



HAL
open science

Modélisation du signal IRM-CEST pour la quantification du métabolisme cérébral

Cécile Maguin

► **To cite this version:**

Cécile Maguin. Modélisation du signal IRM-CEST pour la quantification du métabolisme cérébral. Imagerie. Université Paris-Saclay, 2024. Français. NNT : 2024UPAST115 . tel-04810545

HAL Id: tel-04810545

<https://theses.hal.science/tel-04810545v1>

Submitted on 29 Nov 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.

Modélisation du signal IRM-CEST
pour la quantification du
métabolisme cérébral
*Modeling of CEST-MRI signal for the quantification of
brain metabolism*

Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay

École doctorale n° 575 EOBE (Electrical, Optical, Bio-Physics and Engineering)
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 **Julien FLAMENT**, Chargé de recherche

Thèse soutenue à Paris-Saclay, le 10 octobre 2024, par

Cécile MAGUIN

Composition du jury

Membres du jury avec voix délibérative

Luisa CIOBANU

Directrice de recherche, CEA/NeuroSpin, Université Paris-Saclay

Guillaume DUHAMEL

Directeur de recherche, CRMBM, Université Aix-Marseille

Hélène RATINEY

Chargée de Recherche HDR, CREATIS INSA, Université de Lyon

Harmen REYNGOUDT

Chargé de recherche, Institut de Myologie, Sorbonne Université

Présidente

Rapporteur & Examineur

Rapporteuse & Examinatrice

Examineur

Titre : Modélisation du signal IRM-CEST pour la quantification du métabolisme cérébral

Mots clés : IRM, Neuroimagerie, CEST, métabolisme cérébral, glutamate, quantification

Résumé : L'imagerie CEST est une technique émergente d'IRM permettant de cartographier, de manière non invasive, la distribution de certaines molécules essentielles au métabolisme, comme par exemple le glutamate, principal neurotransmetteur du cerveau. Il s'agit donc d'une technique d'un grand intérêt pour l'étude et le diagnostic des maladies cérébrales. Cependant, l'imagerie CEST est souvent réduite à une imagerie de contraste, c'est-à-dire générant des images où l'on distingue des zones plus ou moins intenses, mais sans fournir une valeur quantifiée des concentrations absolues des molécules d'intérêt. Pourtant, la concentration du glutamate, par exemple, est une information essentielle d'un point de vue physiologique, et qui permettrait de mieux interpréter les

études CEST, notamment en réduisant les biais expérimentaux. Dans cette thèse, nous développons des outils de modélisation pour la quantification de l'imagerie CEST, et nous proposons notamment une méthode pour cartographier de manière quantitative la concentration du glutamate dans le cerveau du rongeur. Pour aller plus loin, et afin de mieux comprendre l'origine du signal CEST, nous tentons de répondre grâce à divers modèles à la question controversée du rôle que joue le glutamate vésiculaire pré-synaptique dans l'effet CEST. Enfin, nous explorons quelques nouvelles perspectives, allant de la quantification du glucose grâce au CEST à l'utilisation de machine learning pour l'amélioration du CEST quantitatif.

Title : Modeling of CEST-MRI signal for the quantification of brain metabolism

Keywords : MRI, Neuroimaging, CEST, cerebral metabolism, glutamate, quantification

Abstract : CEST imaging is a new emerging MRI technique with promising potential. It enables the non-invasive mapping of some molecules of high biological relevance, like for instance glutamate, the main neurotransmitter of the brain. This technique holds significant interest for the study and diagnosis of brain diseases. However, CEST imaging is often reduced to contrast imaging, which generates images where regions of varying intensities can be distinguished, but without providing quantified values of the concentrations of the molecules of interest. Yet, the concentration of glutamate, for instance, is an essential information from a physiological perspective. Its quantifica-

tion would allow for better interpretation of CEST studies, notably by reducing experimental biases. In this thesis, we develop modeling tools for the quantification of CEST imaging, and we propose a method for quantitatively mapping the concentration of glutamate in the rodent brain. Furthermore, to better understand the origin of the CEST signal, we address through various models the controversial question of the role played by presynaptic vesicular glutamate in the CEST effect. Finally, we explore the possibilities of new perspectives, like for instance the quantification of glucose using CEST, or the use of machine learning for improved and accelerated quantitative CEST.

Remerciements

Après trois années, ça y est, c'est fini. Faire une thèse était une décision personnelle que je ne regrette pas, car j'avais le désir d'expérimenter la recherche académique, mais ce fut tout de même une odyssée éprouvante, où j'ai souvent pu avoir l'envie de baisser les bras. J'aimerais donc remercier toutes les personnes qui m'ont permis d'en arriver aujourd'hui à l'aboutissement de ce doctorat.

Tout d'abord, je remercie Julien Flament, pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser cette thèse à MIRGen, et pour m'avoir toujours laissé beaucoup de liberté dans mon travail et ma recherche. Je remercie également Julien Valette pour ses remarques constructives sur mes résultats, qui m'ont sûrement permis d'améliorer la qualité de mes démarches. Merci aussi à Céline Bali-gand, à la fois pour nos échanges scientifiques très enrichissants, la "semi" collaboration sur le glucoCEST, ainsi que ton aide pour les manips d'injections, mais également pour nos discussions plus informelles, notamment sur les perspectives de carrière.

J'aimerais aussi remercier les différents membres de mon jury de thèse, pour avoir pris le temps d'évaluer mon travail et de participer à ma soutenance de thèse. Je suis notamment reconnaissante à Guillaume Duhamel et Hélène Ratiney, pour avoir accepté de rapporter mon mémoire de thèse, mais également pour vos retours positifs et particulièrement constructifs. Je n'ai eu que très peu l'occasion pendant ma thèse d'échanger avec des experts en modélisation, et nos discussions pendant la soutenance m'ont été extrêmement enrichissantes. Je remercie également Harmen Reyn-goudt et Luisa Ciobanu d'avoir bien voulu faire partie de mon jury de thèse, ainsi que pour votre chaleureuse compagnie à Nuremberg! Harmen, je ne sais pas si je serai invitée aux prochaines réunions de projet, mais je te souhaite avec Valentin une belle réussite dans la quête du CrCEST quantitatif, et j'espère que vous aurez moins d'ennuis que moi avec le GluCEST! Luisa, merci pour nos conversations à coeur ouvert sur la recherche, ainsi que pour m'avoir accompagnée tout au long de ma thèse, ensemble avec Fawzi Boumezbeur, dans mon comité de suivi de thèse. Je pense sincèrement que vos précieux conseils m'ont permis de donner une direction de développement beaucoup plus pertinente à ma thèse. Je vous souhaite à tous les deux de continuer à mener de beaux projets à Neurospin, et longue vie au 17T!

Je tiens également à remercier Gaëlle Degrez, qui m'a accueillie à la DirMarC de Paris-Saclay pendant ma première année et demie de thèse pour une mission de médiation scientifique. Malgré la fin décevante du projet Pssst!, je garderai un bon souvenir de cette aventure dans le journalisme de vulgarisation, qui a été pour moi une bouffée de fraîcheur dans le monde parfois étouffant de la recherche. Merci de m'avoir fait découvrir le monde de la communication, de m'avoir formée à la rédaction d'articles, et de m'avoir toujours traitée dès le premier jour d'égale à égale. J'espère que tu continueras à pouvoir t'épanouir dans de beaux projets à la DirMarC; toi ainsi que Katie, Pierre, Véronique, et sûrement d'autres encore que j'oublie!

J'en profite également pour remercier chaudement Feng Ching Tsai ainsi que Patricia Basse-reau, respectivement mon ancienne directrice de stage et ancienne cheffe d'équipe, pour m'avoir permis d'effectuer quelques expériences de synthèse à l'Institut Curie, non seulement en m'accueillant de bonne grâce mais aussi avec toujours beaucoup de bienveillance dans nos échanges. Et je remercie dans ce contexte tout particulièrement Simli Dey, qui m'a formée sur les manips en

question et qui a très souvent pris le temps de discuter avec moi de mes problèmes expérimentaux.

Ensuite, j'aimerais dédier mes plus forts et sincères remerciements à toutes les personnes qui m'ont soutenue, plus que sur le plan technique, plutôt sur le plan moral. On sait tous que faire une thèse n'est pas facile, et personnellement je sais que je ne m'en serais pas aussi bien sortie sans l'accompagnement de mon entourage, mes amis; bref toutes les personnes qui m'ont aidée à ne pas devenir dingue.

Ainsi, j'aimerais tout d'abord exprimer ma gratitude à tous mes co-bureaux de m'avoir accompagnée pendant la thèse, que ce soit en conférence à Toronto, ou en animant le 110 d'une ambiance inoubliable.

Je commencerai d'abord par remercier Éloïse : merci bien sûr pour toute ton aide sur la spectroscopie et les manips, mais merci bien plus encore pour tout le reste. J'ai toujours eu beaucoup de plaisir à échanger avec toi; que ce soit nos discussions scientifiques particulièrement épanouissantes, ou bien celles sur la politique, la vie, la recherche et même sur la pluie et le beau temps. Si quelqu'un avait pu me convaincre de continuer dans l'académique après la thèse, ça aurait sans aucun doute été toi. Merci infiniment de t'être souciee de moi quand je n'étais pas au top du moral (et désolée de t'en avoir inquiétée!). Tes qualités humaines, ainsi que ta volonté remarquable de t'impliquer dans des choses comme le Journal Club ou GreenCen font de toi quelqu'un d'admirable. J'espère de tout coeur que tu trouveras à l'avenir un poste dans lequel tu pourras t'épanouir à fond, et je suis certaine que le laboratoire qui t'accueillera aura de la chance de te compter parmi ses membres. En attendant, je te souhaite de bien profiter de la Suisse, et ne t'inquiètes pas que si j'en ai l'opportunité, je viendrai te visiter à Lausanne!

Sophie, je te remercie aussi pour ton aide concernant les manips, pour ta compagnie aux chutes du Niagara, mais surtout merci d'avoir toujours mis l'ambiance dans le bureau, à coup de petit escargot, de dessins, de petits mots cachés et de cookies beaucoup trop gourmands. On a quand même pas mal rigolé grâce à toi, ce qui finalement est assez essentiel pour rester sain d'esprit pendant la thèse! Continue de rayonner ta bonne humeur au 110, mais n'embête pas trop les petits nouveaux quand même. Je te souhaite une belle continuation à MIRcen, et surtout une longue vie à tes deux chevilles.

Amélie, j'ai également été très heureuse de partager un bout de chemin ensemble au 110, et merci encore pour ta positivité et ton soutien moral. Cela risque de paraître sorti de nulle part, mais je garde encore en mémoire une de nos dernières conversations sur la thèse (tu ne te souviens probablement pas), mais où tes paroles d'encouragements me sont souvent revenues en tête et m'ont plusieurs fois permis de persévérer quand j'étais embourbée dans un moment difficile de la thèse. Je te souhaite un futur radieux en tant que physicienne radiologue, et j'espère que l'on aura l'occasion de se recroiser!

Rodrigo, merci également d'avoir apporté de la vie dans le bureau, que ce soit des tableaux ou des plantes verdoyantes. J'ai toujours beaucoup apprécié nos discussions, et j'espère que tu trouveras ta place dans un laboratoire bienveillant en tant qu'ingénieur ou que chercheur.

À tous ceux qui doivent encore finir une thèse, Cameron, Monica, ou Pierre, je vous souhaite énormément de courage! La thèse est une sacrée montagne russe, mais à la fin on est quand même bien content et fier de l'avoir terminée, alors accrochez-vous!

Enfin, merci aussi à tous les autres avec qui j'ai partagé le bureau 110 de manière plus fugace, mais toujours conviviale : Adélaïde, Yohann, JB. Et un éternel merci aux autres étudiants de MIRcen, qui ont toujours fait preuve de bienveillance et de solidarité : Sarah, Mathilde, Tom, Nathan, Milena, et tous les autres que je n'ai pas la place de citer.

J'aimerais aussi encore une fois remercier les membres de GreenCen, tout particulièrement Carole, Anne-Sophie et Margot. J'ai été très heureuse (rassurée?) de rencontrer des gens qui se souciaient de l'impact environnemental de nos activités de recherche, et qui agissait pour changer les choses. Au delà du plaisir que j'ai eu à échanger avec vous, les activités que nous avons pu mené ensemble m'ont vraiment permis de renouveler ma volonté et ma ténacité pendant la thèse, tout en retrouvant un peu de sens à ce que je faisais dans ce labo, même si finalement mon temps à GreenCen fut un peu court. Continuez sur cette belle lancée (il faut bien que quelqu'un le fasse!), et j'espère que le collectif aura une longue vie avec de nombreuses nouvelles recrues.

Enfin, j'aimerais remercier mes ami.e.s, qui m'ont bien sûr soutenue tout au long de cette thèse, mais qui ont aussi tellement été là pour moi dans toutes sortes de situations... Sans vous, je ne serai pas la même personne que je suis aujourd'hui.

Je ne saurais pas commencer par d'autres que la légendaire Bande, cette famille qui ne m'a jamais quittée depuis le lycée (une famille certes parfois légèrement dysfonctionnelle, mais qui m'est quand même très chère). On a eu des hauts et des bas, mais on a toujours réussi à se retrouver, à se soutenir après tant d'années, et ça, c'est vraiment exceptionnel. Je vous aime fort, et j'espère qu'on continuera toujours à naviguer sur la grande mare des canards ensemble! Dédicace spéciale bien sûr à Sylvain et Arthur pour les différentes vacances en Europe pendant ma thèse; ça m'a à chaque fois fait énormément de bien et permis de reprendre haleine, tout en se faisant des souvenirs merveilleux. *Sarà perché ti amo*, comme on dit.

J'aimerais aussi remercier le groupe dit des Grosses : Ana, Nina, Vicky, Emma, Mandy et Laurie. Merci pour toutes les sorties au Parc de Sceaux mais aussi pour tout votre solidarité et votre bienveillance continue. On s'était un peu perdues de vue depuis le lycée, mais j'ai été vraiment heureuse de vous revoir pendant la thèse, et vous avez été pour moi un inestimable soutien. Merci de m'avoir toujours écoutée avec compréhension, d'avoir toujours pris mon parti; pour ça vous êtes vraiment les meilleures.

Parmi mes remerciements, j'aimerais consacrer une place particulière à Thomas et Matthieu, qui sont probablement ceux qui m'ont le plus soutenu au quotidien, en écoutant mes divagations et radotages sur Discord quasiment tous les soirs. Merci infiniment pour toutes ces fois où vous m'avez attendue le mardi soir alors que je sortais à 19h30 du labo; merci encore plus pour toutes les fois où vous êtes venus me chercher au fond du trou pour me forcer à venir passer un bon moment avec vous. Vous faites quand même d'assez piètres MJ de l'Appel de Cthulhu, vu comment vous rendez plus de santé mentale plutôt que d'en faire perdre. Je suis chanceuse de vous avoir eu à mes côtés pendant la thèse, et notre petit clan me tient beaucoup à coeur. Thomas, à ton tour de soutenir; je suis sûre que tu vas gérer!

Enfin, j'aimerais remercier la Coconv, ce groupe d'amis de l'ESPCI. On s'est bien serrés les coudes ensemble, nous qui avons quasiment tous choisi de faire une thèse (quelle idée...). Merci pour les soirées bars, les beaux weekends et chouettes vacances que nous avons faites ensemble; la thèse n'aurait clairement pas été pareille sans vous. Clin d'oeil spécial d'ailleurs à Simone et Alexandre pour les aventures au Québec ensemble! Tout particulièrement, j'aimerais aussi remercier le petit groupe dits des rageux, compagnons de soirées jeux, de manif, de ciné, de théâtre, et de

randonnées à pied ou à ski. Merci à Charlotte, ma conseillère personnelle en machine learning et irremplaçable partenaire de Vieux Chêne; à Morgane, pour tous les bouquins que je t'ai empruntés mais jamais rendus, et les weekends à la Teste; à Thomas (best bibi), pour toutes les soirées chez toi les parties endiablées de Res Arcana; à Louise (best tchaï) pour m'avoir retrainée maintes fois à l'escalade, et pour les différentes escapades strasbourgeoises; à Léo pour toute ton affection et pour m'avoir organisé un anniversaire-surprise légendaire; et à Ismaël pour avoir si souvent été là quand j'en avais besoin et pour notre amitié qui m'est précieuse (j'espère que la fin de la thèse se déroulera sans encombre pour toi, fingers crossed!). Il y a encore beaucoup d'autres membres du groupe que je n'ai pas la place de citer ici (j'espère que vous me pardonneriez!), mais envers qui je suis reconnaissante et à qui je pense fort.

Je finirai cette longue liste en remerciant ma famille, qui m'a particulièrement soutenue dans ma décision de faire une thèse. En particulier, merci à ma mère, qui a toujours été encourageante, qui a toujours été à l'écoute et qui a toujours su prodiguer mille fois des conseils pertinents sur la vie.

Merci à tous, et, pour ceux qui ont pris la peine de lire jusqu'ici, je ne peux que vous souhaiter bon courage pour la lecture de ce manuscrit de presque 200 pages (mais qui vous apprendra sûrement beaucoup de choses sur le CEST)!

Table des matières

Introduction générale	1
PREMIÈRE PARTIE : INTRODUCTION ET ÉTAT DE L'ART	3
I L'imagerie du cerveau en IRM	4
1 Quelques notions sur la biologie du cerveau	4
1.1 Biologie générale du cerveau	4
1.2 Le métabolisme du cerveau	5
1.3 Quelques mots sur les maladies neurodégénératives	6
2 Introduction à l'imagerie par résonance magnétique	7
2.1 Principes de la RMN	8
2.2 Localisation du signal et imagerie 3D	14
3 Quelques mesures classiques utilisées en IRM et leurs applications	17
3.1 Imagerie T_1/T_2	17
3.2 Spectroscopie in vivo	19
4 Points clés de ce chapitre	21
II L'imagerie de Transfert de Saturation par Echanges chimiques (CEST)	22
1 Principe général	22
1.1 Une brève histoire de l'imagerie CEST	22
1.2 Principe de saturation	23
1.3 Principe de transfert de saturation par échange chimique	24
2 Mise en pratique expérimentale	25
2.1 Le schéma de saturation	25
2.2 Z-spectrum et contraste CEST	26
3 Les différentes applications de l'imagerie CEST	28
3.1 Agents CEST exogènes	28
3.2 L'imagerie de protéines (APT)	29
3.3 L'imagerie de la créatine (CrCEST)	30
3.4 L'imagerie NOE	31
3.5 L'imagerie du glutamate (GluCEST)	32
3.6 L'imagerie du glucose (GlucoCEST)	35
3.7 Autres potentielles applications endogènes	35
4 Points clés de ce chapitre	37
III Design d'une expérience CEST	38
1 Hardware et calibrations	38
1.1 Influence du champ B_0	38

1.2	Choix d'antennes	41
1.3	La problématique des inhomogénéités de champ B_0	42
2	Concernant le paradigme de saturation	43
2.1	Maximiser le signal CEST par optimisation de la puissance B_1	43
2.2	Cartes de sensibilité des métabolites	49
2.3	Problématique de spécificité et simulations de contributions	52
3	Points clés de ce chapitre	54
IV	Théorie de l'effet CEST	55
1	L'effet CEST en équations	55
1.1	Les équations de Bloch-McConnell : système à deux compartiments	55
1.2	Généralisation à N compartiments	56
1.3	Écriture matricielle des équations de Bloch-McConnell	57
2	Autres phénomènes de transferts d'aimantation	58
2.1	Cas particulier des effets nucléaires Overhauser	58
2.2	Cas particulier des tissus semi-solides	60
3	Simulations des équations de Bloch-McConnell	64
3.1	Solution numérique	64
3.2	Solution analytique	64
3.3	Simulation assistée par machine learning	68
3.4	Comparaison des différentes méthodes de simulation	70
4	Simulation de l'effet CEST in vivo : état des connaissances sur les différents agents CEST endogènes	71
5	Points clés de ce chapitre	76
V	Quantification de l'effet CEST : état de l'art	77
1	Les métriques de contraste utilisées en imagerie CEST	78
1.1	La métrique MTR	78
1.2	La métrique MTR_{Rex}	82
1.3	La métrique AREX	83
1.4	La métrique R_{ex}	83
2	Approches de quantification par approximation de la théorie CEST	84
2.1	Quantification à partir de métriques classiques	84
2.2	QUEST/QUESP	86
2.3	Fit de Z-spectra par un modèle de multi-lorentziennes	87
3	Approches de quantification par simulations des équations de Bloch-McConnell	89
3.1	Fit de Z-spectra par simulations des équations de Bloch-McConnell	89
3.2	Approche de fingerprinting	91
3.3	Approches de deep learning	92
4	Synthèse sur les méthodes de quantification de l'effet CEST	94
5	Points clés de ce chapitre	96

DEUXIÈME PARTIE : QUANTIFICATION DU GLUTAMATE PAR LA MESURE CEST

97

VI Matériel et méthodes à MIRCen

98

1	Instrumentation	98
---	---------------------------	----

2	Déroulement d'une expérience animale en IRM	98
3	Séquences utilisées durant cette thèse	100
3.1	Séquences d'imagerie	100
3.2	Séquences de mesures localisées dans un voxel	101
VII	Quantification du glutamate libre grâce à l'imagerie gluCEST	105
1	Étude préliminaire in vitro	105
1.1	Première approche de gluCEST quantitatif in vitro	105
1.2	Caractérisation du taux d'échange dans différentes conditions	110
1.3	Conclusion sur l'étude in vitro	112
2	Développement d'un modèle de quantification gluCEST chez la souris en utilisant la spectroscopie ¹ H comme référence	115
2.1	Spectroscopie quantitative	115
2.2	Modélisation de mesures CEST localisées à 5 µT	120
2.3	Cartographie quantitative du glutamate	126
2.4	Evaluation critique du modèle	129
3	Discussion	132
3.1	Remarques, précautions d'interprétation et limitations	132
3.2	Perspectives	136
4	Points clés de ce chapitre	137
VIII	Étude de la potentielle contribution du glutamate vésiculaire au signal CEST	138
1	Caractérisation approfondie d'une contribution inconnue au signal gluCEST	138
1.1	Caractérisation de l'effet MT	138
1.2	Modélisation CEST multi-B ₁ approfondie	140
2	Modélisation du glutamate vésiculaire	143
2.1	Mise au point d'un modèle	143
2.2	Simulation de l'effet CEST du glutamate vésiculaire in vivo	145
2.3	Possibilité de simplification du modèle en deux compartiments effectifs	149
3	Validation du modèle in vitro	151
3.1	Préparation de liposomes de glutamate	151
3.2	Contrôle de la qualité des liposomes	153
3.3	Mesures CEST et modélisation	157
4	Application du modèle in vivo	162
4.1	Imagerie multi-B ₁ chez la souris	162
4.2	Modélisation en prenant en compte le glutamate vésiculaire	163
4.3	Conclusions	164
5	Points clés de ce chapitre	165
	TROISIÈME PARTIE : PROJETS SECONDAIRES ET PERSPECTIVES	166
IX	Quantification glucoCEST	167
1	Contexte de l'étude	167
2	Caractérisation de l'effet glucoCEST in vitro	168
2.1	Premières observations	168
2.2	Modélisation in vitro	168
3	Mesures 2DG-CEST chez le rongeur	171

3.1	Protocole	171
3.2	Résultats chez la souris	172
3.3	Résultats chez le rat	173
3.4	Conclusion et perspectives	177
4	Points clés de ce chapitre	177
X	Optimisation des acquisitions CEST quantitatives	178
1	Premières approches et limitations	178
1.1	Recherche naïve coordonnées par coordonnées	179
1.2	Fingerprinting	180
1.3	Autres pistes	181
2	Un protocole d'optimisation par sélection d'attributs : application au gluCEST/glu-coCEST quantitatif	182
2.1	Principe et méthodes	182
2.2	Performances in vitro	185
2.3	Conclusions et perspectives	187
3	Points clés de ce chapitre	188
	Conclusion générale	189
	ANNEXE	191
A	Annexe - théorie de l'effet CEST et simulations	192
1	Simulations complémentaires de l'influence de quelques paramètres sur le signal CEST	192
2	Résumé de quelques éléments de théorie de l'effet CEST	193
B	Annexes du chapitre VII	194
1	Concernant la spectroscopie ^1H : étude du signal du glutamate à différents temps d'écho	194
1.1	Choix des TE pour la mesure du T_2 du glutamate in vivo	194
1.2	Exemples de fits LCMoel à différents TE	195
2	Concernant la modélisation CEST	196
2.1	Modèle de fit utilisé pour tester différents compartiments candidats	196
2.2	Détail des différentes combinaisons de "compartiments candidats" testées et résultats	197
2.3	Modèle appliqué pixel par pixel aux données d'imagerie CEST pour la cartographie quantitative du glutamate	197
2.4	Gammes de variation des paramètres de simulations CEST à $5\ \mu\text{T}$	198
C	Annexes du chapitre VIII	199
1	Caractérisation MT	199
1.1	Simulation des portées de l'effet CEST des métabolites endogènes	199
1.2	Modèle de fit de l'effet MT	199
2	Approches de fits multi- B_1 approfondies	199
2.1	Modèle libre	199
2.2	Approche de la section 1.2.2	201
3	Vésicules de glutamate in vitro	202

D	Annexes du chapitre IX	203
1	Modélisation de la « baseline » des expériences glucoCEST	203
E	Annexes du chapitre X	204
1	Simulations utilisées pour l'optimisation « naïve »	204
2	Simulations pour entraîner le réseau de neurones	204
	Bibliographie	205
	Liste des figures	222
	Liste des tables	225

Introduction générale

Dans les dernières décennies, l'imagerie par résonance magnétique est devenu un outil de diagnostic essentiel aux services de santé cliniques. Permettant d'obtenir des images de qualité unique pour pratiquement n'importe quel organe, tout en étant remarquable par son caractère non-invasif, l'examen IRM s'est fait sa place comme procédure de routine. Mais l'originalité de l'IRM réside surtout dans la diversité de techniques d'imagerie et de contrastes qu'elle propose. On peut ainsi évoquer l'imagerie anatomique classique, l'angiographie, l'IRM fonctionnelle ou encore la spectroscopie. En particulier, depuis les années 2000, une nouvelle technique d'IRM émerge : l'imagerie de transfert de saturation par échanges chimiques (ou CEST pour l'acronyme en anglais), qui est au coeur de cette thèse.

Le CEST est une technique permettant d'imager certaines molécules spécifiques directement impliquées dans le métabolisme du cerveau sain et pouvant jouer un rôle primordial dans le cadre de conditions pathologiques. Par exemple, on pourra imager le glutamate, le principal neurotransmetteur du cerveau, ou le glucose, source d'énergie des cellules. L'imagerie de ce type de métabolites peut alors donner des renseignements clés pour le diagnostic de certaines maladies ou pour la compréhension de mécanismes pathologiques. Ainsi, l'imagerie CEST semble très prometteuse, même si elle n'en est encore qu'à l'aube de ses applications dans le monde clinique.

Cependant, la technique CEST ne reste souvent utilisée que comme imagerie de contraste, c'est-à-dire n'offrant que des cartes de variations relatives de signal, et souffrant parfois de biais expérimentaux. Pourtant, la modélisation du phénomène CEST a le potentiel de hisser l'imagerie CEST au statut d'imagerie quantitative : au lieu de cartes de contraste, on pourrait obtenir des cartes de concentrations de métabolites, ou encore des cartes de pH. La quantification de l'imagerie CEST pourrait alors apporter des informations physiologiques d'un intérêt primordial, tout en étant en partie affranchie de certains défauts expérimentaux, et en gardant l'avantage non-invasif de l'IRM.

L'axe de recherche principal de cette thèse est ainsi de développer des modèles de description de l'effet CEST afin de le quantifier, et tout particulièrement de quantifier l'imagerie CEST du glutamate, que l'on nomme communément gluCEST.

Contexte de la thèse

Cette thèse a été menée au Laboratoire des Maladies Neurodégénératives (LMN, UMR 9199), dans les installations de MIRCen (Molecular Imaging Research Center), situé sur le site du CEA de Fontenay-aux-roses. Au LMN, les recherches se concentrent sur la compréhension des mécanismes pathologiques liées aux maladies neurodégénératives, ainsi qu'au développement d'outils de diagnostic et de thérapies.

L'intérêt de l'imagerie CEST du cerveau pour l'étude des maladies neurodégénératives a déjà pu être démontré par les travaux d'anciens doctorants du laboratoire, tant en terme d'outil de diagnostic que d'outil pour comprendre les mécanismes de neurodégénération. En particulier, l'imagerie du glutamate (Pépin, 2018; Pérot, 2021) ou l'imagerie du glucose (Mathieu-Daudé, 2022) ont

pu être utilisées pour étudier principalement la maladie de Huntington. Mais les résultats de ces études souffrent parfois d'un manque d'interprétabilité : l'origine des variations de signal CEST est quelquefois incertaine, et le manque de quantification des résultats limite les conclusions, et notamment la possibilité de les comparer à d'autres techniques de mesures expérimentales.

Dans ce contexte, cette thèse vise à évaluer la possibilité de quantifier ces techniques d'imagerie, et notamment l'imagerie gluCEST, qui est la plus courante au laboratoire. À cette fin, le développement de modèles est nécessaire, et à plus long terme, une réflexion sur la faisabilité de l'imagerie CEST quantitative en routine est à prévoir.

Organisation du manuscrit

Ce manuscrit de thèse s'articule en trois parties. Une première partie servira d'introduction détaillée, en présentant rapidement l'imagerie par résonance magnétique (chapitre I), puis l'imagerie CEST (chapitre II). Le chapitre III examinera par la suite les aspects pratiques de l'imagerie CEST, en abordant au passage différentes subtilités et défis de l'imagerie CEST expérimentale. La théorie à la base de la modélisation de l'effet CEST sera détaillée au chapitre IV, ainsi que les différentes méthodologies de simulation. Nous proposerons ensuite au chapitre V une revue des approches existantes pour quantifier l'effet CEST, qui a vocation à servir d'introduction à tout scientifique souhaitant s'aventurer dans le vaste et complexe domaine du CEST quantitatif.

Dans une seconde partie, nous traiterons des résultats principaux de cette thèse sur la quantification du glutamate grâce à l'imagerie CEST. Nous présenterons d'abord au chapitre VII le développement d'un premier modèle pour l'imagerie gluCEST quantitative, puis nous aborderons au chapitre VIII une approche plus exploratoire, proposant une modélisation plus complexe de l'effet CEST du glutamate *in vivo*.

Enfin, nous aborderons en dernière partie quelques projets secondaires ayant été menés sur d'autres aspects de la quantification CEST, qui, bien que n'ayant pas été au cœur de cette thèse, ont pu amener à des résultats intéressants et à des perspectives futures. Le chapitre IX abordera ainsi la question de la quantification de l'effet glucoCEST, et le chapitre X ouvrira des perspectives sur l'optimisation des acquisitions CEST quantitatives.

PREMIÈRE PARTIE :
INTRODUCTION ET ÉTAT DE
L'ART

I - L'imagerie du cerveau en IRM

1 . QUELQUES NOTIONS SUR LA BIOLOGIE DU CERVEAU

1.1 . Biologie générale du cerveau

Le cerveau, notre organe le plus complexe, est à l'échelle microscopique composé de deux types de cellules : les neurones et les cellules gliales (Figure 1a). Les neurones, acteurs de la connectivité cérébrale, transmettent le signal nerveux par voie électrochimique le long de leurs axones. En particulier, le signal nerveux se transmet entre les neurones niveau des synapses, où des neurotransmetteurs, tels que le glutamate ou le GABA, sont relâchés dans la fente synaptique puis recapturés par les récepteurs du neurone suivant (Figure 1b). Les cellules gliales quant à elles, assurent différentes fonctions support, notamment l'apport en nutriments et le maintien de l'homéostasie. On compte parmi les cellules gliales plusieurs catégories de cellules, comme par exemple les astrocytes, les microglies ou les oligodendrocytes.

Ces différentes cellules sont principalement regroupées dans la matière grise du cerveau, tandis que la matière blanche est principalement composée de fibres axonales myélinisées permettant d'assurer la liaison nerveuse entre différentes régions du cerveau.

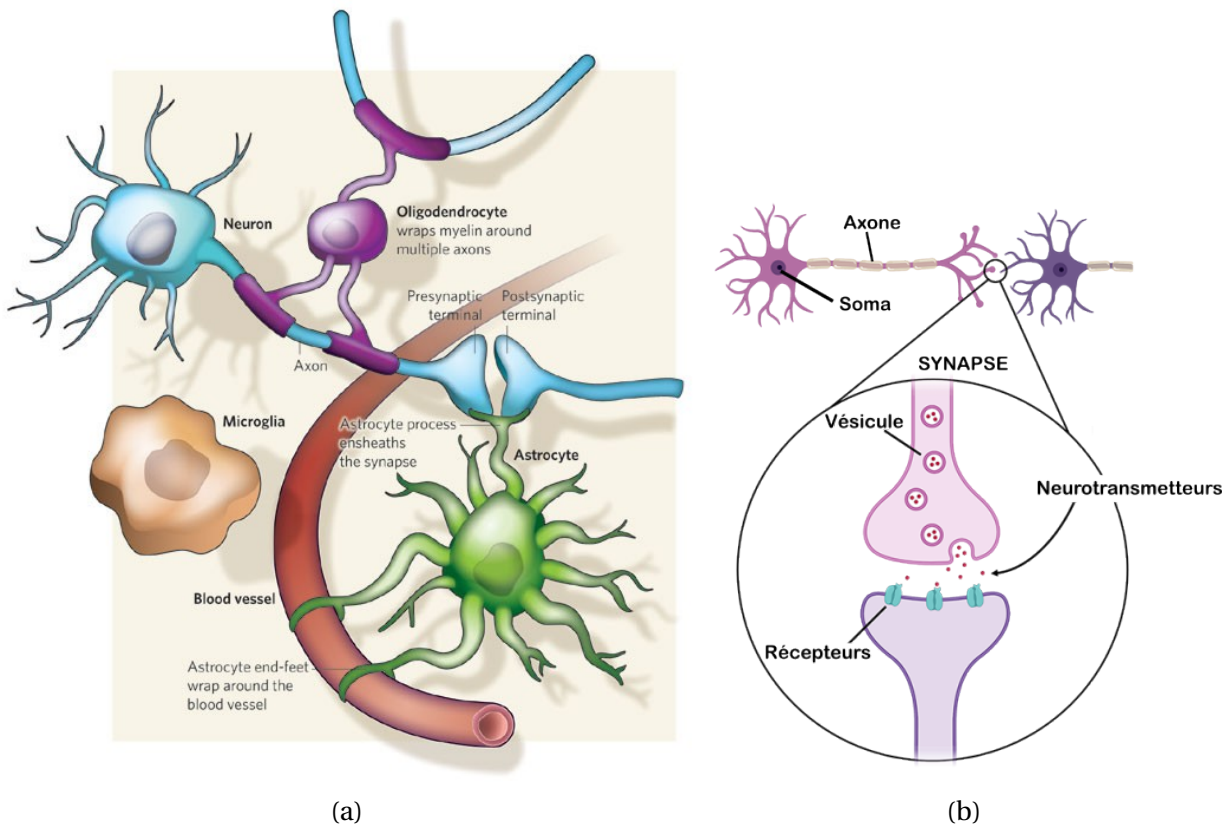


FIGURE 1 – (a) Les différents types de cellules du cerveau (schéma emprunté de [Allen et al., 2009](#)). (b) Schéma du fonctionnement d'une synapse.

À MIRGen, les maladies neurodégénératives sont étudiées chez les primates non humains (macaques, microcèbes,...) et chez les rongeurs (rats et souris). Cependant, la majorité des études pré-

cliniques, et notamment les développements méthodologiques de l'équipe IRM, se font chez les rongeurs. Bien que les cerveaux de rongeurs diffèrent de par leur taille et par leur moindre complexité des cerveaux humains (Figure 2a), ils présentent qualitativement les mêmes types de cellules neuronales et de connexions (Wong et al., 2023). On retrouve également des régions fonctionnelles du cerveau similaires chez les rongeurs et les humains, bien que l'agencement spatial et la taille de ces régions diffèrent : par exemple, le cortex sera plus développé chez l'humain tandis que bulbe olfactif sera plus gros chez les rongeurs (Figure 2b). Cependant, des différences existent entre les cerveaux de ces différentes espèces, notamment au niveau de la répartition de différents types de cellules et de transmetteurs synaptiques (Hodge et al., 2019), ou de l'architecture des connexions interneuronales (Loomba et al., 2022). Néanmoins, les rongeurs restent des modèles de prédilection dans la communauté scientifique pour étudier les maladies neuronales, en particulier à cause de la facilité de manipulation génétique de ces espèces et de leur cycle de vie rapide.

Dans le contexte des maladies neurodégénératives, les modèles rongeurs sont également d'un intérêt particulier pour pouvoir étudier les pathologies dans des stades pré-symptomatiques, d'où leur prépondérance à MIRCen. Du fait des équipements disponibles au laboratoire, la plupart des mesures présentées dans cette thèse ont donc été réalisées chez la souris, et chez le rat dans une moindre mesure.

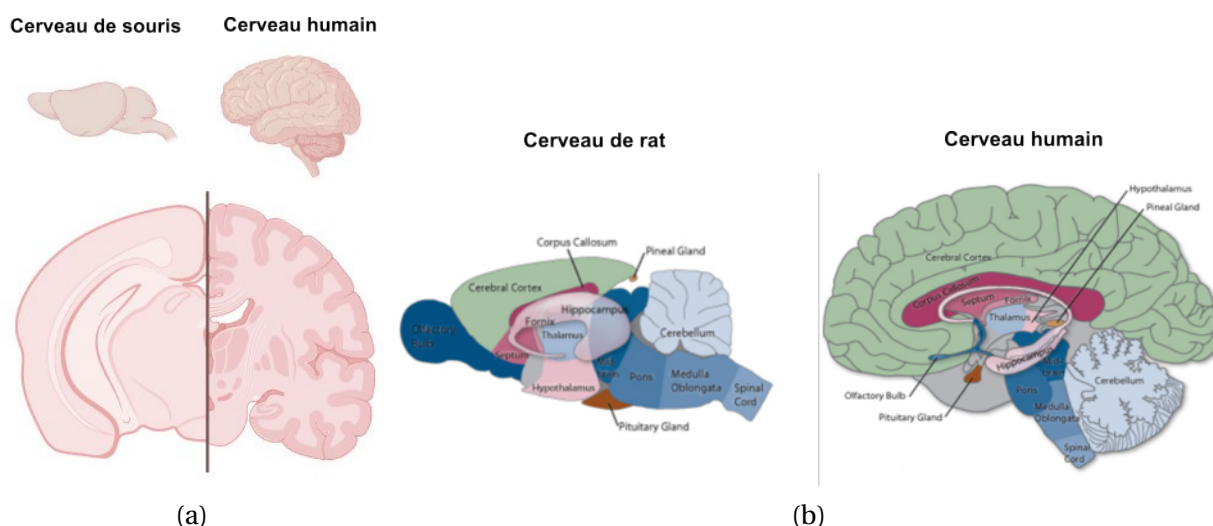


FIGURE 2 – (a) Comparaison anatomique d'un cerveau de souris et d'un cerveau humain (schéma emprunté de Wong et al., 2023). (b) Comparaison des régions fonctionnelles dans un cerveau de rat et dans un cerveau humain (schéma emprunté de Tomba, 2014).

1.2 . Le métabolisme du cerveau

L'étude du métabolisme du cerveau est des thèmes prédominant de l'équipe IRM de MIRCen au sein de laquelle a été réalisée cette thèse.

Le cerveau est un organe énergivore qui consomme presque un quart de la consommation énergétique du corps humain. Une des principales sources d'énergie des cellules neuronales est le glucose. Le glucose est transformé en ATP, la brique élémentaire d'énergie des cellules, via différents chemins métaboliques successifs : la glycolyse, qui dégrade le glucose en pyruvate dans le cytoplasme, puis, dans la mitochondrie, le cycle de Krebs (ou cycle TCA) et la phosphorylation oxydative (figure 3).

Une multitude d'enzymes et de métabolites jouent un rôle dans ces cycles métaboliques. D'un

intérêt particulier pour cette thèse, le glutamate, longtemps imaginé uniquement comme un neurotransmetteur synaptique, joue en fait un rôle de co-substrat clé dans le cycle de Krebs. Le recyclage du glutamate synaptique avec le cycle glutamate/glutamine est donc ainsi étroitement lié au métabolisme du cerveau. Dans le cadre des maladies neurodégénératives, où le métabolisme du cerveau est affecté, l'étude du glutamate est donc d'un intérêt particulier (Andersen et al., 2021 ; Camandola et al., 2017).

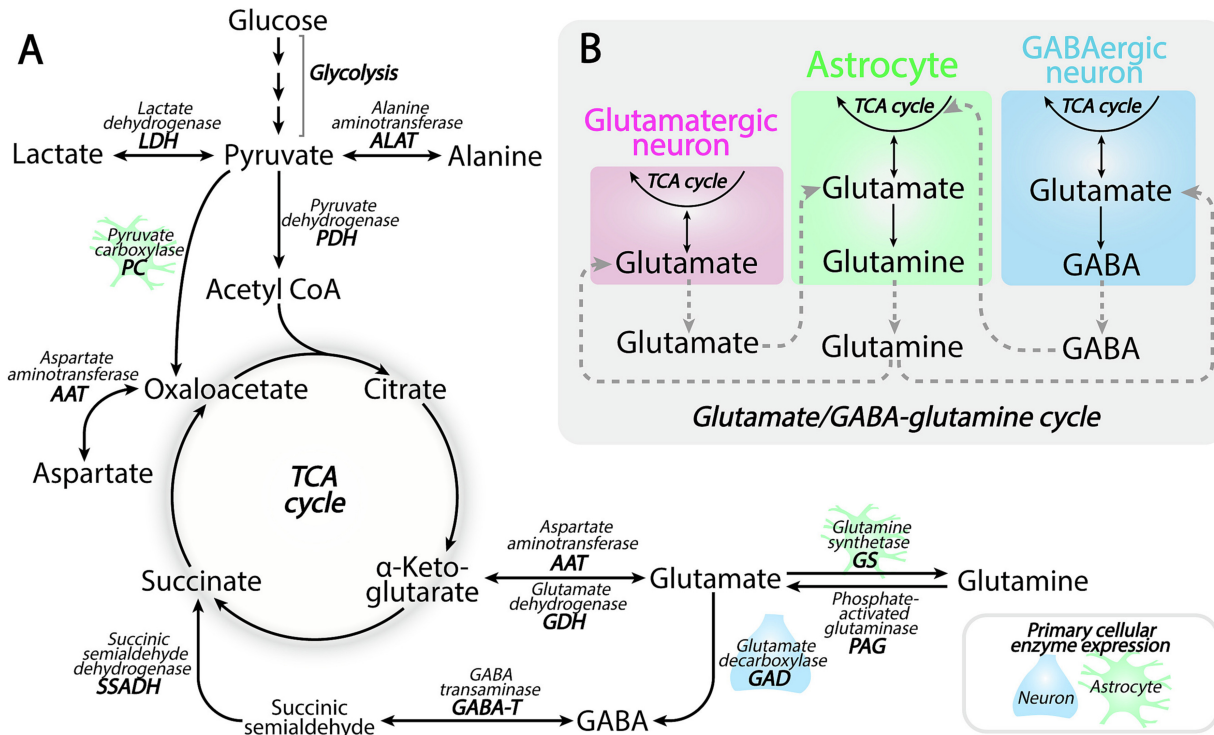


FIGURE 3 – Illustration de quelques éléments du métabolisme du cerveau et notamment du rôle du glutamate (issu de Westi et al., 2023). La partie A schématise le métabolisme du glucose, essentiel à la production d'énergie des cellules. La partie B détaille l'utilisation et le recyclage des neurotransmetteurs pour les neurones glutamatergiques ou GABAergiques.

1.3 . Quelques mots sur les maladies neurodégénératives

Cette thèse fut réalisée au sein du Laboratoire des Maladies Neurodégénératives (LMN) à MIR-Cen. Les pathologies neurodégénératives, comme Alzheimer, Parkinson ou encore Huntington, sont des maladies fréquentes notamment chez les personnes âgées. Avec le vieillissement progressif de la population, le nombre de patients souffrant de maladies neurodégénératives devient de plus en plus grand. Par exemple, on estime qu'aujourd'hui plus d'un million de Français sont touchés par la maladie d'Alzheimer (source : Santé Publique France).

Pour la plupart de ces pathologies, bien qu'il n'existe pas à ce jour de traitement curatif, des traitements symptomatiques et ralentissant la progression de la maladie existent. Ces traitements sont d'autant plus efficaces si le diagnostic est établi tôt et le patient pris en charge dans des stades peu avancés de la neurodégénérescence. Ainsi, un enjeu important dans la recherche des maladies neurodégénératives est d'identifier des biomarqueurs qui permettront de diagnostiquer les pathologies en phases pré-symptomatiques. Le bon ciblage de ces biomarqueurs peut également permettre de correctement classifier une pathologie, rendant la prise en charge des patients plus

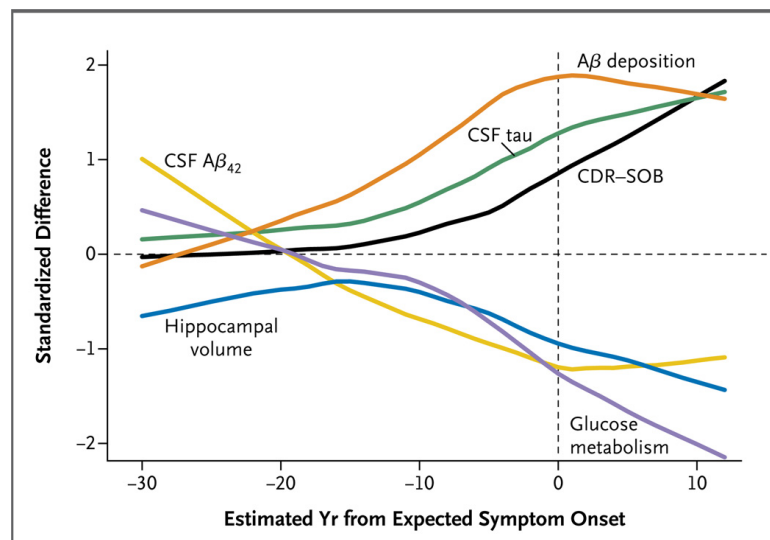


FIGURE 4 – Quelques exemples de biomarqueurs de la maladie d'Alzheimer et leur évolution au cours du temps en phases présymptomatique et symptomatique. Tiré de (Bateman et al., 2012).

efficace.

L'IRM, de part son caractère non invasif, est une technique d'imagerie où il serait tout particulièrement intéressant de pouvoir observer des biomarqueurs, tant pour améliorer le diagnostic des patients que pour mieux comprendre les mécanismes de la maladie. Dans cette thèse en particulier, nous aborderons l'imagerie de molécules comme le glutamate ou le glucose; métabolites qui ont pu être proposés comme biomarqueurs de maladies neurodégénératives (Andersen et al., 2021; Hammond et al., 2022; Madeira et al., 2018). Dans ce contexte, les travaux présentés dans cette thèse ont donc le potentiel à long terme de servir la recherche sur les pathologies neurodégénératives.

2 . INTRODUCTION À L'IMAGERIE PAR RÉSONANCE MAGNÉTIQUE

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) est une modalité d'imagerie relativement récente, apparue dans la seconde moitié du XX^e siècle. Bien que le phénomène de résonance magnétique nucléaire (RMN) soit connue depuis les années 40 grâce aux travaux de Bloch et Purcell (Bloch, 1946; Bloch et al., 1946), il faut attendre 1973 pour que soient réalisées les premières images RMN (Lauterbur, 1973). L'intérêt pour l'IRM connaît alors un véritable essor dans les années 70, poussé notamment par les travaux de Damadian, démontrant la puissance de diagnostic de l'IRM pour détecter les tumeurs cancéreuses (Damadian, 1971). Son application clinique est de plus facilitée grâce à l'introduction de la transformée de Fourier pour l'IRM et aux travaux de Mansfield (Mansfield et al., 1977), permettant des acquisitions rapides et donc possibles en examen médical. Depuis, de considérables avancées ont été réalisées pour l'IRM, tant en terme d'instrumentation que de séquences, et de nombreuses applications ont été découvertes : IRM fonctionnelle, IRM de diffusion, angiographie, etc... et bien sûr l'imagerie CEST.

Dans cette section, nous détaillerons quelques principes clés de l'IRM permettant ensuite d'aborder les différents types de mesures possibles en IRM et particulièrement l'imagerie CEST.

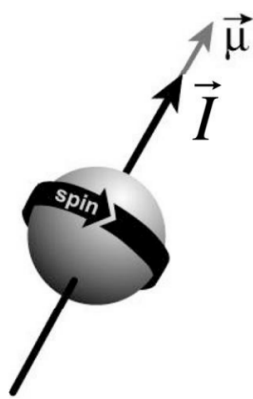
2.1 . Principes de la RMN

2.1.1 . Spin, effet Zeeman et fréquence de Larmor

Chaque noyau possède un spin et un moment magnétique induit $\vec{\mu}$ par ce spin, lié par la relation :

$$\vec{\mu} = \gamma \vec{I} \quad (\text{I.1})$$

où γ est le rapport gyromagnétique, propre à chaque noyau (voir figure 5) et \vec{I} le moment angulaire du spin.



Noyau	Spin j	Abondance naturelle	γ (MHz/T)
^1_1H	1/2	99.9%	42.57
^2_1H	1	0.016%	6.54
$^{12}_6\text{C}$	0	98.9%	-
$^{13}_6\text{C}$	1/2	1.11%	10.71
$^{16}_8\text{O}$	0	99.96%	-
$^{17}_8\text{O}$	5/2	0.037%	-5.77
$^{31}_{15}\text{P}$	1/2	100%	17.23
$^{19}_8\text{F}$	5/2	100%	40.05

FIGURE 5 – Rapports gyromagnétiques et abondance naturelle de quelques noyaux atomiques.

Lorsqu'un spin est baigné dans un champ magnétique extérieur $\vec{B} = B_0 \vec{z}$, l'équation du mouvement s'écrit :

$$\frac{d\vec{I}}{dt} = \vec{\mu} \times \vec{B} \quad \text{ou encore} \quad \frac{d\vec{\mu}}{dt} = \vec{\mu} \times \gamma \vec{B} \quad (\text{I.2})$$

La résolution de cette équation montre alors que le moment magnétique de spin précesse autour de l'axe \vec{z} avec une fréquence ω_0 :

$$\omega_0 = \gamma B_0 \quad (\text{I.3})$$

L'énergie associée à ce noyau vaut :

$$E = -\vec{\mu} \cdot \vec{B} = -\gamma B_0 \vec{I} \cdot \vec{z} \quad (\text{I.4})$$

La théorie quantique (non détaillée ici) prédit que le spin ne peut adopter qu'un nombre discret d'orientations. En définissant j le nombre quantique de spin, qui dépend du nombre de protons et neutrons dans le noyau, les niveaux d'énergie possibles en présence d'un champ magnétique sont :

$$E = -m\gamma\hbar B_0 \quad , \text{ avec } m = -j, -j+1, \dots, j-1, j \quad (\text{I.5})$$

où $\hbar = \frac{h}{2\pi}$ est la constante de Planck réduite. C'est ce qu'on appelle l'effet Zeeman.

Les transitions entre ces différents niveaux d'énergie sont à la base des changements d'aimantation qui sont détectés en RMN. Dans cette thèse, nous traiterons de l'IRM du proton ^1H , qui possède un nombre de spin de $j=1/2$. D'autres noyaux peuvent être imagés en IRM (^2H , ^{13}C , ^{31}P ,

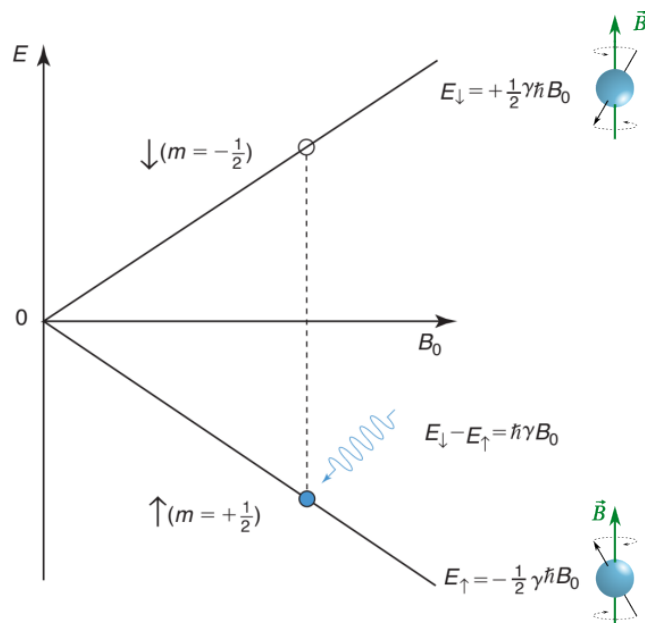


FIGURE 6 – Illustration de l'effet Zeeman pour le proton ^1H (adaptée de Suetens, 2009).

etc...), mais l'IRM du proton reste très largement majoritaire. Le proton ^1H est en effet une brique élémentaire chimique, que l'on retrouve dans presque toutes les molécules organiques, et notamment dans l'eau qui compose en majorité les tissus biologiques. Sa forte abondance naturelle (voir figure 5) en fait également une cible idéale pour obtenir un fort signal RMN.

