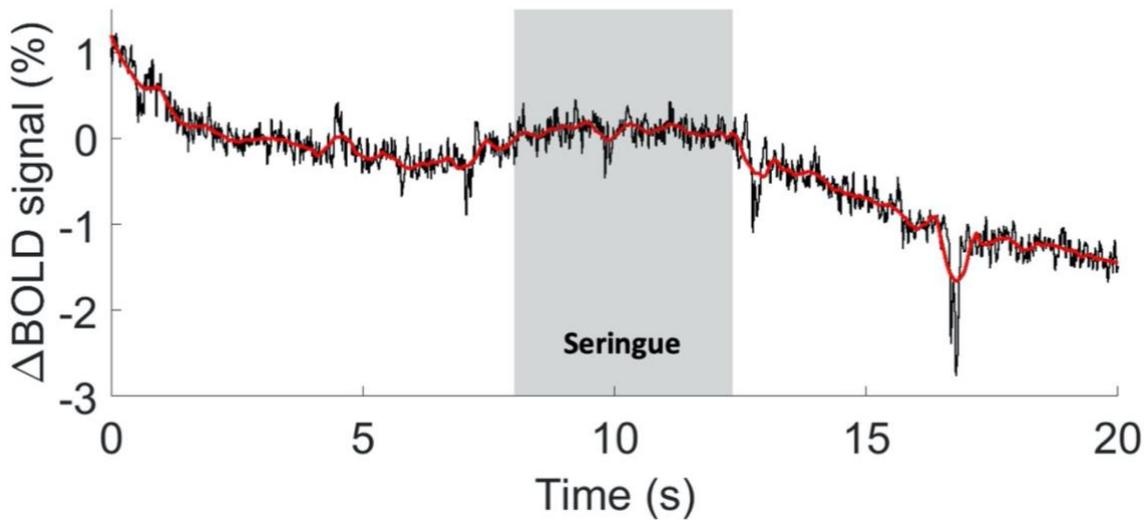


Figure 36 **Réponse BOLD mesurée dans le cerveau du rat pendant une expérience d'inhalation d' $^{16}\text{O}_2$ ($\sim 0,1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$)** provenant de la colonne de distribution de gaz, alternée avec de l' $^{16}\text{O}_2$ provenant de la seringue ($0,1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$) pendant 4 minutes, représenté par la zone grise avec en rouge le signal lissé par un filtre de Savitzky-Golay (polynôme d'ordre 50).

Les changements de mode d'administration de l' $^{16}\text{O}_2$ au cours de l'acquisition EPI n'ont pas provoqué de variations brutales du signal BOLD. La respiration de l'animal était en moyenne de $66,7 \pm 4,44$ et ne présentait pas de variations lors des transitions. Ces résultats démontrent que l'animal ne manque pas d' O_2 avec un débit d' O_2 de $\sim 0,1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ et que la transition entre les deux systèmes d'administration d' O_2 doit être faite rapidement pour limiter les perturbations du signal BOLD au repos dans le cerveau.

Nous avons par la suite répété cette expérience à la fréquence de l' ^{17}O , avec une séquence d'acquisition à zéro temps d'écho (ZTE) ($\text{TR} = 1,3 \text{ ms}$, $\text{NA} = 4$, impulsion RF de $5 \mu\text{s}$, 100 W , $\text{BW} = 18 \text{ kHz}$, $\text{FOV} = 48 \times 48 \times 48 \text{ cm}^3$, Matrice = $32 \times 32 \times 32$) afin de voir l'effet des variations de concentration en oxygène sur le signal de l' H_2^{17}O (Figure 37).

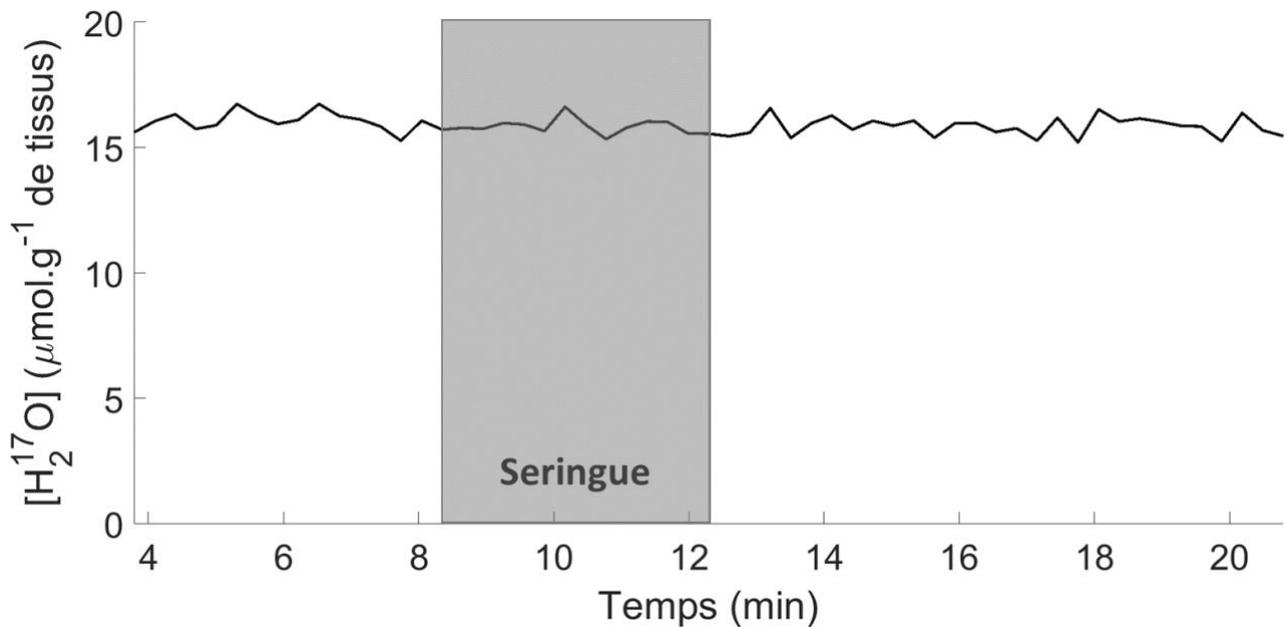


Figure 37 **Mesure du signal de l'H₂¹⁷O pendant l'inhalation de ¹⁶O₂ provenant de la colonne de distribution de gaz alternée par 4 minutes de ¹⁶O₂ administré par la seringue à l'aide du pousse seringue, représenté par la zone grise.**

D'après nos résultats (Figure 37), la transition entre l'administration de ¹⁶O₂ provenant de la colonne de distribution de gaz médicaux à l'administration à partir d'¹⁶O₂ du pousse-seringue ne perturbe pas le signal à la fréquence de l'¹⁷O.

Si l'on provoque un appauvrissement en oxygène inhalé en jouant avec le pourcentage d'¹⁶O₂ administré, le signal de l'H₂¹⁷O reste stable (Figure 38). Cette expérience démontre que les variations de susceptibilité magnétique localement induites par les variations de [désoxy-Hb] peuvent fortement affecter le T2* de l'H₂O sans affecter le signal de l'eau à la fréquence de l'¹⁷O. Cette information est importante pour l'interprétation des données présentées dans le Chapitre 5, pendant une activation corticale.

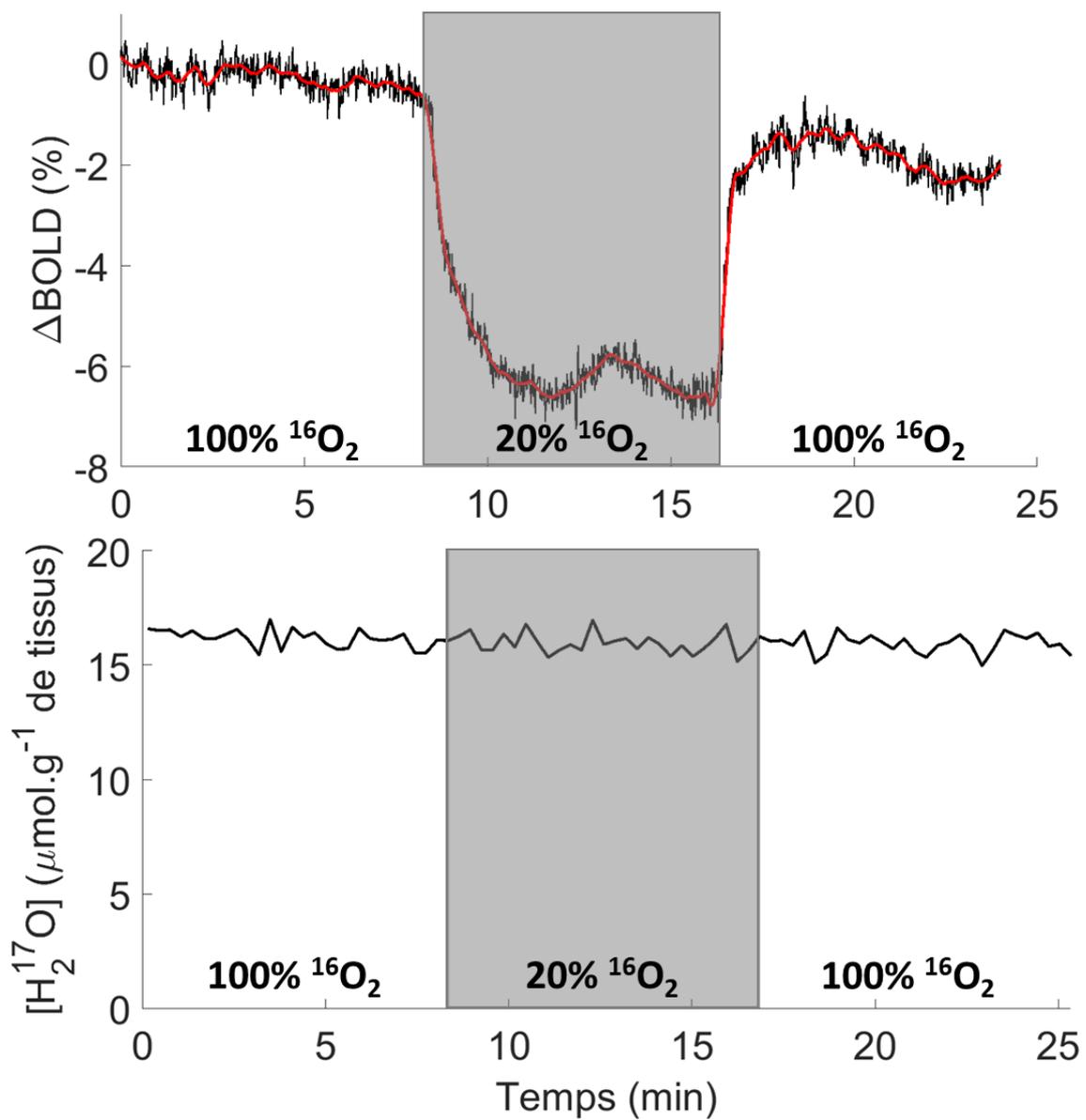


Figure 38 **Mesure du signal de la réponse BOLD de l' H_2^{17}O pendant l'inhalation de 100% de $^{16}\text{O}_2$ alternée avec 8 minutes d'inhalation d'air médical (20% d' $^{16}\text{O}_2$) avec un débit de 0,3 L/min (encadré gris).**

2.2 Antenne radiofréquence à la fréquence de l'¹⁷O

De manière générale, le choix de l'antenne RF, de son mode de fonctionnement et de sa géométrie conditionnent le SNR. Afin de guider la sélection d'une antenne RF pour nos applications à la fréquence de l'¹⁷O, cette partie introduit le fonctionnement des antennes RF. Les paramètres d'optimisation de sensibilité et le type d'antennes utilisées dans des études à la fréquence de l'¹⁷O seront ensuite établis pour finalement détailler le travail de caractérisation de l'antenne RF choisie.

2.1.4 Introduction générale au fonctionnement des antennes RF

Les antennes RF permettent l'excitation et/ou la réception du signal RMN et se déclinent en trois catégories, les antennes d'émission (Tx pour *transmit coil*, en anglais), les antennes de réception (Rx pour *receive coil*, en anglais), et les antennes d'émission-réception (Tx/RX pour *transmit/receive*, en anglais). L'antenne RF se place à la surface ou à proximité d'un échantillon positionné au centre de l'IRM. Les antennes d'émission envoient une impulsion RF qui génère localement un champ magnétique B_1 . Ainsi, les spins basculent de B_0 vers B_1 avec un angle α proportionnel à l'amplitude du B_1 appliqué : $\alpha = \gamma B_1 \tau$ (γ , le rapport gyromagnétique et τ , la durée de l'impulsion RF). Après l'application de l'impulsion RF, les spins retournent à leur état d'équilibre (M_0) avec un mouvement de précession oscillant à la fréquence de Larmor f_0 et induisant un courant dans l'antenne de réception, le signal d'induction libre (FID, pour *Free Induction Decay*, en anglais). Ce signal provenant de la partie de l'échantillon couverte par son champ de vue est ensuite détecté. En ce qui concerne les antennes Tx/Rx, les fonctions d'émission et de réception énoncées ci-dessus sont assurées, de façon alternée, par un seul et unique dispositif. Ce type d'antennes est d'ailleurs beaucoup utilisé pour des applications à haut champ et pour des mesures à la fréquence de noyaux X où les antennes Tx spécifiques sont rares.

Les antennes RF se déclinent aussi sous deux formes différentes, les antennes volumiques, qui entourent l'échantillon et permettent de l'imager dans sa globalité, et les antennes surfaciques, plutôt adaptées à l'étude de structures peu profondes, qui sont placées au contact de l'échantillon. Ces dernières peuvent être de géométrie différente, la forme circulaire étant la plus commune. Elles permettent d'avoir une bonne sensibilité de détection en surface de l'échantillon mais le profil B_1 généré par ce type d'antennes souffre

d'inhomogénéités à l'origine de dégradations locales de l'efficacité de détection. Il est, toutefois, possible de remédier à ces inhomogénéités, d'autant plus que, pour des applications chez le petit animal, les antennes généralement utilisées ont un diamètre réduit limitant considérablement cet effet. Dans la littérature, des sondes surfaciques ont systématiquement été choisies pour mesurer le signal de l' H_2^{17}O en préclinique (Tableau 5). Ce choix se justifie par le gain en sensibilité de détection apporté par ce type d'antennes par rapport aux antennes volumiques (Gruber et al. 2018; Hernandez et Kim 2020; Deborne 2022).

Date	Auteurs	Antenne RF		Model
		Configuration surfacique ?	Précisions apportées	
1991	Pekar J.	✓	simple boucle à double accord (^{17}O et ^1H)	Chats
2002	Zhu X-H.	✓	Boucle 4 tours, 10 mm x 20 mm	Rats
2003	Zhang N.	✓	10 mm x 20 mm	
2007	Zhu X-H.	✓		
2009	Zhu X-H.	✓	NA	Chats
2010	Atkinson I. C.	✓	NA	Homme
2011	Hoffmann S. H.	✓	Birdcage en quadrature, Tx/Rx	Homme
2013	Cui W.	✓	$\varnothing = 14$ mm	Souris
2013	Zhu X-H.	✓	$\varnothing = 12$ mm	Souris
2013	Zhu X-H.	✓	10 mm x 20 mm	Rat
2014	Hoffmann S. H.		Birdcage en quadrature, Tx/Rx	Homme
2014	Bororwiak R.	✓	Simple boucle, $\varnothing = 20$ mm, Tx/Rx	Homme
2016	Lou S.	✓	Simple boucle	Souris
2016	Neveu M-A.	✓	Double accord (^{17}O et ^1H), $\varnothing = 20$ mm (Bruker)	Souris
2017	Kurzgunov D.		Birdcage, Tx/Rx	Homme
2018	Niesporek S. C.		Birdcage, double accord (^{17}O et ^1H)	Homme
2020	Wiesner H. M.	✓	Quadrature, 15 mm x 12 mm	Rat
2020	Gu Y.	✓	$\varnothing = 20$ mm	Souris
2021	Baligand C.	✓	$\varnothing = 10$ mm, Tx/Rx	Souris

Tableau 5 Liste non exhaustive d'antennes RF utilisées dans des publications de mesures RMN à la fréquence de l' ^{17}O pour des applications in vivo.

2.1.5 Géométrie et facteur de qualité

Le rapport signal sur bruit se définit par le rapport entre le signal moyen et la dispersion du

signal : $SNR = \frac{\overline{Signal}}{\sigma_{Signal}}$ (Haacke et al. 2014).

Le SNR en RMN dépend du champ magnétique B_0 , des temps de relaxation T_1 et T_2^* et du facteur de qualité de l'antenne RF utilisée Q : $SNR \propto B_0^\beta \sqrt{\frac{QT_2^*}{T_1}}$ avec β , une constante de l'ordre de 2 pour les spins de ^{17}O (Zhu et al. 2001; Thelwall et al. 2003; Lu et al. 2013). Comme expliqué dans le Chapitre 2, travailler à haut champ est un moyen d'améliorer la sensibilité de détection (Zhu et al. 2001; Thelwall et al. 2003). Le temps de relaxation T_1 très court de ^{17}O est favorable au SNR. Il reste possible de maximiser la valeur du facteur de qualité Q de l'antenne RF utilisée, défini selon : $Q = \omega \frac{L}{R} = \frac{1}{R} \sqrt{\frac{L}{C}}$ avec ω , la fréquence angulaire, L , l'inductance, R , la résistance et C , la capacité du circuit résonnant qu'est l'antenne. Lorsque cette dernière est parcourue par un courant électrique, la capacité du circuit stocke l'énergie électrique tandis que l'inductance stocke l'énergie magnétique et ensemble, ces deux éléments permettent d'obtenir un champ magnétique. La résistance, quant à elle, stocke l'énergie dissipée. L'ajustement de l'inductance et la capacité contribue à limiter la dispersion du signal σ_{Signal} et permet d'améliorer le SNR. En effet, le réglage de ces deux éléments permet de :

- 1)** faire correspondre la fréquence de résonance électrique du circuit à la fréquence de Larmor f_0 du noyau d'intérêt ($f_0 = \frac{1}{2\pi\sqrt{LC}}$) pour rendre l'antenne sensible aux variations du champ magnétique provenant des spins observés.
- 2)** maximiser le transfert de puissance entre l'amplificateur et l'antenne tout en réduisant la puissance réfléchi afin de garantir un transfert de puissance efficace aux spins se trouvant dans le champ de vue de l'antenne de détection RF.

Pour améliorer le facteur de qualité Q et, par conséquent, le SNR, il est préférable d'utiliser une antenne de surface afin d'ajuster la taille de l'antenne à l'échantillon. En effet, cette stratégie permet d'augmenter l'inductance (Gruber et al. 2018) en optimisant le couplage magnétique entre l'antenne et l'échantillon imagé. Par exemple, il est possible de faire plusieurs boucles concentriques (Frass-Kriegel et al. 2016) tout en minimisant la longueur de fil afin d'optimiser le SNR localement (Gudino et Griswold 2013). Il est aussi possible d'opter pour une géométrie en quadrature où deux boucles parallèles et non concentriques sont

positionnées de façon (Zhang et al. 2023) à couvrir une plus grande surface de l'échantillon. Cependant, plus le champ de vue couvert par l'antenne est important et plus **1)** sa sensibilité de détection diminue en profondeur, **2)** le B_1 qu'elle génère perd en homogénéité. C'est pourquoi les antennes surfaciques sont utilisées pour l'imagerie d'éléments peu profonds et de faibles dimensions latérales (Li 2016).

Des stratégies de réduction du bruit, propre à l'antenne, peuvent aussi être adoptées pour améliorer le SNR en réduisant, par exemple, la température de l'antenne par cryogénie (Darrasse et Ginefri 2003) mais cette technologie est difficilement accessible et n'est pas applicable au-delà d'un certain volume d'échantillon. Néanmoins, nous avons eu la chance d'accéder à un tel système. Ce travail ne constitue pas l'objet principal de cette thèse mais il présente des perspectives intéressantes. Les données préliminaires seront présentées dans le Chapitre 6.

2.1.6 Antenne à la fréquence de l' ^{17}O

L'objectif de ce projet consiste notamment à mesurer CMRO_2 localement dans une zone du cortex répondant à une activation fonctionnelle. Dans ces conditions, le volume de couverture de l'antenne peut être réduit pour optimiser la profondeur de détection et le SNR localement. Nous avons donc développé une antenne RF surfacique composée d'une simple boucle de 10 mm (Figure 39) de diamètre avec une fréquence de résonance à 67,8 MHz qui correspond à la fréquence de Larmor de l' ^{17}O à 11,7 T.

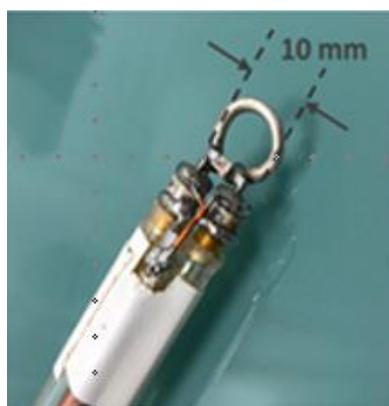


Figure 39 **Antenne RF surfacique de 10 mm** de diamètre faite au laboratoire.

La courbe de calibration obtenue atteint un plateau à ~ 300 W qui correspond à la puissance nécessaire pour obtenir un angle de bascule de 90° dans l'échantillon (pour des antennes

de surface, on approxime le 90° à l'établissement du plateau en raison de l'inhomogénéité du B_1 . Il faut alors une tension de 866 V ($U = \sqrt{PR, AN} : U = \sqrt{300 \cdot 50} = 866 V$) pour obtenir $\theta = 90^\circ$ (Figure 40).

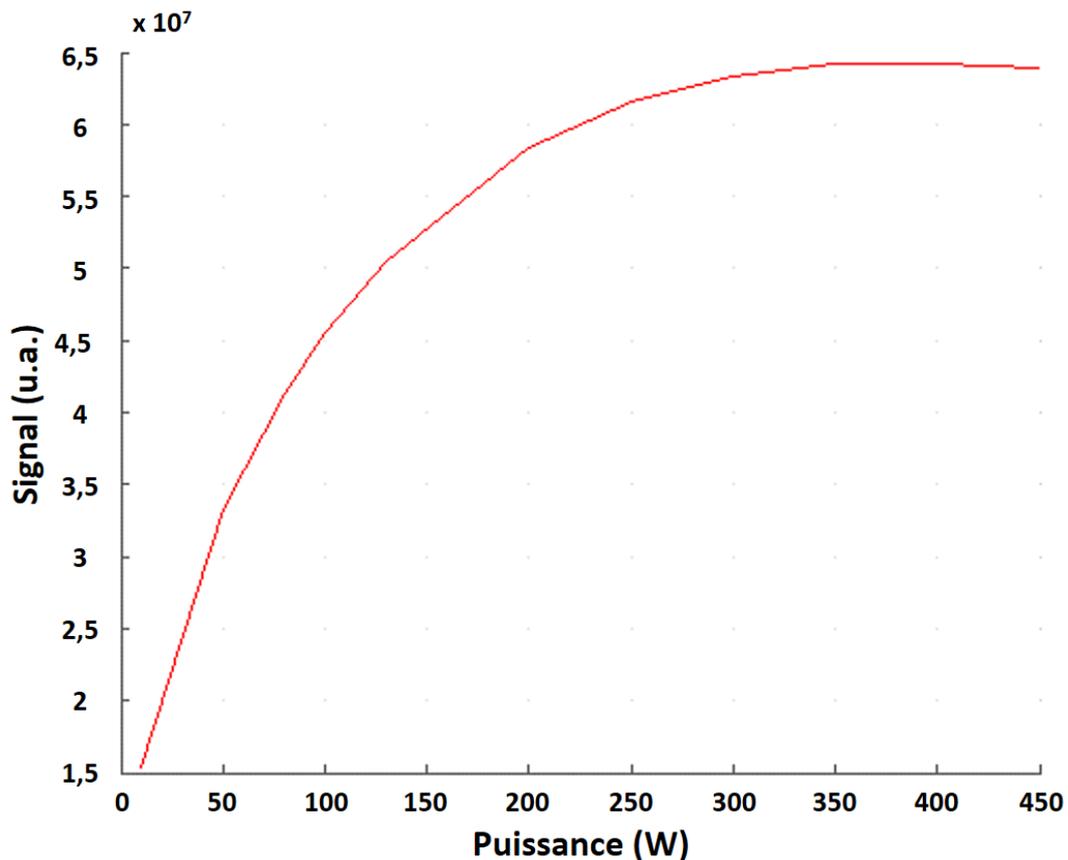


Figure 40 **Courbe de calibration de puissance** de l'antenne RF simple boucle de 10 mm obtenue sur fantôme d' H_2O libre.

La calibration de l'antenne 10 mm permet de l'utiliser dans des conditions optimales. Nous pouvons donc évaluer le volume de détection couvert par cette antenne. Pour cela, l'antenne RF a été placée à la surface du crâne d'un rat dans une antenne volumique de 72 mm de diamètre (Bruker, Ettlingen, Allemagne) positionnée au centre de notre scanner 11,7 T. Une séquence ZTE a ensuite été utilisée pour obtenir une image à la fréquence de l' ^{17}O (TR = 1,3 ms, NA = 50, FOV = $48 \times 48 \times 48 \text{ mm}^3$, matrice = $32 \times 32 \times 32$, P = 100 W, soit un angle de bascule de $\sim 50^\circ$). L'acquisition d'une image MSME (en anglais, Multi-Slice Multi-Echo) (TR/TE = 1500/4,4 ms, FOV = $32 \times 32 \text{ mm}^2$, taille de matrice = 128×128 , épaisseur de coupe

= 0.75 mm, NA = 3) permet d'avoir une image anatomique de référence.

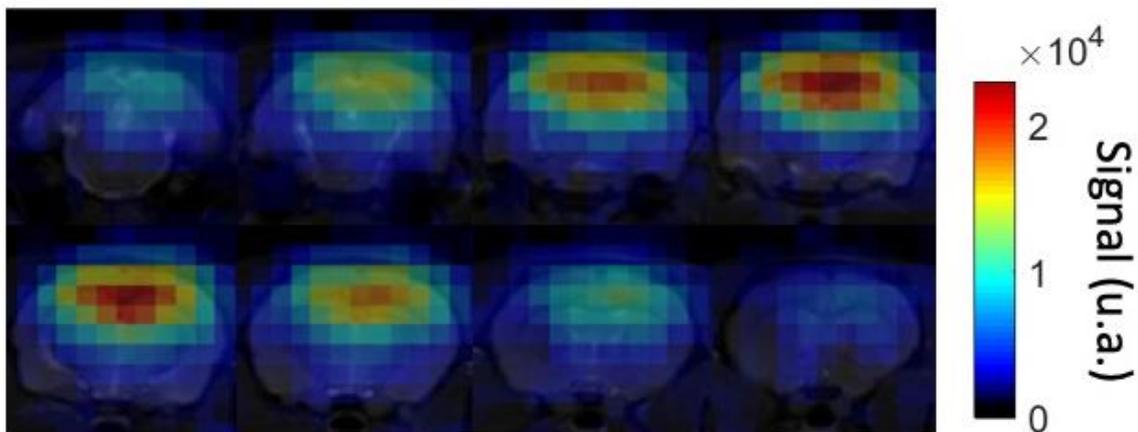


Figure 41 **Image du signal de l' $H_2^{17}O$ obtenu avec l'antenne de 10 mm superposée à une image anatomique** du cerveau d'un rat permettant d'apprécier le volume de cerveau détecté par cette l'antenne.

Sur la Figure 41, nous constatons que le volume sensible (défini ici par $SNR_t \geq 20$) de l'antenne RF se limite à une région de dimension $6 \times 3 \times 6 \text{ mm}^3$. Le S1HL/FL est couvert par cette antenne mais des zones plus en profondeur comme celle du S1BF ne le sont pas. Cette antenne est donc éligible pour étudier les variations de $CMRO_2$ en réponse à une activation des cortex moteurs et sensorimoteur associés aux pattes avant et arrière mais pas au cortex associé à l'activation des vibrisses, par exemple.

Afin d'élargir les possibilités de mesure de $CMRO_2$ à d'autres types d'activation cérébrale, une seconde antenne RF a été développée avec un volume sensible plus important. Pour élargir la couverture de cette antenne par rapport à l'antenne RF de 10 mm, une géométrie en quadrature a été adoptée. La puissance reçue par ce type d'antenne est divisée en deux pour alimenter les deux boucles avec un déphasage de 90° puis le signal est recombinaison pour la réception. Les deux boucles génèrent ainsi chacune un champ B_1 . Cette stratégie permet d'étendre le B_1 de façon plus homogène qu'une simple boucle de plus grande surface et permet d'adapter la forme du champ à l'échantillon plus facilement.

De la même manière que pour l'antenne de 10 mm, l'antenne a été calibrée avec un fantôme d'eau libre. Selon la courbe obtenue, un angle de bascule de 90° est obtenu avec une puissance de 55 W. Le volume de détection couvert par cette antenne a ensuite été évalué.

Pour cela, l'antenne RF a été placée à la surface du crâne d'un rat dans la même configuration que pour l'antenne de 10 mm. Une séquence ZTE à la fréquence de l' ^{17}O (TR = 1,3 ms, angle de Ernst 39,5 (P = 11 W), NA = 28, FOV = 48 x 48 x 48 mm³, taille de matrice = 32 x 32 x 32) et une image anatomique de référence (MSME, TR/TE = 1500/4,4 ms, FOV = 32 x 32 mm², taille de matrice = 128 x 128, épaisseur de coupe = 0.75 mm, nombre de coupes = 12, NA = 3) ont ensuite été acquises.

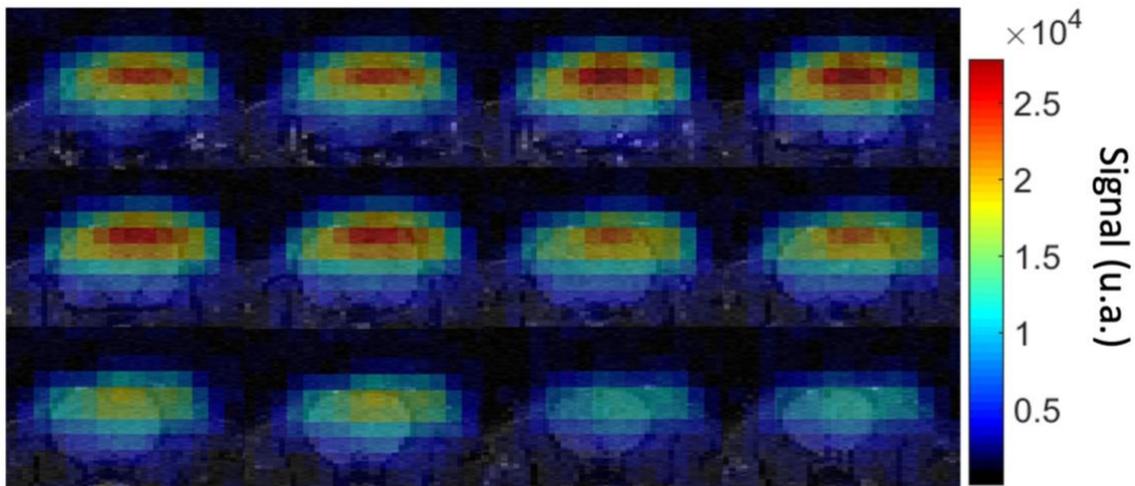


Figure 42 Image du signal de l' H_2^{17}O obtenu avec l'antenne en quadrature superposée à une image anatomique du cerveau d'un rat permettant d'apprécier le volume de cerveau détecté par cette l'antenne.

L'antenne en quadrature a, comme attendu, un volume de détection plus important que l'antenne de 10 mm et couvre mieux le cerveau du rat latéralement et en antéro-postérieur (Figure 42).

La comparaison des deux antennes a ensuite été complétée par des acquisitions d'images ZTE répétées (NR = 50, TR = 1,3 ms, NA = 28, FOV = 48 x 48 x 48 mm³, taille de matrice = 32 x 32 x 32) afin d'étudier le SNR temporel (SNR_t) des images obtenues dans le S1FL/HL. Pour calculer le SNR_t, il suffit de faire le rapport du signal moyen et de l'écart-type du signal :

$$SNR_t = \frac{\overline{\text{signal}}}{\sigma(\text{signal})}$$

Selon la littérature, CMRO₂ augmenterait de 15% dans le S1FL lors d'une activation par électrostimulation des pattes du rat (Sonnay et al. 2016). Pour détecter une telle variation, nous considérons que nous avons besoin d'une sensibilité de détection d'au moins deux fois

l'écart type du signal. Pour évaluer la capacité de détection d'une variation de 15 % de nos deux antennes, nous avons tracé la sensibilité de détection ($2 \times$ écart-type) en fonction du SNRt pour un T_D de 4 minutes (Figure 43). On constate que le seuil de détection est atteint à partir d'un SNRt d'environ 20. Ce seuil n'est pas atteint par nos antennes RF mais l'antenne de 10 mm couvre le S1HL/FL avec un meilleur SNRt (13 ± 3) que l'antenne en quadrature, par conséquent, nous avons choisi l'antenne de 10 mm pour étudier cette région. Pour étudier des régions plus en profondeur comme le S1BF ou le striatum, la quadrature serait plus adaptée grâce à sa couverture plus importante. Or, si l'objectif est d'étudier des variations faibles de $CMRO_2$, cette antenne n'aura pas la capacité de les détecter dans ces régions étant donné que le SNRt diminue à mesure que l'on s'éloigne du centre de la boucle.

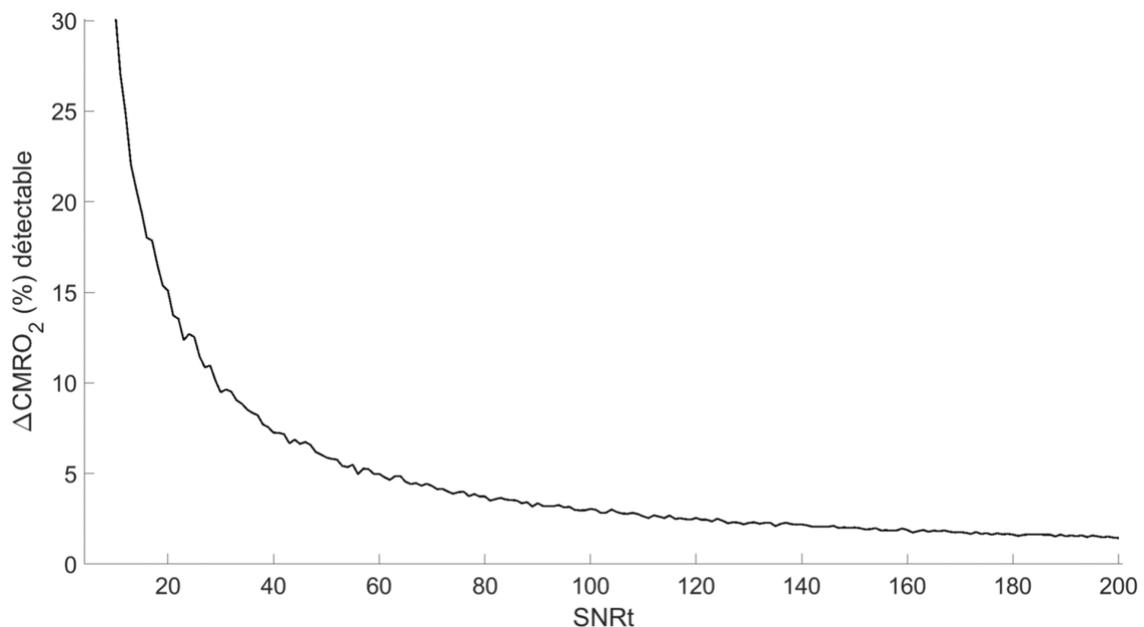


Figure 43 Représentation du seuil de détection des variations de $CMRO_2$ (défini par 2σ) en fonction du SNRt, obtenue à partir de simulations Monte Carlo ($T_C = 9$ s, $T_D = 4$ min, $CMRO_2$ nominal = $2,5 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$)

Pour permettre d'étudier d'autres régions avec une sensibilité de détection plus importante, nous avons entrepris le développement d'autres antennes avec des géométries différentes (collaboration avec le Dr Ginefri, BioMaps). Une antenne RF de 5 mm de diamètre avec des tours concentriques a notamment été développée et des acquisitions préliminaires ont été effectuées (ZTE ^{17}O : TR = 1,3 ms, NA = 32, FOV = $48 \times 48 \times 48 \text{ mm}^3$, matrice = $32 \times 32 \times 32$) (Figure 44).

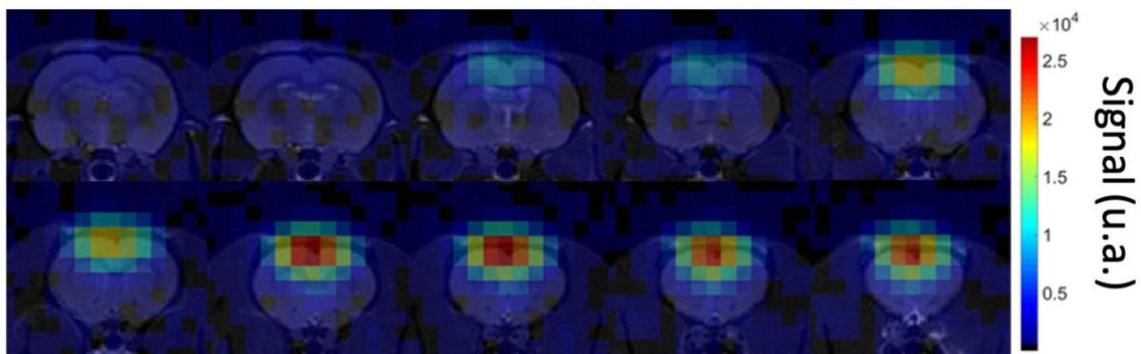


Figure 44. **Image du signal de l' $H_2^{17}O$ obtenu avec l'antenne de 5 mm de diamètre à tours concentriques développée à BioMaps, superposée à une image anatomique du cerveau d'un rat permettant d'apprécier le volume de cerveau détecté par cette l'antenne.**

Cette antenne pourrait à terme être placée sous l'épaisseur de muscle autour du cerveau du rat qui limite l'accès au signal du cerveau sur les bords du crâne. Cette technique permettrait, par exemple, de mesurer avec une meilleure sensibilité, les variations de $CMRO_2$ dans le S1BF en réponse à une stimulation des vibrisses.

3 CHOIX DE LA SEQUENCE D'ACQUISITION

Les courts temps de relaxation de l' ^{17}O impliquent l'utilisation de séquences d'acquisition avec des TE ultra-courts. Chez les rongeurs, la spectroscopie a le plus souvent été utilisée dans la littérature (Tableau 6), ce qui témoigne probablement de la difficulté de mise en œuvre de l'imagerie de l' ^{17}O . Néanmoins, dans l'optique de cartographier $CMRO_2$ dans le cerveau du rat, nous avons choisi de faire de l'imagerie de l' ^{17}O à l'aide d'une séquence d'imagerie ZTE (Baligand et al. 2021) qui offre théoriquement l'avantage unique d'acquérir le signal RMN immédiatement après excitation (il faut considérer un temps mort de 4,6 μs sur le scanner Bruker 11,7 T). Cette séquence d'acquisition a été comparée à une séquence d'imagerie spectroscopique CSI (*Chemical Shift Imaging* en anglais) afin de choisir la

séquence la plus adaptée pour nos mesures.

Date	Auteurs	Séquence utilisée	Informations temporelles	Impulsion RF	Informations spatiales	Model
1991	Pekar J.	CSI	Temps d'acquisition = 8 ms	Durée = 1 ms;	FOV = 8 x 8 cm ² Taille de voxel = 0,8 ml	Chats
2002	Zhu X-H.	3D FSW	Temps d'acquisition = 11 s TR/TE = 12/0,4 ms	Durée = 50 µs Bande passante = 30 kHz	FOV = 2,8 x 2,8 x 2,4 mm ³ Matrice = 17 x 17 x 9 Taille de voxel = 100 µl	Rats
2003	Zhu X-H.		Temps d'acquisition = 11 s TR/TE = 10/0,4 ms		FOV = 18 x 18 x 15 mm ³ Matrice = 17 x 17 x 9 Taille de voxel = 27 µl	
2007	Zhu X-H.		Temps d'acquisition = 11,5 s TR/TE = 12/0,4 ms;	Durée = 50 µs Bande passante = 15 kHz	FOV = 30 x 30 x 25 mm ³ Matrice = 17 x 17 x 9 Taille de voxel = 105 µl	
2009	Zhu X-H.		Temps d'acquisition = 12,5 s TR/TE = 12/0,4 ms	Durée = 50 µs Bande passante = 30 kHz	FOV = 2,8 x 2,8 x 2,4 mm ³ Matrice = 17 x 17 x 9 Taille de voxel = 120 µl	
2010	Atkinson I. C.	UTE 3D (FlexTPI)	Temps d'acquisition = 42 s TR/TE = 42,5/1,51 ms	Durée = 3 ms Bande passante = 30 kHz	Résolution = 8 mm	Homme
2011	Hoffmann S. H.	UTE 3D (DAPR)	TR/TE = 12/0,6 ms	Angle de bascule = 32°	Résolution = 0,6 x 0,6 x 0,6 mm ³	Homme
2013	Cui W.	3D FSW	Temps d'acquisition = 15,4 s TR/TE = 10/0,35 ms	Bande passante = 20 kHz	FOV = 20 x 20 x 12 mm ³ Taille de voxel = 26 µl	Souris
2013a	Zhu X-H.	3D FSW	TR/TE = 15/0,41 ms	Angle de bascule = 90° Bande passante = 20 kHz	FOV = 30 x 30 x 30 mm ³ Taille de voxel = 100 µl	Souris
2013b	Zhu X-H.		Temps d'acquisition = 11 s TR/TE = 12/0,4 ms	Durée = 50 µs Angle de bascule = 90° Bande passante = 30 kHz	FOV = 2 x 2 x 2 mm ³ Matrice = 17 x 17 x 9 Taille de voxel = 40 µl	Rat
2014	Hoffmann S. H.	UTE 3D (DAPR)	Temps d'acquisition = 50 s TR/TE = 8,3/0,57 ms	Angle de bascule = 60°	FOV = 8,5 x 8,5 x 8,5 mm ³ Matrice = 17 x 17 x 9 Taille de voxel = 120 µl	Homme
2014	Borrorwiak R.	UTE 3D	Résolution = 50 s TR/TE = 6/0,52 ms	Angle de bascule = 80° Bande passante = 501 Hz/pixel	FOV = 360 mm ² Matrice = 64 x 64 x 64 Résolution nominale = 5,6 mm ³	Homme
2016	Lou S.	MRS 3D	Temps d'acquisition = 15,4 s TR/TE = 10/0,35 ms	Bande passante = 20 kHz	Résolution nominale = 9,3 mm ³	Souris
2016	Neveu M-A.	MRS 2D	Temps d'acquisition = 10 s TR = 16,5 ms	Bande passante = 5 kHz Angle de bascule = 20°		Souris
2017a	Kurzgunov D.	UTE 3D	Résolution = 6,7/5,7 s TR = 8/7,58 ms; TE = 0,52 ms (expérience 1/ expérience 2)	Durée d'impulsion RF = 0,8 ms Bande passante = 150/175 Hz/pixel (expérience 1/ expérience 2) angle de bascule = 75°	Résolution nominale = 10 mm/8 mm (expérience 1/ expérience 2)	Homme
2017b	Kurzgunov D.					
2018	Niesporek S. C.	3D DAPR	Résolution = 5,5 s TR/TE = 20/0,56 ms	Durée d'impulsion RF = 1 ms angle de bascule = 60°	résolution nominale = 7,5 mm ³	Homme
2020	Wiesner H. M.	3D CSI	TR = 4,92 ms	Durée d'impulsion RF = 200 µs angle de bascule = 68°	FOV = 27,5 x 12,5 x 18 mm ³ Matrice = 15 x 7 x 7 Taille de voxel = 43,1 µl	Rat
2020	Gu Y.	3D radial sampling	Temps d'acquisition = 2 ms TR/TE = 10/0,75 ms	Bande passante = 80,12 kHz	FOV = 24 x 24 x 24 mm ³ Matrice = 31 x 31 x 31 Taille de voxel = 0,46 µl	Souris
2021	Baligand C.	ZTE	TR/TE = 1,8/0 ms	Durée d'impulsion RF = 5 µs Bande passante = 18 kHz	FOV = 48 x 48 x 48 mm ³ Matrice = 32 x 32 x 32 Volume effectif = 2,84 mm ³	Souris
		CSI	TR/TE = 1,8/0,3 ms	Puissance = 100 W	FOV = 24 x 24 x 24 mm ³ Matrice = 16 x 16 x 16 Volume effectif = 3,1 mm ³	

Tableau 6 Liste non exhaustive des séquences et paramètres d'acquisition utilisés dans des publications de mesures RMN à la fréquence de l'¹⁷O pour des applications in vivo.