Pour un proton de nombre de spin de $j=1/2$, on a donc deux niveaux d'énergie possibles (voir figure 6) : soit le noyau aligne la précession de son moment magnétique avec le champ magnétique extérieur, avec une énergie $E_{\uparrow} = \frac{1}{2}\gamma\hbar B_0$, ou il s'oriente en direction inverse avec une énergie $E_{\downarrow} = -\frac{1}{2}\gamma\hbar B_0$. La différence d'énergie entre les deux niveaux vaut donc :

$$\Delta E = \hbar\gamma B_0 \quad (\text{I.6})$$

Les populations de spins s'orienteront préférentiellement dans le sens du champ magnétique, qui correspond au niveau d'énergie plus faible, mais une fraction de la population sera néanmoins en état d'anti-alignement à cause de l'agitation thermique.

Lors d'une expérience RMN, un second champ magnétique, dit champ RF (pour *Radio Frequency*), est introduit avec une fréquence ω_{RF} . L'onde RF, d'une énergie $\Delta E = \hbar\omega_{\text{RF}}$, peut être absorbée par les noyaux pour transitionner entre leurs deux niveaux d'énergie seulement si la fréquence ω_{RF} vaut :

$$\omega_{\text{RF}} = \gamma B_0 = \omega_0 \quad (\text{I.7})$$

C'est ce qu'on appelle la fréquence de Larmor.

Ce phénomène de résonance à une fréquence spécifique, dépendante du champ B_0 dans lequel est plongé l'atome, est la clé de toute expérience RMN.

2.1.2 . Champ RF, référentiel tournant et angle de bascule

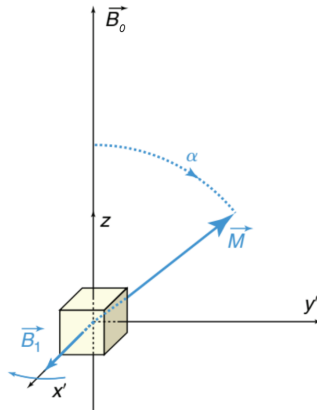


FIGURE 7 – Illustration de l'application d'un champ RF (adaptée de Suetens, 2009).

En RMN, nous ne sommes bien sûr pas capables de détecter l'aimantation d'un unique spin; on s'intéresse donc plutôt à l'aimantation macroscopique totale :

$$\vec{M} = \sum_i \vec{\mu}_i \quad (\text{I.8})$$

À l'équilibre, dans un champ statique $\vec{B} = B_0 \vec{z}$, les spins précessent de manière incohérente et possèdent une aimantation individuelle dans le plan x/y aléatoire : l'aimantation transverse globale est donc nulle. Cependant, selon \vec{z} , l'aimantation macroscopique est non nulle et vaut M_0 :

$$\vec{M}_0 = (0, 0, M_0) \quad (\text{I.9})$$

Cette résultante d'aimantation M_0 à l'équilibre dépend de la répartition des spins à l'équilibre thermique entre les deux états d'énergie E_1 et E_2 ; elle est d'autant plus importante que le champ B_0 est élevé.

En pratique, lors d'une expérience IRM, on la fait basculer hors de son alignement d'équilibre selon \vec{z} . On utilise pour cela un second champ magnétique, noté champ \vec{B}_1 , généré dans le plan transverse x/y , perpendiculairement au champ statique B_0 , grâce des bobines de transmission RF. Ce champ B_1 doit être accordé à la fréquence de Larmor des spins d'intérêts (ou proche), autrement dit il est de la forme :

$$\vec{B}_1(t) = (B_1 \cos(\omega_0 t), -B_1 \sin(\omega_0 t), 0) \quad (\text{I.10})$$

L'équation régissant le mouvement de l'aimantation pendant la durée de l'impulsion RF s'écrit alors :

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \vec{M} \times \gamma(\vec{B} + \vec{B}_1(t)) \quad (\text{I.11})$$

Pour résoudre cette équation, on se place généralement dans ce qu'on appelle le référentiel tournant $x'/y'/z$, tournant à la fréquence ω_0 autour de l'axe \vec{z} et donc aligné avec le champ \vec{B}_1 ici selon l'axe x' . Dans ce nouveau référentiel, on a :

$$\left(\frac{d\vec{M}}{dt} \right)' = \frac{d\vec{M}}{dt} - \gamma B_0 \vec{z} \times \vec{M} = \frac{d\vec{M}}{dt} + \vec{M} \times \gamma B_0 \vec{z} \quad (\text{I.12})$$

ce qui donne donc, en reprenant l'équation I .11 :

$$\left(\frac{d\vec{M}}{dt}\right)' = \vec{M} \times (\gamma(\vec{B} + \vec{B}_1(t) - B_0\vec{z})) = \vec{M} \times \gamma\vec{B}_1(t) \quad (\text{I .13})$$

Dans le référentiel tournant, l'aimantation est alors uniquement sensible à un champ effectif \vec{B}_1 , et va donc précesser autour de ce champ à la fréquence $\omega_1 = \gamma B_1$.

En imaginant qu'à $t=0$, l'aimantation \vec{M} était parfaitement alignée avec le champ statique selon \vec{z} , alors au temps t l'aimantation aura tourné d'un angle radial $\omega_1 t$, en supposant que le champ B_1 ait une amplitude constante. Si l'on suppose que le champ RF est appliqué pendant une durée d'impulsion t_p , alors l'angle de bascule total de l'aimantation vaut :

$$\alpha = \gamma \int_0^{t_p} B_1(t) dt = \gamma B_1 t_p = \omega_1 t_p \quad (\text{I .14})$$

pour une impulsion RF d'amplitude constante. Pour une impulsion non rectangulaire, c'est-à-dire à amplitude variable (impulsion gaussienne, sinc, etc...), il faut intégrer $B_1(t)$ pour déduire l'angle de bascule.

En pratique en IRM, on joue donc à la fois sur la durée d'impulsion t_p et l'amplitude d'impulsion B_1 (souvent dénommée par habitude "puissance B_1 ", bien que la puissance soit en fait proportionnelle au carré de B_1) pour faire basculer l'aimantation d'un angle désiré (90° , 180° ou d'autres encore).

2.1.3 . Relaxation et équations de Bloch

À la fin de l'impulsion RF, l'équation de dynamique de l'aimantation redevient classiquement :

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \vec{M} \times \gamma B_0 \vec{z} \quad (\text{I .15})$$

Intuitivement, on peut comprendre que l'aimantation, après avoir été basculée hors de son alignement selon \vec{z} par un angle α , va revenir à son état d'équilibre en précessant autour du champ statique $B_0\vec{z}$.

Deux phénomènes de relaxation interviennent alors pour régir le retour à l'équilibre de l'aimantation (voir figure 8) :

- **La relaxation spin-spin** : Il s'agit de la relaxation qui fait disparaître la composante transverse de l'aimantation. Immédiatement après l'impulsion RF, les spins précessent semblent-il de manière cohérente, et il en résulte une aimantation transverse non nulle. Cependant, chaque spin possède un environnement chimique différent, et aura donc une fréquence de précession propre. Les précessions se déphasent donc progressivement, jusqu'à retourner à une aimantation transverse nulle lorsque les spins sont totalement déphasés. Cette relaxation se modélise avec une loi du premier ordre caractérisée par un temps de relaxation dit T_2 :

$$M_{xy}(t) = M_0 \sin\alpha e^{-t/T_2} \quad (\text{I .16})$$

- **La relaxation spin-réseau**, ou *spin-lattice* en anglais : Il s'agit de la relaxation qui fait retourner la composante longitudinale de l'aimantation à sa valeur d'équilibre M_0 . Après l'arrêt

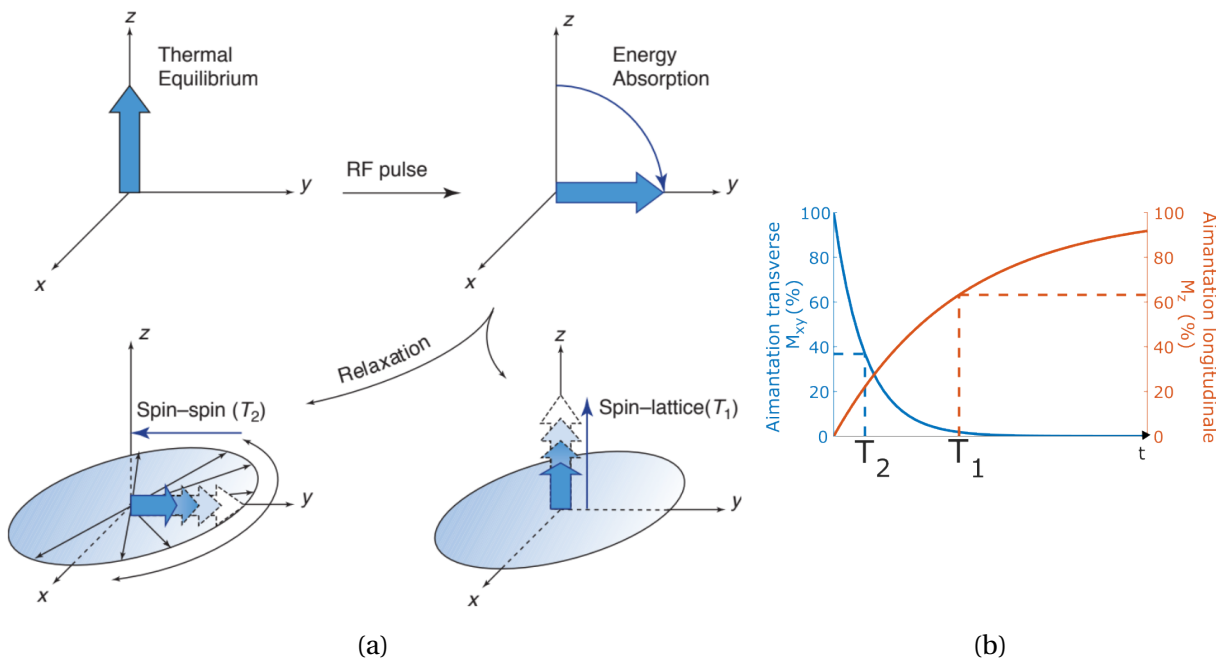


FIGURE 8 – Illustration de la relaxation T_1 et T_2 , ici dans le cas d'une impulsion RF basculant l'aimantation à 90° . L'illustration de gauche est empruntée à [Suetens, 2009](#). L'illustration de droite n'est pas à l'échelle, car le temps de relaxation T_1 est en général 10 à 100 fois plus long que le temps de relaxation transverse T_2 .

de l'impulsion RF, les spins tendent à retourner dans leur état d'énergie le plus faible, et transfèrent ce faisant de l'énergie à leur environnement proche, notamment les macromolécules. Cette énergie, convertie en chaleur, est elle même retransférée vers d'autres transitions énergétiques, au niveau de spins ou d'autres entités atomiques, moléculaire, etc. Ces phénomènes de transferts d'énergie temporisent donc le retour des populations de spins à leur état d'équilibre. Cette relaxation se modélise également avec une loi du premier ordre caractérisée par un temps de relaxation dit T_1 :

$$M_z(t) = M_0 \left(1 - (1 - \cos\alpha) e^{-t/T_1} \right) \quad (\text{I.17})$$

Ces temps de relaxation T_1 , T_2 dépendent du type de tissu (graisse, matière grise, matière blanche, etc...), et sont à l'origine des contrastes classiques observés en IRM clinique. Ils sont dépendants du champ B_0 , mais en ordre de grandeur, le T_1 de l'eau est de l'ordre de plusieurs centaines de ms à plusieurs secondes, tandis que le T_2 de l'eau est plutôt de l'ordre de la dizaine de ms à quelques centaines de ms. À un B_0 de 11,7T, dans les tissus du cerveau du rongeur, on s'attend en condition saine à un T_1 de 1,7-2,3 s et à un T_2 de 27-40 ms ([De Graaf et al., 2006](#)).

En prenant en compte ces phénomènes de relaxation, Bloch propose alors un système d'équations pour décrire la dynamique de l'aimantation; les célèbres équations de Bloch ([Bloch, 1946](#)) :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dM_x}{dt} = \gamma(\vec{M} \times \vec{B}) \cdot \vec{x} - \frac{M_x}{T_2} \\ \frac{dM_y}{dt} = \gamma(\vec{M} \times \vec{B}) \cdot \vec{y} - \frac{M_y}{T_2} \\ \frac{dM_z}{dt} = \gamma(\vec{M} \times \vec{B}) \cdot \vec{z} + \frac{M_0 - M_z}{T_1} \end{array} \right. \quad (\text{I.18})$$

Si le champ RF est de la forme $\vec{B}_1(t) = (B_1 \cos(\omega t), -B_1 \sin(\omega t), 0)$, alors ces équations donnent dans le référentiel tournant :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dM_{x'}}{dt} = -\frac{M_{x'}}{T_2} + (\omega_0 - \omega)M_{y'} \\ \frac{dM_{y'}}{dt} = (\omega_0 - \omega)M_{x'} - \frac{M_{y'}}{T_2} + \omega_1 M_z \\ \frac{dM_z}{dt} = -\omega_1 M_{y'} + \frac{M_0 - M_z}{T_1} \end{array} \right. \quad (\text{I.19})$$

2.1.4 . Principe de l'écho de spin

En réalité, si l'on mesure le signal RMN immédiatement après une impulsion RF d'excitation, conventionnellement avec un angle de bascule de 90° , le signal acquis (dénommé FID pour *Free Induction Decay*) est modulé par un temps de relaxation transverse T_2^* au lieu de T_2 . Ceci est dû majoritairement aux inhomogénéités du champ B_0 dans l'échantillon étudié qui crée un déphasage des spins accéléré. La relaxation transverse "effective" en T_2^* est donc plus rapide que s'il était modulé par le T_2 absolu, et le signal s'atténue beaucoup plus vite.

Cependant, les effets de déphasage en T_2^* sont réversibles, et on peut s'en affranchir en utilisant le phénomène d'écho de spin. En effet, si l'on utilise une impulsion de refocalisation à 180° après l'impulsion d'excitation à 90° , les composantes qui étaient déphasées vont finir par se rephaser et le signal mesuré va revenir à son amplitude maximale modulée en T_2 (voir figure 9a) : c'est ce qu'on appelle l'écho de spin. Le temps qui sépare la première impulsion d'excitation à 90° et l'écho de spin est appelé temps d'écho TE. Pour obtenir un certain TE, il faut placer l'impulsion de refocalisation à 180° à un temps TE/2 après la premier RF à 90° (voir figure 9b).

Cette séquence d'écho de spin est une des plus élémentaires de l'imagerie IRM, et à la base de la majorité des mesures IRM qui seront présentées dans cette thèse.

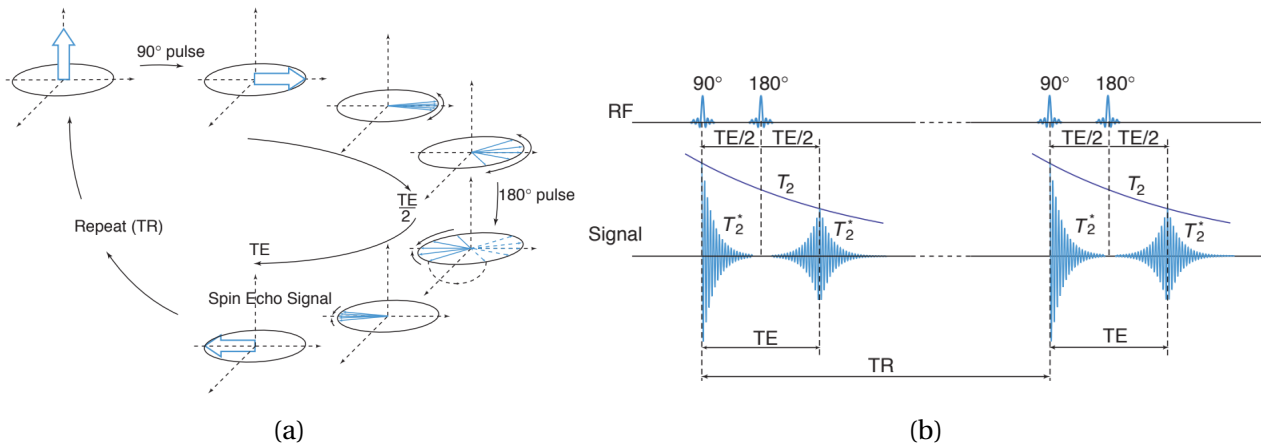


FIGURE 9 – (a) Illustration du principe de l'écho de spin. Après l'impulsion d'excitation à 90°, certains spins vont gagner en phase par rapport aux autres, i.e. se déphaser, à cause des inhomogénéités de champ B_0 . Mais avec une impulsion de refocalisation à 180° après un temps $TE/2$, ces déphasages vont s'annuler au bout de nouveau de $TE/2$. (b) Schématisation du chronogramme d'une séquence d'écho de spin (ou séquence SE) et de l'atténuation du signal. Illustrations tirées de [Suetens, 2009](#).

2.2 . Localisation du signal et imagerie 3D

Jusqu'ici, nous avons décrit ce qu'il se passait dans une expérience RMN dans un volume, ou voxel donné : l'échantillon est plongé dans un fort champ magnétique statique B_0 , et un champ RF transverse est appliqué pour sortir l'aimantation de son état d'équilibre. Une bobine de réception, parfois la même que celle de transmission du champ RF, peut alors mesurer alors l'évolution dynamique de l'aimantation afin d'évaluer certaines propriétés des tissus. Mais comment obtenir une image à proprement parler ?

En pratique, le champ magnétique à l'intérieur d'une IRM n'est pas homogène. Des bobines de gradients permettent de modifier localement le champ magnétique. Les inhomogénéités de champ ainsi créées sont la clé qui permettent de faire de l'imagerie par RMN en trois dimensions, c'est-à-dire de l'IRM à proprement parler.

Rapidement, trois techniques sont conventionnellement utilisées pour obtenir des images 3D en IRM :

- **La sélection de coupe :** En introduisant un gradient G_z linéaire selon \vec{z} dans le champ statique B_0 , le champ local devient $B_z(z) = B_0 + G_z z$. Ainsi, la fréquence de Larmor des protons de l'échantillon devient une fonction dépendante de la position selon \vec{z} dans l'IRM :

$$\omega_0(z) = \gamma(B_0 + G_z z) \quad (\text{I .20})$$

Une coupe centrée en z_0 et d'épaisseur Δz contient alors uniquement des spins résonants à des fréquences comprises dans une bande de largeur $\Delta\omega = \gamma G_z \Delta z$. Pour exciter sélectivement cette coupe, on peut donc envoyer une impulsion RF avec une bande passante BW de fréquences centrée sur $\omega_0(z_0)$ et de largeur :

$$BW = \gamma G_z \Delta z \quad (\text{I .21})$$

- **L'encodage en fréquence :** Similairement à la sélection de coupe, un gradient G_x va venir localement contrôler la fréquence de précession de l'aimantation dans la direction \vec{x} , mais

cette fois-ci pendant la période d'acquisition du signal. On l'appelle gradient de lecture. Les spins de la coupe ont donc été excités de manière homogène, mais lors la lecture, ils vont précesser à des fréquences différentes $\omega(x) = \gamma(B_0 + G_x x)$. Le signal mesuré M_{xy}^{RX} est donc une somme de signaux d'aimantations locales précessant à des fréquences différentes en fonction de leur position x dans l'image. Intuitivement, on comprend qu'en utilisant une transformée de Fourier pour distinguer les différentes composantes fréquentielles du signal mesuré, on peut reconstruire la dimension x de l'image.

- **L'encodage de phase :** Un dernier gradient G_y va intervenir juste après le gradient G_z , mais avant l'acquisition du signal, pour réaliser ce qu'on appelle l'encodage de phase. Cette étape va donner aux aimantations locales une phase à leur précession différente en fonction de leur position y . Le signal correspondant à une ligne x de l'image sera donc une somme de signaux d'aimantation précessant à la même fréquence, mais interférant constructivement ou destructivement en fonction de leurs phases. Si l'on arrive à distinguer les différentes composantes de phase, alors chaque pixel en y peut être reconstruit.

Grâce à ces méthodes d'encodage, on arrive à donner à chaque voxel du volume 3D une combinaison unique de fréquence d'excitation, de précession et de phase. Cependant, on comprend bien qu'il est impossible d'à la fois distinguer les composantes de phase et de fréquence de précession en une seule acquisition du signal M_{xy}^{RX} . On doit procéder à plusieurs acquisitions successives pour remplir ce qu'on appelle le k-space, l'espace des fréquences spatiales, en faisant varier l'encodage de phase ou de fréquence. L'acquisition du signal étant réalisée en quadrature, chaque pixel du k-space est une valeur complexe avec une partie réelle et imaginaire. L'image peut alors être reconstruite grâce à une transformée de Fourier 2D (voir figure 10c).

L'imagerie par résonance magnétique n'a ainsi pas de limite intrinsèque à sa résolution, comme peut l'avoir par exemple l'imagerie optique avec la limite de diffraction de la lumière. Cependant, la résolution des images IRM va tout de même être limitée par la sensibilité des capteurs, et donc par le rapport signal sur bruit, ou SNR pour *Signal to noise ratio* : il sera impossible d'imager proprement une coupe trop fine ou des voxels trop petits, car le signal mesuré sera perdu dans le bruit et notamment le bruit électronique des antennes de réception.

En ce sens, l'IRM à haut champ B_0 offre un grand avantage, car l'amplitude du signal d'aimantation sera plus élevée, et donc permettra d'atteindre des meilleures résolution d'images 3D.

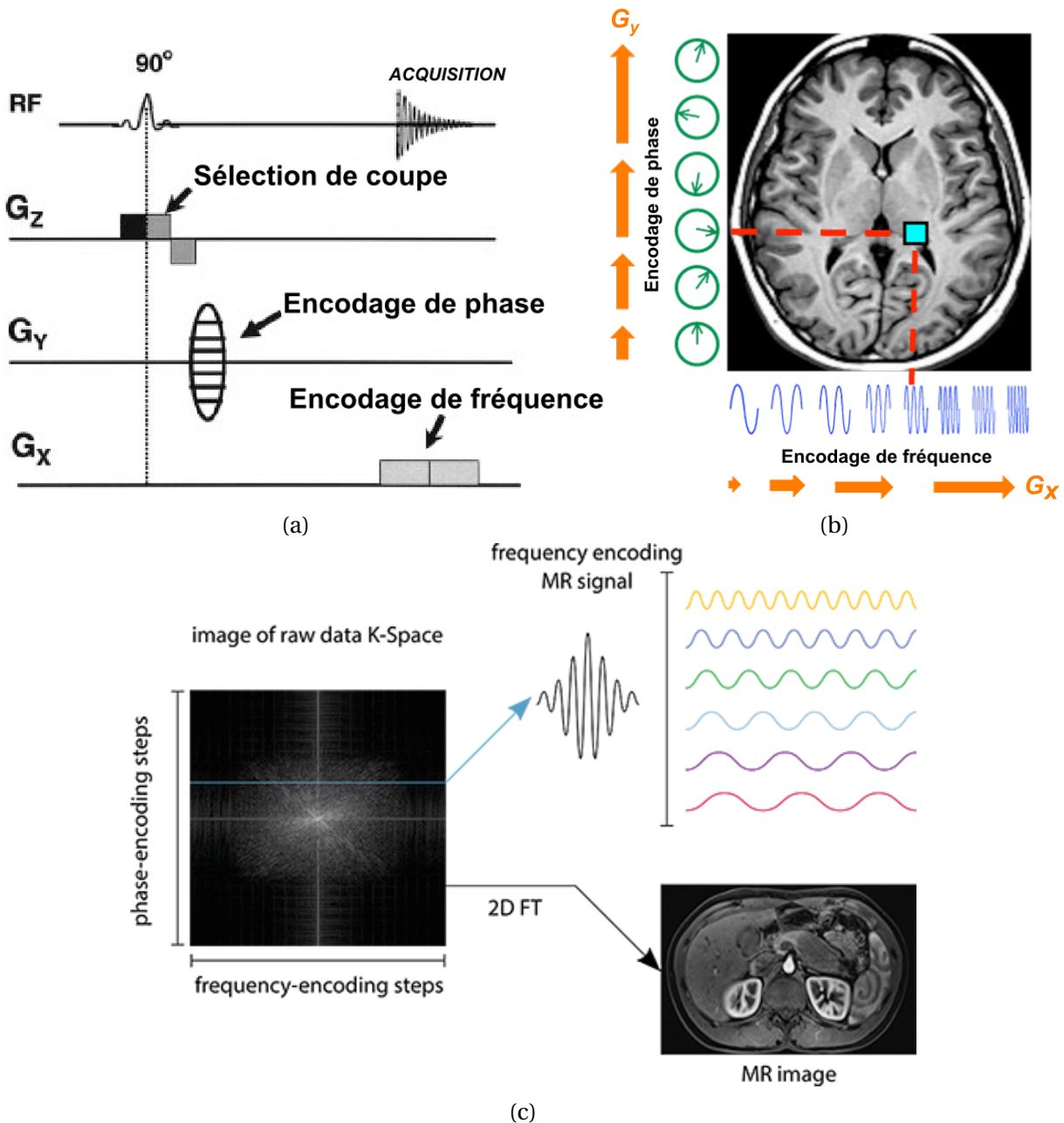


FIGURE 10 – (a) Schématisation d'une séquence IRM classique et de l'utilisation des gradients de sélection de coupe G_z , d'encodage de phase G_y et de lecture G_x . (b) Illustration en coordonnées x/y de l'encodages de phase et de fréquence d'une image IRM (empruntée du blog de A. Elster). (c) Reconstruction d'une image IRM via le k-space. Le signal acquis par encodage de phase et de fréquence constitue ce qu'on appelle le k-space, l'espace des fréquences spatiales. L'image est reconstruite grâce à une transformée de Fourier inverse 2D.

3. QUELQUES MESURES CLASSIQUES UTILISÉES EN IRM ET LEURS APPLICATIONS

L'IRM, de par sa bonne résolution et sa capacité à imager en profondeur les tissus biologiques, en fait une excellente méthode d'imagerie *in vivo*, et tout particulièrement pour le cerveau. Mais une partie du vrai potentiel de l'IRM réside dans la multitude de propriétés qui peuvent être mesurées lors d'une expérience IRM, et dans la liberté qui existe dans l'élaboration des séquences. Dans cette section, nous présenterons quelques types de mesures pouvant être réalisées en IRM, et leurs diverses applications cliniques dans l'imagerie du cerveau. Bien qu'il existe bien plus de techniques IRM que celles citées ici, nous nous limiterons aux mesures et séquences qui seront utilisés dans cette thèse

3.1 . Imagerie T_1/T_2

Les images pondérées en T_1 ou T_2 sont les images les plus classiques de l'IRM. Elles sont réalisées routinemièrement en IRM clinique et sont surnommées images anatomiques, car elles permettent de bien visualiser les contrastes entre tissus. En IRM pré-clinique, on les réalise habituellement en

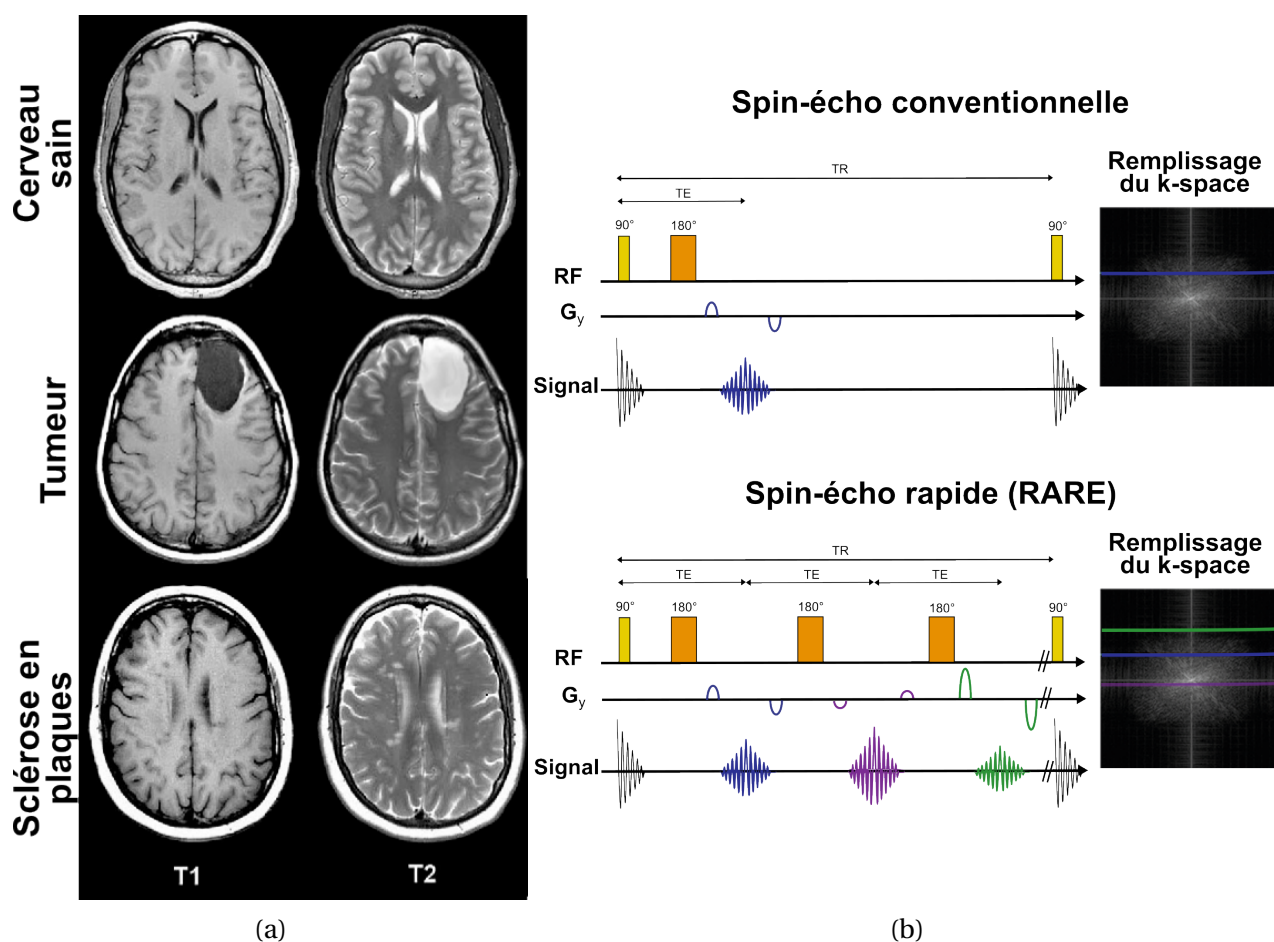


FIGURE 11 – (a) Exemples d'images pondérées en T_1 ou T_2 du cerveau humain, en condition saine (première ligne) ou en conditions pathologiques (deuxième ligne : exemple d'une patiente avec un kyste cérébral rempli de LCR; troisième ligne : exemple d'un patient souffrant de sclérose en plaques, où la démyélinisation de la matière blanche est visible en foncé sur l'image T_1 ou en clair sur l'image T_2). Adapté de [Tanenbaum et al., 2017](#). (b) Schématisation des séquences d'écho de spin et d'écho de spin rapide.

début d'expérience pour visualiser comment est placée la tête de l'animal dans l'IRM.

En contraste T_1 , le liquide céphalo-rachidien (LCR ou *CSF* en anglais) apparaît sombre, tandis qu'il est clair en contraste T_2 (voir figure 11a). La différence de contraste entre la matière blanche et la matière grise du cerveau est également inversée. Grâce au contraste marqué entre les différents types de tissus, l'imagerie T_1/T_2 permet d'identifier des lésions cérébrales, des tumeurs ou encore de détecter certaines pathologies comme la sclérose en plaques. Les maladies neurodégénératives ne sont cependant pas détectables avec un simple contraste T_1 ou T_2 .

Différentes séquences IRM peuvent être utilisées pour obtenir des images pondérées en T_1 ou T_2 . Par exemple, on peut utiliser une séquence conventionnelle de spin-echo en jouant sur les paramètres de temps d'écho TE et temps de répétition TR. Pour une SE, le signal global mesuré sera proportionnel à :

$$S \propto \rho_H (1 - e^{-TR/T_1}) e^{-TE/T_2} \quad (\text{I.22})$$

où ρ_H est la densité de protons. À TE relativement long (mais pas trop pour ne pas perdre tout le signal), le signal est très sensible aux changements de T_2 : on obtiendra donc une image pondérée en T_2 , à condition de choisir également un TR long pour s'affranchir de l'effet de relaxation T_1 . À TR court, le signal est sensible aux changements de T_1 : on obtiendra donc une image pondérée en T_1 , préférentiellement en utilisant un TE court pour garder un bon signal.

En pratique, on utilise, plutôt qu'une simple SE, des séquences d'écho de spin rapides (FSE pour *Fast Spin Echo*) pour faire des images de routine pondérées en T_1/T_2 . La FSE est aussi appelée TSE pour *Turbo Spin Echo* ou encore RARE pour *Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement*. Le principe de la FSE est d'acquérir "simultanément", ou plutôt en une seule répétition, plusieurs lignes du k-space en faisant l'acquisition successive de plusieurs échos de spin avec différents gradients d'encodage de phase (voir figure 11b). Le gain de temps comparé à une SE qui acquiert les lignes du k-space séquentiellement (une ligne par répétition) est considérable. Le nombre d'échos de spin acquis en une seule répétition est appelé le facteur RARE ou facteur turbo ; et varie typiquement entre 4 et 32 pour les acquisitions d'images T_1/T_2 .

Pour des images en contraste T_1 , on peut aussi utiliser une séquence d'inversion-récupération

Inversion -récupération

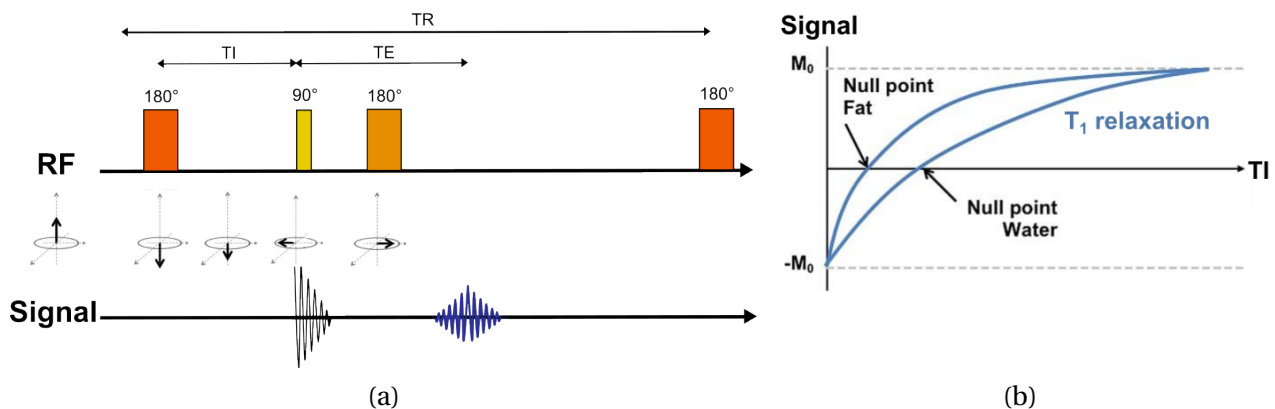


FIGURE 12 – (a) Schématisation de la séquence d'inversion-récupération. (b) Evolution du signal mesurée en fonction du temps d'inversion TI utilisé. Par exemple, la graisse qui a un T_1 plus court que l'eau va récupérer plus rapidement son aimantation. La figures (b) est adaptée de (Currie et al., 2012).

(IR), dont le chronogramme est indiqué figuré 12a. Une impulsion d'inversion à 180° est envoyée avant la séquence classique de spin-écho, ce qui permet d'inverser initialement l'aimantation selon \vec{z} et d'avoir un phénomène de relaxation longitudinal durant le temps TI qui sépare l'impulsion à 180° de la séquence SE (voir figure 12). La séquence d'inversion-récupération peut alors être utilisée pour faire des mesures quantitatives du T_1 : en mesurant le signal avec différents temps d'inversion TI, on peut estimer par un fit monoexponentiel la valeur du T_1 :

$$S(TI) = M_0(1 - 2e^{-TI/T_1}) \quad (I.23)$$

La séquence d'inversion-récupération est également utilisée pour d'autres desseins que la mesure quantitative du T_1 . Par exemple, en choisissant un temps d'inversion TI judicieux, on peut annuler le signal de certains tissus, comme la graisse ($TI^{\text{null}} \approx 0,69 T_1$). La plus grande marge de relaxation du signal ($2M_0$ au lieu de M_0) peut aussi améliorer les cartes de contrastes T_1 .

3.2 . Spectroscopie in vivo

Alors qu'en imagerie T_1/T_2 , on s'intéresse à des mesures globales reflétant tous les spins du voxel, donc principalement des protons de l'eau et de la graisse, la spectroscopie (MRS pour *Magnetic Resonance Spectroscopy*) permet de se pencher sur la question de la **composition chimique** du voxel d'intérêt.

Nous avons évoqué dans la section 2.1.1 la notion de fréquence de Larmor, dépendante du champ B_0 dans lequel est plongé le spin. En pratique, les atomes d'hydrogène, faisant partie de structures moléculaires avec des environnements électroniques propres, ressentiront un champ magnétique effectif local B_{eff} légèrement différent de B_0 :

$$B_{\text{eff}} = (1 - \sigma)B_0 \quad (I.24)$$

avec σ la constante de blindage, dépendante de l'environnement chimique.

Les atomes d'hydrogènes de différentes molécules, et même au sein d'une même molécule, auront donc des fréquences de Larmor $\omega_{\text{eff}} = \gamma B_{\text{eff}}$ différentes. Ces décalages de fréquences de résonance, proportionnels au champ B_0 , sont exploités en spectroscopie RMN chimique pour l'identification de composés organiques. On parle alors plus souvent de déplacements chimiques, qui sont eux indépendants du champ B_0 :

$$\delta = \frac{\omega_{\text{eff}} - \omega_{\text{ref}}}{\omega_0} \quad (I.25)$$

où ω_{ref} est la fréquence de Larmor d'un composé de référence, en l'occurrence le tétraméthylsilane (TMS) en spectroscopie du proton.

En spectroscopie conventionnelle, on excite tous les spins du voxel par une impulsion à large bande passante, non sélective : on observera alors des dynamiques de précession différentes pour les divers groupes moléculaires de protons ; ce qui permettra de les identifier séparément. La FID mesurée est alors une somme de différentes composantes fréquentielles en fonction des groupes moléculaires et de leurs déplacements chimiques δ . Une transformée de Fourier de la FID donne le spectre ^1H -MRS sur lequel se dessinent des pics à différents δ dont l'intensité est proportionnelle à la concentration des groupes de protons d'intérêt. Les pics des groupes de protons proches au sein d'une même molécule vont également être susceptibles d'être dédoublés et modulés via des interactions d'électrons : c'est ce qu'on appelle le couplage J. La forme des pics soumis aux couplages J va dépendre du TE et de la séquence de spectroscopie choisie, mais peut être simulée

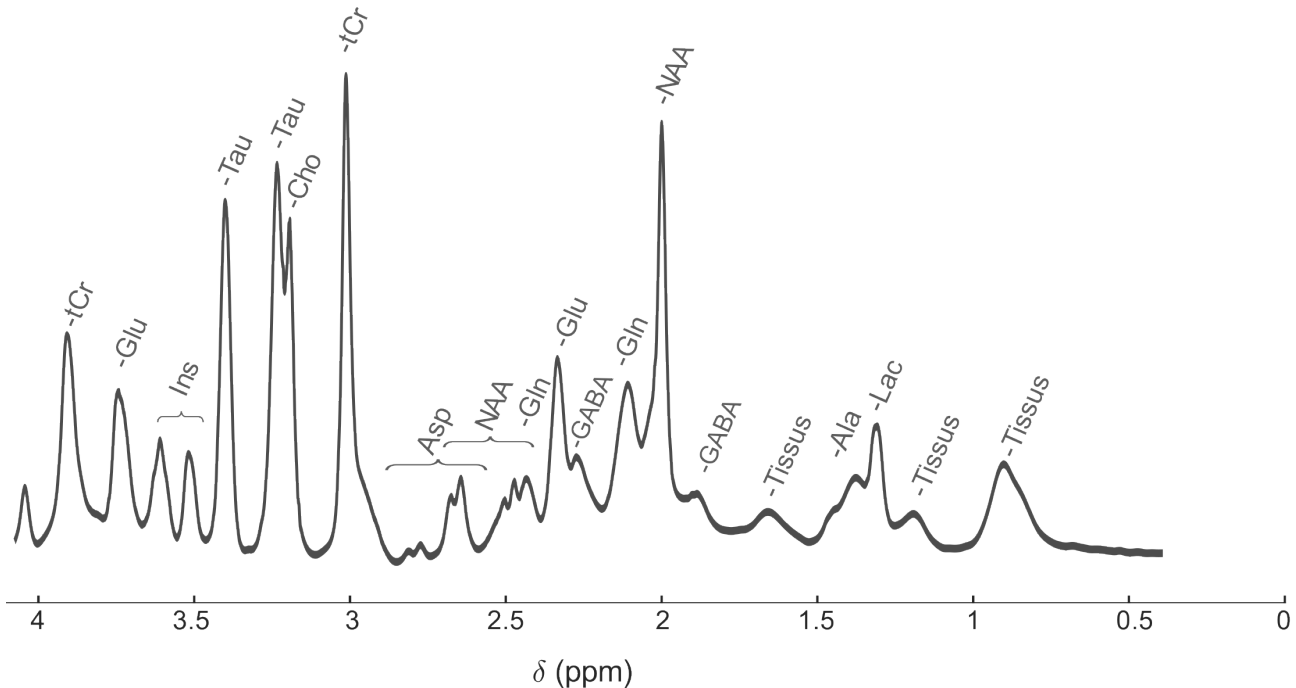


FIGURE 13 – Exemple d’une acquisition ^1H -MRS dans le cerveau de souris à 11.7 T. Les différentes signatures RMN des métabolites du cerveau peuvent être distinguées, plus ou moins facilement selon la concentration du métabolite, parmi les groupes de pics présents sur le spectre.

grâce aux constantes de couplage J qui sont connues (Govindaraju et al., 2000).

En réalisant une mesure de spectroscopie ^1H dans le cerveau, on peut alors identifier les signatures RMN des différents métabolites d’intérêt et donc en déduire leurs concentrations relatives (voir figure 13) : le N-acétylaspartate (NAA), la créatine et phosphocréatine (tCr), la choline (Cho), le glutamate (Glu) et la glutamine (Gln), la taurine (Tau), le myo-inositol (Ins), le lactate (Lac), ou encore d’autres acides aminés : GABA, alanine (Ala), acide aspartique (Asp), etc... Pour la spectroscopie, un très haut champ B_0 présente un grand intérêt, car les pics des métabolites seront alors mieux séparés et donc plus facilement identifiables séparément.

Dans le cas de la spectroscopie, l’encodage en fréquence utilisé en imagerie n’est plus exploitable, puisque les composantes fréquentielles sont maintenant utilisées pour distinguer différents groupes chimiques. De plus, pour détecter des concentrations de métabolites de l’ordre du mM, le signal MRS doit être accumulé pour augmenter le SNR, soit en répétant la mesure, soit en choisissant un large volume. En pratique, la spectroscopie *in vivo* est donc réalisée dans un large voxel : il ne s’agit plus d’imagerie, mais de mesures localisées. Un module de localisation est alors ajouté à la séquence avant l’acquisition pour récupérer sélectivement le signal du voxel d’intérêt. Différents modules de localisation existent (PRESS, STEAM, etc...) mais dans cette thèse nous utiliserons uniquement le module LASER (*Localization by Adiabatic SElective Refocusing*), qui sera plus détaillé dans le chapitre VI. À noter que l’imagerie spectroscopique (MRSI pour *MRS Imaging*, ou encore CSI pour *Chemical Shift Imaging*) ne reste pas impossible, et est d’ailleurs un domaine de recherche en plein développement, mais ces techniques ne seront pas traitées dans cette thèse.

La spectroscopie *in vivo*, de par sa capacité à évaluer indirectement des concentrations de métabolites, offre un beau potentiel pour suivre le neurométabolisme et comprendre des méca-

nismes pathologiques. Cliniquement, elle peut permettre de détecter certaines pathologies présentant des niveaux anormaux de certains métabolites. Par exemple, la spectroscopie peut permettre en examen clinique d'identifier la catégorie et le grade de tumeurs cérébrales (Weinberg et al., 2021).

En ce qui concerne les maladies neurodégénératives, la spectroscopie permet de comprendre plus en détail des mécanismes pathologiques, mais les résultats ne sont pas homogènes en fonction des pathologies (Martin, 2007). Pour Alzheimer en particulier, des niveaux réduits de NAA, marqueur de l'intégrité neuronale, ont pu être rapportés (H. Wang et al., 2015), mais cet effet semble n'être pas spécifique à la pathologie d'Alzheimer (Martin, 2007), ce qui n'en fait pas un biomarqueur spécifique. Des études ont également rapporté que le niveau de myo-inositol, qui peut informer sur la prolifération gliale, peut être utilisé pour suivre l'avancement de la maladie (Sheikh-Bahaei, 2024). Des changements de niveaux d'autres métabolites, comme la choline, le glutamate, la glutamine ou le GABA ont également été rapportés, mais sont encore controversés, notamment à cause de limitations techniques, comme par exemple le fait que ces métabolites peuvent être difficiles à détecter spécifiquement à bas champ B_0 (Sheikh-Bahaei, 2024).

4 . POINTS CLÉS DE CE CHAPITRE

- ➔ Lors d'une expérience RMN, les protons possèdent des fréquences de Larmor différentes en fonction de leur environnement chimique : chaque métabolite a donc des fréquences de résonance différentes.
- ➔ Grâce à des méthodes d'encodages en fréquences spatiales, on peut faire de l'imagerie par résonance magnétique en 3D des protons de l'eau. L'imagerie pondérée en T_1/T_2 avec la séquence RARE est un bon exemple.
- ➔ La spectroscopie du proton permet de détecter des métabolites du cerveau présents en concentration millimolaire dans le cerveau. Cependant, pour avoir un SNR correct, il faut choisir de larges voxels d'acquisition, ce qui implique une résolution spatiale très fortement limitée.

Dans le prochain chapitre, nous allons aborder l'imagerie CEST, qui permet de faire de l'imagerie ciblée de certains métabolites du cerveau, tout en palliant au désavantage de la spectroscopie : en effet, l'imagerie CEST s'appuie sur la mesure du signal de l'eau, et peut donc offrir une excellente résolution spatiale.

II - L'imagerie de Transfert de Saturation par Echanges chimiques (CEST)

1 . PRINCIPE GÉNÉRAL

1.1 . Une brève histoire de l'imagerie CEST

Jusqu'ici, nous avons décrit les principes de la RMN en décrivant les protons comme des atomes fixes au sein d'une molécule. En réalité, les hydrogènes peuvent être échangés entre différentes molécules, en particulier ceux liés à une fonction chimique labile (-NH_x, -OH, etc...). Par conséquent, les spins peuvent se transférer entre différentes molécules, et notamment avec l'eau qui est omniprésente en milieu physiologique.

Les phénomènes de transferts d'aimantation par échanges chimiques sont connus dès la seconde moitié du XX^e siècle, et sont très tôt mis en équation par McConnell (McConnell, 1958). Dans les années 60, Forsén et Hoffman exploitent ces effets de transfert dans le cas de saturation sélective de spins, et l'utilisent pour mesurer des taux d'échange de protons entre les fonctions hydroxyles (-OH) de composés phénolés (Forsén et al., 1963) (figure 14).

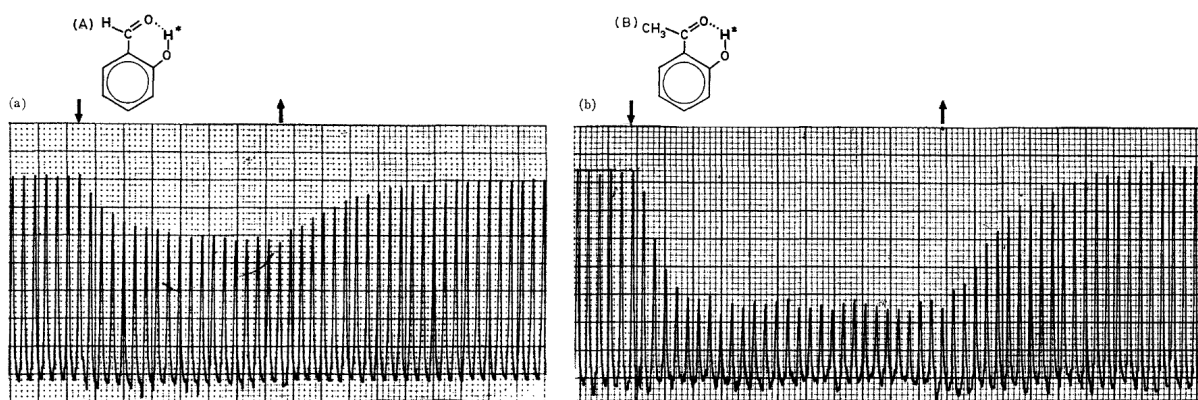


FIGURE 14 – L'expérience originelle de Forsén et Hoffman (Forsén et al., 1963), considérant un mélange de salicylaldéhyde (composé A) et de 2-hydroxyacétophénone (composé B). Dans l'expérience (a), une saturation sélective est appliquée au composé B dans l'intervalle de temps symbolisé par les flèches et la dynamique de l'aimantation du composé A est mesurée. L'expérience inverse est réalisée en (b). Les décroissances d'aimantation observées reflètent les transferts de saturation entre les deux espèces.

Le terme CEST, pour *Chemical Exchange Saturation Transfer*, n'apparaît qu'en 2000 (Ward et al., 2000) avec les travaux de l'équipe de Balaban. Étudiant initialement les transferts de saturation entre l'eau libre et l'eau des tissus (Wolff et al., 1989), ce que l'on appelle l'effet MT (*Magnetization Transfer*), l'équipe de Balaban détecte autour de la résonance de l'eau les transferts de saturation issus d'échanges chimiques entre l'eau et de plus petites molécules (Guivel-Scharen et al., 1998) : c'est l'apparition de l'imagerie CEST.

Depuis, l'effet CEST a fait l'objet d'un intérêt grandissant au vu de son potentiel pour l'imagerie de systèmes biologiques. En effet, grâce au mécanisme de transfert de saturation (détaillé plus

loin), le signal caractéristique de molécules présentes en faible concentration peut être amplifié par transfert accumulé et être indirectement détecté dans le signal de l'eau libre, donc avec un haut SNR. Par conséquent, l'effet CEST permet **l'imagerie à bonne résolution de métabolites présents en concentrations millimolaires**, offrant donc un nouveau type de contraste d'un haut intérêt *in vivo*. De nombreuses applications de l'imagerie CEST ont été proposées ou sont en cours de développement, tant avec des agents de contraste exogènes qu'endogènes, comme par exemple l'imagerie APT (pour *Amide Proton Transfer*), qui est certainement la plus connue. En clinique ou préclinique, l'imagerie CEST a fait ses preuves dans différents domaines, comme l'oncologie, l'imagerie des muscles, la neurobiologie ou encore l'imagerie du rein (K. M. Jones et al., 2018).

1.2 . Principe de saturation

Pour comprendre le principe de l'effet CEST, il faut d'abord comprendre le principe de saturation. On parle ici de saturation sélective spectralement, c'est-à-dire d'impulsion RF à petite bande passante qui sélectionnera spécifiquement les spins d'un agent d'intérêt résonnant à une fréquence de Larmor ω_{sat} , ou encore à déplacement chimique δ_{sat} . Les impulsions de saturation sont utilisées en amont d'une séquence IRM. Les protons résonnant à $\omega_{sat} = \omega_s$ seront excités avant le début de la séquence d'acquisition, et, par équilibrage des populations de spins dans les deux niveaux d'énergie, l'aimantation globale de l'agent d'intérêt sera réduite à zéro avant le début de l'acquisition (voir figure 15) : on dit que les spins sont saturés.

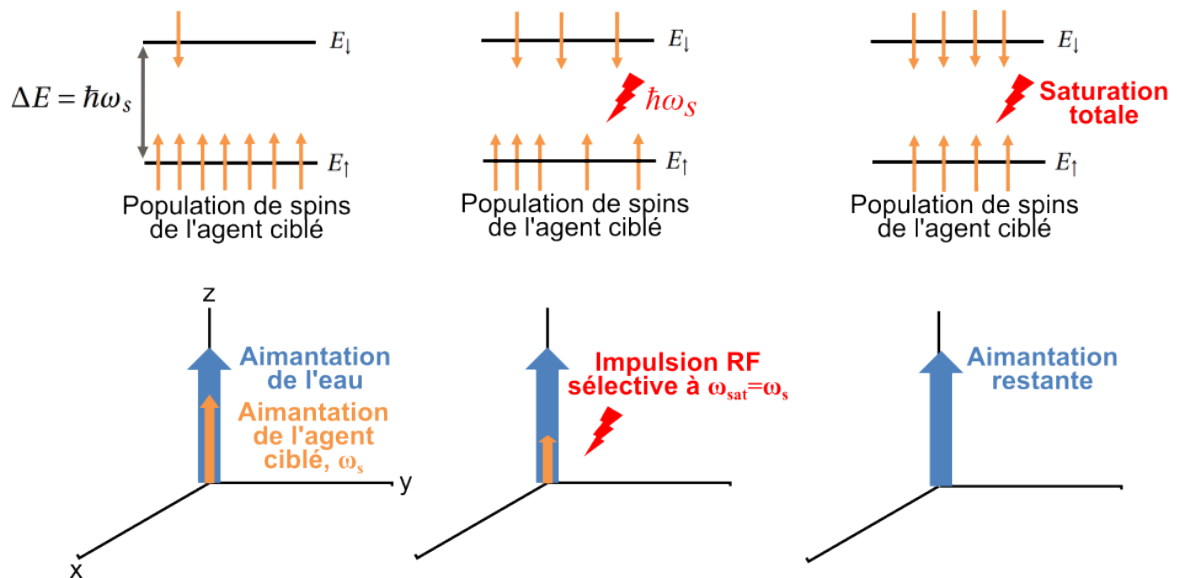


FIGURE 15 – Principe de saturation : une impulsion RF va venir exciter sélectivement exciter les spins de l'agent d'intérêt et équilibrer les populations de spins en états E_1 et E_2 . On dit que la saturation est totale lorsque les deux populations de spins sont parfaitement équilibrées, et donc que l'aimantation totale de l'agent d'intérêt est réduite à zéro.

En pratique, il est ardu d'arriver immédiatement à une saturation totale des spins d'intérêt : la saturation est un phénomène dynamique, qui prend un certain temps avant d'atteindre l'équilibre complet des populations de spins, de l'ordre de plusieurs T_1 , et qui dépendra bien sûr de la puissance B_1 de l'impulsion RF utilisée.

1.3 . Principe de transfert de saturation par échange chimique

Lors d'une expérience CEST, il faut au minimum deux espèces chimiques : l'eau libre, avec une fréquence de Larmor ω_w , et un agent de contraste CEST, possédant au minimum un groupe de proton résonant à ω_s . On appellera ces deux espèces de protons des "compartiments" dans le jargon de la modélisation CEST.

Considérons maintenant que le groupe de protons résonant à ω_s est labile, et donc que les hydrogènes peuvent s'échanger entre la molécule d'intérêt et l'eau libre, très concentrée en comparaison dans le milieu considéré (Figure 16a). Lorsqu'on applique une impulsion de saturation à $\omega_{\text{sat}} = \omega_s$, les protons de l'agent d'intérêt seront spécifiquement saturés, i.e. leur aimantation globale sera réduite à zéro lors de l'acquisition (Figure 16b). Comme l'agent d'intérêt est très peu concentré, cette perte d'aimantation ne sera pas réellement détectable. Cependant, par échange chimique, les spins saturés pourront être transférés vers l'eau libre, avec un taux d'échange qu'on note k_{ex} . Les nouveaux spins récupérés en retour seront à leur tour saturés tant que l'impulsion de saturation sera appliquée, et de nouveau échangés vers l'eau libre. À la fin de l'impulsion de saturation, un grand nombre de spins saturés auront été transférés vers l'eau libre, ce qui résultera en une perte de signal globale qui elle sera détectable (Figure 16c).

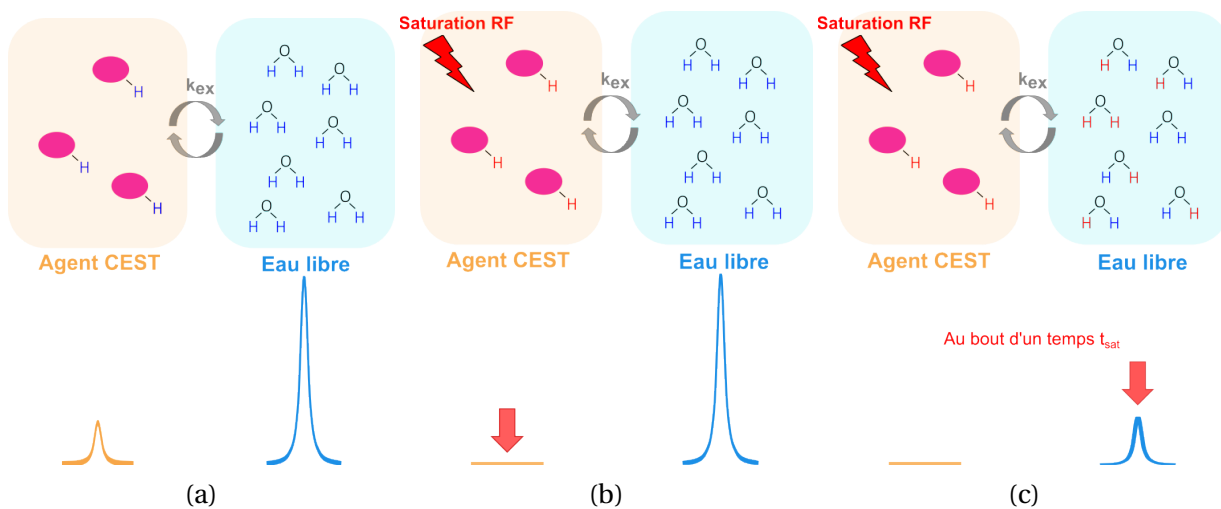


FIGURE 16 – Illustration du principe de l'effet CEST. (a) Deux compartiments, l'agent d'intérêt et l'eau, peuvent échanger des protons avec un taux d'échange k_{ex} . (b) Lorsqu'une impulsion de saturation sélective est appliquée à ω_s , les spins de l'agent d'intérêt sont saturés et le signal global de ce compartiment est réduit à zéro. (c) Ces spins saturés sont transférés vers l'eau libre, et ce tout au long de l'impulsion de saturation, ce qui résulte en une accumulation non négligeable de spins saturés qui font baisser le signal total de l'eau libre.

La perte d'aimantation de l'eau libre par transfert de saturation est à la base du contraste en imagerie CEST. Intuitivement, on peut comprendre que la quantité de signal perdu dépend principalement de deux paramètres :

- **La concentration de l'agent d'intérêt** : plus les spins saturés seront présents en forte concentration dans le milieu, plus de transferts de saturation auront lieu vers l'eau libre. Le contraste CEST est donc pondéré en fonction de la concentration de l'agent d'intérêt.
- **Le taux d'échange** : En effet, si le taux d'échange des spins est élevé, ils pourront être transférés plus rapidement du compartiment de l'agent ciblé vers l'eau libre. Mais si l'échange de spins est trop rapide comparés à la vitesse à laquelle ils sont saturés, alors le contraste

CEST ne sera pas optimal. En bref, la vitesse à laquelle les spins s'échangent entre les deux compartiments module également l'intensité de l'effet CEST.

En réalité, le contraste CEST dépend de plus de paramètres, comme on le verra par la suite. Mais ces deux paramètres principaux forment les deux finalités d'application de l'imagerie CEST : obtenir un contraste pondéré en concentration, ou bien un contraste pondéré en taux d'échange. Le taux d'échange étant dépendant du pH, on parlera plus souvent d'imagerie pondérée en pH.

2 . MISE EN PRATIQUE EXPÉRIMENTALE

2.1 . Le schéma de saturation

Pour appliquer une saturation sélective à une certaine fréquence de résonance, on utilise en imagerie CEST un module de saturation long, placé avant le début de la séquence d'imagerie, qui peut durer généralement entre 0.5 à 5 secondes avec une certaine amplitude B_1 (voir figure 17).

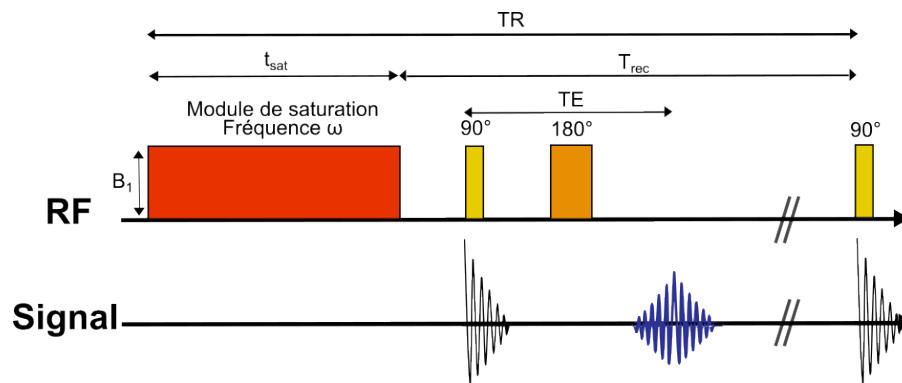


FIGURE 17 – Illustration d'une expérience CEST basique : ici, un module de saturation continue est ajouté avant une séquence classique de spin-écho.

Le module de saturation le plus simple est constitué une impulsion RF carrée continue pendant toute la durée de la saturation : c'est ce qu'on appelle le CEST continu, ou CW-CEST pour *Continuous Wave CEST*. Les méthodes CW-CEST permettent d'atteindre rapidement une saturation complète des protons d'intérêt, et sont également faciles à modéliser, comme nous le verrons au chapitre IV . Cependant, cette approche pose problème dans le cadre d'études cliniques, car la puissance déposée sur une aussi longue durée fait chauffer les tissus, ce qui peut mettre en danger l'intégrité des organes imagés. Pour les études cliniques, la réglementation est très stricte concernant la puissance maximum qui peut être déposée : on parle de SAR (*Specific Absorption Rate*) maximum.

Pour respecter les contraintes de SAR, on élabore souvent pour l'imagerie CEST clinique des modules de saturation pulsés, c'est-à-dire composé d'un train de n impulsions de durée t_p séparées de délais t_d qui peuvent avoir différentes formes : impulsion carrée, gaussienne, sinc, etc... On définit alors le *Duty Cycle* DC :

$$DC = \frac{t_p}{t_p + t_d} \quad (II .1)$$

En règle générale, on considère que le SAR suit les règles de proportionnalité suivantes :

$$SAR \propto \omega^2 B_{1,rms}^2 DC \quad (II .2)$$

où $B_{1_{rms}}$ est ici l'amplitude moyenne d'une impulsion (qui n'est pas égale à l'amplitude maximale lorsque l'impulsion n'est pas carrée). En jouant donc sur le DC, on peut donc théoriquement arriver à faire baisser le SAR tout en atteignant l'amplitude B_1 désirée pour une expérience CEST.

De manière générale, que ce soit pour les modules de saturation continue ou pulsée, il y a trois paramètres importants sur lesquels on peut jouer lors d'une expérience CEST :

- **La fréquence de saturation ω** : En modulant ω , on pourra cibler la saturation de différents groupes de protons ou différentes espèces chimiques.
- **La durée du module de saturation t_{sat}** : Dans le cas de saturation pulsée, elle vaut $t_{sat} = n(t_p + t_d)$. Intuitivement, on imagine bien que plus la saturation est longue, plus les transferts de saturation seront nombreux et donc plus l'effet CEST sera fort. En réalité, comme nous le verrons au chapitre IV, il existe un état stationnaire pour l'effet CEST : il est atteint lorsque les nouvelles arrivées de protons saturés dans le compartiment de l'eau s'équilibrent avec les phénomènes de relaxation de l'aimantation. Cet état stationnaire peut être intéressant à obtenir pour certaines expériences, notamment pour la quantification. Cependant, cela peut nécessiter des t_{sat} assez longs, ce qui rallongera nécessairement l'acquisition. De plus, il faut garder à l'esprit qu'entre deux acquisitions CEST, l'aimantation doit pouvoir récupérer et revenir à son état initial : on laisse typiquement un temps de récupération T_{rec} de l'ordre de 2-3 T_1 . Le $TR = T_{rec} + t_{sat}$ peut donc devenir assez long, ce qui pose problème dans un cadre clinique où les acquisitions sont limitées en temps.
- **La puissance du module de saturation B_1** : On peut voir la puissance B_1 , ou plutôt la fréquence d'intensité $\omega_1 = \gamma B_1$, comme une "force de saturation par seconde" : plus elle est élevée, plus les spins d'intérêt seront saturés rapidement. Ainsi, on peut imaginer que pour des protons s'échangeant rapidement entre l'eau libre et l'agent CEST, une forte puissance B_1 est nécessaire pour saturer complètement les spins avant leur échange, et donc obtenir un fort effet CEST. En revanche, pour des protons s'échangeant lentement, un fort champ B_1 n'est pas nécessaire, et est même défavorable, comme nous le verrons au chapitre III. Par conséquent, la puissance B_1 peut être modulée pour être sensible à certaines dynamiques d'échange de protons, ce qui peut être utile pour imager spécifiquement certaines espèces chimiques, en particulier celles qui résonnent à des fréquences proches.

2.2 . Z-spectrum et contraste CEST

En pratique, les impulsions de saturation ne sont pas parfaitement sélectives, et la réponse CEST n'est pas un dirac à $\omega = \omega_{sat}$. Les résonances des protons d'intérêt auront plutôt la forme de "puits d'absorption" autour de ω_{sat} . Expérimentalement, on fera souvent plusieurs acquisitions du signal résiduel de l'eau libre en balayant une plage de fréquences ω : on obtient alors une courbe appelée Z-spectrum. En général, on normalise le Z-spectrum avec une référence d'aimantation M_0 , mesurée par exemple avec une saturation nulle. Sur le Z-spectrum, on observe notamment un puits d'absorption autour de ω_{sat} , et bien sûr un autre autour de la fréquence de résonance de l'eau ω_w . Par convention en imagerie CEST, on utilisera la fréquence de résonance de l'eau comme référence pour calculer les déplacements chimiques : l'eau résonnera alors à 0 ppm, et les autres molécules auront des déplacements chimiques décalés de -4,7ppm par rapport aux δ classiquement calculés en spectroscopie.

Conventionnellement, ce qu'on appelle le contraste CEST sera calculé par une métrique nommée MTR, pour *Magnetization Transfer Ratio*, qui évalue la perte normalisée d'aimantation due à

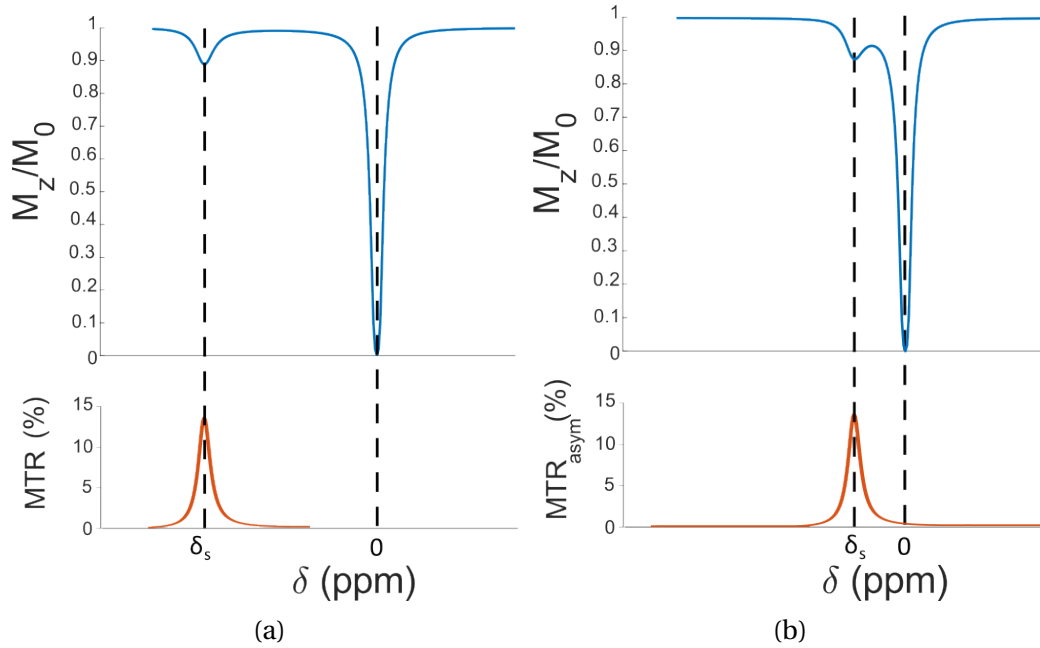


FIGURE 18 – Exemples de Z-spectra et de MTR associés. Dans l'exemple (a), la résonance δ_{sat} de l'agent d'intérêt est loin de celle de l'eau : le MTR peut aisément être calculé avec l'équation II .3. Dans l'exemple (b), l'effet CEST de l'agent d'intérêt se confond partiellement avec l'effet de saturation directe de l'eau : il faut utiliser la métrique MTR_{asym} (équation II .4).

un effet CEST. En principe, si l'effet CEST d'intérêt est bien séparé des autres effets de transferts de saturation (voir figure 18a), le MTR se calcule avec :

$$MTR(\delta) = \frac{M_0 - M_z(\delta)}{M_0} = 1 - \frac{M_z(\delta)}{M_0} \quad (II .3)$$

En pratique, les résonances des agents d'intérêt sont souvent trop proches de la résonance de l'eau pour avoir un effet CEST bien séparé, surtout dans le cas de petites molécules endogènes. Le MTR calculé par l'équation II .3 sera alors contaminé par l'effet de saturation directe de l'eau. On utilise alors communément une méthode de calcul par asymétrie du Z-spectrum pour extraire l'effet CEST ; le MTR_{asym} :

$$MTR_{asym}(\delta) = \frac{M_z(-\delta) - M_z(\delta)}{M_0} \quad (II .4)$$

Cette métrique MTR_{asym} possède un certain nombre d'inconvénients, comme nous le verrons au chapitre V . Cependant, il s'agit historiquement de la première méthode d'analyse proposée et reste encore la métrique la plus couramment utilisée.

3 . LES DIFFÉRENTES APPLICATIONS DE L'IMAGERIE CEST

En contrôlant à la fois la fréquence ω des impulsions de saturation et la puissance B_1 utilisée, l'imagerie CEST peut cibler de nombreuses molécules différentes. Nous détaillerons dans cette section quelques exemples d'applications d'imagerie CEST.

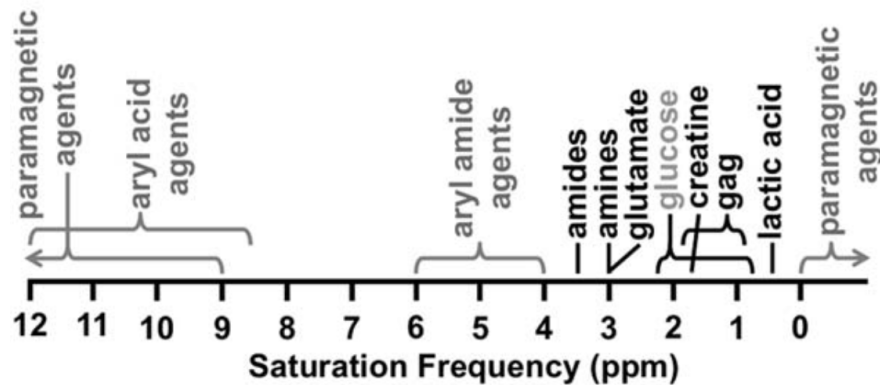


FIGURE 19 – Illustration tirée de [K. M. Jones et al., 2018](#), montrant les fréquences de résonance de différents agents CEST possibles. Les agents en gris ont typiquement besoin d'être injectés pour avoir un effet CEST observable; les agents en noirs sont endogènes.

3.1 . Agents CEST exogènes

Une des premières applications proposées pour l'imagerie CEST est l'utilisation de molécules exogènes, i.e. injectées, capables de se fixer sur des tissus d'intérêt, comme par exemple des tumeurs, pour donner un contraste CEST ciblé ([Ward et al., 2000](#)).

Il existe différents types d'agents de contraste CEST exogènes : des molécules paramagnétiques (paraCEST), comme par exemple les complexes lanthanides ([Woods et al., 2006](#)), des molécules diamagnétiques (diaCEST) mais toutefois exogènes, comme par exemple des composés aryles ([X. Cai et al., 2020](#)), des liposomes encapsulant des agents d'intérêt (lipoCEST), ou encore, en sortant du cadre de l'IRM du proton, des gaz hyperpolarisés (hyperCEST). Ces différents types de contraste CEST reposent soit sur le procédé classique de transfert de saturation par échanges de protons, soit sur des mécanismes plus complexes, comme des échanges moléculaires, ou encore des échanges compartimentaux (comme par exemple dans le cas des expériences lipoCEST, où l'eau s'échange entre l'intérieur et l'extérieur des liposomes). Certaines mesures CEST ciblant des agents endogènes requièrent également des injections pour obtenir des concentrations suffisantes afin de détecter un effet CEST, ou bien pour suivre une dynamique de métabolisation, comme c'est le cas pour les mesures glucoCEST (qui seront traitées dans la section 3.6).

Un grand intérêt des agents exogènes est qu'ils peuvent être conçus pour répondre à des besoins d'imagerie particuliers, comme par exemple s'attacher à des tissus ou récepteurs d'intérêt, ou encore avoir des propriétés fonctionnelles, comme les agents acidoCEST qui sont utilisés pour l'imagerie du pH ([Lindeman et al., 2018](#)). Ce sont également des molécules qui présentent en général une fréquence de résonance éloignée de celle de l'eau, ce qui rend l'analyse de leur contraste CEST moins biaisée : il n'y a pas de risque de confondre l'effet CEST avec la saturation directe de l'eau par exemple.

Cependant, le désavantage de ces agents exogènes est bien sûr le fait qu'il faille les injecter au patient : cela demande une étude préalable d'analyse de toxicité, ainsi que des contraintes de réglementation, et implique des expériences plus complexes. Dans cette thèse, nous traiterons uni-

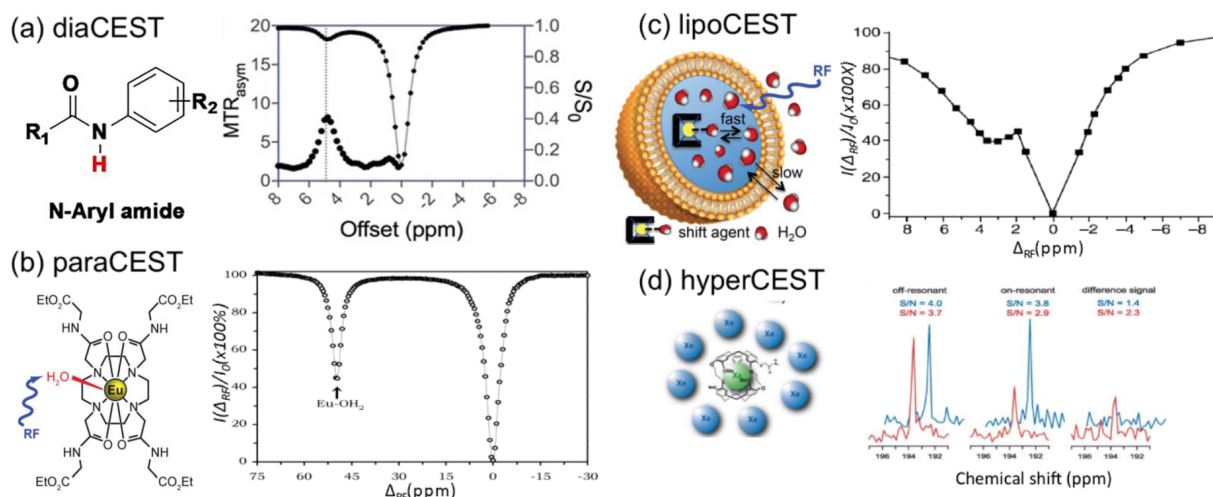


FIGURE 20 – Quelques exemples d’agents CEST exogènes et exemples de Z-spectra correspondants. (a) Exemple d’un agent diaCEST : un amide de composé arylé, résonant autour de ≈ 5 ppm (adapté de (X. Cai et al., 2020)). (b) Exemple d’un agent paraCEST, un complexe EuDOTA, tiré de (Vinogradov et al., 2013). (c) Exemple d’expérience lipoCEST, où un agent de contraste, le TmDOTA, est encapsulé en forte concentration dans un liposome. Le signal CEST observé à 4ppm reflète des échanges des échanges de molécules d’eau entre l’intérieur et l’extérieur de la vésicule. Tiré de (Aime et al., 2005). (d) Exemple d’expérience hyperCEST, où des atomes de Xe sont encapsulés dans un complexe cryptophane et s’échangent avec le Xe libre. Tiré de (Schröder et al., 2006).

quement d’agents endogènes (à part pour le cas spécial de l’imagerie glucoCEST), qui présentent un effet CEST in vivo détectable sans besoin d’injection.

3.2 . L’imagerie de protéines (APT)

L’imagerie de transfert de protons amides, ou APT, est certainement une des techniques CEST les plus abouties à l’heure actuelle, et une des premières à avoir été amenées jusqu’à l’application clinique chez des patients. Proposée en 2003 (J. Zhou, Payen et al., 2003), l’imagerie APT cible les fonctions amides des protéines et peptides mobiles, résonant à 3,5 ppm de la fréquence de résonance de l’eau. Ces groupes de protons sont présents en concentration suffisante (plusieurs dizaines de mM (J. Zhou, Payen et al., 2003)) pour être détectés par imagerie CEST.

Une particularité de l’imagerie APT est que les taux d’échange des protons amides sont très sensibles au pH, ce qui rend la technique APT idéale pour réaliser de l’imagerie pH : une petite variation de pH entraînera une différence significative de contraste APT, ce qui s’observe très facilement en cas d’ischémie cérébrale (figure 21a). En oncologie, l’imagerie APT s’est trouvée une application intéressante dans le diagnostic des grades de tumeurs (Bai et al., 2017). En effet, les différents types de tumeurs ne sont pas tous bien différenciables avec des contrastes classiques pondérés en T_1/T_2 , et l’imagerie APT s’est en particulier distinguée à cet égard, permettant d’obtenir des informations supplémentaires sur le grade des tumeurs, mais aussi sur la potentielle réponse thérapeutique des gliomes (J. Zhou, Tryggstad et al., 2011).

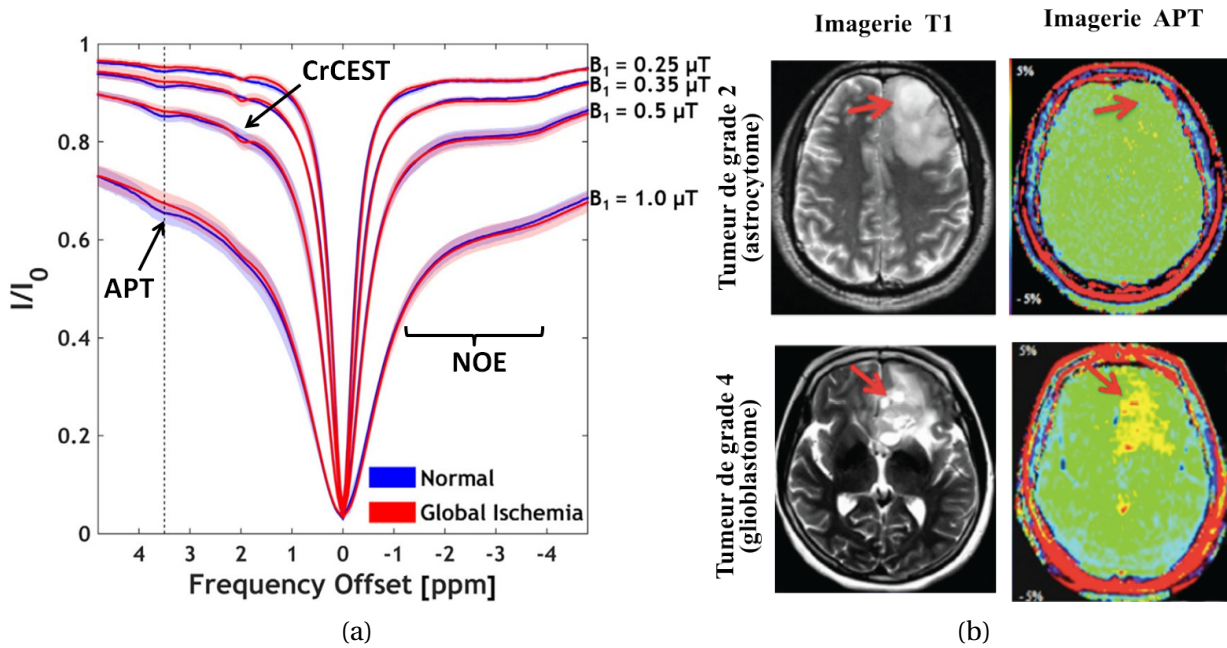


FIGURE 21 – (a) Exemples de Z-spectra mesurés chez le rat à 4,7T avant et après une ischémie cérébrale, issus de (Ji et al., 2023). L'effet APT peut être observé à 3,5 ppm, et varie avant et après l'attaque à cause du changement de pH du milieu physiologique. L'autre signal observable à 2,0 ppm correspond au signal CrCEST (voir section 3.3), et le signal étendu en amont du signal de l'eau est dû aux effets nucléaires Overhauser (voir section 3.4). (b) Exemple d'utilisation de l'imagerie APT chez l'homme à 3T pour différencier différents grades de tumeurs cérébrales. Tiré de (Bai et al., 2017).

3.3 . L'imagerie de la créatine (CrCEST)

Vers 2,0 ppm, un autre groupe de protons endogènes présents en forte concentration in vivo résonne : il s'agit des fonctions guanidines. Parmi les métabolites comportant ces fonctions, on compte l'ATP (≈ 3 mM dans le cerveau), les protéines arginines (ArgCEST), mais surtout la créatine (Cr) (jusqu'à 10 mM) et la phosphocréatine (PCr) (jusqu'à 5,5 mM) (Govindaraju et al., 2000) (figure 22a). Par raccourci, comme il s'agit du métabolite prépondérant, on parlera donc souvent d'imagerie CEST pondérée en créatine, ou imagerie CrCEST. L'imagerie CrCEST a en particulier suscité l'intérêt dans le domaine de l'imagerie musculaire. En effet, lors d'un effort, de la créatine est produite par conversion d'ADP et de PCr en ATP et Cr. La créatine présentant un nombre de protons et un taux d'échange différents de la phosphocréatine, son augmentation de concentration peut être détectée avec l'imagerie CrCEST (voir figure 22c). L'imagerie CrCEST est ainsi une technique de suivi métabolique du muscle offrant une excellente résolution temporelle et spatiale.

Plus récemment, l'application de l'imagerie CrCEST au cerveau a commencé à se développer, notamment dans le cadre de l'étude des syndrômes de déficit en créatine qui peuvent se manifester par des retards de développement, des troubles mentaux ou de l'épilepsie (Schulze, 2003). En particulier, la technique CrCEST a été utilisée chez la souris de manière quantitative à 11,7T (Chen, Barker et al., 2019; Z. Zhang et al., 2023) ou à 3T (K. Wang et al., 2024), ou encore chez l'humain à 7T (A. Singh et al., 2019).

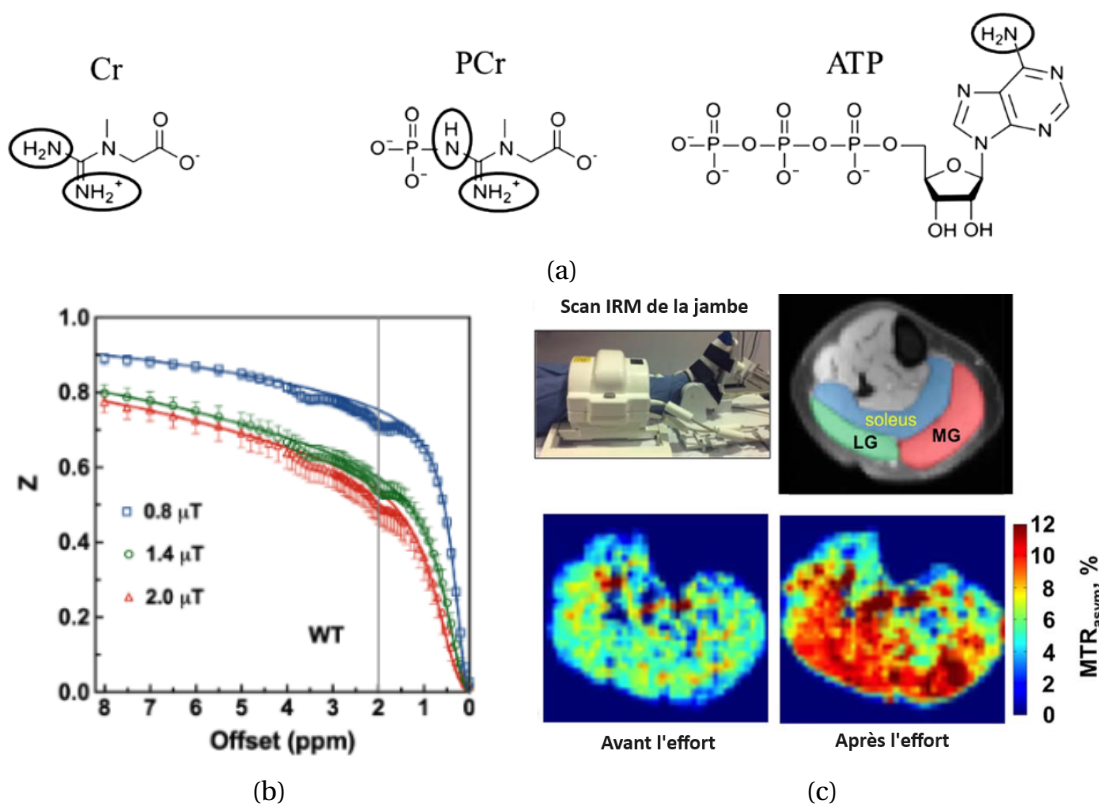


FIGURE 22 – (a) Fonctions guanidines de la créatine, de la phosphocréatine et de l'ATP (emprunté de [Haris, Nanga et al., 2012](#)). (b) Exemple d'effet CrCEST observé sur le Z-spectrum à 2,0ppm dans le cerveau de souris à 11,7T. Tiré de [Z. Zhang et al., 2023](#). (c) Exemple d'application de l'imagerie CrCEST dans le muscle à 3T, avant et après exercice (tiré de [Kogan et al., 2014](#)).

3.4 . L'imagerie NOE

Les effets nucléaires Overhauser, ou NOE, désignent des phénomènes de transferts d'aimantation par relaxation croisée ayant lieu entre plusieurs groupes de protons liés à des macromolécules mobiles (comme des protéines ou des lipides). Ainsi, par NOE direct ou NOE relayé par des échanges chimiques de protons, des transferts de saturation peuvent avoir lieu entre les macromolécules mobiles et l'eau (figure 23a). Bien que le mécanisme derrière les phénomènes NOE soit légèrement différent du mécanisme CEST, nous verrons qu'il peut être modélisé de manière similaire au chapitre IV .

En pratique, un signal NOE peut être observé in vivo sur le Z-spectrum en amont de la saturation de l'eau, entre -1 et -4 ppm. Par coïncidence, la plus forte résonance NOE semble avoir lieu autour de 3,5 ppm, c'est-à-dire pile à l'asymétrie du signal APT. Ainsi, les effets NOE ont initialement plutôt été traités comme un problème pour l'analyse de l'effet APT par MTR_{asym} , contaminant le signal CEST mesuré. Cependant, des études récentes proposent plutôt que, en différenciant les contrastes APT et NOE par des méthodes d'analyse plus complexes que l'approche asymétrique (voir chapitre V), l'imagerie NOE pourrait apporter des informations complémentaires à l'imagerie APT, voire être un meilleur marqueur pour le diagnostic des tumeurs ([Heo, C. K. Jones et al., 2016](#); [Xu et al., 2014](#)).

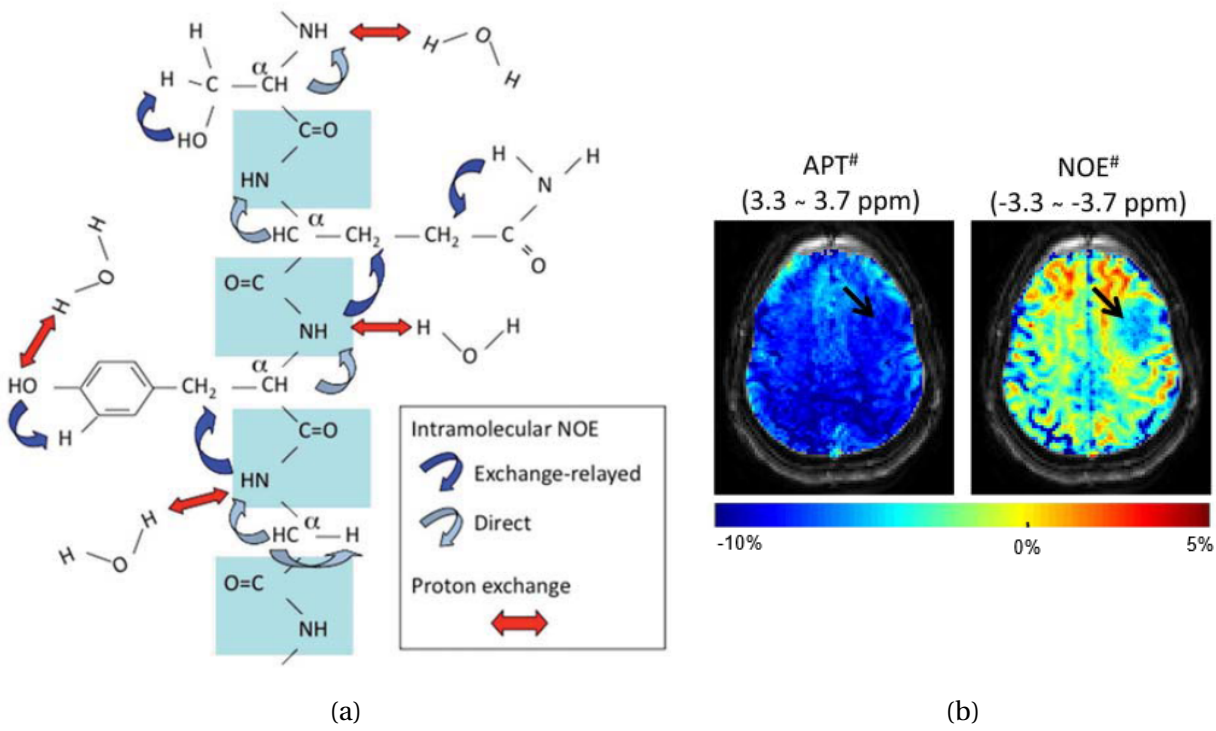


FIGURE 23 – (a) Illustration des mécanismes de transfert d'aimantation par NOE (tiré de P. C. M. Van Zijl et Yadav, 2011). (b) Exemple d'imagerie d'une tumeur de grade II à 7T avec des contrastes APT et NOE différenciés (issu de Heo, C. K. Jones et al., 2016).

3.5 . L'imagerie du glutamate (GluCEST)

Le glutamate, neurotransmetteur naturellement abondant dans le cerveau (jusqu'à 12 mM; Govindaraju et al., 2000), possède une fonction amine comportant 3 protons échangeables, résonnant à 3,0 ppm. L'imagerie CEST pondérée en glutamate, ou gluCEST, fut proposée pour la première fois en 2012 (K. Cai et al., 2012), en particulier pour imager l'ischémie cérébrale chez le rat (figure 24). En effet, tout comme les groupes amides, le taux d'échange des protons du glutamate est très sensible au pH. Ainsi, le signal gluCEST est susceptible de beaucoup varier lors d'un faible changement de pH.

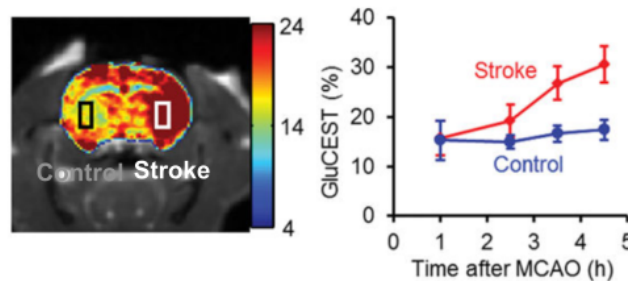


FIGURE 24 – Figure tirée de la première publication d'imagerie gluCEST (K. Cai et al., 2012), étudiant l'ischémie cérébrale induite chez le rat.

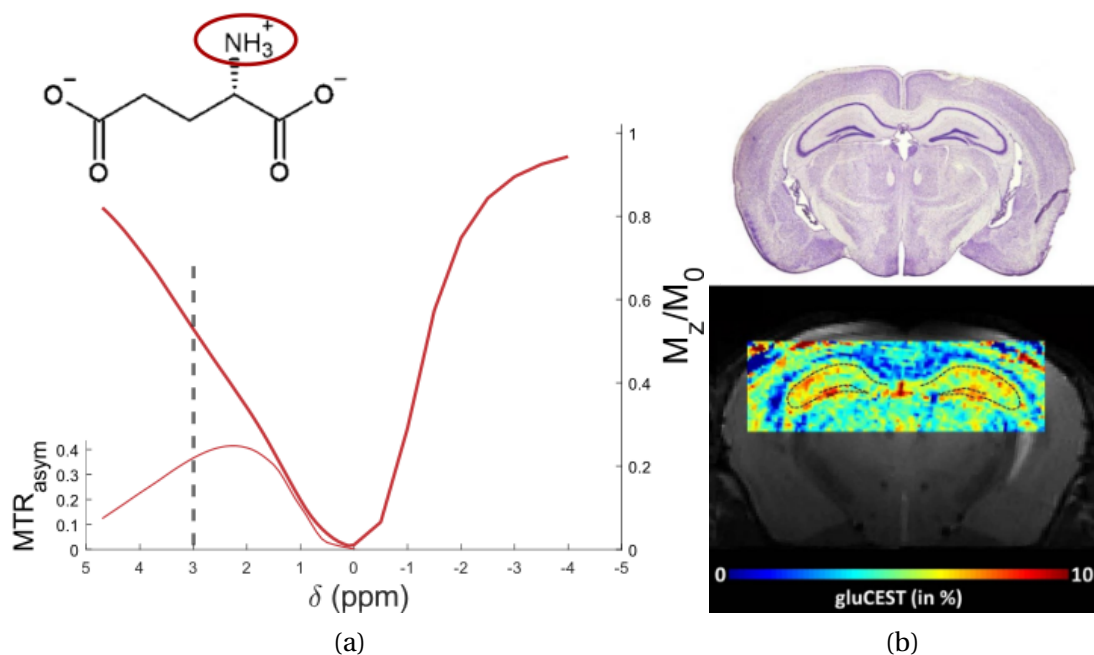


FIGURE 25 – (a) Molécule de glutamate en condition physiologique et Z-spectrum d'une solution de 100 mM de glutamate dans l'eau (pH=7) acquis à 11.7T ($B_1=5 \mu\text{T}$, $t_{\text{sat}}=1 \text{ s}$). (b) Coupe histologique avec marquage de Nissl et imagerie gluCEST de l'hippocampe de la souris à 11,7T : les structures des corps cellulaires neuronaux (en violet foncé sur la coupe histologique) peuvent être observés *in vivo* grâce au contraste CEST pondéré en glutamate. Issu de [Pépin, Jego et al., 2017](#).

L'effet gluCEST se distingue des autres effets CEST classiques par sa dynamique d'échange de protons rapide. En effet, à cause du taux d'échange des protons du glutamate élevé, l'effet gluCEST s'étend typiquement sur une large gamme de fréquence de saturation dans les conditions de saturation classiques utilisées, et ne forme pas un pic bien distinct sur le Z-spectrum (figure 25a). À cause de cet effet et de la proximité de l'effet de saturation directe de l'eau, le maximum de MTR pour l'effet gluCEST n'est pas forcément atteint à la fréquence de résonance de 3,0 ppm. Néanmoins, le contraste gluCEST reste conventionnellement évalué à 3,0 ppm pour des questions de spécificité, et notamment pour ne pas être contaminé par le signal CrCEST ou APT à respectivement 2,0 et 3,5 ppm.

Depuis la première étude en 2012, l'imagerie gluCEST a fait l'objet de beaucoup de publications, tant en préclinique qu'en clinique. Son excellente résolution a pu par exemple être exploitée chez la souris pour observer *in vivo* de fines structures neuronales, comportant une forte concentration de glutamate (figure 25a). Mais surtout, l'application aux neuropathologies a beaucoup suscité d'intérêt.

En préclinique, chez le rongeur, l'imagerie gluCEST a été principalement utilisée pour l'étude de maladies neurodégénératives (figure 26a) : en effet, de nombreux dérèglements du métabolisme cérébral ont lieu pendant la neurodégénération, impliquant potentiellement le glutamate. En particulier, les pertes de neurones et de connexions synaptiques observées pourraient être expliquées par une surstimulation des neurones (et donc une surutilisation de glutamate) et/ou une altération de la recapture de glutamate, menant à de l'excitotoxicité et donc à la mort neuronale ([Andersen et al., 2021](#)). Ainsi, le glutamate serait diminué dans les maladies neurodégénératives, et des baisses de signal gluCEST ont effectivement été rapportées chez des modèles rongeurs d'Alz-

heimer (Crescenzi et al., 2017; Haris, Nath et al., 2013; Igarashi et al., 2020) ou de Huntington (Pépin, Longprez et al., 2020). En revanche, une augmentation du signal gluCEST a été rapportée chez un modèle de Parkinson (Bagga et al., 2018), qui reflèterait une neuroinflammation, comme cela a pu être rapporté dans le cas de lésions traumatiques chez le rongeur (Zhuang et al., 2019). Récemment, l'imagerie gluCEST a également été exploitée chez des modèles rongeurs de maladies dépressives pour en comprendre les mécanismes ou étudier l'effet de médicaments (Lee et al., 2019; H. Li et al., 2024).

Chez l'humain, l'imagerie gluCEST a pu être utilisée pour grader des tumeurs (Neal et al., 2019), détecter des lésions (Mao et al., 2019) ou encore étudier la sclérose en plaques (Dula, Pawate et al., 2016; O'Grady et al., 2019). Des applications plus atypiques ont été proposées, comme par exemple l'épilepsie, où l'imagerie gluCEST a pu détecter avec succès des foyers épileptiques (Davis et al., 2015; Zeng et al., 2023) en vue de potentielles opérations chirurgicales. L'imagerie gluCEST intéresse également beaucoup dans le cadre de l'étude des troubles psychotiques (Roalf et al., 2017; Sydnor et al., 2021) ou dépressifs (Zeng et al., 2023).

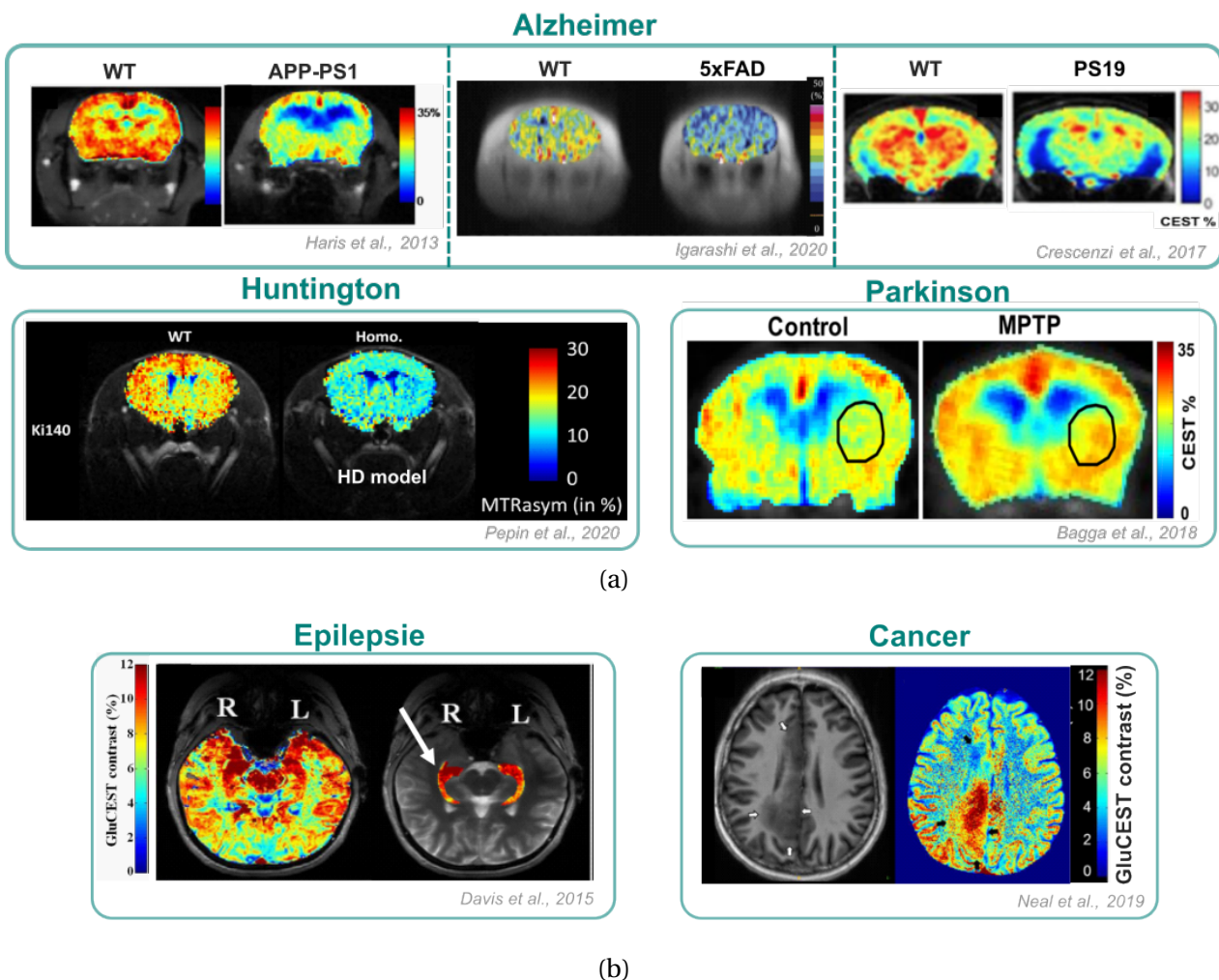


FIGURE 26 – Exemples d'applications (a) précliniques et (b) cliniques de l'imagerie gluCEST. De gauche à droite puis de haut en bas, les figures présentées ici sont tirées de : (Haris, Nath et al., 2013), (Igarashi et al., 2020), (Crescenzi et al., 2017), (Pépin, Longprez et al., 2020), (Bagga et al., 2018), puis (Davis et al., 2015), (Neal et al., 2019).

L'imagerie gluCEST, au coeur de cette thèse, est donc une méthode encore jeune mais riche

en potentielles applications. Cependant, l'origine du signal gluCEST et l'interprétation de ses variations reste controversées, surtout à bas champ (Cember et al., 2023), et sera donc un point sur lequel nous nous attacherons par la suite.

3.6 . L'imagerie du glucose (GlucoCEST)

Un autre métabolite d'intérêt dans le cadre des maladies neurodégénératives est le glucose, source principale d'énergie pour les cellules neuronales. En effet, le métabolisme du glucose est altéré pendant la neurodégénération, en faisant un biomarqueur d'intérêt. En CEST, le glucose possède 5 protons hydroxyles avec des résonances variables entre 0,8 et 2,9 ppm (Khlebnikov et al., 2019) (figure 27a). Cependant, sa concentration dans le cerveau (≈ 1 mM) n'est pas suffisante pour a priori détecter un effet CEST naturellement. En imagerie glucoCEST, on injecte donc du glucose ou un de ses analogues au patient pour obtenir un signal CEST que l'on peut mesurer au cours du temps pour étudier son métabolisme (figure 27b). On parle alors aussi souvent de mesure DGE, pour *Dynamic Glucose Enhancement*. À noter qu'il y a parfois des confusions au niveau de la méthodologie employée dans la communauté scientifique sur ces termes DGE/glucoCEST : à ce titre, le consortium GLINT propose de désigner par glucoCEST les mesures statiques et DGE les mesures dynamiques après une injection de glucose.