3.1 Principe de la séquence ZTE

L'imagerie ZTE utilise un codage radial de l'espace de Fourier. Les acquisitions radiales recueillent les données sous formes de projections contrairement aux acquisitions cartésiennes qui recueillent les données sous forme de lignes parallèles. En imagerie radiale, la méthode de reconstruction la plus fréquemment utilisée (et disponible dans Paravision) est celle de remaillage (en anglais, gridding) (O'Sullivan 1985) qui consiste à interpoler les points échantillonnés sur une grille cartésienne et permet l'application d'une transformée de Fourier. L'un des avantages de l'imagerie radiale, contrairement à l'imagerie cartésienne, est qu'elle est peu sensible aux artefacts de mouvement grâce à la distribution du bruit de manière diffuse sur l'ensemble de l'image et non selon une seule direction d'encodage. De plus, comme l'acquisition radiale sur-échantillonne le centre de l'espace k il est possible de faire du sous-échantillonnage pour accélérer l'acquisition. Cependant, pour étendre le champ de vue il est nécessaire d'augmenter le nombre de projections et par conséquent le temps d'acquisition (Trotier 2015).

Lors d'une acquisition ZTE un gradient de projection est appliqué, presque en continu, et est progressivement augmenté pour réorienter sa direction, ce qui en fait une technique pratiquement silencieuse et est à l'origine du caractère tridimensionnel de cette séquence. A chaque réorientation du gradient de projection, une impulsion RF est appliquée et le signal est acquis immédiatement après un court temps mort incompressible lié à l'électronique du système. Ainsi, le TE est proche de 0 secondes et on peut alors parler d'imagerie à temps d'écho zéro. Le temps mort présent avant la lecture du signal résulte en des points manquants au centre de l'espace k mais il est possible de résoudre ce problème en sur-échantillonnant l'acquisition et en utilisant des techniques de reconstruction algébrique de l'image (Weiger et Pruessmann 2012).

Les propriétés temporelles de cette séquence permettent de faire des acquisitions avec des TR courts (de l'ordre de quelques dixièmes de millisecondes) et donc de faire de l'imagerie rapide (Larson et al. 2016). Ainsi il est possible, par exemple, d'accumuler les acquisitions de signal pour améliorer le SNR, tout en conservant une résolution temporelle intéressante. De plus, le TE quasiment nul des acquisitions ZTE en fait une technique particulièrement adaptée aux temps de relaxation T2 très courts, comme c'est le cas en IRM du 17O.

3.2 Etude du gain apporté par une séquence ZTE en comparaison à une séquence CSI

Afin d'étudier le gain en SNR apporté par une séquence ZTE par rapport à une séquence CSI à la fréquence de l' ^{17}O , des acquisitions dynamiques CSI et ZTE dans le cerveau de souris ont été effectuées. Pour cela, l'antenne de 10 mm à la fréquence de l' ^{17}O a été utilisée avec l'antenne volumique de 72 mm de diamètre (Bruker, Ettlingen, Allemagne) pour les acquisitions anatomiques en ^1H . De façon à comparer les signaux obtenus en termes de SNR et de SNRt, le TE des acquisitions CSI a été réduit au minimum, 0,3 ms, les caractéristiques d'impulsion RF ont été maintenues identiques (durée d'impulsion de 5 μs , puissance de 100 W, épaisseur spectrale de 18 KHz), le TR a été fixé à 1,8 ms et la résolution spatiale nominale des voxels a été fixée à 1,5 x 1,5 x 1,5 mm³. Pour les acquisitions CSI (FOV = 24 x 24 x 24 mm³, matrice = 16 x 16 x 16), 128 points ont été acquis avec un temps d'échantillonnage de 8,4 μs et un NA de 3. Les acquisitions ZTE (FOV = 48 x 48 x 48 mm³, matrice = 32 x 32 x 32) ont été effectuées avec 3310 trajectoires radiales, chacune obtenues en 0,88 s. Pour les deux séquences, 40 blocs successifs d'acquisition de 24,8 s ont été acquis avec NA = 4.

Les données CSI ont ensuite été exportées sur Matlab (Mathworks Inc. Matlab R2015b) et filtrées avec une fenêtre de Hamming. Les FID ont ensuite été complétées (technique de zero filling) pour atteindre 256 points. Après transformation de Fourier et un re-phasage spectral, l'intégration par voxels de la partie réelle sur 3720 Hz (9 points) a été réalisée pour générer des images CSI. La reconstruction des données ZTE a été réalisée avec Paravision 6.0.1. (Bruker, Ettlingen, Allemagne) et comprend la conversion de l'espace k radial sur un espace k cartésien à l'aide d'un noyau de Kaiser-Bessel, la compensation de la densité et la correction d'apodisation. Les données cartésiennes complexes ont ensuite été exportées sur Matlab et filtrées avec une fenêtre de Hamming.

Les fonctions de réponses spatiales (en anglais, *Spatial Response Function*, SRF) ont été calculées afin de pouvoir comparer les acquisitions ZTE et CSI en termes de SNR et de SNRt. A partir de la SRF, le volume effectif (V_{eff}) des voxels individuels peut être estimé tout en prenant en compte le filtrage de Hamming pour les acquisitions en CSI ($V_{\text{eff}} = 2,84 \text{ mm}^3$). Pour les acquisitions ZTE, le filtrage de Hamming et un temps de relaxation $T2^*$ de 1,3 ms (comme estimé à partir de la largeur à mi-hauteur d'un spectre CSI dans le tissu cérébral) ont été pris en compte pour le calcul de la SRF et la détermination du volume effectif (V_{eff}

= 3,1 mm³). Le SNR des images ZTE et CSI a ensuite été calculé pour un voxel localisé à proximité de l'antenne RF surfacique avec une ROI en dehors de l'objet (6 x 6 voxels²) pour le bruit :

$$SNR = \frac{Signal}{\sigma_{Bruit} \cdot V_{eff} \cdot \sqrt{NR \cdot \text{Durée du bloque d'acquisition}}}$$

Le SNRt a, par la suite, été calculé à partir de la formule suivante :

$$SNRt = \frac{\sum_{n=1}^{NR} \frac{Signal_n}{NR}}{\sigma(Signal_n, n:1 \rightarrow NR) \cdot V_{eff} \cdot \sqrt{\text{Durée d'acquisition}}}$$

D'après les calculs, le SNR était deux fois plus important pour les données acquises avec la séquence ZTE que pour les données acquises avec la séquence CSI (SNR_{ZTE} = 1,7 min^{-1/2} · μL⁻¹ et SNR_{CSI} = 0,9 min^{-1/2} · μL⁻¹, Figure 45 b,c) et le SNRt est plus important pour la ZTE que pour la CSI (SNR_{ZTE} = 0,9 min^{-1/2} · μL⁻¹ et SNR_{CSI} = 0,5 min^{-1/2} · μL⁻¹, Figure 45 d). Ces résultats confirment l'intérêt d'utiliser une séquence ZTE plutôt qu'une séquence CSI classique pour nos expériences in vivo.

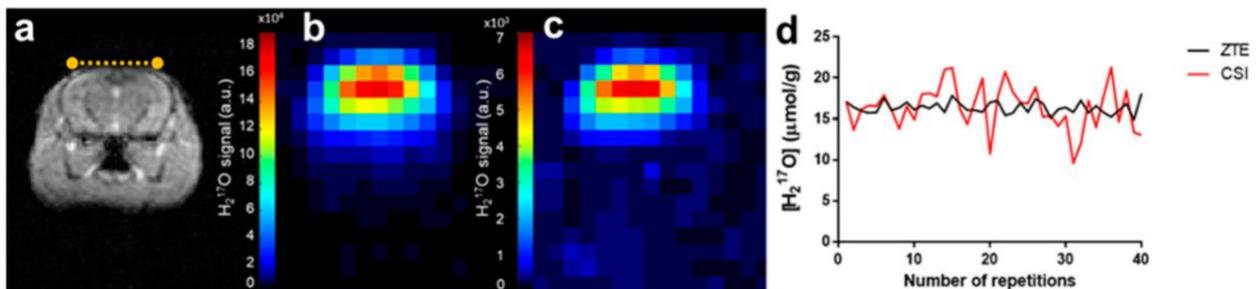


Figure 45 **Comparaison in vivo des séquences ZTE et CSI.** (a) Image coronale pondérée en T2 d'un cerveau de souris saine. La ligne pointillée jaune indique la position de l'antenne de surface ¹⁷O sur le dessus de la tête de l'animal. Images in vivo de l'abondance naturelle de H₂¹⁷O acquises avec (b) une séquence ZTE et (c) une séquence CSI montrant un rapport signal sur bruit plus élevé pour les acquisitions ZTE. Les deux images sont mises à l'échelle par rapport à leur valeur maximale respective. (d) Signal d'un voxel normalisé à l'abondance naturelle de l'¹⁷O dans l'eau du cerveau, avec 40 répétitions, montrant une variabilité temporelle plus faible pour la ZTE (courbe noire) que pour la CSI (courbe rouge).

Cette évaluation de la séquence, à laquelle j'ai contribué (acquisitions et analyses), a été

intégrée dans un article publié (Baligand et al. 2021) et disponible en annexe de ce manuscrit.

4 CONCLUSION

La médétomidine a été choisie pour sédater nos animaux et ses effets physiologiques ont été caractérisés. Ainsi, nous savons que le taux de glucose sanguin augmente au cours du temps, que le rythme cardiaque diminue et donc que T_C devrait augmenter au cours d'une expérience sous médétomidine. Nous avons donc mesuré T_C dans ces conditions et obtenu une valeur de 9 secondes au bout de 30 minutes de sédation. Cette valeur pourra servir de référence pour l'application du modèle 3-phases lors de nos expériences d'IRM- ^{17}O . Pour mesurer CMRO_2 à partir de l' ^{17}O , l'animal doit inhaler du dioxygène gazeux enrichi en ^{17}O . Pour administrer ce gaz, un pousse seringue automatisé a été développé. Nous avons décidé, à l'aide de tests BOLD, qu'il était préférable d'administrer 100 % d' O_2 avec un débit de $0,1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ tout au long des expériences d'IRM- ^{17}O . Plusieurs antennes surfaciques ont été mises au point et l'antenne RF de 10 mm a été sélectionnée pour mesurer CMRO_2 au niveau du S1HL/FL. Enfin, des comparaisons entre des acquisitions CSI et ZTE à la fréquence de l' ^{17}O ont été réalisées et ont permis de constater que le SNR obtenu avec la séquence ZTE était le plus important. Cette dernière a donc été sélectionnée pour les acquisitions d'inhalation d' ^{17}O qui seront présentées dans le chapitre suivant (Chapitre 5).

Chapitre 5 : MESURE DE CMRO₂ LORS D'UNE ACTIVATION NEURONALE INDUITE PAR STIMULATION ELECTRIQUE DE LA PATTE

Depuis plus d'une trentaine d'années, l'importance relative de la voie oxydative et de la glycolyse aérobie dans la réponse métabolique à l'activation neuronale fait l'objet de rapports contradictoires (Fox et al. 1988; Hyder et al. 1996; Zhu et al. 2009; Sonnay et al. 2016). Par exemple, à l'aide de la TEP à l'¹⁵O, Fox et al. ont mesuré une augmentation de 5% seulement de CMRO₂, au niveau du cortex visuel, chez l'homme lors d'une activation visuelle (Fox et al. 1988). En préclinique, à partir de la spectroscopie du ¹³C, Hyder et al. ainsi que Sonnay et al. ont rapporté des augmentations plus importantes chez le rat, avec 200% et 15% d'augmentation respectivement, dans le S1FL lors d'une électrostimulation bilatérale des pattes avant. Enfin, Zhu et al. ont mesuré, avec l'IRM de l'¹⁷O, une augmentation de 32% de CMRO₂ dans le cortex visuel de chats pendant une activation visuelle (Zhu et al. 2009).

Plus généralement, il n'existe pas de consensus concernant le degré de couplage entre l'activité cérébrale, CMRO₂ et d'autres flux métaboliques comme CBF et CMR_{glc} (Fox et al. 1988; Hyder et al. 1996; Fox 2012). En effet, Fox et al. rapportent un couplage entre l'augmentation de CMR_{glc} (+ 51%) et l'augmentation de CBF (+ 50%) et un découplage avec l'augmentation du métabolisme oxydatif (+ 5%), tandis que Hyder et al. rapportent un couplage fort entre CBF et CMRO₂ lors de l'activation neuronale.

Etant donné la grande variabilité de résultats et de conclusions établies dans la littérature, notamment due aux diverses techniques de mesure utilisées dans des modèles différents, il semble essentiel d'apporter de nouvelles mesures de variations de CMRO₂ lors d'une activation cérébrale chez le rat avec l'IRM. Comme discuté dans le Chapitre 2, l'IRM du ¹⁷O est une technique de mesure intéressante pour répondre à ces questions puisqu'elle permet une mesure directe de CMRO₂ en un temps < 1 heure et ne nécessite pas beaucoup de corrections contrairement à la TEP à l'¹⁵O. A ce jour, l'utilisation de l'IRM du ¹⁷O pour des mesures fonctionnelles se limite à l'étude par Zhu et al., dans laquelle la réponse à une stimulation visuelle a été mesurée chez le chat à 9,4 T (Zhu et al. 2009).

Dans ce chapitre, la mise au point d'un protocole d'activation neuronale par électrostimulation des pattes de rat compatible avec la mesure de CMRO₂ par IRM-¹⁷O est

décrite. Ensuite, les stratégies utilisées pour améliorer le SNR de nos mesures à la fréquence de l' ^{17}O sont exposées. Enfin, les résultats des premières mesures de CMRO_2 fonctionnelles chez le rat seront présentés.

1 CHOIX ET CARACTERISATION D'UN PROTOCOLE D'ACTIVATION DU S1HL/FL PAR IMAGERIE ^1H -BOLD

1.1 Critères de sélection du protocole d'électrostimulation

L'électrostimulation des membres est une méthode de stimulation communément utilisée en fMRI chez le rat ou la souris anesthésiée pour induire une activation neuronale dans le cortex somatosensoriel associé. Ce type de stimulation a notamment été utilisé pour étudier les variations de CMRO_2 par spectroscopie du ^{13}C en réponse aux stimuli appliqués aux pattes antérieures (Hyder et al. 1996; Sonnay et al. 2016).

Nous souhaitons reproduire cette expérience avec nos outils d'imagerie afin d'obtenir des résultats comparables avec la littérature. Mais, l'intensité de la réponse à un stimulus électrique, qu'elle soit vasculaire ou métabolique, dépend de nombreux paramètres, tels que l'état physiologique de l'animal et le positionnement des électrodes d'électrostimulation, en plus des paramètres de stimulation électrique.

Le protocole de stimulation doit être compatible avec les contraintes techniques imposées par la méthode de mesure. Trois objectifs doivent être remplis pour avoir une activation compatible avec les contraintes spécifiques à la mesure de CMRO_2 à partir de l'IRM- ^{17}O :

- ❶ L'activation cérébrale doit se produire dans un volume suffisamment important. En effet, cela permet de limiter le phénomène de volume partiel inhérent à la résolution spatiale effective de nos acquisitions ($V_{\text{eff}} = 3,1 \text{ mm}^3$ en considérant l'effet T2 et le filtre de Hamming appliqué au moment de l'analyse des données).
- ❷ L'activation cérébrale doit être stable dans le temps. La mesure de CMRO_2 par IRM du ^{17}O , bien que moins longue que les expériences d'enrichissement isotopique ^{13}C (~2-4h), dure 25 minutes pour l'acquisition des 3 phases. Pour mesurer l'effet de l'activation fonctionnelle, il est important qu'elle soit maintenue à un état d'équilibre au moins pendant la deuxième et troisième phase d'acquisition qui sont sensibles à la détermination de CMRO_2

et des paramètres de flux (Chapitre 3 Partie 5.3).

③ Les temps d'activation doivent être maximisés et les temps de repos minimisés. Comme la mesure est faite sur une période continue de 25 minutes, il est important que les périodes activées occupent le maximum de temps pendant les acquisitions pour qu'elles contribuent majoritairement au signal.

Enfin, nous avons choisi de faire une activation unilatérale en stimulant les pattes droites ou gauches de l'animal afin de pouvoir comparer le cortex activé au cortex controlatéral et, par la suite, mesurer le ΔCMRO_2 entre le côté control et le côté activé.

1.2 Matériels et méthodes

Nous nous sommes équipés d'un électrostimulateur (A-M Systems Model 2100) et d'électrodes à insérer dans la patte de l'animal. L'électrostimulateur permet de régler la fréquence (Hz), la durée (ms) et l'intensité (mA) des impulsions électriques envoyées. La durée des trains d'impulsions et la durée du repos sont aussi réglables.

1.2.1 Les différents protocoles testés

Après avoir examiné les protocoles d'électrostimulation utilisés dans la littérature, pour définir un premier protocole d'électrostimulation, nous avons décidé de nous inspirer d'une étude de Zhao et al. (Zhao et al. 2008) qui ont testé différentes fréquences (1-18 Hz) d'électrostimulation des pattes antérieures du rat sous médétomidine et ont établi que, autour de 9 Hz, l'amplitude de la réponse BOLD était la plus importante. Nous avons ensuite défini un second protocole se rapprochant de celui utilisé par Sonnay et al. (Sonnay et al. 2016). Dans cette étude, le protocole a été conçu avec une fréquence plus basse pour une acquisition de 4 heures de l'enrichissement isotopique pendant une perfusion de ^{13}C -glucose. Nous avons donc défini deux protocoles d'électrostimulation à tester dans l'objectif de choisir la proposition qui maximise la réponse BOLD en termes de volume et de stabilité temporelle.

Protocole n°1

La patte postérieure (gauche ou droite) était équipée d'électrodes et les paramètres détaillés dans le Tableau 7 étaient fixés au niveau de l'électrostimulateur pour activer le cortex

somatosensoriel de la patte postérieure (S1HL).

Durée de l'activation	20 s
Durée du repos	10 s
Fréquence de l'impulsion électrique	10 Hz
Durée de l'impulsion électrique	0,5 ms
Intensité	0,5 mA

Tableau 7 **Valeurs des paramètres utilisés dans le protocole d'électrostimulation n°1.**

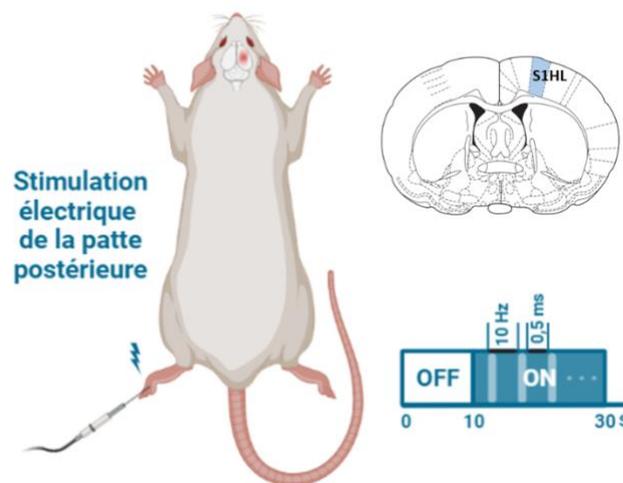


Figure 46 . **Représentation schématique protocole d'électrostimulation n°1** et de la zone activée correspondante sur une coupe représentative du cerveau (Paxinos).

Protocole n°2

Les pattes postérieures et antérieures (gauche ou droite) étaient équipées d'électrodes et les paramètres détaillés dans le Tableau 8 étaient fixés au niveau de l'électrostimulateur. Pour étudier le gain en volume activé dans le cortex apporté par la stimulation simultanée de deux pattes, le protocole a été répété chez un même rat avec une électrostimulation de la patte postérieure uniquement puis de la patte antérieure uniquement.

Durée de l'activation	30 s
Durée du repos	10 s
Fréquence de l'impulsion électrique	5 Hz
Durée de l'impulsion électrique	50 ms
Intensité	2 mA/patte

Tableau 8 **Valeurs des paramètres utilisés dans le protocole d'électrostimulation n°2.**

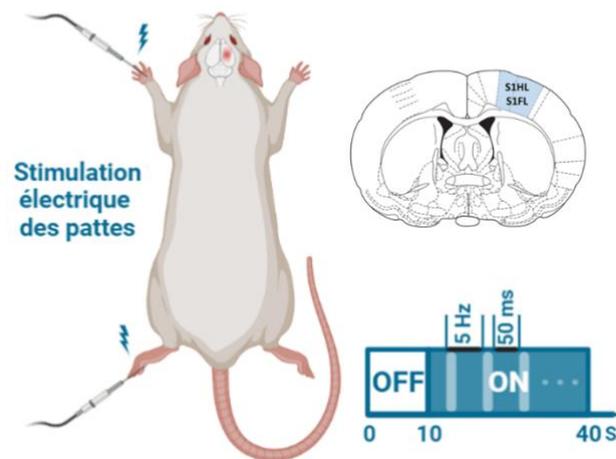


Figure 47 **Représentation schématique protocole d'électrostimulation n°2** et de la zone activée correspondante sur une coupe représentative du cerveau (Paxinos).

1.2.2 Séquence d'imagerie

Une séquence GE-EPI a été utilisée (TR/TE = 1000/15 ms; FOV = 32 x 16 mm², Matrice = 128 x 64, épaisseur de coupe = 0,75 mm, 12 coupes contiguës). Le code de la séquence a été modifié pour envoyer un signal TTL afin d'activer/désactiver l'électrostimulateur.

1.2.3 Animaux

Les acquisitions ont été effectuées chez 14 rattes Wistar (2-10 mois, 281 ± 29 g). Les animaux étaient dans un premier temps anesthésiés avec de l'isoflurane (1,5-2 %) pour positionner un cathéter veineux caudal pour la perfusion de médétomidine et placer les électrodes d'électrostimulation dans les pattes. Une fois le système installé, la perfusion de médétomidine (0,6 mg.kg⁻¹.min⁻¹) était démarrée, et l'isoflurane graduellement diminué

jusqu'à suppression totale. Les animaux n'étaient pas mis à jeun au préalable. Comme détaillé dans le Chapitre 4, et en accord avec la littérature, la mise à jeun des rats a été écartée pour nos mesures en raison d'une diminution de l'amplitude de la réponse BOLD dans ces conditions (Anderson et al. 2006; Driesen et al. 2007; Checkko et al. 2015).

1.2.4 Analyse des données BOLD dynamiques

Les données GE-EPI ont ensuite été exportées et analysées dans Matlab (Mathworks Inc. Matlab R2021b) à l'aide d'un programme spécifiquement développé. Les données ont été filtrées spatialement à l'aide d'un filtre Gaussien ($\sigma = 0,75$). Les images acquises pendant les périodes d'activation (S_{BOLDON}) et celles acquises pendant les périodes de repos ($S_{BOLDOFF}$) ont été séparées puis sommées sur l'ensemble des répétitions. Une image des différences relatives a ensuite été obtenue ($\Delta BOLD (\%) = \left[\frac{\sum_{ON} S_{BOLD} - \sum_{OFF} S_{BOLD}}{\sum_{OFF} S_{BOLD}} \right] \cdot 100$). La zone activée du cortex était définie comme l'ensemble des pixels tels que $\Delta BOLD \geq 3\sigma_{\Delta BOLD_{Contrôle}}$ où $\sigma_{\Delta BOLD_{Contrôle}}$ est la déviation standard de $\Delta BOLD$ dans une région d'intérêt de 600 voxels dans le S1HL/FL du cortex controlatéral. Pour finir, la moyenne du signal BOLD dans les pixels sélectionnés a été analysée et le meilleur protocole de stimulation a été sélectionné selon le volume activé et la durée de l'activation.

1.3 Résultats

Protocole n°1

Avec ce protocole, la réponse BOLD atteignait jusqu'à + 5 % dans les 5 premières minutes, puis à partir de 7 minutes, le signal pendant les temps d'activation commençait à décroître (Figure 48 A). Pendant les périodes de stimulation (20 s), le $\Delta BOLD$ maximal de + 3 % était atteint au bout de 3s et descendait ensuite progressivement vers 0 %, résultant en un $\Delta BOLD$ moyen de + 1,53 % (Figure 48 B). En ce qui concerne le volume activé, 4 coupes présentaient une réponse BOLD au niveau du S1HL avec un volume activé de 23 mm³ (Figure 48 C).

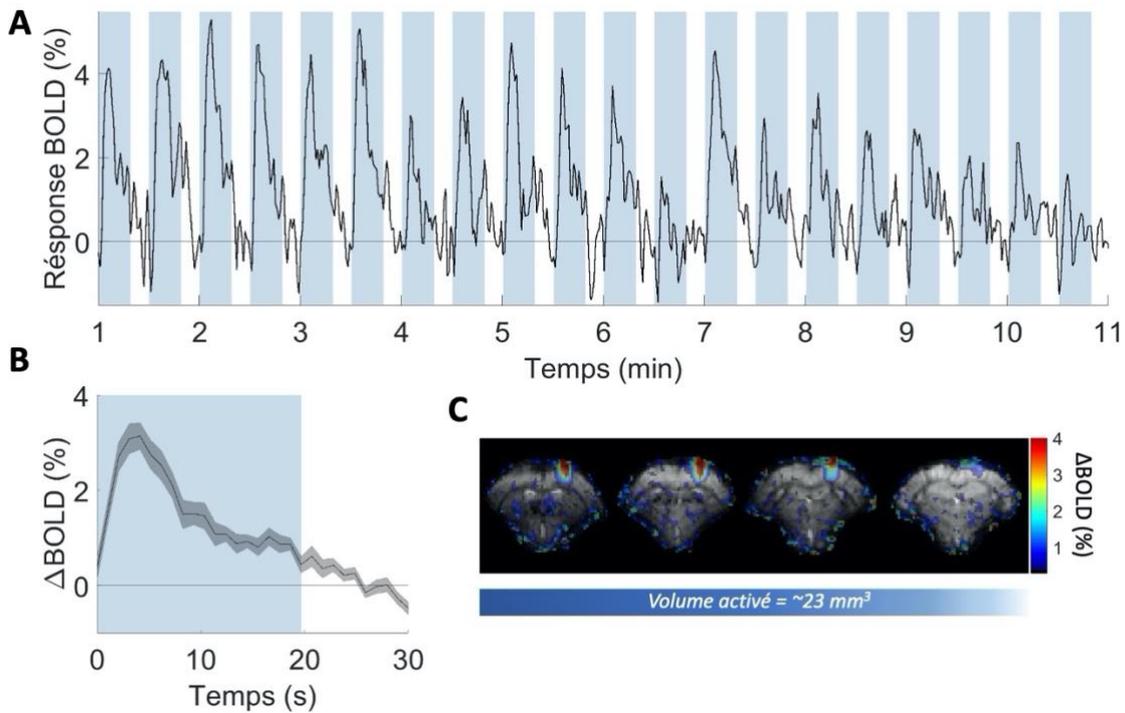


Figure 48 **Réponse BOLD obtenue dans le cortex activé (S1HL) lors d'une acquisition EPI de 11 min** avec en bleu la période d'activation (20 s) et en blanc la période de repos (10 s). **A.** Une réponse BOLD positive peut être maintenue pendant toute la durée de l'acquisition (12 min) mais a diminué en amplitude au bout de 7 min avec un paradigme de 20 s ON/10 s OFF (0,5 mA, 50 ms de longueur d'impulsion, 10 Hz de fréquence), le signal est lissé par un filtre de Savitzky-Golay (polynôme d'ordre 4). **B.** le Δ BOLD moyen était de 1,53 % pendant la période d'activation. **C.** Superposition de la réponse BOLD acquise dans le cerveau d'un rat sur la moyenne des images EPI pour avoir une référence anatomique, montrant que la stimulation de la patte postérieure permet d'obtenir une réponse BOLD avec un volume total de 23 mm³ dans le S1HL.

Protocole n°2

La Figure 49 A montre qu'une réponse BOLD positive (Δ BOLD = $2,4 \pm 0,6$ %) était maintenue pendant une heure sans phénomène d'habituation visible avec ce protocole. Le Δ BOLD moyen pendant la période d'activation de 30 s était stable et de $+0,8 \pm 0,2$ % (Figure 49 C). Le volume cortical activé était de 14 μ L dans le S1HL en réponse à la stimulation de la patte postérieure du rat, de 20 μ L dans le S1FL en réponse à la stimulation de la patte antérieure du rat et atteignait 29 μ L lorsque la stimulation de la patte antérieure et postérieure étaient combinées (Figure 50).

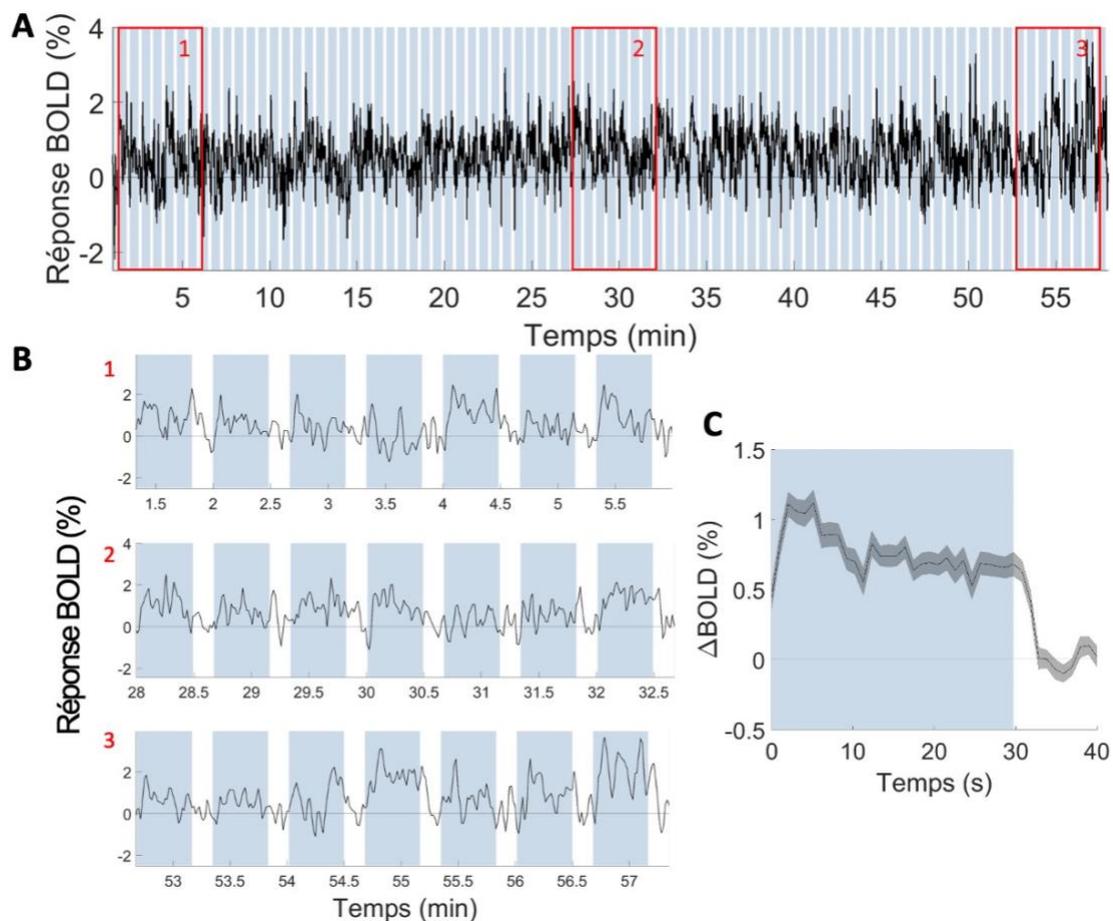


Figure 49 **Réponse BOLD obtenue dans le cortex activé (S1HL/FL) lors d'une acquisition EPI d'1h** avec en bleu la période d'activation (30 s) et en blanc la période de repos (10 s). **A**, **B**. Une réponse BOLD positive peut être maintenue pendant 1h avec un paradigme de 30 s ON/10 s OFF (2 mA/patte, 50 ms de longueur d'impulsion, 5 Hz de fréquence), le signal est lissé par un filtre de Savitzky-Golay (polynôme d'ordre 4) et **C**. le Δ BOLD moyen était de 0,8 %.

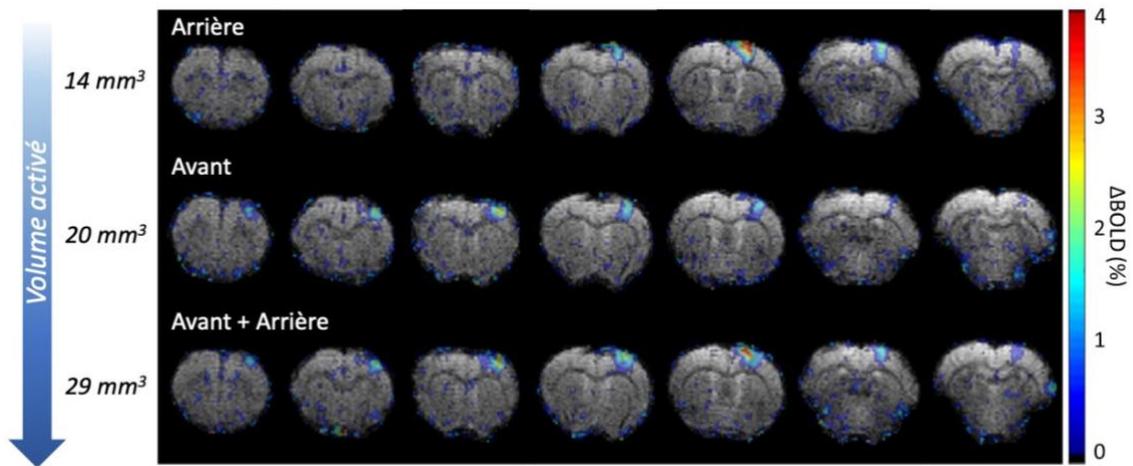


Figure 50 **Superposition de la réponse BOLD acquise dans le cerveau d'un rat sur la moyenne des images EPI**, montrant que la stimulation des pattes avant et arrière permet de maximiser le volume activé dans le cerveau.

1.4 Conclusion

Parmi les deux protocoles définis, le protocole n°1 permettait d'obtenir une réponse BOLD positive importante néanmoins, elle diminuait au bout de 4 s pendant la période d'activation de 20 s. Ainsi, le temps activé n'est pas maximisé par rapport au temps de repos (critère ③ invalidé). Ensuite, la réponse BOLD s'atténuait au bout de 13 répétitions du motif. De ce fait, le protocole n°1 est inadapté pour nos expériences d'IRM-¹⁷O qui durent 25 minutes, soit 50 motifs de 30 s (critère ② invalidé).

Le protocole n°2, avait un ΔBOLD moins intense que le protocole n°1, toutefois il remplissait mieux les trois critères énoncés précédemment (Partie 1.2.1) :

- ① La stratégie de stimuler simultanément la patte antérieure et la patte postérieure permet d'augmenter d'environ 13 % le volume activé par rapport à la stimulation d'une seule patte.
- ② Obtention d'une réponse BOLD stable pendant plus d'1 h.
- ③ Le choix d'une période d'activation de 30 s et d'une période de repos de 10 s permet de maximiser les temps activés par rapport aux temps de repos au court de l'expérience.

Le protocole n°2 a donc été sélectionné pour les expériences d'IRM-¹⁷O.

2 MESURE DE CMRO₂ PAR IRM-¹⁷O LORS D'UNE ACTIVATION DU S1HL/FL

2.1 Introduction

Grâce à l'établissement d'un protocole de stimulation compatible avec l'IRM-¹⁷O, il est possible de mesurer CMRO₂ dans le S1HL/FL lors d'une activation fonctionnelle et de comparer le résultat à une mesure de CMRO₂ à l'état basal dans le cortex controlatéral. Toutefois, en amont de ces mesures, des stratégies d'optimisation du SNR doivent être explorées pour atteindre une sensibilité de détection suffisante. Pour augmenter le rapport contraste sur bruit (CNR) des acquisitions 3-phases effectuées pendant une électrostimulation unilatérale, nous avons choisi de moyennner deux acquisitions successives. Il est possible que CMRO₂ varie au cours de l'expérience, notamment en raison de l'anesthésie prolongée. Nous avons donc pris soin de comparer les résultats obtenus lors de la première et de la deuxième inhalation (mesures présentées dans la partie 2.3.2), avant d'utiliser les données moyennnées pour mesurer les variations de CMRO₂ induite par électrostimulation des pattes dans le S1HL/FL.

2.2 Matériels et méthodes

2.2.1 Protocole d'acquisition IRM

Deux acquisitions 3-phases successives ont été effectuées chez 12 rats (femelles, Wistar, 2-10 mois, 277 ± 29 g). Pour cela, une séquence ZTE (TR = 1,3 ms, NA = 4, FOV = 48 x 48 x 48 mm³, Matrice = 32 x 32 x 32, bande passante = 18 kHz, Durée d'impulsion RF = 5 µs, Puissance = 100 W) dont le code a été modifié pour envoyer un signal TTL pilotant le déclenchement et l'arrêt du pousse seringue. Pour la première acquisition 3-phases, le signal TTL de déclenchement était envoyé au bout de 11 min 50 s (NR = 40) pour avoir un nombre de points de baseline acceptable avec un signal stationnaire. Pour la seconde acquisition 3-phases, l'inhalation de ¹⁷O₂ commençait à 4 min 52 s (NR = 17). Après une phase d'inhalation correspondant à la durée de 13 répétitions, soit 3 min 38 s, le pousse seringue était arrêté (NR = 53 pour la 1^{ère} acquisition 3-phases et NR = 30 pour la 2nd acquisition 3-phases). Le débit d'administration du gaz enrichi par le pousse seringue était réglé à 0,1 L.min⁻¹ à partir de l'écran tactile du pousse seringue (Volume = 400 ml, Durée = 240 s) et le débitmètre pour d'administration de l'¹⁶O₂ à partir de la colonne de distribution était approximativement

réglé à $0,1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$. Ensuite, 14 min 52 s d'acquisition ($\text{NR} = 50$) étaient dédiées à la phase n°3, de clairance. Au total, l'acquisition des cinq phases successives durait 54 min 55 s, soit $\text{NR} = 183$ dont 103 répétitions dédiées à la 1^{ère} acquisition 3 phases, et 80 à la 2nd.

L'électrostimulation était démarrée 2 minutes avant l'acquisition des points de la phase n°2 (Durée de l'activation = 30 s, durée du repos = 10 s, fréquence de l'impulsion électrique = 5 Hz, durée de l'impulsion électrique = 0,5 ms, courant = 2 mA/patte). Le côté électrostimulé était alterné d'un animal à l'autre pour s'affranchir d'un éventuel biais systématique dû à une asymétrie géométrique de l'antenne RF utilisée et donc du SNR.

Lorsque la durée de l'anesthésie le permettait ($T_{\text{anesthésie}} < 3,5 \text{ h}$), une acquisition GE-EPI de quelques minutes était effectuée après l'acquisition d'IRM- ^{17}O pour vérifier la présence d'une réponse BOLD à l'électrostimulation ainsi que sa localisation et son intensité.

La stabilité du rythme respiratoire était monitorée tout au long des acquisitions et la température des animaux était mesurée avant et après les acquisitions 3-phases. Pendant les acquisitions ZTE la sonde de température était déconnectée car elle constitue une source de bruit pour les acquisitions à la fréquence de l' ^{17}O .

2.2.2 Analyse des données

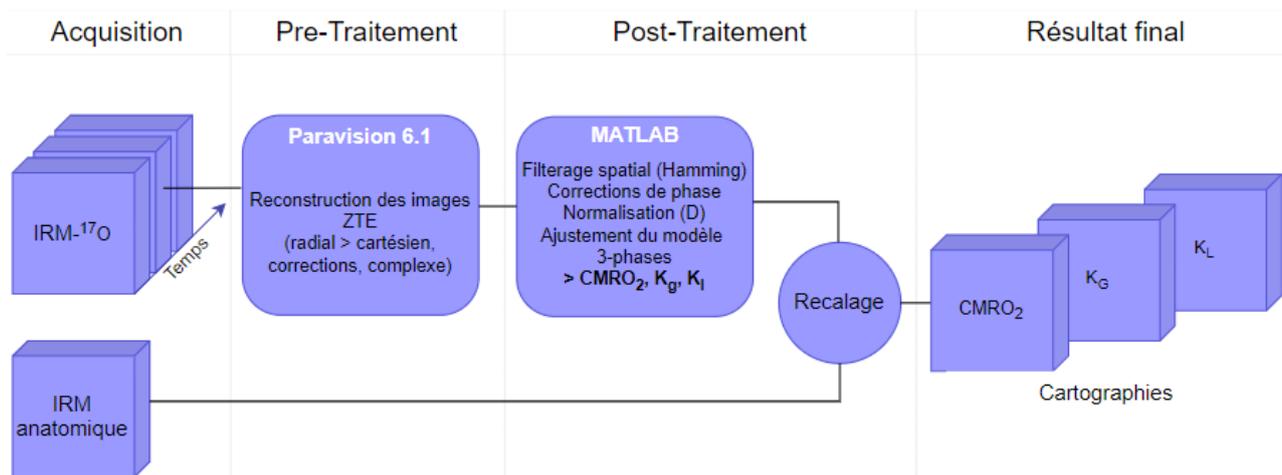


Figure 51 Représentation schématiques des étapes nécessaires à la génération de cartes de CMRO_2 , K_g et K_L .

La reconstruction des données ZTE a été effectuée avec Paravision 6.0.1. (Bruker, Ettlingen, Allemagne) et comprend la conversion de l'espace k radial sur un espace k cartésien à l'aide

d'un noyau de Kaiser-Bessel, la compensation de la densité et la correction d'apodisation.

Les données cartésiennes complexes ont ensuite été exportées sur Matlab (Mathworks Inc. Matlab R2021b) et filtrées avec une fenêtre de Hamming. Une correction de phase spatiale a été appliquée pour pouvoir moyenner le signal provenant de plusieurs voxels. Les premiers points de la phase n°1 des acquisitions ont été écartés (14 ± 8 points pour la 1^{ère} et 5 ± 3 pour la 2nd) puis le nombre de points de la phase n°1 a été adapté selon le besoin pour que la 1^{ère} et la 2nd acquisition soient de même taille et puissent être moyennées point à point (Figure 52).