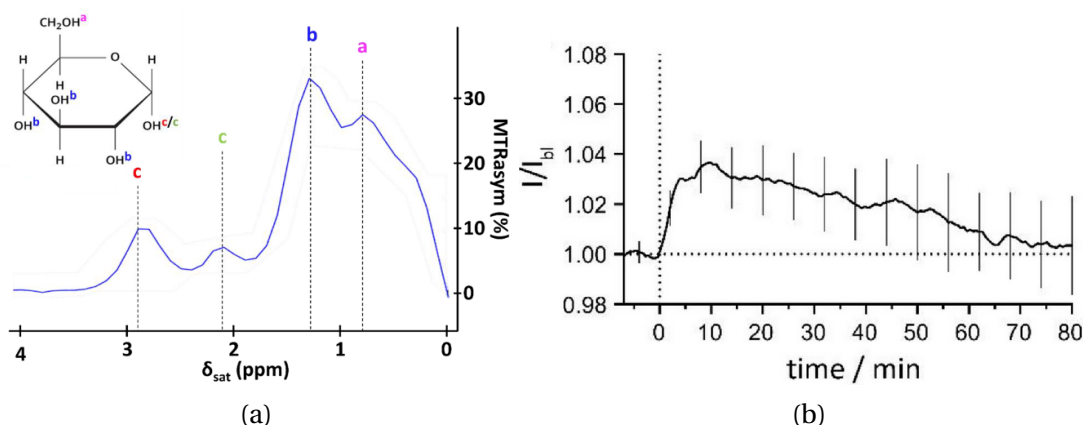


FIGURE 27 – (a) Signal CEST d'un fantôme de D-glucose, tiré de Mathieu-Daudé, 2022. (b) Exemple d'expérience DGE, avec la dynamique d'évolution du signal glucoCEST après une injection de glucose à $t=10$ min. Ici, le MTR mesuré au cours du temps est normalisé par l'évolution du MTR mesuré lors d'une expérience contrôle avec injection de saline. Tirée de Eleftheriou et al., 2023.

Le suivi du métabolisme du glucose est traditionnellement réalisé avec la modalité d'imagerie de tomographie par émission de positrons (TEP), qui utilise un traceur radioactif du glucose, le ^{18}F -FDG pour ses mesures. La TEP est cependant limitée en résolution (quelques mm), ce qui peut se révéler gênant pour l'imagerie du petit animal. La technique glucoCEST s'affranchit de cette limitation, ainsi que de la contrainte d'utiliser un agent de contraste radioactif. Cependant, l'origine cellulaire du signal glucoCEST reste encore incertaine et l'interprétation des variations de signal sujette à controverse (M. Kim, Eleftheriou et al., 2022).

3.7 . Autres potentielles applications endogènes

Il existe également quelques applications de l'imagerie CEST qui peuvent être utiles dans d'autres organes que le cerveau qui ne seront pas détaillées ici, comme par exemple l'imagerie glycosaminoglycane (gagCEST) pour les cartilages du muscle (Ling et al., 2008), ou l'imagerie du glycogène

(glycoCEST) (P. C. M. Van Zijl, C. K. Jones et al., 2007) dans le rein ou le muscle, mais dont la faisabilité n'a pas encore été étudiée chez l'homme.

Pour finir, citons également quelques applications endogènes de l'imagerie CEST du cerveau qui ont pu être proposées, mais qui n'ont pas encore été étudiées en profondeur ou qui restent controversées :

- **L'imagerie du myo-inositol** : Le myo-inositol, naturellement abondant dans le cerveau (3,8-8mM, Govindaraju et al., 2000), possède un groupe de 6 protons hydroxyles résonant autour de 0,6-1,0 ppm (Haris, K. Cai et al., 2011 ; Khlebnikov et al., 2019 ; Yanez Lopez et al., 2019). La proximité avec la résonance de l'eau et d'autres métabolites rend l'imagerie du myo-inositol délicate, posant un problème de spécificité, et pour l'instant son développement semble encore être au stade préliminaire. Par exemple, des variations du signal CEST attribué au myo-inositol ont été observées en cas de neuro-inflammation chez la souris, mais n'ont pas été corroborées par des mesures de spectroscopie (Yanez Lopez et al., 2019).
- **L'imagerie du lactate (LATEST)** : Le lactate est un métabolite d'un grand intérêt pour l'étude du métabolisme du cerveau, et en particulier dans l'imagerie des tumeurs qui produisent, suite à la consommation de glucose, du lactate en quantité anormalement élevée (effet dit de Warburg). Récemment, l'imagerie du lactate avec la méthode CEST a été proposée et étudiée dans le muscle (DeBrosse et al., 2016), mettant en évidence une résonance autour de 0,4 ppm. Mais la proximité de cette résonance avec le pic de l'eau, et les pics d'autres métabolites de résonances adjacentes, rend cette méthode d'imagerie controversée. De plus, la très faible concentration naturelle du lactate dans le cerveau (<1mM) semble rendre ardue l'imagerie endogène du lactate dans le cerveau avec le CEST.
- **L'imagerie du GABA** : L'acide γ -aminobutyrique (GABA) est un neurotransmetteur du cerveau impliqué dans différents mécanismes métaboliques, à l'instar du glutamate. Avec 3 protons échangeables résonant vers 2,75-2,9ppm (Khlebnikov et al., 2019 ; Yan et al., 2016), le GABA devrait théoriquement donner un signal CEST in vivo. Cependant, sa faible concentration (<2mM) et sa proximité confondante avec la résonance du glutamate rendent sa détection spécifique complexe. Un effet CEST du GABA a néanmoins été rapporté dans le cerveau de rat après une injection de GABA (Yan et al., 2016).

La liste fournie ici n'est pas exhaustive, mais permet de rendre compte du potentiel parfois encore inexploré de l'imagerie CEST, en faisant un domaine encore en pleine croissance aujourd'hui.

4 . POINTS CLÉS DE CE CHAPITRE

- ➔ L'imagerie CEST permet d'obtenir avec une excellente résolution un contraste pondéré en concentration ou en taux d'échange d'un métabolite.
- ➔ On utilise en pratique un module de saturation dont on peut changer la fréquence ω , la puissance B_1 ou la durée t_{sat} pour moduler l'effet CEST observé.
- ➔ De nombreuses applications de l'imagerie CEST existent, et notamment avec des agents de contrastes endogènes qui ne nécessitent pas d'injections au patient ou à l'animal.

On aura pu noter en particulier que les agents CEST endogènes ont des fréquences de résonance proches de celle de l'eau libre. Pour les imager correctement, cela demande de réfléchir précisément au schéma de saturation à mettre en place et dans quelles conditions expérimentales. Dans le prochain chapitre, nous verrons plus en détail comment concevoir une expérience CEST et quels sont les effets à prendre en compte dans l'analyse des mesures réalisées.

III - Design d'une expérience CEST

Dans ce chapitre, nous aborderons quelques notions essentielles pour comprendre quels paramètres expérimentaux ont une influence sur le signal CEST, et les différentes problématiques qui se confrontent lors du design d'une expérience CEST.

À titre illustratif, nous présenterons dans ce chapitre quelques simulations numériques de l'effet CEST (la méthode de simulation sera présentée au chapitre IV). Sauf si indiqué autrement, les simulations seront réalisées en considérant un champ B_0 de 11,7T, un T_1^w de l'eau de 2 s, un T_2^w de l'eau de 30 ms, un module de saturation CEST continu, par défaut de durée $t_{\text{sat}} = 1$ s et de puissance $B_1 = 5 \mu\text{T}$, ainsi qu'un temps de récupération T_{rec} infini (i.e. on suppose une récupération totale de l'aimantation entre chaque point de mesure CEST). On considèrera par défaut un agent CEST, concentré à 15 mM dans une solution aqueuse, de type glutamate, c'est-à-dire avec un groupe de 3 protons résonant à 3,0 ppm, un taux d'échange de 2000 Hz, un T_2^{Glu} de 10 ms et un T_1^{Glu} de 1 s.

1 . HARDWARE ET CALIBRATIONS

1.1 . Influence du champ B_0

Les scanners IRM ont, par construction, un champ B_0 qui leur est propre, correspondant à la puissance de leur aimant. En ce qui concerne les expériences CEST, le champ B_0 peut être très important, en particulier lorsqu'on cible des agents CEST endogènes. En effet, les variations de champ B_0 conditionnent plusieurs effets concomitants :

- **Le temps relaxation longitudinal T_1** : les temps de relaxation longitudinaux T_1 augmentent lorsqu'on augmente le champ B_0 . Pour les expériences CEST, les temps de relaxation des métabolites ont en fait assez peu d'influence sur le signal CEST (voir figure annexe 129). En revanche, le T_1^w de l'eau joue un rôle primordial. En effet, pendant l'application du module de saturation, l'aimantation de l'eau n'est pas figée, et, pendant qu'elle continue d'être réduite par les phénomènes de transferts de saturation, elle récupère partiellement en même temps avec le temps caractéristique T_1^w . Plus le temps T_1^w est court, plus l'aimantation de l'eau récupèrera vite, et donc moins le contraste CEST résultant au bout du temps t_{sat} sera intense. Par conséquent, **l'effet CEST augmente lorsque le T_1^w augmente**, i.e. quand le champ B_0 augmente (voir figure 28).
- **Le temps relaxation transverse T_2** : lorsque le champ B_0 augmente, les temps de relaxation transverse T_2 diminuent. Cela n'affecte pas vraiment en tant que tel l'effet CEST, et en particulier, contrairement à ce qu'on pourrait imaginer, les valeurs de T_2^s des métabolites ont très peu d'influence sur le signal CEST (voir figure annexe 129). En revanche, le T_2^w de l'eau peut avoir une influence considérable sur les expériences CEST endogènes, car il contrôle en partie l'effet de *spillover*. Le terme *spillover* désigne le phénomène de saturation directe de l'eau, ou plutôt le fait que cette saturation directe déborde sur l'effet CEST d'intérêt sur le Z-spectrum. Ainsi, si l'effet CEST est concurrencé par une saturation directe du compartiment de l'eau, la quantité de protons d'eau non saturés disponibles pour être échangés avec les protons CEST saturés est diminuée, et par conséquent l'intensité de l'effet CEST est réduite. Alors, en considérant le fait que la saturation directe de l'eau s'élargit lorsque le T_2^w diminue,

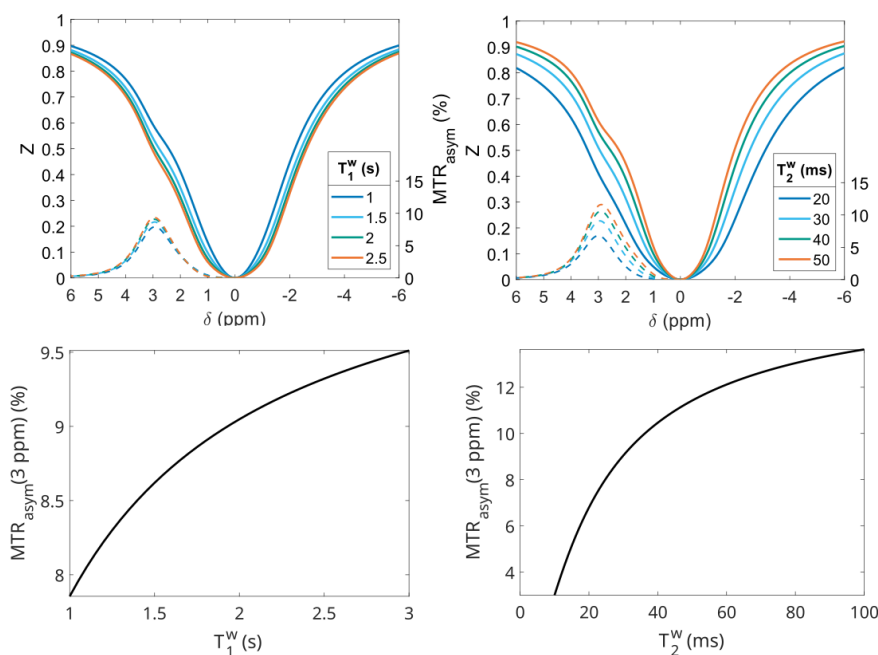


FIGURE 28 – Simulation de l'influence du T_1^w et du T_2^w de l'eau sur l'intensité de l'effet CEST du glutamate à 11,7T. En haut, les Z-spectra simulés, et en bas, le MTR_{asym} évalué à 3 ppm.

donc que le spillover augmente, on en déduit que **l'effet CEST diminue lorsque le T_2^w diminue** (figure 28). À noter que cela ne vaut que pour les métabolites possédant une fréquence de résonance proche de celle de l'eau (par exemple endogènes) : en effet, si la résonance de l'agent CEST est assez éloignée de celle de l'eau, alors il est insensible au spillover et par conséquent au T_2^w de l'eau (voir figure annexe 130).

- **Les séparations entre fréquences de résonance des protons** : en effet, plus le champ est élevé, plus les fréquences de Larmor des différentes espèces chimiques sont séparées par des plages de fréquence $\Delta\omega \propto B_0$ importantes. Pour les expériences CEST, cela présente deux intérêts : (1) les résonances des potentiels différents métabolites d'intérêt sont mieux séparées ; et (2) les métabolites qui résonent proches de 0 ppm sont mieux séparés de la résonance de l'eau, et par conséquent, moins sensibles à la saturation directe de l'eau. Cet 2^{ème} point est particulièrement capital pour l'imagerie de métabolites endogènes : à bas champ B_0 , leur signal peut être très faible, et leur détection rendue impossible par le spillover. Cela est particulièrement vrai pour les métabolites à taux d'échange rapides : en effet, le signal CEST de protons s'échangeant rapidement avec l'eau a une forme étalée sur le Z-spectrum, et va coalescer avec la saturation directe de l'eau à trop bas champ B_0 . Souvent, pour évaluer approximativement la faisabilité d'une mesure CEST, on vérifie si la condition suivante est remplie :

$$\Delta\omega = |\omega_s - \omega_w| > k_{\text{ex}} \quad (\text{III .1})$$

À titre d'exemple, en utilisant cette règle, on obtient pour le glutamate à 7T :

$$\Delta\omega_{7\text{T}} = 3\text{ppm} \times 300\text{MHz} \times 2\pi = 5655\text{Hz} \quad (\text{III .2})$$

Si l'on considère que le glutamate a un taux d'échange de 5500 Hz (estimation rapportée dans le premier article de gluCEST de K. Cai et al., 2012), alors l'imagerie gluCEST est tout juste possible à 7T, et impossible à des champs B_0 inférieurs (Cember et al., 2023) ; ce qui rend les résultats gluCEST obtenus par exemple à 3T très controversés.

B_0	1,5T	3,0T	4,0T	7,0T	9,4T	11,7T	17,2T
Fréquence du scanner (MHz) (équivalent à 1 ppm en Hz)	64	128	170	300	400	500	750
T_1^w approximatif (ms)	900	1200	1300	1700	1950	2000	2030
T_2^w approximatif (ms)	90	80	65	50	40	30	25

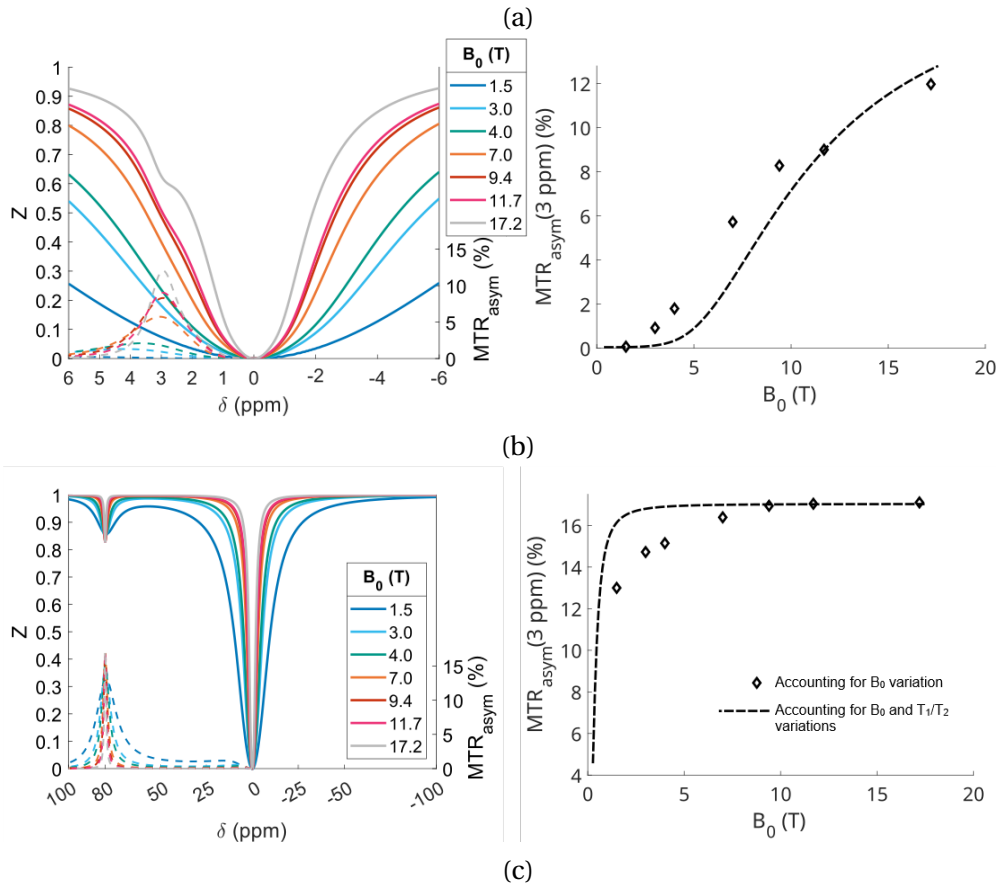


FIGURE 29 – (a) Quelques valeurs typiques de champs B_0 et de constantes de relaxation approximatives de l'eau dans la matière grise du cerveau. (b) Simulation de l'influence du champ B_0 conjointe à la variation attendue de T_1^w et T_2^w dans le cerveau sur l'effet CEST du glutamate. En pointillé, l'évolution attendue du signal MTR_{asym} à 3 ppm si le T_1^w et le T_2^w restaient respectivement à valeurs constantes de 2 s et 30 ms. (c) Simulation similaire à (b), mais en imaginant une molécule imaginaire de glutamate avec une fréquence de résonance à 80 ppm, loin de la résonance de l'eau. Dans ce cas là, l'effet de *spillover* est quasiment négligeable, et on atteint assez vite un plateau sur lequel la force du champ B_0 n'a plus beaucoup d'influence sur le signal CEST. Les effets des variations de T_1^w et T_2^w deviennent alors plus visibles.

En prenant en compte ces trois effets concomitants, on peut alors dans une certaine mesure prédire l'évolution du signal CEST en fonction du champ B_0 (voir figure 29). Globalement, **l'effet CEST augmente lorsque le champ B_0 augmente**, car la diminution du T_2^w de l'eau reste un phénomène très minoritaire comparé aux deux autres. L'imagerie à ultra-haut champ est donc d'un intérêt particulier pour l'imagerie CEST, et surtout pour l'imagerie d'agents CEST endogènes (figure 29b). En revanche, pour les agents CEST exogènes, qui peuvent avoir une résonance éloignée de celle de l'eau, l'augmentation en champ B_0 n'est pas forcément pertinente, car le gain de signal n'est pas forcément aussi intéressant (figure 29c). En outre, il faut garder à l'esprit que l'augmentation du champ B_0 apporte plusieurs désavantages :

- Des problématiques de SAR : en effet, le SAR, proportionnel au carré du champ B_0 (voir

équation II .2), est plus important quand le champ B_0 augmente; ce qui pose problème notamment en clinique.

- Le temps de récupération T_{rec} nécessaire entre deux points est plus long à haut champ (forcément, car le T_1^w augmente avec le champ B_0), ce qui peut rallonger les acquisitions.
- Les inhomogénéités de champ B_1 sont souvent plus importantes à haut champ B_0 , ce qui est défavorable pour l'imagerie CEST, comme nous le verrons dans la prochaine section.

1.2 . Choix d'antennes

En IRM, on utilise classiquement une antenne de transmission (TX) qui contrôlera le champ RF envoyé, et une sonde de réception (RX), qui mesurera l'aimantation lors de l'acquisition. On distingue notamment les antennes volumiques, comme par exemple les *bird cage*, des antennes surfaciques, qui sont plutôt utilisées en mode réception.

Lors d'une expérience d'imagerie CEST, un paramètre d'importance capitale est l'homogénéité du champ B_1 . En effet, la puissance B_1 va moduler la force de saturation appliquée au compartiment de l'agent d'intérêt, et donc forcément avoir un grand impact sur le signal CEST mesuré (voir figure 30) : dans l'exemple donné ici, une variation de +15% dans le signal CEST peut résulter en une variation de quelques dixièmes de % du MTR, ce qui représente tout de même plus de 10% de variation du signal CEST initial.

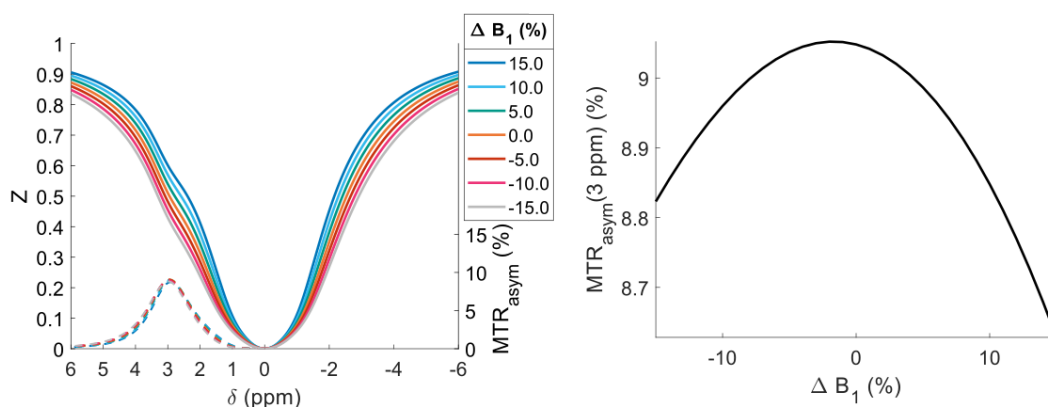


FIGURE 30 – Simulation de l'influence des inhomogénéités de champ B_1 (variant entre -15 à +15% de la valeur initiale de 5 μT) sur le signal CEST du glutamate. À noter qu'ici le signal CEST diminue avec l'augmentation du $|\Delta B_1|$, mais ce n'est pas un effet systématique. En effet, comme nous le verrons dans la section 2, l'impact du champ B_1 sur le signal CEST dépend de la dynamique d'échange de protons considérée.

Ainsi, l'homogénéité du champ B_1 sur tout le volume imagé représente un enjeu considérable de l'imagerie CEST, notamment à haut champ. Par conséquent, les antennes surfaciques ne sont pas adéquates pour être utilisées en TX pour l'imagerie CEST : le champ B_1 local envoyé dépendra de la distance à l'antenne, donc de la profondeur d'imagerie. On pourra éventuellement effectuer des mesures CEST dans une coupe pas trop épaisse parallèle à la surface de l'antenne : dans ce cas-là, il faut prendre soin de calibrer la puissance de référence pour envoyer la bonne puissance B_1 dans la zone d'intérêt.

Pour les expériences d'imagerie sur cerveau entier, l'antenne volumique devient essentielle pour espérer obtenir un champ B_1 homogène. En clinique, des techniques plus avancées de calibration B_1 , par exemple avec des antennes de transmission parallèle et des méthodes d'optimisation (Delebarre et al., 2023), peuvent aussi être utiles à haut champ pour mieux homogénéiser le champ B_1 .

Pour la réception RX, n'importe quel type d'antenne peut être utilisé, mais les antennes surfaciques offrent souvent un meilleur SNR.

1.3 . La problématique des inhomogénéités de champ B_0

Bien que les scanners IRM soient conçus pour avoir initialement un champ B_0 le plus homogène possible, il existe en pratique dans les volumes imagés des inhomogénéités ΔB_0 . Une conséquence est que toutes les fréquences de Larmor effectives des protons dans un voxel sont décalées de ΔB_0 par rapport à la fréquence de référence de l'eau qu'on a utilisée pour calibrer les impulsions de saturation CEST. Lorsqu'on fait l'acquisition de Z-spectra entiers, cet effet est bien visible, puisqu'on voit le maximum d'absorption de l'eau tomber, non pas à 0 ppm, mais à ΔB_0 (ppm). Cela n'est alors pas forcément gênant en tant que tel; l'effet d'une inhomogénéité B_0 n'étant par ailleurs généralement pas assez fort pour avoir un impact sur le signal CEST intrinsèque, et cela peut d'ailleurs éventuellement être corrigé par des algorithmes d'ajustement des données. En revanche, si l'on cherche à calculer un MTR_{asym} , en ayant typiquement fait des acquisitions à seulement quelques offsets δ dont $\pm\delta_s$, les inhomogénéités B_0 peuvent être compliquées à détecter. Une faible inhomogénéité ΔB_0 peut alors complètement biaiser la mesure MTR_{asym} , faussant tout le principe de l'analyse par asymétrie par rapport à la résonance de l'eau (voir figure 31).

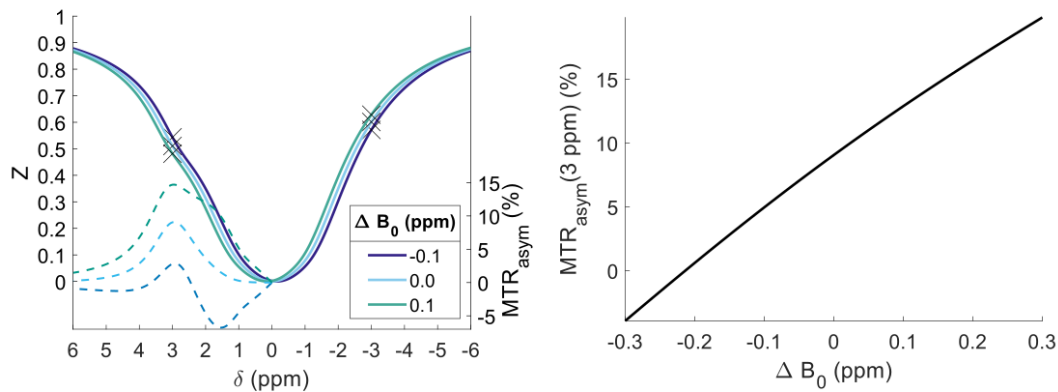


FIGURE 31 – Simulation de l'effet des inhomogénéités ΔB_0 sur l'effet CEST estimé par la méthode MTR_{asym} .

Une première manière de limiter ce problème est de faire une cartographie B_0 en amont de l'expérience CEST, afin de calibrer au mieux les shims de B_0 pour la cartographie CEST, mais cela n'est pas toujours suffisant. En particulier, un problème pratique est qu'il n'existe aucun voxel de référence où la valeur de ΔB_0 est assurément 0 ppm : par conséquent, toutes les calibrations de ΔB_0 pourraient être similairement biaisées.

Pour mieux palier à ce problème, [M. Kim, Gillen et al., 2009](#) ont proposé une méthode appelée WASSR, pour *Water saturation shift referencing*. L'idée est d'acquérir, en plus des mesures CEST classiques, des mesures fines autour de la résonance escomptée de l'eau, à basse puissance B_1 , là où la saturation directe de l'eau est bien piquée et non contaminée par d'autres effets de saturation. Il devient alors aisé de trouver le minimum d'absorption de l'eau dans chaque voxel, donnant une carte de ΔB_0 . Cette carte peut alors être utilisée pour corriger les données CEST acquises par interpolation. L'interpolation par WASSR reste néanmoins limitée lorsqu'on ne dispose initialement que de très peu de points d'acquisition (typiquement que deux à $\pm\delta_s$).

Un résumé du déroulement typique d'une expérience CEST est présenté figure 32.

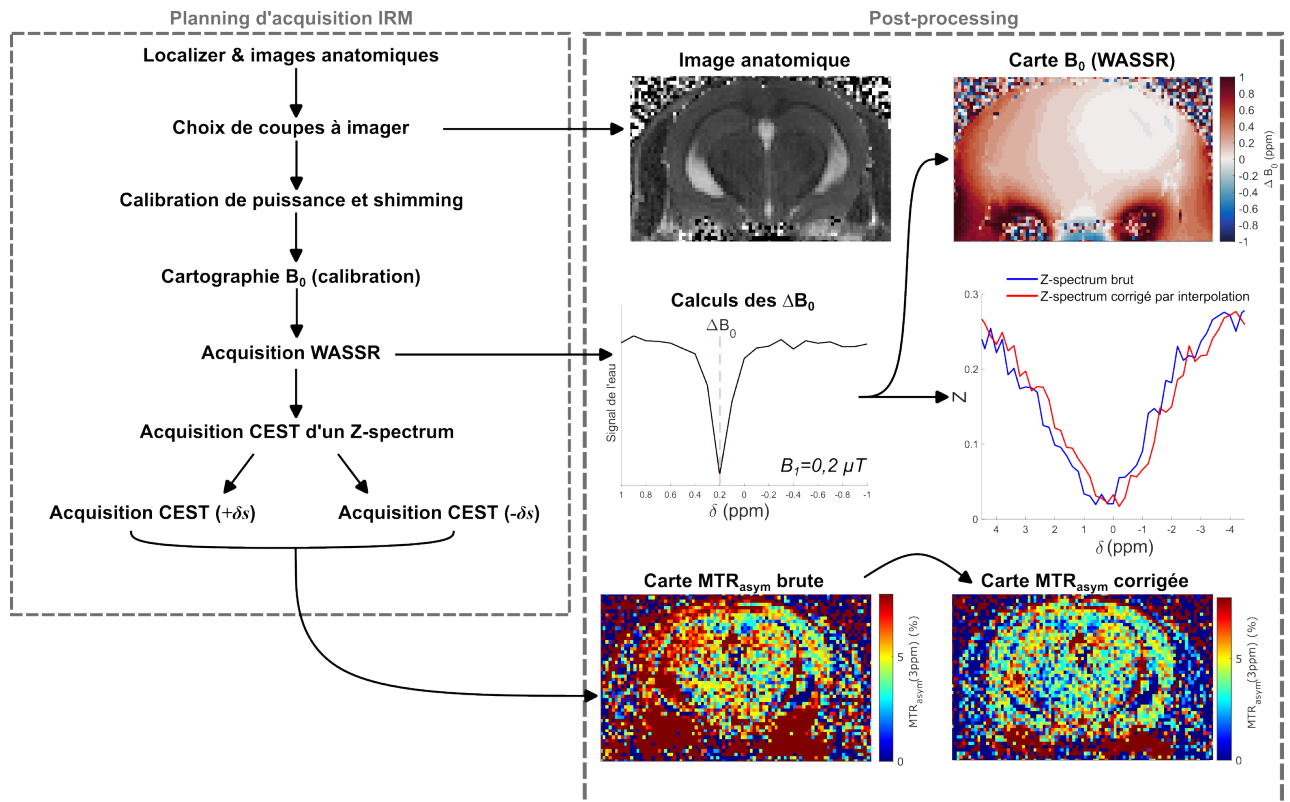


FIGURE 32 – Schématisation des différentes étapes de l'acquisition IRM d'une expérience et de son post-processing. Après les différents réglages du scanner, l'acquisition WASSR est réalisée à bas B_1 pour avoir un signal de l'eau piqué et non contaminé (en l'occurrence ici, $B_1 = 0,2 \mu\text{T}$, $t_{\text{sat}} = 1 \text{ s}$, $\delta = [-1 : 0, 1 : 1] \text{ ppm}$). En post-processing, on l'utilise pour réaliser une carte de ΔB_0 , utilisée pour corriger les Z-spectra et in fine pour corriger la carte de MTR_{asym} . Les données CEST présentées ici proviennent d'acquisitions gluCEST chez la souris à 11,7T ($B_1 = 5 \mu\text{T}$, $t_{\text{sat}} = 1 \text{ s}$, $\delta = [-5 : 0, 2 : 5] \text{ ppm}$, normalisé par un M_0 mesuré à -100 ppm). Plus de détails sur les conditions expérimentales sont disponibles au chapitre VI.

2 . CONCERNANT LE PARADIGME DE SATURATION

Un point très important dans la conception d'une expérience CEST est le choix du paradigme de saturation : en jouant sur la puissance B_1 , le temps de saturation t_{sat} ou les offsets δ acquis, on peut cibler l'effet CEST de différentes molécules, notamment en fonction de leurs dynamiques d'échange de protons. Nous verrons dans cette section quelques réflexions à avoir lors de la conception du schéma de saturation d'une expérience CEST.

2.1 . Maximiser le signal CEST par optimisation de la puissance B_1

2.1.1 . Efficacité de marquage α

Comme évoqué au chapitre II, la puissance B_1 est directement liée à la dynamique de saturation des protons ciblés (ω_1 est assimilable à une "force de saturation par seconde"), et va donc influencer le signal CEST obtenu en relation au taux d'échange des protons avec l'eau. En effet, si la saturation est plus lente que les échanges chimiques entre agent CEST et eau, alors les protons n'ont pas le temps d'être marqués par la saturation avant d'être transférés au compartiment de l'eau : le transfert de saturation est inefficace.

On peut définir un paramètre α qui rend compte l'efficacité de marquage des protons ciblés (*labeling efficiency* en anglais) en considérant un effet CEST idéal. α est compris entre 0 (cas de saturation nulle) et 1 (cas limite de saturation complète).

Introduit pour la première fois par [P. Z. Sun et al., 2005](#), le paramètre α est théoriquement défini en considérant un taux de relaxation effectif échange-dépendant de l'agent CEST ($\alpha = R_{ex}/(f_s k_{ex})$, voir chapitre de théorie IV), et son calcul n'est pas trivial. Afin d'alléger la lecture, nous n'aborderons pas ici tous les détails calculs, mais le lecteur peut se référer à l'excellente revue de [Zaiss et Bachert, 2013b](#) et à l'annexe 131.

Ceci étant dit, en considérant un module de saturation continu accordé à la fréquence de résonance $\delta\omega_s = \omega_s - \omega_w$ de l'agent d'intérêt, l'expression que l'on retrouve souvent pour α est :

$$\alpha(\omega_1) = \frac{\omega_1^2}{\omega_1^2 + k_{ex}(k_{ex} + 1/T_2^s)} \approx \frac{\omega_1^2}{\omega_1^2 + k_{ex}^2} \quad (\text{III .3})$$

et le MTR mesuré en régime stationnaire (en supposant un t_{sat} assez long, voir chapitre IV) vaut

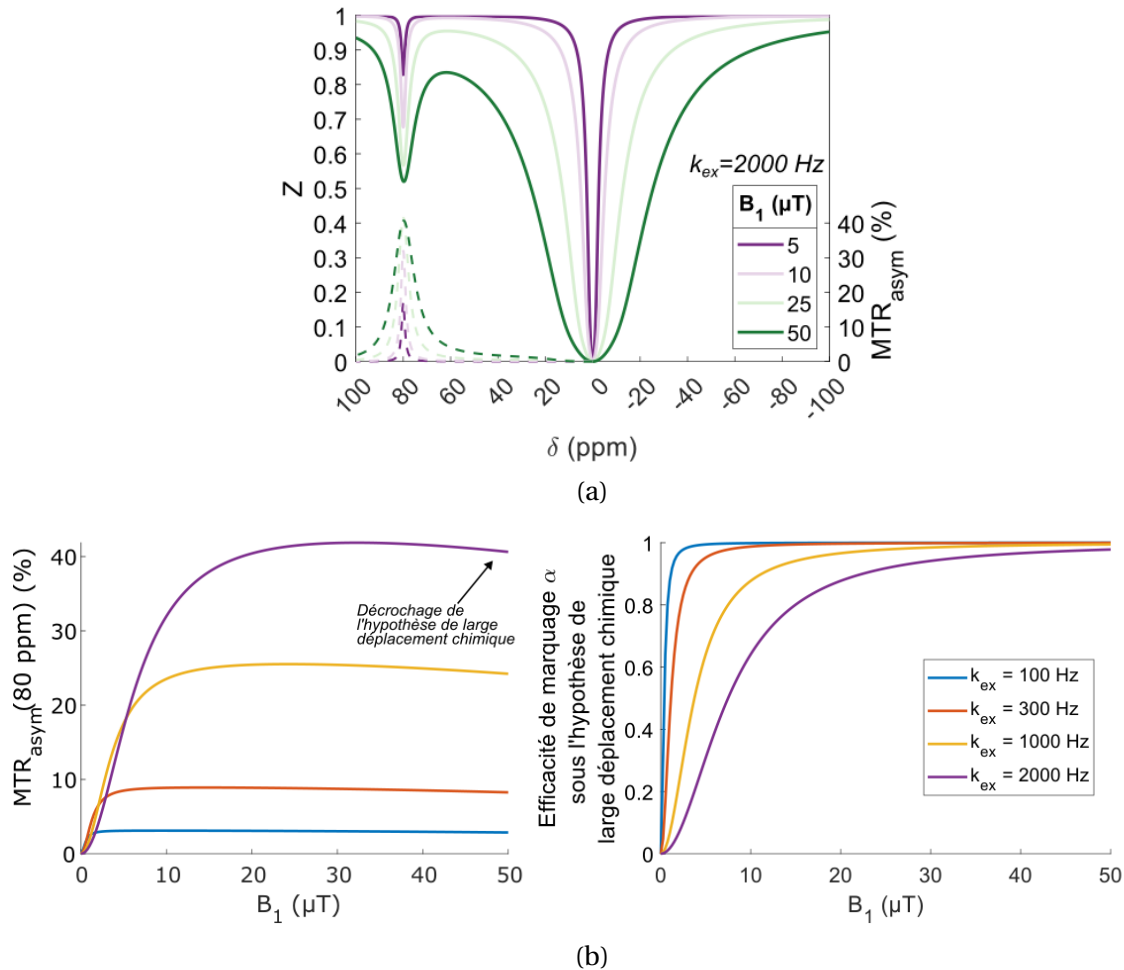


FIGURE 33 – Simulation de l'influence de la puissance B_1 sur l'intensité de l'effet CEST d'une molécule de glutamate imaginaire résonnant à -80 ppm, et satisfaisant donc la condition de large déplacement chimique. (a) Z-spectra simulés à différentes puissance B_1 en gardant un taux d'échange de 2000 Hz. (b) MTR simulé et efficacité de marquage α calculée avec l'équation (III.3) pour différents B_1 et taux d'échange k_{ex} .

alors :

$$\text{MTR}_{\max} = \frac{\alpha f_s k_{\text{ex}}}{R_1^w + \alpha f_s k_{\text{ex}}} \quad (\text{III .4})$$

où f_s est la fraction de protons labiles de l'agent CEST considéré relativement à ceux de l'eau, et $R_1^w = 1/T_1^w$ est le taux de relaxation longitudinal de l'eau.

Cette expression n'est valable que sous différentes hypothèses, à savoir :

- **L'hypothèse de large déplacement chimique** (ou *Large Shift limit* en anglais) doit être satisfaite, à savoir $\delta\omega_s \gg \omega_1$: l'effet CEST n'est pas contaminé par l'effet de *spillover*. Notons que cette condition est en fait assez peu souvent remplie pour les agents CEST endogènes.
- La relaxation transverse de l'agent CEST est négligeable : $1/T_2^s \ll k_{\text{ex}}$, ce qui est assez souvent rempli, sauf pour les protons à échanges très lents.
- Le "terme croisé" est négligeable (voir chapitre IV et équation IV .19), c'est-à-dire explicitement $(1/T_2^s + k_{\text{ex}})/T_2^s \ll \delta\omega_s^2$.

Dans ces conditions, on peut constater que l'effet CEST augmente toujours avec la puissance B_1 (figure 33), et ceci en fonction du taux d'échange k_{ex} des protons entre l'agent d'intérêt et l'eau. En particulier, on note qu'en théorie, les protons avec un fort taux d'échange peuvent donner un MTR maximum plus élevé; constat logique en considérant que le nombre de transferts de saturation est augmenté en régime stationnaire quand les échanges sont plus rapides.

2.1.2 . Compromis entre efficacité de marquage et interférence avec l'eau : notion de champ B_1 optimal

On pourrait être amené à penser avec ce qui précède que l'augmentation de puissance B_1 soit toujours favorable aux expériences CEST. En réalité, des problématiques supplémentaires entrent en jeu.

Tout d'abord, on ne peut pas infiniment augmenter le B_1 , pour des raisons techniques, mais aussi car le SAR, augmentant proportionnellement au carré de B_1 (voir équation II .2), pourrait dépasser les limites de sécurité, surtout en clinique.

Par ailleurs, pour les expériences CEST endogènes, l'hypothèse de large déplacement chimique n'est généralement plus valide : le signal CEST devient également dépendant de l'effet de saturation directe de l'eau, qui augmente avec la puissance B_1 . Ici, on ne parle pas d'un phénomène de *spillover*, mais plutôt d'un phénomène « d'interférence » entre les effets de saturation des protons CEST et des transferts vers le compartiment CEST de protons d'eau déjà marqués par saturation directe.

Une manière d'aborder cet effet d'interférence de saturation directe est de raisonner en terme de probabilités : lors d'une expérience CEST, les protons qui sont transférés vers le compartiment CEST peuvent être soit déjà saturés, avec une probabilité $P(H_{\text{sat}} \rightarrow \text{CEST})$, soit non saturés, avec une probabilité $1 - P(H_{\text{sat}} \rightarrow \text{CEST})$. Pour avoir un effet CEST efficace, on comprend bien qu'il est préférable d'avoir des transferts de protons non saturés vers le compartiment CEST, c'est-à-dire une probabilité $P(H_{\text{sat}} \rightarrow \text{CEST})$ faible, afin d'accumuler plus possible de saturation vers le compartiment de l'eau. Cette probabilité est proportionnelle à la fraction de protons déjà saturés dans le compartiment de l'eau, c'est-à-dire :

$$P(H_{\text{sat}} \rightarrow \text{CEST}) = 1 - \frac{M_z(t)}{M_0} \quad (\text{III .5})$$

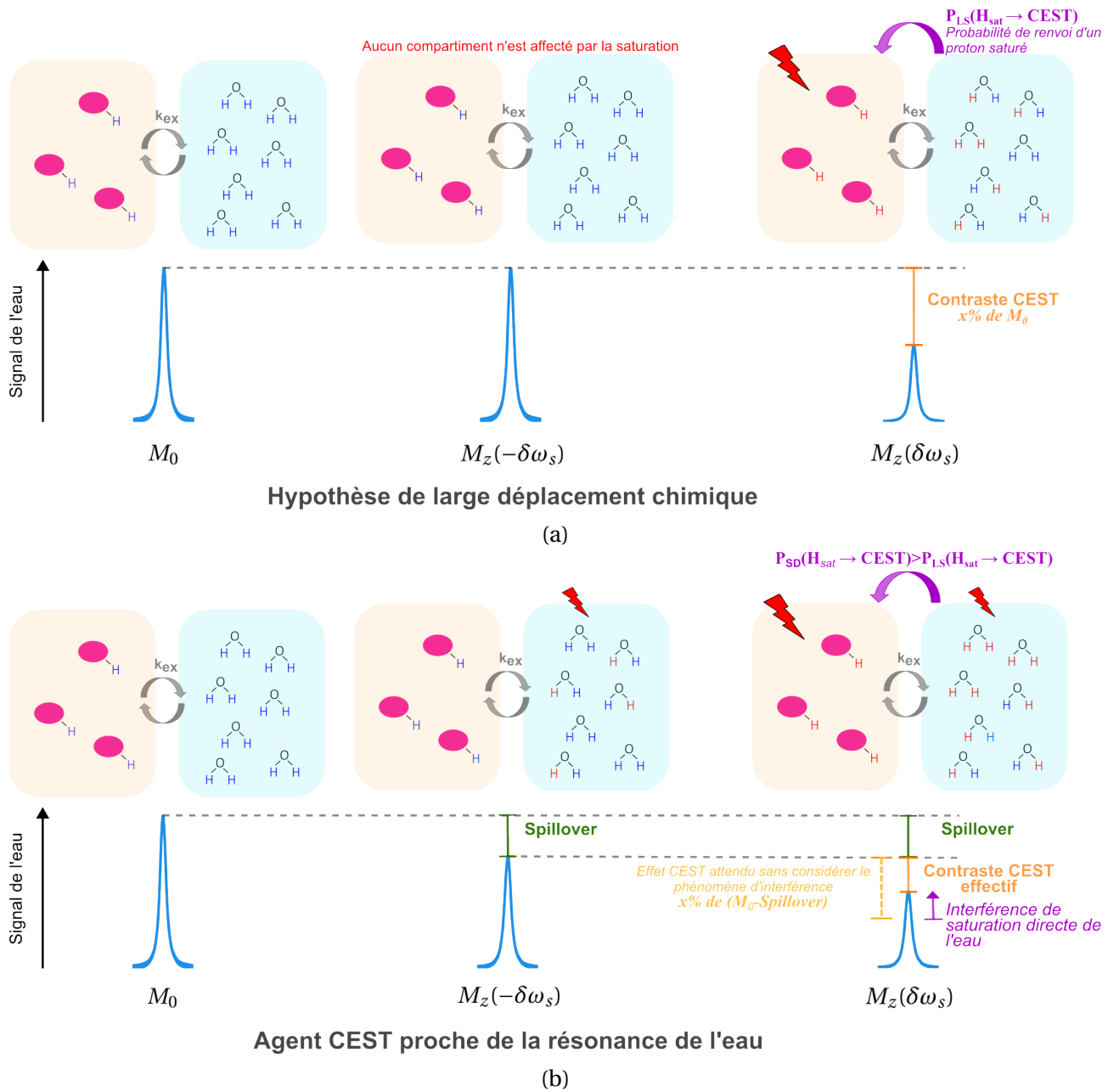


FIGURE 34 – (a) Illustration du contraste CEST que l'on obtient pour agent respectant la condition de large déplacement chimique. (b) Illustration de l'effet de saturation directe sur le signal CEST pour un agent ne respectant pas la condition de large déplacement chimique. Deux phénomènes distincts entrent en jeu : le *spillover* et l'interférence de saturation directe. À noter que ce schéma est simplifié : en effet, en réalité les différents phénomènes ne peuvent pas vraiment se décomposer de manière additive, car l'effet CEST n'est pas une fonction linéaire.

Dans l'hypothèse de large déplacement chimique, la probabilité $P_{LS}(H_{sat} \rightarrow \text{CEST})$ est uniquement dépendante des transferts de saturation qui ont déjà eu lieu du compartiment CEST vers l'eau, puisque c'est la seule source de saturation des protons de l'eau.

En revanche, si la fréquence d'excitation CEST $\delta\omega_s$ est trop proche de la résonance de l'eau, on a un effet de saturation directe (SD) de l'eau, et alors la probabilité $P_{SD}(H_{sat} \rightarrow \text{CEST})$ est plus élevée car une partie plus importante des protons de l'eau est déjà saturée (voir figure 34). On peut aussi

le voir ainsi : les protons de l'eau saturés par saturation directe interfèrent négativement avec l'effet CEST en rendant les transferts $H \rightarrow$ CEST moins intéressants.

À cause de cet effet d'interférence de saturation directe, le signal CEST aura en fait tendance à diminuer à trop haut B_1 . On a donc deux effets concurrentiels qui entrent en jeu dans le choix du B_1 : il faut alors choisir un B_1 optimal qui permette de maximiser l'effet CEST intrinsèque tout en limitant ce qu'on pourrait appeler l'interférence de saturation directe.

En terme d'équations, si on conserve toutes les hypothèses de la section précédente sauf celle de large déplacement chimique, alors l'expression de l'efficacité de marquage donne de manière plus générale :

$$\alpha(\omega_1) = \frac{\delta\omega_s}{\delta\omega_s^2 + \omega_1^2} \frac{\omega_1^2}{\omega_1^2 + k_{ex}^2} \quad (\text{III .6})$$

On note alors qu'entre en jeu l'écart de fréquence de résonance $\delta\omega_s$ entre l'agent CEST et l'eau. Cette efficacité de marquage possède un maximum pour :

$$(\omega_1^{\text{optimal}})^2 = (\gamma B_1^{\text{optimal}})^2 = \delta\omega_s k_{ex} \quad (\text{III .7})$$

pour une efficacité maximum de :

$$\alpha(B_1^{\text{optimal}}) = \left(\frac{\delta\omega_s}{\delta\omega_s + k_{ex}} \right)^2 \quad (\text{III .8})$$

On constate donc que la puissance B_1^{optimal} est dépendante de la fréquence de résonance CEST $\delta\omega_s$ (et donc du champ B_0), mais surtout du taux d'échange k_{ex} de l'agent d'intérêt. Pour des protons CEST s'échangeant lentement, la puissance B_1^{optimal} nécessaire sera faible, tandis que pour les protons à échange rapide, il faudra augmenter le B_1 pour s'approcher de l'optimum. **Ainsi, on comprend que la puissance B_1 choisie doit être adaptée à l'agent CEST ciblé au champ B_0 utilisé** (voir figure 35).

On remarque également que pour les agents CEST à échanges rapides, le B_1^{optimal} est très élevé et donc impossible à obtenir expérimentalement. On pourra s'en approcher, mais on ne pourra pas atteindre l'efficacité de marquage maximum. Par exemple, pour une molécule de glutamate à 11,7T avec un k_{ex} de 2000 Hz, l'efficacité de marquage typiquement obtenue à $B_1 = 5 \mu\text{T}$ sera d'environ 30% (contre une efficacité de marquage maximum de $\approx 68\%$). Pour des agents CEST possédant des taux d'échange trop élevés, l'efficacité de marquage sera donc assez basse, même avec de forts B_1 , et on comprend qu'il faudra par ailleurs avoir une forte concentration pour espérer pouvoir détecter un effet CEST.

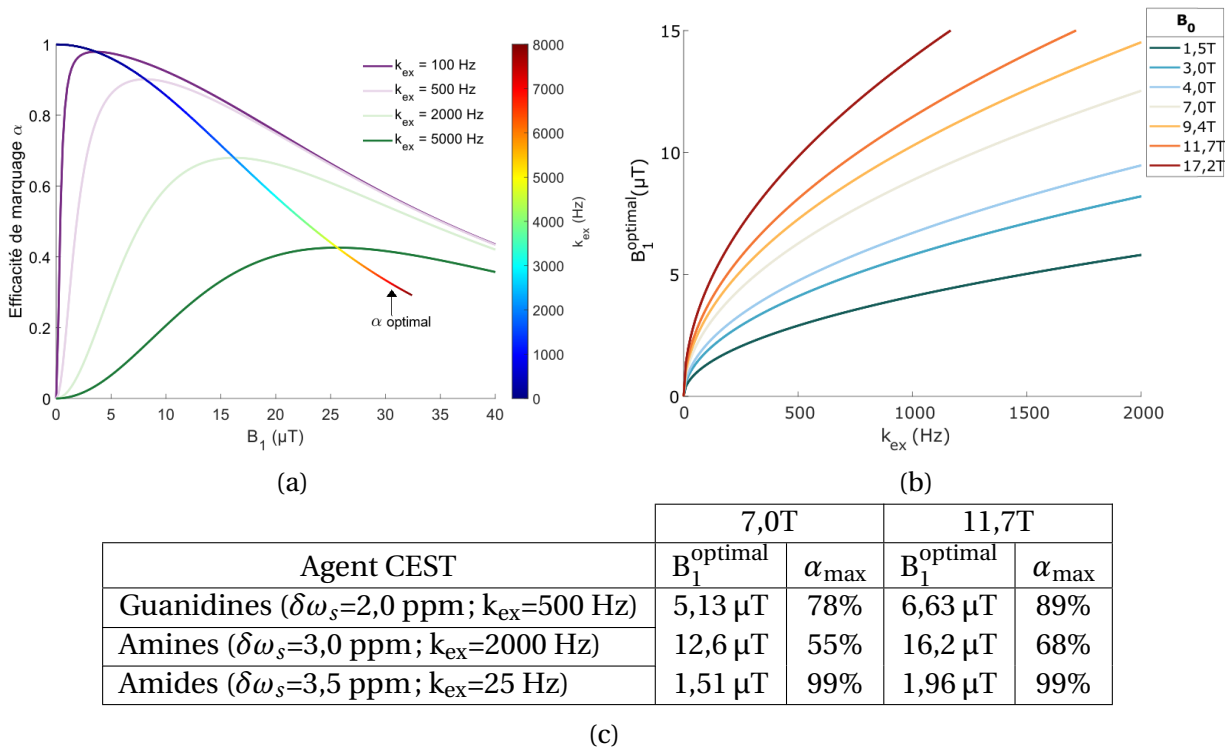


FIGURE 35 – (a) Efficacités de marquage calculées pour une molécule de glutamate résonnant à 3,0 ppm avec différents taux d'échange à 11,7T. La ligne multicolore représente les maximum d' α atteint avec un B_1^{optimal} dépendant du k_{ex} . (b) B_1^{optimal} calculé pour le glutamate en fonction du taux d'échange pour différents champs B_0 . (c) Quelques calculs de B_1^{optimal} et efficacités de marquage maximale pour différents agents CEST endogènes à 7T et 11,7T.