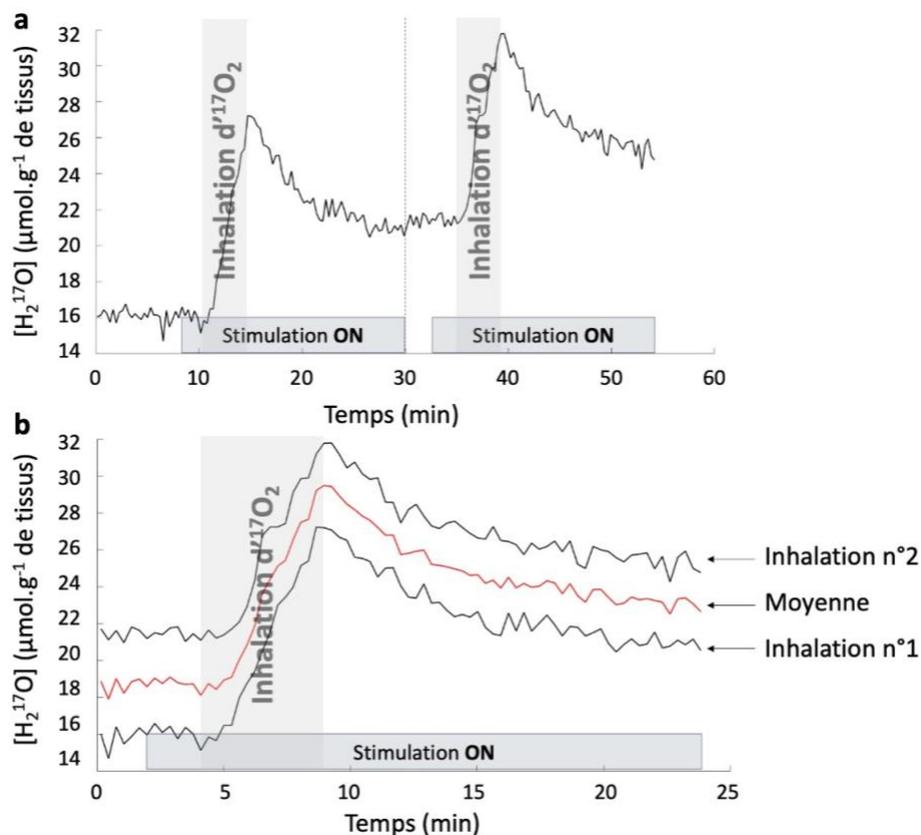


Figure 52 **Représentation de la méthode de moyennage de deux courbes d' $[H_2^{17}O]$** acquises successivement afin d'augmenter la sensibilité des mesures. **a.** Acquisition successive de deux courbes 3-phases dans les mêmes conditions expérimentales, **b.** Moyenne des deux courbes 3-phases et courbe moyenne (en rouge) moins bruitée.

Pour chaque voxel, les données des acquisitions ont été normalisées à une valeur absolue de concentration en $H_2^{17}O$ dans le tissu (D). En supposant une abondance naturelle de 20,35

$\mu\text{mol d'H}_2^{17}\text{O}$ par gramme d'eau avec un coefficient (g d'eau)/(g de tissus cérébral) de 0,79 (Pekar et al. 1995; Zhang et al. 2004), la valeur D est de $16,07 \mu\text{mol.g}^{-1}$ de tissus cérébral. CMRO_2 peut ainsi être exprimé en $\mu\text{mol(O}_2\text{).g(tissus cérébral)}^{-1}\text{.min}^{-1}$. Le modèle 3-phases a été ensuite ajusté aux courbes 3-phases individuelles et à la moyenne des deux acquisitions successives pour quantifier CMRO_2 et les paramètres de flux K_G et K_L sous forme de cartographie.

Pour superposer les cartographies aux images anatomiques, les cartographies ont été sous-échantillonnées sans lissage de façon à être de même résolution spatiale que l'image anatomique ($0,25 \times 0,25 \times 0,75 \text{ mm}^3$).

Pour comparer CMRO_2 et les paramètres K_G et K_L entre le S1HL/FL au repos et le S1HL/FL activé, deux voxels par hémisphères, positionnés dans le S1HL/FL, ont été sélectionnés puis leur signaux précédemment filtrés et corrigés en phase ont été moyennés. Le signal résultant a été normalisé (D) et le modèle 3-phase ajusté pour déterminer les paramètres CMRO_2 , K_G et K_L .

Pour chaque animal, l'écart-type sur les paramètres de sortie (CMRO_2 , K_G et K_L) du modèle 3-phase a été estimé par simulations Monte-Carlo ($N = 1000$) sur la base du SNRt du signal pré-inhalation.

Les comparaisons entre groupes (inhalations, ou état activé vs non activé) ont été analysées avec un t-test apparié dans GraphPad Prism avec un seuil de significativité statistique $p < 0,05$.

2.3 Résultats

2.3.1 Critère de qualité pour la sélection des données

Une partie des animaux a été écartée du groupe lors de l'analyse selon trois critères : 1) SNRt ≤ 15 dans les voxels d'intérêts, 2) Mauvaise qualité de l'ajustement du modèle 3-phases aux données ($R^2 \leq 0,8$), 3) Conditions physiologiques anormales pendant l'acquisition ($T < 37 \text{ }^\circ\text{C}$ et $T > 38,5 \text{ }^\circ\text{C}$; RPM < 30 et RPM > 90).

Au total, cinq animaux n'ont pas pu être intégrés dans l'étude. Pour trois d'entre eux, le SNRt et le R^2 étaient inférieurs aux limites fixées. Et pour l'un de ces trois animaux, la température

a drastiquement diminué entre le début et la fin des acquisitions. Un autre animal passait les critères de sélection mais présentait, dans l'hémisphère droit, une valeur de $CMRO_2$ anormalement basse ($1,87 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$) dans les voxels sélectionnés. Sur l'image anatomique de cet animal, nous avons constaté, dans ce même hémisphère, une atrophie du ventricule qui pourrait témoigner d'une maladie. Dans ces conditions, ce quatrième animal a été écarté pour éviter d'intégrer un biais dans l'analyse. Enfin, un animal a dû être euthanasié après les acquisitions d'IRM- ^{17}O , possiblement à cause d'une mauvaise réaction à l'anesthésie. Dans ces conditions, il est possible que son métabolisme énergétique ait été impacté, il a donc été écarté.

Au total, sept animaux ont été intégrés dans l'étude. Au cours des acquisitions, la température corporelle augmentait légèrement. En moyenne, la température avant la première acquisition ZTE était de $37,7 \pm 0,44 \text{ }^\circ\text{C}$ et de $38,2 \pm 0,67 \text{ }^\circ\text{C}$ après la seconde acquisition ZTE. Le rythme respiratoire avait tendance à augmenter transitoirement lorsque l'électrostimulateur était activé puis se stabilisait en une minute et restait stable jusqu'à la fin des acquisitions.

2.3.2 Mesures dans le cerveau entier et comparaisons des inhalations successives

Les paramètres $CMRO_2$, K_G et K_L moyens dans le cerveau ont été déterminés en ajustant le modèle 3-phases sur la courbe moyenne d' H_2^{17}O provenant de voxels d'une ROI tracée sur le cerveau entier. Sur les 7 animaux sélectionnés, on estime à partir de la moyenne de deux inhalations que les valeurs des paramètres au repos sont les suivantes : $CMRO_2 = 3,00 \pm 0,24 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$; $K_G = 0,50 \pm 0,08 \text{ min}^{-1}$; $K_L = 0,32 \pm 0,04 \text{ min}^{-1}$.

A partir des données sur cerveau entier, l'évolution des paramètres d'intérêt entre la première et la seconde inhalation a aussi été évaluée. Nos résultats montrent que la valeur de $CMRO_2$ moyenne du groupe était de $3,00 \pm 0,30 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ pour l'inhalation 1 et de $3,00 \pm 0,48 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ pour l'inhalation 2. Plus en détail, chez quatre des animaux, $CMRO_2$ a diminué de -3 % à -27 %, et chez les trois autres il a augmenté de 11 % à 29 % ($\overline{\Delta CMRO_2} = 1,2 \pm 21,5 \%$). Ces différences entre la première et la seconde inhalation ne sont néanmoins pas significatives à l'échelle du groupe ($p = 0,928$) (Figure 53).

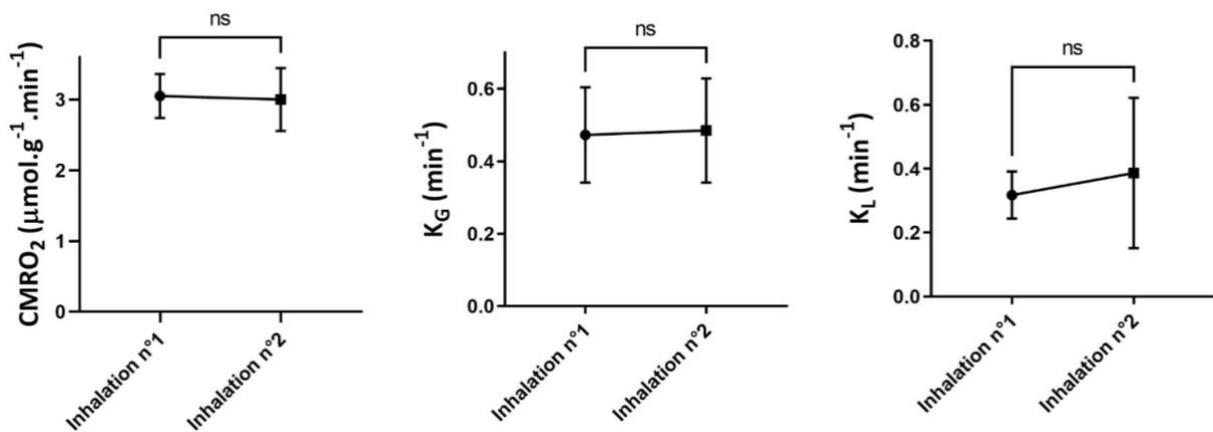


Figure 53 **Evolution des valeurs moyennes dans le cerveau entier des trois paramètres ($CMRO_2$, K_G , K_L) entre l'inhalation n°1 et l'inhalation n°2 pour les 7 animaux sélectionnés.**

Dans un sous-groupe de 3 animaux, trois inhalations ont été effectuées pour avoir un gain en SNR encore plus important. La Figure 54 montre l'évolution des trois paramètres dans le cerveau entier entre les trois inhalations pour ces 3 animaux.

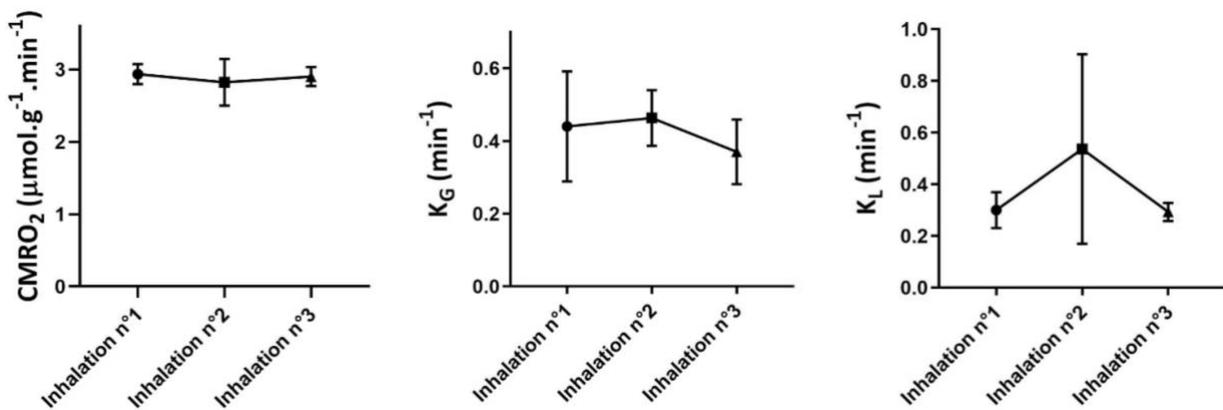


Figure 54 **Evolution des valeurs moyennes dans le cerveau entier des trois paramètres ($CMRO_2$, K_G , K_L) entre l'inhalation n°1, l'inhalation n°2 et inhalation n°3 pour les 3 animaux qui ont eu 3 inhalations d' ^{17}O .**

Chez ces trois animaux, en moyenne, nous trouvons $\overline{\Delta CMRO_2} = -1,3 \pm 6,8 \%$ entre l'inhalation n°1 et l'inhalation n°3, et $\overline{\Delta CMRO_2} = 2,4 \pm 14,5 \%$ entre l'inhalation n°2 et l'inhalation n°3.

Pour la suite de l'analyse, nous ferons l'hypothèse que $\Delta CMRO_2$, induit par la stimulation, est

suffisamment peu dépendant de la valeur de $CMRO_2$ de repos dans la gamme de valeurs concernée et dans nos conditions expérimentales pour permettre de moyenner les données des deux inhalations successives comme décrit dans la Figure 52 qui illustre d'ailleurs le gain en SNRt apporté par cette approche.

2.3.3 Mesures dans le cortex S1HL/FL et effet de l'activation corticale sur $CMRO_2$

On peut immédiatement noter Figure 55 A que le signal en fin d'inhalation est supérieur dans le cortex activé par rapport au cortex controlatéral, montrant un taux d'enrichissement supérieur en ^{17}O . $CMRO_2$, déterminé par ajustement du modèle 3-phase, est en effet significativement plus élevé ($p = 0,037$) dans le cortex activé ($3,02 \pm 0,40 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$) par rapport au cortex controlatéral ($2,72 \pm 0,32 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$), résultant en une augmentation moyenne $\overline{\Delta CMRO_2} = 12 \pm 5$ (S.E.M) % (Figure 55 D, Tableau 9). Les paramètres K_G et K_L ont augmenté respectivement de 19 ± 11 (S.E.M) % et 13 ± 7 (S.E.M) dans le cortex activé par rapport au cortex controlatéral (coté activé : $K_G = 0,58 \pm 0,11 \text{ min}^{-1}$ et $K_L = 0,40 \pm 0,08 \text{ min}^{-1}$) (controlatéral : $K_G = 0,51 \pm 0,15 \text{ min}^{-1}$ et $K_L = 0,36 \pm 0,08 \text{ min}^{-1}$) % (Figure 55 E-F).

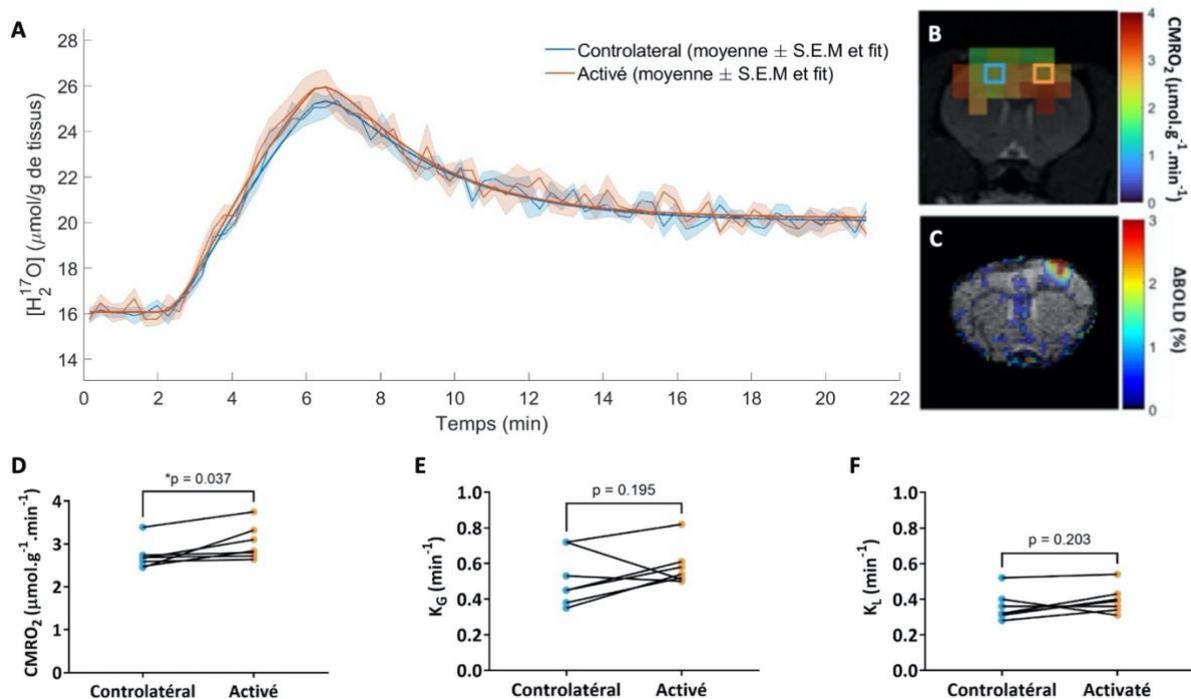


Figure 55 **Résultats obtenus à partir de données IRM- ^{17}O et BOLD acquises pendant l'ES des pattes antérieures et postérieures.** **A.** Décours temporel de $[H_2^{17}O]$ dans les voxels

activés et les voxels controlatéraux moyennés entre les animaux ($n = 7$) avec l'ajustement du modèle 3-phases correspondant. **B.** Exemple de carte de $CMRO_2$ avec le voxel stimulé (orange) et controlatéral (bleu). **C.** Exemple de $\Delta BOLD$ pendant l'ES des pattes antérieures et postérieures gauches. **D-F.** Valeurs de $CMRO_2$, K_G , K_L du cortex controlatéral et activé de chaque animal.

Rat	$CMRO_2$ activé ($\mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$)	$CMRO_2$ control ($\mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$)	$\Delta CMRO_2$ (%)	K_G activé (min^{-1})	K_G control (min^{-1})	ΔK_G (%)	K_L activé (min^{-1})	K_L control (min^{-1})	ΔK_L (%)
1	$2,72 \pm 0,14$	$2,69 \pm 0,12$	1,12	$0,50 \pm 0,13$	$0,53 \pm 0,11$	-5,66	$0,36 \pm 0,05$	$0,36 \pm 0,04$	0
2	$3,75 \pm 0,16$	$3,39 \pm 0,24$	10,6	$0,51 \pm 0,09$	$0,72 \pm 0,16$	-29,2	$0,31 \pm 0,03$	$0,40 \pm 0,06$	-22,5
3	$2,80 \pm 0,13$	$2,74 \pm 0,12$	2,19	$0,58 \pm 0,11$	$0,45 \pm 0,11$	28,9	$0,39 \pm 0,04$	$0,32 \pm 0,04$	21,9
4	$2,64 \pm 0,14$	$2,59 \pm 0,12$	1,93	$0,54 \pm 0,13$	$0,35 \pm 0,12$	54,3	$0,43 \pm 0,05$	$0,32 \pm 0,04$	34,4
5	$3,10 \pm 0,19$	$2,67 \pm 0,11$	16,1	$0,52 \pm 0,14$	$0,38 \pm 0,10$	36,8	$0,34 \pm 0,06$	$0,28 \pm 0,04$	21,4
6	$3,32 \pm 0,13$	$2,45 \pm 0,12$	35,5	$0,61 \pm 0,09$	$0,45 \pm 0,13$	35,6	$0,40 \pm 0,03$	$0,31 \pm 0,05$	29,0
7	$2,84 \pm 0,21$	$2,48 \pm 0,17$	14,5	$0,82 \pm 0,19$	$0,72 \pm 0,18$	13,9	$0,54 \pm 0,07$	$0,52 \pm 0,07$	3,85

Tableau 9 Valeurs individuelles des trois paramètres ($CMRO_2$, K_G , K_L) obtenues à partir des données $IRM\text{-}^{17}O$ moyennées dans deux voxels par hémisphères localisés au niveau du S1HL/FL, pendant l'ES des pattes antérieures et postérieures.

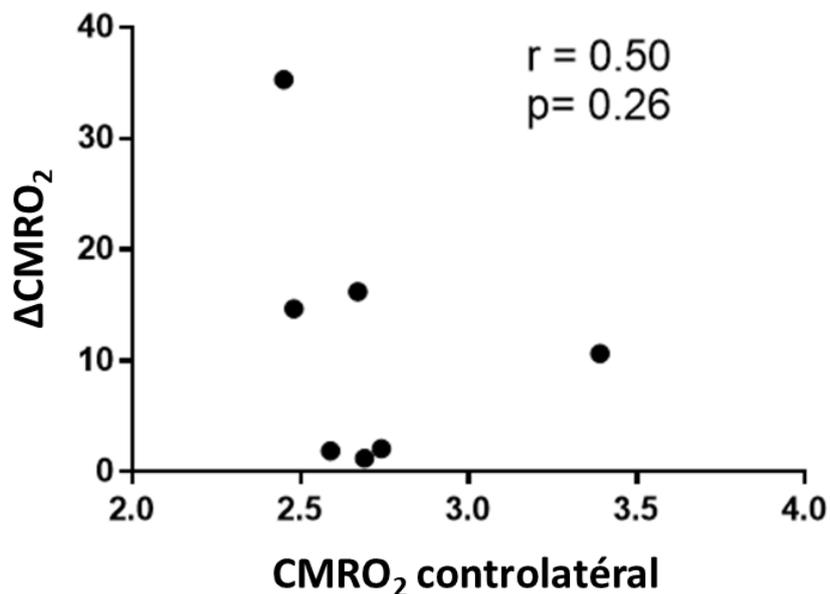


Figure 56 Graphique représentant $\Delta CMRO_2$ en fonction du $CMRO_2$ controlatéral, montrant que les variations de $CMRO_2$ sont indépendantes du $CMRO_2$ au repos.

2.3.4 Mesures de CBF à partir de la 3^{ème} phase du signal d'H₂¹⁷O

Nous avons tenté de compléter les mesures en déterminant CBF à partir du taux de décroissance exponentielle de la phase de clairance (K_w) des courbes d'H₂¹⁷O et de l'équation : $CBF = A \times K_w$, avec $A = 1,86 \text{ ml.g}^{-1}$, proposé par Zhu et al. (Zhu et al. 2013b)(Chapitre 3 Partie3.2). Cependant, le niveau de sensibilité de nos mesures au niveau de la 3^{ème} phase était trop faible pour permettre de déterminer CBF avec confiance. Néanmoins, la moyenne de deux inhalations successives a permis d'obtenir un SNRt suffisant au niveau de la 3^{ème} phase du signal d'H₂¹⁷O pour déterminer CBF moyen dans le cerveau entier de chaque animal (Tableau 10).

Rat	K_w (min ⁻¹)	CBF (ml.g ⁻¹ .min ⁻¹)
1	0,18	0,33
2	0,21	0,39
3	0,16	0,29
4	0,23	0,43
5	0,19	0,36
6	0,21	0,39
7	0,24	0,44

Tableau 10 **Valeurs de K_w et du CBF correspondant obtenues à partir des données IRM-¹⁷O de deux inhalations successives moyennées dans le cerveau entier.**

La valeur moyenne mesurée de CBF au repos dans le cerveau entier est de $0,38 \pm 0,05 \text{ ml.g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$. Cette valeur est cohérente avec le CBF de $0,37 \text{ ml.g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ rapporté par Zhu et al. avec cette même technique, dans le cerveau d'un rat anesthésié avec de l' α -chloralose (Zhu et al. 2013b). Il en est de même pour les valeurs rapportées par Wiesner et al. (Wiesner et al. 2021) dans les mêmes conditions : $0,28 \pm 0,02 \text{ ml.g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ (n=14) et de $0,34 \pm 0,06 \text{ ml.g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ (n=12) dans un groupe inhalant un mélange d'O₂ et de N₂ et dans un groupe inhalant un mélange d'O₂ et de N₂O. Enfin, Becq et al. ont rapporté une valeur de $0,19 \pm 0,02 \text{ ml.g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ chez des rats (n=6) sous médétomidine à partir d'acquisitions pCASL (en anglais, *pseudo Continuous Arterial Spin Labeling*) (Becq et al. 2020).

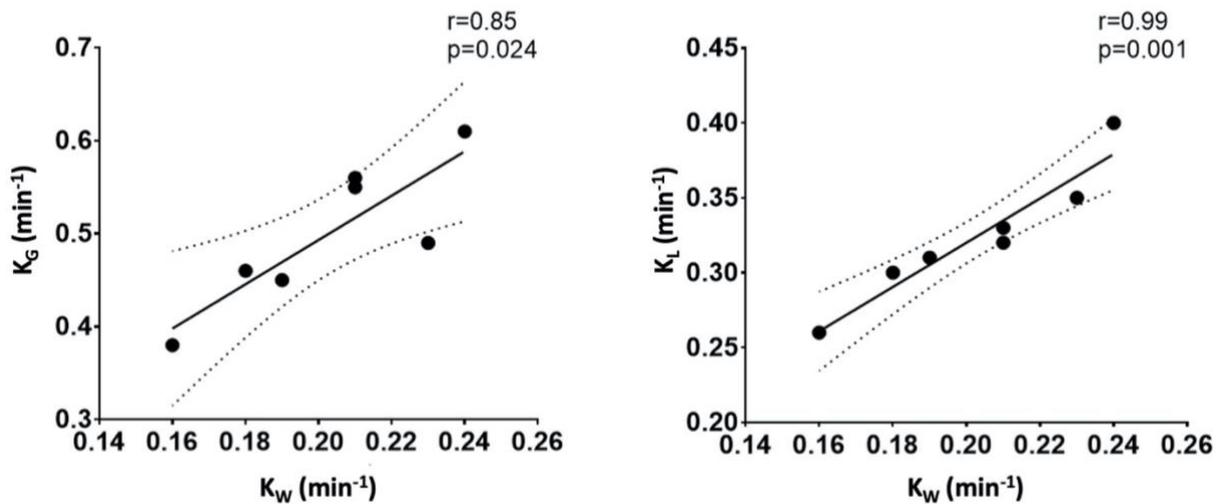


Figure 57 **Graphique représentant K_G et K_L en fonction de K_W , montrant une corrélation importante entre ces trois paramètres.**

La Figure 57 met en évidence la corrélation entre les paramètres K_G et K_L du modèle 3-phases et K_W qui est directement proportionnel à CBF. On peut ainsi établir une corrélation forte entre les paramètres K_G et K_L et CBF.

3 DISCUSSION ET CONCLUSION

L'objectif de cette étude était d'étudier les variations de CMRO_2 , de K_G et K_L en réponse à une activation cérébrale. Pour cela, un protocole d'activation unilatéral a été conçu pour évaluer l'effet du stimulus sur le métabolisme oxydatif (CMRO_2) et vasculaire (BOLD, K_G et K_L), dans une région activée comparé au côté controlatéral. Cette approche offre la possibilité de faire une comparaison dans les mêmes conditions physiologiques et de SNRt.

Plusieurs raisons justifient le choix de l'électrostimulation pour induire une activation neuronale dans notre étude. Comme il s'agit d'un stimulus fréquemment utilisé, de nombreux protocoles sont proposés dans la littérature et ont permis d'avoir un point de départ pour le développement de notre protocole de stimulation. Le paradigme choisi pour nos expériences s'appuie d'ailleurs sur une étude de la réponse BOLD prolongée dans le cortex du rat pendant une stimulation électrique bilatérale des pattes antérieures, de 4 heures (Sonnay et al. 2016). Ensuite, la stimulation des pattes permet d'activer une zone localisée en haut du cortex primaire somatosensoriel, le S1HL/FL. L'avantage d'activer cette région est qu'elle est plus proche de la surface du crâne du rat que d'autres régions comme

le S1BF qui se trouve sous une épaisseur de muscle importante. Il est ainsi plus simple d'effectuer une mesure dans le S1HL/FL avec une antenne de surface, comme la zone d'intérêt se trouve à proximité de l'antenne RF et donc de son volume sensible de détection.

Pour optimiser les paramètres de stimulation, l'IRMf BOLD a été utilisée pour évaluer la durée et le volume de la réponse vasculaire. Grâce à ces mesures, un paradigme permettant d'atteindre les objectifs de compatibilité avec les acquisitions successives d'IRM-¹⁷O de 55 minutes et de résolution spatiale 1,5 x 1,5 x 1,5 mm³ a été trouvé. La mesure de la réponse BOLD est un indicateur, fréquemment utilisé, de l'activité cérébrale. Cependant, la relation entre le signal BOLD et ses composantes vasculaires et métaboliques est complexe car elle est influencée par les changements de CBF, CBV et CMRO₂ induits par l'activité cérébrale (Ogawa et al. 1993). Le signal BOLD apporte donc uniquement une information relative à un état basal contrairement à la mesure de CMRO₂ qui permet de quantifier directement les changements métaboliques induit par l'activation (Rodgers et al. 2016). De plus, le signal BOLD provient majoritairement des vaisseaux qui peuvent être localisés loin du site de l'activation (Menon et al. 1995). La mesure de CMRO₂ présenterait une corrélation spatio-temporelle plus étroite avec l'activation neuronale que la réponse BOLD (Malonek et Grinvald 1996). La mesure de la réponse BOLD et de CMRO₂ sont donc complémentaires, mais l'intensité, la localisation ainsi que la durée de réponse à une activation ne sont pas forcément couplées.

Pour valider notre approche, les valeurs de CMRO₂, K_G et K_L ont été mesurées dans le cerveau entier pour chaque acquisition. La moyenne du signal sur un grand nombre de voxels permet d'augmenter le SNRt et donc d'estimer avec plus de confiance les valeurs des paramètres au repos. Chez les 7 rats étudiés, il n'y a pas de différence significative entre la première et la seconde acquisition d'IRM-¹⁷O. Il en est de même entre les trois acquisitions successives effectuées chez 3 rats. Cependant entre les animaux, il y a une variabilité importante de la stabilité des paramètres entre les inhalations comme en témoigne l'écart-type de 21,5 pour $\overline{\Delta\text{CMRO}_2}$ entre l'inhalation 1 et 2. Malgré ces valeurs, nous avons fait l'hypothèse que l'amplitude de variation de ΔCMRO_2 , induite par stimulation, est suffisamment peu dépendante de la valeur de CMRO₂ de repos dans la gamme de valeurs concernée et dans nos conditions expérimentales pour permettre de moyennner les données de deux inhalations successives. Nous avons aussi considéré que le métabolisme de l'animal varie peu entre les acquisitions et que ces conditions permettent de moyennner deux ou trois

acquisitions successives. De la même manière, Zhu et al. ont démontré que $CMRO_2$ était constant entre deux inhalations d' $^{17}O_2$ successives séparées de 30 à 60 minutes chez 5 rats anesthésiés avec de l' α -chloralose (Zhu et al. 2007). Nous avons choisi d'effectuer uniquement deux acquisitions successives d'IRM- ^{17}O afin de minimiser le temps d'anesthésie et le coût des mesures.

La valeur moyenne de $CMRO_2$ dans le cerveau dans notre groupe d'animaux anesthésiés est plus importante que les valeurs rapportées dans la littérature ($1,90$ - $2,20 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$) (Zhu et al. 2002, 2003, 2007; Wiesner et al. 2021) chez des rats anesthésiés avec de l' α -chloralose. Cette différence peut être liée à l'anesthésique utilisé, aux conditions physiologiques d'expériences (comme la température) et au modèle utilisé pour la quantification (linéaire versus 3-phases). En effet, nous avons démontré dans le Chapitre 3 que le modèle linéaire pouvait entraîner chez le rat une sous-estimation de $CMRO_2$ en raison des hypothèses sur lesquelles il repose, notamment l'hypothèse $T_C \rightarrow 0$ s. Il est aussi important d'ajouter que, dans le cadre du modèle 3-phases, la valeur de $CMRO_2$ en $\mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ dépend de la valeur (D) utilisée pour la normalisation du signal d' $H_2^{17}O$. Pour nos mesures, nous n'avons pas vérifié cette valeur et nous avons fait l'hypothèse que $D = 16,07 \mu\text{mol.g}(\text{tissu cérébral})^{-1}$. D peut être obtenu à partir d'acquisitions IRM ($TR \gg T_1$ avec un angle de bascule connu) d'un fantôme avec des concentrations d' $H_2^{17}O$ connues. De cette façon, dans l'image obtenue, l'intensité du signal d'un voxel est proportionnelle au nombre de spins dans ce voxel. Les données sont ensuite combinées avec les concentrations connues de $H_2^{17}O$ pour créer une fonction de quantification permettant de convertir l'intensité de l'image RMN en moles d' $H_2^{17}O$ par voxel. Ainsi, il est possible de convertir le signal d'un échantillon d' $[H_2^{17}O]$ inconnu, comme le tissu cérébral, en moles d' $H_2^{17}O$ par voxel (Thulborn et Ackerman 1983; Atkinson et Thulborn 2010). Enfin, pour déterminer D, il est nécessaire de convertir la quantité obtenue d'eau dans le voxel, en quantité d'eau dans le tissu cérébral. Pour cela, un facteur $\beta_{\text{Cerveau}} = \frac{m_{\text{eau cérébrale}}(g)}{m_{\text{tissu cérébral}}(g)}$ de 0,79 a été mesuré (Ter-Pogossian et al. 1970; Pekar et al. 1995). Cependant, selon les régions du cerveau, la densité de tissu cérébral peut varier, affectant ainsi D et donc la quantification de $CMRO_2$. Pour prendre cette variabilité régionale en compte, Atkinson et Thulborn (Atkinson et Thulborn 2010) ont proposé des acquisitions IRM du sodium-23 (^{23}Na). En mesurant la concentration en sodium de différents compartiments du cerveau (tissu cérébral, CSF, sang) et en déterminant le volume de tissu dans chaque compartiment afin de corriger la masse du tissu cérébral dans le calcul de

CMRO₂ par IRM-¹⁷O. Une quantification absolue de CMRO₂ nécessiterait donc des acquisitions complémentaires. Néanmoins, dans le cadre de la présente étude, ce point n'affecte pas les résultats puisque nous calculons un Δ CMRO₂ entre voxels situés dans le S1HL/FL, dont on peut supposer qu'ils ont la même composition. En revanche, cela est à considérer lorsque l'on souhaite comparer ces valeurs de CMRO₂ à celles d'autres régions du cerveau de composition différente ou à d'autres mesures, provenant d'autres études.

Pour moyenniser deux acquisitions successives, nous avons fait l'hypothèse que CMRO₂ était stable pendant la durée totale des expériences. Cependant, chez l'homme, Mintun et al. (Mintun et al. 2002) rapportent que le recrutement de la voie oxydative peut changer au cours du temps lors d'une activation prolongée. En effet, ils mesurent un Δ CMRO₂ de 4,7 % après une minute de stimulation visuelle et de 15 % après 25 minutes, entre cortex stimulé et non stimulé. Nous ne pouvons pas exclure qu'un phénomène similaire ait lieu pendant nos mesures, même si nous essayons de faire nos expériences dans les conditions les plus stables possibles.

Dans la présente étude, une augmentation significative de CMRO₂ de **12 ± 5** (S.E.M.) % a été mesurée dans le S1HL/FL activé par rapport au controlatéral. Ce résultat est proche de l'augmentation de 15 % mesurée par Sonnay et al. chez le rat en réponse à une électrostimulation des pattes antérieures, par spectroscopie RMN du ¹³C (Sonnay et al. 2016). Pour rappel, chez l'homme Fox et al. ont mesuré une augmentation de 5 % dans le cortex visuel pendant une stimulation visuelle en utilisant la TEP-¹⁵O (Fox et al. 1988). Au niveau préclinique, Hyder et al. ont mesuré une augmentation de 200% (Hyder et al. 1996) dans le S1FL, en utilisant la spectroscopie du ¹³C pendant une électrostimulation des pattes antérieures du rat. Enfin, Zhu et al. ont mesuré, à l'aide de la spectroscopie de l'¹⁷O, une augmentation de 32% dans le cortex visuel de chats pendant une stimulation visuelle (Zhu et al. 2009). L'augmentation importante rapportée par Hyder et al. peut être remise en question comme elle est bien plus importante que les autres études utilisant la spectroscopie du ¹³C ou des techniques basées sur l'¹⁷O, incluant notre propre travail. Comme évoqué dans le Chapitre 2, la spectroscopie du ¹³C présente des limites de sensibilité, de résolution spatiale et temporelle, et repose sur une modélisation complexe pour la quantification de CMRO₂. La différence entre les valeurs rapportées peut aussi provenir du modèle animal utilisé. Il est possible que les réponses fonctionnelles soient différentes entre le chat et le rat par exemple. D'ailleurs, la réponse à une stimulation peut aussi dépendre du type de

stimulus (ici nous comparons des stimulations visuelles et électriques) ainsi que du paradigme utilisé. Les études citées ont utilisé un protocole de stimulation visuelle (Fox et al. 1988; Zhu et al. 2009) ou comme nous, d'électrostimulation (Hyder et al. 1996; Sonnay et al. 2016). Enfin, comme nous l'avons discuté dans le Chapitre 4 Partie 1, le type et la dose d'anesthésie utilisés peuvent avoir un impact significatif sur les résultats. Les mesures rapportées dans la littérature ont d'ailleurs été effectuées dans des conditions d'anesthésie différentes des nôtres. Zhu et al. ont utilisé l'isoflurane, connu pour augmenter la production de lactate, métabolite qui a potentiellement un fort impact sur le métabolisme énergétique (Pellerin et al. 1998). Sonnay et al. et Hyder et al. ont utilisé l' α -chloralose, un anesthésique auparavant souvent utilisé en IRMf (Williams et al. 2010). L' α -chloralose pourrait cependant modifier la réponse à une activation neuronale en entraînant des changements inattendus et incontrôlés dans la réponse neurophysiologique (Huttunen et al. 2008) et une diminution de CMR_{glc} et de CBF (Nakao et al. 2001). Mais, un comportement similaire a aussi été observé avec la médétomidine chez le rat (Sinclair 2003; Sirmipilatze et al. 2019). Enfin, il est possible que la valeur de $CMRO_2$ au repos ait une influence sur la valeur du $\Delta CMRO_2$ mesurée.

Il est important de mentionner qu'avec la résolution spatiale de nos acquisitions ($V_{eff} = 3,1 \text{ mm}^3$) un effet de volume partiel est présent. Dans certains cas, d'autres régions du cortex ou du corps calleux contenant des cellules non-activées peuvent être incluses dans les voxels sélectionnés et engendrer à une sous-estimation du $\Delta CMRO_2$. Pour limiter cet effet, les futurs développements de ce travail pourraient porter sur une amélioration de la résolution spatiale et l'inclusion d'une correction de volume partiel dans le traitement de données.

Les paramètres K_G et K_L ont augmenté de **19 ± 11** (S.E.M) % et **13 ± 7** (S.E.M) % respectivement. Ces deux paramètres étant par définition proportionnels à CBF, notre résultat suggère un couplage entre l'augmentation de CBF et de $CMRO_2$ en réponse à une activation. Cependant, la sensibilité de nos mesures sur ces paramètres ne nous permet pas de conclure et de valider l'une de ces hypothèses. Au niveau du cerveau entier, une corrélation forte a pu être établie entre ces paramètres et CBF. D'après la Figure 57 CBF serait d'ailleurs plus corrélé à K_L qu'à K_G . Pour rappel (Chapitre 3 Partie 2.3), $K_G = CBF \times$ (le flux dû à la diffusion de l'eau du sang vers le tissu) et $K_L = CBF \times$ (le flux dû à la diffusion de l'eau des mitochondries vers le sang) et selon la Figure 24, la 3^{ème} phase du signal d' $H_2^{17}O$ est plus sensible aux variations de K_L .

Pour conclure, nous avons réalisé une mesure de $CMRO_2$ pendant une activation chez le rat pour la première fois avec l'IRM- ^{17}O . Pour cela, nous avons établi un protocole d'électrostimulation compatible avec notre méthode de mesure. En réponse à l'électrostimulation unilatérale des pattes, nous avons mesuré une augmentation significative et systématique de $CMRO_2$ de 12 % dans le S1HL/FL du côté activé par rapport au côté controlatéral et une augmentation de K_G et K_L de 19 % et 13 % respectivement. Pour améliorer la sensibilité de détection de nos mesures des pistes peuvent encore être explorées telles que le développement de nouvelles antennes RF. En particulier, l'utilisation d'une cryosonde à la fréquence de l' ^{17}O pourrait nous permettre d'atteindre cet objectif et potentiellement de diminuer la résolution spatiale des acquisitions.

Chapitre 6 : EST-IL POSSIBLE DE REPOUSSER LES LIMITES DE RESOLUTION EN IRM-¹⁷O AVEC UNE CRYOSONDE ? : PREMIERE MESURE DE CMRO₂ PAR IRM-¹⁷O CHEZ LA SOURIS A 9,4 T

Les antennes cryogéniques sont des antennes RF refroidies à très basse température, généralement à l'aide d'azote liquide ou d'hélium liquide. Le refroidissement de la sonde a pour but d'améliorer la sensibilité et la qualité de l'image en IRM en réduisant le bruit thermique et en augmentant le SNR. Ainsi, les sondes cryogéniques peuvent permettre l'amélioration de la résolution spatiale, l'accélération de l'imagerie et l'amélioration de la détection de certains tissus (Darrasse et Ginefri 2003). Cette technologie est de plus en plus répandue pour l'IRM-¹H mais est moins fréquente pour des applications IRM des noyaux X, même si quelques applications en imagerie du ¹³C sont rapportées dans la littérature (Griffin et al. 2003; Sack et al. 2014; Sánchez-Heredia et al. 2020).

Un prototype d'antenne RF cryogénique à la fréquence de l'¹⁷O a été développée par Bruker pour un IRM 9,4 T (Augath et al. 2014). Cet outil a été mis à notre disposition au sein de la plateforme IRMaGe pour effectuer des tests en collaboration avec le laboratoire GIN (*Grenoble Institut de Neurosciences*).

Dans ce chapitre, nous présentons, après une courte introduction théorique, les tests préliminaires que nous avons effectués *in vivo* avec la cryosonde ¹⁷O, que nous mettrons en regard des données rapportées par Augath et al. (Augath et al. 2014), et de nos propres données acquises sur souris à 11.7T avec une sonde « chaude » (Baligand et al 2021).

1 INTRODUCTION THEORIQUE

1.1 Principe général

Le principe d'une antenne RF cryogénique consiste en une antenne RF refroidie à une température très basse, généralement à l'aide d'azote liquide (77 Kelvin) ou d'hélium liquide (4 Kelvin) (Darrasse et Ginefri 2003). Ce refroidissement améliore le SNR dans les expériences de RMN en réduisant le bruit thermique et en augmentant la sensibilité de l'antenne. Cependant, le gain en SNR peut être significatif seulement si le bruit propre de l'antenne (R_a) domine significativement le bruit induit par l'échantillon (R_i). En d'autres termes, pour avoir un gain en SNR à refroidir une antenne, il faut que le facteur de qualité de l'antenne à vide $Q_V = \frac{L\omega}{R_a}$ (avec R la résistance, L l'inductance et ω la fréquence de résonance) ne soit pas beaucoup supérieur au facteur de qualité de l'antenne en charge $Q_C = \frac{L\omega}{R_a+R_i}$. Cela donne pour une antenne chaude en charge :

$$Q_C \text{ Chaud} = \frac{L\omega}{R_a \text{ Chaud} + R_i}$$

et pour une antenne froide :

$$Q_C \text{ Froid} = \frac{L\omega}{R_a \text{ Froid} + R_i}$$

Dans le cas où le bruit de l'échantillon est grand devant le bruit de l'antenne ($R_i \gg R_a$), $Q_C \text{ Froid} = Q_C \text{ Chaud}$ et il n'y a pas d'intérêt de refroidir l'antenne RF. Ainsi, pour évaluer l'intérêt de la cryosonde, il faut comparer Q_C et Q_V : $\frac{Q_V}{Q_C} = 1 \Rightarrow \frac{Q_V - Q_C}{Q_C} = \frac{R_a}{R_i}$ et associer ce rapport au SNR : $SNR = \frac{1}{\sqrt{R_a + R_i}}$.

Si l'on suppose que la résistance de l'antenne est divisée par 3 lorsque l'on passe de 300 Kelvin à 30 Kelvin (température de la cryosonde ^{17}O), alors :

$$SNR_{\text{Chaud}} = \frac{1}{\sqrt{3R_a \text{ Froid} \cdot 300 + R_i \cdot 300}} \text{ et } SNR_{\text{Froid}} = \frac{1}{\sqrt{R_a \text{ Froid} \cdot 30 + R_i \cdot 300}}$$

Le gain en SNR $Gain = \frac{SNR_{\text{Chaud}}}{SNR_{\text{Froid}}}$ devient alors $Gain = \frac{\sqrt{3R_a \text{ Froid} \cdot 300 + R_i \cdot 300}}{\sqrt{R_a \text{ Froid} \cdot 30 + R_i \cdot 300}}$. Si R_i est négligeable par rapport à R_a , on obtient alors un gain de 5,5 ($Gain = \frac{\sqrt{900}}{\sqrt{30}} = 5,5$).

Maintenant, si R_i n'est pas négligeable mais vaut la moitié de R_a Chaud, alors :

$$R_i = \frac{R_a \text{Chaud}}{2} = \frac{3R_a \text{Froid}}{2},$$

il s'en suit :

$$\frac{Q_V - Q_C}{Q_C} = \frac{2}{3}$$

et le cryo refroidissement permet d'obtenir un gain de 1,7 seulement :

$$\text{Gain} = \frac{\sqrt{900+450}}{\sqrt{30+450}} = 1,7.$$

1.2 Gain théorique en SNR

Avec notre antenne RF de 10 mm, nous obtenons dans un voxel de $1,5 \text{ mm}^3$ un SNR allant de 5 à 20. En prenant cette gamme de SNR comme référence pour les antennes RF chaudes et en multipliant ces valeurs par les gains théoriques de 5,5 et de 1,7 calculés précédemment, nous obtenons des gammes théoriques de SNR avec la cryosonde allant de 27 à 110 et de 8 à 34, respectivement (Figure 58).

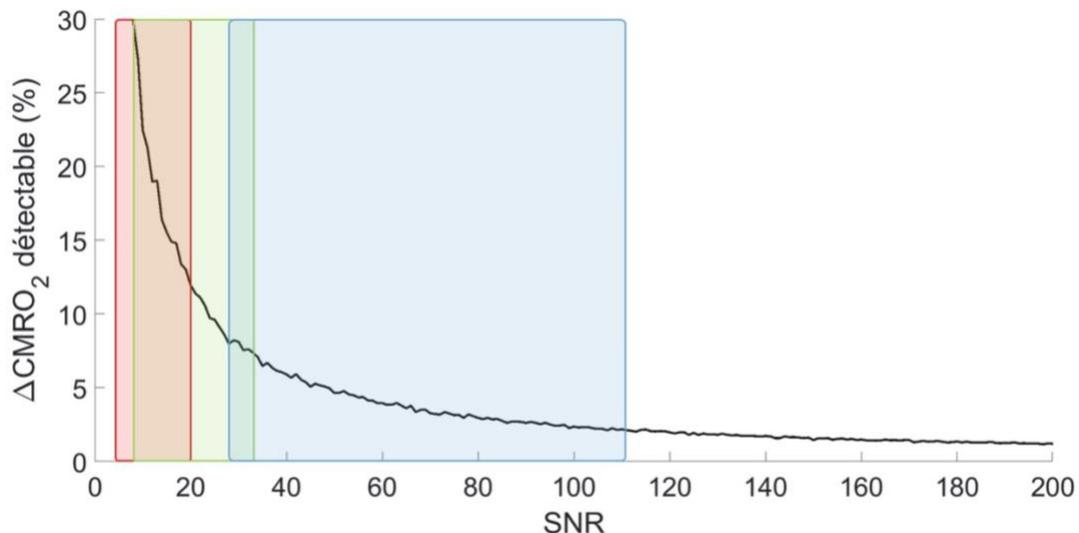


Figure 58 **Résultats de simulations Monte-Carlo montrant la limite de détectabilité (définie ici comme 2 déviations standards) exprimée en % d'un CMRO2 de référence théorique de $2.5 \mu\text{mol/g/min}$ en fonction du SNR.** La courbe représente un temps

d'inhalation de 4 min avec un taux d'enrichissement du gaz de 70%. La gamme de SNR, pour un voxel de $1,5 \times 1,5 \times 1,5 = 3,37 \text{ mm}^3$ nominal, ($3,1 \times 3,1 \times 3,1 = 29,79 \text{ mm}^3$ après filtrage de Hamming), de l'antenne RF « chaude » est indiquée avec l'encadré rouge et de l'antenne « froide » avec l'encadré vert pour un gain théorique de 1,7 et l'encadré bleu pour un gain théorique de 5,5.

Pour un SNR équivalent à celui obtenu en conditions « chaudes », un gain de 5,5 en conditions « froides » permettrait d'atteindre une résolution nominale théorique inférieure à 1 mm^3 , plus précisément un V_{nominal} de $0,61 \text{ mm}^3$ ($V_{\text{eff}} = 0,67 \text{ mm}^3$ après filtrage de hamming). Pour un gain de 1,7 à SNR équivalent, un V_{nominal} de $1,98 \text{ mm}^3$ (V_{eff} de $0,99 \text{ mm}^3$) pourrait être atteint.

2 MATERIELS ET METHODES

2.1 Acquisitions avec la cryosonde

Les acquisitions en conditions « froides » ont été effectuées avec un scanner Bruker 9,4 T. L'antenne cryogénique utilisée était constituée d'une boucle de 16 mm de diamètre placée sur un moule en céramique refroidi à 30 K. Pour l'imagerie ^1H , une antenne « selle de cheval » à température ambiante était intégrée dans le support de la cryosonde.

Les acquisitions ont été effectuées avec une souris C57BL/6 de 25 g sous médétomidine (injection d'un bolus à une dose de $0,3 \text{ mg.kg}^{-1}$ et infusion de $0,6 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$) avec une séquence ZTE (TR = 2,53 ms, NA = 1, FOV = $48 \times 48 \times 48 \text{ mm}^3$, matrice = $32 \times 32 \times 32$, bande passante = 8 kHz, durée d'impulsion RF = $5 \mu\text{s}$ (bp), puissance = 39 W) pendant une expérience d'inhalation de 150 ml de dioxygène enrichi en ^{17}O .

2.2 Acquisitions avec l'antenne « chaude »

Les acquisitions en conditions « chaudes » ont été effectuées avec un scanner Bruker 11,7 T. L'antenne RF chaude utilisée était une antenne RF de 10 mm de diamètre. Les acquisitions ont été effectuées avec une souris C57BL/6 femelle de 27 g sous médétomidine (injection d'un bolus à une dose de $0,12 \text{ mg.kg}^{-1}$ et infusion de $0,24 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$) avec une séquence ZTE (TR = 1,3 ms, NA = 4, FOV = $48 \times 48 \times 48 \text{ mm}^3$, matrice = $32 \times 32 \times 32$, bande passante = 18 kHz, durée d'impulsion RF = 5 μs , puissance = 100 W) pendant une expérience d'inhalation de 160 ml de dioxygène enrichi en ^{17}O sur une durée de 3,3 min.

2.3 Traitement et analyse des données

Pour permettre une comparaison des acquisitions dynamiques à résolution temporelle égale, les données acquises avec NA=1 (cryosonde) ont d'abord été sommées par paire consécutives. Pour les deux expériences, les étapes de traitement des données étaient ensuite similaires à celles décrites dans le chapitre 5. Un masque était appliqué pour restreindre l'analyse aux voxels avec un SNR > 5. Le modèle 3 phase a ensuite été ajusté sur les données filtrées spatialement (Hamming) et normalisées à $D = 16,07 \mu\text{mol.g}(\text{tissu cérébral})^{-1}$ avec un T_C de 3 secondes (Rovainen et al. 1993), pour générer une carte de CMRO_2 en $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ de tissus.

Pour comparaison, les données de Augath et al. (Augath et al. 2014) à 9,4 T ont été acquises avec la même cryosonde. Leurs acquisitions à l'abondance naturelle ont été effectuées avec des souris femelle C57BL/6 (23-25 g) sous isoflurane (1,5 %) avec une séquence 3D-FLASH (TE/TR = 1,763/10 ms, FOV = $32 \times 32 \times 16 \text{ mm}^3$, Matrice = $32 \times 32 \times 8$, bande passante = 18 kHz).

3 RESULTATS

Comme attendu du fait de leur différence de diamètre, le volume sensible (défini ici par $\text{SNR} \geq 10$) de l'antenne « chaude » se limite à une région de dimension $7,5 \times 4,5 \times 7,5 \text{ mm}^3$, tandis que pour la cryosonde, le volume sensible couvre presque l'entièreté du cerveau ($12 \times 4,5 \times 12 \text{ mm}^3$) (Figure 59). Dans une ROI centrale de 8 voxels, le SNR_t moyen est de $11,8 \pm 1,36$ avec l'antenne chaude et de $13,9 \pm 2,84$ pour la cryosonde, soit un gain en SNR_t de 1,2.

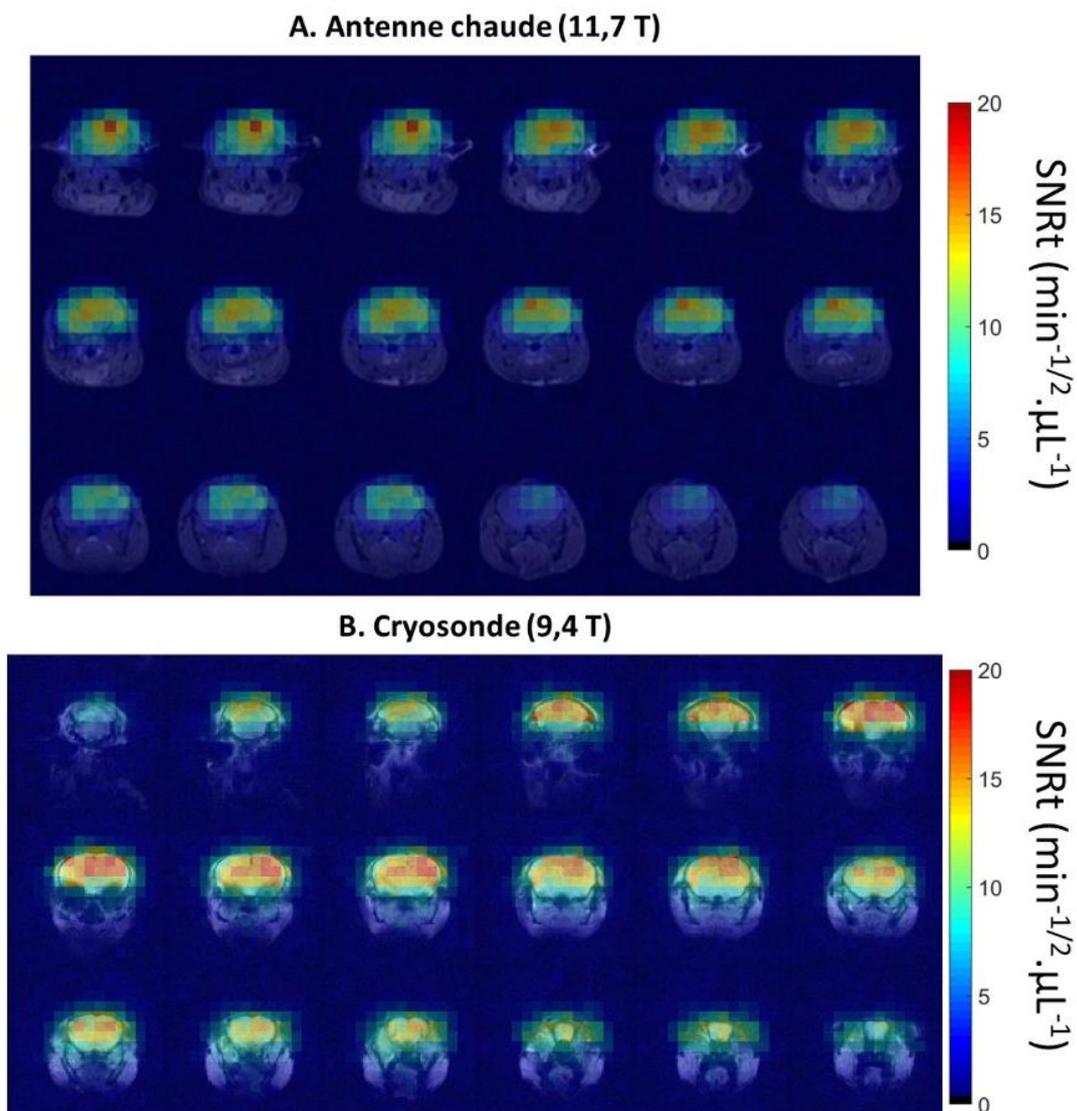


Figure 59 **Cartographies de SNRt obtenues en conditions A. « chaudes » (11,7 T) et en conditions B. « froides » (9,4 T), superposées à l'image anatomique correspondante (résolutions spatiales respectives : $0,26 \times 0,26 \times 0,50 \text{ mm}^3$ et $0,25 \times 0,25 \times 0,75 \text{ mm}^3$) du cerveau d'une souris.**

La carte de CMRO₂ obtenue avec l'antenne froide montre des résultats relativement uniformes dans le cerveau, avec un effet de volume partiel visible sur les voxels en bordure de crâne (Figure 60). Dans un voxel du S1HL/FL, nous avons pu mesurer une valeur de CMRO₂ de $2,66 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$.

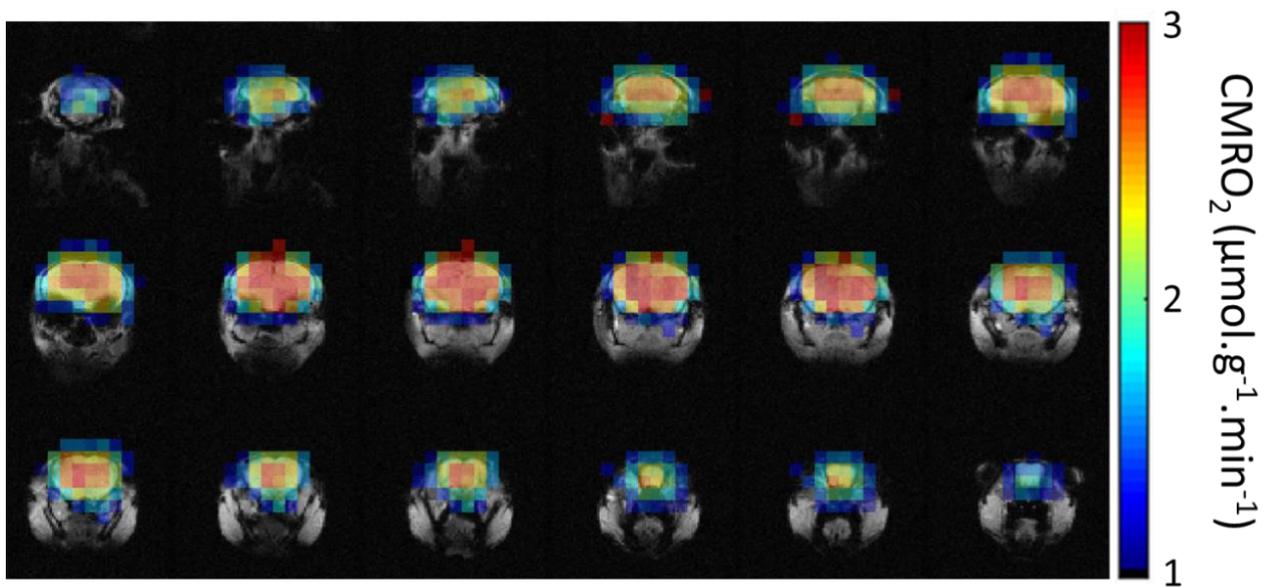


Figure 60 **Cartographie de CMRO₂ obtenue en conditions « froides » (9,4 T), superposées à l'image anatomique correspondante du cerveau d'une souris** (résolution spatiale : 0,25 x 0,25 x 0,75 mm³).

4 DISCUSSION ET CONCLUSION

Les résultats montrent un gain en volume sensible avec l'antenne cryogénique par rapport à l'antenne « chaude ». Cependant, le niveau de bruit de fond avec l'antenne « froide » est important, et le gain en SNRt est de 1,2 dans nos conditions. Il est important de considérer que l'antenne « chaude » a un diamètre inférieur à celui de la crysonde (10 mm vs 16 mm) et que les acquisitions ont été effectuées à un champ plus important, de 11.7 T. Ainsi, on peut supposer que le gain en SNRt dû au cryo-refroidissement ne pourrait être que supérieur si la comparaison était effectuée à champ magnétique et diamètre d'antenne égaux. Augath et al. (Augath et al. 2014) rapportaient un gain en SNR de 5,6 dans leur étude sur fantôme, ce qui suggère que $R_i < R_a\text{Froid}$.

Il est possible que nos conditions d'acquisitions puissent être davantage optimisées. En effet, nous présentons ici les résultats d'une unique session d'acquisition préliminaire, et des ajustements de puissance d'impulsion RF, ou de paramètres de la séquence pourraient aboutir à un gain plus important. Pour augmenter la sensibilité de la mesure de CMRO₂ dans de petits voxels, T_D pourrait également être allongé. Avec une meilleure résolution spatiale, il serait ainsi possible d'établir avec plus de précision une cartographie de CMRO₂ à l'échelle

de petites structures du cerveau. Les futurs objectifs sont donc d'optimiser les paramètres d'acquisition puis de diminuer la résolution spatiale pour effectuer notamment des études fonctionnelles avec un volume partiel minimal.

Malgré une amélioration légère du SNRt avec l'antenne cryo-refroidie, ces premiers résultats sont encourageants et laissent entrevoir le potentiel de la cryosonde pour des études d'activation fonctionnelle chez la souris grâce à une sensibilité et une résolution augmentée.

DISCUSSION GENERALE

L'objectif de ce travail de thèse était de développer un protocole de mesure de $CMRO_2$ avec l'IRM du ^{17}O pour mesurer les variations de $CMRO_2$ en réponse à une activation cérébrale, dans le but d'apporter des éléments de réponse à la question du recrutement du métabolisme oxydatif dans ces conditions.

Le potentiel de l'IRM- ^{17}O pour suivre en direct le signal de l' $H_2^{17}O$ en tant que traceur du métabolisme oxydatif ou de la perfusion tissulaire a été introduit à la fin des années 1980 (Mateescu et al. 1988, 1989; Arai et al. 1990; Pekar et al. 1991, 1995; Fiat et al. 1992, 1993). Pour commencer, $CMRO_2$ était déterminé à partir de la mesure par IRM- ^{17}O de CBF (injection d' $H_2^{17}O$) et d' $[H_2^{17}O]$ en excès de l'abondance naturelle au niveau du tissu cérébral et du sang artériel (inhalation d' $^{17}O_2$) (Pekar et al. 1991; Zhu et al. 2002). Un modèle linéaire, restreint à la phase d'inhalation du gaz enrichi en ^{17}O a ensuite été proposé par Zhang et al (Zhu et al. 2002). Ce modèle est applicable à condition que la durée d'inhalation soit courte pour éviter l'intégration d'effets non-linéaires par la recirculation d' $H_2^{17}O$. Cette condition est valide uniquement dans le cas où les échanges peuvent être considérés instantanés, ce qui revient à considérer que le paramètre de recirculation du sang T_C tend vers 0 s. Cependant, T_C est un paramètre dépendant du rythme cardiaque, il est par conséquent différent selon le sujet étudié et le protocole d'anesthésie utilisé. De plus, nos simulations démontrent que l'hypothèse $T_C \rightarrow 0$ s génère une sous-estimation importante de $CMRO_2$ dès que T_C atteint quelques secondes. Ne trouvant pas dans la littérature de valeur de référence pour T_C chez le rat dans nos conditions expérimentales, nous l'avons mesuré. Selon nos mesures, T_C est de l'ordre de 9 secondes chez le rat anesthésié sous médétomidine. Dans ce cas, l'utilisation du modèle linéaire génèrerait une sous-estimation de $CMRO_2$ de l'ordre de 16 % avec un $T_D = 4$ min. Ainsi, nous nous sommes dirigés vers un modèle plus complet, décrivant les variations du signal d' $H_2^{17}O$ avant, pendant et après une inhalation de gaz enrichi en ^{17}O et permettant de déterminer $CMRO_2$ ainsi que deux paramètres proportionnels à CBF : K_G et K_L (Atkinson et Thulborn 2010). Ce modèle a notamment été utilisé par Wiesner et al. (Wiesner et al. 2021) pour quantifier ces trois paramètres chez le rat anesthésié sous α -chloralose avec pour référence un T_C de 7 secondes mesuré sous pentorbital (Sapirstein 1958).

Avant de pouvoir appliquer ce modèle 3-phases au signal d' H_2^{17}O acquis pendant une inhalation de gaz enrichi en ^{17}O , plusieurs développements ont été nécessaires. Pour commencer, un protocole d'anesthésie a été choisi à partir de la littérature (Adamczak et al. 2010) puis caractérisé. En effet, les mesures peuvent être influencées par le type d'anesthésique utilisé ainsi que sa dose. Nous avons notamment constaté que la glycémie augmentait au cours du temps pendant l'administration de notre protocole d'anesthésie. Selon Brøndsted et Gjedde, (Brøndsted et Gjedde 1990) CMR_{glc} ne serait pas influencé par le niveau de glycémie à part dans des conditions d'hypoglycémie ou, à partir d'une concentration inférieure à $2,6 \text{ mmol.L}^{-1}$, une diminution de CMR_{glc} de 64 % a été mesurée dans le cerveau du rat. Ainsi, en conditions non à jeun, les effets de l'augmentation de la glycémie sur CMRO_2 devraient être minimes. Cependant, l'une des perspectives de ce projet est de mesurer CMR_{glc} à partir de la TEP au ^{18}F -FDG pour obtenir une cartographie d'OGI lors d'une stimulation. Dans des conditions de hautes concentrations en glucose dans le sang, le contraste des images TEP est diminué. Ce phénomène vient du fait que le glucose endogène et le ^{18}F -FDG sont en compétition pour les mêmes transporteurs (GLUT-1, GLUT-3), une glycémie élevée affecte donc la sensibilité des mesures de TEP (Hamidian Jahromi et al. 2014; Sarikaya et al. 2020). Dans ces conditions, si l'on souhaite cartographier l'OGI dans le cerveau d'un rat, il sera nécessaire d'adapter notre protocole d'anesthésie et de mise à jeun, pour qu'il soit compatible avec les deux modalités d'imagerie que l'on souhaite utiliser. Une autre perspective serait de faire de l'imagerie de l'animal éveillé, mais cela nécessite des développements et l'entraînement de l'animal pour limiter son stress lors des acquisitions (Chen et al. 2020). En effet, il a été démontré que le stress augmente le lactate plasmatique et la concentration cérébrale en lactate (Bickhardt et al. 1983; Thurston et Hauhart 1989; Li et al. 2022). Comme le lactate est étroitement lié au métabolisme énergétique (Magistretti et Allaman 2018), il est important de limiter les épisodes de stress pendant les acquisitions pour éviter son impact sur les mesures.

Des développements instrumentaux ont dû être effectués en amont des mesures de variations de CMRO_2 en réponse à une stimulation. Par exemple, un système d'administration de gaz enrichi en ^{17}O a été développé. Avec cet outil, le débit envoyé peut être ajusté et le gaz peut être délivré automatiquement à partir de la séquence, ce qui a permis d'homogénéiser les acquisitions entre elles. Cependant, une intervention manuelle est nécessaire pour ajuster le débit des gaz envoyé dans le masque en dehors de la période

d'inhalation de gaz enrichi en ^{17}O et pour faire la transition entre ces deux systèmes d'administration de gaz. Pour rendre les acquisitions encore plus robustes, un travail d'automatisation plus complet basé sur des électrovannes doit être effectué. Enfin, il est possible que les gaz envoyés se mélangent à l'air ambiant au niveau du masque. Dans ce cas, l'enrichissement en ^{17}O annoncé par *Nukem Isotope* peut être diminué ($\alpha < 70\%$). Pour contourner ce problème, il serait donc intéressant d'intuber les animaux.

Par la suite, des antennes RF ont été développées pour l'acquisition du signal de l' H_2^{17}O . La sélection de l'antenne RF adaptée à la mesure simultanée de CMRO_2 dans le S1HL/FL activé et controlatéral a été faite en s'appuyant sur les simulations de SNR effectuées. En effet, celles-ci révèlent que le biais et la dispersion sur la détermination de CMRO_2 augmentent lorsque le SNR diminue. Parmi les antennes RF développées, l'antenne de 10 mm est celle qui présente le SNRt le plus important au niveau des S1HL/FL, nous avons donc choisi cette dernière pour les mesures de CMRO_2 pendant une électrostimulation. Néanmoins, le SNRt de cette antenne est trop faible au niveau du S1BF pour mesurer CMRO_2 en réponse à la stimulation des vibrisses, par exemple. Une telle mesure pourrait cependant apporter une information complémentaire aux mesures effectuées lors d'une électrostimulation. En effet, comme l'organisation du S1BF est très différente du S1HL/FL (Diamond et al. 2008; Ueno et al. 2018) et que la stimulation effectuée est de type mécanique et non électrique, on peut s'attendre à ce que ΔCMRO_2 soit différent. Chen et al., ont d'ailleurs constaté que la stimulation des vibrisses donnait une réponse BOLD plus importante que d'autres stimuli chez la souris éveillée (Chen et al. 2020). Mais pour effectuer ces mesures complémentaires chez le rat, une antenne RF avec un volume sensible plus large serait nécessaire. C'est pourquoi le développement de nouvelles antennes a été entamé. Nous avons aussi eu l'occasion unique de faire des mesures préliminaires de CMRO_2 chez la souris avec une antenne cryogénique à la fréquence de l' ^{17}O (Augath et al. 2014). Un gain en SNRt intéressant pourrait être atteint à 11.7 T avec cet outil, offrant ainsi la perspective de cartographier CMRO_2 avec une meilleure sensibilité mais surtout de manière mieux résolue qu'en conditions « chaudes » dans le cerveau de la souris. Cette technique est cependant applicable à des échantillons de petits volumes, il n'est par conséquent pas envisageable de l'utiliser pour imager le cerveau du rat. Dans ce cas, le choix de la séquence d'acquisition peut encore permettre d'améliorer les conditions de SNRt.

La comparaison entre des acquisitions CSI et ZTE à la fréquence de l' ^{17}O ont permis de constater que le SNRt obtenu avec la séquence ZTE était le plus important. Nous avons donc

choisi d'utiliser cette séquence pour la mesure de $CMRO_2$ par IRM- ^{17}O . Avec cette séquence, le signal est acquis radialement. Pour améliorer la résolution des cartographies de $CMRO_2$, des stratégies de remplissage de l'espace k et de reconstruction d'image pourraient être utilisées. Par exemple, Liu et al. ont proposé de combiner un échantillonnage radial basé sur le « *golden-ratio* » avec une reconstruction pondérée des projections de l'espace-k permettant notamment d'améliorer la résolution temporelle des images (Liu et al. 2018).

Pour mesurer les variations de $CMRO_2$, de K_G et K_L en réponse à une activation cérébrale, un protocole d'activation unilatéral a été conçu. Cela a permis d'évaluer l'effet du stimulus sur le métabolisme oxydatif ($CMRO_2$) et vasculaire (BOLD, K_G et K_L), dans une région activée comparé au côté controlatéral. Cette approche offre la possibilité de faire une comparaison dans les mêmes conditions physiologiques et de SNRt. Pour optimiser les paramètres de stimulation, l'IRMf BOLD a été utilisée pour évaluer la durée et le volume de la réponse vasculaire. Grâce à ces mesures, un paradigme permettant d'atteindre les objectifs de compatibilité avec les acquisitions successives d'IRM- ^{17}O de 55 minutes et de résolution spatiale $1,5 \times 1,5 \times 1,5 \text{ mm}^3$ a été trouvé. Avec ce protocole, une augmentation de 12 ± 5 (S.E.M.) % a été mesurée dans le S1HL/FL activé par rapport au controlatéral. Ce résultat est proche de l'augmentation de 15 % mesurée par Sonnay et al. chez le rat en réponse à une électrostimulation des pattes antérieures, par spectroscopie RMN du ^{13}C (Sonnay et al. 2016). Il est cependant difficile de comparer notre $\Delta CMRO_2$ à celui obtenu dans d'autres études puisqu'il est dépendant du sujet et du protocole d'anesthésie utilisée. Aussi, avec la résolution spatiale de nos acquisitions, ($V_{\text{eff}} = 3,1 \text{ mm}^3$) un effet de volume partiel est présent pouvant aboutir à une sous-estimation du $\Delta CMRO_2$. Pour limiter cet effet, les futurs développements de ce travail pourraient porter sur une amélioration de la résolution spatiale et l'inclusion d'une correction de volume partiel dans le traitement de données.

Les paramètres K_G et K_L ont augmenté de **19 ± 11** (S.E.M) % et **13 ± 7** (S.E.M) % respectivement. Ces deux paramètres étant par définition proportionnels à CBF, notre résultat suggère un couplage entre l'augmentation de CBF et de $CMRO_2$ en réponse à une activation. Cependant, la sensibilité de nos mesures sur ces paramètres ne nous permet pas de conclure et de valider l'une de ces hypothèses.

Dans le cadre d'une stimulation générant un $\Delta CMRO_2$, ΔK_G et ΔK_L plus important, il pourrait être possible de déterminer avec plus de précision les valeurs de ces variations dans nos conditions de SNRt. Avec une cryosonde, il serait aussi possible de reproduire nos

expériences chez la souris, pour tenter de répondre avec une meilleure sensibilité de mesure à la question du couplage neurométabolique et neurovasculaire.

Pour conclure, les développements effectués pendant ce projet de thèse ont permis de mesurer, pour la première fois avec l'IRM du ^{17}O , une augmentation de CMRO_2 , dans le cortex du rat, en réponse à une électrostimulation. Même si des développements restent encore nécessaires pour augmenter le SNR des acquisitions et réduire la résolution spatiale des cartographies, ces résultats prouvent la faisabilité de la mesure de CMRO_2 en réponse à une stimulation par IRM- ^{17}O à l'échelle du cerveau du rat. Les développements effectués permettent aussi d'envisager des applications dans des modèles animaux de maladies neurodégénératives pour étudier les effets potentiels sur le métabolisme oxydatif et identifier de nouveaux biomarqueurs. Plus généralement, la mesure de CMRO_2 peut apporter une information importante dans le cas de nombreuses physiopathologies, en recherche préclinique ou clinique. En effet, les applications chez l'homme deviennent aujourd'hui une perspective envisageable, grâce au développement d'IRM de recherche clinique à très haut champ (≥ 7 T). Néanmoins, à l'échelle d'un sujet humain, ce type d'expérience représente un coût non négligeable étant donné le volume important requis de dioxygène enrichi en ^{17}O . La mesure de CMRO_2 est donc encore aujourd'hui absente de la routine clinique mais a déjà trouvé des applications en recherche. Un groupe du *German Cancer Research Center* (DKFZ) à Heidelberg a rapporté plusieurs mesures de CMRO_2 à 7 T dans le cerveau de patients atteints d'un glioblastome (Hoffmann et al. 2014; Paech et al. 2020) et plus récemment chez un patient atteint d'un accident vasculaire cérébral (Ebersberger et al. 2023). Ces applications confirment la faisabilité de la mesure de CMRO_2 chez l'homme avec l'IRM du ^{17}O et permettent d'envisager cette technique pour le suivi des cancers, de maladies cardiovasculaires et pour le diagnostic précoce de maladies neurodégénératives.

BIBLIOGRAPHIE

- Adamczak JM, Farr TD, Seehafer JU, Kalthoff D, Hoehn M. High field BOLD response to forepaw stimulation in the mouse. *NeuroImage*. 1 juin 2010;51(2):704-12.
- Agarwal N, Carare RO. Cerebral Vessels: An Overview of Anatomy, Physiology, and Role in the Drainage of Fluids and Solutes. *Front Neurol*. 13 janv 2021;11:611485.
- Ahmad M, Wolberg A, Kahwaji CI. Biochemistry, Electron Transport Chain. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [cité 22 mars 2023]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526105/>
- Aksenov DP, Li L, Miller MJ, Iordanescu G, Wyrwicz AM. Effects of Anesthesia on BOLD Signal and Neuronal Activity in the Somatosensory Cortex. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1 nov 2015;35(11):1819-26.
- An H, Lin W. Quantitative measurements of cerebral blood oxygen saturation using magnetic resonance imaging. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. août 2000;20(8):1225-36.
- Anderson AW, Heptulla RA, Driesen N, Flanagan D, Goldberg PA, Jones TW, et al. Effects of hypoglycemia on human brain activation measured with fMRI. *Magn Reson Imaging*. juill 2006;24(6):693-7.
- Arai T, Mori K, Nakao S ichi, Watanabe K, Kito K, Aoki M, et al. In vivo oxygen-17 nuclear magnetic resonance for the estimation of cerebral blood flow and oxygen consumption. *Biochem Biophys Res Commun*. 16 sept 1991;179(2):954-61.
- Arai T, Nakao S ichi, Mori K, Ishimori K, Morishima I, Miyazawa T, et al. Cerebral oxygen utilization analyzed by the use of oxygen-17 and its nuclear magnetic resonance. *Biochem Biophys Res Commun*. 31 mai 1990;169(1):153-8.
- Arai T, Nakao S ichi, Morikawa S, Inubushi T, Yokoi T, Shimizu K, et al. Measurement of Local Cerebral Blood Flow By Magnetic Resonance Imaging: In Vivo Autoradiographic Strategy Using 17O-Labeled Water. *Brain Res Bull*. 15 mars 1998;45(5):451-6.
- Arnoux I. Rôles et caractérisation de la microglie dans le développement du néocortex somatosensoriel de la souris. [Université Paris Descartes]; 2014.
- Atkinson IC, Thulborn KR. Feasibility of mapping the tissue mass corrected bioscale of cerebral metabolic rate of oxygen consumption using 17-oxygen and 23-sodium MR imaging in a human brain at 9.4T. *NeuroImage*. 1 juin 2010;51(2):723-33.

- Augath MA, Seuwen A, Zwick S, Rudin M. Increase in sensitivity and signal stability in 17O MRI using a cryogenic RF probe. *Proc Intl Soc Mag Reson Med*. 2014;22:2972.
- Azevedo FAC, Carvalho LRB, Grinberg LT, Farfel JM, Ferretti REL, Leite REP, et al. Equal numbers of neuronal and nonneuronal cells make the human brain an isometrically scaled-up primate brain. *J Comp Neurol*. 2009;513(5):532-41.
- Bain AR, Hoiland RL, Donnelly J, Nowak-Flück D, Sekhon M, Tymko MM, et al. Cerebral metabolism, oxidation and inflammation in severe passive hyperthermia with and without respiratory alkalosis. *J Physiol*. 2020;598(5):943-54.
- Bain AR, Morrison SA, Ainslie PN. Cerebral oxygenation and hyperthermia. *Front Physiol*. 4 mars 2014;5:92.
- Bak LK, Walls AB. CrossTalk opposing view: lack of evidence supporting an astrocyte-to-neuron lactate shuttle coupling neuronal activity to glucose utilisation in the brain. *J Physiol*. 1 févr 2018;596(3):351-3.
- Baligand C, Barret O, Tourais A, Pérot JB, Thenadey D, Petit F, et al. Zero Echo Time 17O-MRI Reveals Decreased Cerebral Metabolic Rate of Oxygen Consumption in a Murine Model of Amyloidosis. *Metabolites*. 22 avr 2021;11(5):263.
- Bandara AB, Drake JC, Brown DA. Complex II subunit SDHD is critical for cell growth and metabolism, which can be partially restored with a synthetic ubiquinone analog. *BMC Mol Cell Biol*. 12 juin 2021;22(1):35.
- van de Bank BL, Orzada S, Smits F, Lagemaat MW, Rodgers CT, Bitz AK, et al. Optimized (31)P MRS in the human brain at 7 T with a dedicated RF coil setup. *NMR Biomed*. nov 2015;28(11):1570-8.
- Barros LF, Weber B. CrossTalk proposal: an important astrocyte-to-neuron lactate shuttle couples neuronal activity to glucose utilisation in the brain. *J Physiol*. 2018;596(3):347-50.
- Bartheld CS von, Bahney J, Herculano-Houzel S. The search for true numbers of neurons and glial cells in the human brain: A review of 150 years of cell counting. *J Comp Neurol*. 2016;524(18):3865-95.
- Basu S, Kwee TC, Surti S, Akin EA, Yoo D, Alavi A. Fundamentals of PET and PET/CT imaging. *Ann N Y Acad Sci*. juin 2011;1228:1-18.
- Becq GJPC, Habet T, Collomb N, Faucher M, Delon-Martin C, Coizet V, et al. Functional connectivity is preserved but reorganized across several anesthetic regimes. *NeuroImage*. 1 oct 2020;219:116945.

- Bélanger M, Allaman I, Magistretti PJ. Brain Energy Metabolism: Focus on Astrocyte-Neuron Metabolic Cooperation. *Cell Metab.* 7 déc 2011;14(6):724-38.
- Bickhardt K, Büttner D, Müschen U, Plonait H. Influence of bleeding procedure and some environmental conditions on stress-dependent blood constituents of laboratory rats. *Lab Anim.* avr 1983;17(2):161-5.
- Blockley NP, Griffeth VEM, Simon AB, Buxton RB. A review of calibrated blood oxygenation level-dependent (BOLD) methods for the measurement of task-induced changes in brain oxygen metabolism. *NMR Biomed.* 2013;26(8):987-1003.
- Bordone MP, Salman MM, Titus HE, Amini E, Andersen JV, Chakraborti B, et al. The energetic brain – A review from students to students. *J Neurochem.* 2019;151(2):139-65.
- Borowiak R, Groebner J, Haas M, Hennig J, Bock M. Direct cerebral and cardiac ^{17}O -MRI at 3 Tesla: initial results at natural abundance. *Magn Reson Mater Phys Biol Med.* 1 févr 2014;27(1):95-9.
- Boumezbeur F, Besret L, Valette J, Gregoire MC, Delzescaux T, Maroy R, et al. Glycolysis versus TCA Cycle in the Primate Brain as Measured by Combining ^{18}F -FDG PET and ^{13}C -NMR. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1 nov 2005;25(11):1418-23.
- Boumezbeur F, Petersen KF, Cline GW, Mason GF, Behar KL, Shulman GI, et al. The Contribution of Blood Lactate to Brain Energy Metabolism in Humans Measured by Dynamic ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *J Neurosci.* 20 oct 2010;30(42):13983-91.
- Bouzier-Sore AK, Voisin P, Bouchaud V, Bezancon E, Franconi JM, Pellerin L. Competition between glucose and lactate as oxidative energy substrates in both neurons and astrocytes: a comparative NMR study. *Eur J Neurosci.* 2006;24(6):1687-94.
- Boxerman JL, Hamberg LM, Rosen BR, Weisskoff RM. Mr contrast due to intravascular magnetic susceptibility perturbations. *Magn Reson Med.* 1995;34(4):555-66.
- Bremmer JP, van Berckel BNM, Persoon S, Kappelle LJ, Lammertsma AA, Kloet R, et al. Day-to-day test-retest variability of CBF, CMRO₂, and OEF measurements using dynamic ^{15}O PET studies. *Mol Imaging Biol.* août 2011;13(4):759-68.
- Brøndsted HE, Gjedde A. Glucose phosphorylation rate in rat parietal cortex during normoglycemia, hypoglycemia, acute hyperglycemia, and in diabetes-prone rats. *Acta Neurol Scand.* 1990;81(3):233-6.
- Brown TR, Ugurbil K, Shulman RG. ^{31}P nuclear magnetic resonance measurements of ATPase kinetics in aerobic *Escherichia coli* cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* déc

1977;74(12):5551-3.

Budinger TF, Bird MD. MRI and MRS of the human brain at magnetic fields of 14T to 20T: Technical feasibility, safety, and neuroscience horizons. *NeuroImage*. 1 mars 2018;168:509-31.

Bulte DP, Kelly M, Germuska M, Xie J, Chappell MA, Okell TW, et al. Quantitative measurement of cerebral physiology using respiratory-calibrated MRI. *NeuroImage*. mars 2012;60(1):582-91.

Cabezas R, Ávila M, Gonzalez J, El-Bachá RS, Báez E, García-Segura LM, et al. Astrocytic modulation of blood brain barrier: perspectives on Parkinson's disease. *Front Cell Neurosci*. 4 août 2014;8:211.

Cai M, Wang H, Song H, Yang R, Wang L, Xue X, et al. Lactate Is Answerable for Brain Function and Treating Brain Diseases: Energy Substrates and Signal Molecule. *Front Nutr*. 28 avr 2022;9:800901.

Camandola S, Mattson MP. Brain metabolism in health, aging, and neurodegeneration. *EMBO J*. juin 2017;36(11):1474-92.

Charagundla SR, Duvvuri U, Noyszewski EA, Dandora R, Stolpen AH, Leigh JS, et al. 17O-decoupled (1)H spectroscopy and imaging with a surface coil: STEAM decoupling. *J Magn Reson San Diego Calif 1997*. mars 2000;143(1):39-44.

Charagundla SR, Stolpen AH, Leigh JS, Reddy R. Off-resonance proton T1p dispersion imaging of 17O-enriched tissue phantoms. *Magn Reson Med*. 1998;39(4):588-95.

Chechko N, Vocke S, Habel U, Toygar T, Kuckartz L, Berthold-Losleben M, et al. Effects of overnight fasting on working memory-related brain network: An fMRI study. *Hum Brain Mapp*. 2015;36(3):839-51.

Chen JJ, Pike GB. Global cerebral oxidative metabolism during hypercapnia and hypocapnia in humans: implications for BOLD fMRI. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. juin 2010;30(6):1094-9.

Chen W, Zhu XH, Gruetter R, Seaquist ER, Adriany G, Ugurbil K. Study of tricarboxylic acid cycle flux changes in human visual cortex during hemifield visual stimulation using (1)H-[(13)C] MRS and fMRI. *Magn Reson Med*. mars 2001;45(3):349-55.

Chen X, Tong C, Han Z, Zhang K, Bo B, Feng Y, et al. Sensory evoked fMRI paradigms in awake mice. *NeuroImage*. 1 janv 2020;204:116242.

Cho J, Kee Y, Spincemille P, Nguyen T, Zhang J, Gupta A, et al. Cerebral Metabolic Rate of

Oxygen (CMRO₂) Mapping by Combining Quantitative Susceptibility Mapping (QSM) and Quantitative Blood Oxygenation Level Dependent Imaging (qBOLD). *Magn Reson Med.* oct 2018;80(4):1595-604.

Christen T, Bolar DS, Zaharchuk G. Imaging brain oxygenation with MRI using blood oxygenation approaches: methods, validation, and clinical applications. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2013;34(6):1113-23.

Christen T, Bouzat P, Pannetier N, Coquery N, Moisan A, Lemasson B, et al. Tissue oxygen saturation mapping with magnetic resonance imaging. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab.* sept 2014;34(9):1550-7.

Christen T, Lemasson B, Pannetier N, Farion R, Segebarth C, Rémy C, et al. Evaluation of a quantitative blood oxygenation level-dependent (qBOLD) approach to map local blood oxygen saturation. *NMR Biomed.* 2011;24(4):393-403.

Conti M, Eriksson L. Physics of pure and non-pure positron emitters for PET: a review and a discussion. *EJNMMI Phys.* 23 mai 2016;3(1):8.

de Crespigny AJ, D'Arceuil HE, Engelhorn T, Moseley ME. MRI of focal cerebral ischemia using (17)O-labeled water. *Magn Reson Med.* juin 2000;43(6):876-83.

Cui W, Zhu XH, Vollmers ML, Colonna ET, Adriany G, Tramm B, et al. Non-invasive measurement of cerebral oxygen metabolism in the mouse brain by ultra-high field 17O MR spectroscopy. *J Cereb Blood Flow Metab.* déc 2013a;33(12):1846-9.

Cui W, Zhu XH, Vollmers ML, Colonna ET, Adriany G, Tramm B, et al. Non-invasive measurement of cerebral oxygen metabolism in the mouse brain by ultra-high field 17O MR spectroscopy. *J Cereb Blood Flow Metab.* déc 2013b;33(12):1846-9.

Daghighian F, Sumida R, Phelps ME. PET Imaging: An Overview and Instrumentation. *J Nucl Med Technol.* 1 mars 1990;18(1):5-13.

Darrasse L, Ginefri JC. Perspectives with cryogenic RF probes in biomedical MRI. *Biochimie.* 1 sept 2003;85(9):915-37.

Davis TL, Kwong KK, Weisskoff RM, Rosen BR. Calibrated functional MRI: Mapping the dynamics of oxidative metabolism. *Proc Natl Acad Sci.* 17 févr 1998;95(4):1834-9.

Deborne J. Micro-antennes RMN implantables pour la spectroscopie et l'imagerie métabolique. [Bordeaux]: Université de Bordeaux; 2022.

Delgado T, Petralia RS, Freeman DW, Sedlacek M, Wang YX, Brenowitz SD, et al. Comparing 3D ultrastructure of presynaptic and postsynaptic mitochondria. *Biol Open.* 1 août

2019;8(8):bio044834.