En réalité, ce calcul de B_1^{optimal} ne permet d'avoir que des ordres de grandeur de la puissance et de l'efficacité de marquage optimaux. En effet, cette approche ne prend pas en compte l'effet de spillover, qui augmente également avec le B_1 , et les autres transferts de saturation qui peuvent avoir lieu in vivo, comme l'effet MT, et qui réduisent encore la quantité d'aimantation de l'eau disponible (et donc le signal CEST). De plus, l'efficacité de marquage n'est en fait pas une mesure très pertinente pour les protons endogènes, car la métrique MTR est en fait dépendante d'autres paramètres qu' α qui varient en fonction du B_1 lorsque nous ne sommes plus dans le régime de large déplacement chimique (voir annexe 2). Ainsi, le calcul de B_1^{optimal} avec l'équation (III.8) est en fait une assez médiocre estimation du B_1^{optimal} réel, surtout au vu des profils de saturation directe de l'eau qu'on attend in vivo (voir figure 36). Le B_1^{optimal} et l'efficacité de marquage expérimentaux sont donc en fait plus faibles qu'escompté avec l'équation (III.8). Pour obtenir des meilleures estimations, il faut avoir recours à des équations-solutions plus complexes de l'effet CEST, ou encore à des simulations plus précises, comme nous allons le voir à la prochaine section.

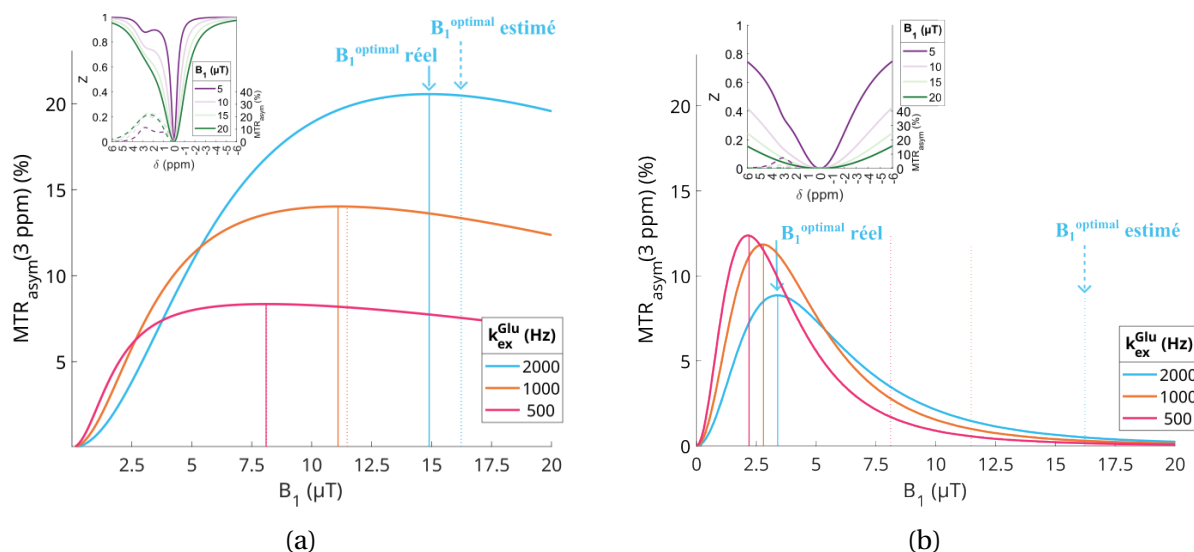


FIGURE 36 – Simulations du MTR_{asym} du glutamate à 11,7T en fonction du B_1 appliqué et en se plaçant en régime stationnaire ($t_{sat}=100s$), pour différents k_{ex}^{Glu} . Les maxima de MTR sont atteints au niveau de la ligne verticale solide, tandis que les lignes verticales en pointillés correspondent aux maxima attendus par le calcul de l'équation (III .8). Les Z-spectra insérés en haut à gauche de chaque graphe correspondent à des exemples de simulations en prenant $k_{ex}^{Glu} = 2000$ Hz. (a) Ici, on considère une situation imaginaire où la saturation directe de l'eau est ultra-fine, avec un T_1^w de 0,5 s et un T_2^w de 1,5 s. Dans cette situation, le spillover n'affecte pas trop le signal CEST, et les estimations calculées de $B_1^{optimal}$ restent pertinentes. (b) Lorsqu'on considère une saturation directe de l'eau "réaliste", c'est-à-dire avec un T_1^w de 2 s et un T_2^w de 30 ms, alors la saturation directe de l'eau affecte fortement l'intensité du signal CEST, et les estimations de $B_1^{optimal}$ de l'équation (III .8) deviennent très médiocres. On comprend bien au vu de cette figure que pour les agents CEST proches de la résonance de l'eau, il n'est pas pertinent d'utiliser des indicateurs qui ne prennent pas en compte le T_1^w et le T_2^w pour l'estimation du $B_1^{optimal}$.

2.2 . Cartes de sensibilité des métabolites

Nous avons donc pu apprécier dans la section précédente les tendances de dépendance de l'effet CEST à la puissance B_1 choisie, mais de manière simplifiée, sans prendre en compte les effets de spillover et des autres transferts d'aimantation. En outre, nous nous sommes placés en régime stationnaire; or, la durée de la saturation t_{sat} a aussi un effet sur le signal CEST tant que le régime stationnaire n'est pas atteint.

Pour mieux prendre en compte ces effets, nous proposons dans cette section de faire appel à des outils de simulation (voir chapitre IV) afin de mieux optimiser le schéma de saturation. En particulier, on peut simuler le contraste MTR obtenu en fonction de la puissance B_1 et du t_{sat} , de la fréquence ω , et même prendre en compte la forme éventuelle d'un schéma de saturation pulsé. Dans cette section, nous nous limiterons cependant au cas d'un module de saturation continue.

La figure 37a donne des exemples de simulations du signal du glutamate évalué à sa fréquence de résonance de 3 ppm en fonction du taux d'échange k_{ex}^{Glu} . Ici, en évaluant les maxima de signal obtenus, on peut évaluer le $B_1^{optimal}$ de manière plus fiable qu'avec l'équation (III .8), et évaluer également la dépendance au t_{sat} . On retrouve la tendance globale où les protons à échange rapide requièrent une puissance B_1 plus élevée pour être imagés efficacement. On note également que, à concentration protonique égale, les protons à échange rapide donneront globalement moins de signal CEST que les lents.

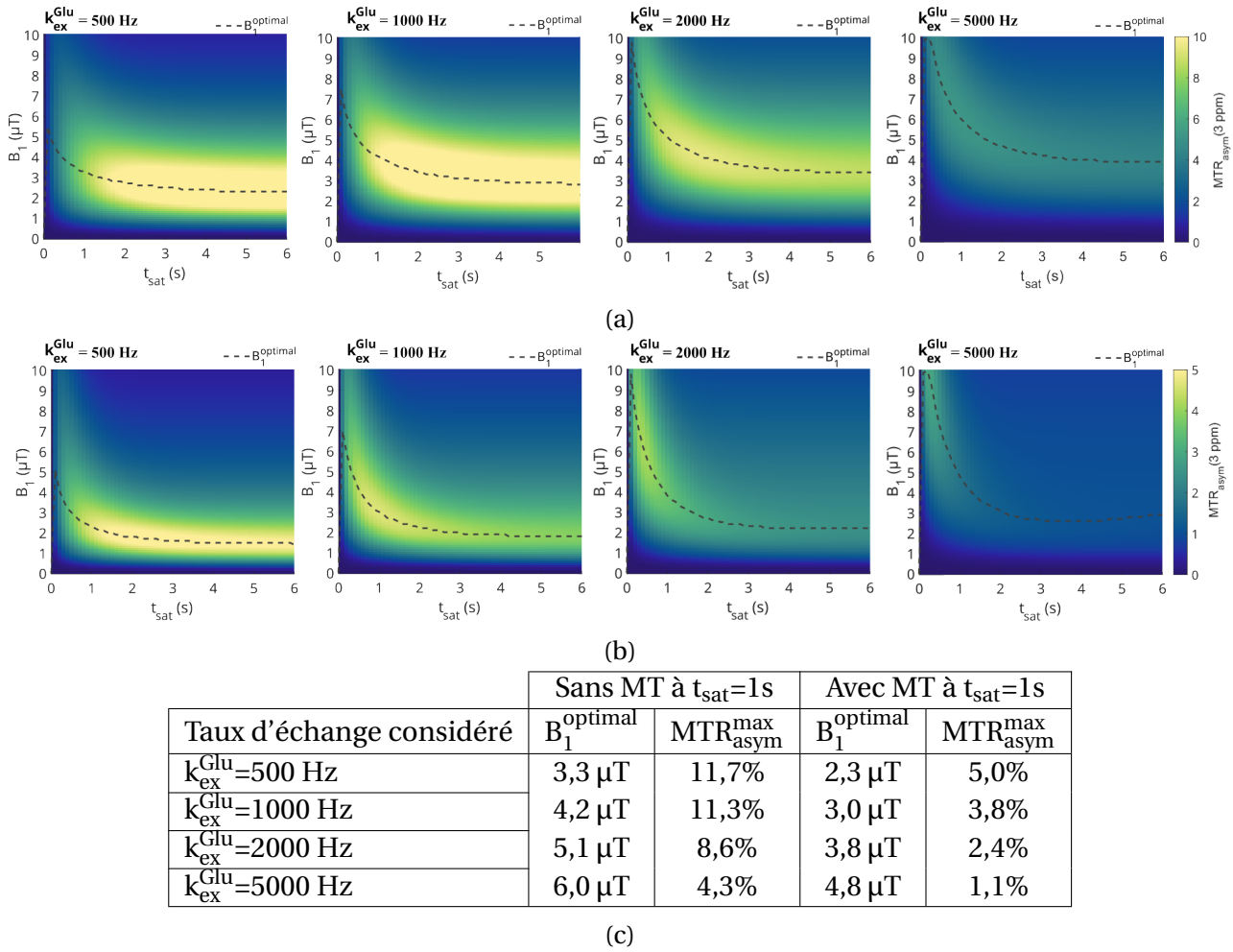


FIGURE 37 – (a) Simulations du signal CEST à 3 ppm du glutamate en fonction du B_1/t_{sat} pour différents taux d'échange. (b) Simulations similaires mais en incluant un effet MT qui contribue aux phénomènes de transferts d'aimantation in vivo. Attention, l'échelle de couleurs est divisée par 2. Pour cette simulation, un effet MT super-lorentzien symétrique a été considéré ($\delta_{\text{MT}} = 0$ ppm, coupure de ± 2.5 ppm, voir chapitre IV) avec une fraction protonique de 10%, un T_1^{MT} de 2s et un T_2^{MT} de 10 μs . (c) Résumé des $MTR_{\text{asym}}^{\text{max}}$ et B_1^{optimal} à $t_{\text{sat}}=1$ s évalués par simulations.

De manière générale, on observe que les régimes de saturation favorables à l'imagerie des protons à échange rapide seront plutôt du type court t_{sat} /haute puissance B_1 , tandis que pour les protons à échange lent, on privilégiera des longs t_{sat} et des basses puissances B_1 (comme cela a pu être démontré dans [Khlebnikov et al., 2019](#)).

Considérons maintenant qu'in vivo, des effets de transferts d'aimantation supplémentaires dus aux tissus ont lieu (effet dit MT) et réduisent encore la quantité d'aimantation d'eau non saturée disponible pour l'effet CEST. Lorsqu'on inclut l'effet MT dans les simulations (figure 37b), le signal obtenu est amoindri. De plus, comme l'intensité de l'effet MT augmente avec le B_1 , le B_1^{optimal} est diminué (figure 37c). Toutefois, le B_1^{optimal} obtenu ainsi est dépendant la fraction protonique MT que l'on a supposée pour la simulation (10% ici) : ce n'est donc pas non plus une optimisation absolue.

Nous avons jusqu'ici seulement abordé la problématique de maximisation du signal CEST. Cependant, une autre problématique entre en jeu, en particulier pour l'imagerie CEST endogène : la spécificité du signal. En effet, à cause des fréquences de résonance proches des agents endogènes, le signal CEST que l'on veut mesuré peut être contaminé in vivo par les effets CEST d'autres métabolites. On peut rendre partiellement compte de cet effet avec les cartes de sensibilité simulées des métabolites. Par exemple, si l'on simule le signal CEST du glutamate et de la créatine à 3ppm (figure 38), on peut estimer que dans les conditions classiques de l'imagerie gluCEST ($B_1=5 \mu\text{T}$, $t_{\text{sat}}=1 \text{ s}$), la créatine ne contamine « pas trop » le signal gluCEST ($MTR_{\text{asym}}^{\text{Cr}}(3 \text{ ppm}) \approx 1\%$ contre $MTR_{\text{asym}}^{\text{Glu}}(3 \text{ ppm}) \approx 9\%$). En revanche, pour l'imagerie de la créatine à 2 ppm, par exemple à $B_1=2 \mu\text{T}$, $t_{\text{sat}}=3 \text{ s}$, le glutamate contamine le signal CrCEST de manière non négligeable ($MTR_{\text{asym}}^{\text{Glu}}(2 \text{ ppm}) \approx 3\%$ contre $MTR_{\text{asym}}^{\text{Cr}}(2 \text{ ppm}) \approx 10,5\%$). On peut alors envisager pour l'imagerie de la créatine un compromis où l'on se placerait à plus bas B_1 que le B_1^{optimal} pour éviter la contamination du glutamate, quitte à perdre en signal issu de la créatine.

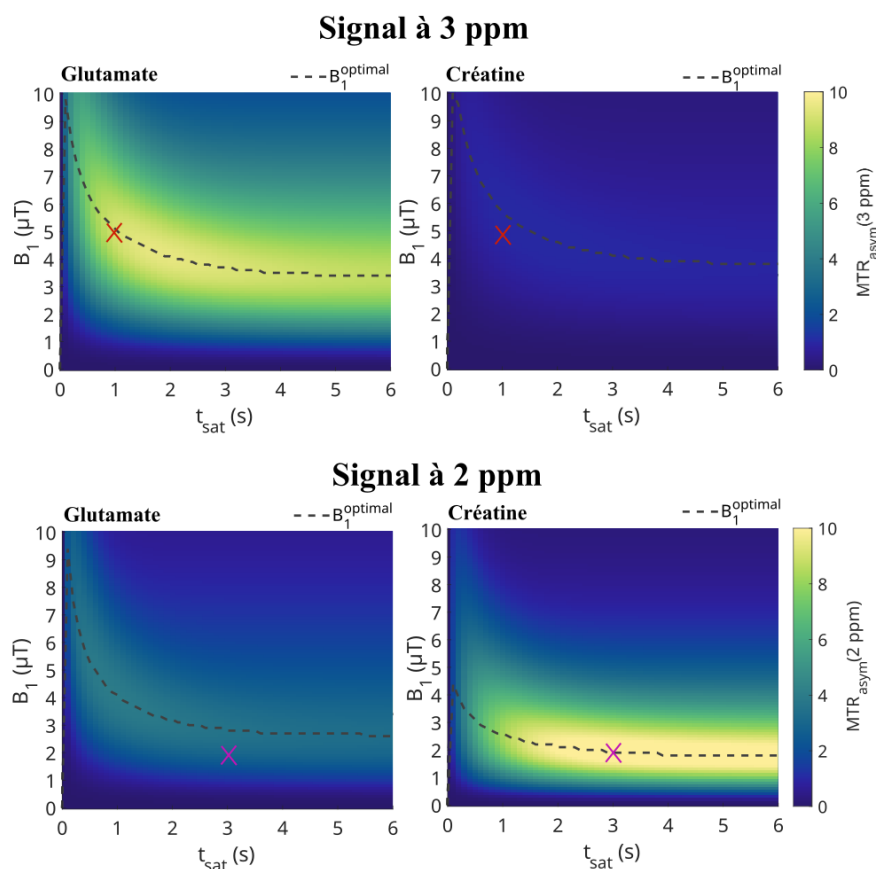


FIGURE 38 – Comparaison des cartes de sensibilité du glutamate et de la créatine à 3 et 2 ppm. Ici, la créatine a été simulée en considérant une concentration de 15 mM, un $k_{\text{ex}}^{\text{Cr}}$ de 500 Hz, une résonance à 2,0 ppm, un T_1^{Cr} de 2,0 s et un T_2^{Cr} de 10 ms.

Bien que les cartes de sensibilité soient déjà de bons outils pour aborder la question de la spécificité du signal CEST, cette problématique sera abordée plus en détail dans la prochaine section avec les outils de simulation de contributions.

2.3 . Problématique de spécificité et simulations de contributions

L'effet CEST d'un métabolite ne se limite pas uniquement à une résonance à sa fréquence de Larmor, mais produit un effet plus étendu sur le Z-spectrum. La largeur spectrale de l'effet CEST s'écrit (voir chapitre IV) :

$$\Gamma = 2\sqrt{\frac{k_{\text{ex}} + 1/T_2^s}{k_{\text{ex}}}\omega_1^2 + (k_{\text{ex}} + 1/T_2^s)^2} \quad (\text{III .9})$$

Cette « largeur d'effet CEST » est très générale, mais il est cependant à noter que l'effet CEST ne peut être assimilé à une lorentzienne que dans l'hypothèse de large déplacement chimique.

On peut réécrire cette largeur Γ en utilisant l'efficacité de marquage dans l'hypothèse de large déplacement chimique (éq. III .3) :

$$\Gamma = 2\frac{k_{\text{ex}} + 1/T_2^s}{\sqrt{1 - \alpha_{\text{LS}}}} \quad (\text{III .10})$$

On peut voir que la largeur de l'effet CEST augmente avec la puissance B_1 et également avec le taux d'échange k_{ex} . On comprend bien ici pourquoi les métabolites à taux d'échange rapides présentent des signaux CEST « écrasés » et étendus sur le Z-spectrum.

Avec l'équation (III .9), on peut donc calculer l'étendue spectrale d'un signal CEST donné à une certaine puissance B_1 , ce qui permet d'estimer si des effets CEST peuvent se chevaucher et donc se contaminer. Cependant, ce calcul ne permet pas de rendre compte de « l'intensité de contamination » des signaux CEST. De plus, in vivo, il existe de nombreux métabolites endogènes à prendre en compte, ce qui peut rendre ces calculs assez fastidieux.

Afin de mieux évaluer les possibles contaminations du signal CEST in vivo, [Khlebnikov et al., 2019](#) proposent de simuler **séparément** les effets CEST attendus des différents métabolites, en se basant sur des valeurs de taux d'échange mesurés in vitro. Avec cette approche, la contribution normalisée du métabolite i au signal CEST serait :

$$\text{Contribution}_i(\omega) = \frac{\text{CEST}_i(\omega)}{\sum_j \text{CEST}_j(\omega)} \quad (\text{III .11})$$

Ainsi, avec cette méthode, [Khlebnikov et al., 2019](#) estiment qu'à 7T, dans les conditions de saturation les plus optimales selon leurs simulations (à savoir $t_{\text{sat}}=0,5$ s, $B_1=6,8$ μT), près de 40% du signal gluCEST à 3,2 ppm serait en fait dû à des contaminations d'autres métabolites dans le cerveau humain (figure 39a).

En adaptant les simulations de [Khlebnikov et al., 2019](#) à 11,7T et en considérant les concentrations du cerveau de souris, la figure 39b rend compte des différentes contributions au signal gluCEST dans les conditions d'acquisition classiques, à savoir $t_{\text{sat}}=1$ s, $B_1=5$ μT . Dans ces conditions, environ 68% du signal gluCEST à 3 ppm serait dû aux contributions d'autres métabolites.

En réalité, la simulation de « contributions au MTR » n'est pas tout à fait rigoureuse : en effet, l'effet CEST n'est pas une fonction linéaire (voir chapitre IV). Lorsque plusieurs agents CEST entrent en jeu, il y a une compétition entre les différents effets CEST, et on a :

$$\text{MTR}(\text{agent A} + \text{agent B}) < \text{MTR}(\text{agent A}) + \text{MTR}(\text{agent B}) \quad (\text{III .12})$$

Ainsi, lorsqu'on simule le signal MTR attendu en incluant tous les métabolites dans la simulation (ligne noire en pointillés sur la figure 39b), on s'attend à obtenir en fait un signal total plus faible

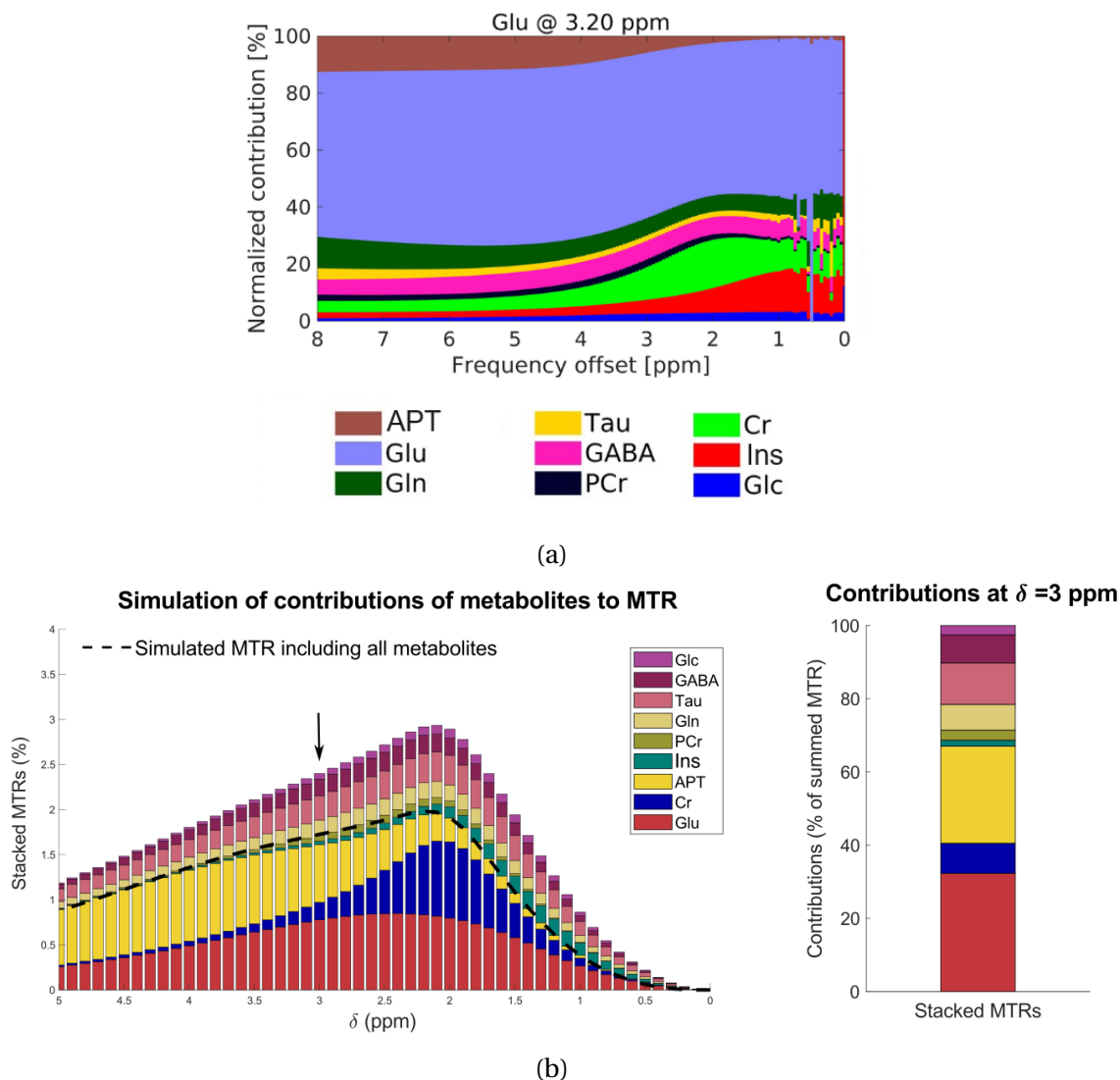


FIGURE 39 – (a) Figure extraite de [Khlebnikov et al., 2019](#) : simulations des contributions normalisées au signal CEST in vivo à 7T dans la matière grise humaine à 3,2 ppm avec $t_{\text{sat}}=0,5$ s, $B_1=6,8$ μT . (b) Simulation des contributions au signal CEST in vivo à 11,7T dans le cerveau de souris à $t_{\text{sat}}=1$ s, $B_1=5$ μT . Les paramètres des différents métabolites sont tirés de [Khlebnikov et al., 2019](#), avec les concentrations suivantes : $[\text{Glu}]=6,5\text{mM}$, $[\text{Cr}]=4\text{mM}$, $[\text{Ins}]=3,4\text{mM}$, $[\text{APT}]=172\text{mM}$, $[\text{PCr}]=3.2\text{mM}$, $[\text{Gln}]=3\text{mM}$, $[\text{Tau}]=12,2\text{mM}$, $[\text{GABA}]=1,5\text{mM}$. Un compartiment MT superlorentzien symétrique de $f_{\text{MT}}=10\%$ et $k_{\text{MT}}=13$ Hz a été inclus pour tenir compte de la réduction de signal dû à l'effet MT.

que la somme de tous les MTR simulés individuellement.

De manière plus rigoureuse, on pourrait plutôt parler de contributions au taux de relaxation effectif total échange-dépendant R_{ex} , qui lui est une fonction linéaire (voir chapitre IV) :

$$R_{\text{ex}}^{\text{total}} = \sum_j R_{\text{ex}}^j \quad (\text{III.13})$$

On peut alors simuler des contributions au $R_{\text{ex}}^{\text{total}}$ comme dans la figure 40, mais on perd alors la visualisation ce que cela donne en terme de MTR, c'est-à-dire de signal CEST effectivement détectable. La contribution du glutamate au $R_{\text{ex}}^{\text{total}}$ à 3 ppm est légèrement plus grande qu'avant mais pas de beaucoup (33% contre 32%).

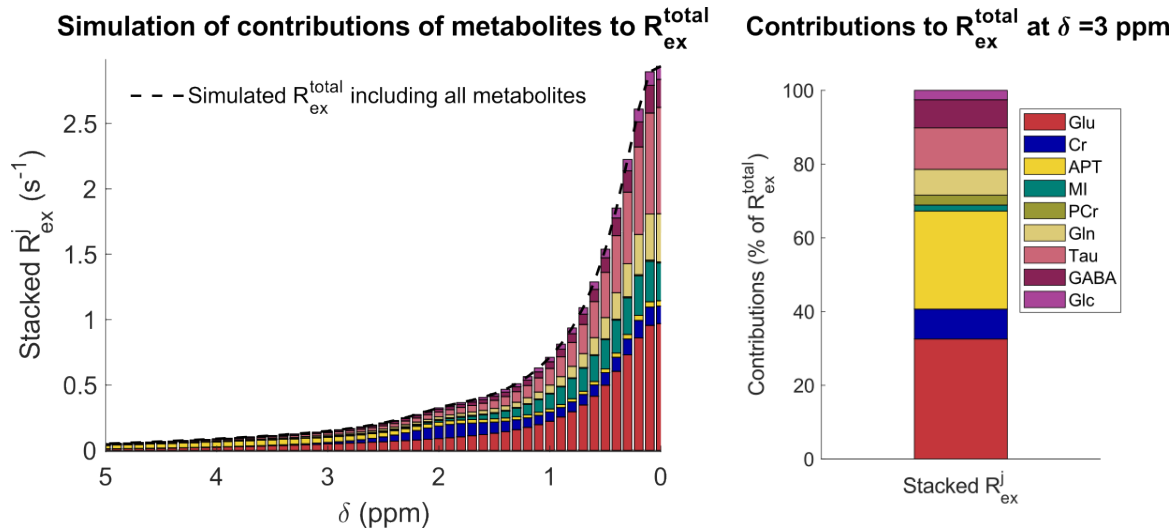


FIGURE 40 – Simulation des contributions R_{ex}^j des différents métabolites au taux de relaxation effectif échange-dépendant R_{ex}^{total} . Les mêmes paramètres de simulation que la figure 39b ont été pris. Ici, il n'y a pas besoin de prendre en compte un compartiment MT.

3 . POINTS CLÉS DE CE CHAPITRE

- ➔ L'IRM haut-champ est d'un grand intérêt pour l'imagerie CEST, en particulier pour les agents endogènes ayant une résonance proche de celle de l'eau, et permet d'augmenter la sensibilité de détection.
- ➔ Le choix du paradigme de saturation doit se faire avec soin, en prenant en compte trois problématiques : obtenir un signal CEST **maximum** et **spécifique** de l'agent ciblé, tout en respectant **les contraintes de SAR** maximum.
- ➔ Les outils de prédiction habituels de $B_1^{optimal}$ par calcul sont plutôt médiocres pour les métabolites endogènes, proches de la résonance de l'eau, et les outils de simulation sont préférables. En général, on optera pour un B_1 fort et un t_{sat} court pour des protons à échanges rapides. De plus, la problématique de spécificité du signal est particulièrement essentielle en ce qui concerne l'imagerie CEST de métabolites endogènes.

Bien que nous ayons déjà pu commencer à présenter dans ce chapitre des simulations de l'effet CEST, nous n'avons pas encore abordé à proprement parler la théorie de l'effet CEST. Dans le prochain chapitre, nous verrons comment modéliser l'effet CEST et quelles sont les méthodes de référence permettant de le simuler.

IV - Théorie de l'effet CEST

1 . L'EFFET CEST EN ÉQUATIONS

Alors que les équations de Bloch sont classiquement utilisées pour décrire les phénomènes de résonance magnétique nucléaire, McConnell propose en 1958 une version modifiée de ces équations pour décrire les transferts de saturation par échanges chimiques (McConnell, 1958), et donc l'effet CEST.

1.1 . Les équations de Bloch-McConnell : système à deux compartiments

Dans le cas le plus simple, on considère un système à deux compartiments, c'est-à-dire comprenant deux populations de spins qui s'échangent des protons entre elles. Le premier compartiment, annoté w , représente l'eau, et le second, annoté s , représente un soluté. Soumis à un champ B_0 (selon z), chaque compartiment a une aimantation initiale $M_0^{w/s}$, une fréquence de Larmor $\omega^{w/s}$, un temps de relaxation longitudinal $T_1^{w/s}$ et un temps de relaxation transverse $T_2^{w/s}$. Les deux compartiments s'échangent des protons avec des taux de transfert k_{ws} dans le sens eau>soluté, et k_{sw} dans le sens soluté>eau. Souvent, on supposera une cinétique d'échanges de protons du premier ordre, c'est-à-dire $k_{ws} = M_0^s/M_0^w \times k_{sw}$. Le ratio protonique des deux populations $f_s = M_0^s/M_0^w$ est alors bien conservé grâce à cette relation entre les taux d'échange.

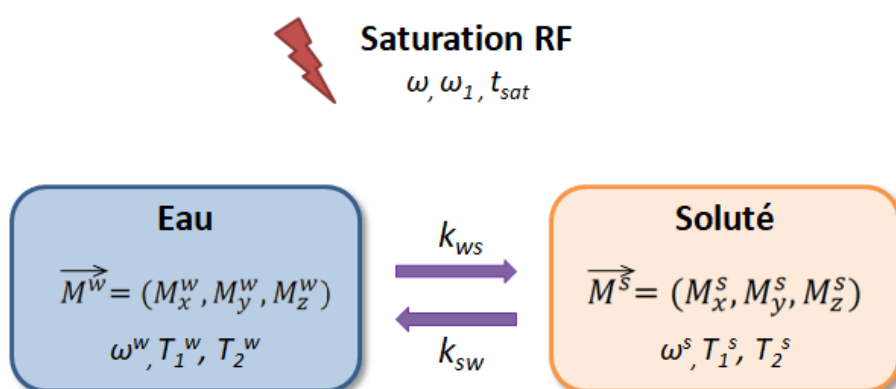


FIGURE 41 – Schématisation du système à deux compartiments.

Lorsqu'on applique une impulsion RF, supposée homogène sur tout le système, d'intensité $\omega_1 = \gamma B_1$ et de fréquence ω , les équations de Bloch-McConnell s'écrivent :

Population 1 (eau) :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dM_x^w}{dt} = -\frac{M_x^w}{T_2^w} - (\omega_w - \omega)M_y^w + k_{sw}M_x^s - k_{ws}M_x^w \\ \frac{dM_y^w}{dt} = (\omega_w - \omega)M_x^w - \frac{M_y^w}{T_2^w} + k_{sw}M_y^s - k_{ws}M_y^w + \omega_1 M_z^w \\ \frac{dM_z^w}{dt} = -\omega_1 M_y^w + k_{sw}M_z^s - k_{ws}M_z^w + \frac{M_0^w - M_z^w}{T_1^w} \end{array} \right. \quad (\text{IV}.1)$$

Population 2 (soluté) :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dM_x^s}{dt} = -\frac{M_x^s}{T_2^s} - (\omega_s - \omega)M_y^s + k_{ws}M_x^w - k_{sw}M_x^s \\ \frac{dM_y^s}{dt} = (\omega_s - \omega)M_x^s - \frac{M_y^s}{T_2^s} + k_{ws}M_y^w - k_{sw}M_y^s + \omega_1 M_z^s \\ \frac{dM_z^s}{dt} = -\omega_1 M_y^s - \frac{M_z^s}{T_1^s} + k_{ws}M_z^w - k_{sw}M_z^s + \frac{M_0^s}{T_1^s} \end{array} \right. \quad (IV.2)$$

On y reconnaît facilement les équations de Bloch classiques (voir équations (I .19)) auxquelles ont été rajoutés des termes d'échange d'aimantation.

Dans ces équations, on retrouve le ratio de concentrations des deux populations à travers le ratio d'aimantation initiale :

$$\frac{[s]}{[w]} = f_s \times \frac{n_w}{n_s} = \frac{M_0^s n_w}{M_0^w n_s}$$

où $n_w = 2$ correspond au nombre de protons par molécule d'eau, et n_s correspond au nombre de protons échangeables du soluté.

1.2 . Généralisation à N compartiments

Les équations de Bloch-McConnell se généralisent aisément à un système de N populations de spins, c'est-à-dire N espèces ou groupes chimiques échangeant des spins. La dynamique de l'aimantation de la population i est alors décrite par :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dM_x^i}{dt} = -\frac{M_x^i}{T_2^i} - (\omega_i - \omega)M_y^i + \sum_{j \neq i} k_{ji}M_x^j - \sum_{j \neq i} k_{ij}M_x^i \\ \frac{dM_y^i}{dt} = (\omega_i - \omega)M_x^i - \frac{M_y^i}{T_2^i} + \sum_{j \neq i} k_{ji}M_y^j - \sum_{j \neq i} k_{ij}M_y^i + \omega_1 M_z^i \\ \frac{dM_z^i}{dt} = -\omega_1 M_y^i - \frac{M_z^i}{T_1^i} + \sum_{j \neq i} k_{ji}M_z^j - \sum_{j \neq i} k_{ij}M_z^i + \frac{M_0^i}{T_1^i} \end{array} \right. \quad (IV.3)$$

avec \vec{M}^i , ω_i , T_2^i le vecteur d'aimantation, la fréquence de résonance et le T_2 du compartiment i ; et k_{ij} le taux d'échange de protons du compartiment i vers le compartiment j .

Dans le cas de la modélisation de l'effet CEST, on néglige souvent les échanges de protons inter-métabolites, au vu de leur faibles concentrations comparées à la concentration prépondérante de l'eau en milieu biologique. On obtient alors le système d'équations simplifié pour décrire l'aimantations du métabolite i :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dM_x^i}{dt} = -\frac{M_x^i}{T_2^i} - (\omega_i - \omega)M_y^i + k_{wi}M_x^w - k_{iw}M_x^i \\ \frac{dM_y^i}{dt} = (\omega_i - \omega)M_x^i - \frac{M_y^i}{T_2^i} + k_{wi}M_y^w - k_{iw}M_y^i + \omega_1 M_z^i \\ \frac{dM_z^i}{dt} = -\omega_1 M_y^i - \frac{M_z^i}{T_1^i} + k_{wi}M_z^w - k_{iw}M_z^i + \frac{M_0^i}{T_1^i} \end{array} \right. \quad (\text{IV .4})$$

tandis que les équations régissant l'aimantation de l'eau restent similaires à (IV .3).

1.3 . Écriture matricielle des équations de Bloch-McConnell

On retrouve souvent les équations de Bloch-McConnell écrites sous forme matricielle (Zaiss et Bachert, 2013a) :

$$\boxed{\frac{d}{dt}\vec{M} = \mathbf{A} \cdot \vec{M} + \vec{C}} \quad (\text{IV .5})$$

où \vec{M} est un vecteur d'aimantation de dimension $3 \times N$ de la forme :

$$\vec{M} = (M_x^w, M_y^w, M_z^w, M_x^1, M_y^1, M_z^1, \dots, M_x^{N-1}, M_y^{N-1}, M_z^{N-1})^T$$

et \mathbf{A} est une matrice par blocs de la forme :

$$\mathbf{A} = \begin{pmatrix} \mathbf{L}_w - \sum_{i=1}^{N-1} \mathbf{K}_{wi} & +\mathbf{K}_{1w} & +\mathbf{K}_{2w} & \dots & +\mathbf{K}_{(N-1)w} \\ \mathbf{K}_{w1} & \mathbf{L}_1 - \mathbf{K}_{1w} & 0 & \dots & 0 \\ \mathbf{K}_{w2} & 0 & \mathbf{L}_2 - \mathbf{K}_{2w} & \dots & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ \mathbf{K}_{w(N-1)} & 0 & \dots & 0 & \mathbf{L}_{N-1} - \mathbf{K}_{(N-1)w} \end{pmatrix}$$

composée des sous-matrices de taille 3×3

$$\mathbf{L}_i = \begin{pmatrix} -1/T_2^i & (\omega_i - \omega) & 0 \\ -(\omega_i - \omega) & -1/T_2^i & +\omega_1 \\ 0 & -\omega_1 & -1/T_1^i \end{pmatrix}$$

et

$$\mathbf{K}_{ij} = \begin{pmatrix} k_{ij} & 0 & 0 \\ 0 & k_{ij} & 0 \\ 0 & 0 & k_{ij} \end{pmatrix}$$

\vec{C} correspond au vecteur constant :

$$\vec{C} = (0, 0, M_0^w/T_1^w, 0, 0, M_0^1/T_1^1, \dots, 0, 0, M_0^{N-1}/T_1^{N-1})^T$$

2 . AUTRES PHÉNOMÈNES DE TRANSFERTS D'AIMANTATION

En pratique, lorsqu'on modélise l'effet CEST, d'autres phénomènes de transfert d'aimantation sont à prendre en compte *in vivo* (voir figure 42). Il s'agit des phénomènes NOE et MT (aussi noté MTC). Bien que les mécanismes physiques à l'origine des ces deux phénomènes se ressemblent, le premier concerne des interactions avec des macromolécules mobiles, et le deuxième des effets de transfert avec des tissus quasi-immobiles; on les modélise donc séparément. Nous détaillons dans cette section comment inclure ces phénomènes dans les équations de Bloch-McConnell.

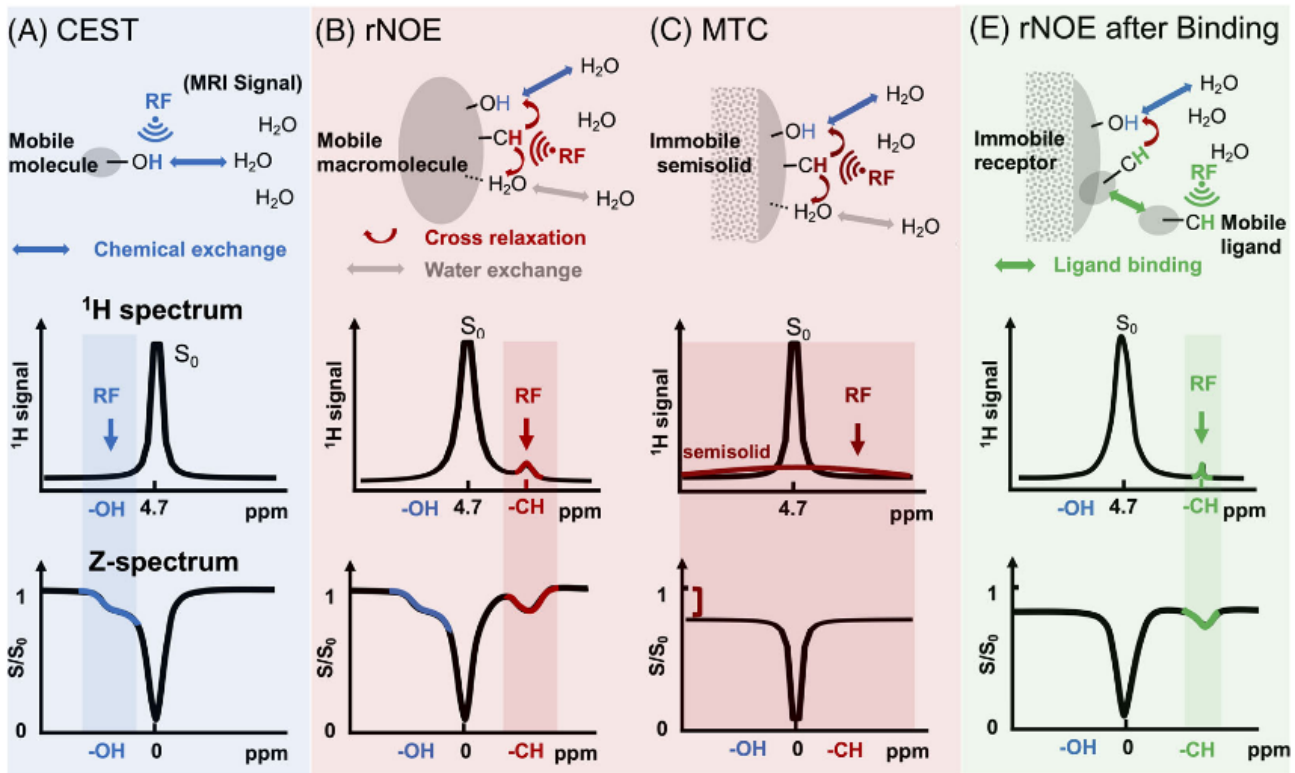


FIGURE 42 – Illustration des différents mécanismes d'échanges d'aimantation pouvant avoir lieu *in vivo*. (figure empruntée de Y. Zhou et al., 2023). (A) Transfert d'aimantation par échange chimique; (B) Effets nucléaires Overhauser relayés; (C) Transfert d'aimantation (spécifique des tissus semi solides); (E) Effets nucléaires Overhauser relayés par aide d'une matrice solide.

2.1 . Cas particulier des effets nucléaires Overhauser

En plus des échanges chimiques de protons, des échanges de saturation supplémentaires apparaissent *in vivo* via des interactions dipolaires : ce sont les effets nucléaires Overhauser, ou effets NOE (pour *Nuclear Overhauser Effects*). Lors des mesures CEST, ces effets NOE seront observables dans les fréquences négatives des Z-spectra, ce qui peut biaiser toutes les analyses classiques par asymétrie avec le MTR_{asym} . Il est donc d'un grand intérêt de pouvoir les modéliser pour les prendre en compte dans la modélisation CEST et s'en affranchir.

Pour modéliser les effets NOE, les équations de Bloch-Solomon (Solomon, 1955) décrivent les dynamiques de relaxation de populations de spins dipolaires couplées, en particulier à l'aide d'un taux de relaxation croisée $\sigma^{x,y,z}$. Or, si l'on considère que ces couplage dipolaires se valent dans les directions longitudinales et transversales, c'est-à-dire $\sigma = \sigma^x = \sigma^y = \sigma^z$, alors les équations de

Bloch-Solomon s'écrivent exactement sous la même forme que les équations de Bloch-McConnell, avec une sous-matrice de couplage :

$$\mathbf{K}_{ij} = \begin{pmatrix} -\sigma_{ij} & 0 & 0 \\ 0 & -\sigma_{ij} & 0 \\ 0 & 0 & -\sigma_{ij} \end{pmatrix}$$

La démonstration complète peut être retrouvée dans (Neuhaus et al., 2000; Zaiss et Bachert, 2013a). Dans cette analogie, le "taux d'échange" de l'effet NOE correspond au taux de relaxation croisée : $k_{\text{ex}}^{\text{NOE}} = -\sigma$. Tout en gardant à l'esprit que ce taux d'échange $k_{\text{ex}}^{\text{NOE}}$ ne représente pas un véritable échange chimique, mais plutôt un échange dipolaire dépendant des distances d'interaction et des temps de corrélation, on peut alors traiter l'effet NOE comme un compartiment CEST classique.

En pratique, les effets NOE *in vivo* sont généralement modélisés par un compartiment d'échange résonnant à -3.5 ppm, surnommé compartiment aliphatique, car il est couramment attribué à des échanges dipolaires entre l'eau et des macromolécules mobiles comme des protéines ou des lipides possédant de longues chaînes aliphatiques (P. C. Van Zijl, J. Zhou et al., 2003; Zhao, C. Sun et al., 2023).

Un autre compartiment NOE, résonnant à -1.6 ppm, est longtemps passé inaperçu *in vivo* au vu de sa proximité confondante avec la résonance de l'eau, mais son existence a aujourd'hui suffisamment été démontrée (X.-Y. Zhang, F. Wang, H. Li et al., 2017; Zu, 2018) (voir figure 43). L'origine moléculaire de ce pool reste encore incertaine, mais des preuves récentes tendent à montrer qu'il s'agirait d'échanges dipolaires entre l'eau et des molécules dérivées de choline dans les membranes phospholipidiques (X.-Y. Zhang, F. Wang, Jin et al., 2017; Zu et al., 2020).

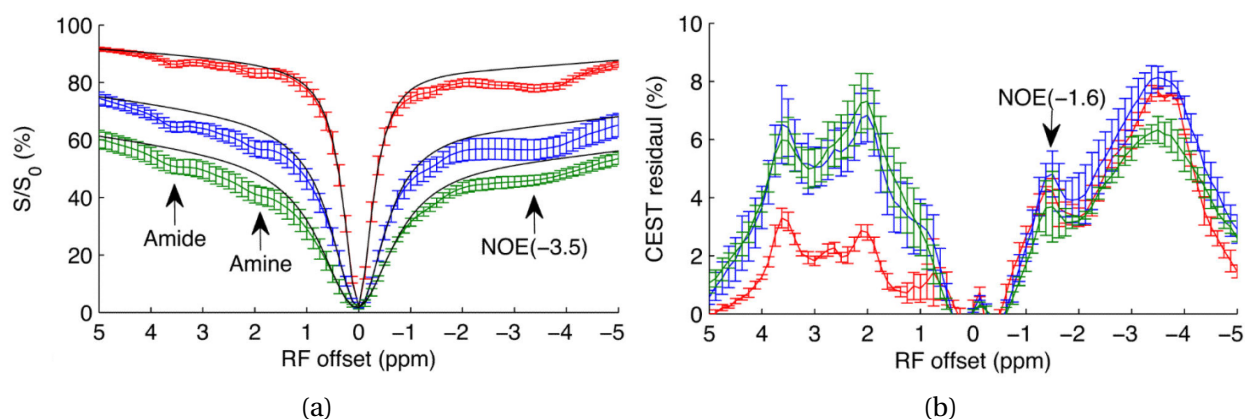


FIGURE 43 – Mise en évidence des deux pools d'effets NOE observés *in vivo* à -3,5 et -1,6 ppm (figure empruntée de X.-Y. Zhang, F. Wang, Jin et al., 2017). (a) Z-spectra mesurés dans un cerveau de rat à 9.4 T à $B_1=[0.5, 1.0, 1.5]$ μT et, en noir, estimation de l'effet direct de saturation de l'eau. (b) Résidus CEST mesurés en soustrayant les mesures expérimentales à l'effet direct de saturation de l'eau.

À noter que l'effet NOE est parfois difficile à distinguer de l'effet de transfert d'aimantation, ou MT (voir prochaine section 2.2), qui résonne aussi dans les fréquences négatives. Les effets NOE ont d'ailleurs des mécanismes à leur origine très similaires à ceux de l'effet MT (Y. Zhou et al., 2023). Par facilité, il peut donc aussi être possible de modéliser les effets NOE par de multiples compartiments répartis dans les fréquences de résonance négatives (P. C. Van Zijl, Lam et al.,

2018), correspondant à différentes résonances de protons aliphatiques, bien que ce ne soit pas tout à fait représentatif des effets prépondérants observés *in vivo*.

2.2 . Cas particulier des tissus semi-solides

En pratique, lorsqu'on modélise l'effet CEST *in vivo*, il est aussi nécessaire de prendre en compte l'effet des tissus biologiques. En effet, les tissus semi-solides échangent également des spins avec l'eau : c'est ce qu'on appelle le contraste par transfert d'aimantation (MTC), ou effet MT, pour *Magnetization Transfer*. Ce compartiment, dit compartiment MT par habitude, a une réponse à la saturation large, sur une gamme de fréquence étendue allant jusqu'à ± 100 ppm autour de la résonance de l'eau, ce qui résulte en un effet global de saturation sur le Z-spectrum (Henkelman et al., 2001).

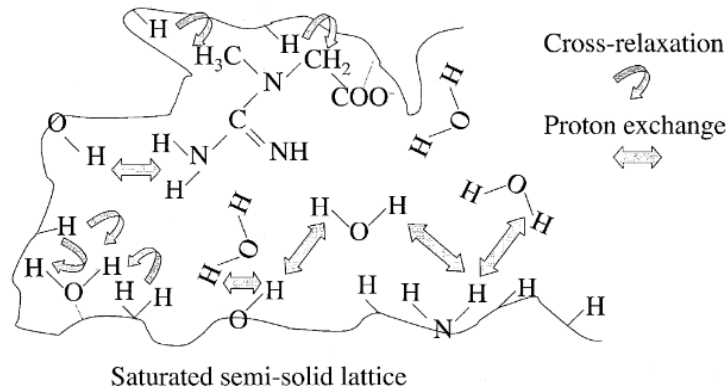


FIGURE 44 – Illustration de l'effet MT (figure empruntée à (P. C. Van Zijl, J. Zhou et al., 2003)). Les transferts d'aimantation entre la matrice semi solide et l'eau peuvent se faire à travers des échanges de protons ou des relaxations croisées.

Ces tissus semi-solides ont des T_2 de l'ordre de la μs . Sur les échelles de temps des expériences IRM, les composantes transverses de l'aimantation de ces tissus sont donc négligeables. Ainsi, pour modéliser l'effet MT, il suffit donc de modifier uniquement l'équation de l'eau (IV .3) selon z et d'ajouter une seule ligne pour la composante M_z^{MT} (Morrison et Mark Henkelman, 1995) :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dM_z^w}{dt} = \frac{M_0^w - M_z^w}{T_1^w} + \underbrace{\sum_{j=1}^{N-1} (k_{jw}M_z^j - k_{wj}M_z^w)}_{\text{échanges solutés}} + \underbrace{k_{MTw}M_z^{MT}}_{\text{échanges MT}} - \omega_1 M_z^w \\ \frac{dM_z^{MT}}{dt} = \frac{M_0^{MT} - M_z^{MT}}{T_1^{MT}} + k_{wMT}M_z^w - k_{MTw}M_z^{MT} - R_{\text{rfMT}}(\omega, \omega_1)M_z^{MT} \end{array} \right. \quad (\text{IV .6})$$

où le terme R_{rfMT} désigne la fonction d'absorption du compartiment MT en fonction de la saturation (ou "*lineshape function*").