- Delphin A. Development of MR fingerprinting for brain oxygenation mapping [Internet] [phdthesis]. [Grenoble]: Université Grenoble Alpes; 2022. Disponible sur: <https://theses.hal.science/tel-04003704>
- DeYoe EA, Raut RV. Visual mapping using blood oxygen level dependent functional magnetic resonance imaging. *Neuroimaging Clin N Am*. nov 2014;24(4):573-84.
- Diamond ME, von Heimendahl M, Knutsen PM, Kleinfeld D, Ahissar E. « Where » and « what » in the whisker sensorimotor system. *Nat Rev Neurosci*. août 2008;9(8):601-12.
- Díaz-García CM, Mongeon R, Lahmann C, Koveal D, Zucker H, Yellen G. Neuronal Stimulation Triggers Neuronal Glycolysis and Not Lactate Uptake. *Cell Metab*. 1 août 2017;26(2):361-374.e4.
- Dienel GA. Brain Glucose Metabolism: Integration of Energetics with Function. *Physiol Rev*. 1 janv 2019;99(1):949-1045.
- Driesen NR, Goldberg PA, Anderson AW, Tang L, Flanagan DE, Sherwin RS, et al. Hypoglycemia reduces the blood-oxygenation level dependent signal in primary auditory and visual cortex: A functional magnetic resonance imaging study. *J Neurosci Res*. 2007;85(3):575-82.
- Driver ID, Wise RG, Murphy K. Graded Hypercapnia-Calibrated BOLD: Beyond the Iso-metabolic Hypercapnic Assumption. *Front Neurosci*. 18 mai 2017;11:276.
- Ebersberger L, Kratzer FJ, Potreck A, Niesporek SC, Keymling M, Nagel AM, et al. First application of dynamic oxygen-17 magnetic resonance imaging at 7 Tesla in a patient with early subacute stroke. *Front Neurosci* [Internet]. 2023 [cité 31 août 2023];17. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnins.2023.1186558>
- Englund EK, Fernández-Seara MA, Rodríguez-Soto AE, Lee H, Rodgers ZB, Vidorreta M, et al. Calibrated fMRI for dynamic mapping of CMRO₂ responses using MR-based measurements of whole-brain venous oxygen saturation. *J Cereb Blood Flow Metab*. juill 2020;40(7):1501-16.
- Erecińska M, Silver IA. ATP and Brain Function. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1 févr 1989;9(1):2-19.
- Fan AP, An H, Moradi F, Rosenberg J, Ishii Y, Nariai T, et al. Quantification of brain oxygen extraction and metabolism with [15O]-gas PET: A technical review in the era of PET/MRI. *NeuroImage*. oct 2020;220:117136.

- Fan AP, Benner T, Bolar DS, Rosen BR, Adalsteinsson E. Phase-based regional oxygen metabolism (PROM) using MRI. *Magn Reson Med*. 2012;67(3):669-78.
- Faurie B. Les coenzymes [Internet]. Bioscience.fun. 2023 [cité 22 févr 2023]. Disponible sur: <https://bioscience.fun/bts-biac/bts-biac-biochimie/biochimie-module02-chapitre04-les-coenzymes/>
- Fernández-Montoya J, Avendaño C, Negredo P. The Glutamatergic System in Primary Somatosensory Neurons and Its Involvement in Sensory Input-Dependent Plasticity. *Int J Mol Sci*. janv 2018;19(1):69.
- Ferreira NC, Trébossen R, Lartizien C, Brulon V, Merceron P, Bendriem B. A hybrid scatter correction for 3D PET based on an estimation of the distribution of unscattered coincidences: Implementation on the ECAT EXACT HR+. *Phys Med Biol*. 2002;47(9):1555-71.
- Fiat D, Dolinsek J, Hankiewicz J, Dujovny M, Ausman J. Determination of regional cerebral oxygen consumption in the human: ^{17}O Natural abundance cerebral Magnetic Resonance Imaging and spectroscopy in a whole body system. *Neurol Res*. 1 août 1993;15(4):237-48.
- Fiat D, Ligeti L, Lyon RC, Ruttner Z, Pekar J, Moonen CTW, et al. In vivo ^{17}O NMR study of rat brain during $^{17}\text{O}_2$ inhalation. *Magn Reson Med*. 1992;24(2):370-4.
- Figley CR, Stroman PW. The role(s) of astrocytes and astrocyte activity in neurometabolism, neurovascular coupling, and the production of functional neuroimaging signals. *Eur J Neurosci*. 2011;33(4):577-88.
- Fox MD, Raichle ME. Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging. *Nat Rev Neurosci*. sept 2007;8(9):700-11.
- Fox PT. The Coupling Controversy. *NeuroImage*. 15 août 2012;62(2):594-601.
- Fox PT, Raichle ME, Mintun MA, Dence C. Nonoxidative Glucose Consumption During Focal Physiologic Neural Activity. *Science*. 22 juill 1988;241(4864):462-4.
- Frackowiak RS, Lenzi GL, Jones T, Heather JD. Quantitative measurement of regional cerebral blood flow and oxygen metabolism in man using ^{15}O and positron emission tomography: theory, procedure, and normal values. *J Comput Assist Tomogr*. déc 1980;4(6):727-36.
- Frackowiak RSJ, Herold S, Petty RKH, Morgan-Hughes JA. THE CEREBRAL METABOLISM OF GLUCOSE AND OXYGEN MEASURED WITH POSITRON TOMOGRAPHY IN PATIENTS WITH MITOCHONDRIAL DISEASES. *Brain*. 1988;111(5):1009-24.

- Frass-Kriegel R, Laistler E, Hosseinezhadian S, Schmid AI, Moser E, Poirier-Quinot M, et al. Multi-turn multi-gap transmission line resonators – Concept, design and first implementation at 4.7 T and 7 T. *J Magn Reson.* déc 2016;273:65-72.
- Glaser JA. A study of water in biological systems of O-17 magnetic resonance spectroscopy. I. Preliminary studies and enon hydrates. *Proc Natl Acad Sci.* mars 1966;55(3):479-85.
- de Graaf RA, Brown PB, Rothman DL, Behar KL. Natural Abundance 17O NMR Spectroscopy of Rat Brain In Vivo. *J Magn Reson San Diego Calif* 1997. juill 2008;193(1):63-7.
- Grandjean J, Desrosiers-Gregoire G, Anckaerts C, Angeles-Valdez D, Ayad F, Barrière DA, et al. StandardRat: A multi-center consensus protocol to enhance functional connectivity specificity in the rat brain [Internet]. *bioRxiv*; 2022. p. 2022.04.27.489658. Disponible sur: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2022.04.27.489658v1>
- Grandjean J, Schroeter A, Batata I, Rudin M. Optimization of anesthesia protocol for resting-state fMRI in mice based on differential effects of anesthetics on functional connectivity patterns. *NeuroImage.* 15 nov 2014;102:838-47.
- Griffin JL, Keun H, Richter C, Moskau D, Rae C, Nicholson JK. Compartmentation of metabolism probed by [2-13C]alanine: improved 13C NMR sensitivity using a CryoProbe detects evidence of a glial metabolon. *Neurochem Int.* janv 2003;42(1):93-9.
- Gruber B, Froeling M, Leiner T, Klomp DWJ. RF coils: A practical guide for nonphysicists. *J Magn Reson Imaging.* sept 2018;48(3):590-604.
- Gruetter R, Seaquist ER, Ugurbil K. A mathematical model of compartmentalized neurotransmitter metabolism in the human brain. *Am J Physiol-Endocrinol Metab.* juill 2001;281(1):E100-12.
- Gudino N, Griswold MA. Multi-Turn Transmit Coil to Increase B1 Efficiency in Current Source Amplification. *Magn Reson Med.* 2013;69(4):1180-5.
- Haacke EM, Brown RW, Thompson MR, Venkatesan R. Signal, Contrast, and Noise. In: *Magnetic Resonance Imaging* [Internet]. John Wiley & Sons, Ltd; 2014 [cité 25 mai 2023]. p. 325-73. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781118633953.ch15>
- Haim LB, Rowitch DH. Functional diversity of astrocytes in neural circuit regulation. *Nat Rev Neurosci.* janv 2017;18(1):31-41.
- Hamidian Jahromi A, Fallahzadeh MK, Takalkar A, Sheng J, Zibari G, Shokouh Amiri H. Impact of Plasma Glucose Level at the Time of Fluorodeoxyglucose Administration on the

Accuracy of FDG-PET/CT in the Diagnosis of Pancreatic Lesions. *Int J Endocrinol Metab.* 1 oct 2014;12(4):e16429.

Harris JJ, Jolivet R, Attwell D. Synaptic Energy Use and Supply. *Neuron.* sept 2012;75(5):762-77.

Hatazawa J, Ito M, Matsuzawa T, Ido T, Watanuki SI. Measurement of the Ratio of Cerebral Oxygen Consumption to Glucose Utilization by Positron Emission Tomography: Its Consistency with the Values Determined by the Kety-Schmidt Method in Normal Volunteers. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1 juin 1988;8(3):426-32.

He X, Yablonskiy DA. Quantitative BOLD: Mapping of human cerebral deoxygenated blood volume and oxygen extraction fraction: Default state. *Magn Reson Med.* 2007;57(1):115-26.

Herman P, Sangahalli BG, Blumenfeld H, Rothman DL, Hyder F. Quantitative basis for neuroimaging of cortical laminae with calibrated functional MRI. *Proc Natl Acad Sci.* 10 sept 2013;110(37):15115-20.

Hermán P, Trübel HKF, Hyder F. A multiparametric assessment of oxygen efflux from the brain. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab.* janv 2006;26(1):79-91.

Hernandez D, Kim KN. A Review on the RF Coil Designs and Trends for Ultra High Field Magnetic Resonance Imaging. *Investig Magn Reson Imaging.* 2020;24(3):95.

Hoffmann SH, Begovatz P, Nagel AM, Umatham R, Schommer K, Bachert P, et al. A measurement setup for direct ^{17}O MRI at 7 T. *Magn Reson Med.* 2011;66(4):1109-15.

Hoffmann SH, Radbruch A, Bock M, Semmler W, Nagel AM. Direct ^{17}O MRI with partial volume correction: first experiences in a glioblastoma patient. *Magn Reson Mater Phys Biol Med.* 1 déc 2014;27(6):579-87.

Hopkins AL, Barr RG. Oxygen-17 compounds as potential NMR T2 contrast agents: enrichment effects of $\text{H}_2(^{17}\text{O})$ on protein solutions and living tissues. *Magn Reson Med.* avr 1987;4(4):399-403.

Hopkins AL, Haacke EM, Tkach J, Barr RG, Bratton CB. Improved sensitivity of proton MR to oxygen-17 as a contrast agent using fast imaging: detection in brain. *Magn Reson Med.* juin 1988;7(2):222-9.

Hopkins AL, Lust WD, Haacke EM, Wielopolski P, Barr RG, Bratton CB. The stability of proton T2 effects of oxygen-17 water in experimental cerebral ischemia. *Magn Reson Med.* nov 1991;22(1):167-74.

- Hsieh MC, Kuo LW, Huang YA, Chen JH. Investigating hyperoxic effects in the rat brain using quantitative susceptibility mapping based on MRI phase. *Magn Reson Med*. 2017;77(2):592-602.
- Hsieh MC, Tsai CY, Liao MC, Yang JL, Su CH, Chen JH. Quantitative Susceptibility Mapping-Based Microscopy of Magnetic Resonance Venography (QSM-mMRV) for In Vivo Morphologically and Functionally Assessing Cerebromicrovasculature in Rat Stroke Model. *PLoS One*. 2016;11(3):e0149602.
- Huttunen JK, Gröhn O, Penttonen M. Coupling between simultaneously recorded BOLD response and neuronal activity in the rat somatosensory cortex. *NeuroImage*. 15 janv 2008;39(2):775-85.
- Hyder F. Neuroimaging With Calibrated fMRI. *Stroke*. nov 2004;35(11_suppl_1):2635-41.
- Hyder F, Behar KL, Martin MA, Blamire AM, Shulman RG. Dynamic magnetic resonance imaging of the rat brain during forepaw stimulation. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. juill 1994;14(4):649-55.
- Hyder F, Chase JR, Behar KL, Mason GF, Siddeek M, Rothman DL, et al. Increased tricarboxylic acid cycle flux in rat brain during forepaw stimulation detected with $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ NMR. *Proc Natl Acad Sci*. 23 juill 1996;93(15):7612-7.
- Hyder F, Kida I, Behar KL, Kennan RP, Maciejewski PK, Rothman DL. Quantitative functional imaging of the brain: towards mapping neuronal activity by BOLD fMRI. *NMR Biomed*. nov 2001;14(7-8):413-31.
- Hyder F, Rothman DL, Mason GF, Rangarajan A, Behar KL, Shulman RG. Oxidative glucose metabolism in rat brain during single forepaw stimulation: a spatially localized $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ nuclear magnetic resonance study. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. oct 1997;17(10):1040-7.
- Hyder F, Sanganahalli BG, Herman P, Coman D, Maandag NJG, Behar KL, et al. Neurovascular and Neurometabolic Couplings in Dynamic Calibrated fMRI: Transient Oxidative Neuroenergetics for Block-Design and Event-Related Paradigms. *Front Neuroenergetics*. 19 août 2010;2:18.
- Hyder F, Shulman RG, Rothman DL. A model for the regulation of cerebral oxygen delivery. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. août 1998;85(2):554-64.
- Ito H, Kanno I, Kato C, Sasaki T, Ishii K, Ouchi Y, et al. Database of normal human cerebral blood flow, cerebral blood volume, cerebral oxygen extraction fraction and cerebral metabolic rate of oxygen measured by positron emission tomography with ^{15}O -

labelled carbon dioxide or water, carbon monoxide and oxygen: a multicentre study in Japan. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. mai 2004;31(5):635-43.

Itoh Y, Esaki T, Shimoji K, Cook M, Law MJ, Kaufman E, et al. Dichloroacetate effects on glucose and lactate oxidation by neurons and astroglia in vitro and on glucose utilization by brain in vivo. *Proc Natl Acad Sci*. 15 avr 2003;100(8):4879-84.

Jaeger C, Nuttall R, Zimmermann J, Dowsett J, Preibisch C, Sorg C, et al. Targeted rhythmic visual stimulation at individual participants' intrinsic alpha frequency causes selective increase of occipitoparietal BOLD-fMRI and EEG functional connectivity. *NeuroImage*. 15 avr 2023;270:119981.

Kety SS, Schmidt CF. The determination of cerebral blood flow in man by the use of nitrous oxide in low concentrations. *Am J Physiol*. 1945;143:53-66.

Kida I, Kennan RP, Rothman DL, Behar KL, Hyder F. High-Resolution CMRO₂ Mapping in Rat Cortex: A Multiparametric Approach to Calibration of BOLD Image Contrast at 7 Tesla. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1 mai 2000;20(5):847-60.

Kingsley-Hickman PB, Sako EY, Mohanakrishnan P, Robitaille PM, From AH, Foker JE, et al. ³¹P NMR studies of ATP synthesis and hydrolysis kinetics in the intact myocardium. *Biochemistry*. 17 nov 1987;26(23):7501-10.

Kint LT, Seewoo BJ, Hyndman TH, Clarke MW, Edwards SH, Rodger J, et al. The Pharmacokinetics of Medetomidine Administered Subcutaneously during Isoflurane Anaesthesia in Sprague-Dawley Rats. *Animals*. juin 2020;10(6):1050.

Kirst C, Skriabine S, Vieites-Prado A, Topilko T, Bertin P, Gerschenfeld G, et al. Mapping the Fine-Scale Organization and Plasticity of the Brain Vasculature. *Cell*. 20 févr 2020;180(4):780-795.e25.

Kobayashi M, Mori T, Kiyono Y, Tiwari VN, Maruyama R, Kawai K, et al. Cerebral oxygen metabolism of rats using injectable (15)O-oxygen with a steady-state method. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. janv 2012;32(1):33-40.

Kohn N, Wassenberg A, Toygar T, Kellermann T, Weidenfeld C, Berthold-Losleben M, et al. Prolonged fasting impairs neural reactivity to visual stimulation. *Brain Struct Funct*. janv 2016;221(1):147-58.

Korzowski A, Weckesser N, Franke VL, Breitling J, Goerke S, Schlemmer HP, et al. Mapping an Extended Metabolic Profile of Gliomas Using High-Resolution ³¹P MRSI at 7T. *Front Neurol*. 2021;12:735071.

Kreutzberg GW. Microglia: a sensor for pathological events in the CNS. *Trends Neurosci*.

août 1996;19(8):312-8.

- Kudomi N, Hirano Y, Koshino K, Hayashi T, Watabe H, Fukushima K, et al. Rapid quantitative CBF and CMRO₂ measurements from a single PET scan with sequential administration of dual ¹⁵O-labeled tracers. *J Cereb Blood Flow Metab.* mars 2013;33(3):440-8.
- Kühlbrandt W. Structure and function of mitochondrial membrane protein complexes. *BMC Biol.* 29 oct 2015;13(1):89.
- Kurzhunov D, Borowiak R, Hass H, Wagner P, Krafft AJ, Timmer J, et al. Quantification of oxygen metabolic rates in Human brain with dynamic ¹⁷O MRI: Profile likelihood analysis. *Magn Reson Med.* 2017;78(3):1157-67.
- Kurzhunov D, Borowiak R, Reisert M, Özen AC, Bock M. Direct estimation of ¹⁷O MR images (DIESIS) for quantification of oxygen metabolism in the human brain with partial volume correction. *Magn Reson Med.* 2018;80(6):2717-25.
- Kwong KK, Hopkins AL, Belliveau JW, Chesler DA, Porkka LM, McKinstry RC, et al. Proton NMR imaging of cerebral blood flow using H₂(¹⁷)O. *Magn Reson Med.* nov 1991;22(1):154-8.
- Larson PEZ, Han M, Krug R, Jakary A, Nelson SJ, Vigneron DB, et al. Ultrashort Echo Time and Zero Echo Time MRI at 7T. *Magma N Y N.* juin 2016;29(3):359-70.
- Lebon V, Petersen KF, Cline GW, Shen J, Mason GF, Dufour S, et al. Astroglial Contribution to Brain Energy Metabolism in Humans Revealed by ¹³C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy: Elucidation of the Dominant Pathway for Neurotransmitter Glutamate Repletion and Measurement of Astrocytic Oxidative Metabolism. *J Neurosci.* 1 mars 2002;22(5):1523-31.
- Leenders KL, Perani D, Lammertsma AA, Heather JD, Buckingham P, Healy MJ, et al. Cerebral blood flow, blood volume and oxygen utilization. Normal values and effect of age. *Brain J Neurol.* févr 1990;113 (Pt 1):27-47.
- Lei H, Ugurbil K, Chen W. Measurement of unidirectional Pi to ATP flux in human visual cortex at 7 T by using in vivo ³¹P magnetic resonance spectroscopy. *Proc Natl Acad Sci.* 25 nov 2003;100(24):14409-14.
- Leontiev O, Dubowitz DJ, Buxton RB. CBF/CMRO₂ Coupling Measured with Calibrated-BOLD fMRI: Sources of Bias. *NeuroImage.* 15 juill 2007;36(4):1110-22.
- Li X, Yang Y, Zhang B, Lin X, Fu X, An Y, et al. Lactate metabolism in human health and disease. *Signal Transduct Target Ther.* 1 sept 2022;7(1):1-22.

- Li Z. Développement de réseaux d'antennes supraconductrices pour l'Imagerie par Résonance Magnétique haute résolution à champ intermédiaire [Internet]. [Orsay]: Université Paris-Saclay; 2016. Disponible sur: <https://theses.hal.science/tel-01337202/document>
- Lin AL, Qin Q, Zhao X, Duong TQ. Blood longitudinal (T1) and transverse (T2) relaxation time constants at 11.7 Tesla. *Magma N Y N*. juin 2012;25(3):245.
- Liu C, Wei H, Gong NJ, Cronin M, Dibb R, Decker K. Quantitative Susceptibility Mapping: Contrast Mechanisms and Clinical Applications. *Tomography*. sept 2015;1(1):3-17.
- Liu Y, Zhang Y, Wu C, Zhu J, Wang C, Tomko N, et al. High-resolution dynamic oxygen-17 MR imaging of mouse brain with golden-ratio-based radial sampling and k-space-weighted image reconstruction: Dynamic ¹⁷O-MRI of Mouse Brain. *Magn Reson Med*. janv 2018;79(1):256-63.
- López-Ojeda W, Hurley RA. Ketone Bodies and Brain Metabolism: New Insights and Perspectives for Neurological Diseases. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. avr 2023;35(2):104-9.
- Lou S, Lepak VC, Eberly LE, Roth B, Cui W, Zhu XH, et al. Oxygen consumption deficit in Huntington disease mouse brain under metabolic stress. *Hum Mol Genet*. 1 juill 2016;25(13):2813-26.
- Lu M, Chen W, Zhu XH. Field dependence study of in vivo brain 31P MRS up to 16.4 T. *NMR Biomed*. 2014;27(9):1135-41.
- Lu M, Zhang Y, Ugurbil K, Chen W, Zhu XH. In Vitro and In Vivo Studies of 17O NMR Sensitivity at 9.4 and 16.4 Tesla. *Magn Reson Med*. juin 2013;69(6):1523-7.
- Macaïsa CM, Watabe T, Liu Y, Romanov V, Kanai Y, Horitsugi G, et al. Preserved Cerebral Oxygen Metabolism in Astrocytic Dysfunction: A Combination Study of 15O-Gas PET with 14C-Acetate Autoradiography. *Brain Sci*. mai 2019;9(5):101.
- Madsen PL, Hasselbalch SG, Hagemann LP, Olsen KS, Bülow J, Holm S, et al. Persistent resetting of the cerebral oxygen/glucose uptake ratio by brain activation: evidence obtained with the Kety-Schmidt technique. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. mai 1995;15(3):485-91.
- Magistretti PJ, Allaman I. A Cellular Perspective on Brain Energy Metabolism and Functional Imaging. *Neuron*. mai 2015;86(4):883-901.
- Magistretti PJ, Allaman I. Lactate in the brain: from metabolic end-product to signalling molecule. *Nat Rev Neurosci*. avr 2018;19(4):235-49.

- Magota K, Shiga T, Asano Y, Shinyama D, Ye J, Perkins AE, et al. Scatter Correction with Combined Single-Scatter Simulation and Monte Carlo Simulation Scaling Improved the Visual Artifacts and Quantification in 3-Dimensional Brain PET/CT Imaging with ^{15}O -Gas Inhalation. *J Nucl Med*. 1 déc 2017;58(12):2020-5.
- Malonek D, Grinvald A. Interactions between electrical activity and cortical microcirculation revealed by imaging spectroscopy: implications for functional brain mapping. *Science*. 26 avr 1996;272(5261):551-5.
- Mandal A, Drerup CM. Axonal Transport and Mitochondrial Function in Neurons. *Front Cell Neurosci* [Internet]. 2019 [cité 9 juill 2023];13. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncel.2019.00373>
- Mandeville JB, Marota JJA, Ayata C, Moskowitz MA, Weisskoff RM, Rosen BR. MRI measurement of the temporal evolution of relative CMRO₂ during rat forepaw stimulation. *Magn Reson Med*. 1999;42(5):944-51.
- Mangia S, Giove F, Tkáč I, Logothetis NK, Henry PG, Olman CA, et al. Metabolic and hemodynamic events after changes in neuronal activity: current hypotheses, theoretical predictions and in vivo NMR experimental findings. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. mars 2009;29(3):441-63.
- Martínez-Reyes I, Chandel NS. Mitochondrial TCA cycle metabolites control physiology and disease. *Nat Commun*. 3 janv 2020;11(1):102.
- Mateescu GD, Cabrera ME. In vivo ^{17}O magnetic resonance spectroscopy. Determination of temperature effects on metabolic rates (Q₁₀ factor). *Adv Exp Med Biol*. 1997;411:585-90.
- Mateescu GD, Yvars GM, Dular T. Water ions and oxygen 17 magnetic resonance imaging. *Water Ions Biol Syst*. 1 janv 1988;(Ed):Basel, Switzerland; Boston, Massachusetts, Usa Illus 239-250.
- Mateescu GD, Yvars GM, Pazara DI, Alldridge NA, LaManna JC, Lust WD, et al. Combined $^{17}\text{O}/^1\text{H}$ magnetic resonance microscopy in plants, animals and materials: present status and potential. *Synth Appl Isot Label Compd*. 1989;39(6):565.
- Meiboom S. Nuclear Magnetic Resonance Study of the Proton Transfer in Water. *J Chem Phys*. févr 1961;34(2):375-88.
- Mellon EA, Beesam RS, Baumgardner JE, Borthakur A, Witschey WR, Reddy R. Estimation of the regional cerebral metabolic rate of oxygen consumption with proton detected ^{17}O MRI during precision $^{17}\text{O}_2$ inhalation in swine. *J Neurosci Methods*. 30 avr

2009;179(1):29-39.

Mellon EA, Beesam RS, Elliott MA, Reddy R. Mapping of cerebral oxidative metabolism with MRI. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 29 juin 2010;107(26):11787-92.

Menon RS, Ogawa S, Hu X, Strupp JP, Anderson P, Uğurbil K. BOLD Based Functional MRI at 4 Tesla Includes a Capillary Bed Contribution: Echo-Planar Imaging Correlates with Previous Optical Imaging Using Intrinsic Signals. *Magn Reson Med*. 1995;33(3):453-9.

Mergenthaler P, Lindauer U, Dienel GA, Meisel A. Sugar for the brain: the role of glucose in physiological and pathological brain function. *Trends Neurosci*. oct 2013;36(10):587-97.

Mintun MA, Lundstrom BN, Snyder AZ, Vlassenko AG, Shulman GL, Raichle ME. Blood flow and oxygen delivery to human brain during functional activity: Theoretical modeling and experimental data. *Proc Natl Acad Sci*. 5 juin 2001;98(12):6859-64.

Mintun MA, Raichle ME, Martin WRW, Herscovitch P. Brain Oxygen Utilization Measured with O-15 Radiotracers and Positron Emission Tomography. *J Nucl Med*. 2 janv 1984;25(2):177-87.

Mintun MA, Vlassenko AG, Shulman GL, Snyder AZ. Time-related increase of oxygen utilization in continuously activated human visual cortex. *NeuroImage*. juin 2002;16(2):531-7.

Moog S, Favier J. Rôle de la succinate déshydrogénase dans le cancer. *médecine/sciences*. mars 2022;38(3):255-62.

Morgello S, Uson RR, Schwartz EJ, Haber RS. The human blood-brain barrier glucose transporter (GLUT1) is a glucose transporter of gray matter astrocytes. *Glia*. 1995;14(1):43-54.

Nakao Y, Itoh Y, Kuang TY, Cook M, Jehle J, Sokoloff L. Effects of anesthesia on functional activation of cerebral blood flow and metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 19 juin 2001;98(13):7593-8.

Neveu MA, Joudiou N, Preter GD, Dehoux JP, Jordan BF, Gallez B. 17O MRS assesses the effect of mild hypothermia on oxygen consumption rate in tumors. *NMR Biomed*. 2017;30(8):e3726.

Niesporek SC, Umatham R, Lommen JM, Behl NGR, Paech D, Bachert P, et al. Reproducibility of CMRO₂ determination using dynamic 17O MRI. *Magn Reson Med*. 2018;79(6):2923-34.

- Ogawa S, Lee TM, Nayak AS, Glynn P. Oxygenation-sensitive contrast in magnetic resonance image of rodent brain at high magnetic fields. *Magn Reson Med.* avr 1990;14(1):68-78.
- Ogawa S, Menon RS, Tank DW, Kim SG, Merkle H, Ellermann JM, et al. Functional brain mapping by blood oxygenation level-dependent contrast magnetic resonance imaging. A comparison of signal characteristics with a biophysical model. *Biophys J.* mars 1993;64(3):803-12.
- O'Sullivan JD. A fast sinc function gridding algorithm for fourier inversion in computer tomography. *IEEE Trans Med Imaging.* 1985;4(4):200-7.
- Paech D, Nagel AM, Schultheiss MN, Umathum R, Regnery S, Scherer M, et al. Quantitative Dynamic Oxygen 17 MRI at 7.0 T for the Cerebral Oxygen Metabolism in Glioma. *Radiology.* avr 2020;295(1):181-9.
- Palmas P, Canet D. Mobilité moléculaire et RMN. *Société Chim Fr SCF.* 2012;(364-365):97.
- Pantano P, Baron JC, Crouzel C, Collard P, Sirou P, Samson Y. The 15O continuous-inhalation method: Correction for intravascular signal using C15O. *Eur J Nucl Med.* 1985;10(9-10):387-91.
- Park TY, Nishida KS, Wilson CM, Jaiswal S, Scott J, Hoy AR, et al. Effects of isoflurane anesthesia and intravenous morphine self-administration on regional glucose metabolism ([18 F]FDG-PET) of male Sprague-Dawley rats. *Eur J Neurosci.* avr 2017;45(7):922-31.
- Pauling L, Coryell CD. The Magnetic Properties and Structure of Hemoglobin, Oxyhemoglobin and Carbonmonoxyhemoglobin. *Proc Natl Acad Sci.* avr 1936;22(4):210-6.
- Pekar J, Ligeti L, Ruttner Z, Lyon RC, Sinnwell TM, Gerderen P van, et al. In Vivo measurement of cerebral oxygen consumption and blood flow using 17O magnetic resonance imaging. *Magn Reson Med.* 1991;21(2):313-9.
- Pekar J, Sinnwell T, Ligeti L, Chesnick AS, Frank JA, McLaughlin AC. Simultaneous Measurement of Cerebral Oxygen Consumption and Blood Flow Using ¹⁷O and ¹⁹F Magnetic Resonance Imaging. *J Cereb Blood Flow Metab.* mars 1995;15(2):312-20.
- Pellerin L. How astrocytes feed hungry neurons. *Mol Neurobiol.* août 2005;32(1):59-72.
- Pellerin L. Neuroenergetics: Astrocytes Have a Sweet Spot for Glucose. *Curr Biol.* 5 nov 2018;28(21):R1258-60.
- Pellerin L, Bouzier-Sore AK, Aubert A, Serres S, Merle M, Costalat R, et al. Activity-dependent

regulation of energy metabolism by astrocytes: an update. *Glia*. sept 2007;55(12):1251-62.

Pellerin L, Pellegrini G, Bittar PG, Charnay Y, Bouras C, Martin JL, et al. Evidence Supporting the Existence of an Activity-Dependent Astrocyte-Neuron Lactate Shuttle. *Dev Neurosci*. 1998;20(4-5):291-9.

Peng W, Tan C, Mo L, Jiang J, Zhou W, Du J, et al. Glucose transporter 3 in neuronal glucose metabolism: Health and diseases. *Metabolism*. 1 oct 2021;123:154869.

Quirk JD, Bretthorst GL, Duong TQ, Snyder AZ, Springer Jr. CS, Ackerman JJH, et al. Equilibrium water exchange between the intra- and extracellular spaces of mammalian brain. *Magn Reson Med*. 2003;50(3):493-9.

Raichle ME, Grubb RL, Eichling JO, Ter-Pogossian MM. Measurement of brain oxygen utilization with radioactive oxygen-15: experimental verification. *J Appl Physiol*. avr 1976;40(4):638-40.

Rajendran M, Dane E, Conley J, Tantama M. Imaging Adenosine Triphosphate (ATP). *Biol Bull*. août 2016;231(1):73-84.

Reddy R, Stolpen AH, Charagundla SR, Insko EK, Leigh JS. ¹⁷O-decoupled ¹H detection using a double-tuned coil. *Magn Reson Imaging*. 1 janv 1996;14(9):1073-8.

Reddy R, Stolpen AH, Leigh JS. Detection of ¹⁷O by Proton T1ρ Dispersion Imaging. *J Magn Reson B*. 1 sept 1995;108(3):276-9.

Redfors B, Shao Y, Omerovic E. Influence of anesthetic agent, depth of anesthesia and body temperature on cardiovascular functional parameters in the rat. *Lab Anim*. 1 janv 2014;48(1):6-14.

Rigoulet M, Bouchez CL, Paumard P, Ransac S, Cuvellier S, Duvezin-Caubet S, et al. Cell energy metabolism: An update. *Biochim Biophys Acta Bioenerg*. 1 nov 2020;1861(11):148276.

Rodgers ZB, Detre JA, Wehrli FW. MRI-based methods for quantification of the cerebral metabolic rate of oxygen. *J Cereb Blood Flow Metab*. juill 2016;36(7):1165-85.

Rodrigues TB, Cerdán S. ¹³C MRS: An outstanding tool for metabolic studies. *Concepts Magn Reson Part A*. 2005;27A(1):1-16.

Rodrigues TB, Valette J, Bouzier-Sore AK. (¹³C) NMR spectroscopy applications to brain energy metabolism. *Front Neuroenergetics*. 9 déc 2013;5:9.

- Rogosnitzky M, Branch S. Gadolinium-based contrast agent toxicity: a review of known and proposed mechanisms. *BioMetals*. 1 juin 2016;29(3):365-76.
- Ronen I, Lee JH, Merkle H, Ugurbil K, Navon G. Imaging H₂¹⁷O distribution in a phantom and measurement of metabolically produced H₂¹⁷O in live mice by proton NMR. *NMR Biomed*. 1997;10(7):333-40.
- Ronen I, Navon G. A new method for proton detection of H₂(¹⁷O) with potential applications for functional MRI. *Magn Reson Med*. déc 1994;32(6):789-93.
- Rovainen CM, Woolsey TA, Blocher NC, Wang DB, Robinson OF. Blood Flow in Single Surface Arterioles and Venules on the Mouse Somatosensory Cortex Measured with Videomicroscopy, Fluorescent Dextran, Nonoccluding Fluorescent Beads, and Computer-Assisted Image Analysis. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1 mai 1993;13(3):359-71.
- Sack M, Wetterling F, Sartorius A, Ende G, Weber-Fahr W. Signal-to-noise ratio of a mouse brain ¹³C CryoProbe™ system in comparison with room temperature coils: spectroscopic phantom and in vivo results. *NMR Biomed*. 2014;27(6):709-15.
- Sánchez-Heredia JD, Baron R, Hansen ESS, Laustsen C, Zhurbenko V, Ardenkjaer-Larsen JH. Autonomous cryogenic RF receive coil for ¹³C imaging of rodents at 3 T. *Magn Reson Med*. juill 2020;84(1):497-508.
- San-Millán I, Brooks GA. Reexamining cancer metabolism: lactate production for carcinogenesis could be the purpose and explanation of the Warburg Effect. *Carcinogenesis*. févr 2017;38(2):119-33.
- Sapirstein LA. Regional Blood Flow by Fractional Distribution of Indicators. *Am J Physiol-Leg Content*. 31 mars 1958;193(1):161-8.
- Sarikaya I, Albatineh AN, Sarikaya A. Effect of various blood glucose levels on regional FDG uptake in the brain. *Asia Ocean J Nucl Med Biol*. 2020;8(1):46-53.
- Schurr A. Glycolysis Paradigm Shift Dictates a Reevaluation of Glucose and Oxygen Metabolic Rates of Activated Neural Tissue. *Front Neurosci*. 2018;12:700.
- Shih CM, Lo HC, Hsieh MC, Chen JH. Functional quantitative susceptibility mapping (fQSM) of rat brain during flashing light stimulation. *NeuroImage*. 1 juin 2021;233:117924.
- Shulman RG, Hyder F, Rothman DL. Biophysical basis of brain activity: implications for neuroimaging. *Q Rev Biophys*. août 2002;35(3):287-325.
- Shulman RG, Rothman DL, Behar KL, Hyder F. Energetic basis of brain activity: implications

for neuroimaging. *Trends Neurosci.* août 2004;27(8):489-95.

Sinclair MD. A review of the physiological effects of α_2 -agonists related to the clinical use of medetomidine in small animal practice. *Can Vet J.* nov 2003;44(11):885-97.

Sirmpilatze N, Baudewig J, Boretius S. Temporal stability of fMRI in medetomidine-anesthetized rats. *Sci Rep.* déc 2019;9(1):16673.

Skoff RP, Benjamins JA. Oligodendrocytes. In: Aminoff MJ, Daroff RB, éditeurs. *Encyclopedia of the Neurological Sciences (Second Edition)* [Internet]. Oxford: Academic Press; 2014 [cité 29 août 2023]. p. 643-7. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123851574001883>

Sofroniew MV, Vinters HV. Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol (Berl).* 1 janv 2010;119(1):7-35.

Sonnay S, Duarte JM, Just N, Gruetter R. Compartmentalised energy metabolism supporting glutamatergic neurotransmission in response to increased activity in the rat cerebral cortex: A ^{13}C MRS study in vivo at 14.1 T. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1 mai 2016;36(5):928-40.

Stolpen AH, Reddy R, Leigh JS. ^{17}O -Decoupled Proton MR Spectroscopy and Imaging in a Tissue Model. *J Magn Reson.* 1 mars 1997;125(1):1-7.

Taylor DR, Baumgardner JE, Regatte RR, Leigh JS, Reddy R. Proton MRI of metabolically produced $^2\text{H}_2\text{O}$ using an efficient $^{17}\text{O}_2$ delivery system. *NeuroImage.* 1 juin 2004;22(2):611-8.

Temma T, Koshino K, Moriguchi T, Enmi J, Iida H. PET Quantification of Cerebral Oxygen Metabolism in Small Animals. *Sci World J.* 2014;2014:159103.

Temma T, Kuge Y, Sano K, Kamihashi J, Obokata N, Kawashima H, et al. PET ^{15}O cerebral blood flow and metabolism after acute stroke in spontaneously hypertensive rats. *Brain Res.* 30 mai 2008;1212:18-24.

Ter-Pogossian MM, Eichling JO, Davis DO, Welch MJ. The measure in vivo of regional cerebral oxygen utilization by means of oxyhemoglobin labeled with radioactive oxygen-15. *J Clin Invest.* févr 1970;49(2):381-91.

Ter-Pogossian MM, Ficke DC, Hood JTS, Yamamoto M, Mullani NA. PETT VI: A Positron Emission Tomograph Utilizing Cesium Fluoride Scintillation Detectors. *J Comput Assist Tomogr.* févr 1982;6(1):125.

Thelwall PE, Blackband SJ, Chen W. Field dependence of ^{17}O T1, T2 and SNR - in vitro and

in vivo studies at 4.7, 11 and 17.6 Tesla. Proc Int Soc Magn Reson Med 11th Annu Meet ISMRM Tor Ont Can. 2003;504.

Thoma WJ, Uğurbil K. Saturation-transfer studies of ATP-Pi exchange in isolated perfused rat liver. Biochim Biophys Acta. 10 sept 1987;893(2):225-31.

Thulborn KR, Ackerman JJH. Absolute molar concentrations by NMR in inhomogeneous B1. A scheme for analysis of in vivo metabolites. J Magn Reson 1969. 1 déc 1983;55(3):357-71.

Thurston JH, Hauhart RE. Effect of momentary stress on brain energy metabolism in weanling mice: Apparent use of lactate as cerebral metabolic fuel concomitant with a decrease in brain glucose utilization. Metab Brain Dis. 1 sept 1989;4(3):177-86.

Tiret B, Brouillet E, Valette J. Evidence for a "metabolically inactive" inorganic phosphate pool in adenosine triphosphate synthase reaction using localized ³¹P saturation transfer magnetic resonance spectroscopy in the rat brain at 11.7 T. J Cereb Blood Flow Metab. sept 2016;36(9):1513-8.

Trotier A. Nouvelles stratégies d'acquisitions non cartésiennes pour l'IRM cardiovasculaire du petit animal [Internet] [phdthesis]. Université de Bordeaux; 2015 [cité 31 août 2023]. Disponible sur: <https://theses.hal.science/tel-01272549>

Ueno M, Nakamura Y, Li J, Gu Z, Niehaus J, Maezawa M, et al. Corticospinal Circuits from the Sensory and Motor Cortices Differentially Regulate Skilled Movements through Distinct Spinal Interneurons. Cell Rep. 1 mai 2018;23(5):1286-1300.e7.

Valette J, Guillermier M, Besret L, Hantraye P, Bloch G, Lebon V. Isoflurane Strongly Affects the Diffusion of Intracellular Metabolites, as Shown by ¹H Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of the Monkey Brain. J Cereb Blood Flow Metab. 1 mars 2007;27(3):588-96.

Van Camp N, Bramoullé Y, Hantraye P. Quantification of Brain Function and Neurotransmission System In Vivo by Positron Emission Tomography: A Review of Technical Aspects and Practical Considerations in Preclinical Research. Lane EL, Dunnett SB, éditeurs. Anim Models Mov Disord Vol I. 2012;61:151-90.

Végran F, Boidot R, Michiels C, Sonveaux P, Feron O. Lactate Influx through the Endothelial Cell Monocarboxylate Transporter MCT1 Supports an NF- κ B/IL-8 Pathway that Drives Tumor Angiogenesis. Cancer Res. 31 mars 2011;71(7):2550-60.

Wagatsuma K, Oda K, Miwa K, Inaji M, Sakata M, Toyohara J, et al. Effects of a novel tungsten-impregnated rubber neck shield on the quality of cerebral images acquired using

15O-labeled gas. *Radiol Phys Technol.* 1 déc 2017;10(4):422-30.

Wangerin KA, Baratto L, Khalighi MM, Hope TA, Gulaka PK, Deller TW, et al. Clinical Evaluation of 68Ga-PSMA-II and 68Ga-RM2 PET Images Reconstructed With an Improved Scatter Correction Algorithm. *Am J Roentgenol.* sept 2018;211(3):655-60.

Watabe T, Shimosegawa E, Watabe H, Kanai Y, Hanaoka K, Ueguchi T, et al. Quantitative Evaluation of Cerebral Blood Flow and Oxygen Metabolism in Normal Anesthetized Rats: 15O-Labeled Gas Inhalation PET with MRI Fusion. *J Nucl Med.* 1 févr 2013;54(2):283-90.

Weiger M, Pruessmann KP. MRI with Zero Echo Time. In: *eMagRes* [Internet]. American Cancer Society; 2012 [cité 25 juin 2021]. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9780470034590.emrstm1292>

Whitehouse DG, Moore AL. Respiratory Chain and ATP Synthase. In: Lennarz WJ, Lane MD, éditeurs. *Encyclopedia of Biological Chemistry (Second Edition)* [Internet]. Waltham: Academic Press; 2013 [cité 19 mars 2023]. p. 83-6. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123786302002140>

Wiesner HM, Balla DZ, Scheffler K, Uğurbil K, Zhu XH, Chen W, et al. Quantitative and simultaneous measurement of oxygen consumption rates in rat brain and skeletal muscle using 17O MRS imaging at 16.4T. *Magn Reson Med.* 2021;85(4):2232-46.

Wiesner HM, Balla DZ, Shajan G, Scheffler K, Uğurbil K, Chen W, et al. 17O Relaxation Times in the Rat Brain at 16.4T. *Magn Reson Med.* mai 2016;75(5):1886-93.

Williams KA, Magnuson M, Majeed W, LaConte SM, Peltier SJ, Hu X, et al. Comparison of α -chloralose, medetomidine and isoflurane anesthesia for functional connectivity mapping in the rat. *Magn Reson Imaging.* 1 sept 2010;28(7):995-1003.

Wise RG, Harris AD, Stone AJ, Murphy K. Measurement of OEF and absolute CMRO₂: MRI-based methods using interleaved and combined hypercapnia and hyperoxia. *NeuroImage.* 1 déc 2013;83:135-47.

Xu F, Kida I, Hyder F, Shulman RG. Assessment and discrimination of odor stimuli in rat olfactory bulb by dynamic functional MRI. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 12 sept 2000;97(19):10601-6.

Xu F, Liu P, Pascual JM, Xiao G, Lu H. Effect of hypoxia and hyperoxia on cerebral blood flow, blood oxygenation, and oxidative metabolism. *J Cereb Blood Flow Metab.* oct 2012;32(10):1909-18.

Yablonskiy DA, Haacke EM. Theory of NMR signal behavior in magnetically inhomogeneous

tissues: the static dephasing regime. *Magn Reson Med.* déc 1994;32(6):749-63.