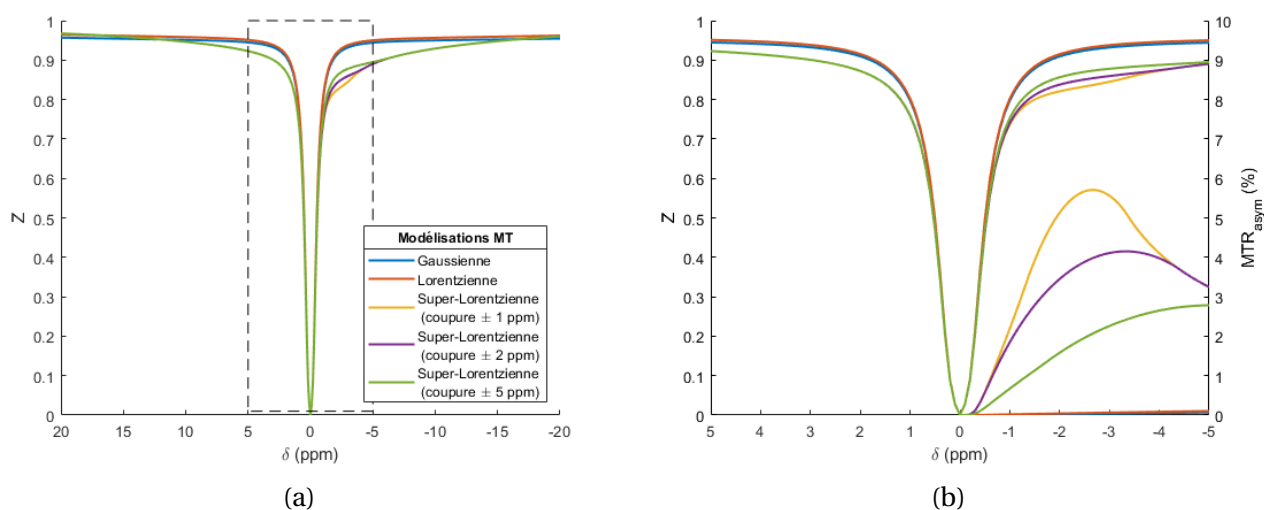


FIGURE 45 – Simulations de l'effet MT à 11.7T, $B_1=1 \mu\text{T}$, $t_{\text{sat}}=1 \text{ s}$ avec différents modèles MT. L'effet MT considéré ici correspond à une simulation avec $T_1^w=2 \text{ s}$, $T_2^w=30 \text{ ms}$, 5% de protons MT, un $T_2^{MT}=10 \mu\text{s}$, et une résonance asymétrique du pool MT à -2.34 ppm , comme suggéré par [Hua et al., 2007](#). (a) Effet MT étendu sur une large gamme de fréquence; (b) Zoom entre -5 et $+5 \text{ ppm}$.

2.2.1 . Fonctions d'absorption couramment utilisées

La modélisation de l'effet MT dépend évidemment de la fonction de la forme de l'absorption R_{rfMT} choisie. Une modélisation gaussienne peut être utilisée pour les liquides, ou une lorentzienne pour les solides; mais pour les tissus semi-solides présents in vivo, c'est une modélisation super-lorentzienne qui convient le mieux ([Morrison, G. Stanisiz et al., 1995](#)) :

$$R_{\text{rfMT}} = \omega_1^2 \pi \int_0^{\pi/2} d\theta \sin\theta \sqrt{\frac{2}{\pi}} \frac{T_2^{\text{MT}}}{|3\cos^2\theta - 1|} \exp\left(-2 \left(\frac{(\omega - \omega_{\text{MT}}) T_2^{\text{MT}}}{|3\cos^2\theta - 1|}\right)^2\right) \quad (\text{IV}.7)$$

Notons que cette modélisation super-lorentzienne possède un pôle ∞ à la fréquence de résonance principale ω_{MT} , ce qui correspondrait à une absorption infinie. Historiquement, l'effet MT a pu être modélisé comme symétrique, c'est-à-dire comme résonant à la même fréquence que l'eau ([Henkelman et al., 2001](#)). Dans ce cas là, le pôle ∞ de la super-lorentzienne ne pose pas de problème, car le signal est de toute façon attendu nul à 0 ppm .

Cependant, il est maintenant connu et démontré que l'effet MT est en réalité asymétrique, avec une fréquence de résonance différente de la fréquence de l'eau ([Hua et al., 2007](#); [Zaiss, Zu et al., 2015](#)). Lors d'une modélisation asymétrique du compartiment MT, il n'est pas réaliste d'avoir une absorption infinie à sa fréquence de résonance. Il est donc d'usage dans ce cas là d'interpoler la fonction super-lorentzienne sur une plage de coupure autour de ω_{MT} , par exemple $\pm 1 \text{ ppm}$, pour éviter le pôle ∞ .

Ces différentes modélisations du transfert d'aimantation, illustrées en figure 45, sont loin d'être équivalentes, et ne produisent pas les mêmes types d'asymétrie autour de la résonance de l'eau. En particulier, la modélisation super-lorentzienne peut se superposer à une part plus ou moins grande des effets NOE en fonction de la fréquence de coupure choisie. Par conséquent, les comparaisons des résultats de quantification MT/NOE à travers différents papiers doivent se faire avec prudence, car ils sont très dépendants de la modélisation choisie.

Citons également que des modèles de réponse d'absorption interpolés ont été proposés pour

mieux modéliser l'effet MT (J. G. Li et al., 1997). De plus, dans la matière blanche, il a été suggéré que l'orientation prononcée des fibres affecte la réponse d'absorption des tissus (Pampel et al., 2015), et donc que l'interprétation de modélisation super-lorentzienne dans ce genre de tissus doit se faire avec prudence (Sled, 2018), notamment en ce qui concerne les estimations de la fraction protonique du compartiment MT.

2.2.2 . Correction d'ordre dipolaire

La modélisation super-lorentzienne de l'effet MT a initialement été proposée pour décrire une réponse d'absorption suite à une impulsion de saturation duale, c'est-à-dire à $+\omega$ et $-\omega$ simultanément. Lors d'une expérience CEST, on utilise une impulsion de fréquence unique. Il est désormais connu que dans ce cas là, un phénomène supplémentaire doit être pris en compte dans la modélisation de l'effet MT : l'ordre dipolaire (Alsop et al., 2023). Dans les tissus semi-solides, les spins auront tendance à s'aligner sur les champs dipolaires locaux, avec un temps caractéristique T_{1D} lié à ce phénomène de l'ordre de quelques millisecondes. En terme de modélisation, cet effet d'ordre dipolaire agit comme un réservoir de spins couplés échangeant avec le compartiment MT, et diminuera donc l'absorption effective du compartiment MT.

Les équations de Provotorov sont classiquement utilisées pour décrire ce phénomène d'ordre dipolaire (Provotorov, 1962), mais pour nos expériences CEST nous utiliserons une solution simplifiée supposant l'état stationnaire (qui est normalement atteint après une saturation de quelques secondes). La fonction d'absorption du compartiment MT en prenant en compte l'ordre dipolaire est alors modifiée ainsi (Alsop et al., 2023) :

$$R_{\text{rfMT}}^{\text{DO}} = \frac{R_{\text{rfMT}}}{1 + T_{1D} R_{\text{rfMT}} \left(\frac{\omega}{D}\right)^2} \quad (\text{IV .8})$$

où D est le champ dipolaire local (pour une fonction superlorentzienne, on aura $D = 1/\sqrt{15}T_2^{\text{MT}}$). On observe que la fonction d'absorption du compartiment MT est diminuée par un facteur qui augmente avec la puissance B_1 (voir figure 46a). Tandis qu'à basse puissance B_1 cette correction d'ordre dipolaire peut être négligée sans problème, on note qu'elle peut devenir significative dès 3 μT pour des gammes de fréquences entre ± 10 à ± 40 ppm. Proche de la résonance de l'eau en revanche, entre -5 et + 5 ppm, la correction d'ordre dipolaire reste relativement minime, expliquant pourquoi la majorité des travaux de modélisation CEST ne la prennent pas en compte. Dans cette thèse, nous négligerons souvent la correction d'ordre dipolaire, mais nous l'incluerons dans les expériences de modélisation plus poussées du chapitre VIII .

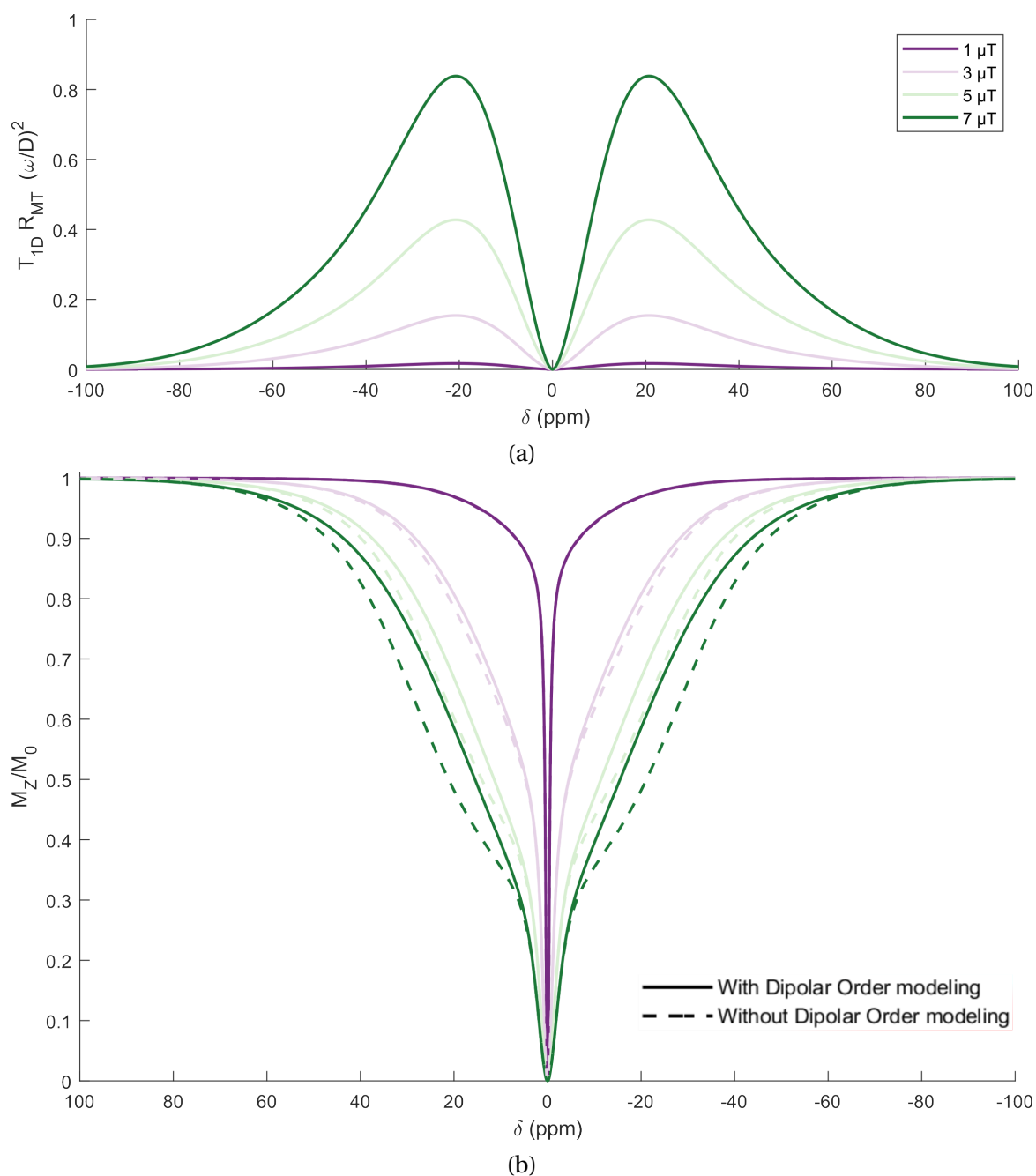


FIGURE 46 – Effet de l'ordre dipolaire sur la modélisation MT à 11,7T, en supposant un T_{1D} de 6 ms, une forme d'absorption super-lorentzienne et un T_2^{MT} de 10 μs . (a) Évolution du facteur de « scaling » de la fonction d'absorption MT dû à l'effet d'ordre dipolaire pour différentes puissances B_1 . (b) Simulation de l'effet MT, avec et sans prise en compte de l'ordre dipolaire, en considérant une fraction protonique f_H^{MT} de 10%, un taux d'échange k_{ex}^{MT} de 20 Hz, une résonance du compartiment MT à 0 ppm, un T_1^w de 2 s, et T_2^w de 30 ms.

3 . SIMULATIONS DES ÉQUATIONS DE BLOCH-MCCONNELL

Lors d'une expérience CEST, on applique un module de saturation pendant un temps t_{sat} pendant lequel les dynamiques d'aimantation sont régies par les équations de Bloch-McConnell. La mesure CEST s'effectue classiquement à la fin de ce module de saturation. Ainsi, pour simuler l'effet CEST que l'on observera expérimentalement, il faut résoudre les équations de Bloch-McConnell au temps $t=t_{\text{sat}}$. Plusieurs approches existent dans la littérature.

3.1 . Solution numérique

L'approche la plus directe, et qui a le mérite de ne faire aucune approximation, est la résolution numérique des équations de Bloch-McConnell (Woessner et al., 2005). Celle-ci s'avère relativement simple, compte tenu du fait que l'équation (IV .5) est une équation matricielle différentielle du premier ordre. Dans le cas d'un schéma de saturation CEST continu, c'est-à-dire qu'il n'implique qu'une impulsion RF carrée, alors tous les coefficients de la matrice \mathbf{A} sont constants, et la solution des équations de Bloch-McConnell s'écrit :

$$\vec{M} = \exp_m(\mathbf{A}t_{\text{sat}}) \cdot (\vec{M}_0 + \mathbf{A}^{-1}\vec{C}) - \mathbf{A}^{-1}\vec{C} \quad (\text{IV} .9)$$

Numériquement, cette résolution ne demande "que" d'inverser la matrice \mathbf{A} et de calculer une exponentielle matricielle, ce qui reste tout de même plus rapide que les algorithmes classiques de résolution d'équations différentielles ordinaires (ODE) (Shampine et al., 1975). Ajoutons cependant que, si le déterminant de la matrice \mathbf{A} est proche de zéro, son inversion peut se révéler compliquée numériquement et mener à des instabilités numériques. Dans ce cas là, une simulation ODE est préférable. Néanmoins, la matrice \mathbf{A} possédant uniquement des coefficients positifs non nuls sur sa diagonale, son déterminant est en général supérieur à 0 et elle peut être inversée.

En revanche, dans le cas d'une impulsion RF dont l'amplitude $\omega_1(t)$ varie au cours du module de saturation, la résolution numérique nécessite de fragmenter la durée de saturation en intervalles δt et de calculer successivement des solutions intermédiaires pour chaque temps t jusqu'à arriver à t_{sat} :

$$\vec{M}(t) = \exp_m(\mathbf{A}_t t) \cdot (\vec{M}_{t-\delta t} + \mathbf{A}_t^{-1}\vec{C}_t) - \mathbf{A}_t^{-1}\vec{C}_t \quad (\text{IV} .10)$$

Les codes pour cette simulation numérique sont disponibles sur https://github.com/CMaguin/CEST_modeling_toolbox. Citons également que, dans le cadre du projet *MRI Together*, Herz et al., 2021 ont publié en open-source un code de coeur C++, avec interface Python ou Matlab, surnommé Pulseq-CEST, permettant une **simulation numérique accélérée et standardisée** de l'effet CEST.

3.2 . Solution analytique

En 2013, Moritz Zaiss et Peter Bachert proposent également une solution pseudo-analytique des équations de Bloch-McConnell reposant sur certaines approximations décrites dans Zaiss et Bachert, 2013b. Une démonstration résumée est proposée dans cette section.

3.2.1 . Approche de valeur propre unique

La solution analytique peut être trouvée en se plaçant dans l'espace des vecteurs propres \vec{v}_n de la matrice \mathbf{A} de l'équation IV .5. L'équation se résout alors par :

$$\vec{M}(t) = \sum_{n=1}^{3 \times N} e^{\lambda_n t} \vec{v}_n + \vec{M}^{ss} \quad (\text{IV.11})$$

avec λ_n les valeurs propres de \mathbf{A} et \vec{M}^{ss} la solution stationnaire de l'équation.

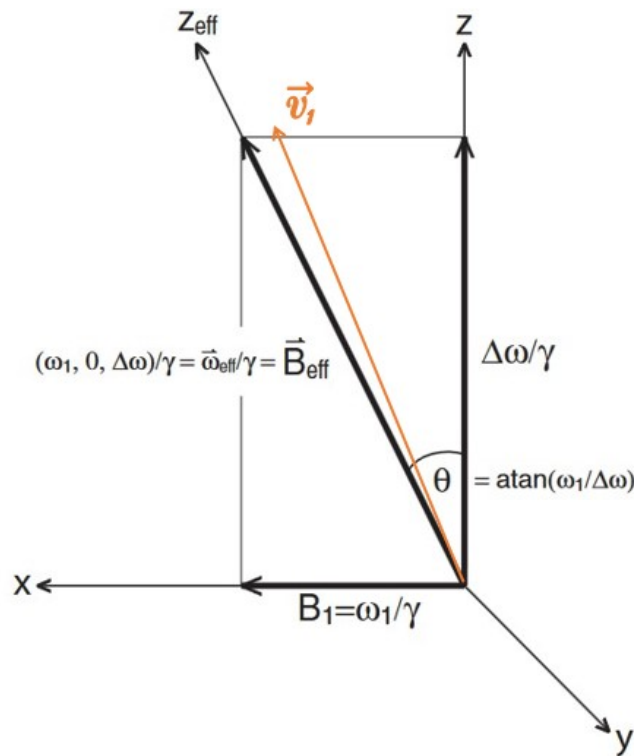


FIGURE 47 – Champ effectif $\vec{\omega}_{eff}$ défini dans le référentiel tournant (x,y,z) . Le vecteur propre prédominant \vec{v}_1 est aussi représenté, quasiment colinéaire au champ effectif comme démontré par Zaiss et Bachert dans [Zaiss et Bachert, 2013b](#) et [Zaiss et Bachert, 2013a](#), dont la figure est empruntée.

L'approximation principale consiste ici à considérer que la solution analytique peut entièrement être décrite par un seul vecteur propre \vec{v}_1 , en l'occurrence celui qui est quasiment colinéaire au champ effectif dans le référentiel tournant $\vec{\omega}_{eff} = (\omega_1, 0, \Delta\omega = \omega - \omega_w)$ (voir figure 47). En approximant une parfaite colinéarité, la solution analytique de l'effet CEST, souvent dénommée "solution de valeur propre unique", peut alors s'écrire :

$$\vec{M}(t) \approx e^{\lambda_1 t} \|\vec{v}_1\| \cdot \vec{z}_{eff} + \vec{M}^{ss} \quad (\text{IV.12})$$

avec λ_1 la valeur propre associée au vecteur \vec{v}_1 .

Définissons $\theta = \text{atan}(\omega_1/(\omega - \omega_w))$, l'angle que fait le référentiel effectif du champ $\vec{\omega}_{eff}$ avec la direction longitudinale \vec{z} (voir figure 47). À $t = 0$, l'aimantation est basculée dans le référentiel tournant selon \vec{z}_{eff} .

En utilisant la condition initiale $\vec{M}(t=0) = \vec{M}_0 \cdot \vec{z}_{eff} \vec{z}_{eff} = M_0 \cos(\theta) \vec{z}_{eff}$, on obtient alors :

$$\vec{M}(t) \approx e^{\lambda_1 t} (\cos(\theta) M_0 - \vec{M}^{ss} \cdot \vec{z}_{eff}) \cdot \vec{z}_{eff} + \vec{M}^{ss} \quad (\text{IV.13})$$

L'aimantation mesurée expérimentalement est l'aimantation longitudinale selon \vec{z} :

$$M_z(t) = \vec{M}(t) \cdot \vec{z} = e^{\lambda_1 t} (\cos(\theta) M_0 - \vec{M}^{ss} \cdot \vec{z}_{eff}) \cos(\theta) + \vec{M}^{ss} \cdot \vec{z} \quad (\text{IV.14})$$

soit finalement :

$$Z(\omega, \omega_1, t) = \frac{M_z(\omega, \omega_1, t)}{M_0} = (\cos^2(\theta) - Z^{ss})e^{\lambda_1 t} + Z^{ss} \quad (\text{IV .15})$$

La solution stationnaire peut être dérivée de l'équation (IV .5) en posant $\frac{d\vec{M}}{dt} = 0$ (voir [Zaiss et Bachert, 2013b](#) pour le détail de calcul) :

$$Z^{ss} = -\frac{\cos^2(\theta)}{T_1^w \lambda_1} \quad (\text{IV .16})$$

La valeur propre unique λ_1 associée à cette solution peut être assimilée à ce qu'on dénomme le taux de relaxation effectif dans le référentiel tournant, noté $R_{1\rho} \approx -\lambda_1$, et s'exprime sous la forme d'une somme des contributions des différents compartiments du modèle CEST :

$$-\lambda_1 = R_{1\rho} = R_{\text{eff}} + \sum_{i=1}^{N-1} R_{\text{ex}}^i \quad (\text{IV .17})$$

où R_{eff} , le taux de relaxation effectif de l'eau dans le référentiel tournant, vaut :

$$R_{\text{eff}} = \frac{\cos^2(\theta)}{T_1^w} + \frac{\sin^2(\theta)}{T_2^w} \quad (\text{IV .18})$$

et les R_{ex}^i correspondent aux taux de relaxation effectifs échange-dépendants des métabolites dans le référentiel tournant.

3.2.2 . Taux de relaxation effectif des métabolites R_{ex}

Les taux de relaxations effectifs des métabolites peuvent se calculer de différentes façons selon les approximations faites, mais la forme la plus générale dans le cas de populations assymétriques ($k_{wi} \ll k_{iw}$, c'est-à-dire $f_i \ll 1$) est :

$$R_{\text{ex}}^i = \underbrace{\frac{\omega_1^2}{\Gamma^2/4 + (\omega - \omega_i)^2}}_{\text{terme résonant à } \omega_i} \times \left(\underbrace{f_i k_{iw} \frac{(\omega_i - \omega_w)^2}{\omega_1^2 + (\omega - \omega_w)^2}}_{\text{terme d'interférence avec l'eau}} + \underbrace{\frac{f_i}{T_2^i}}_{\text{terme en } T_2^i} + \underbrace{\frac{f_i k_{iw}}{T_2^i} \frac{1/T_2^i + k_{iw}}{\omega_1^2 + (\omega - \omega_w)^2}}_{\text{terme croisé}} \right) \quad (\text{IV .19})$$

où :

$$\Gamma = 2\sqrt{\frac{k_{iw} + 1/T_2^i}{k_{iw}}\omega_1^2 + (k_{iw} + 1/T_2^i)^2} \quad (\text{IV .20})$$

On comprend que la réponse CEST est d'abord modulée par un terme multiplicatif qui est maximum à $\omega = \omega_i$, la fréquence de résonance du soluté i . Ensuite, dans la parenthèse, différents termes interviennent, mais le terme généralement prépondérant est le terme en k_{iw} . Les deux autres termes (terme en T_2^i et terme croisé) sont d'ailleurs souvent négligés si les hypothèses le permettent, à savoir si $1/T_2^i \ll k_{iw}$ et si $(1/T_2^i + k_{iw})/T_2^i \ll \delta\omega_i^2$.

Dans le terme en k_{iw} , on remarque qu'intervient un terme résonant à ω_w : on retrouve ici l'influence de la saturation directe de l'eau. En particulier, si le soluté considéré résonne proche de la résonance de l'eau, c'est-à-dire si $\delta\omega_i = (\omega_i - \omega_w)$ est petit, alors la réponse CEST s'en retrouve diminuée : c'est l'effet d'interférence de saturation directe de l'eau abordé dans le chapitre précédent. En revanche, si l'on se place dans l'hypothèse de large déplacement chimique ($\delta\omega_i \gg \omega_1$), alors, lorsqu'on évalue l'effet CEST proche de la fréquence de résonance de l'agent CEST, le terme d'interférence de saturation directe de l'eau vaut 1, et la réponse CEST n'est pas perturbée.

Comme également évoqué dans le chapitre III , Γ correspond ici à une largeur à mi-hauteur de la réponse CEST. On retrouve d'ailleurs cette expression du taux de relaxation R_{ex}^i plus explicitement écrite sous la forme d'une lorentzienne :

$$R_{\text{ex}}^i = \frac{R_{\text{ex}}^{i,\text{MAX}}\Gamma^2/4}{\Gamma^2/4 + (\omega - \omega_i)^2} \quad (\text{IV .21})$$

avec, en utilisant la relation $\sin^2(\theta) = \frac{\omega_1^2}{\omega_1^2 + (\omega - \omega_w)^2}$:

$$R_{\text{ex}}^{i,\text{MAX}} = \frac{f_i k_{wi} \sin^2(\theta)}{\Gamma^2/4} \left((\omega_w - \omega_i)^2 + \frac{\omega_1^2 + (\omega - \omega_w)^2}{T_2^i k_{wi}} + \frac{1 + T_2^i k_{wi}}{(T_2^i)^2} \right) \quad (\text{IV .22})$$

Des codes Matlab ou Python pour cette simulation analytique sont disponibles sur https://github.com/CMaguin/CEST_modeling_toolbox.

3.2.3 . Modification de la solution analytique pour prendre en compte l'effet MT

Dans la résolution analytique des équations de Bloch-McConnell, l'effet MT s'incorpore en rajoutant un taux de relaxation effectif R_{ex}^{MT} du pool MT au calcul de $R_{1\rho}$. Comme le pool MT in vivo peut présenter une fraction protonique non négligable, jusqu'à 15-20% dans la matière blanche (G. J. Stanisz et al., 2005), il convient également de rajouter un terme de correction à la pondération des R_{ex}^i des solutés (Zaiss, Zu et al., 2015) :

$$R_{1\rho} = R_{\text{eff}} + R_{\text{ex}}^{MT} + \frac{\sum_{i=1}^{N-1} R_{\text{ex}}^i}{1 + f_{MT}} \quad (\text{IV .23})$$

3.2.4 . Quelques remarques sur la validité de la solution analytique

Les différentes conditions sous lesquelles la solution analytique des équations de Bloch-McConnell est valide sont les suivantes :

- **Approximation de valeur propre unique** : Il s'agit de l'hypothèse sous laquelle la valeur propre λ_1 de la matrice \mathbf{A} est prépondérante, c'est-à-dire qu'elle est largement plus petite que les autres. [Zaiss et Bachert, 2013b](#) montre que cette condition est satisfaite en supposant que :

$$\begin{cases} t_{\text{sat}} \gg T_2^w \\ \omega_{\text{eff}} \gg 1/T_2^w \end{cases} \quad (\text{IV} .24)$$

Ces deux hypothèses se vérifient aisément in vivo, où le T_2^w est de l'ordre de 10 à 100 ms, tandis qu'on choisit usuellement des temps de saturation de l'ordre de la seconde. La deuxième hypothèse se vérifie également souvent lorsqu'on s'éloigne légèrement de la résonance de l'eau. Par exemple, à $B_0=7$ T et avec un B_1 nul, en se plaçant à 0,5 ppm de la résonance de l'eau, $\omega_{\text{eff}} \sim 1000 \text{ s}^{-1} \gg 1/T_2^w \sim 10 \text{ à } 100 \text{ s}^{-1}$.

En revanche, ces hypothèses sont un peu plus incertaines in vitro, où les fantômes de solution aqueuses peuvent avoir un T_2^w élevé, entre 100 et 1000 ms.

- **Approximation de colinéarité entre le vecteur propre \vec{v}_1 et \vec{z}_{eff}** : Dans l'article originel de [Zaiss et Bachert, 2013b](#), il est démontré numériquement que cette hypothèse est souvent satisfaite, mais qu'il existe quelques cas limites : par exemple, proche de la résonance de l'eau si la puissance B_1 est faible, ou encore si la fraction protonique est élevée ($f_i \approx 10\%$) et que le taux d'échange entre le soluté et l'eau k_{iw} est trop important.
- **Approximation de populations asymétriques** :

$$f_i \ll 1 \quad (\text{IV} .25)$$

ce qui est le cas en général pour tous les métabolites en milieu aqueux, où l'on trouve typiquement des fractions protoniques entre 10^{-6} et 10^{-3} .

- **Approximation de relaxation longitudinale négligable** :

$$1/T_1^i \ll k_{iw} \quad (\text{IV} .26)$$

ce qui est très souvent le cas, tant que les métabolites ont des taux d'échanges $k_{iw} > 10 \text{ s}^{-1}$, vu que $\frac{1}{T_1^i}$ est de l'ordre de la s^{-1} .

3.3 . Simulation assistée par machine learning

Une manière un peu moins conventionnelle de simuler l'effet CEST est d'entraîner un algorithme de machine learning sur un set de simulations de références, par exemple numériques, afin de jouer le rôle de simulateur CEST. Cette méthode de simulation indirecte est souvent utilisée pour pouvoir générer des simulations très rapidement et sans coûter trop de puissance de calcul, par exemple lorsqu'on veut fitter un grand nombre données, ou lors de démarches d'optimisation de protocoles CEST, avec des fonctions-objectif impliquant des simulations (voir chapitre X).

Le principe est simple : on peut utiliser un réseau de neurones, prenant en entrée les différentes variables de la simulation et donnant en sortie le signal CEST attendu. Les paramètres d'entrée peuvent être divers en fonction des besoins de simulations : on peut y mettre les paramètres

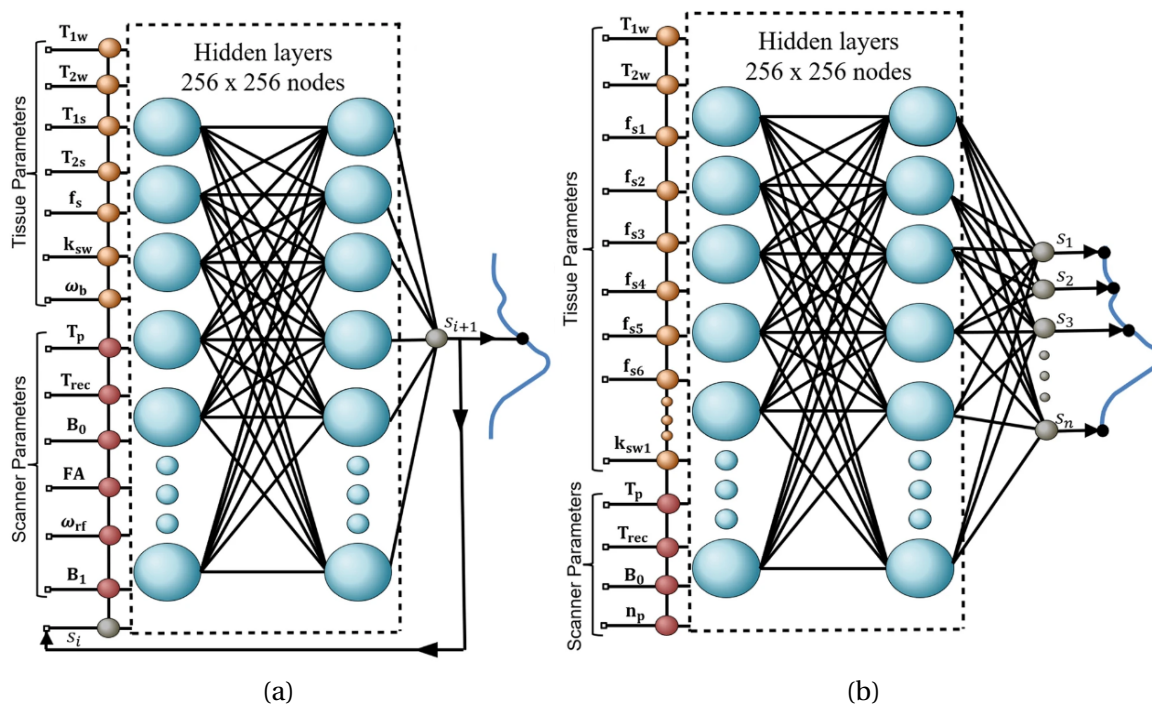


FIGURE 48 – Exemples de simulateurs CEST par deep learning, tirés de [Nagar et al., 2023](#). (a) Exemple d'un réseau de neurone simulant un système à deux compartiments, conçu pour l'optimisation d'un planning d'acquisition et donc avec beaucoup de flexibilité sur les variables d'acquisition en entrée. (b) Exemple d'un réseau de neurones pouvant simuler un effet CEST en prenant en compte jusqu'à 6 compartiments, mais toujours sur le même schéma d'acquisition de n points.

biologiques, comme les concentrations, taux d'échange, T_1 , ou T_2 , ... et les paramètres d'acquisition, comme les caractéristiques du module de saturation ou de séquence, ou encore le champ B_0 . En fonction des besoins, on peut imaginer des simulateurs plus ou moins agiles. Par exemple, la figure 48a présente un réseau de neurone qui ne peut simuler qu'un système à deux compartiments, mais qui prend en compte beaucoup de variables concernant les paramètres d'acquisition en entrée. En particulier, ce modèle prend en compte le point d'acquisition précédent pour simuler la récupération d'aimantation avant un nouveau point d'acquisition, ce qui est très intéressant pour les expériences de design de schémas de fingerprinting (voir chapitre V). L'exemple en figure 48b représente un réseau de neurones simulant des systèmes à plus que 2 compartiments, mais qui a moins de flexibilité sur les paramètres expérimentaux, et qui simulera des données toujours avec le même schéma d'acquisition de routine.

Pour pouvoir simuler l'effet CEST correctement, le réseau de neurones doit être entraîné sur un set de données générées en amont. Le set de données d'entraînement doit être représentatif de toute la variabilité que l'on peut attendre des paramètres d'entrée du réseau de neurones. On comprend ainsi que s'il on veut entraîner un réseau de neurones capable de prendre en compte beaucoup de paramètres variables en entrée, il faut générer un grand set de données, allouer une grande puissance et temps de calcul à l'entraînement, et potentiellement prévoir un réseau plus complexe (c'est-à-dire avec plus couches et/ou plus de noeuds par couches, et donc fatalement de plus long temps de calculs). Il y a donc une question de compromis entre la généralité et l'agilité du simulateur que l'on veut créer et la puissance de calcul disponible. En général, il est préférable de simplifier au maximum les variables d'entrée du réseau de neurones, car autrement on se retrouve

avec des tailles de set d'entraînement qui prennent des jours à générer et à entraîner. De plus, à trop vouloir généraliser, on risque d'augmenter les erreurs de prédiction du réseau de neurones, comme démontré par (Nagar et al., 2023).

3.4 . Comparaison des différentes méthodes de simulation

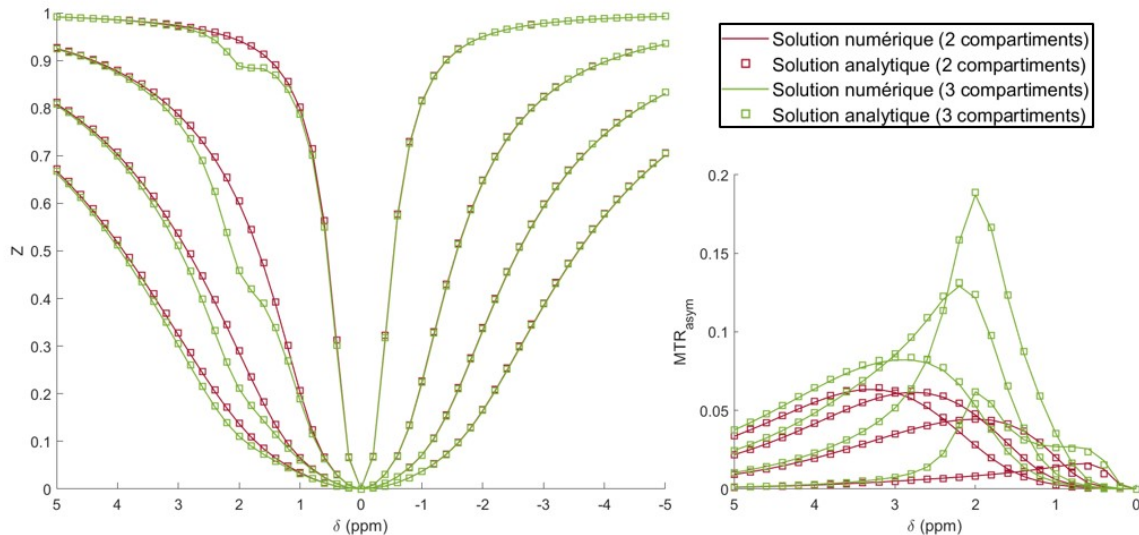


FIGURE 49 – Simulations analytiques et numériques de l'effet CEST dans un modèle à deux compartiments (eau et glutamate) et dans un modèle à 3 compartiments (eau, glutamate et créatine). Le code utilisé pour cette simulation peut être retrouvé sur https://github.com/CMaguin/CEST_modeling_toolbox.

En général, les simulations numériques et analytiques donnent généralement des résultats tout à fait en accord, comme on peut le voir en figure 49. En revanche, la solution analytique est beaucoup plus rapide numériquement à calculer, entre 10 à 1000 fois plus rapide (voir figure 50). Ainsi, lorsqu'on cherche à faire de l'ajustement de données, à l'aide de simulations itératives, et ce sur un nombre conséquent de pixels, la solution analytique est très avantageuse, et permet de raccourcir considérablement les temps d'analyses.

Par manque de ressources de calcul et de temps, les simulations par réseau de neurones n'ont pas pu être testées pendant cette thèse. Cependant, Nagar et al., 2023 rapportent qu'un réseau de neurones correctement entraîné donnera également de bonnes prédictions avec un temps de calcul 60 000 fois plus faible que des simulations numériques.

On peut résumer les avantages et inconvénients des différentes méthodes de simulations ainsi :

Dans cette thèse, des simulations pseudo-analytiques ont principalement été utilisées, pour cause de ressources de calcul limitées.

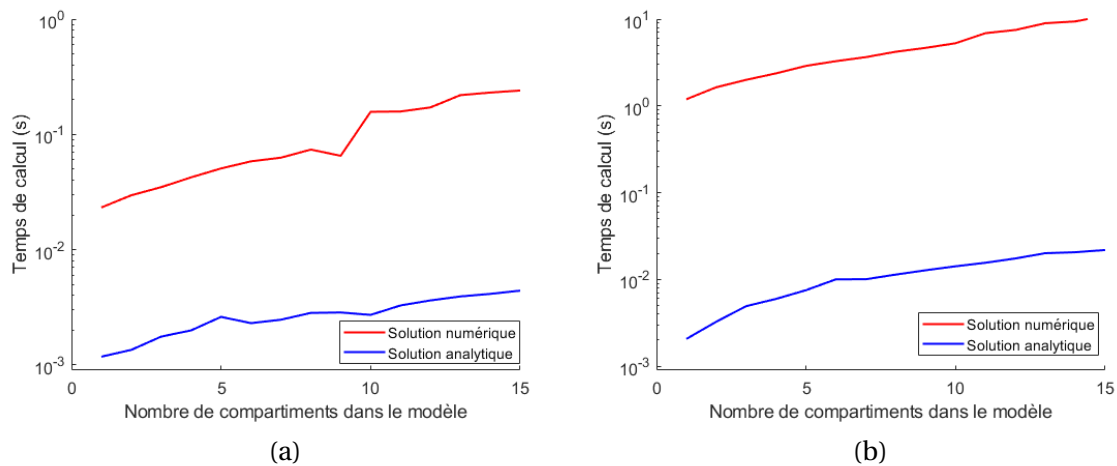


FIGURE 50 – Exemple de comparaison des temps de calculs entre les solutions numériques et pseudo-analytiques pour simuler aléatoirement des Z-spectra de 51 offsets en mode (a) saturation continue et (b) saturation avec un train d’impulsions gaussiennes. Ici, les calculs ont été effectués sous Matlab avec un CPU 8 coeurs - Intel i3-1125G4 (2.00 GHz).

Type de simulation	ODE	Numérique (par inversion de A)	Pseudo-analytique	Réseau de neurones
Temps de calcul	~ 1 s	~ 10-100 ms	~ 1-10 ms	<1 ms
Fiabilité	Référence.	Référence. Standardisée avec PyPulseq-CEST.	Globalement fiable mais peut avoir des déviations systématiques dues aux approximations réalisées	A priori fiable mais exactitude à tester après l’entraînement. Compromis agilité /fiabilité à choisir
Inconvénient	Très long	Long	Les déviations dues aux approximations peuvent s’accumuler lors de simulations en saturation pulsée	Besoin d’une grande puissance de calcul pour entraîner

TABLE 1 – Résumé des caractéristiques des différents types de simulation CEST : temps de calcul approximatifs pour un offset ω_{sat} d’un Z-spectrum, et notes sur la fiabilité des simulations.

4. SIMULATION DE L'EFFET CEST IN VIVO : ÉTAT DES CONNAISSANCES SUR LES DIFFÉRENTS AGENTS CEST ENDOGÈNES

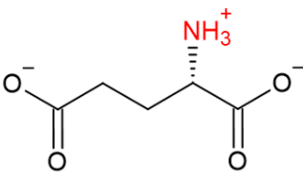
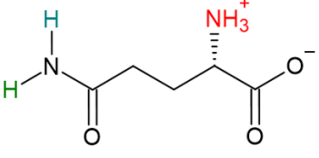
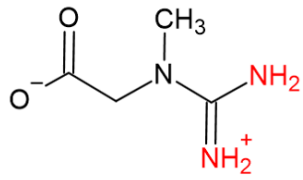
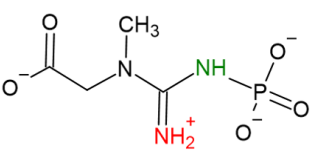
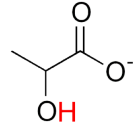
Le tableau qui suit récapitule les agents CEST endogènes connus aujourd’hui pour donner un effet CEST dans le cerveau et leurs paramètres de modélisation rapportés dans la littérature. À noter que l’effet CEST de certains métabolites, comme par exemple la taurine ou la glutamine, n’a jamais été explicitement démontré in vivo. On théorise qu’il existe, mais son effet est dur à distin-

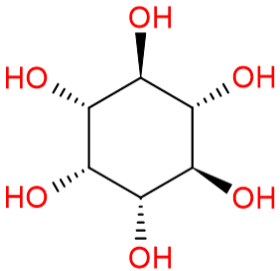
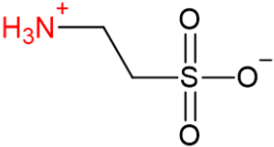
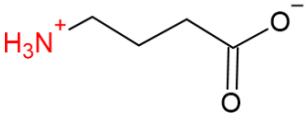
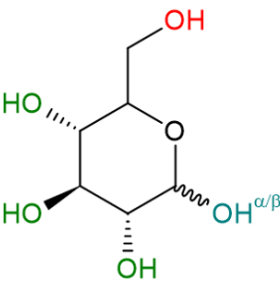
guer in vivo des effets CEST des autres métabolites (par exemple, pour la taurine, car son effet est très diffus sur le Z-spectrum à cause d'un taux d'échange très rapide). En revanche, pour l'acide N-acétylaspartique (NAA), qui possède une fonction amine secondaire, aucun effet CEST n'a jamais été observé in vitro (Khlebnikov et al., 2019; Wermter et al., 2015), et donc a fortiori in vivo.

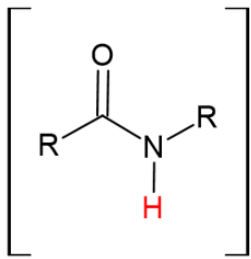
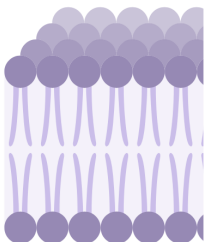
La liste des métabolites détaillée ici n'est pas exhaustive. Par exemple, des études in vitro ont démontré un effet CEST à certains métabolites, comme l'aspartate ou l'alanine (Wermter et al., 2015), mais qui sont en concentrations probablement trop faibles in vivo pour obtenir un signal CEST significatif. Enfin, ajoutons que pour les phénomènes MT et NOE, les paramètres de modélisation indiqués dans le tableau sont ceux qui ont pu être rapportés dans la littérature, mais sont très modélisation-dépendants (voir section 2.2).

Ici, nous nous sommes abstenus de rapporter les T_2^s des différents métabolites étudiés. En effet, on peut supposer que les T_2^s estimés quasiment uniquement in vitro ne sont pas représentatifs des T_2^s qui pourront effectivement exister in vivo. De plus, le T_2^s n'est pas un paramètre qui module très fortement l'effet CEST (voir figure annexe 129), et il est par conséquent ardu de l'estimer à partir de mesures CEST. Wermter et al., 2015 par exemple, ont fixés les T_2^s de tous les métabolites à une valeur arbitraire plutôt que d'essayer de l'estimer pendant leurs modélisations de données in vitro.

TABLE 2 – Tableau récapitulatif des différents acteurs endogènes pouvant participer à l'effet CEST dans le cerveau. Dans ce tableau, le terme in vitro pour la mesure des taux d'échange désigne par défaut des mesures dans du PBS 10mM et à pH=7 (ce qui est le plus couramment rapporté dans la littérature). GM = Matière Grise; WM = Matière blanche.

Métabolite	Résonance	Taux d'échange	Concentration in vivo
<p>Glutamate</p> 	$\delta^1 = 3.0 \text{ ppm}^*$ (3H)	<p>In vitro : 5500 Hz (37°C)¹ 7480 Hz (37°C)² 7248 Hz (37°C)³ 6500 Hz (23°C, pH 7.3)⁴ Chez le rat : Estimé à 2000 Hz¹</p>	<p>Chez le rat : [Glu] \approx 9 mM^{5,6} Chez la souris : [Glu] \approx 6-10 mM⁷⁻¹⁰ Chez l'humain (GM) : [Glu] \approx 8-13 mM^{11,12} Chez l'humain (WM) : [Glu] \approx 5-8 mM^{11,12}</p>
<p>Glutamine</p> 	$\delta^1 \approx 3.0 \text{ ppm}$ (3H)	<p>In vitro : 8494 Hz (22°C)³ 22880 Hz (37°C)²</p>	<p>Chez le rat : [Gln] \approx 3-4 mM^{5,6} Chez la souris : [Gln] \approx 2-4 mM⁷⁻¹⁰ Chez l'humain : [Gln] \approx 2-3 mM¹³</p>
	$\delta^2 \approx 2.15 \text{ ppm}$ (1H)	<p>In vitro : 17 Hz (37°C)²</p>	
	$\delta^3 \approx 2.9 \text{ ppm}$ (1H)	<p>In vitro : 49 Hz (37°C)²</p>	
<p>Créatine</p> 	$\delta^1 = 2.0 \text{ ppm}$ (4H)	<p>In vitro : 810 Hz (37°C)² 950 Hz (37°C)¹⁴ 240 Hz (pH 7.3, 23°C)⁴ 1190 Hz (37°C)¹⁵ Chez la souris : 240-480 Hz¹⁶</p>	<p>Chez le rat : [Cr] \approx 4 mM⁵ Chez la souris : [Cr] \approx 3-5 mM⁸⁻¹⁰ Chez l'humain (GM) : [Cr] \approx 5-10 mM¹⁷ Chez l'humain (WM) : [Cr] \approx 3-6 mM¹⁷</p>
<p>Phosphocréatine</p> 	$\delta^1 \approx 1.9 \text{ ppm}$ (2H)	<p>In vitro : 67 Hz (37°C)² 120 Hz (37°C)¹⁴</p>	<p>Chez le rat : [PCr] \approx 5 mM⁵ Chez la souris : [PCr] \approx 3-4 mM⁸⁻¹⁰ Chez l'humain : [Cr]/[PCr] \approx 1¹⁸</p>
	$\delta^2 \approx 2.6 \text{ ppm}$ (1H)	<p>In vitro : 126 Hz (37°C)² 140 Hz (37°C)¹⁴</p>	
<p>Lactate</p> 	$\delta^1 \approx 0.4 \text{ ppm}$ (1H)	<p>In vitro : 550 Hz (37°C)³⁵</p>	<p>Chez le rat : [Lac] \approx 2 mM⁵ Chez la souris : [Lac] \approx 1-4 mM⁷⁻¹⁰ Chez l'humain (WM) : [Lac] \approx 1 mM¹⁷</p>

<p>Myo-Inositol</p> 	$\delta^1 \approx 1.0 \text{ ppm}$ (6H)	<p>In vitro : 2090 Hz (37°C)² 600 Hz (pH 7.4, 23°C)¹⁹ 1381 Hz (23°C)⁴</p>	<p>Chez le rat : [Ins] $\approx 6 \text{ mM}$⁵ Chez la souris : [Ins] $\approx 4\text{-}7 \text{ mM}$⁷⁻¹⁰ Chez l'humain (GM) : [Ins] $\approx 6\text{-}8 \text{ mM}$^{12,17} Chez l'humain (WM) : [Ins] $\approx 4\text{-}5 \text{ mM}$^{12,17}</p>
<p>Taurine</p> 	$\delta^1 \approx 3.0 \text{ ppm}$ (3H)	<p>In vitro : 49600 Hz (37°C)² 9520 Hz (23°C)³ Entre 1080 et 6070 Hz (pH=6.2, 23°C)²⁰</p>	<p>Chez le rat : [Tau] $\approx 6 \text{ mM}$⁵ Chez la souris : [Tau] $\approx 8\text{-}14 \text{ mM}$⁷⁻¹⁰ Chez l'humain (GM) : [Tau] $\approx 1.5 \text{ mM}$^{12,17} Chez l'humain (WM) : [Tau] $\approx 1 \text{ mM}$^{12,17}</p>
<p>GABA</p> 	$\delta^1 \approx 2.9 \text{ ppm}$ (3H)	<p>In vitro : 6900 Hz (37°C)² 4814 Hz (37°C)³</p>	<p>Chez le rat : [GABA] $\approx 2 \text{ mM}$^{5,6} Chez la souris : [GABA] $\approx 1\text{-}4 \text{ mM}$⁷⁻¹⁰ Chez l'humain (GM) : [GABA] $\approx 2 \text{ mM}$^{6,17} Chez l'humain (WM) : [GABA] $\approx 1.5 \text{ mM}$¹⁷</p>
<p>D-Glucose</p> 	$\delta^1 \approx 0.7 \text{ ppm}$ (1H)	<p>In vitro : 950 Hz (37°C)² 1570 Hz (pH 7.2)²¹</p>	<p>Chez le rat : [Glc] $\approx 2 \text{ mM}$⁵ Chez la souris : [Glc] $\approx 1\text{-}3 \text{ mM}$⁷⁻¹⁰</p>
$\delta^2 \approx 1.3 \text{ ppm}$ (3H)	<p>In vitro : 2560/3940 Hz (37°C)² 7360 Hz (pH 7.2)²¹ 3421 Hz (25°C)²²</p>	<p>Chez l'humain (GM) : [Glc] $\approx 1 \text{ mM}$¹⁷ Chez l'humain (WM) : [Glc] $\approx 1 \text{ mM}$¹⁷</p>	
$\delta^{3\alpha} \approx 2.1 \text{ ppm}$ (ARxH)	<p>In vitro : 3860 Hz (37°C)² 5662 Hz (pH 7.2)²¹</p>	<p>Anomeric Ratio α/β : $AR = \frac{[Glc]^\alpha}{[Glc]^\alpha + [Glc]^\beta}$ À l'équilibre, AR=0.36</p>	
$\delta^{3\beta} \approx 2.88 \text{ ppm}$ ((1-AR)xH)	<p>In vitro : 4750 Hz (37°C)² 10000 Hz (pH 7.2)²¹</p>		

<p style="text-align: center;">Amides</p> 	$\delta^1 = 3.5$ ppm	<p>Chez le rat : 22 Hz²³, 24 Hz²⁴, 29 Hz²⁵</p> <p>Chez l'humain (GM) : 14.7 Hz²⁶, 365 Hz²⁷, 282 Hz²⁸</p> <p>Chez l'humain (WM) : 17.8 Hz²⁶, 342 Hz²⁷, 281 Hz²⁹</p>	<p>Chez le rat : $f_{\text{APT}} \approx 0.6\text{-}2\%$^{23,29}</p> <p>Chez l'humain (GM) : $f_{\text{APT}} \approx 0.2\text{-}0.3\%$^{26,27}</p> <p>Chez l'humain (WM) : $f_{\text{APT}} \approx 0.2\text{-}0.3\%$^{26,27}</p>
<p style="text-align: center;">NOE</p> 	$\delta^1 = -1.6$ ppm	<p>Inconnu Supposé entre 10 et 50 Hz^{30,31}</p>	<p>Inconnu (ratio $\text{AREX}^{\frac{-3.5\text{ppm}}{-1.6\text{ppm}}} \approx 2$ chez le rat)³²</p>
	$\delta^2 = -3.5$ ppm	<p>Chez le rat : 16.3 Hz²⁴</p> <p>Chez l'humain (GM) : 24.5 Hz²⁹</p> <p>Chez l'humain (WM) : 27.5 Hz²⁹</p>	<p>Chez le rat : $f_{\text{NOE}}=0.66\%$²⁴</p> <p>Chez l'humain (GM) : $f_{\text{NOE}}=1.18\%$²⁹</p> <p>Chez l'humain (WM) : $f_{\text{NOE}}=2.39\%$²⁹</p>
MT	<p style="text-align: center;"><u>Incertain</u> Chez l'humain : -2.34 ppm³³</p>	<p>Toutes espèces : Entre 20 et 80 Hz^{29,33,34}</p>	<p>$f_{\text{MT}} \approx 5 - 10\%$ (GM) $f_{\text{MT}} \approx 10 - 20\%$ (WM) ^{26,29,33,34}</p>

¹ K. Cai et al., 2012² Khlebnikov et al., 2019³ Wermter et al., 2015⁴ Yadav et al., 2014⁵ Lopez-Kolkovsky et al., 2016⁶ P. C. M. Van Zijl et Barker, 1997⁷ Duarte et al., 2014⁸ Kulak et al., 2010⁹ Lei et al., 2010¹⁰ Tkac et al., 2007¹¹ Choi et al., 2006¹² Michaelis et al., 1993¹³ Y. Zhang et al., 2016¹⁴ Haris, Nanga et al., 2012¹⁵ Goerke et al., 2014¹⁶ Z. Zhang et al., 2023¹⁷ Govindaraju et al., 2000¹⁸ De Graaf, 2007¹⁹ Haris, K. Cai et al., 2011²⁰ Kujawa et al., 2019²¹ Zaiss, Anemone et al., 2019²² Aroulmoji et al., 2012²³ J. Zhou, Payen et al., 2003²⁴ Heo, Y. Zhang et al., 2016²⁵ Ji et al., 2023²⁶ Chappell et al., 2013²⁷ Heo, Han et al., 2019²⁸ Msayib et al., 2019²⁹ D. Liu et al., 2013³⁰ P. C. Van Zijl, Lam et al., 2018³¹ X.-Y. Zhang, F. Wang, H. Li et al., 2017³² Zu, 2018³³ Hua et al., 2007³⁴ Zaiss, Zu et al., 2015³⁵ DeBrosse et al., 2016

*. Khlebnikov et al., 2019 rapportent pour leur part une fréquence de résonance de 3,2 ppm pour le glutamate.