- Yablonskiy DA, Sukstanskii AL, Luo J, Wang X. Voxel spread function method for correction of magnetic field inhomogeneity effects in quantitative gradient-echo-based MRI. *Magn Reson Med.* nov 2013;70(5):1283-92.
- Yang X, Hyder F, Shulman RG. Activation of single whisker barrel in rat brain localized by functional magnetic resonance imaging. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 9 janv 1996;93(1):475-8.
- Yang X, Renken R, Hyder F, Siddeek M, Greer CA, Shepherd GM, et al. Dynamic mapping at the laminar level of odor-elicited responses in rat olfactory bulb by functional MRI. *Proc Natl Acad Sci.* 23 juin 1998;95(13):7715-20.
- Yee SH, Lee K, Jerabek PA, Fox PT. Quantitative measurement of oxygen metabolic rate in the rat brain using microPET imaging of briefly inhaled ¹⁵O-labelled oxygen gas. *Nucl Med Commun.* juill 2006;27(7):573.
- Yellen G. Fueling thought: Management of glycolysis and oxidative phosphorylation in neuronal metabolism. *J Cell Biol.* 2 juill 2018;217(7):2235-46.
- Zala D, Hinckelmann MV, Yu H, Lyra da Cunha MM, Liot G, Cordelières FP, et al. Vesicular glycolysis provides on-board energy for fast axonal transport. *Cell.* 31 janv 2013;152(3):479-91.
- Zhang G, Zhu W, Li X, Zhu XH, Chen W. Dual-frequency resonant coil design for low- γ X-nuclear and proton magnetic resonance imaging at ultrahigh fields. *NMR Biomed.* 20 mars 2023;e4930.
- Zhang J, Liu T, Gupta A, Spincemaille P, Nguyen TD, Wang Y. Quantitative mapping of cerebral metabolic rate of oxygen (CMRO₂) using quantitative susceptibility mapping (QSM). *Magn Reson Med.* 2015;74(4):945-52.
- Zhang N, Zhu XH, Lei H, Ugurbil K, Chen W. Simplified Methods for Calculating Cerebral Metabolic Rate of Oxygen Based on ¹⁷O Magnetic Resonance Spectroscopic Imaging Measurement during a Short ¹⁷O₂ Inhalation. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1 août 2004;24(8):840-8.
- Zhao F, Zhao T, Zhou L, Wu Q, Hu X. BOLD study of stimulation-induced neural activity and resting-state connectivity in medetomidine-sedated rat. *NeuroImage.* 1 janv 2008;39(1):248-60.
- Zhu X, Zhang Y, Ugurbil K, Chen W. 3D Imaging of CMRO₂ in Rat Brain at Different Temperature using High-field ¹⁷O NMR Approach. 2003;1.

- Zhu XH, Chen J, Tu TW, Chen W, Song SK. Simultaneous and Noninvasive Imaging of Cerebral Oxygen Metabolic Rate, Blood Flow and Oxygen Extraction Fraction in Stroke Mice. *NeuroImage*. 1 janv 2013a;64:437-47.
- Zhu XH, Chen W. In vivo oxygen-17 NMR for imaging brain oxygen metabolism at high field. *Prog Nucl Magn Reson Spectrosc*. nov 2011;59(4):319-35.
- Zhu XH, Merkle H, Kwag JH, Ugurbil K, Chen W. 17O relaxation time and NMR sensitivity of cerebral water and their field dependence. *Magn Reson Med*. 2001;45(4):543-9.
- Zhu XH, Zhang N, Zhang Y, Ugurbil K, Chen W. New Insights into Central Roles of Cerebral Oxygen Metabolism in the Resting and Stimulus-Evoked Brain. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1 janv 2009;29(1):10-8.
- Zhu XH, Zhang N, Zhang Y, Zhang X, Ugurbil K, Chen W. In vivo 17O NMR approaches for brain study at high field. *NMR Biomed*. 2005;18(2):83-103.
- Zhu XH, Zhang Y, Tian RX, Lei H, Zhang N, Zhang X, et al. Development of 17O NMR approach for fast imaging of cerebral metabolic rate of oxygen in rat brain at high field. *Proc Natl Acad Sci*. 1 oct 2002;99(20):13194-9.
- Zhu XH, Zhang Y, Wiesner H, Ugurbil K, Chen W. In vivo measurement of CBF using 17O NMR signal of metabolically produced H₂¹⁷O as a perfusion tracer. *Magn Reson Med Off J Soc Magn Reson Med Soc Magn Reson Med*. août 2013b;70(2):309-14.
- Zhu XH, Zhang Y, Zhang N, Ugurbil K, Chen W. Noninvasive and Three-Dimensional Imaging of CMRO₂ in Rats at 9.4 T: Reproducibility Test and Normothermia/Hypothermia Comparison Study. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1 juin 2007;27(6):1225-34.

ANNEXE

Activation fonctionnelle du S1BF.

Le volume activé du S1BF peut être modulée selon le nombre de vibrisses stimulées. Afin de maximiser la zone activée, nous avons mis en place une stimulation simultanée de l'ensemble des vibrisses, piégées dans un morceau de ruban adhésif, à l'aide d'un système de pulses d'air envoyé à une fréquence de 8 Hz pendant 30 secondes avec un temps de pause de 15 secondes (Figure 61).



Figure 61 **Représentation schématique protocole d'activation des vibrisses du rat et de la zone activée correspondante (S1BF) sur une coupe représentative du cerveau (Paxinos).**

Les données BOLD in vivo acquises sous médétomidine ($0,6 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$) sur notre scanner 11,7 T montre une activation du S1BF en réponse à notre protocole. Il est intéressant de noter qu'une réponse BOLD positive dans la zone du thalamus a également été mesurée (Figure 62).

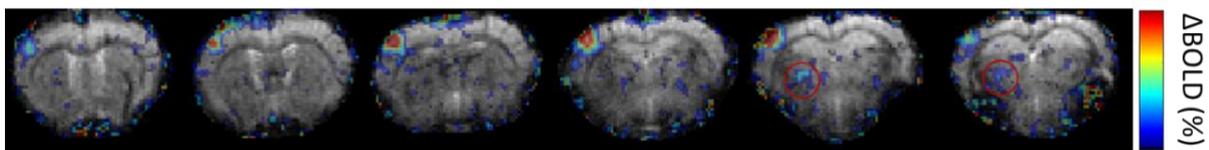


Figure 62 **Réponse BOLD dans le S1BF gauche pendant une stimulation des vibrisses droites du rat à l'aide de pulses d'air (8 Hz, 15 s ON/30 s OFF).** Le ΔBOLD est visible sur 6 coupes contiguës de $750 \mu\text{m}$ d'épaisseur (mêmes paramètres d'imagerie que pour l'IRMf par électrostimulation). Une réponse thalamique peut également être détectée dans les coupes plus postérieures (cercles rouges).

Communication n°1. ^{17}O -MR imaging of the cerebral metabolic rate of oxygen during hindlimb electrical stimulation in the rat at 11.7 T

Evènement : 17th European Molecular Imaging Meeting (EMIM) – 15-18 Mars 2022, Thessaloniki, Grèce

Organisation : European Society for Molecular Imaging (ESMI)

Abstract sélectionné pour une présentation poster.

Abstract #135 | Oral or Poster presentation

^{17}O -MR imaging of the cerebral metabolic rate of oxygen during hindlimb electrical stimulation in the rat at 11.7T

Amelie Tourais¹, Olivier Barret¹, Julien Valette¹, Celine Baligand¹

¹ CNRS, CEA, Université Paris-Saclay, Laboratoire des Maladies Neurodégénératives, MIRCen, Fontenay-aux-Roses, France

Introduction

The cerebral metabolic rate of oxygen (CMRO_2) is an important metric for the evaluation of neurovascular and neurometabolic coupling. To better understand the impact of CMRO_2 in normal and pathological brain activity, preclinical imaging studies allowing non-invasive measures with high spatial resolution are required. We implemented MRI detection of ^{17}O -labelling of brain water during inhalation of ^{17}O enriched O_2 gas in the rat brain at 11.7T. We applied it to assess functional activation of the somatosensory cortex of the hindlimb (S1HL) during electrical stimulation (ES).

Methods

Data were acquired in 2 rats (~250g) under medetomidine. ES was applied in the right leg for 18min (10s OFF/20s ON, 5mA, 2ms pulses, 10Hz). To locate the activated area, we first acquired BOLD MRI (10min) with single-shot EPI (TR/TE: 1000/20ms; $250\mu\text{m}^2$ in-plane, $750\mu\text{m}$ slice thickness). Then, a series of ^{17}O images was acquired with ZTE-MRI (TR=1.3ms, voxel size= 1.5mm^3 , time resolution=18s) before (10min), during (3min) and after (15min) $^{17}\text{O}_2$ inhalation (70% enrichment)¹. After Hamming filtering, a 3 phase-model² and a linear approach³ were used to map CMRO_2 on a pixel-by-pixel basis. Dispersion and bias were evaluated by Monte Carlo simulations, as a function of ^{17}O -MRI SNR and inhalation duration (Td). The sensitivity of the model to the different parameters (CMRO_2 , Kg, Kl) was assessed.

Results/Discussion

A 1.2 ± 0.3 % increase in BOLD was seen in the left S1HL, confirming stimulation (Fig 1a,c). $CMRO_2$ was 20% higher in the stimulated S1HL (2.62 ± 0.29 $\mu\text{mol/g/min}$) compared to the contralateral side (2.19 ± 0.44 $\mu\text{mol/g/min}$) (3 phase model; Fig1b,d). However, simulations showed that our current SNR conditions (~ 12) only allowed detecting difference above 43% with 95% confidence. This detection limit could be improved with longer Td as showed in fig2a,b. In preliminary experiments, we observed a habituation to ES leading to an important decrease in ΔBOLD after 6 min. Although sensitivity calculation (fig 2c) showed that $CMRO_2$ results were mostly driven by data acquired during $^{17}\text{O}_2$ inhalation and immediately after, we also calculated CMO_2 values from the slope of the data restricted to the inhalation period to minimize the bias induced by habituation. With this simplified model, $CMRO_2$ values were of 2.71 and 1.74 $\mu\text{mol/g/min}$ in the stimulated and contralateral S1HL, respectively.

Conclusions

Resting state $CMRO_2$ were consistent with literature values⁴. The increased $CMRO_2$ in the stimulated S1HL could indicate a higher oxidative phosphorylation rate, as previously reported using ^{13}C MRS⁵. However, simulations showed that the error on ^{17}O -MRI $CMRO_2$ is too important in our SNR condition to claim significance. Work is underway to improve RF coil performances, use longer Tds, adapt ES scheme, and optimize k-space acquisition strategies.

Acknowledgement

This work was partly funded by NeurATRIS: A Translational Research Infrastructure for biotherapies in Neuroscience, grant ANR-11-INBS-0011 to CB, by the Exploratory Program of CEA (French Alternative Energies and Atomic energy Commission) grant 20P47 to CB, by the CEA graduate program fellowship to AT, and by the French National Research Agency ANR-21-CE44-0023-04 grant to CB and JV. The 11.7 T MRI scanner was funded by a grant from "Investissements d'Avenir - ANR-11-INBS-0011/ NeurATRIS.

Disclosure

I or one of my co-authors have **no financial interest or relationship** to disclose regarding the subject matter of this presentation.

Affix

References

- [1] Baligand, C. et al. Zero Echo Time ^{17}O -MRI Reveals Decreased Cerebral Metabolic Rate of Oxygen Consumption in a Murine Model of Amyloidosis. *Metabolites* 11, 263 (2021)
- [2] Atkinson, I. C. & Thulborn, K. R. Feasibility of mapping the tissue mass corrected bioscale of cerebral metabolic rate of oxygen consumption using ^{17}O -oxygen and ^{23}Na -sodium MR imaging in a human brain at 9.4T. *NeuroImage* 51, 723-733 (2010)
- [3] Zhang, N., Zhu, X.-H., Lei, H., Ugurbil, K. & Chen, W. Simplified Methods for Calculating Cerebral Metabolic Rate of Oxygen Based on ^{17}O Magnetic Resonance Spectroscopic Imaging Measurement during a Short $^{17}\text{O}_2$ Inhalation. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 24, 840-848 (2004)
- [4] Zhu, X.-H. et al. Development of ^{17}O NMR approach for fast imaging of cerebral metabolic rate of oxygen in rat brain at high field. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 99, 13194-13199 (2002)
- [5] Sonnay, S., Duarte, J. M., Just, N. & Gruetter, R. Compartmentalised energy metabolism supporting glutamatergic neurotransmission in response to increased activity in the rat cerebral cortex: A ^{13}C MRS study in vivo at 14.1 T. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 36, 928-940 (2016)

¹⁷O-MR imaging of the cerebral metabolic rate of oxygen during hindlimb electrical stimulation in the rat at 11.7T

Amélie Tourais¹, Olivier Barret¹, Julien Valette¹, Celine Baligand¹

¹Université Paris-Saclay, Commissariat à l'Energie Atomique et aux Energies Alternatives (CEA), Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Molecular Imaging Research Center (MIRCen), Laboratoire des Maladies Neurodégénératives, Fontenay-aux-Roses, France

Introduction

The cerebral metabolic rate of oxygen (CMRO₂) is an important metric for the evaluation of neurovascular and neurometabolic coupling. To understand normal and pathological brain metabolism, preclinical studies and non-invasive tools to measure CMRO₂ with high spatial resolution are required. Positron Emission Tomography (PET) to measure ¹⁵O₂ is the gold standard for CMRO₂ measurement. However, it is very challenging in rodents because of the limited spatial resolution of this technique (maximum free path ~8 mm [1]) and the short half-life of ¹⁵O (~2 min). ¹⁷O-MRI is an alternative that consists of MRI detection of ¹⁷O-labelled water produced by mitochondria during ¹⁷O₂ gas inhalation.

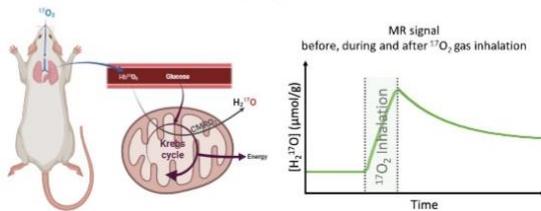


Figure 1. Fate of ¹⁷O during a ¹⁷O-enriched oxygen inhalation experiment and associated H₂¹⁷O MR signal.

To map CMRO₂ either a 3-phase model [2] or a linear [3] approach can be used:

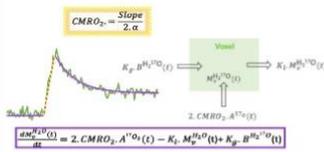


Figure 2. Schematic representation of the 3-phase model (purple solid line, before, during, after ¹⁷O₂ inhalation) and linear (yellow dashed line, during ¹⁷O₂ inhalation only) approaches, with corresponding equations.

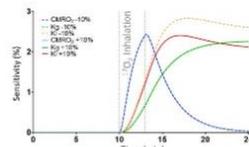


Figure 3. Model's output sensitivity to variations of the input parameters. Signal acquired during and right after inhalation highly impacts CMRO₂ determination.

K_p, K_t, CMRO₂ are sensitive to experimental parameters such as the inhalation duration (T_d) or Signal to Noise ratio (SNR) of the acquired images.

Our goal was to implement ¹⁷O-MRI in the rat brain at 11.7T and to apply it to assess functional activation of the somatosensory cortex of the Hindlimb (S1HL) and Forelimb (S1FL) during electrical stimulation (ES).

To this end, we took the following steps:

1. Determine the necessary SNR conditions and T_d to detect CMRO₂ variations as low as 15% [4] and estimate the error on ¹⁷O-MRI based CMRO₂ measures.
2. Find a suitable stimulation protocol for ¹⁷O-MRI to:
 - maintain activated state (~20 min) → to assess CMRO₂ changes
 - activate a large area → to be compatible with ¹⁷O-MRI spatial resolution (1.5 mm³)
3. Measure CMRO₂ during unilateral electrical stimulation

Simulations

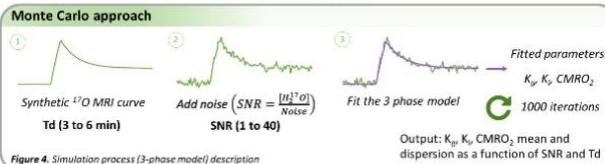


Figure 4. Simulation process (3-phase model) description

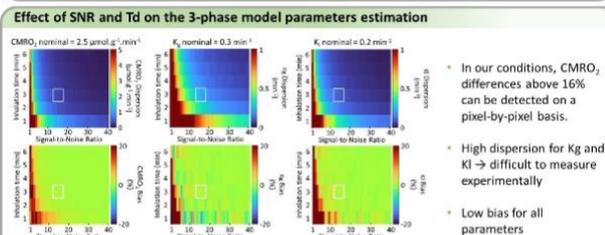


Figure 5. Heat maps showing 2 SD (detection threshold) and bias for CMRO₂, K_p, K_t for a range of SNR values (1 to 40) and different T_d (1 to 6 min). The white box shows the range of SNR and T_d in our experiments.

References:

- [1] Van Camp N. *NeuroMethods*, 15:1-190 (2012); [2] Atkinson I. C., *NeuroImage*, 51: 723-733 (2010); [3] Zhang N., *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 24: 840-848 (2004); [4] Sonnay S., *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 36: 928-940 (2016); [5] Baligand C., *Metabolites*, 11: 263 (2021)

Acknowledgments: This project was supported by ANR (ANR-21-CE44-0023-04: BRAINFUEL project), CEA ("Programme exploratoire Bottom-up": OxyBRAIN17 project) and NeurATRIS (Programme "Investissements d'Avenir", ANR-11-INBS-0011: BRAINFUEL project and 11.7T scanner)

In vivo experiments

Materials and methods

Anesthesia: Medetomidine (0.6 mg/kg/h) **Animals:** 2 Wistar rats (~250 g, female)

BOLD MRI
Single-shot EPI (TR/TE: 1000/20 ms; 250 μm² in-plane, 750 μm slice thickness)
¹H surface coil and ¹H quadrature volume coil (Bruker, Ettlingen, Germany)
10 min of HL ES (10 s OFF/20 s ON, 0.5 mA, 2 ms pulses, 10 Hz)

¹⁷O MRI
ZTE-MRI (TR=1.3 ms, voxel size = 1.5 mm³, time resolution = 18 s)
Custom-built 10-mm diameter ¹⁷O surface coil and ¹H quadrature volume coil (Bruker, Ettlingen, Germany)
300 mL of 70% enriched ¹⁷O₂ (Nukem Isotopes, GmbH, Alzenau, Germany) delivered over 3 min by a syringe microcontroller [5]
18 min of HL ES (10 s OFF/20 s ON, 0.5 mA, 2 ms pulses, 10 Hz)

Processing: Data were analyzed using home made MATLAB routines.

- BOLD-fMRI: pre-processing with Gaussian spatial filtering and Savitsky Golay temporal filtering. Activated volume automatically selected by thresholding (signal > 2 SD + contralateral signal).
- ¹⁷O-fMRI: Hamming spatial filtering, 3-phase model fit.

BOLD and ¹⁷O ES-fMRI results

Figure 6. Mean ΔBOLD signal detected during HL ES with a stimulus of 10Hz, 3.5 mA with a pulse length of 500 μs

Figure 7. Time course of ¹⁷O-labelled water concentration from the stimulated and contralateral voxels with corresponding 3-phase fit results

	Contralateral	Stimulated	Difference (%)	SNR contribution
Rat 1	2.23 ± 0.22	2.87 ± 0.21	25.1	3/74
Rat 2	1.84 ± 0.16	2.16 ± 0.17	17.4	3/56

Figure 8. a) ΔBOLD b) CMRO₂ map (rat 1) during HL ES

Figure 9. ΔBOLD signal detected during HL only, FL only and both HL and FL ES

ES-fMRI improvement for ¹⁷O-MRI application

single-shot EPI
ES: HL + FL 10 min (10 s OFF/30 s ON, total of 1.6 mA, 0.1 s pulses, 3 Hz)

Longer effect of the stimulation → S1HL and S1FL activation during ¹⁷O₂ inhalation and washout

	Stimulated limb	Activated volume (mm ³)
HL	14.2	
FL	20.9	
FL + HL	29.0	

Figure 10. Mean ΔBOLD signal detected during HL and FL ES

Conclusion and perspectives

We measured CMRO₂ in 2 rats during HL ES and found an increase in the stimulated cortex compared to the contralateral side. However, as error calculation indicated, in our experimental conditions **these results are not significant**. In addition the ΔBOLD signal decreased with time, indicating that our initial ES protocol may not be optimal.

- Therefore we tested a **new ES protocol**:
- Stimulated volume x2 → reduced partial volume
 - Longer activated state → compatible with ¹⁷O-MRI duration
- Finally, we plan increase the SNR in our data by filtering electrical noise from the ES system.

Communication n°2. Measuring functional Cerebral Metabolic Rate of Oxygen Consumption during somatosensory cortex activation in the rat using ^{17}O -MRI

Evènement : Translational Neuroscience day – 6 Décembre 2022, Prais, France

Organisation : NeurATRIS et Celphedia

Abstract sélectionné pour une présentation poster.

Abstract :

Title: Measuring functional Cerebral Metabolic Rate of Oxygen Consumption during somatosensory cortex activation in the rat using ^{17}O -MRI

Authors: Amélie Tourais¹, Cameron Hery¹, Martine Guillermier¹, Anne-Karine Bouzier-Sore², Julien Valette¹, Luc Pellerin³, Celine Baligand¹

¹ Université Paris-Saclay, CEA, CNRS, MIRCen, Laboratoire des Maladies Neurodégénératives, Fontenay-aux-Roses, 92265, France; ² Centre de Résonance Magnétique des Systèmes Biologiques, UMR5536, CNRS/Université de Bordeaux, Bordeaux Cedex, France; ³ IRMETIST, INSERM U1313, Université de Poitiers et CHU de Poitiers, F-86021, Poitiers, France.

Evaluating the physiological response to neuronal activation in rodent models, such as induced by whiskers stimulation or electrostimulation (ES) of the paws, requires measuring the cerebral metabolic rate of glucose (CMR_{glc}) and oxygen (CMRO_2), and local changes in blood delivery dynamics. The latter is traditionally assessed using blood oxygen level dependent (BOLD) fMRI and CMR_{glc} can be measured using ^{18}F -fluoro-2-deoxy-d-glucose positron emission tomography (^{18}FDG -PET). On the other hand, CMRO_2 measurements are highly challenging, in particular in rodents. The current gold standard for clinical CMRO_2 measurements is PET using $^{15}\text{O}_2$ as tracer. However, this technique suffers from an inherently low spatial resolution, precluding regional CMRO_2 mapping in rodents. As an alternative, in vivo MRI detection of ^{17}O -labeling of brain water during inhalation of $^{17}\text{O}_2$ can be used to measure CMRO_2 at the rat brain scale. The aim of this project is to measure local CMRO_2 and CMR_{glc} variations in the rat primary somatosensory cortex (S1) of either the barrel field (BF) or the hindlimb/forelimb (HL/FL) during neuronal activation induced by air puffed whiskers stimulation or dual HL/FL ES, respectively. Here, we describe technical developments and we report CMRO_2 measurements acquired in the resting state and during S1 activation.

Anesthesia is known to greatly affect several important physiological parameters, possibly impacting the metabolic response to stimulation (e.g. plasma glucose and lactate levels), and the quantitative analysis of MR data (e.g. blood circulation rate Tc). Therefore, we first sought to characterize the effect of medetomidine ($0.6 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$) on plasmatic glucose and lactate concentration, in fasted and non-fasted conditions. Blood samples were taken from rats ($n=5$) for glucose and lactate quantification. Blood circulation time (Tc) was assessed ($n=5$) using a confocal laser endo-microscope (optical system Cellvizio® ProFlex™) to detect the first and second passage of a systemic bolus of fluorescent dextran (FITC), used as a blood tracer. We found that plasma glucose increased from 8 to 17 mmol.L^{-1} during anesthesia in the non-fasted rats, and from 6 to 8 mmol.L^{-1} in fasted rats. Heart rate decreased from 330 to 160 BPM in non-fasted rats, and from 350 BPM to 230 BPM in fasted rats after 10 min of medetomidine. Tc increased from $6.5 \pm 1.2 \text{ s}$ to reach $9.2 \pm 1.0 \text{ s}$ after 30 min of medetomidine.

We optimized a whiskers stimulation protocol using an air puff system and a homemade bed. A stimulation paradigm (10 s OFF/30 s ON, 8 Hz) was applied and the vascular response was evaluated using BOLD fMRI (30 min) with single-shot EPI in a Bruker 11.7 T magnet. BOLD signal increased by up to 1.5 % in a 26 mm³ volume in the left S1BF in response to right whiskers stimulation. The same procedure was used to optimize an ES paradigm (1.5 mA/limb; 50 μ s pulse; 5 Hz). Dual HL/FL stimulation was chosen to maximize the S1HL/FL activated volume to 28.5 \pm 3.35 mm³, in which BOLD signal increased by up to 2.35 \pm 0.21%.

Next, animals underwent CMRO₂ measurements at rest (n=1) and during dual HL/FL ES (n=6), using dynamic ¹⁷O-ZTE-MRI (voxel size=1.5 mm³, time resolution=18 s) and inhalation of ¹⁷O₂ gas (Nukem Isotopes, 70% enrichment). After Hamming filtering, a 3-phase model was fitted to the data taking into account Tc=9.2 s, and CMRO₂ was determined voxel-wise. Resting state CMRO₂ in the rat brain was 2.05 \pm 0.47 μ mol.g⁻¹.min⁻¹ and in agreement with the literature values. In the S1HL/FL ES group, CMRO₂ was significantly higher (+7 \pm 5%, p=0.016) in the activated S1HL/FL (2.74 \pm 0.37 μ mol.g⁻¹.min⁻¹) compared to the contralateral side (2.55 \pm 0.31 μ mol.g⁻¹.min⁻¹).

In conclusion, we have set-up an anesthesia protocol compatible with the multimodal acquisitions planned. In addition, we developed in magnet S1BF and S1HL/FL stimulations and measured a significant 7% CMRO₂ increase in the activated S1HL/FL. Our next step will be to measure functional CMR_{glc} in response to S1 stimulation and combine these measurements to study the coupling between glycolytic and oxidative fluxes.

Poster :

Measuring functional Cerebral Metabolic Rate of Oxygen Consumption during somatosensory cortex activation in the rat using ^{17}O -MRI

Amélie Tourais¹, Cameron Hery¹, Martine Guillermier¹, Fortune Hontonnou¹, Anne-Karine Bouzier-Sore², Julien Valette¹, Luc Pellerin³, Céline Baligand¹

¹ Université Paris-Saclay, CEA, CNRS, MIRcen, LMN, Fontenay-aux-Roses, 92265, France; ² CRMSB, UMR5536, CNRS, Université de Bordeaux, Bordeaux Cedex, France; ³ IRMETIST, INSERM U1313, Université de Poitiers et CHU de Poitiers, F-86021, Poitiers, France.

Introduction

Evaluating the physiological response to neuronal activation in rodent models, such as induced by whiskers stimulation or electrostimulation (ES) of the paws, requires measuring the cerebral metabolic rate of glucose (CMR_{glc}) and oxygen (CMR_{O₂}), and local changes in blood delivery dynamics. The latter is traditionally assessed using blood oxygen level dependent (BOLD) fMRI, while CMR_{glc} can be measured using ^{18}F -fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography (^{18}F -FDG-PET). On the other hand, CMRO₂ measurements are highly challenging, in particular in rodents. PET of inhaled $^{17}\text{O}_2$ is the current gold standard for clinical CMRO₂ measurements. However, this technique suffers from an inherently low spatial resolution (maximum free path ~8 mm³), precluding regional CMRO₂ mapping in rodents. As an alternative, in vivo MRI detection of ^{17}O -labeling of brain water during inhalation of $^{17}\text{O}_2$ can be used to measure CMRO₂ at the rat brain scale.

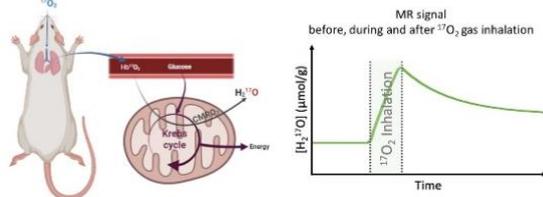


Figure 1. Fate of ^{17}O during a ^{17}O -enriched oxygen inhalation experiment and associated H_2^{17}O MR signal.

The aim of this project is to measure local CMRO₂ and CMR_{glc} variations in the rat primary somatosensory cortex (S1) of either the barrel field (BF) or the hindlimb/forelimb (HL/FL) during neuronal activation induced by air puffed whiskers stimulation⁵ or dual HL/FL ES, respectively.



Figure 2. Schematic representation of the neuronal activation set-ups and the corresponding activated area.

Here, we describe technical developments and we report CMRO₂ measurements acquired during S1 activation.

To this end, we took the following steps:

1. Set-up an anesthesia protocol compatible with the multimodal acquisitions planned.
2. Determine stimulation protocols:
 - maintain activated state (~30 min) → to assess CMRO₂ and CMR_{glc} changes
 - activate a large area → to be compatible with ^{17}O -MRI and ^{18}F -FDG-PET spatial resolution (1.5 mm³, ~1 mm³, respectively)
3. Measure CMRO₂ during HL/FL ES

Anesthesia

Anesthesia is known to greatly affect several important physiological parameters, possibly impacting the metabolic response to stimulation (e.g. plasma glucose and lactate levels), and the quantitative analysis of MR data (e.g. blood circulation rate Tc, which is critical to model ^{17}O labelling to derive CMRO₂).

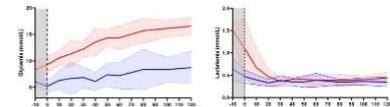


Figure 3. Anesthesia effect on glycemia and lactatemia measured from blood samples in fasted and non-fasted conditions. Animals were under isoflurane 1.5% for 20 min for catheters placement, then isoflurane was gradually decreased to 0% in 10 min (from -10 to 0 min). Medetomidine infusion started at -10 min.

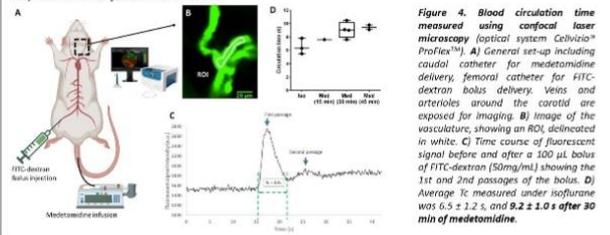


Figure 4. Blood circulation time measured using confocal laser microscopy (optical system Celvizio[®] ProFlex[™]). A) General set-up including caudal catheter for medetomidine delivery, femoral catheter for FITC-dextran bolus delivery. Veins and arterioles around the carotid are exposed for imaging. B) Image of the vasculature, showing an ROI delineated in white. C) Time course of fluorescent signal before and after a 100 μl bolus of FITC-dextran (50mg/ml) showing the 1st and 2nd passages of the bolus. D) Average Tc measured under isoflurane was 6.5 ± 1.2 s, and 9.2 ± 1.0 s after 30 min of medetomidine.

Somatosensory cortex activation

Acquisition set-up: Single-shot EPI (TR/TE: 1000/15 ms; 250 μm^2 in-plane, 750 μm slice thickness) sequence, ^1H surface coil was used with a ^1H quadrature volume coil (Bruker, Ettlingen, Germany) placed on top of the head.

Processing: Data were analyzed using home-made MATLAB routines and pre-processed with Gaussian spatial filtering and Savitsky Golay temporal filtering. The activated volume was automatically selected by thresholding (signal > 2 SD of signal in the contralateral area).

Air puffed whiskers stimulation

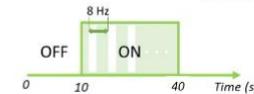


Figure 4. BOLD-MRI data showing that the "activated" brain volume was about 33.9 mm³ and the average ΔBOLD was of 2%.

Hindlimb/Forelimb electrostimulation

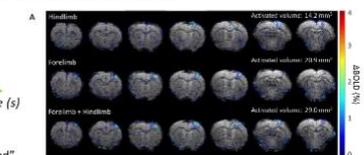
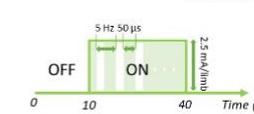
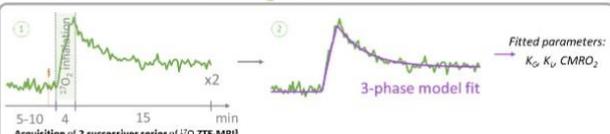


Figure 5. BOLD-MRI data. A) ΔBOLD detected during HL only, FL only and dual HL/FL. B) ΔBOLD response maintained for over 30 min during HL/FL activation. C) average ΔBOLD motif in response to HL/FL activation.

- dual FL/HL ES maximizes the "activated" brain volume.
- a positive BOLD response (ΔBOLD) can be maintained for over 30 min, with the determined paradigm.
- ΔBOLD was stable during the ON periods, and reached 2.35 ± 0.21 % in this example.

CMRO₂ measurements



Acquisition of 2 successive series of ^{17}O ZTE-MRI¹ (TR=2.3 ms, voxel size = 1.5 mm³, time resolution = 18 s). The 2 series of ZTE data acquired in each animal were summed and Hamming spatial filtering was applied. A 3-phase model² was fitted to the data voxel-wise to map CMRO₂, K₀ and K₁ rates (fig. 6) and Tc = 9.2 s was used for quantification. K₀ and K₁ represent the rates of ^{17}O labelled water gain and loss in the voxel, respectively, and are by definition proportional to cerebral blood flow.

Custom-built ^{17}O surface coil was placed on top of the head. ^1H quadrature volume coil was used. ES of the right (n=3) or the left (n=3) HL/FL paws was started 2 min before inhalation.

Conclusion and perspectives

In conclusion, we have set-up an anesthesia protocol compatible with the multimodal acquisitions planned. In addition, we developed in magnet S1BF and S1HL/FL stimulations and measured a significant 7% CMRO₂ increase and an average 15% increase in the blood flow-related parameters (K₀, K₁) in the activated S1HL/FL. These results are in line with previous reports of a decoupling between the vascular response and the oxygen metabolism response to activation in the brain. Next step will be to measure functional CMR_{glc} in response to S1 stimulation and combine these measurements to study the coupling between glycolytic and oxidative fluxes, which remains a matter of debate^{3,7}.

References: 1. Van Camp N., *NeuroMethods*, 2012, 151-190; 2. Blanc J., *J. Vis. Exp.*, 2019(144), e58912; 3. Baligand C., *Metabolites*, 2021(11/5), 263; 4. Atkinson I. C., *NeuroImage*, 2010(51/2), 723-733; 5. Fox, Peter T., *NeuroImage*, 2012(62/2), 594-601; 6. Hyder F., *Proc Natl Acad Sci*, 1996(93/15), 7612-7617; 7. Somnay S., *J Cereb Blood Flow Metab.*, 2016(36/5), 928-940.

Acknowledgments: This project was supported by ANR (ANR-21-CE44-0023-04: BRAINFUEL project), CEA ("Programme exploratoire Bottom-up": OxyBRAIN17 project) and NeurATRIS (Programme "Investissements d'Avenir", ANR-11-INBS-0011: BRAINFUEL project and 11.7 T scanner)

Communication n°3. ^{17}O -MRI to map CMRO_2 changes during somatosensory cortex activation

Evènement : 18th European Molecular Imaging Meeting (EMIM) – 14-17 Mars 2023, Salzburg, Autriche

Organisation : European Society for Molecular Imaging (ESMI)

Abstract sélectionné pour une présentation orale.

Abstract :

TITLE: Functional ^{17}O -MRI to map CMRO_2 changes during somatosensory cortex activation

AUTHOR: Amelie Tourais, Cameron Hery, Martine Guillemier, Julien Valette, Celine Baligand

INTRO: Cerebral Metabolic Rate of Oxygen (CMRO_2) is key to evaluate neurovascular and neurometabolic coupling. The degree of coupling between brain activity, CMRO_2 , and other metabolic fluxes remains a matter of debate¹⁻³. To reconcile conflicting findings, more studies using non-invasive preclinical imaging tools are required. We used MRI detection of ^{17}O -labelling of brain water during inhalation of ^{17}O enriched gas in the rat brain at 11.7 T to measure CMRO_2 during neuronal activation of the primary somatosensory cortex of the hindlimb, forelimb (S1HL/FL) induced by electrostimulation (ES).

METHODS: MR data were acquired in 6 rats (2-10months, 240-330g) under medetomidine anesthesia ($0.6\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$). Dual HL/FL ES was chosen to maximize the activated cortex volume (fig.1). ^{17}O ZTE-MRI⁴ (TR=1.3ms; voxel size=1.5mm³; time resolution=18s) were acquired before (5-10min), during (4min), after (15min) $^{17}\text{O}_2$ inhalation. Right (n=3) or left (n=3) HL/FL ES was started 2 min before inhalation. Two consecutive $^{17}\text{O}_2$ inhalation experiments were performed to allow for data summation. A 3-phase model⁵ was used to map CMRO_2 , the rate of ^{17}O -water creation, and K_G and K_L , the rates of ^{17}O -water signal gain and loss in the voxel, respectively. BOLD data were subsequently collected using the same ES paradigm to locate the activated area (1-shot EPI; TR/TE=1000/15ms; 250 μm^2 voxels; 750 μm slice) (n=4).

RESULTS: BOLD signal increased by up to 3% over $28 \pm 3 \text{ mm}^3$ in the S1HL/FL, confirming neuronal activation in response to ES. This large activated area allowed the selection of 3 voxels per hemisphere on average on CMRO_2 maps. Our results (fig.2) showed that CMRO_2 was significantly higher ($+7 \pm 5\%$, paired t-test, $p=0.016$) in the activated S1HL/FL ($2.7 \pm 0.4 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) compared to the contralateral side ($2.5 \pm 0.3 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$). The changes in K_G and K_L with activation were even greater. K_G was $19 \pm 11\%$ higher in the activated S1HL/FL ($0.44 \pm 0.08 \text{ min}^{-1}$) compared to the contralateral side ($0.37 \pm 0.04 \text{ min}^{-1}$, $p=0.018$), and K_L was $10 \pm 6\%$ higher in the activated S1HL/FL ($0.32 \pm 0.05 \text{ min}^{-1}$) compared to the contralateral side ($0.29 \pm 0.03 \text{ min}^{-1}$, $p=0.014$). The 7% CMRO_2 increase and, the average 15% increase in the flow-related parameters (K_G and K_L) are in line with previous reports of a decoupling between the vascular response and the oxygen metabolism response to activation in the brain.

CONCLUSION: We demonstrated for the first time the feasibility of functional ^{17}O -MRI for CMRO_2 measurements in the activated rat brain. Such experiments had previously been carried out in cats where a 30% increase was found in the visual cortex⁶. Here, combining dual HL/FL electrostimulation to maximize the activated cortex volume, with our strategy of summing two consecutive data sets improved our detection sensitivity.

ACKNOWLEDGMENT: This work was partly funded by NeurATRIS: A Translational Research Infrastructure for biotherapies in Neuroscience, grant ANR-11-INBS-0011 to CB, by the Exploratory Program of CEA (French Alternative Energies and Atomic energy Commission) grant 20P47 to CB, by the CEA graduate program fellowship to AT, and by the French National Research Agency ANR-21-CE44-0023-04 grant to CB and JV. The 11.7 T MRI scanner was funded by a grant from "Investissements d'Avenir - ANR-11-INBS-0011/ NeurATRIS.

DISCLOSURE: I or one of my co-authors have no financial interest or relationship to disclose regarding the subject matter of this presentation.

REFERENCES:

1. Fox PT. The Coupling Controversy. *NeuroImage*. 2012;62(2):594-601. doi:10.1016/j.neuroimage.2012.01.103
2. Hyder F, Chase JR, Behar KL, et al. Increased tricarboxylic acid cycle flux in rat brain during forepaw stimulation detected with $^1\text{H}[^{13}\text{C}]$ NMR. *Proc Natl Acad Sci*. 1996;93(15):7612-7617. doi:10.1073/pnas.93.15.7612
3. Sonnay S, Duarte JM, Just N, Gruetter R. Compartmentalised energy metabolism supporting glutamatergic neurotransmission in response to increased activity in the rat cerebral cortex: A ^{13}C MRS study in vivo at 14.1 T. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2016;36(5):928-940. doi:10/f8jn3w
4. Baligand C, Barret O, Tourais A, et al. Zero Echo Time ^{17}O -MRI Reveals Decreased Cerebral Metabolic Rate of Oxygen Consumption in a Murine Model of Amyloidosis. *Metabolites*. 2021;11(5):263. doi:10/gnp8cb
5. Atkinson IC, Thulborn KR. Feasibility of mapping the tissue mass corrected bioscale of cerebral metabolic rate of oxygen consumption using 17 -oxygen and 23 -sodium MR imaging in a human brain at 9.4T. *NeuroImage*. 2010;51(2):723-733. doi:10.1016/j.neuroimage.2010.02.056
6. Zhu XH, Zhang N, Zhang Y, Uğurbil K, Chen W. New Insights into Central Roles of Cerebral Oxygen Metabolism in the Resting and Stimulus-Evoked Brain. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2009;29(1):10-18. doi:10.1038/jcbfm.2008.97

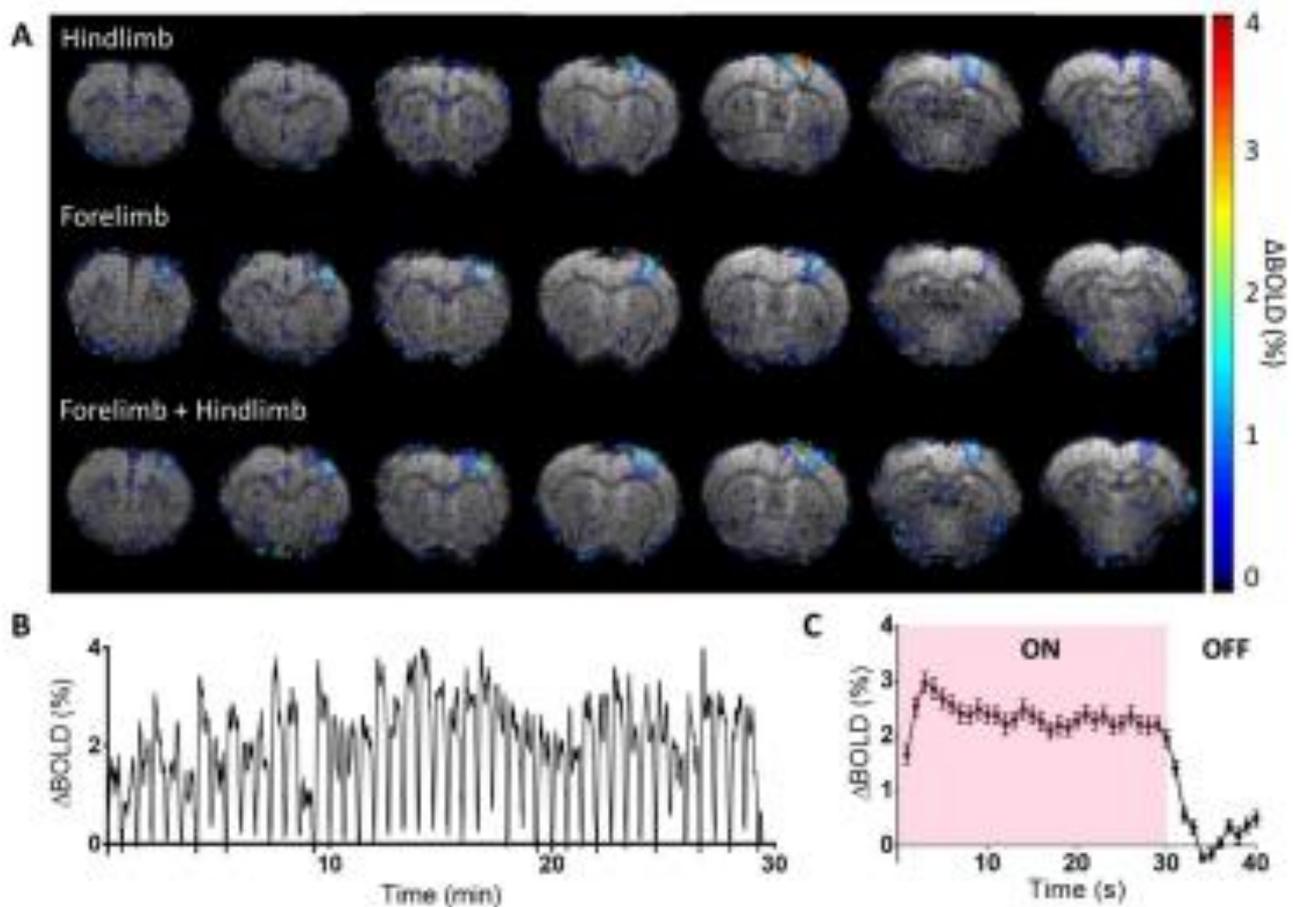


Figure 1: **BOLD-MRI data** showing that: *A) Dual forelimb/hindlimb stimulation maximizes the "activated" brain volume, B) a positive BOLD response ($\Delta BOLD$) can be maintained for over 30 min, with a 30s/10s ON/OFF pattern (1.5mA/limb; 50 μ s pulse; 5Hz), and C) the average $\Delta BOLD$ was stable during the ON periods, and reached 2.35 ± 0.21 % in this example.*

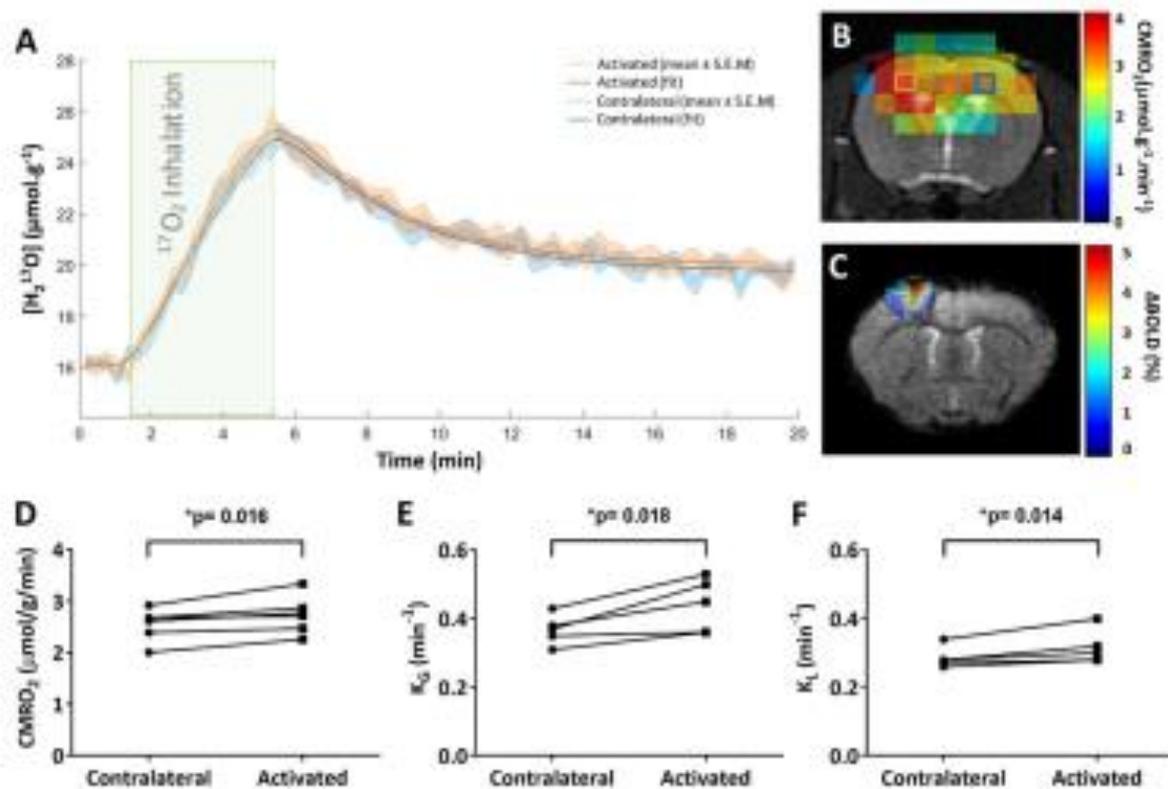


Figure 2: **Results obtained from ^{17}O -MR and BOLD-MR data acquired in the rat brain during dual hindlimb/forelimb stimulation.** A) Time course of ^{17}O -labelled water concentration from the stimulated and contralateral voxels with corresponding 3-phase fit results. B) CMRO₂ map with the selected stimulated voxel in orange and the contralateral voxel in blue, C) Δ BOLD, during dual hindlimb/forelimb ES. D-F) CMRO₂, K_0 , K_1 values from contralateral and activated cortices of each animal, showing a significant increase on the activated side for the three metrics.