5 . POINTS CLÉS DE CE CHAPITRE

- ➔ L'effet CEST peut être décrit par les équations de Bloch-McConnell, et dépend de nombreux paramètres, à la fois biologiques (concentrations, taux d'échange, T_1 , T_2 , etc...) et expérimentaux (B_0 , B_1 , t_{sat} , etc...).
- ➔ Différentes méthodes existent pour simuler l'effet CEST (numérique, pseudo-analytique, deep-learning) et reflètent chacune un compromis entre exactitude et temps de calcul.
- ➔ Beaucoup de métabolites endogènes peuvent participer à l'effet CEST in vivo, et, comme on aura pu le remarquer, beaucoup d'incertitudes existent encore sur leurs paramètres de modélisation. En particulier, bien que plusieurs études in vitro aient été publiées, très peu de caractérisation in vivo des taux d'échange ont été réalisées.

Maintenant que nous avons pu définir comment modéliser et simuler l'effet CEST, nous aborderons dans le prochain chapitre la quantification de l'effet CEST à proprement parler.

V - Quantification de l'effet CEST : état de l'art

L'imagerie CEST a gagné dans les dernières décennies une grande attention de la communauté scientifique, passant de quelques publications dans les années 2000 à plus de 170 publications en 2023 seulement (Source : PubMed). Malgré cet intérêt croissant, l'analyse et la quantification de l'effet CEST reste un sujet débattu et parfois assez peu clarifié.

Plusieurs problématiques entrent en jeu dans le défi de l'analyse de l'effet CEST :

- **Comment analyser l'effet CEST de manière spécifique et reproductible?**

Comme on a pu le comprendre dans les chapitres précédents, le signal mesuré lors d'une expérience CEST est dépendant de nombreux paramètres, à la fois biologiques et spécifiques de l'agent CEST (la concentration, le taux d'échange, la fréquence de résonance de l'agent CEST,...), biologiques et tissus-dépendants (le T_1^w ou le T_2^w de l'eau), mais aussi de paramètres expérimentaux (le champ B_0 , les caractéristiques du module de saturation, les inhomogénéités expérimentales, ...). De plus, en pratique in vivo, l'effet CEST d'intérêt peut se confondre avec d'autres effets de transferts de saturation, comme la saturation directe de l'eau, les effets MT et NOE, ou encore les effets CEST d'agents endogènes possédant une fréquence de résonance proche (voir chapitre III). Dans ce contexte, il s'agit donc de trouver une manière d'analyser le signal CEST pour **obtenir une métrique spécifique et représentative uniquement de l'effet CEST d'intérêt**, tout en restant dans une simplicité relative qui permette la standardisation et la reproductibilité de la méthode.

- **Comment quantifier des variables d'intérêts à partir de l'effet CEST?** Le contraste CEST en tant que tel peut être intéressant pour étudier des pathologies et en particulier détecter des zones de tissus affectés, par exemple dans le cas de cancers (Neal et al., 2019). Cependant, l'imagerie de contraste ne permet que d'observer des différences relatives de signal, qui peuvent être difficiles à interpréter, notamment sur l'origine de variation de signal (la concentration, le pH, le T_1 ou T_2 , etc...). De plus, les variations relatives de contraste CEST sont difficiles à confronter d'une étude à une autre, car dépendantes de facteurs expérimentaux comme le champ B_0 ou les caractéristiques du module de saturation (le champ B_1 , la durée de saturation ou la forme des impulsions...). **Pour remonter à une information pertinente du point de vue biologique**, comme une concentration ou un taux d'échange, indépendante du paradigme de l'expérience CEST, il est essentiel de passer par la modélisation pour **quantifier** à proprement parler l'effet CEST.

- **Comment répondre aux problématiques ci-dessus tout en gardant des temps d'acquisitions raisonnables?** Afin d'estimer avec certitude une variable d'intérêt, plusieurs mesures CEST vont être nécessaires. En particulier, pour séparer les effets concomitants des différents paramètres entrant en jeu dans l'effet CEST (la concentration et le taux d'échange pour ne citer que les principaux), on verra qu'il est nécessaire de mesurer le signal CEST dans différentes conditions de saturation. Bien sûr, plus le nombre de mesures sera grand, plus la quantification sera précise mais le temps d'acquisition sera quant à lui plus long. Dans un contexte de mesure in vivo, et notamment en imagerie clinique, il est primordial de réduire les temps d'acquisition au maximum. **L'optimisation et l'accélération du schéma d'acquisition du CEST quantitatif** est donc une question essentielle, et intimement liée à la méthode de quantification choisie. Il s'agira donc d'un aspect important considéré tout au long de ce chapitre.

1 . LES MÉTRIQUES DE CONTRASTE UTILISÉES EN IMAGERIE CEST

Avant d'aborder à proprement parler la quantification de l'effet CEST, nous proposons d'abord de détailler les différentes métriques qui existent en imagerie CEST.

1.1 . La métrique MTR

La métrique MTR, pour *Magnetisation Transfer Ratio*, est la métrique la plus communément utilisée pour décrire les mesure CEST. Comme décrit dans le chapitre II , l'objectif de cette métrique est de pouvoir obtenir un contraste caractérisant l'effet CEST d'un agent et en particulier affranchi de la contribution de la saturation de l'eau sur le Z-spectrum. L'idée est de soustraire à une valeur de référence du signal CEST Z_{ref} le signal CEST obtenu en saturant à la fréquence de résonance de l'agent CEST ciblé Z_{lab} :

$$\text{MTR} = \frac{S_{\text{ref}} - S_{\text{lab}}}{S_0} = Z_{\text{ref}} - Z_{\text{lab}} \quad (\text{V.1})$$

1.1.1 . Référence asymétrique : la métrique MTR_{asym}

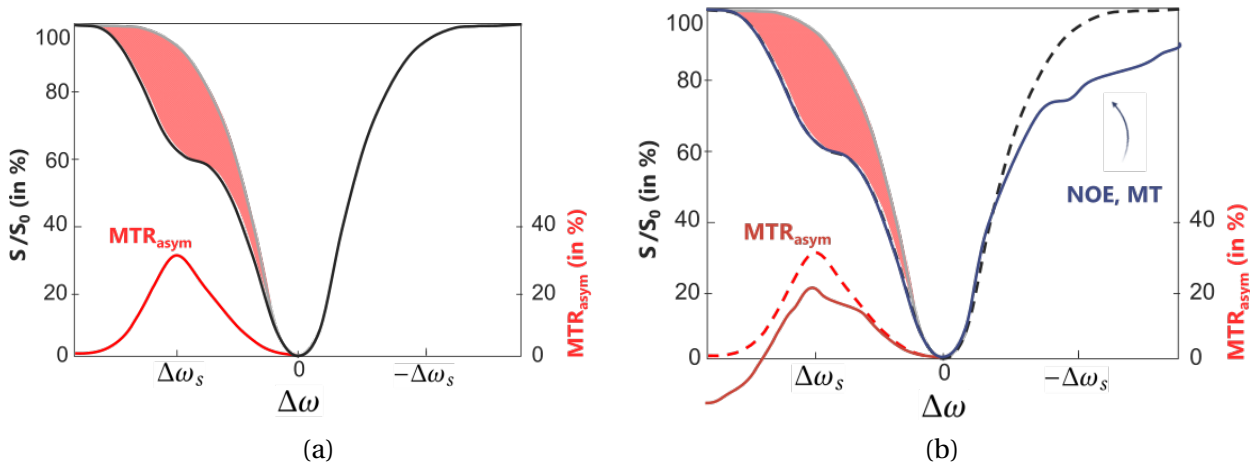


FIGURE 51 – (a) Illustration du principe de la métrique MTR_{asym} . Le Z-spectrum est tracé en noir, et la zone rouge correspond à l'effet CEST induit par l'agent CEST sur le Z-spectrum. En utilisant la métrique MTR_{asym} , on extrait l'effet CEST induit de la saturation directe de l'eau. (b) Illustration du biais induit *in vivo* par les effets MT et NOE sur la métrique MTR_{asym} .

Historiquement, et le plus couramment, le MTR est calculé par évaluation de l'asymétrie du Z-spectrum : c'est ce qu'on appelle la métrique MTR_{asym} . Le signal de l'agent CEST ciblé $S_{\text{lab}} = S(\Delta\omega) = S(\omega - \omega_w)$ est comparé au signal de référence $S_{\text{ref}} = S(-\Delta\omega)$ mesuré à l'opposé sur le Z-spectrum relativement à la fréquence de résonance de l'eau.

$$\text{MTR}_{\text{asym}} = \frac{S(-\Delta\omega) - S(\Delta\omega)}{S_0} = Z(-\Delta\omega) - Z(\Delta\omega) \quad (\text{V.2})$$

La métrique MTR_{asym} permet assez simplement de séparer l'effet CEST spécifique d'un agent de contraste de l'effet de saturation directe de l'eau (voir figure 51a). Si l'on ne s'intéresse qu'au contraste CEST obtenu à la fréquence de résonance $\Delta\omega_s$ d'un agent CEST, la métrique MTR_{asym} permet d'avoir des acquisitions assez rapides, ne nécessitant que 3 mesures de signal (S_0 , $S(\Delta\omega_s)$)

et $S(-\Delta\omega_s)$). Cet avantage en a certainement fait la métrique la plus populaire pour évaluer le contraste CEST, notamment en milieu clinique, où la rapidité des acquisitions est primordiale.

Cependant, le MTR_{asym} est une métrique à interpréter avec précaution : en effet, elle est biaisée pour de nombreuses raisons :

- Le principal biais du MTR_{asym} est de supposer que le signal asymétrique sur le Z-spectrum $S(-\Delta\omega_s)$ ne reflète que l'effet de saturation directe de l'eau. Or, in vivo, des phénomènes de saturation tels que les effets NOE ou MT peuvent s'ajouter dans les fréquences négatives du Z-spectrum et ainsi biaiser la métrique MTR_{asym} (voir figure 51b).
- L'évaluation conventionnelle à l'aide du MTR_{asym} de l'effet CEST d'un unique agent peut également être biaisée in vivo par des contaminations d'autres agents CEST. En effet, des métabolites proches en terme de fréquence de résonance et pouvant échanger des protons avec l'eau peuvent ainsi participer au contraste CEST et contaminer le MTR_{asym} , surtout dans le cas de contrastes CEST endogènes. Cela est d'autant plus problématique à bas champ B_0 , où les fréquences de Larmor sont plus proches.
- Enfin, le MTR_{asym} peut également être "artificiellement" amplifié ou diminué lorsque le T_1 de l'eau varie (Zaiss, Xu et al., 2014). Les variations de contrastes MTR_{asym} ne représentent alors pas une véritable variation du signal CEST (i.e. une variation liée à l'agent CEST). Ce biais du T_1^w peut être cependant contré en utilisant la métrique AREX (voir section 1.3).

1.1.2 . Méthode des trois points : la métrique $MTR_{3\text{pt}}$

Au vu du biais de l'analyse asymétrique dû aux effets MT et NOE, des méthodes de corrections pour calculer le MTR ont été proposées. La méthode dite des trois points propose de calculer le signal de référence Z_{ref} par interpolation Xu et al., 2014 et d'en déduire $MTR_{3\text{pt}}$. L'idée est d'acquérir trois points judicieusement choisis sur le Z-spectrum : un à la fréquence de résonance de l'agent d'intérêt pour obtenir Z_{lab} , et deux autres situés autour du pic d'effet CEST pour interpoler linéairement une valeur pour Z_{ref} (voir figure 52).

$$\begin{cases} Z_{\text{lab}} = \frac{S(\Delta\omega_s)}{S_0} \\ Z_{\text{ref}} = \frac{1}{2} \frac{|S(\Delta\omega_s + \delta\omega) - S(\Delta\omega_s - \delta\omega)|}{S_0} \end{cases} \quad (\text{V.3})$$

La difficulté de cette approche est d'arriver à estimer où placer les deux points d'interpolation pour obtenir une bonne valeur de Z_{ref} . Elle nécessite généralement des acquisitions préliminaires à haute résolution fréquentielle pour estimer la largeur de l'effet CEST de l'agent d'intérêt et donc calibrer une bonne valeur pour $\delta\omega$.

Dans le cas d'espèces chimiques avec une dynamique d'échange de protons lente, comme les amides, les NOE ou encore la créatine, le pic de l'effet CEST se dessine assez bien sur le Z-spectrum, et la méthode des trois points se révèle performante, en nécessitant seulement quatre points d'acquisitions (S_0 , $S(\Delta\omega_s)$, $S(\Delta\omega_s + \delta\omega)$ et $S(\Delta\omega_s - \delta\omega)$), donc avec des temps d'acquisition avantageux. Cependant, dans le cas d'espèces chimiques avec des dynamiques d'échange très rapides, l'effet CEST n'apparaît pas comme un pic clairement défini sur le Z-spectrum, et il est difficile, voire impossible, d'utiliser la méthode des trois points.

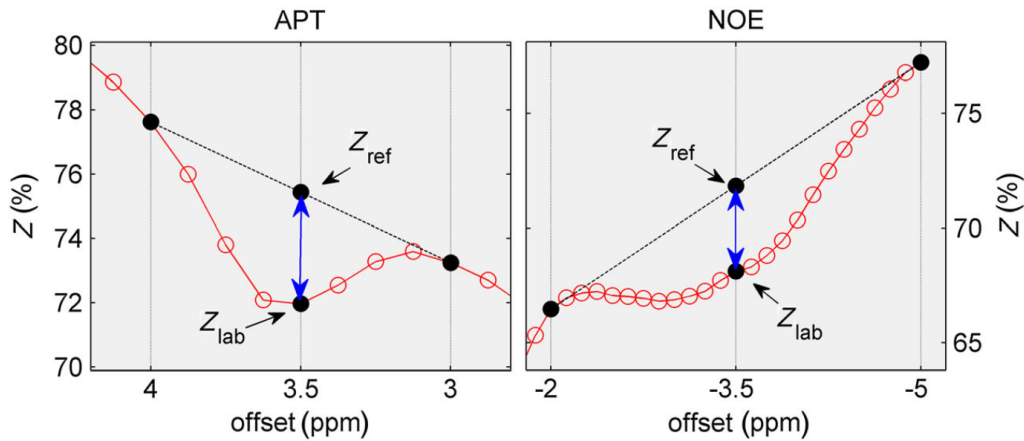


FIGURE 52 – Illustration de la méthode des trois points (figure empruntée de (Xu et al., 2014)) pour calculer MTR_{3pt} dans le cas d'imagerie APT et d'imagerie NOE. Dans cet exemple, le Z-spectre expérimental (points rouges) a été acquis sur une tumeur de rat à 9.4T avec $B_1=1 \mu T$ et $t_{sat}=5$ s.

Bien que l'approche des trois points permette de s'affranchir de la contamination asymétrique des effets MT et NOE, elle peut être difficile à mettre en place lorsque plusieurs effets CEST à des fréquences de résonance proches se chevauchent. L'interpolation avec seulement deux points a aussi ses limites, et il a été montré que la méthode des trois points peut mener à des sous-estimations du MTR (X.-Y. Zhang, F. Wang, H. Li et al., 2017). Cela est d'autant plus vrai lorsqu'on cherche à caractériser un effet CEST "étalé" sur le Z-spectre, comme par exemple dans le cas de protons à dynamique d'échanges plutôt rapides, où une interpolation linéaire n'est alors plus pertinente.

1.1.3 . Soustraction de la saturation directe de leau : la métrique MTR_{LD}

Une alternative pour calculer le MTR est la méthode de soustraction de la saturation directe de l'eau, notée DS pour *Direct Saturation*. Cette approche, aussi connue en anglais sous le nom de *Lorentzian Difference Analysis* (LDA ou LD) consiste à utiliser comme référence l'effet de saturation directe de l'eau supposé pour calculer le MTR :

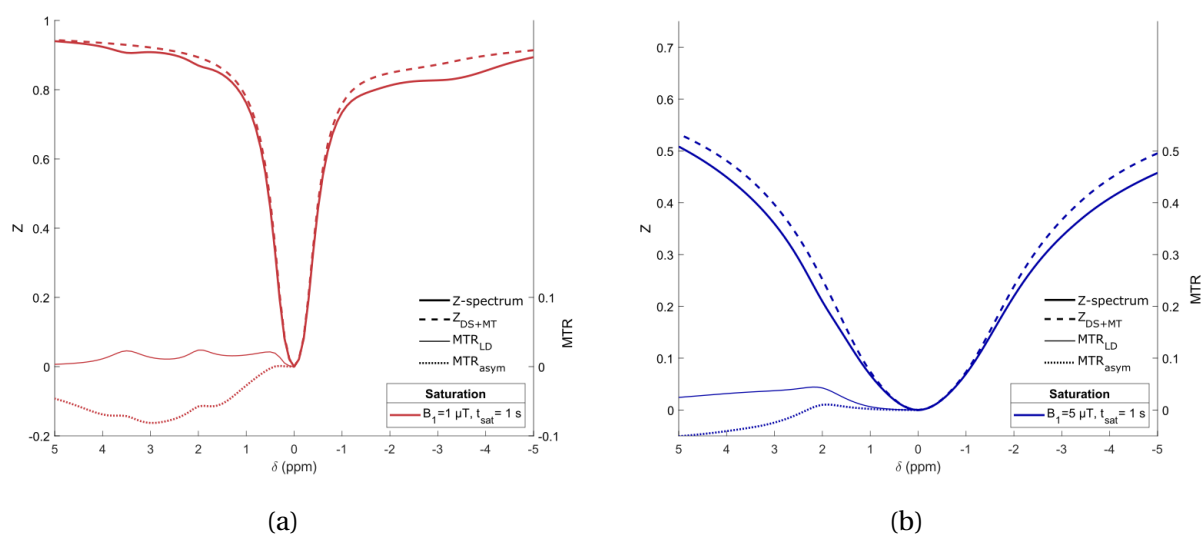
$$MTR_{LD} = Z_{DS} - Z_{lab} \quad (V.4)$$

A l'état stationnaire, c'est-à-dire $t_{sat} \gg 1/R_{1\rho}$, l'effet de saturation directe de l'eau peut être modélisé par une fonction lorentzienne (Mulkern et al., 1993) :

$$Z_{ref} = Z_{DS} = \frac{R_{1w}(R_{2w}^2 + \Delta\omega^2)}{R_{1w}(R_{2w}^2 + \Delta\omega^2) + \omega_1^2 R_{2w}} \quad (V.5)$$

avec $R_{1w} = \frac{1}{T_1^w}$ et $R_{2w} = \frac{1}{T_2^w}$ les taux de relaxation de l'aimantation de l'eau.

La lorentzienne de l'eau peut donc en théorie être calculée directement si l'on mesure proprement les valeurs de T_{1w} et T_{2w} (Smith et al., 2009). Mais en général, il est plus judicieux de fitter directement la lorentzienne de l'eau si l'effet de saturation direct est bien distinguable des autres effets CEST, comme cela a pu être fait dans les exemples suivants : Dula, Arlinghaus et al., 2013;



Espèce	Glutamate	Créatine	Amides	NOE (-3,5ppm)	NOE (-1,6ppm)	MT
f (%)	0,027	0,036	0,153	0,7	0,3	5
k_{ex} (Hz)	7738	810	22	16	16	20
T₂ (ms)	15	7.8	2	1	1	10 µs

(c)

FIGURE 53 – Illustration de la méthode de soustraction de la saturation directe de l'eau. Dans cette figure sont présentées des simulations CEST in vivo à 11,75 T en incluant les agents CEST indiqués en (c), avec $T_1^w=2s$ et $T_2^w=30ms$, après un train de saturation continue de 1 s de puissance B_1 (a) 1 μT ou (b) 5 μT . Pour chaque simulation ont été représentés le Z-spectrum, la saturation directe de l'eau combinée avec l'effet MT Z_{DS+MT} , le MTR_{LD} et le MTR_{asym} .

Dula, Pawate et al., 2016; C. K. Jones et al., 2012; X.-Y. Zhang, F. Wang, H. Li et al., 2017. De manière similaire, on peut également inclure l'effet MT dans les effets fittés par une lorentzienne et le soustraire pour obtenir un MTR_{LD} affranchi de l'effet des tissus, comme dans (X.-Y. Zhang, F. Wang, H. Li et al., 2017).

En pratique, fitter la saturation directe de l'eau est une approche qui marche bien à basse puissance B_1 , où la lorentzienne de l'eau est fine et non contaminée par des effets CEST endogènes (voir figure 53a). À haute puissance B_1 , la lorentzienne de l'eau s'étale et il devient compliqué de la fitter (voir figure 53b) : il n'y a que quelques points proches de 0 ppm qui correspondent spécifiquement à la saturation directe de l'eau, et ils ne permettent pas de bien inférer sa forme. De plus, soulignons que les résultats de fit de la lorentzienne peuvent dépendre des points choisis, ce qui peut poser problème en terme de reproductibilité de la méthode.

Notons enfin que cette méthode d'analyse ne permet pas de résoudre le problème de spécificité de la métrique MTR lorsque les effets CEST de plusieurs agents à fréquences de résonance proches se chevauchent. Cependant, elle permet de retirer plus précisément qu'avec la méthode des trois points les effets de saturation de l'eau et éventuellement MT.

1.2 . La métrique MTR_{Rex}

1.2.1 . Principe de l'analyse par Z-spectrum inversé

Pour bien comprendre ce que représente la métrique MTR, reprenons la solution pseudo-analytique de l'effet CEST donnée dans l'équation IV .15. Plaçons nous dans un cas simplifié avec seulement un agent CEST en échange avec l'eau, et dans un régime stationnaire ($t_{\text{sat}} \gg 1/R_{1\rho}$) :

$$Z(\omega) = Z_{ss}(\omega) = \frac{\cos^2(\theta)}{T_1^w R_{1\rho}} = \frac{\cos^2(\theta)}{T_1^w (R_{1\text{eff}} + R_{\text{ex}})} \quad (\text{V.6})$$

En supposant qu'en utilisant une approche judicieuse pour calculer le MTR, on arrive à évaluer un Z_{ref} représentant uniquement la contribution de l'eau, alors le MTR s'écrit :

$$MTR^{\text{ss}} = Z_{\text{ref}} - Z_{\text{lab}} = \frac{\cos^2(\theta)}{T_1^w R_{1\text{eff}}} - \frac{\cos^2(\theta)}{T_1^w (R_{1\text{eff}} + R_{\text{ex}})} \quad (\text{V.7})$$

On voit alors dans cette expression que le MTR n'est pas seulement dépendant de la variable d'intérêt, c'est-à-dire du R_{ex} qu'on peut relier à la concentration ou au taux d'échange de l'agent CEST, mais aussi du taux de relaxation effectif de l'eau $R_{1\text{eff}}$. Même si elle bien calculée, **la métrique MTR est donc intrinsèquement dépendante de l'effet de saturation directe de l'eau.**

C'est donc pour cela qu'en 2014 est proposée une nouvelle méthode d'analyse, l'analyse par Z-spectrum inversé, accompagnée d'une nouvelle métrique, le MTR_{Rex} (Zaïss, Xu et al., 2014). Le MTR_{Rex} se calcule de la manière suivante :

$$\boxed{MTR_{\text{Rex}} = \frac{1}{Z_{\text{lab}}} - \frac{1}{Z_{\text{ref}}}} \quad (\text{V.8})$$

En reprenant l'équation V .6, on obtient comme expression pour le MTR_{Rex} :

$$MTR_{\text{Rex}}^{\text{ss}} = \frac{T_1^w (R_{1\text{eff}} + R_{\text{ex}})}{\cos^2(\theta)} - \frac{T_1^w R_{1\text{eff}}}{\cos^2(\theta)} = \frac{T_1^w R_{\text{ex}}}{\cos^2(\theta)} \quad (\text{V.9})$$

La métrique MTR_{Rex} est ainsi affranchie du terme $R_{1\text{eff}}$. Attention néanmoins, car ce n'est plus forcément vrai en régime non stationnaire.

1.2.2 . Extension pour la correction de l'effet MT

Considérons maintenant un cas de figure où un compartiment MT participe également aux transferts d'aimantation in vivo. Le MTR vaudrait alors, toujours dans l'hypothèse d'un état stationnaire :

$$MTR^{\text{ss}} = Z_{\text{ref}} - Z_{\text{lab}} = \frac{\cos^2(\theta)}{T_1^w (R_{1\text{eff}} + R_{\text{ex}}^{\text{MT}})} - \frac{\cos^2(\theta)}{T_1^w \left(R_{1\text{eff}} + R_{\text{ex}}^{\text{MT}} + \frac{R_{\text{ex}}}{1 + f_{\text{MT}}} \right)} \quad (\text{V.10})$$

en supposant que le signal de référence correspondrait ici à la fois à la saturation directe de l'eau mais aussi à l'effet MT.

Pour obtenir une métrique affranchie à la fois de l'effet de l'eau et de l'effet MT, on peut alors écrire (Zaiss, Xu et al., 2014) :

$$\boxed{\text{MTR}_{\text{Rex}} = (1 + f_{\text{MT}}) \left(\frac{1}{Z_{\text{lab}}} - \frac{1}{Z_{\text{ref}}} \right)} \quad (\text{V.11})$$

et on retrouve alors l'expression de l'équation V.9 pour le MTR_{Rex} . Il peut cependant être difficile d'arriver à estimer précisément la fraction protonique du compartiment MT f_{MT} , ce qui est problématique pour avoir une métrique reproductible.

1.3 . La métrique AREX

En observant l'équation V.9, on note que la métrique MTR_{Rex} n'est certes plus dépendante de $R_{1\text{eff}}$, mais est toujours dépendante de T_1^w . Lorsqu'on fait de l'imagerie in vivo, les tissus ont des T_1^w différents. Une carte de MTR_{Rex} n'est alors pas seulement représentative des contrastes d'effets CEST, mais également des variations de T_1^w . Pour remédier à cela, et obtenir une métrique représentative uniquement des contrastes CEST, on peut tout simplement normaliser par T_1^w (Zaiss, Xu et al., 2014). On obtient alors la métrique AREX, pour *Apparent exchange-dependent relaxation* :

$$\boxed{\text{AREX} = \frac{\text{MTR}_{\text{Rex}}}{T_1^w} = \frac{1}{T_1^w} \left(\frac{1}{Z_{\text{lab}}} - \frac{1}{Z_{\text{ref}}} \right)} \quad (\text{V.12})$$

À l'état stationnaire, la métrique AREX vaut alors en théorie :

$$\text{AREX}^{\text{ss}} = \frac{R_{\text{ex}}}{\cos^2(\theta)} \quad (\text{V.13})$$

On a alors une métrique alors totalement affranchie de l'influence des paramètres liés à l'eau. Une carte d'imagerie AREX, en supposant un état de mesure stationnaire, est donc vraiment représentative des contrastes du phénomène CEST. Elle suppose cependant de conjuguer à la mesure CEST une mesure de carte T_1^w , ce qui peut rallonger le temps d'acquisition.

Notons néanmoins que les termes $\cos^2(\theta)$ et R_{ex} dans l'expression V.13 sont dépendants à la fois du champ B_1 et du champ B_0 . Par conséquent, la métrique AREX reste dépendante des conditions expérimentales de la mesure CEST. Soulignons donc ici qu'il n'est donc pas toujours pertinent de comparer les résultats de mesure AREX de différentes publications (mais comme c'est également le cas avec les métriques MTR ou MTR_{Rex}).

1.4 . La métrique R_{ex}

Plus rarement, certains papiers proposent leurs résultats sous la forme de valeurs de taux de relaxation échange-dépendant de l'agent CEST R_{ex} . A partir de la métrique AREX, il devient aisé de retrouver le R_{ex} :

$$R_{\text{ex}} = \text{AREX} \times \cos^2(\theta) \quad (\text{V.14})$$

avec, pour rappel,

$$\cos^2(\theta) = \frac{(\omega - \omega_w)^2}{\omega_1^2 + (\omega - \omega_w)^2} \quad (\text{V.15})$$

Là encore, notons que le R_{ex} est dépendant des conditions expérimentales (B_1 et B_0), comme on peut le voir dans l'expression pseudo-analytique du chapitre précédent (équation IV .22). Les seules métriques indépendantes des conditions expérimentales, et donc comparables d'une étude à une autre, sont finalement la concentration ou le taux d'échange de l'agent CEST; d'où l'intérêt des méthodes de quantification.

2 . APPROCHES DE QUANTIFICATION PAR APPROXIMATION DE LA THÉORIE CEST

Une première manière de quantifier l'effet CEST est tout simplement de reprendre la solution pseudo-analytique avec l'approximation de valeur propre unique (voir chapitre IV) et de l'appliquer aux données expérimentales. Nous détaillons dans cette section quelques méthodes courantes de quantification utilisées ainsi.

2.1 . Quantification à partir de métriques classiques

L'approche de quantification la plus basique est de reprendre les métriques CEST couramment utilisées (MTR, MTR_{Rex} , AREX,...) et, en calculant leurs expressions théoriques, d'en déduire des paramètres quantitatifs comme la concentration.

2.1.1 . Dans l'hypothèse de large déplacement chimique

Le cas le plus simple est lorsqu'on traite d'un agent CEST dans la limite de large déplacement chimique ($\delta\omega_s \ll \omega_1$). Si l'on suppose également $1/T_2^s \ll k_{\text{ex}}$, alors les termes en T_2^s et le terme croisé sont négligeables dans l'équation (IV .19). En évaluant le signal CEST à la fréquence de résonance de l'agent d'intérêt, on a donc :

$$R_{\text{ex}}^{\text{LS}}(\omega_s) \approx \frac{\omega_1^2 f_s k_{\text{ex}}}{\Gamma^2/4} \approx f_s k_{\text{ex}} \frac{\omega_1^2}{\omega_1^2 + k_{\text{ex}}^2} \quad (\text{V} .16)$$

Dans la limite de saturation totale (FS pour *Full Saturation*), c'est-à-dire $\omega_1 \gg k_{\text{ex}}$, valable pour les composés à échanges lents, on retrouvera également l'expression :

$$R_{\text{ex}}^{\text{FS}}(\omega_s) \approx f_s k_{\text{ex}} \quad (\text{V} .17)$$

À partir de là, il devient aisé de retrouver les expressions des différentes métriques CEST classiques. Considérant que dans la limite de large déplacement chimique, $\cos^2\theta \approx 1$, alors le terme de taux de relaxation effectif $R_{\text{eff}}(\omega_s)$ de l'eau se simplifie à $1/T_1^w$. En particulier, en régime stationnaire ($t_{\text{sat}} \gg R_{1\rho}$), on obtient alors :

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{MTR}_{\text{asym}}^{\text{LS,ss}}(\omega_s) = \frac{R_{\text{ex}}}{R_{\text{ex}} + R_{\text{eff}}} = \frac{f_s k_{\text{ex}}}{f_s k_{\text{ex}} + \frac{\omega_1^2 + k_{\text{ex}}^2}{T_1^w \omega_1^2}} \\ \text{MTR}_{\text{Rex}}^{\text{LS,ss}}(\omega_s) = \frac{R_{\text{ex}}}{R_{\text{eff}}} = T_1^w f_s k_{\text{ex}} \frac{\omega_1^2}{\omega_1^2 + k_{\text{ex}}^2} \\ \text{AREX}^{\text{LS,ss}}(\omega_s) = f_s k_{\text{ex}} \frac{\omega_1^2}{\omega_1^2 + k_{\text{ex}}^2} \end{array} \right. \quad (\text{V} .18)$$

ou encore, en limite de saturation totale :

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{MTR}_{\text{asym}}^{\text{FS,ss}}(\omega_s) \approx \frac{f_s k_{\text{ex}}}{f_s k_{\text{ex}} + 1/T_1^w} \\ \text{MTR}_{\text{Rex}}^{\text{FS,ss}}(\omega_s) \approx T_1^w f_s k_{\text{ex}} \\ \text{AREX}^{\text{FS,ss}}(\omega_s) \approx f_s k_{\text{ex}} \end{array} \right. \quad (\text{V}.19)$$

En faisant une hypothèse sur le taux d'échange chimique, on peut donc en déduire la fraction protonique f_s du composé d'intérêt, et donc sa concentration, à partir des métriques classiques.

2.1.2 . Dans le cas général

Hors de l'hypothèse de large déplacement chimique, le problème se corse. En simplifiant l'expression de R_{ex} en supposant $1/T_2^s \ll k_{\text{ex}}$, on peut obtenir :

$$R_{\text{ex}}(\omega_s) \approx \frac{f_s k_{\text{ex}}}{\Gamma^2/4} \frac{\omega_1^2 \delta \omega_s^2}{\omega_1^2 + \delta \omega_s^2} = \frac{f_s k_{\text{ex}}}{\omega_1^2 + k_{\text{ex}}^2} \frac{\omega_1^2 \delta \omega_s^2}{\omega_1^2 + \delta \omega_s^2} \quad (\text{V}.20)$$

En régime stationnaire, on peut injecter cette expression de R_{ex} dans les formules de $\text{MTR}_{\text{asym}}^{\text{SS}}$ (équation V.7), $\text{MTR}_{\text{Rex}}^{\text{SS}}$ (équation V.9) ou encore AREX^{SS} (équation V.13). Ici encore, si l'on suppose parfaitement connaître le k_{ex} et la fréquence de résonance ω_s de l'agent d'intérêt, ainsi que le T_1^w et T_2^w et la puissance ω_1 , alors on peut déduire la concentration de l'agent CEST. Une faiblesse est cependant qu'une petite incertitude sur un paramètre, par exemple sur la puissance ω_1 à cause d'inhomogénéités expérimentales, peut propager une grande erreur, vu que le paramètre apparaît plusieurs fois dans ces formules.

Dans le cas non stationnaire, l'expression est encore plus compliquée, et il faut reprendre la formule complète de la solution CEST (équation IV.15). Par exemple, le MTR_{asym} en régime non stationnaire donne :

$$\text{MTR}_{\text{asym}}(\omega_s) = \underbrace{\frac{\cos^2(\theta)}{T_1^w R_{1\text{eff}}} - \frac{\cos^2(\theta)}{T_1^w (R_{1\text{eff}} + R_{\text{ex}})}}_{\text{MTR}_{\text{asym}}^{\text{SS}}} \quad (\text{V}.21)$$

$$+ \cos^2(\theta) \left((1 - R_{1\rho}(-\omega_s)^{-1}) e^{-R_{1\rho}(-\omega_s) t_{\text{sat}}} - (1 - R_{1\rho}(\omega_s)^{-1}) e^{-R_{1\rho}(\omega_s) t_{\text{sat}}} \right)$$

avec, pour rappel,

$$R_{1\rho}(\omega) = R_{\text{ex}} + R_{\text{eff}} \quad (\text{V}.22)$$

ce qui est relativement plus complexe à calculer!

Il faut noter ici que pour déduire la concentration de l'agent CEST, il est nécessaire de connaître précisément son taux d'échange in vivo, ce qui n'est pas toujours le cas (voir tableau 2 au chapitre IV).

2.2 . QUEST/QUESP

La méthode de quantification présentée à la section précédente 2.1 s'appuie sur une seule mesure de MTR (ou analogue) et n'est pas très robuste : les estimations quantitatives obtenues sont sensibles aux incertitudes sur les paramètres, et demandent de connaître en amont par exemple le taux d'échange pour déduire la concentration. Pour obtenir des quantifications plus robustes, [McMahon et al., 2006](#); [J. Zhou, D. A. Wilson et al., 2004](#) proposent les méthodes QUESP ou QUEST (*Quantification of Exchange rate using varying Saturation Power/Time*), plus tard revisitées par [Zaiss, Angelovski et al., 2018](#). L'idée est de quantifier l'effet CEST, non pas à partir d'une unique mesure de $MTR_{\text{asym}}/MTR_{\text{Rex}}$, mais à partir de plusieurs mesures effectuées à différentes puissances B_1 ou temps de saturation t_{sat} . Avec plusieurs mesures pour fitter l'expression théorique, on peut alors conjointement déterminer la fraction protonique f_s de l'agent CEST et son taux d'échange k_{ex} sans aucun a priori initial. En théorie, il suffit de deux mesures pour déterminer les deux paramètres k_{ex} et f_s , mais il vaut mieux multiplier les mesures pour être plus précis.

Il existe plusieurs manières de procéder en fonction des approximations faites, mais prenons l'exemple de [Zaiss, Angelovski et al., 2018](#) qui se basent sur des mesures de MTR_{Rex} en régime stationnaire et dans la limite de large déplacement chimique pour une quantification QUESP. Dans ces conditions, rappelons l'expression du MTR_{Rex} :

$$MTR_{\text{Rex}}^{\text{LS,ss}}(\omega_s) = T_1^w f_s k_{\text{ex}} \frac{\omega_1^2}{\omega_1^2 + k_{\text{ex}}^2} \quad (\text{V.23})$$

On peut tout simplement fitter les données expérimentales avec cette expression, mais on peut procéder de manière plus subtile en linéarisant le problème. Si l'on pose $y=1/MTR_{\text{Rex}}$, on peut obtenir une relation linéaire à $x = 1/\omega_1^2$:

$$y \left(\frac{1}{\omega_1^2} \right) = \frac{1}{MTR_{\text{Rex}}^{\text{LS,ss}}(\omega_s)} = \frac{T_1^w}{f_s k_{\text{ex}}} + \frac{T_1^w k_{\text{ex}}}{f_s} \times \frac{1}{\omega_1^2} = b + ax \quad (\text{V.24})$$

En extrayant la pente a et l'ordonnée à l'origine b de cette droite, on peut donc déduire le taux d'échange (sans a priori sur le T_1^w) et la fraction protonique f_s séparément. C'est ce qu'on appelle la méthode Omega-plot, ou Ω -plot ([Dixon et al., 2010](#)). Un exemple est illustré figure 54.

Similairement, on peut effectuer plusieurs mesures avec différentes durées de saturation (QUEST) pour fitter séparément le taux d'échange et la fraction protonique, en faisant donc varier le terme en $e^{-R_{1\rho} t_{\text{sat}}}$ (cf équation V.21). Cependant, le problème ne peut pas être linéarisé comme en QUESP. De plus, la variation du temps de saturation produit des variations moins grandes du signal CEST, donc moins de précision sur la quantification des paramètres d'intérêt, et moins de marge de manoeuvre lors du design expérimental car le régime stationnaire peut être atteint rapidement. On peut aussi combiner les deux approches QUESP/QUEST et fitter un modèle dépendant à la fois de ω_1 et de t_{sat} . [P. Z. Sun, 2021](#) rapporte d'ailleurs en ce sens qu'il vaut mieux prendre en compte la durée de saturation lors de quantification QUESP pour plus de précision.

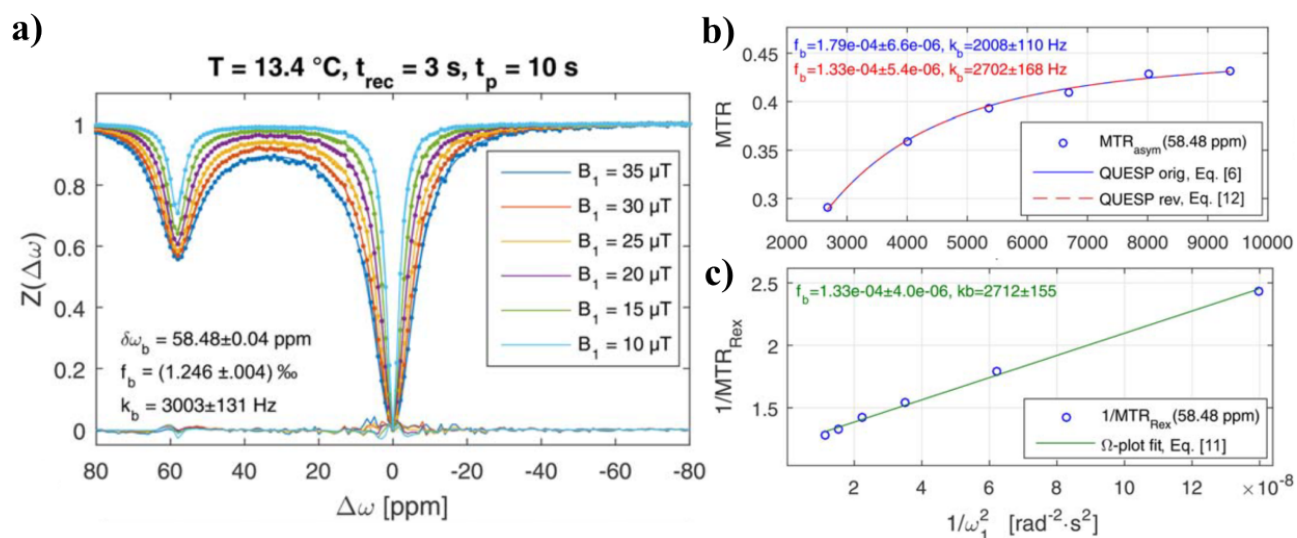


FIGURE 54 – Illustration de la méthode QUESP et Ω-plot sur un fantôme de EuDOTAM-Gly, tirée de [Zaiss, Angelovski et al., 2018](#). (a) Z-spectra expérimentaux mesurés à 7T à différentes puissances B_1 . (b) Evolution du MTR_{asym} en fonction de la puissance ω_1 et fit avec l'équation (V.23). (c) Ω-plot pour extraire le taux d'échange et la fraction protonique de l'agent d'intérêt.

2.3 . Fit de Z-spectra par un modèle de multi-lorentziennes

On aura pu remarquer que les méthodes de quantification (QUESP/QUEST/etc...) présentées jusqu'ici supposent que la mesure CEST est spécifique de l'agent d'intérêt, c'est-à-dire qu'elle n'est pas contaminée par les effets d'autres agents CEST. En pratique, ceci est peu souvent vrai pour les mesures CEST d'agents endogènes, qui se trouvent tous à des fréquences de résonance proches en aval de 0 ppm.

Afin de palier à cette problématique, une méthode communément utilisée est l'approche de fit multi-lorentzien. Originellement, [Zaiss, Schmitt et al., 2011](#) propose de décrire le Z-spectrum comme une somme de lorentziennes en se plaçant dans ce qu'on appelle l'approximation de saturation faible (WS pour *Weak Saturation*, qui est en fait équivalente à l'hypothèse de large déplacement chimique). En effet, en supposant un régime stationnaire et $\cos^2(\theta) \approx 1$, alors :

$$\begin{aligned}
 Z &= Z_{\text{ss}}^{\text{WS}} = \frac{1}{1 + \frac{T_1^w}{T_2^w} \sin^2(\theta) + T_1^w \sum_i R_{\text{ex}}^i} \\
 &\approx 1 - \frac{T_1^w}{T_2^w} \sin^2(\theta) - T_1^w \sum_i R_{\text{ex}}^i \\
 &= 1 - \underbrace{\frac{T_1^w}{T_2^w} \frac{\omega_1^2}{\omega_1^2 + (\omega - \omega_w)^2}}_{\text{lorentzienne de l'eau}} - \underbrace{\sum_i \frac{T_1^w R_{\text{ex}}^{i,\text{MAX}}(\omega) \Gamma_i^2 / 4}{\Gamma_i^2 / 4 + (\omega - \omega_i)^2}}_{\text{lorentziennes des métabolites}}
 \end{aligned} \tag{V.25}$$

De plus, dans l'hypothèse LS ou WS ($\delta\omega_s \gg \omega_1$), le $R_{\text{ex}}^{i,\text{MAX}}$ devient indépendant de ω , et on peut donc écrire :

$$Z \approx 1 - \mathcal{L}_w(\Delta\omega_w, A_w, \Gamma_w) - \sum_i \mathcal{L}_i(\Delta\omega_i, A_i, \Gamma_i) \tag{V.26}$$

avec la fonction lorentzienne :

$$\mathcal{L}(\Delta\omega_i, A, \Gamma) = \frac{A\Gamma^2/4}{\Gamma^2/4 + \Delta\omega_i^2} = \frac{A\Gamma^2/4}{\Gamma^2/4 + (\omega - \omega_i)^2} \quad (V.27)$$

Ainsi, le Z-spectrum peut être fitté par une somme de lorentziennes résonnant aux fréquences de résonance $\omega_w, \omega_s^1, \omega_s^2, \dots$ (voir figure 55). À partir des amplitudes et largeurs des lorentziennes fittées, on peut ensuite remonter aux concentrations et taux d'échange des métabolites.

Chen, Barker et al., 2019 étend cette approche en ajoutant un fit polynomial pour décrire l'effet MT, dénommant la méthode PLOF, pour *Polynomial and LOrentzian lineshape Fit analysis*, et en s'abstenant d'utiliser l'hypothèse de saturation faible dans le modèle de fit pour la rendre plus polyvalente. Le Z-spectrum est alors fitté directement avec l'expression Z_{ss} sans approximation sur la puissance ω_1 utilisée (par exemple équation V.6). La méthode s'apparente alors presque à un fit de Z-spectrum avec des simulations pseudo-analytiques de l'effet CEST.

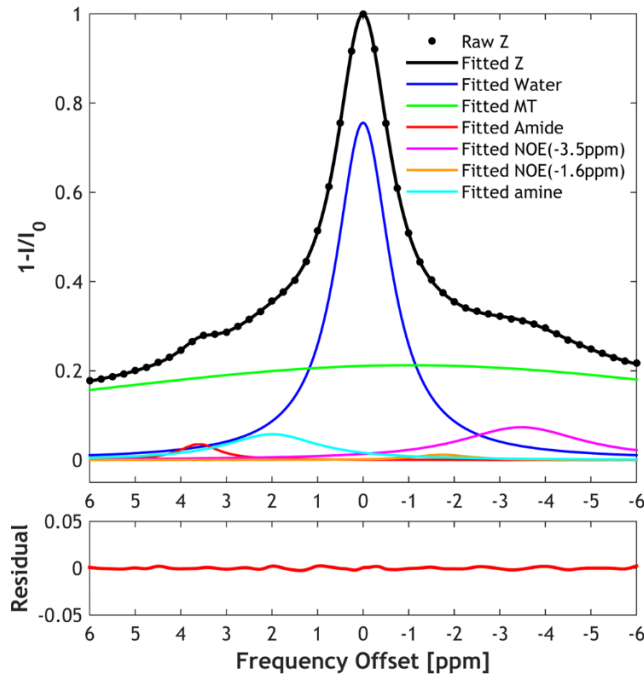


FIGURE 55 – Illustration de la méthode de fit multi-lorentzien, issu de I. Y. Zhou et al., 2017. Ici, un Z-spectrum moyen (tracé en 1-Z) acquis dans le cerveau de rat à $t_{sat} = 5$ s, $B_1 = 1 \mu T$ a été fitté par un modèle de somme de lorentziennes résonnant à différentes fréquences CEST.

La méthode multi-lorentzienne ou PLOF répond ainsi à la problématique d'analyse spécifique des contrastes CEST endogènes. Cependant, l'étape de quantification des concentrations et des taux d'échange à partir des amplitudes A_i et largeurs Γ_i des lorentziennes peut encore requérir de fortes approximations. De plus, pour une quantification précise et fiable, il est potentiellement nécessaire de multiplier des mesures à différents B_1 . Néanmoins, l'évaluation des A_i et Γ_i peut en tant que telle déjà donner une analyse pseudo-quantitative de l'effet CEST qui a le mérite d'être spécifique.

Ajoutons par ailleurs que le fit par une lorentzienne est efficace pour les effets CEST à échanges plutôt lents, qui donnent des pics bien définis sur le Z-spectrum. Mais pour des métabolites à échanges plus rapides, donnant un effet CEST "étalé" sur le Z-spectrum, il est dur d'ajuster avec précision une lorentzienne, et la méthode devient plus sensible aux erreurs. Par ailleurs, l'effet

CEST de ces métabolites est souvent observé à haut B_1 , là où l'approximation d'une forme purement lorentzienne est susceptible de n'être plus valide.

3 . APPROCHES DE QUANTIFICATION PAR SIMULATIONS DES ÉQUATIONS DE BLOCH-MCCONNELL

Plutôt que de s'appuyer sur des approximations et des solutions pseudo-analytiques, une autre manière de procéder pour la quantification CEST est de générer directement des simulations de Bloch-McConnell, et de s'appuyer sur celles-ci en les apparentant aux effets observés expérimentalement pour en déduire des paramètres quantitatifs. Ces approches nécessitent en général une plus forte puissance de calcul, mais permettent plus de polyvalence, et il n'y a plus aucun risque de tomber dans des limites qui n'auraient pas été prévues par les approximations initiales. Elles supposent néanmoins que l'effet CEST expérimental est correctement décrit par le modèle de simulation, par exemple que tous les agents CEST nécessaires aient bien été pris en compte dans les matrices de Bloch-McConnell.

3.1 . Fit de Z-spectra par simulations des équations de Bloch-McConnell

L'approche la plus intuitive est bien sûr de fitter les Z-spectra expérimentaux avec des simulations des équations de Bloch-McConnell. En entrée de l'algorithme de fit, on pourra définir plusieurs variables libres à déterminer, comme la concentration ou le taux d'échange, ou encore des paramètres expérimentaux sur lesquels on aurait des incertitudes (comme par exemple le ΔB_0 dû aux inhomogénéités de champ). En cherchant la combinaison de paramètres libres qui permet de faire correspondre le mieux la simulation aux données expérimentales, on peut donc inférer des estimations quantitatives, de concentrations par exemple (voir figure 56). Pour améliorer les estimations, des acquisitions de Z-spectra à différents B_1 ou t_{sat} peuvent être intéressantes pour fournir plus d'information au modèle en les fittant simultanément, similairement aux méthodes QUESP/ QUEST.

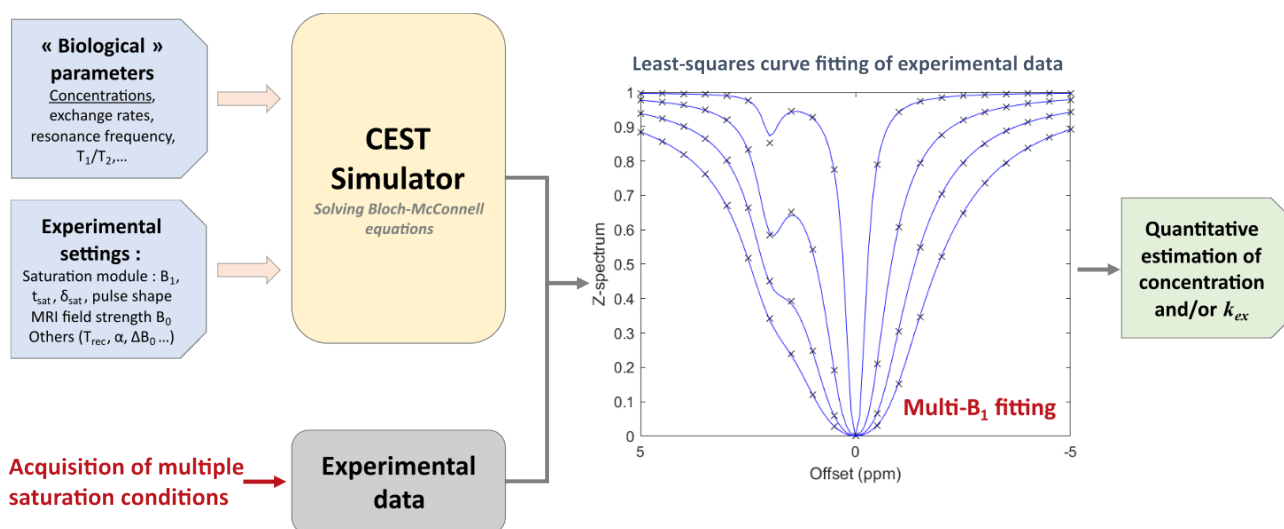


FIGURE 56 – Illustration de la quantification par fit de Z-spectra.