Communication n°4. IRM fonctionnelle de l'¹⁷O pour cartographier les variations de CMRO₂ pendant l'activation du cortex somatosensoriel

Evènement : 6^{ème} Congrès scientifique de la Société Française de Résonance Magnétique en Biologie et Médecine – 27-29 Mars 2022, Paris, France

Organisation : Société Française de Résonance Magnétique en Biologie et Médecine (SFRMBM)

Abstract sélectionné pour une présentation poster.

Abstract :

Mesure du taux de consommation d'oxygène cérébral pendant l'activation du cortex somatosensoriel du rat avec l'IRM de l'¹⁷O

Amélie Tourais, Cameron Hery, Martine Guillermier, Julien Valette, Céline Baligand

Université Paris-Saclay, CEA, CNRS, MIRCen, LMN, Fontenay-aux-Roses, France

Objectifs : Le taux de consommation d'oxygène cérébral (CMRO₂) est une variable importante pour l'évaluation du couplage neurovasculaire et neurométabolique. Le degré de couplage entre activité cérébrale, CMRO₂ et d'autres flux métaboliques reste débattu [1-3]. Davantage d'études précliniques utilisant des outils d'imagerie non invasifs, sensibles et spatialement résolus sont nécessaires pour revisiter ces questions. Nous avons utilisé l'IRM à temps d'écho zéro (ZTE) de l'¹⁷O [4] à 11,7 T pour mesurer CMRO₂ pendant l'activation du cortex somatosensoriel primaire (S1HL/FL) du rat par électrostimulation (ES) des pattes postérieures et antérieures.

Matériels et Méthodes : Les données ont été acquises chez des rates Wistar (2-10 mois, 240-330 g) sous médétomidine (0,6 mg.kg⁻¹.h⁻¹). Pour chaque mesure, des images ¹⁷O-ZTE (TR=1.3 ms; voxel=1.5 mm³; résolution temporelle=18 s) ont été acquises en continue avant (5-10 min), pendant (4 min), et après (15 min) l'inhalation d'¹⁷O₂. L'ES des pattes droites (n=3) ou gauches (n=3) était déclenchée 2 min avant inhalation (1.5mA/patte; 50 µs pulse; 5 Hz). Pour chaque animal, nous avons répété puis sommé 2 expériences consécutives (durée totale : 60 min). Un modèle 3-phase [5] a été ajusté aux données pour cartographier CMRO₂, K_G et K_I. Dans 4 animaux, la réponse BOLD au même protocole d'ES a été mesurée juste après les examens ¹⁷O.

Résultats : L'augmentation de signal BOLD était de 3% dans un volume de $28 \pm 3 \text{ mm}^3$ dans le S1HL/FL, confirmant l'activation neuronale en réponse à l'ES. Ce large volume activé a permis la sélection de 3 voxels en moyenne par hémisphère sur les cartes de CMRO_2 . CMRO_2 était systématiquement plus élevé ($+7 \pm 5\%$, $p=0,016$, fig. 1) dans le S1HL/FL activé ($2,74 \pm 0,37 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$) par rapport au côté controlatéral ($2,55 \pm 0,31 \mu\text{mol.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$). Les variations de K_G et K_L étaient encore plus importantes, $19 \pm 11\%$ et $10 \pm 6\%$ plus élevé dans le S1HL/FL activé ($0,44 \pm 0,08 \text{ min}^{-1}$ et $0,32 \pm 0,05 \text{ min}^{-1}$) par rapport au côté controlatéral ($0,37 \pm 0,04 \text{ min}^{-1}$, $p=0,018$ et $0,29 \pm 0,03 \text{ min}^{-1}$, $p=0,014$), respectivement.

Conclusion : Ce travail démontre la faisabilité de la mesure des variations de CMRO_2 en réponse à une activation dans le cerveau du rat à l'aide de l'IRM de l' ^{17}O . De telles expériences ont déjà été menées chez le chat, où une augmentation de 30% a été constatée dans le cortex visuel [6]. Ici, la combinaison de la double ES HL/FL et la stratégie de sommation de 2 sets de données consécutifs ont amélioré la sensibilité de détection. Les augmentations de 7% de CMRO_2 et de 15% en moyenne des paramètres liés au flux (K_G et K_L) sont en accord avec le découplage connu entre la réponse vasculaire et la réponse du métabolisme de l'oxygène à l'activation cérébrale.

Références : [1]Fox PT., NeuroImage, 2012; [2]Hyder F., Proc Natl Acad Sci; [3]Sonnay S., J Cereb Blood Flow Metab., 2016; [4]Baligand C., Metabolites. 2021; [5]Atkinson IC., NeuroImage, 2010; [6]Zhu XH., J Cereb Blood Flow Metab.

Remerciements : CEA20P47, ANR-21-CE44-0023-04, NeurATRIS (ANR-11-INBS-0011)

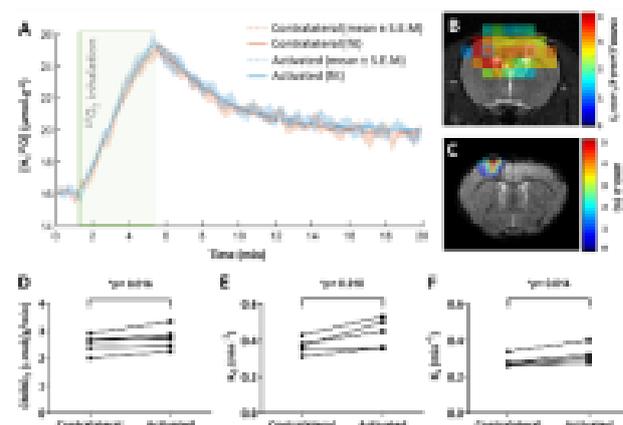


Figure 1. Résultats obtenus à partir d'acquisitions RM ^{17}O et BOLD-fMRI dans le cerveau du rat pendant une activation induite par HL/FL

Poster :

Communication n°5. ^{17}O -MR imaging of the cerebral metabolic rate of oxygen during hindlimb electrical stimulation in the rat at 11.7 T

Evènement : 2023 ISMRM Annual Meeting & Exhibition – 3-8 Juin 2023, Toronto, Canada

Organisation : International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM)

Abstract sélectionné pour une présentation poster en format digital.

Abstract :

^{17}O -MRI of the cerebral metabolic rate of oxygen during electrical stimulation of the paws in the rat at 11.7 T

Amélie Tourais¹, Cameron Hery¹, Martine Guillermier¹, Julien Valette¹, and Celine Balligand¹
¹Université Paris-Saclay, CEA, CNRS, MIRCen, Laboratoire des Maladies Neurodégénératives, Fontenay-aux-Roses, France

Synopsis

Keywords: Non-Proton, Metabolism

CMRO₂ is an important metric for the evaluation of neurovascular and neurometabolic coupling. However, the degree of coupling between brain activity and CMRO₂ remains a matter of debate. In this work, we used ^{17}O -ZTE-MRI at 11.7 T to measure CMRO₂ during neuronal activation in the rat primary somatosensory cortex. To improve measurements sensitivity, we acquired data over two consecutive cycles of $^{17}\text{O}_2$ inhalation-washout. We show that a significant functional increase in CMRO₂ ($+7\pm 5\%$, $p=0.016$), and in the rates of metabolized water gain and loss K_G ($+19\pm 11\%$, $p=0.18$) and K_L ($10\pm 6\%$, $p=0.014$) can be detected with good spatial resolution after summation.

Introduction

The cerebral metabolic rate of oxygen (CMRO₂) is an important metric for the evaluation of neurovascular and neurometabolic coupling. The degree of coupling between brain activity, CMRO₂, and other metabolic fluxes remains a matter of debate^{1,2}. In the rat, literature reported CMRO₂ increases of 15%³ to 200%² during bilateral forepaw activation. To revisit these early experiments, and possibly reconcile conflicting findings, more studies using non-invasive preclinical imaging tools with high spatial resolution are required. The current gold standard for CMRO₂ measurements is PET using $^{15}\text{O}_2$ as tracer. However, this technique suffers from an inherently low spatial resolution, precluding regional CMRO₂ mapping in rodents. As an alternative, *in vivo* MRI detection of ^{17}O -labeling of brain water during inhalation of $^{17}\text{O}_2$ gas enables direct CMRO₂ measurements without any theoretical spatial resolution limits, provided that ^{17}O MR detection sensitivity is sufficient (fig.1). In this work, we adapted our ^{17}O zero echo time (ZTE) MRI protocol, previously developed for mice⁴, to measure CMRO₂ during neuronal activation in the rat primary somatosensory cortex at 11.7 T. To improve our measurements sensitivity, we summed data acquired over two consecutive cycles of $^{17}\text{O}_2$ inhalation-washout, and we show that a functional increase in CMRO₂ can be detected with good spatial resolution.

Methods

Animals&setup. All data were acquired in female Wistar rats (2-10 months, 240-330 g) under medetomidine anesthesia (0.6 mg.kg⁻¹.h⁻¹ intra-venous infusion) using a 11.7 T Bruker system and a ¹H volume coil (72 mm). Either a ¹⁷O custom-built Tx/Rx surface coil (10 mm) or a Bruker ¹H receive surface coil were placed on top of the head for CMRO₂ and BOLD fMRI acquisitions, respectively. Dual forelimb/hindlimb (HL/FL) stimulation was chosen to maximize the cortex activation volume (AM-system, 1.5 mA/limb; 50 μs pulse; 5 Hz) (fig.2). **CMRO₂ measurements.** Our protocol consisted of two consecutive ¹⁷O₂ inhalation-washout experiments. Series of ¹⁷O ZTE-MRI (TR=1.3 ms, voxel size=1.5 mm³, time resolution=18 s) were acquired before (5 to 10 min), during (4 min) and after (15 min) inhalation of ¹⁷O₂ gas (Nukem Isotopes, 70% enrichment) delivered at 100 mL.min⁻¹. Electrostimulation of the right (n=3) or the left (n=3) HL/FL paws was started 2 min before inhalation. **¹H-BOLD fMRI.** In 4 rats out of 6, BOLD fMRI data were subsequently collected during the same electrical stimulation paradigm to locate the activated area (single-shot EPI, TR/TE: 1000/15 ms, 250 μm² in-plane, 750 μm slice thickness). In addition, to demonstrate the stability of neuronal activation over the duration of the experiment, BOLD fMRI was acquired in one rat during a 30 min stimulation (fig.2). **Data analysis and CMRO₂ quantification.** The two series of complex ZTE data acquired in each animal were summed and Hamming filter was applied. A 3-phase model⁵ was fitted to the data voxel-wise to map CMRO₂, K_G, and K_L rates (fig.3). K_G and K_L represent the rates of ¹⁷O labelled water gain and loss in the voxel, respectively, and are by definition proportional to cerebral blood flow. In addition, because the blood circulation time (T_c) can greatly affect CMRO₂ determination and depends on anesthesia, we measured T_c in a separate group of 5 rats in our conditions of anesthesia. Using confocal laser endo-microscopy, we detected the first and second passages of a bolus of fluorescent dextran (FITC) (fig.4). We found T_c=9.2±1.0 s and used this value for quantification. BOLD data were pre-processed with Gaussian spatial filtering. After block normalization and averaging, activated voxels were selected by thresholding (>contralateral signal+2*SD). All statistical group comparisons were computed with a simple paired t-test and statistical significance was set to α=0.05.

Results

BOLD signal was increased by up to 3% over a 28.5±3.35 mm³ volume in S1HL/FL, confirming neuronal activation in response to electrical stimulation. This large activated volume allowed the selection of 3 voxels per hemisphere on average on CMRO₂ maps. Our results (fig.3) showed that CMRO₂ was significantly higher (+7±5%, p=0.016) in the activated S1HL/FL (2.74±0.37 μmol.g⁻¹.min⁻¹) compared to the contralateral side (2.55±0.31 μmol.g⁻¹.min⁻¹). The changes in K_G and K_L with activation were even greater. K_G was 19±11% higher in the activated S1HL/FL (0.44±0.08 min⁻¹) compared to the contralateral side (0.37±0.04 min⁻¹, p=0.018), and K_L was 10±6% higher in the activated S1HL/FL (0.32±0.05 min⁻¹) compared to the contralateral side (0.29±0.03 min⁻¹, p=0.014).

Discussion

With this work, we demonstrate for the first time the feasibility of functional ¹⁷O-MRI based CMRO₂ measurements in the activated rat brain. Such experiments had previously only been carried out in cats, where a 30% increase was found in the visual cortex⁶. Here, combining dual HL/FL electrostimulation to maximize the activated cortex volume, and our strategy of summing two consecutive data sets improved our detection sensitivity. We found a 7% CMRO₂ increase and an average 15% increase in flow-related parameters (K_G and K_L). These results are in line with previous reports of a decoupling between the vascular response and the oxygen metabolism response to activation in the brain, and consistent with a strong BOLD effect.

Acknowledgements

The 11.7 T scanner and part of this project were funded by 'NeurATRIS ANR-11-INBS-0011', of the French Investissements d'Avenir Program run by the Agence Nationale pour la Recherche, and 'ANR-21-CE44-0023' collaborative research grant to CB.

References

1. Fox PT. The Coupling Controversy. *NeuroImage*. 2012;62(2):594-601. doi:10.1016/j.neuroimage.2012.01.103
2. Hyder F, Chase JR, Behar KL, et al. Increased tricarboxylic acid cycle flux in rat brain during forepaw stimulation detected with ¹H[¹³C]NMR. *Proc Natl Acad Sci*. 1996;93(15):7612-7617. doi:10.1073/pnas.93.15.7612
3. Sonnay S, Duarte JM, Just N, Gruetter R. Compartmentalised energy metabolism supporting glutamatergic neurotransmission in response to increased activity in the rat cerebral cortex: A ¹³C MRS study in vivo at 14.1 T. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2016;36(5):928-940. doi:10/f8jn3w
4. Baligand C, Barret O, Tourais A, et al. Zero Echo Time ¹⁷O-MRI Reveals Decreased Cerebral Metabolic Rate of Oxygen Consumption in a Murine Model of Amyloidosis. *Metabolites*. 2021;11(5):263. doi:10/gnp8cb
5. Atkinson IC, Thulborn KR. Feasibility of mapping the tissue mass corrected bioscale of cerebral metabolic rate of oxygen consumption using ¹⁷-oxygen and ²³-sodium MR imaging in a human brain at 9.4T. *NeuroImage*. 2010;51(2):723-733. doi:10.1016/j.neuroimage.2010.02.056
6. Zhu XH, Zhang N, Zhang Y, Uğurbil K, Chen W. New Insights into Central Roles of Cerebral Oxygen Metabolism in the Resting and Stimulus-Evoked Brain. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2009;29(1):10-18. doi:10.1038/jcbfm.2008.97

Figures

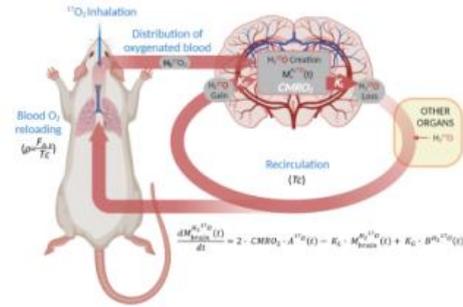


Figure 1. 3-phase model⁵ presenting the different rates involved in $H_2^{17}O$ signal variations ($dM_V^{H_2^{17}O}(t)/dt$) during an inhalation experiment, showing the importance of the blood circulation time T_c . $A^{17O}(t)$ is the fraction of arterial $^{17}O_2$ gas in excess of natural abundance, and $B^{H_2^{17}O}(t)$ is the relative amount of arterial $H_2^{17}O$ in excess of natural abundance. K_L and K_G represent the rate constants reflecting the loss (diffusion from the mitochondria to blood and chemical conversion) and gain (diffusion from blood to the cell) of $H_2^{17}O$ within the voxel, respectively.

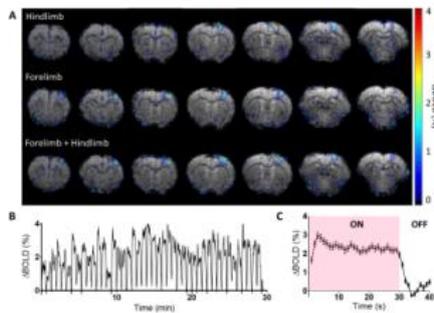


Figure 2. BOLD-MRI data showing that: A) Dual forelimb/hindlimb electrostimulation maximizes the “activated” brain volume, B) a positive BOLD response ($\Delta BOLD$) can be maintained for over 30 min, with a 30 s/10 s ON/OFF pattern, and C) the average $\Delta BOLD$ was stable during the ON periods and reached $2.35 \pm 0.21\%$ in this example.

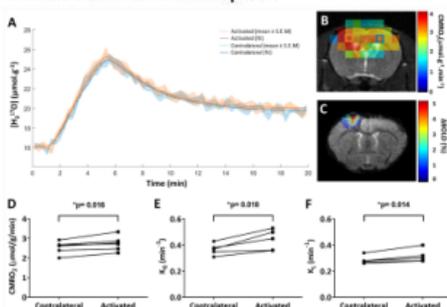


Figure 3. ^{17}O -MRI and BOLD-MRI results obtained in the rat brain during dual hindlimb/forelimb stimulation. A) Time course of ^{17}O -labelled water concentration from the activated and contralateral voxels with corresponding 3-phase fit results. B) $CMRO_2$ map with the selected activated voxel in orange and the contralateral voxel in blue. C) $\Delta BOLD$, during dual hindlimb/forelimb electrostimulation. D-F) $CMRO_2$, K_G , K_L values from contralateral and activated cortices of each animal, showing a significant increase on the activated side for the three metrics.

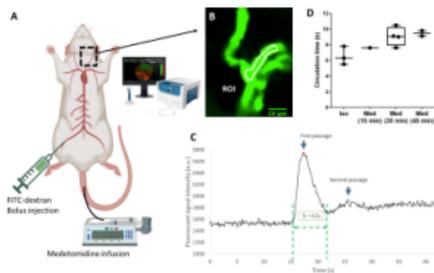


Figure 4. Blood circulation time measured using confocal laser microscopy (optical system Cellvizio® ProFlex™). A) Set-up including caudal and femoral catheters for medetomidine and FITC-dextran bolus delivery, respectively. Veins and arterioles around the carotid were exposed for imaging. B) Image of the vasculature, showing an ROI, in white. C) Time course of fluorescent signal before and after a 100 μ L bolus of FITC-dextran (50 mg/mL) showing the 1st and 2nd passages of the bolus. D) Average Tc values were 6.5 ± 1.2 s under isoflurane, and 9.2 ± 1.0 s after 30 min of medetomidine.

Article

Zero Echo Time ^{17}O -MRI Reveals Decreased Cerebral Metabolic Rate of Oxygen Consumption in a Murine Model of Amyloidosis

Celine Baligand ^{*}, Olivier Barret, Amélie Tourais, Jean-Baptiste Pérot, Didier Thenadey, Fanny Petit, Géraldine Liot, Marie-Claude Gaillard, Julien Flament, Marc Dhenain and Julien Valette

Laboratoire des Maladies Neurodégénératives, MIRCen, CNRS, CEA, Université Paris-Saclay, F-92260 Fontenay-aux-Roses, France; olivier.barret@cea.fr (O.B.); amelie.tourais@cea.fr (A.T.); jean-baptiste.perot@cea.fr (J.-B.P.); didier.thenadey@cea.fr (D.T.); fanny.petit@cea.fr (F.P.); Geraldine.Liot@cea.fr (G.L.); marie-claude.gaillard@cea.fr (M.-C.G.); julien.flament@cea.fr (J.F.); marc.dhenain@cea.fr (M.D.); julien.valette@cea.fr (J.V.)

* Correspondence: celine.baligand@cea.fr



Citation: Baligand, C.; Barret, O.; Tourais, A.; Pérot, J.-B.; Thenadey, D.; Petit, F.; Liot, G.; Gaillard, M.-C.; Flament, J.; Dhenain, M.; et al. Zero Echo Time ^{17}O -MRI Reveals Decreased Cerebral Metabolic Rate of Oxygen Consumption in a Murine Model of Amyloidosis. *Metabolites* **2021**, *11*, 263. <https://doi.org/10.3390/metabo11050263>

Academic Editors: Andre F. Martins and Myriam M. Chaumeil

Received: 21 March 2021

Accepted: 20 April 2021

Published: 22 April 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: The cerebral metabolic rate of oxygen consumption (CMRO_2) is a key metric to investigate the mechanisms involved in neurodegeneration in animal models and evaluate potential new therapies. CMRO_2 can be measured by direct ^{17}O magnetic resonance imaging (^{17}O -MRI) of H_2^{17}O signal changes during inhalation of ^{17}O -labeled oxygen gas. In this study, we built a simple gas distribution system and used 3D zero echo time (ZTE-)MRI at 11.7 T to measure CMRO_2 in the $\text{APP}_{\text{swe}}/\text{PS1}_{\text{dE9}}$ mouse model of amyloidosis. We found that CMRO_2 was significantly lower in the $\text{APP}_{\text{swe}}/\text{PS1}_{\text{dE9}}$ brain than in wild-type at 12–14 months. We also estimated cerebral blood flow (CBF) from the post-inhalation washout curve and found no difference between groups. These results suggest that the lower CMRO_2 observed in $\text{APP}_{\text{swe}}/\text{PS1}_{\text{dE9}}$ is likely due to metabolism impairment rather than to reduced blood flow. Analysis of the ^{17}O -MRI data using different quantification models (linear and 3-phase model) showed that the choice of the model does not affect group comparison results. However, the simplified linear model significantly underestimated the absolute CMRO_2 values compared to a 3-phase model. This may become of importance when combining several metabolic fluxes measurements to study neuro-metabolic coupling.

Keywords: cerebral metabolic rate of oxygen; magnetic resonance imaging; oxygen-17; zero echo time; APP/PS1; Alzheimer's disease; mouse

1. Introduction

Oxidative metabolism is essential to sustain brain's varying energy needs at rest and during neuronal activation. Therefore, the cerebral metabolic rate of oxygen utilization (CMRO_2) is a key metric to elucidate brain complex bioenergetic processes in normal conditions and in the context of neurodegenerative pathologies such as Alzheimer's disease (AD). In AD, accumulation of amyloid beta in the brain has been associated with a defect in mitochondrial function [1] and reduced CMRO_2 have long been reported in patients [2]. However, whether the defect in oxidative metabolism is the cause the pathological manifestation or rather results from disease progression is still unclear. Being able to investigate this parameter in animal models is critical to evaluate mechanisms involved in neurodegeneration and to evaluate new therapies.

The current gold standard for clinical CMRO_2 measurements is positron emission tomography (PET) using $^{15}\text{O}_2$. However, ^{15}O -PET presents some major limitations. Because no distinction can be made between hemoglobin-bound ^{15}O and metabolic production of H_2^{15}O , a separate exogenous H_2^{15}O intravenous infusion is needed to estimate blood flow and accumulation in tissues. In addition, the half-life of ^{15}O is very short (~2 min)

and direct access to a cyclotron is required. While it has been used in small animals [3,4], an important constraint remains that the actual spatial resolution is intrinsically limited by the disintegration properties of ^{15}O , i.e., the distance that the positron travels prior to annihilation (maximum free path of 8 mm [5]) which, in practice, often limits rodent studies to whole brain measurements [6].

As an alternative to PET, *in vivo* magnetic resonance (MR) can be used to measure CMRO_2 . While ^1H -MRI based approaches such as calibrated BOLD offer a high spatial resolution, it requires a transient hyper/hypocapnic challenge [7] and produces whole brain measurements. Moreover, the technique is indirect as BOLD contrast relies on the effect of oxygen on water relaxation properties and is therefore sensitive to several competing physiological effects. ^{17}O is the only stable oxygen isotope that can be detected with MR. The low natural abundance of ^{17}O (0.037%) makes it particularly suitable for use as a tracer for *in vivo* isotopic enrichment studies. ^{17}O -MRI presents two major advantages over ^{15}O -PET: first, the changes in H_2^{17}O signal detected during inhalation of gaseous $^{17}\text{O}_2$ only originate from metabolically produced water, since gaseous and hemoglobin-bound $^{17}\text{O}_2$ are “MR-invisible”. There is no need for a separate evaluation of the probe accumulation in the blood, and both experimental procedures and modeling are greatly simplified [8]. Second, and most importantly, there is no intrinsic spatial resolution limit, provided that the detection sensitivity is sufficient. The ^{17}O -MRI approach was used to measure CMRO_2 in human with ultra-short TE imaging at 9.4, 7 and 3 Teslas [8–10]. In rodents, optimized spectroscopic MR imaging has been successfully implemented [11–14]. However, studies using ^{17}O imaging remain scarce, which may reflect the challenges of its implementation.

In this work, we implemented an imaging strategy based on zero echo time (ZTE), allowing higher signal-to-noise ratio for the detection of rapidly decaying signal [15], and developed a simple $^{17}\text{O}_2$ delivery system for the anesthetized animal. We applied ^{17}O -ZTE-MRI at 11.7 T to characterize resting state oxidative metabolism in the $\text{APP}_{\text{swe}}/\text{PS1}_{\text{dE9}}$ mouse model of amyloidosis, one of the hallmarks of Alzheimer’s disease. We processed the results using different quantification models to evaluate the impact of the choice of the parameters on group analysis. Finally, we explored a few possible origins for the observed difference in CMRO_2 in the $\text{APP}_{\text{swe}}/\text{PS1}_{\text{dE9}}$ brain by examining differences in cerebral volumes and possible vascular contribution using cerebral blood flow (CBF) estimation.

2. Results

2.1. Setting Up CMRO_2 Measurements in the Mouse Brain

Spectroscopic imaging has been traditionally used for *in vivo* ^{17}O MR data collection in rodents’ brain [11,12,14,16]. We used 3D free induction decay (FID) chemical shift imaging (CSI) with the shortest achievable echo time ($\text{TE} = 0.3$ ms) as a reference to evaluate the performances of the ZTE approach in a ^{17}O natural abundance free water sample and *in vivo* in the mouse brain. Using identical flip angles and repetition times optimized to maximize signal, we compared the sequences in terms of their signal-to-noise ratio (SNR) and temporal SNR (tSNR) normalized to the square-root of acquisition time and to the effective volume as estimated from the spatial response function (SRF). After spatial filtering (Hamming) of both data sets, ZTE magnitude signal was compared to the integral of the CSI H_2^{17}O peak after application of appropriate line broadening. Phantom data showed that the SNR close to the surface coil was more than two-fold higher with ZTE than with CSI ($\text{SNR}_{\text{ZTE}} = 2.1 \text{ min}^{-1/2} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ and $\text{SNR}_{\text{CSI}} = 0.9 \text{ min}^{-1/2} \cdot \mu\text{L}^{-1}$). The advantage of ZTE was also evident as a three-fold increase in temporal SNR ($\text{tSNR}_{\text{ZTE}} = 1.7 \text{ min}^{-1/2} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ and $\text{tSNR}_{\text{CSI}} = 0.6 \text{ min}^{-1/2} \cdot \mu\text{L}^{-1}$). Similar observations were made *in vivo* for SNR ($\text{SNR}_{\text{ZTE}} = 1.7 \text{ min}^{-1/2} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ and $\text{SNR}_{\text{CSI}} = 0.9 \text{ min}^{-1/2} \cdot \mu\text{L}^{-1}$; Figure 1b,c), and temporal SNR ($\text{tSNR}_{\text{ZTE}} = 0.9 \text{ min}^{-1/2} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ and $\text{tSNR}_{\text{CSI}} = 0.5 \text{ min}^{-1/2} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, Figure 1d). The optimized ZTE sequence was selected to carry out subsequent 3D CMRO_2 measurements in mouse brain during inhalation of ^{17}O -enriched gas.

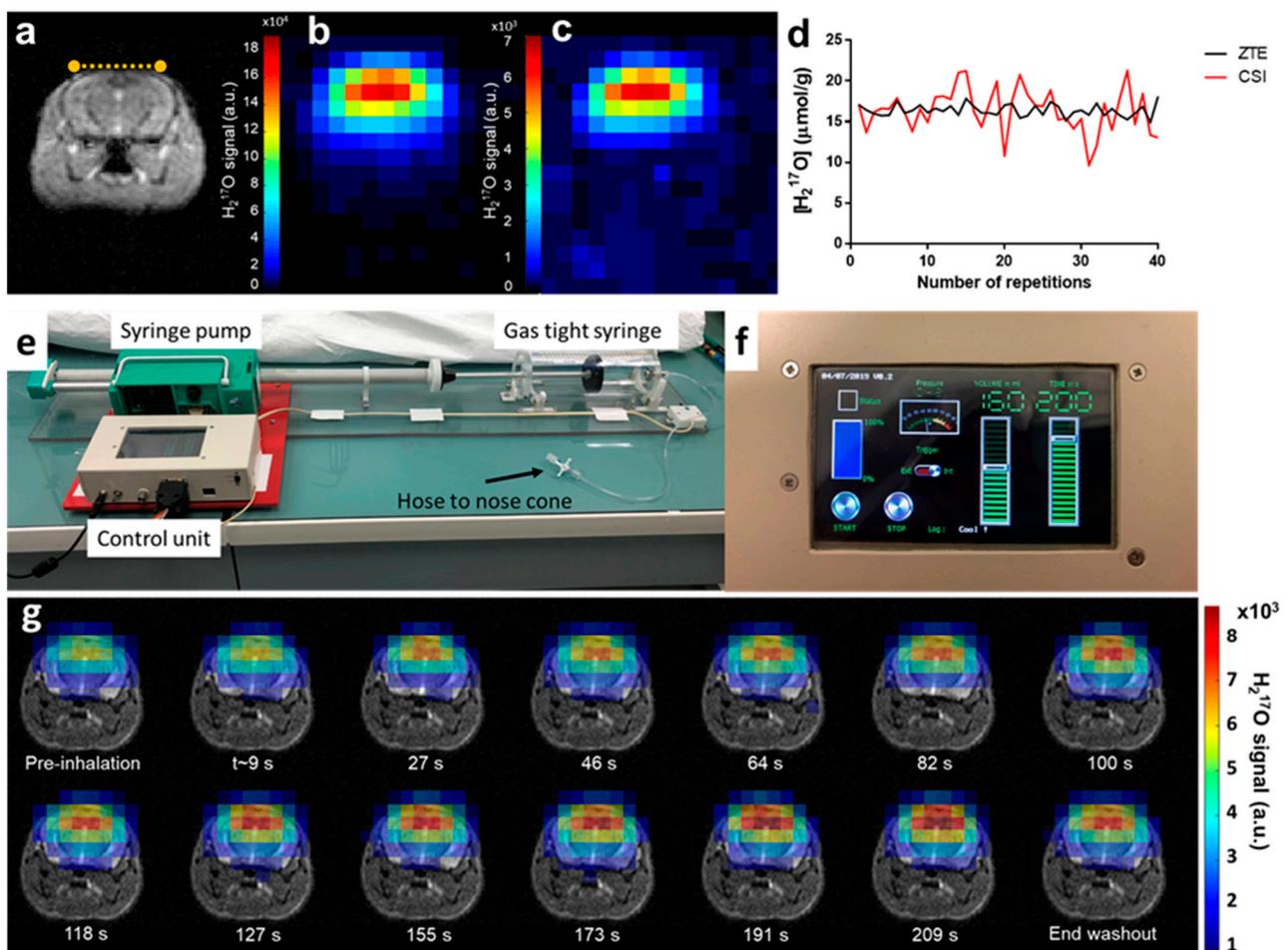


Figure 1. Experimental set-up and in vivo acquisitions. (a) Coronal T2 weighted image of a wild-type mouse brain. The yellow dotted line indicates the ^{17}O surface coil position on top of the head of the animal. In vivo natural abundance H_2^{17}O images acquired with (b) zero echo time (ZTE) and (c) chemical shift imaging (CSI) sequences, respectively, demonstrating higher signal-to-noise ratio (SNR) for ZTE. Both images are scaled relative to their respective maximum value. (d) Single voxel signal normalized to brain water ^{17}O natural abundance displayed over 40 repetitions, showing lower temporal variability for ZTE (black curve) than for CSI (red). (e) The $^{17}\text{O}_2$ delivery system consists of a gas-tight acrylic syringe (500 mL, Hamilton) and a customized syringe pump. The stepper motor is driven by a microcontroller unit (Arduino, Uno R3) and was programmed to allow both manual and MR sequence-triggered activation of the syringe. (f) The control unit programmable tactile graphic user interface (4D system, $\mu\text{LCD-43PT}$) allows prescribing the inhalation protocol parameters (volume, duration and start/stop control). (g) The time-course of H_2^{17}O -ZTE images acquired on our Bruker 11.7 T scanner before, during, and after ^{17}O inhalation co-registered with the corresponding anatomical image shows incorporation of labeled oxygen in water signal until the end of the inhalation period. Signal decays thereafter and reaches a new steady state, 15 min after the end of the inhalation (end washout).

To ensure continuous and reproducible delivery of ^{17}O -enriched oxygen, we designed a simple breathing circuit (Figure 1e) consisting of a prefilled gas-tight syringe, similar to the implementation by Neveu et al. [17], but with automatic actuation of the plunger by an Arduino controlled stepper motor. Inhalation parameters (volume and duration) were prescribed using the tactile graphic user interface (Figure 1f). A series of 3D ^{17}O -ZTE MR images were acquired from each animal's brain before (5 min), during (3.3 min) and after (15 min) inhalation of $^{17}\text{O}_2$ with a time resolution of 18 s. Acquisitions provided sufficient SNR to detect the H_2^{17}O signal increase immediately upon inhalation of labeled gas, as illustrated in Figure 1g, showing incorporation of $^{17}\text{O}_2$ into H_2^{17}O via mitochondrial metabolism.

2.2. CMRO₂ Is Lower in APP_{swe}/PS1_{dE9} Than in Wild-Type Mice

We used ZTE-MRI to study the differences in resting state oxygen utilization induced by disease progression in 12–14 month-old APP_{swe}/PS1_{dE9} mice compared to age-matched wild-type animals (CTR). To avoid partial volume effect and perform group comparison in this constitutive model of amyloidosis, 8 adjacent voxels (effective volume: 100 μ L) were conservatively chosen within the brain of each animal (Figure 2a) for signal averaging. Group averages of the H₂¹⁷O signal time curves are shown in Figure 2b. In rodents, where blood circulation time is short, and for short inhalation duration, a simplified linear model can be applied to quantify CMRO₂ (CMRO₂ = inhalation slope/(2 α)) [18]. Applying this simplified model to our data collected over the entire 3.3 min inhalation period, and assuming an enrichment fraction α of 0.7 as provided by the vendor, we found CMRO₂ values of 1.39 ± 0.07 μ mol/g of tissue/min in the CTR mice and 1.16 ± 0.10 μ mol/g of tissue/min in APP_{swe}/PS1_{dE9}. This difference between groups was statistically significant ($p = 0.028$, Mann-Whitney's U test, Figure 2c).

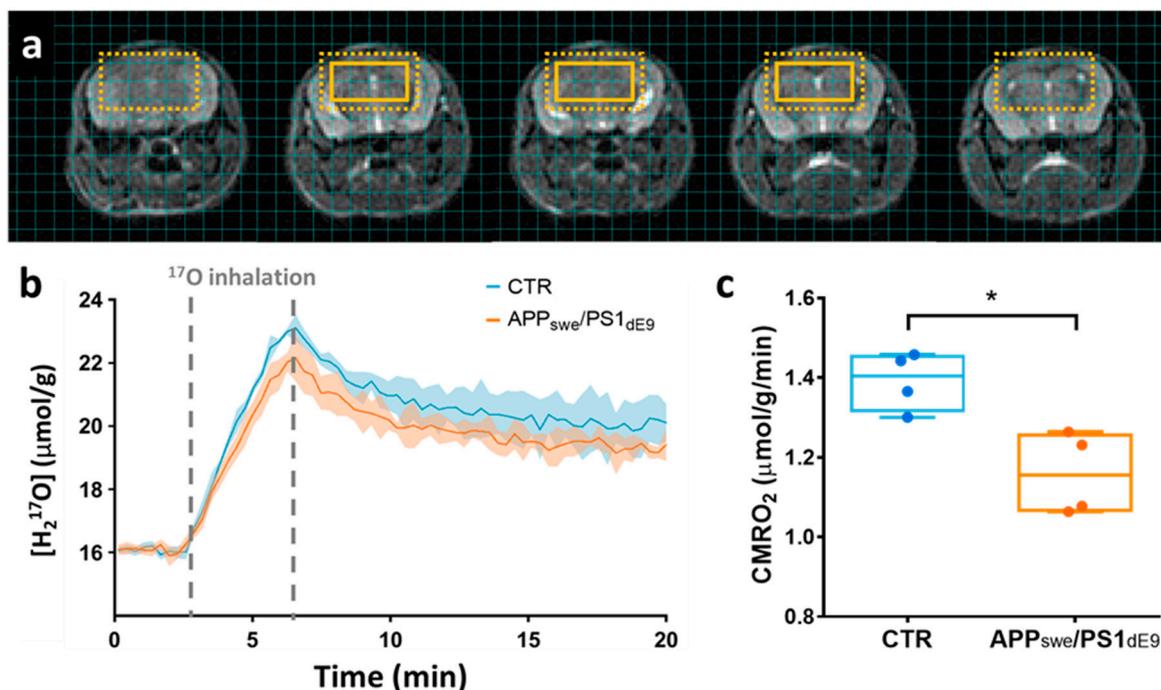


Figure 2. (a) Series of 5 contiguous 0.5-mm-thick anatomical images with an overlay showing the extent of the region of interest composed of 8 adjacent voxels. The dotted box indicates the effective resolution after hamming filtering (100 μ L). (b) Time-courses of H₂¹⁷O concentration in APP_{swe}/PS1_{dE9} (in orange) and wild-type CTR animals (in blue), presented as group mean \pm standard deviations. Grey dotted lines indicate the ¹⁷O₂ inhalation period. (c) Analysis with a linear model yielded significantly lower CMRO₂ values ($p = 0.028$) in APP_{swe}/PS1_{dE9} (1.16 ± 0.10 μ mol/g of tissue/min) compared to wild-type control (1.39 ± 0.07 μ mol/g of tissue/min). * $p < 0.05$ (Mann-Whitney's U test).

We also evaluated whether the differences of CMRO₂ between CTR and APP_{swe}/PS1_{dE9} brains could be related to differential cerebral perfusion. Post-inhalation H₂¹⁷O signal, referred to as the washout phase signal, is mainly driven by local blood perfusion, and the exponential decay rate k_{washout} can be used as an estimator of CBF, as was previously validated in the rat brain [11]. Here, we found no difference in the CBF estimator k_{washout} between groups and values were 0.33 ± 0.03 min^{-1} in CTR and 0.30 ± 0.03 min^{-1} in APP/PS1_{dE9} ($p = 0.48$). Moreover, there was no correlation between CMRO₂ and k_{washout} in our dataset, suggesting that a rest CBF deficit could not account for the reduced CMRO₂ in APP_{swe}/PS1_{dE9} mice.

2.3. Effect of the Choice of the Model on CMRO₂ Quantification

After initial quantification using the simplified linear model, we sought to compare different models of quantification to determine the impact on CMRO₂ and, most importantly, to assess whether the significant difference in CMRO₂ between APP_{swe}/PS1_{dE9} and control mice depended on the model (Figure 3). We used the 3-phase model initially proposed by Atkinson et al. for quantification of CMRO₂ in the human brain [8]. In this approach, H₂¹⁷O signal is mathematically described before, during, and after ¹⁷O₂ inhalation, including the blood circulation time (T_c) as a parameter. Three key parameters can be fitted: CMRO₂, the rate of labeled water creation in a given voxel, K_G and K_L, rate constants respectively attributed to the “gain” of labeled water due to recirculation and the “loss” due to perfusion. Assuming immediate availability of the labeled oxygen to the tissue (T_c = 0 s), i.e., approaching the hypothesis of the linear model, we found that CMRO₂ was 1.79 ± 0.11 μmol/g of tissue/min in CTR and 1.50 ± 0.13 μmol/g of tissue/min in APP_{swe}/PS1_{dE9} (*p* = 0.028), and the difference between groups was preserved. We then exploited the 3-phase model’s ability to account for a physiological blood circulation rate. Based on literature values [19], we assumed T_c = 3 s. In these conditions, CMRO₂ was 2.02 ± 0.10 μmol/g of tissue/min in CTR versus 1.68 ± 0.14 μmol/g of tissue/min in APP_{swe}/PS1_{dE9} (*p* = 0.028). The fitting procedure also yielded K_G and K_L values, which were not significantly different between groups. K_G was 0.62 ± 0.18 min⁻¹ in CTR and 0.45 ± 0.06 min⁻¹ in APP_{swe}/PS1_{dE9} (*p* = 0.2), and K_L was 0.39 ± 0.04 min⁻¹ in CTR and 0.36 ± 0.06 min⁻¹ in APP_{swe}/PS1_{dE9} (*p* = 0.7). The same analyses were then computed assuming that the effective ¹⁷O enrichment fraction α of the inhaled mixture was lower than that of the gas contained in the prefilled syringe due to contamination by ambient air. We set α = 0.5 and obtained CMRO₂ values of 1.95 ± 0.10 μmol/g of tissue/min in CTR and 1.62 ± 0.14 μmol/g of tissue/min in APP_{swe}/PS1_{dE9} (*p* = 0.028) with the linear model. The complete model with T_c = 3 s yielded CMRO₂ values of 2.83 ± 0.14 μmol/g of tissue/min in CTR and 2.36 ± 0.20 μmol/g of tissue/min in APP_{swe}/PS1_{dE9} (*p* = 0.028). K_G was 0.87 ± 0.25 min⁻¹ in CTR and 0.63 ± 0.09 min⁻¹ in APP_{swe}/PS1_{dE9} (*p* = 0.2), and K_L was 0.40 ± 0.04 min⁻¹ in CTR and 0.36 ± 0.06 min⁻¹ in APP_{swe}/PS1_{dE9} (*p* = 0.7). While the difference between groups was preserved regardless of the model used, an analysis of variance (ANOVA) run on the CTR data at either α = 0.7 or α = 0.5 showed that the choice of the model impacted significantly the absolute value computed for CMRO₂ (*p* = 0.0015, Friedman test). Specifically, in both cases, Dunn’s multiple comparison test showed significant differences between the linear model and the 3-phase model with T_c = 3 s (*p* = 0.014).

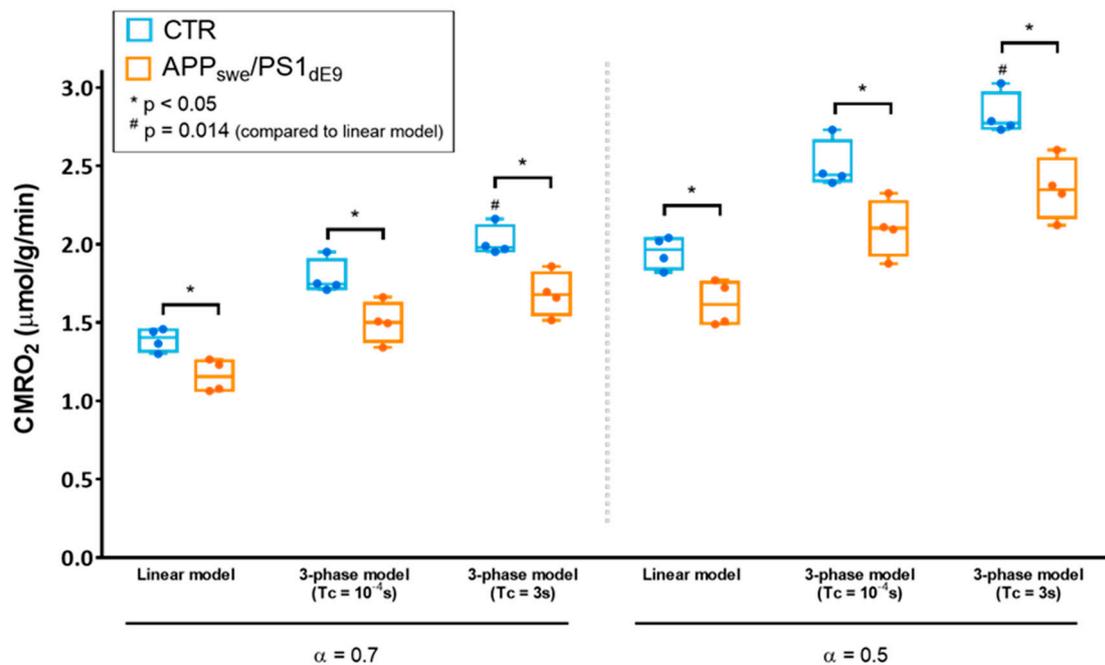


Figure 3. Effect of the choice of the model on CMRO₂ quantification and group comparison. CMRO₂ quantified with different models (linear model or 3-phase model) and different sets of parameters (enrichment fraction $\alpha = 0.7$ or 0.5 , blood circulation time $T_c \rightarrow 0$ ($T_c = 10^{-4}$ s or $T_c = 3$ s) are displayed for CTR (in blue) and APP_{swe}/PS1_{dE9} (in orange) as min-to-max box and whiskers plots. The grey dotted line separates quantifications ran assuming a ¹⁷O enrichment fraction of 70 % ($\alpha = 0.7$) (left side) and 50% ($\alpha = 0.5$) (right side), thereby accounting for possible contamination of the inhaled mixture with ambient ¹⁶O₂ within the nose cone. * indicates significant differences between CTR and APP_{swe}/PS1_{dE9} with $p < 0.05$ using a Mann-Whitney's U test. # indicates significant differences compared to the results from the linear model using a Friedman test followed by Dunn's multiple comparison test ($p = 0.014$).

3. Discussion

¹⁷O-MRI based measurement of oxygen metabolism has evidently raised increasing interest over the past 30 years [20,21]. However, it is not yet widely used, mostly due to the cost and complexity of implementation. The current report shows the first implementation of ZTE MR imaging in mice for ¹⁷O data collection and CMRO₂ measurement during an enriched ¹⁷O₂ gas inhalation experiment. We found that using a vendor-supplied ZTE sequence was advantageous over the standard FID CSI, yielding a two-fold increase in SNR. Combined with the simple inhalation set-up proposed in this study, this makes the technique readily reproducible in other preclinical imaging centers, and may promote the use of ¹⁷O-MRI for the study of neurodegenerative disorders.

An important application of the technique and a major finding of this study was the significantly lower CMRO₂ in APP_{swe}/PS1_{dE9} mice compared to age-matched wild-type. We are confident that this difference in CMRO₂ is a robust result because:

- (1) It does not depend on the model used for quantification as shown in Section 2.3,
- (2) Relative ventricle/brain volume differences between groups can be ruled out as possible bias. Indeed, high-resolution T2-weighted MRI were performed on each animal and automated segmentation showed no significant difference in total brain volume (WT: 467 ± 18 mL vs. APP/PS1: 484 ± 12 mL, $p = 0.16$) and ventricles volume (WT: 4.27 ± 0.12 mL vs. APP/PS1: 4.49 ± 0.18 mL, $p = 0.25$).

Metabolic disturbances are well documented in Alzheimer's patients as glucose hypometabolism in brain regions typically affected by the pathology [22–24] and oxygen metabolism perturbation [2]. Previous studies, mostly performed in vitro, have shown that amyloidosis disturbed mitochondrial function and citric acid cycle enzyme activities [25], which would translate into impaired oxygen metabolism. In a different mouse model (Arc β

mice), Ni et al. [26] inferred CMRO₂ from CBF and oxygen extraction fraction and found that it was decreased in aged Arcβ mice. While lower CMRO₂ are not unexpected in the aged APP_{swe}/PS1_{de9} mice where amyloidosis begins around 4 months of age [27], in vivo data directly linking Aβ accumulation and CMRO₂ are largely lacking. The ¹⁷O-MRI approach implemented in our study allows for direct and non-invasive measurement of CMRO₂ and will enable longitudinal studies in Alzheimer's disease models to further investigate the origins of CMRO₂ alterations.

In addition to CMRO₂ quantification, the ¹⁷O₂ inhalation experiments provide an estimation of CBF through the H₂O¹⁷ signal exponential decay rate (k_{washout}) measured during the washout period. In rats, it was shown that k_{washout} can be converted into a quantitative measure of CBF using the empirically determined conversion factor of 1.86 [16]. A similar calibration study would be required to determine this coefficient in mice in our experimental conditions to allow CBF quantification. Nonetheless, k_{washout} can be directly used as an index of resting state CBF for group comparison. While we cannot exclude that vascular function and reactivity is altered in the APP_{swe}/PS1_{de9} model, which is known to display amyloid angiopathy [27], k_{washout} was not significantly affected in our group of mice. This suggests that the lower resting state CMRO₂ does not simply result from restricted access to oxygen due to limited blood flow, but rather indicates altered mitochondrial function. This is consistent with previous studies in aged APP/PS1 that have reported decreased COX and SDH activity [28], as well as lower PGC1α and Tfam protein levels [29], suggesting a mitochondrial impairment in this model. Resting state CBF might nonetheless be regionally impaired in APP_{swe}/PS1_{de9}, which would not necessarily be captured by our analysis over 8 voxels and/or might not reach significance given our small sample size. In the same model, a previous study reported a decrease in cortex CBF [30]. Future studies should include H₂¹⁷O bolus injection experiments to calibrate CBF quantification using the post inhalation phase, or, preferably, arterial spin labeling MRI measurements to obtain higher resolution CBF maps in these mice.

The CMRO₂ values found in wild-type animals were lower than previously published results using the same quantification model (linear model). For instance, Zhu et al. [16] reported a CMRO₂ value of 2.63 ± 0.16 , Cui et al. [11] of 2.6 ± 0.4 μmol/g/min, and Lou et al. [12] consistently found 2.72 ± 0.46 μmol/g/min. There are several possible explanations to this difference. First, the wild-type mice in our study were scanned at ~12 months of age in order to age-match the late stage APP_{swe}/PS1_{de9} animals, whereas most previous ¹⁷O-MRI studies were carried out in ~3 month-old animals [11,12]. In mice, there are conflicting reports of either no change [26,31] or even an increase in CMRO₂ [32] with age. However, these studies were performed using indirect estimates of CMRO₂. In humans, several ¹⁵O-PET studies have shown that resting brain oxygen metabolism was decreased in elderly [33–36]. It cannot be excluded that the lower CMRO₂ could be an effect of age in our animals. Another possible contribution to our lower CMRO₂ values is the choice of the anesthetic. In previous studies, isoflurane (1.2 to 2%) [11,12] or ketamine/xylazine infusion [16] were used for MR acquisitions. Here, we used medetomidine, which is known to have a vasoconstrictor effect [37] and to induce lower resting state perfusion [38], as opposed to isoflurane, which is a vasodilatory agent [39]. Medetomidine was also shown to alter glucose metabolism [40]. Altogether, these effects of anesthesia may alter oxygen availability and CMRO₂. Lastly, it cannot be excluded that, with our gas distribution set-up and nose cone, a fraction of what the animal inhaled came from surrounding air containing ¹⁶O₂, thereby decreasing the ¹⁷O enrichment fraction of the mixture inhaled to an unknown value. To evaluate this effect, we quantified the results using either $\alpha = 0.7$ as administered or $\alpha = 0.5$, assuming that 20% of the gas mixture contained ¹⁶O₂. Resulting CMRO₂ values were higher when assuming $\alpha = 0.5$, however not reaching the 2.7 μmol/min/g previously reported [11]. It is likely that a combination of these factors explains our lower values in wild type.

The statistically significant group differences found in this study were preserved regardless of the model used for quantification. However, our results comparing the

simplified linear model to the 3-phase model with different sets of parameters showed their impact on absolute values. The linear model may lead to an underestimation of CMRO₂ compared to the 3-phase model. Indeed, the assumption of a very rapid blood circulation time underlying the linear model may be challenged in certain pathological conditions where cardiac function and/or local blood flow is affected, increasing Tc. Moreover, the validity of the linear model is bound to short inhalation times, which may be suboptimal in the context a slow oxygen metabolism such as in the diseased brain or in other organs like muscles [13], where H₂¹⁷O enrichment is slower and requires longer inhalation times. Absolute quantification becomes crucial when combining the measurements of different fluxes (e.g., metabolic rate of glucose, ATP production rate or CBF) to precisely study neuro-metabolic coupling and infer the oxygen-glucose index similar to what is done in PET studies [41,42], or to infer the oxygen extraction fraction from CBF and CMRO₂ [16]. Because blood flow and circulation time may be differentially affected by the anesthesia regime, or may simply be altered by the pathology, preliminary experiments may be recommended to determine Tc and select the appropriate model prior to running a preclinical study.

4. Materials and Methods

4.1. Animals and Preparation

All experimental protocols were reviewed and approved by the local ethics committee and submitted to the French Ministry of Higher Education, Research, and Innovation (approval: APAFIS#21333-2019062611). They were performed in a facility authorized by local authorities (authorization #D9203202), in strict accordance with recommendations of the European Union (2010-63/EEC). Mice were housed in standard conditions (12-h light-dark cycle, temperature: 22 ± 1 °C and humidity: 50%) with ad libitum access to food (Altromin 1310) and water.

MR experiments were performed in a group of APP_{swe}/PS1_{dE9} mice ($n = 4$, 24.4 ± 1.4 g, age = 13 ± 1 months) and a group of wild-type littermates (CTR, $n = 4$, 24.8 ± 2.1 g, age = 11.6 ± 0.3 months). The mice co-express human APP with the Swedish double mutation (KM670/671NL) and human PS1 deleted in exon 9 under the control of the mouse prion protein promoter. These mice develop characteristic β-amyloid plaques and angiopathy in cortex and hippocampus starting at 4 months and increasing with age, as previously described [27,43]. High amyloid load was seen in the mice involved in our study by immunohistochemistry (see Supplementary Figure S1). Before each scan, animals were initially anesthetized with isoflurane mixed in medical air (3% for induction, 1.5% for maintenance) and a catheter was inserted in the tail vein. Mice were then placed prone on a water-heated bed equipped with temperature and breathing rate monitoring, and anesthesia was switched from isoflurane to medetomidine. Mice received an initial intravenous bolus of medetomidine (0.1 mg/kg domitor[®], Vetoquinol) and an infusion was immediately started for maintenance (0.2 mg/kg/h). Isoflurane was progressively decreased to 0% within 10 min. Once placed in the magnet and maintained under medetomidine anesthesia only, mice were supplied with non-labeled O₂ through a nose cone. The CMRO₂ measurement protocol started within 45 min from the first anesthesia, when physiological parameters were stable (~120–140 breath/min, ~36.5 °C body temperature).

4.2. MR Methods

MR experiments were performed on a horizontal 11.7 T scanner (Bruker, Ettlingen, Germany) interfaced with Paravision 6.0.1. A 72-mm diameter ¹H quadrature volume coil (Bruker, Ettlingen, Germany) and a custom-built 10-mm diameter ¹⁷O surface coil were used. After automatic adjustments including ¹H RF calibration, global shimming and frequency adjustment, a fast low angle shot (FLASH) image was acquired for localization and shim volume preselection (TR/TE = 195/2.3 ms, field of view (FOV) = 4 cm × 4 cm, matrix size = 256 × 256). It was followed by a 3D B0 field map (TR/TE1/TE2 = 20/1.4/5.4 ms, FOV = 3 cm × 3 cm × 3 cm, matrix size = 64 × 64 × 64, NA = 8) with a signal-to-noise

threshold of 10 for reconstruction. A ^1H PRESS scan (2048 points, 4.5 mm^3) was used to evaluate the shim quality over the entire brain, before and after the shim calculation procedure was applied (MAPSHIM). The resulting full width at half maximum for ^1H ranged between 45 and 55 Hz in vivo. In the CTR and APP_{swe}/PS1_{dE9} groups, RARE images were acquired (TR/TE = 3000/30 ms, RARE factor 8; FOV: $20 \times 20\text{ mm}^2$; matrix size: 192×192 ; slice thickness: 0.5 mm) so that total brain and ventricles volumes were determined by automated segmentation using an in-house developed python library (<https://sammba-mri.github.io/>, accessed on 1 November 2018).

4.2.1. SNR Comparison Experiments

To maximize sensitivity and overcome the short $T2^*$ expected for ^{17}O , in vivo ^{17}O -MRI was acquired using a hard pulse ZTE approach. We first compared the 3D ZTE performance to that of a standard 3D CSI on natural abundance water phantom and in vivo. For both sequences, RF pulse (5- μs broad pulse, 100 W) and TR (1.8 ms) were kept identical. **CSI acquisitions:** For 3D CSI, echo time was set to TE = 0.3 ms, the minimum achievable TE value in our settings. The field of view was $24 \times 24 \times 24\text{ mm}^3$, the matrix size was $16 \times 16 \times 16$, the number of complex points was 128 with a dwell time of 8.4 μs , and the number of averages was 3. Successive CSI blocks were acquired with 4 averages in 24.8 s each, and repeated 40 times. **CSI post-processing:** 3D complex data were exported to Matlab (The Mathworks Inc., Matlab, R2015b) and filtered with a Hamming window. FIDs were then zero filled to 256 points and a line broadening of 6000 Hz was applied to minimize the FID truncation artifact due to the short acquisition time (1 ms). After Fourier transform and spectral rephasing, voxelwise integration of the real part over 3720 Hz (9 points) was performed to generate CSI images. **ZTE imaging acquisitions:** ZTE cartesian matrix size was $32 \times 32 \times 32$ for a field of view of $48 \times 48 \times 48\text{ mm}^3$, which was achieved with 3310 radial spokes, each acquired in 0.88 ms. Successive ZTE blocks were acquired with 4 averages in 24.8 s, and repeated 40 times. **ZTE post-processing:** Initial reconstruction was performed in Paravision 6.0.1 (Bruker, Ettlingen, Germany), including regridding of the ZTE-MRI radial k-space onto a Cartesian k-space using a Kaiser-Bessel kernel, density compensation and apodization correction. Complex Cartesian data were exported to Matlab and filtered with a Hamming window. **SNR calculation:** Spatial response functions were calculated accounting for the Hamming filter for CSI, resulting in an effective volume $V_{\text{eff}} = 2.84\text{ mm}^3$ for individual voxels, and for Hamming filter and $T2^*$ relaxation for ZTE acquisition, with a $T2^*$ of 1.3 ms in vivo (resulting in $V_{\text{eff}} = 3.1\text{ mm}^3$), and 3.2 ms in free water (resulting in $V_{\text{eff}} = 2.9\text{ mm}^3$), as estimated from unlocalized single pulse acquisitions. SNR was calculated for a pixel located close to the coil for ZTE and CSI images (averaged over the 40 repetitions) as:

$$SNR = \frac{\text{signal}}{SD(\text{noise}) \times V_{\text{eff}} \times \sqrt{\text{block acquisition time} \times NR}} \quad (1)$$

where *noise* is a 6×6 pixels² region of interest outside of the object.

The temporal SNR was calculated as:

$$tSNR = \frac{\sum_{n=1}^{NR} \text{signal}_n / NR}{SD(\text{signal}_{n, n:1 \rightarrow NR}) \times V_{\text{eff}} \times \sqrt{\text{block acquisition time}}} \quad (2)$$

4.2.2. $^{17}\text{O}_2$ Inhalation Experiments

Inhalation experiments were conducted in CTR and APP_{swe}/PS1_{dE9} mice with the same parameters as described above for SNR comparison except for TR = 1.3 ms (chosen to further maximize in vivo SNR), yielding an individual scan time of 18.2 s. A series of ZTE-MRI were continuously acquired before (5 min), during (200 s), and after (15 min) inhalation of 70%-enriched $^{17}\text{O}_2$ (Nukem Isotopes, GmbH, Alzenau, Germany). To that effect, the breathing circuit connected to the nose cone was transiently switched from

$^{16}\text{O}_2$ delivery to a home-built gas delivery system (Figure 1e,f) that started to deliver 160 mL ^{17}O -enriched O_2 over 200 s. The $^{17}\text{O}_2$ delivery system consisted of a 500 mL gas-tight acrylic syringe (Super Syringe Model S0500 TLL, PTFE Luer Lock, Hamilton France SARL, Villebon-sur-Yvette, France) and a modified infusion pump, which stepper motor was driven by an Arduino Uno R3 board (<https://www.arduino.cc/en/main/software>, accessed on 1 August 2019). A programmable tactile graphic user interface ($\mu\text{LCD-43PT}$, 4D Systems, Minchinbury, Australia) allowed prescribing the inhalation protocol parameters (volume, duration and start/stop control). Data were processed using the same steps as for the SNR comparison experiments, described in Section 4.2.1 above.

4.3. CMRO_2 Calculation

First, each series of filtered H_2^{17}O ZTE images was normalized to baseline values in a pixel-wise manner and converted to absolute H_2^{17}O concentration at baseline (D). Assuming a natural abundance of 20.35 μmol of H_2^{17}O per g of water and a water/brain partition coefficient β_{brain} of 0.79 [18], the value D is equal to 16.07 $\mu\text{mol/g}$ of brain tissue and CMRO_2 results can be expressed in μmol of O_2/g of brain tissue/min. CMRO_2 quantification was achieved using two different approaches: (1) the 3-phase metabolic model proposed by Atkinson et al. [8] and (2) the simplified linear model proposed and validated by Zhang et al. [18] in rodents. All models and fitting procedures were implemented in Matlab.

4.3.1. Three-Phase Model

The 3-phase metabolic model describes H_2^{17}O MR signal before, during, and after $^{17}\text{O}_2$ inhalation. H_2^{17}O signal changes result from the combination of three parallel processes: the local metabolic production of H_2^{17}O in the tissue, the efflux H_2^{17}O through diffusion and perfusion (washout), and the entry of H_2^{17}O metabolically produced outside of the voxel (recirculation from the entire body). H_2^{17}O MR signal can be described by the following equation:

$$dM_{\text{brain}}^{\text{H}_2^{17}\text{O}}(t) = 2 \cdot \text{CMRO}_2 \cdot A^{17\text{O}}(t) - K_L \cdot M_{\text{brain}}^{\text{H}_2^{17}\text{O}}(t) + K_G \cdot B^{\text{H}_2^{17}\text{O}}(t) \quad (3)$$

where $A^{17\text{O}}(t)$ is the fraction of arterial $^{17}\text{O}_2$ in excess of natural abundance, $B^{\text{H}_2^{17}\text{O}}$ is the relative amount of H_2^{17}O in the blood in excess of natural abundance, K_L is the rate constant reflecting the loss of H_2^{17}O mostly due to perfusion and K_G is the rate constant reflecting the gain of H_2^{17}O , mostly due to recirculation of blood containing labeled water produced throughout the body. The details of this final expression can be found in Atkinson et al. [8]. Atkinson's formalism explicitly includes the circulation time (T_c) as a modulator of the blood enrichment fraction and recirculation contribution. However, it should be noted that, restricting the equation to the inhalation period and assuming that the arterial $^{17}\text{O}_2$ enrichment is immediate with a blood saturation of 100%, it is equivalent to the linear model proposed by Zhu et al. [14] and described in the next section.

4.3.2. Simplified Model

A simplified model has been proposed by Zhang et al. [18] based on their earlier work [14]. The model proposed by Zhu et al. is essentially equivalent to the mathematical description by Atkinson et al. but restricted to the inhalation phase, and with the extra assumption that all inhaled labeled oxygen is immediately available to the cells, translating into T_c being close to 0. This assumption is commonly accepted in small animal models where blood circulation is very rapid, although values ranging from 3 to 4.5 s can be found in the literature [19,44]. This model was further simplified by Zhang et al. [18] to a linear relationship between the slope of H_2^{17}O signal changes during inhalation and has been empirically validated in vivo in rats. As a result, CMRO_2 can be calculated as:

$$\text{CMRO}_2 = \frac{a}{2\alpha}, \quad (4)$$

where a is the slope of the linear fit of the inhalation phase, and α is the ^{17}O enrichment fraction of the delivered gas.

4.4. CBF Estimation

We used the mono-exponential decay rate of post-inhalation H_2^{17}O signal as an estimate of CBF, as was described and validated by Zhu et al. [16] in rats. The following equation was fitted to the data:

$$\left[\text{H}_2^{17}\text{O} \right] = k_1 \times e^{-k_{\text{washout}} \times t} + k_2, \quad (5)$$

where k_1 and k_2 are constants, and k_{washout} is proportional to CBF.

4.5. Immunohistochemistry

The 4% paraformaldehyde post-fixed hemispheres were cryoprotected using 15% and 30% sucrose solutions. Series of brain coronal sections (40- μm -thick) were cut on a sliding freezing microtome (SM2400, Leica Microsystems). The floating histological serial sections were preserved in a storage solution (30% glycerol, 30% ethylene glycol, 30% distilled water, and 10% phosphate buffer) at -20°C until use. Serial sections of the entire brain were stained for the evaluation of $\text{A}\beta$ pathology (4G8 immunohistochemistry). Brain sections were rinsed with PBS, pre-treated with 70% formic acid for 3 min and then incubated in 0.3% hydrogen peroxide for 20 min. Sections were then blocked with PBS-0.2% Triton (Triton X-100, Sigma, St. Louis, MO, USA) and 4.5% normal goat serum (NGS) for 30 min before overnight incubation with biotinylated-4G8 at 4°C (1:500; Biologend Covance #SIGNET-39240, monoclonal). The sections stained were rinsed with PBS and then incubated with ABC Vectastain (Vector Labs) before diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) revelation (DAB SK4100 kit, Vector Labs). Brain sections were observed using a Leica DM6000 microscope equipped with a digital color camera (MicroFireTM, Optronics, Goleta, CA, USA).

4.6. Statistical Analysis

All statistical analysis were performed using GraphPad Prism version 6.07 for Windows (GraphPad Software, San Diego, CA, USA, www.graphpad.com, accessed on 22 April 2021). Group comparison were tested using Mann-Whitney's U test and statistical significance was set to $p < 0.05$. Linear correlations were tested using a Pearson coefficient r and statistical significance of the correlation was set to $p < 0.05$. Comparison of the results from the different models in the CTR data set were performed using non-parametric ANOVA (Friedman) and Dunn's test for multiple comparisons.

Supplementary Materials: The following are available online at <https://www.mdpi.com/article/10.3390/metabo11050263/s1>, Figure S1: Detection of amyloid- β by 4G8 immunostaining in the brain of 14 month-old $\text{APP}_{\text{swe}}/\text{PS1}_{\text{dE9}}$ mice and not in CTR.

Author Contributions: Conceptualization, C.B. and J.V.; methodology, C.B., D.T., J.F.; software, C.B.; formal analysis, C.B., J.-B.P., O.B., A.T., M.-C.G.; investigation, C.B., A.T., G.L., M.-C.G., F.P., G.L.; resources, J.V., M.D.; writing—original draft preparation, C.B.; writing—review and editing, C.B., J.F., J.V., M.D.; Supervision: C.B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The 11.7T MRI scanner was funded by a grant from NeurATRIS: A Translational Research Infrastructure for Biotherapies in Neurosciences ("Investissements d'Avenir", ANR-11-INBS-0011).

Institutional Review Board Statement: The study was approved by the Ethics Committee of Francois Jacob Biology Institute, CEA, and the French Ministry of Higher Education, Research, and Innovation (APAFIS#21333-2019062611).

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: All data are available within the manuscript.

Acknowledgments: The authors would like to thank Emmanuel Brouillet (Université Paris-Saclay, CEA, CNRS, MIRCen, Laboratoire des Maladies Neurodégénératives, Fontenay-aux-Roses, France) and Chloé Najac (C.J. Gorter Center for High Field MRI, Department of Radiology, Leiden University Medical Center, The Netherlands) for helpful discussions on experimental design and help with data post-processing. Eric Giacomini provided help with RF coil building.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

References

1. Readnower, R.D.; Sauerbeck, A.D.; Sullivan, P.G. Mitochondria, Amyloid beta, and Alzheimer's Disease. *Int. J. Alzheimers Dis.* **2011**, *2011*, 104545. [[CrossRef](#)]
2. Fukuyama, H.; Ogawa, M.; Yamauchi, H.; Yamaguchi, S.; Kimura, J.; Yonekura, Y.; Konishi, J. Altered cerebral energy metabolism in Alzheimer's disease: A PET study. *J. Nucl. Med.* **1994**, *35*, 1–6.
3. Horitsugi, G.; Watabe, T.; Kanai, Y.; Ikeda, H.; Kato, H.; Naka, S.; Ishibashi, M.; Matsunaga, K.; Isohashi, K.; Shimosegawa, E.; et al. Oxygen-15 labeled CO₂, O₂, and CO PET in small animals: Evaluation using a 3D-mode microPET scanner and impact of reconstruction algorithms. *EJNMMI Res.* **2017**, *7*, 91. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Watabe, T.; Shimosegawa, E.; Watabe, H.; Kanai, Y.; Hanaoka, K.; Ueguchi, T.; Isohashi, K.; Kato, H.; Tatsumi, M.; Hatazawa, J. Quantitative evaluation of cerebral blood flow and oxygen metabolism in normal anesthetized rats: 15O-labeled gas inhalation PET with MRI Fusion. *J. Nucl. Med.* **2013**, *54*, 283–290. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Van Camp, N.; Bramoullé, Y.; Hantraye, P. Quantification of Brain Function and Neurotransmission System In Vivo by Positron Emission Tomography: A Review of Technical Aspects and Practical Considerations in Preclinical Research. In *Animal Models of Movement Disorders*, 1st ed.; Lane, E.L., Dunnett, S.B., Eds.; Neuromethods; Humana Press: New York, NY, USA, 2012; Volume I, pp. 151–188.
6. Temma, T.; Yamazaki, M.; Miyahara, J.; Shirakawa, H.; Kondo, N.; Koshino, K.; Kaneko, S.; Iida, H. Sequential PET estimation of cerebral oxygen metabolism with spontaneous respiration of (15)O-gas in mice with bilateral common carotid artery stenosis. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **2017**, *37*, 3334–3343. [[CrossRef](#)]
7. Gauthier, C.J.; Desjardins-Crepeau, L.; Madjar, C.; Bherer, L.; Hoge, R.D. Absolute quantification of resting oxygen metabolism and metabolic reactivity during functional activation using QUO2 MRI. *Neuroimage* **2012**, *63*, 1353–1363. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Atkinson, I.C.; Thulborn, K.R. Feasibility of mapping the tissue mass corrected bioscale of cerebral metabolic rate of oxygen consumption using 17-oxygen and 23-sodium MR imaging in a human brain at 9.4 T. *Neuroimage* **2010**, *51*, 723–733. [[CrossRef](#)]
9. Hoffmann, S.H.; Radbruch, A.; Bock, M.; Semmler, W.; Nagel, A.M. Direct (17)O MRI with partial volume correction: First experiences in a glioblastoma patient. *MAGMA* **2014**, *27*, 579–587. [[CrossRef](#)]
10. Kurzhunov, D.; Borowiak, R.; Reiser, M.; Ozen, A.C.; Bock, M. Direct estimation of (17) O MR images (DIESIS) for quantification of oxygen metabolism in the human brain with partial volume correction. *Magn. Reson. Med.* **2018**, *80*, 2717–2725. [[CrossRef](#)]
11. Cui, W.; Zhu, X.H.; Vollmers, M.L.; Colonna, E.T.; Adriany, G.; Tramm, B.; Dubinsky, J.M.; Oz, G. Non-invasive measurement of cerebral oxygen metabolism in the mouse brain by ultra-high field (17)O MR spectroscopy. *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* **2013**, *33*, 1846–1849. [[CrossRef](#)]
12. Lou, S.; Lepak, V.C.; Eberly, L.E.; Roth, B.; Cui, W.; Zhu, X.H.; Oz, G.; Dubinsky, J.M. Oxygen consumption deficit in Huntington disease mouse brain under metabolic stress. *Hum. Mol. Genet.* **2016**, *25*, 2813–2826. [[CrossRef](#)]
13. Wiesner, H.M.; Balla, D.Z.; Scheffler, K.; Ugurbil, K.; Zhu, X.H.; Chen, W.; Uludag, K.; Pohmann, R. Quantitative and simultaneous measurement of oxygen consumption rates in rat brain and skeletal muscle using (17) O MRS imaging at 16.4T. *Magn. Reson. Med.* **2021**, *85*, 2232–2246. [[CrossRef](#)]
14. Zhu, X.H.; Zhang, Y.; Tian, R.X.; Lei, H.; Zhang, N.; Zhang, X.; Merkle, H.; Ugurbil, K.; Chen, W. Development of (17)O NMR approach for fast imaging of cerebral metabolic rate of oxygen in rat brain at high field. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 13194–13199. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Hafner, S. Fast imaging in liquids and solids with the Back-projection Low Angle ShoT (BLAST) technique. *Magn. Reson. Imaging* **1994**, *12*, 1047–1051. [[CrossRef](#)]
16. Zhu, X.H.; Chen, J.M.; Tu, T.W.; Chen, W.; Song, S.K. Simultaneous and noninvasive imaging of cerebral oxygen metabolic rate, blood flow and oxygen extraction fraction in stroke mice. *Neuroimage* **2013**, *64*, 437–447. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Neveu, M.A.; Joudiou, N.; de Preter, G.; Dehoux, J.P.; Jordan, B.F.; Gallez, B. (17) O MRS assesses the effect of mild hypothermia on oxygen consumption rate in tumors. *NMR Biomed.* **2017**, *30*, e3726. [[CrossRef](#)]
18. Zhang, N.; Zhu, X.H.; Lei, H.; Ugurbil, K.; Chen, W. Simplified methods for calculating cerebral metabolic rate of oxygen based on 17O magnetic resonance spectroscopic imaging measurement during a short 17O₂ inhalation. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **2004**, *24*, 840–848. [[CrossRef](#)]
19. Rovainen, C.M.; Woolsey, T.A.; Blocher, N.C.; Wang, D.B.; Robinson, O.F. Blood flow in single surface arterioles and venules on the mouse somatosensory cortex measured with videomicroscopy, fluorescent dextrans, nonoccluding fluorescent beads, and computer-assisted image analysis. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **1993**, *13*, 359–371. [[CrossRef](#)]

20. Arai, T.; Nakao, S.; Mori, K.; Ishimori, K.; Morishima, I.; Miyazawa, T.; Fritz-Zieroth, B. Cerebral oxygen utilization analyzed by the use of oxygen-17 and its nuclear magnetic resonance. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1990**, *169*, 153–158. [[CrossRef](#)]
21. Zhu, X.H.; Chen, W. In vivo (17)O MRS imaging—Quantitative assessment of regional oxygen consumption and perfusion rates in living brain. *Anal. Biochem.* **2017**, *529*, 171–178. [[CrossRef](#)]
22. Calsolaro, V.; Edison, P. Alterations in Glucose Metabolism in Alzheimer’s Disease. *Recent Pat. Endocr. Metab. Immune Drug Discov.* **2016**, *10*, 31–39. [[CrossRef](#)]
23. Landau, S.M.; Mintun, M.A.; Joshi, A.D.; Koeppe, R.A.; Petersen, R.C.; Aisen, P.S.; Weiner, M.W.; Jagust, W.J.; Alzheimer’s Disease Neuroimaging Initiative. Amyloid deposition, hypometabolism, and longitudinal cognitive decline. *Ann. Neurol.* **2012**, *72*, 578–586. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Mosconi, L. Brain glucose metabolism in the early and specific diagnosis of Alzheimer’s disease. FDG-PET studies in MCI and AD. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2005**, *32*, 486–510. [[CrossRef](#)]
25. Chen, J.X.; Yan, S.D. Amyloid-beta-induced mitochondrial dysfunction. *J. Alzheimers Dis.* **2007**, *12*, 177–184. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Ni, R.; Rudin, M.; Klohs, J. Cortical hypoperfusion and reduced cerebral metabolic rate of oxygen in the arcAbeta mouse model of Alzheimer’s disease. *Photoacoustics* **2018**, *10*, 38–47. [[CrossRef](#)]
27. Garcia-Alloza, M.; Robbins, E.M.; Zhang-Nunes, S.X.; Purcell, S.M.; Betensky, R.A.; Raju, S.; Prada, C.; Greenberg, S.M.; Bacskai, B.J.; Frosch, M.P. Characterization of amyloid deposition in the APP^{swe}/PS1^{dE9} mouse model of Alzheimer disease. *Neurobiol. Dis.* **2006**, *24*, 516–524. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Xu, Y.J.; Mei, Y.; Shi, X.Q.; Zhang, Y.F.; Wang, X.Y.; Guan, L.; Wang, Q.; Pan, H.F. Albiflorin ameliorates memory deficits in APP/PS1 transgenic mice via ameliorating mitochondrial dysfunction. *Brain Res.* **2019**, *1719*, 113–123. [[CrossRef](#)]
29. Chen, L.; Xu, S.; Wu, T.; Shao, Y.; Luo, L.; Zhou, L.; Ou, S.; Tang, H.; Huang, W.; Guo, K.; et al. Studies on APP metabolism related to age-associated mitochondrial dysfunction in APP/PS1 transgenic mice. *Aging* **2019**, *11*, 10242–10251. [[CrossRef](#)]
30. Poisnel, G.; Herard, A.S.; El Tannir El Tayara, N.; Bourrin, E.; Volk, A.; Kober, F.; Delatour, B.; Delzescaux, T.; Debeir, T.; Rooney, T.; et al. Increased regional cerebral glucose uptake in an APP/PS1 model of Alzheimer’s disease. *Neurobiol. Aging* **2012**, *33*, 1995–2005. [[CrossRef](#)]
31. Moeini, M.; Lu, X.; Avti, P.K.; Damseh, R.; Belanger, S.; Picard, F.; Boas, D.; Kakkar, A.; Lesage, F. Compromised microvascular oxygen delivery increases brain tissue vulnerability with age. *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 8219. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Wei, Z.; Chen, L.; Hou, X.; van Zijl, P.C.M.; Xu, J.; Lu, H. Age-Related Alterations in Brain Perfusion, Venous Oxygenation, and Oxygen Metabolic Rate of Mice: A 17-Month Longitudinal MRI Study. *Front. Neurol.* **2020**, *11*, 559. [[CrossRef](#)]
33. Aanerud, J.; Borghammer, P.; Chakravarty, M.M.; Vang, K.; Rodell, A.B.; Jonsdottir, K.Y.; Moller, A.; Ashkanian, M.; Vafaei, M.S.; Iversen, P.; et al. Brain energy metabolism and blood flow differences in healthy aging. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **2012**, *32*, 1177–1187. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Eustache, F.; Rioux, P.; Desgranges, B.; Marchal, G.; Petit-Taboue, M.C.; Dary, M.; Lechevalier, B.; Baron, J.C. Healthy aging, memory subsystems and regional cerebral oxygen consumption. *Neuropsychologia* **1995**, *33*, 867–887. [[CrossRef](#)]
35. Pantano, P.; Baron, J.C.; Lebrun-Grandie, P.; Duquesnoy, N.; Bousser, M.G.; Comar, D. Regional cerebral blood flow and oxygen consumption in human aging. *Stroke* **1984**, *15*, 635–641. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Yamaguchi, T.; Kanno, I.; Uemura, K.; Shishido, F.; Inugami, A.; Ogawa, T.; Murakami, M.; Suzuki, K. Reduction in regional cerebral metabolic rate of oxygen during human aging. *Stroke* **1986**, *17*, 1220–1228. [[CrossRef](#)]
37. Nakai, M.; Yamamoto, J.; Matsui, Y. Acute systemic and regional hemodynamic effects of alpha 1-adrenoceptor blockade in conscious spontaneously hypertensive rats. *Clin. Exp. Hypertens A* **1986**, *8*, 981–996. [[CrossRef](#)]
38. Petrinovic, M.M.; Hankov, G.; Schroeter, A.; Bruns, A.; Rudin, M.; von Kienlin, M.; Kunnecke, B.; Mueggler, T. A novel anesthesia regime enables neurofunctional studies and imaging genetics across mouse strains. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 24523. [[CrossRef](#)]
39. Eger, E.L., 2nd. The pharmacology of isoflurane. *Br. J. Anaesth.* **1984**, *56* (Suppl. 1), 71S–99S.
40. Kint, L.T.; Seewoo, B.J.; Hyndman, T.H.; Clarke, M.W.; Edwards, S.H.; Rodger, J.; Feindel, K.W.; Musk, G.C. The Pharmacokinetics of Medetomidine Administered Subcutaneously during Isoflurane Anaesthesia in Sprague-Dawley Rats. *Animals* **2020**, *10*, 1050. [[CrossRef](#)]
41. Hyder, F.; Herman, P.; Bailey, C.J.; Moller, A.; Globinsky, R.; Fulbright, R.K.; Rothman, D.L.; Gjedde, A. Uniform distributions of glucose oxidation and oxygen extraction in gray matter of normal human brain: No evidence of regional differences of aerobic glycolysis. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **2016**, *36*, 903–916. [[CrossRef](#)]
42. Vlassenko, A.G.; Raichle, M.E. Brain aerobic glycolysis functions and Alzheimer’s disease. *Clin. Transl. Imaging* **2015**, *3*, 27–37. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Duffeant, C.; Vandesquille, M.; Herbert, K.; Garin, C.M.; Alves, S.; Blanchard, V.; Comoy, E.E.; Petit, F.; Dhenain, M. Contrast-enhanced MR microscopy of amyloid plaques in five mouse models of amyloidosis and in human Alzheimer’s disease brains. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 4955. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Streif, J.U.; Hiller, K.H.; Waller, C.; Nahrendorf, M.; Wiesmann, F.; Bauer, W.R.; Rommel, E.; Haase, A. In vivo assessment of absolute perfusion in the murine skeletal muscle with spin labeling MRI. Magnetic resonance imaging. *J. Magn. Reson. Imaging* **2003**, *17*, 147–152. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Titre : Mesure de la consommation cérébrale d'oxygène par IRM du ^{17}O : développements méthodologiques et étude de la réponse fonctionnelle chez le rongeur

Mots clés : IRM ; Neurosciences ; Neuroimagerie ; Métabolisme cérébral ; IRM fonctionnelle ; Noyaux X

Résumé : Le cerveau est un organe complexe avec un métabolisme énergétique qui lui est propre, à propos duquel de nombreuses questions subsistent. Pour produire de l'énergie, les cellules ont recours à un processus de glycolyse, qui peut se poursuivre dans leurs mitochondries avec un second processus de respiration cellulaire. Malgré l'efficacité supérieure de la respiration cellulaire, par rapport à la glycolyse seule, pour produire de l'énergie, les cellules cérébrales pourraient utiliser préférentiellement la glycolyse lors d'une activité présentant un besoin énergétique important. Afin de mieux comprendre ce phénomène, de nombreuses études se sont attelées à mesurer la réponse neurométabolique et neurovasculaire à une stimulation fonctionnelle. Ces travaux ont cependant apporté des résultats controversés, ne permettant pas de savoir à quel point le métabolisme oxydatif est recruté lors d'une activation cérébrale. Dans ce cadre, nous avons implémenté la méthode d'IRM du ^{17}O pour cartographier CMRO_2 dans le cerveau du rat lors d'une activation cérébrale induite par électrostimulation. Ces travaux ont permis de mesurer une augmentation significative de CMRO_2 de 12 % dans le cortex somatosensorielle activé en accord avec certaines mesures rapportées dans la littérature.

Title : Measurement of the cerebral oxygen consumption by ^{17}O MRI: methodological developments and study of the functional response in rodents

Keywords : MRI ; Neurosciences ; Neuroimaging ; Cerebral metabolism ; Functional MRI ; X nuclei

Abstract : The brain is a complex organ with its own energy metabolism, about which many questions remain. To produce energy, cells rely on a process of glycolysis, which may be continued in their mitochondria with a second process of cellular respiration. Despite the superior efficiency of cellular respiration, compared with glycolysis alone, in producing energy, brain cells may preferentially use glycolysis during an activity presenting a high energy need. To better understand this phenomenon, numerous studies have measured the neurometabolic and neurovascular response to functional stimulation. However, the results of these studies have been controversial, as they do not reveal the extent to which oxidative metabolism is recruited during brain activation. In this context, we implemented an ^{17}O MRI method to map CMRO_2 in the rat brain during electrostimulation induced brain activation. This work enabled us to measure a significant 12% increase in CMRO_2 in the activated somatosensory cortex, in line with certain measurements reported in the literature.