Considérée comme la méthode de référence pour la quantification CEST, cette approche a l'avantage d'être affranchie de toute approximation sur la théorie, d'être très flexible sur la com-

plexité du problème (nombre d'agents CEST à inclure, nombre de paramètres libres, etc...), et d'avoir des résultats facilement interprétables : on peut juger de la fiabilité des estimations quantitatives avec la qualité du fit et identifier des zones sur le Z-spectrum qui serait mal modélisées par exemple.

La méthode n'est cependant pas tout à fait reproductible à travers la littérature, probablement à cause de différences dans les processus de simulations ou de fit. Par exemple, [Schuenke et al., 2023](#) suggèrent que les différences entre algorithmes de simulation de l'effet CEST seraient à l'origine des larges variations de k_{ex}^{APT} rapportés dans la littérature. La communauté de recherche en CEST quantitatif fait d'ailleurs actuellement de grands efforts pour essayer de standardiser les simulations de Bloch-McConnell ([Herz et al., 2021](#)).

De plus, plusieurs algorithmes de fit existent et peuvent donc mener à des différences dans les résultats de quantification. Le fit par minimisation des moindres carrés est certainement le plus populaire (`lsqcurvefit` sous Matlab), mais des alternatives ont été proposées. Par exemple, [Chappell et al., 2013](#) proposent un algorithme de fit basé sur un modèle de probabilités bayésiennes, avec leur outil QuantiCEST ([Croal et al., 2018](#)) : on prend en compte dans les critères de l'algorithme de fit une valeur probable pour chacun des paramètres libres, ce qui réduirait le risque d'overfitting qu'on peut avoir avec `lsqcurvefit`. D'autres approches bayésiennes, par exemple avec des chaînes de Markov ([Zhao, X. Wang et al., 2022](#)), ont également été suggérées.

Bien qu'en apparence le fit de Z-spectra peut paraître très puissant avec sa capacité à fitter de nombreux paramètres simultanément, il n'est pas infaillible. Il demande une certaine expertise et deux problématiques en particulier sont à prendre en compte :

- **Le surajustement, ou mieux connu sous le nom d'overfitting** : en ajoutant trop de paramètres libres, notamment par rapport au nombre de points expérimentaux à fitter, le modèle gagne trop de degrés de liberté pour être pertinent. Il devient capable de fitter avec qualité (i.e. avec un faible R^2) n'importe quel set de données, mais sans donner des estimations correctes des variables d'intérêt. En particulier, le modèle risque de devenir très sensible au bruit, et peu de confiance peut être accordée aux valeurs fittées. En revanche, si trop peu de degrés de liberté est donné au modèle, il n'est plus capable de fitter correctement les sets de données (situation d'underfitting). Nous décrirons au chapitre VII quelques estimateurs statistiques qui permettent de mieux cibler les bons paramètres à laisser libres dans le modèle (critères d'information bayésien ou d'Akaike), bien que ces critères ne soient pas toujours infaillibles pour détecter l'overfitting.
- **La précision de l'estimation sur chacun des paramètres libres peut être assez incertaine.** On imagine bien qu'en augmentant le nombre de points, notamment dans les zones de grande variabilité expérimentale (proches des fréquences de résonance CEST par exemple), on obtiendra des estimations plus précises des paramètres d'intérêt. Cependant, le modèle ne sera pas sensible à tous les paramètres de manière égale : certaines variables, qui ne font pas beaucoup évoluer le signal dans les conditions d'acquisition, ne pourront jamais être estimées avec précision (les T_2^s des métabolites, par exemple). De plus, certains paramètres qui ont des effets concomitants sur le signal peuvent être difficiles à estimer simultanément. Par exemple, nous verrons au chapitre VII qu'estimer conjointement le k_{ex} et la concentration du glutamate peut être difficile dans les marges d'acquisition possibles du signal CEST.

Le fit de Z-spectra peut aussi être simplement utile pour analyser l'effet CEST de manière plus fiable, sans forcément aller jusqu'à la quantification. Par exemple, [Foo et al., 2020](#) démontre qu'un

calcul de MTR sur des fit de Z-spectra plutôt que sur des données cliniques brutes est plus robuste au bruit, notamment à bas champ B_0 .

3.2 . Approche de fingerprinting

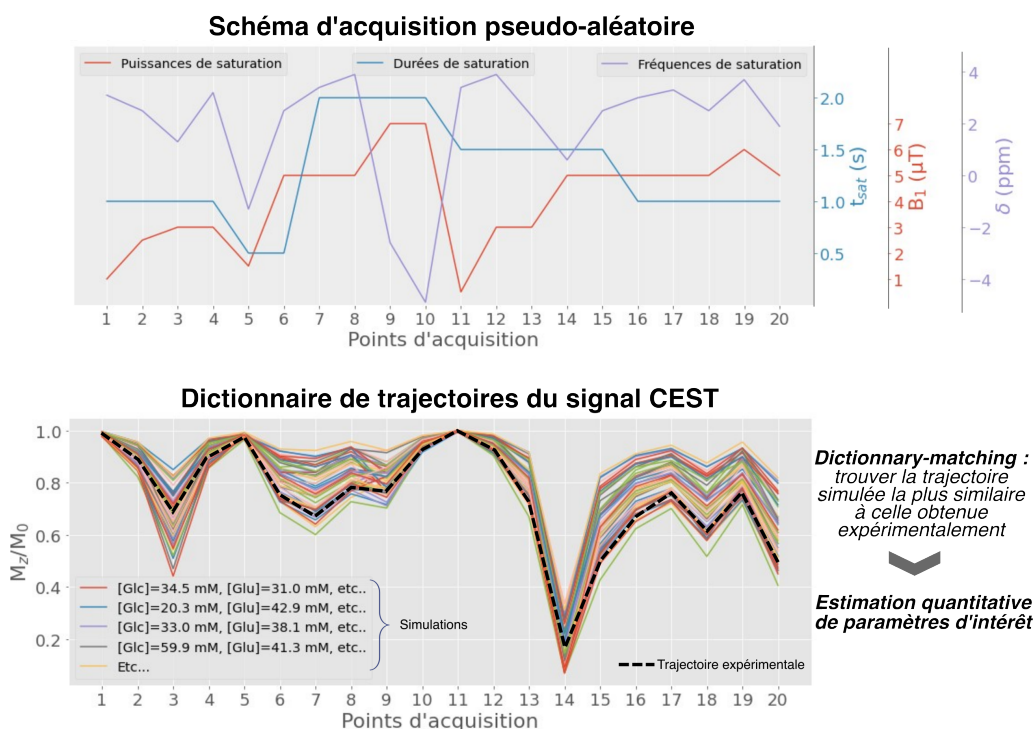


FIGURE 57 – Illustration du principe du fingerprinting pour le CEST. Un schéma d'acquisition pseudo-aléatoire, dans lequel on pourra typiquement faire varier le δ , le B_1 ou le t_{sat} . La trajectoire de signal obtenue expérimentalement est comparée à un dictionnaire de simulations, où par exemple ici on a fait varier les concentrations [Glu] et [Glc], pour trouver la plus similaire et en déduire les valeurs des paramètres d'intérêt.

Acquérir plusieurs Z-spectra dans différentes conditions de saturation peut prendre beaucoup de temps, surtout si l'on requiert une bonne résolution spectrale. Mais lorsqu'on fit un Z-spectrum, tous les offsets ne sont pas égaux dans la quantité d'informations qu'ils donnent : par exemple, les points près de 2 ppm seront primordiaux pour estimer une concentration en créatine, et ceux dans les offsets négatifs probablement peu importants. Similairement, tous les B_1/t_{sat} ne seront pas équivalents dans l'information qu'ils apportent pour fitter certaines variables avec précision. Alors, pour raccourcir le temps d'expérience, on peut optimiser le planning d'acquisition des points en n'en gardant qu'un nombre minimum, et si possible, les plus pertinents : c'est l'idée de base du fingerprinting pour le CEST quantitatif (Cohen et al., 2018; Z. Zhou et al., 2018).

Ainsi, on conçoit conventionnellement en fingerprinting un planning d'acquisition optimisé; l'idée étant de trouver la meilleure combinaison de mesures pour être capable de remonter à une information quantitative correcte en un temps d'acquisition minimum. À chaque point successif d'acquisition, on fera typiquement varier le B_1 , le t_{sat} , le δ , ou encore le T_{rec} , ce dernier pouvant encore permettre de raccourcir l'acquisition totale. Cependant, plus on rajoute de dimensions variables dans le planning, plus on risque de complexifier l'optimisation de ce dernier. Plusieurs méthodes existent pour optimiser le schéma d'acquisition (nous en reparlerons au chapitre X),

mais la plus conventionnelle est de sélectionner le meilleur parmi un set de N plannings aléatoirement générés (Cohen et al., 2018; Perlman, Herz et al., 2020) : on parle alors de planning optimisé « pseudo-aléatoire » (voir figure 123). L'optimisation du planning d'acquisition est primordiale dans le fingerprinting, mais requiert généralement une grande puissance de calcul, et peut se révéler assez complexe.

Une fois le schéma optimal de fingerprinting bien défini, comment procéder à la quantification des données acquises selon ce schéma d'acquisition? On a ici plusieurs possibilités, la plus simple étant tout simplement de procéder à un fit des données expérimentales avec des simulations de la trajectoire du signal selon le schéma d'acquisition. Le problème de cette méthode est qu'elle requiert beaucoup de temps d'analyse, car les simulations sont longues à générer numériquement, et que cette procédure doit être réitérée sur chaque pixel de l'image CEST que l'on cherche à quantifier. Une alternative populaire en fingerprinting est de procéder à un *dictionary-matching*, c'est-à-dire à un appariement des données expérimentales avec un dictionnaire de simulations généré préalablement. Le dictionnaire contient de nombreuses simulations CEST imaginant différentes configurations possibles, par exemple en faisant varier les concentrations de métabolites, les T_1 , T_2 , etc... On cherche, selon un critère mathématique de similarité choisi convenablement (J. Liu et al., 2022; Perlman, Herz et al., 2020), la trajectoire simulée qui ressemble le plus à celle obtenue expérimentalement : on en déduit alors des estimations des paramètres d'intérêt en extrayant ceux utilisés pour obtenir la simulation appariée aux données. D'autres méthodes de quantification des données de fingerprinting existent, comme par exemple en ayant recours à des réseaux de neurones, comme nous le verrons dans la prochaine section.

En utilisant le fingerprinting, on peut raccourcir considérablement le temps d'acquisition du CEST quantitatif : Perlman, Herz et al., 2020 montre par exemple que l'acquisition de seulement 13 points est suffisante pour quantifier correctement des amides. En terme de précision, les méthodes de *dictionary-matching* sont limitées par la résolution du dictionnaire simulé, mais cette problématique peut être résolue en utilisant du machine learning (Perlman, Farrar et al., 2022).

Bien que l'approche de dictionnaire soit plus rapide qu'une approche de fit des moindres carrés, cela reste une méthode d'analyse des données relativement longue. En particulier, si le dictionnaire généré est très grand, car prenant en compte beaucoup de variabilité avec une haute résolution, la comparaison entre la trajectoire expérimentale et chacune des simulation peut être très longue. Pour s'affranchir de cette problématique, des approches de deep-learning semblent être une meilleure alternative, comme nous le verrons dans la section suivante, car les réseaux de neurones déjà entraînés calculent très rapidement leurs estimations quantitatives.

3.3 . Approches de deep learning

Dans les dernières années, l'apport du deep-learning a fait ses preuves dans le domaine du CEST quantitatif. En reprenant l'idée du fingerprinting, c'est-à-dire de concevoir un planning d'acquisition raccourci et optimisé, les réseaux de neurones se sont révélés de très bon outils, à la fois pour quantifier les données CEST, mais aussi pour optimiser les schémas d'acquisitions.

Un réseau de neurones simple peut en effet être très efficace pour quantifier l'effet CEST (B. Kim et al., 2020; M. Singh, Jiang et al., 2023) : on l'entraîne sur les types de données CEST qu'on utilise (des Z-spectra entiers, un schéma de fingerprinting,...) et on lui apprend à renvoyer les variables qui nous intéressent, comme les concentrations, les taux d'échange, ... (voir figure 58). L'ap-

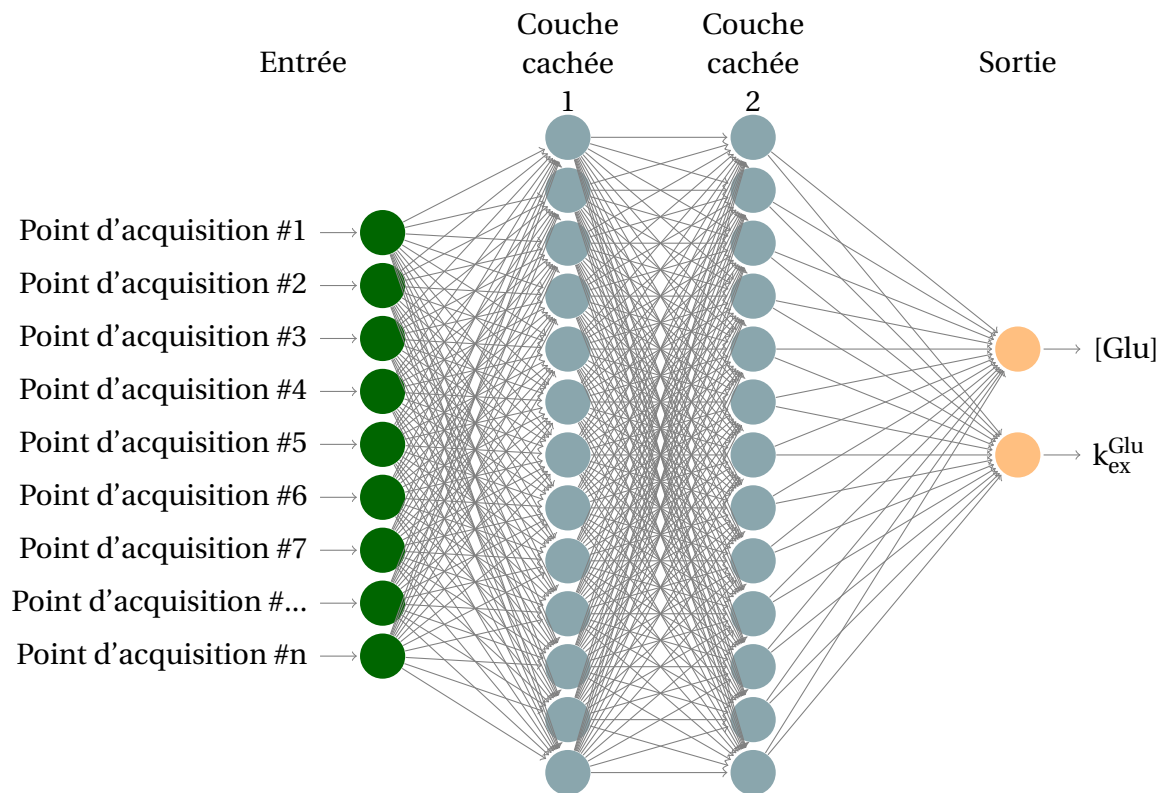


FIGURE 58 – Exemple d'un réseau de neurones pour la quantification CEST, ici de la concentration et du taux d'échange du glutamate. En entrée, le réseau reçoit les n points acquis expérimentalement : il peut s'agir de Z-spectra entiers ou bien d'un schéma type fingerprinting. En sortie, le réseau renvoie ses prédictions de $[Glu]$ et de k_{ex}^{Glu} .

proche réseau de neurones présente plusieurs avantages :

- **L'analyse quantitative des données CEST est très rapide** : en effet, une fois le réseau entraîné, l'utilisation d'un réseau de neurones consiste juste à faire un calcul matriciel à travers les poids de ses différentes couches, ce qui est numériquement très rapide à calculer. Le traitement d'images avec des milliers de pixels se fait alors en quelques minutes seulement.
- **L'entraînement du réseau de neurones peut prendre en compte beaucoup de variabilité expérimentale, et donc proposer au final une analyse très robuste.** Un réseau de neurones peut être entraîné sur un set de données simulées aussi grand que l'on veut, tant que la puissance de calcul le permet. On peut donc inclure dans les données d'entraînement de la variabilité sur beaucoup de paramètres expérimentaux (bruit, des variations de B_1 , de ΔB_0 , etc...) et de paramètres biologiques (effets MT, concentrations de multiples métabolites, etc...). Un réseau de neurones entraîné sur un set de données très complet sera donc, si l'on peut dire, « prêt à tout », et ainsi très robuste en théorie sur ses estimations quantitatives.
- **Le critère algorithmique que l'on cherche à minimiser avec un réseau de neurones est directement lié à sa fidélité de prédiction.** Par exemple, en contraste, les estimations d'un fit par minimisation des moindres carrés peuvent être facilement biaisées par la manière dont est fittée la partie du Z-spectrum dans les offsets négatifs, qui est pourtant moins pertinente pour quantifier des métabolites résonant entre 0 et 5 ppm, car, algorithmiquement, ce sont juste les résidus qui sont minimisés par le fit. Similairement, le critère de similarité à un dictionnaire utilisé en fingerprinting conventionnel peut mener à des biais à cause de

certaines points du planning moins pertinents que d'autres. Un réseau de neurone, lui, sera entraîné à minimiser son erreur de prédiction : on peut donc supposer qu'il apprendra à donner des poids différents entre les données « utiles », et les données moins informatives, dans les offsets négatifs par exemple. Le réseau de neurones est donc plus robuste également algorithmiquement parlant.

De plus, certains travaux rapportent que des formes de réseaux de neurones judicieuses pourraient nécessiter encore moins de points d'acquisition que l'approche conventionnelle de fingerprinting : réseaux convolutionnels (Kang et al., 2021), réseaux adversaires génératifs(Weigand-Whittier et al., 2023),... On pourrait donc avoir des temps d'acquisition encore plus courts.

En revanche, il est à noter que les réseaux de neurones peuvent présenter quelques désavantages : par exemple, si l'on doit entraîner un réseau de neurone de zéro, la puissance et le temps de calcul nécessaire peuvent être colossaux. Les plus gros travaux sur le sujet sollicitent d'ailleurs certains des plus puissants calculateurs GPU existants pendant parfois plusieurs dizaines d'heures. De plus, les réseaux de neurones sont connus pour leur effet "boîte noire" : il est difficile d'interpréter les résultats d'un réseau de neurone et de comprendre d'où viennent ses prédictions ; tout est dissimulé dans les poids des différentes couches cachées. Des biais de prédiction peuvent alors être parfois difficiles à détecter, et c'est pour cela que des étapes de validation des performances de prédiction du réseau de neurone sont essentielles après son entraînement.

Néanmoins, l'utilisation de réseaux de neurones ouvrent la porte à d'astucieuses méthodes pour optimiser le schéma d'acquisition CEST. Par exemple, Perlman, B. Zhu et al., 2022 proposent d'utiliser un réseau de neurone imbriqué avec le bloc de simulation CEST pour simultanément optimiser le planning d'acquisition et entraîner à la reconstruction quantitative : la méthode est dénommée « autoCEST ». Dans cette thèse, nous avons pu nous pencher aussi sur ces questions d'optimisation via deep-learning, et nous proposerons en ce sens au chapitre X une méthode novatrice de feature selection sur réseaux de neurones. Ajoutons pour finir que les recherches actuelles en machine learning sont elles-mêmes en pleine ébullition, conjointement à une croissance toujours exponentielle des moyens de calculs disponibles, soulignant donc tout le potentiel probablement encore inexploré du deep-learning pour le CEST quantitatif.

4 . SYNTHÈSE SUR LES MÉTHODES DE QUANTIFICATION DE L'EFFET CEST

Nous avons pu comprendre dans ce chapitre que beaucoup d'approches différentes existent pour la quantification de l'effet CEST, allant de solutions analytiques à des solutions plus numériques brutes, incluant des simulations des équations de Bloch-McConnell. Nous proposons sur la page suivante un tableau de synthèse des différentes méthodes présentes dans la littérature que nous avons discuté dans ce chapitre.

Méthodes de quantification	Caractéristiques de la méthode						Autres avantages
	Affranchie d'approximations	Spécifique	Rapidité d'acquisition	Rapidité d'analyse	Prérequis nécessaires		
Quantification directe d'une métrique classique	✗	✗	✓✓ (3 à 5 points)	✓✓	- Besoin d'hypothèses (LS, régime stationnaire,...) - Suppose de déjà connaître certains paramètres (k_{ex} , T_1 , etc...)	✓Lien direct avec les métriques CEST classiques	
QUEST/QUEST	✗	✗	✓ (5 à 10 points)	✓✓	- Besoin d'hypothèses (LS, régime stationnaire,...) - Evaluation non contaminée du signal CEST	✓Fit linéaire grâce aux Ω -plots	
PLOF / Fit multi-lorentzien	✗	✓	✗ (Z-spectrum résolu, 50 à 100 points)	✗	- Besoin d'hypothèses pour la quantification absolue (LS, régime stationnaire,...)	✓Fit linéaire (somme de lorentziennes) ✓Facilement interprétable visuellement ✓Pseudo-quantification possible	
Fit de Z-spectra	✓	✓	✗✗ (Z-spectra résolu, 50 à 100 points par Z-spectrum)	✗✗	- Expertise sur quels paramètres peuvent être laissés libres	✓Méthode de référence ✓Facilement interprétable visuellement	
Fingerprinting conventionnel (<i>dictionary-matching</i>)	✓	✓ (si pris en compte dans le dictionnaire)	✓ (15 à 50 points)	✓ / ✗ (dépend de la taille du dictionnaire)	- Besoin d'une optimisation du planning d'acquisition (et donc de puissance de calcul) - Besoin de mémoire vive pour les calculs sur dictionnaire		
Réseaux de neurones	✓	✓ (si pris en compte dans l'entraînement)	✓ (15 à 50 points)	✓✓	- Besoin d'une optimisation du planning d'acquisition - Besoin de puissance de calcul pour l'entraînement - Avoir confiance en l'algorithme... (effet "boîte noire")	✓Possibilité de prendre en compte beaucoup de variabilité expérimentale pendant l'entraînement ✓Possibilité de combiner l'entraînement et l'optimisation du planning (ex : autoCEST)	

TABLE 3 – Comparaison des différentes approches de quantification de l'effet CEST.

5 . POINTS CLÉS DE CE CHAPITRE

- ➔ Différentes méthodes de quantification de l'effet CEST ont pu être proposées dans la littérature, adaptées à différents cas de figures, avec chacune leurs avantages et leurs inconvénients.
- ➔ Les quantifications par approximations pseudo-analytiques requièrent en général les approximations de large déplacement chimique et de régime stationnaire, c'est-à-dire qu'elles ne sont valables qu'à bas B_1 et avec des longs t_{sat} .
- ➔ Les quantifications utilisant des simulations CEST n'ont pas de problématique de validité, mais sont plus complexes à appréhender et à mettre en place (par exemple, besoin de puissance et de temps de calcul).

**DEUXIÈME PARTIE :
QUANTIFICATION DU
GLUTAMATE PAR LA
MESURE CEST**

VI - Matériel et méthodes à MIRCen

1 . INSTRUMENTATION

La plateforme IRM de MIRCen est composée de deux scanners IRM haut champ pour l'imagerie pré-clinique : un 7T dédié à l'imagerie des macaques, et un 11.7T dédié à l'imagerie des rongeurs et des microcèbes. Durant cette thèse, toutes les expériences sur fantômes ou sur rongeurs ont été réalisées sur l'IRM horizontal 11.7T (Bruker Biospin), équipé de gradients d'amplitude maximale 750 mT/m. Deux types de configurations d'antennes différentes ont pu être utilisés :

- **Configuration cryo, dite "froide" :** elle consiste e, une antenne ^1H surfacique cryogénique en quadrature de phase (Bruker), adaptée pour la souris, utilisée à la fois en transmission et en réception. L'avantage de cette antenne, refroidie à l'hélium liquide pour limiter le bruit électronique, est qu'elle offre un très bon SNR. En revanche, de par sa nature d'antenne surfacique, le champ B_1 proposé est très inhomogène, et sera par exemple beaucoup plus intense vers la surface de la tête de la souris qu'en bas de son crâne : elle est donc inadaptée pour des acquisitions d'imagerie CEST en cerveau entier. On l'utilisera néanmoins pour des mesures dans des voxels localisés pas trop épais, où l'on pourra obtenir un B_1 assez homogène, et notamment pour des acquisitions ^1H -MRS où avoir un haut SNR est crucial.
- **Configuration dite "chaude" :** pour les expériences d'imagerie, on préfère utiliser une antenne de transmission volumique quad de diamètre 72 mm (Bruker) qui permet d'obtenir un B_1 homogène sur tout le volume du cerveau de la souris. Pour la réception, une sonde complémentaire surfacique est utilisée, soit adaptée à la souris, soit adaptée au rat.

Ces différents éléments d'instrumentation sont présentés en figure 59.

2 . DÉROULEMENT D'UNE EXPÉRIENCE ANIMALE EN IRM

Durant une expérience IRM, les animaux (rat ou souris) sont endormis par anesthésie gazeuse à l'isofluorane, insufflée par un mélange 50/50 d'air et d' O_2 . L'étape d'induction est réalisée à 4% d'isofluorane, puis ce dosage est baissé progressivement tout en contrôlant les signes vitaux de l'animal, jusqu'à atteindre le dosage typique d'anesthésie de 1-1.5% d'isofluorane qui est maintenu tout au long des acquisitions IRM. Pendant la baisse progressive d'isofluorane, l'animal est également installé sur un lit adapté à sa taille équipé d'un cadre stéréotaxique (voir figure 60).

En effet, l'immobilisation de la tête de l'animal est cruciale pour une expérience IRM, tout mouvement étant susceptible de dégrader les mesures. La tête de l'animal est donc maintenue en place sur le lit avec un mors et des barres d'oreilles, introduites dans le conduit auditif de l'animal après une anesthésie locale à la xylocaïne. La respiration de l'animal est contrôlée grâce à un capteur mécanique placé sous le ventre, et sa température grâce à une sonde rectale (SAM Software). Pour une souris anesthésiée, la respiration typique attendue pendant une expérience IRM se situe entre 50 et 120 respirations par minute, tandis qu'on attend plutôt entre 40 et 80 respirations par minute pour le rat. L'animal est maintenu à 37°C grâce à un pad chauffant avec un circuit d'eau chaude.

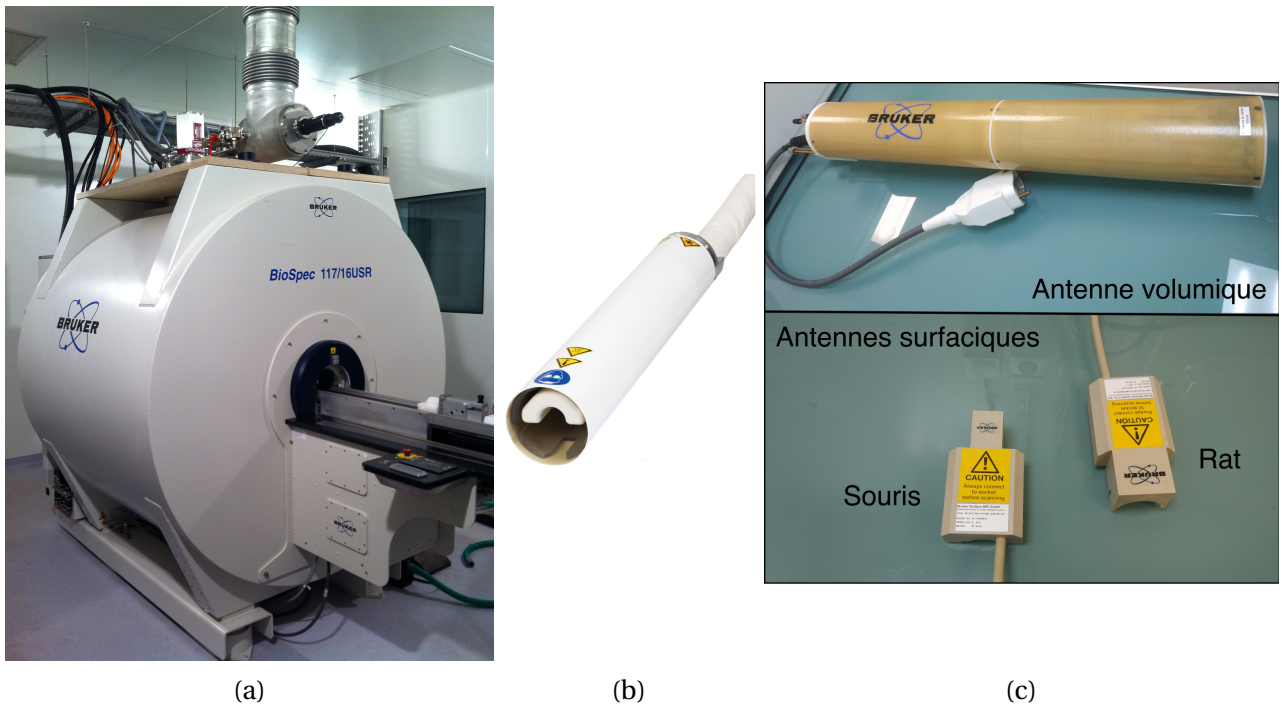


FIGURE 59 – (a) IRM 11.7T pour le petit animal à MIRCEM. (b) Antenne cryogénique pour la souris. (c) Configuration chaude, avec antenne Quad 72 mm TX et antenne surfacique RX pour le rat ou la souris.

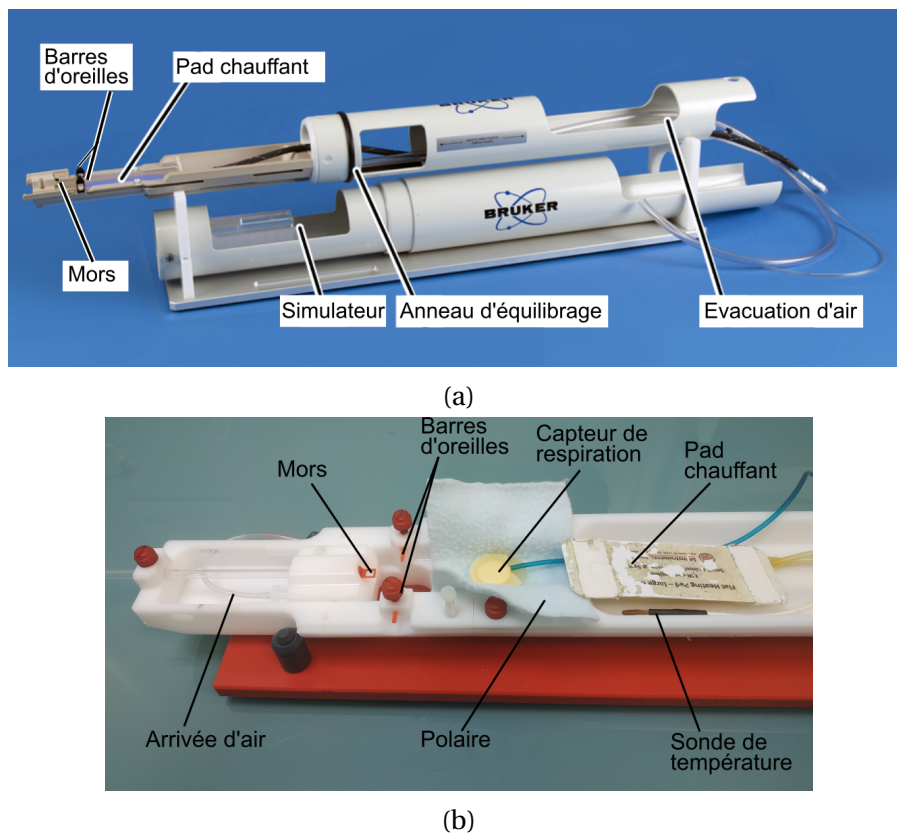


FIGURE 60 – Lits souris pour les expériences IRM à MIRCEM : (a) lit compatible avec l’antenne cryogénique (Bruker, Biospin) ; (b) lit compatible avec la configuration chaude.

3 . SÉQUENCES UTILISÉES DURANT CETTE THÈSE

3.1 . Séquences d'imagerie

Commençons par décrire les séquences d'imagerie qui ont été utilisées dans cette thèse, i.e. les séquences permettant d'acquérir des cartes à haute résolution, typiquement en configuration "chaude".

3.1.1 . Séquence RARE-CEST

Les acquisitions de cartes CEST peuvent être efficacement réalisées grâce à une séquence RARE, auquel est rajoutée en amont un module de saturation (voir figure 61). En effet, la séquence RARE permet de rapidement acquérir une image du signal de l'eau. De plus, les effets de relaxation post-excitation T_1/T_2 du signal qu'on a avec la RARE sont à peu près compensés par la normalisation des mesures CEST avec un M_0 acquis de manière similaire. Dans cette thèse, un facteur RARE de 10 a été utilisé pour les mesures CEST, avec un TE de 6 ms. Pour acquérir une image de 128 par 128 pixels, avec une résolution de $150 \times 150 \mu\text{m}^2$ et un TR de 5 s, cette séquence prend typiquement ≈ 1 min par offset acquis.

Le module de saturation utilisé est systématiquement un module quasi-continu, composé de n impulsions sélectives rectangulaires de 100 ms, séparées chacune par un délai de $10 \mu\text{s}$. Pour un t_{sat} de 1 s, on programmera donc un train de 10 de ces impulsions.



FIGURE 61 – Illustration de la séquence RARE-CEST.

3.1.2 . Imagerie T_1 et T_2 quantitative

Afin d'affiner la modélisation des données CEST, qui sont dépendantes des valeurs de T_1 et T_2 de l'eau comme nous avons pu le voir, des cartes quantitatives de T_1 et T_2 ont pu être acquises avec des séquences RARE à TE et TR variables. En effet, le signal mesuré avec une séquence de spin-écho (ou FSE) est proportionnel à :

$$S \propto \rho_H (1 - e^{-\text{TR}/T_1}) e^{-\text{TE}/T_2} \quad (\text{VI.1})$$

Ainsi, en procédant à des mesures à différents TR/TE, on peut ajuster une valeur de T_1/T_2 à chaque pixel de l'image. Des exemples de cartes T_1/T_2 quantitatives obtenues ainsi sont montrés figure 62.

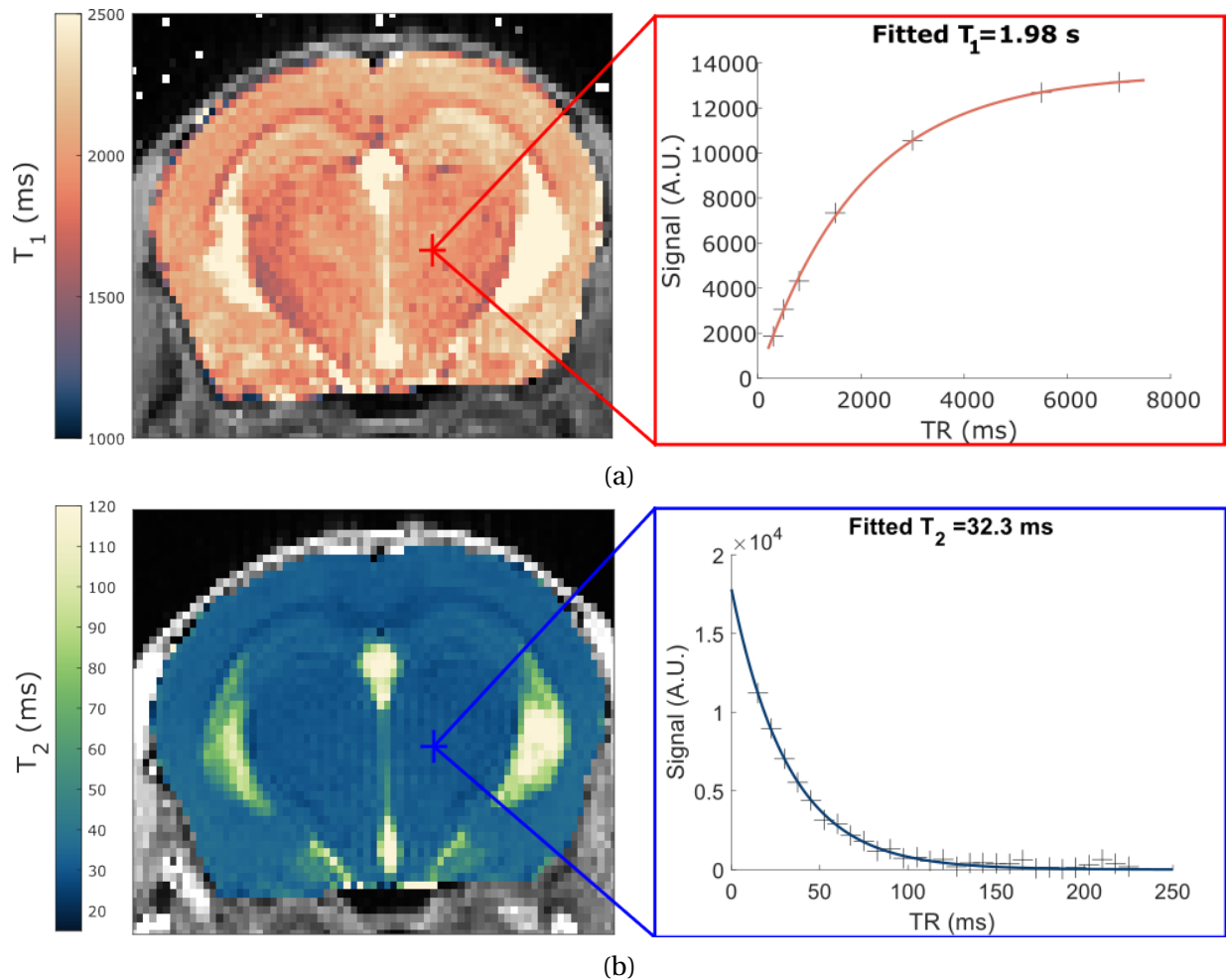


FIGURE 62 – Exemple de cartes quantitatives chez la souris de (a) T_1 et (b) T_2 , et exemples de fit sur un pixel. Ici, les valeurs échantillonnées sont $TR=[7000, 5500, 3000, 1500, 800, 500, 300]$ ms et $TE=[7,5 :7,5 :225]$ ms.

3.2 . Séquences de mesures localisées dans un voxel

Dans cette thèse, nous avons pu aussi utiliser des séquences permettant d'obtenir des mesures dans un voxel 3D, notamment pour pouvoir comparer des données CEST à des données de spectroscopie proton. Ces mesures ont typiquement été réalisées en configuration cryo.

3.2.1 . Bloc de localisation LASER et séquence LASER-CEST

Pour acquérir le signal d'un large voxel bien défini, une séquence LASER, pour *Localization by Adiabatic SElective Refocusing* a été utilisé (Garwood et al., 2001). Une impulsion non sélective adiabatique à 90° est utilisée pour l'excitation, puis le bloc de localisation LASER permet de refocaliser spécifiquement le signal du voxel désiré, grâce à trois paires d'impulsions adiabatiques à 180° . Chaque paire d'impulsions, couplé à des gradients de localisation, permet de sélectionner une portion de l'aimantation selon une dimension de l'espace (voir figure 64).

Dans la séquence LASER, l'utilisation d'impulsions adiabatique pour l'excitation et la refocalisation est tout à fait adaptée à des acquisitions avec notre configuration cryo : en effet, les impulsions adiabatiques permettent d'atteindre le même angle de bascule de manière homogène dans une épaisseur donnée, malgré les inhomogénéités B_1 , inévitables lorsqu'on utilise une antenne

surfacique TX/RX. La séquence LASER offre ainsi une excellente localisation du signal du voxel d'intérêt, avec des bords bien définis.

En pratique, les impulsions utilisées sont une impulsion AHP (*Adiabatic Half Passage*) de 2 ms pour l'excitation et des impulsions sécantes hyperboliques (HS1) de 2 ms pour la refocalisation. Le TE minimum de la séquence LASER ainsi définie est de 20 ms.

Pour la saturation CEST, le même module que décrit précédemment a été utilisé (n impulsions de 100 ms).

Séquence LASER-CEST

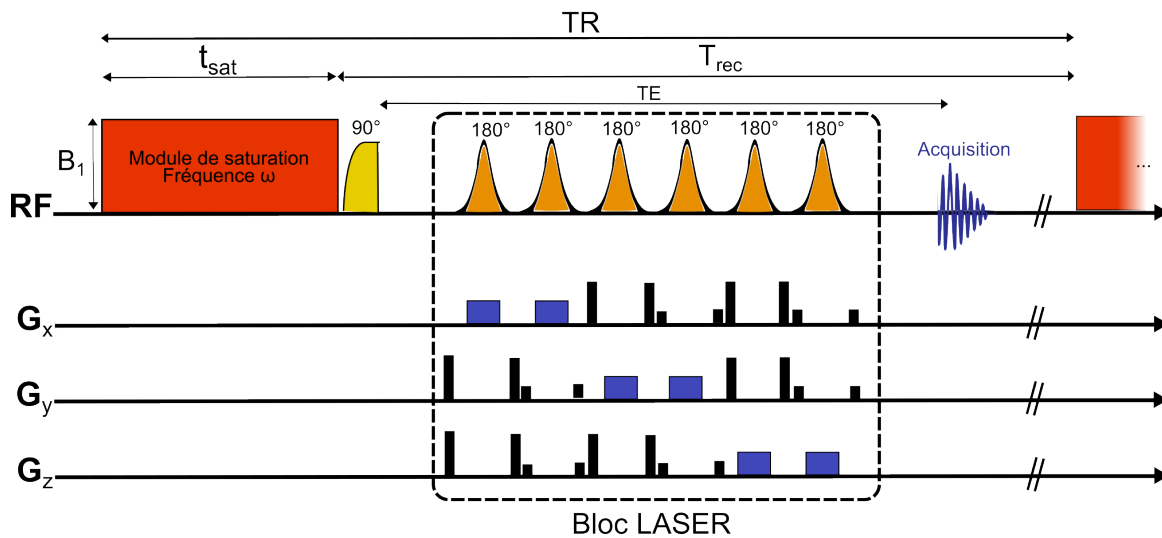


FIGURE 63 – Chronogramme de la séquence LASER-CEST. En bleu, les gradients de localisation. En noir, les gradients crushers qui déphasent l'aimantation hors du volume d'intérêt.

3.2.2 . Spectroscopie ¹H

Séquence LASER (¹H-MRS)

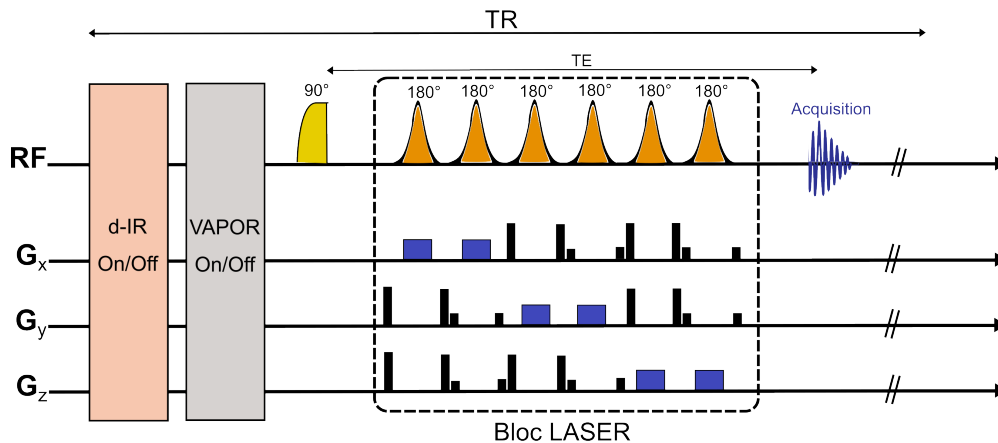


FIGURE 64 – Chronogramme de la séquence LASER pour la spectroscopie.

Similairement, on peut utiliser la séquence LASER sans le module de saturation pour faire une mesure de spectroscopie ^1H . Cependant, afin d'acquérir un spectre de métabolites propre, il faut ajouter un module de suppression de l'eau. En effet, autrement, le signal des protons de l'eau, concentrée à plusieurs dizaines de M en milieu physiologique, supplante et invisibilise les signaux des métabolites concentrés à quelques mM. Nous avons utilisé ici un module appelé VAPOR (*V*ariable *P*ower radiofrequency pulses with *O*ptimized *R*elaxation delays), avec des angles de bascule optimisés expérimentalement pour supprimer le signal de l'eau à 4,7 ppm (Tkáč et al., 1999).

La FID acquise grâce à la séquence LASER peut être transformée en spectre via une transformée de Fourier. On peut alors identifier sur le spectre les signatures de différents métabolites du cerveau (voir figure 65). Pour analyser quantitativement les données ^1H -MRS, le spectre RMN obtenu peut être modélisé comme une somme pondérée de spectres individuels des métabolites, ainsi que d'une composante spectrale due aux macromolécules (MM). Les spectres individuels de métabolites sont simulés grâce aux valeurs recensées dans la littérature des déplacements chimiques et des constantes de couplage J (Govindaraju et al., 2000). Certains métabolites, dont les déplacements chimiques sont très proches, comme par exemple Cr et PCr, peuvent être difficiles à séparer et seront donc souvent regroupés ensemble en "totale créatine" (tCr) (idem pour le NAA et son dérivé le NAAG (N-acétyl-aspartyl-glutamate), regroupés en tNAA).

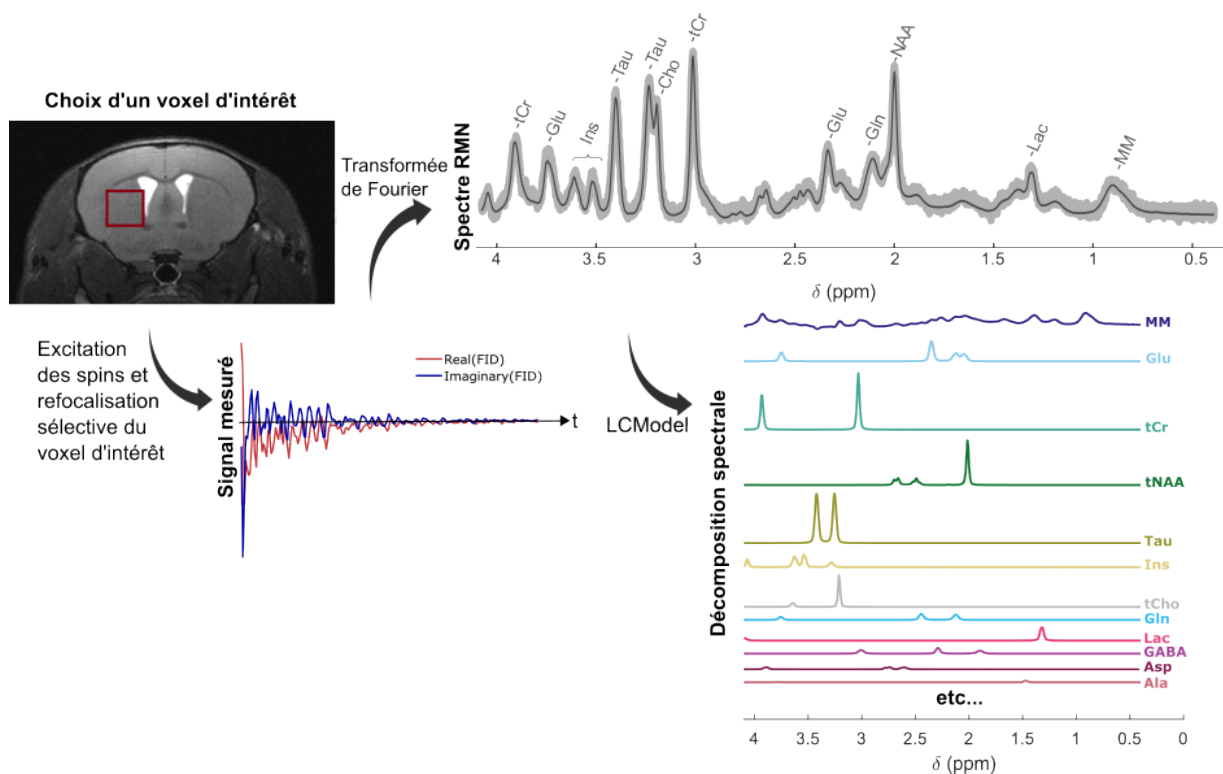


FIGURE 65 – Illustration d'une expérience de spectroscopie in vivo chez la souris à 11,7T. Un voxel de plusieurs mm^3 est placé dans la zone d'intérêt, ici dans le striatum de la souris. La FID est acquise après une excitation à large bande passante des spins du voxel. Le spectre RMN est déduit grâce à une transformée de Fourier, et les différentes composantes des métabolites sont extraits grâce à un outil de fit (en l'occurrence LCMoel ici).

Plusieurs outils existent pour fitter les spectres MRS et extraire les intensités respectives des différents métabolites : LCMoel (Provencher, 2001), jMRUI (Stefan et al., 2009), TARQUIN (M.

Wilson et al., 2011), Pro-fit (Schulte et al., 2006), etc... Ici, nous avons utilisé LCMoDel. Les intensités extraites sont ainsi proportionnelles à la concentration des métabolites mais également à leur effet d'atténuation T_2 au moment de la mesure, qui est propre à chaque métabolite.

Enfin, pour ajuster convenablement les données ^1H -MRS, il faut ajouter dans la base de l'outil de fit un spectre représentant la contribution des macromolécules (MM). Ce dernier, dépendant des séquences, du hardware et des tissus imagés, a été acquis expérimentalement pour chaque type de voxel en utilisant un module de double inversion-récupération (dIR) : en effet, les macromolécules ont des T_1 plus courts que les métabolites. En utilisant des temps d'inversion convenablement choisis ($TI_1 = 2200$ ms et $TI_2 = 770$ ms), le signal des métabolites peut être annulé pour uniquement obtenir un spectre MM. Le signal est cependant assez faible à cause de la dIR; il faut donc moyenniser le signal MM sur de nombreuses répétitions. En pratique, les spectres MM ont été acquis par blocs de 4x64 répétitions ($TR = 4$ s, environ 25 min), et moyennés sur plusieurs animaux pour proposer une base d'analyse homogène pour LCMoDel.

3.2.3 . Mesures T_1 et T_2 quantitatives

Pour mesurer les T_2 de l'eau et des métabolites dans le voxel d'intérêt, des mesures avec la LASER à différents temps d'écho TE ont été réalisées, sans et avec suppression de l'eau respectivement. Le T_2 peut alors être ajusté avec :

$$S(TE) = M_0 e^{-TE/T_2} \quad (\text{VI.2})$$

Pour les mesures de T_1 de l'eau, un module d'inversion-récupération simple a été ajouté à la séquence LASER, avec un TI variable. En utilisant la formule suivante, le T_1 de l'eau peut être ajusté :

$$S(TI) = M_0 (1 - 2e^{-TI/T_1}) \quad (\text{VI.3})$$

VII - Quantification du glutamate libre grâce à l'imagerie gluCEST

L'imagerie de contraste gluCEST est très utilisée à MIRCen, notamment de par son intérêt pour l'étude des maladies neurodégénératives (Pépin, Longprez et al., 2020). Cependant, cette imagerie, analysée avec la métrique conventionnelle de MTR_{asym} , souffre de tous les défauts typique évoqués précédemment : manque de spécificité, biais possibles dus aux effets MT/NOE, dépendance au T_1 et T_2 , sensibilité aux inhomogénéités B_0 , ... Durant cette thèse, nous nous sommes donc attelés à développer un modèle pour la quantification du signal gluCEST. Dans ce premier chapitre, nous présentons la première approche développée.

1 . ÉTUDE PRÉLIMINAIRE IN VITRO

Avant d'aborder la quantification du glutamate in vivo, quelques études préliminaires ont été menées in vitro, à l'aide de solutions de glutamate préparées à partir d'acide L-glutamique anhydre ($M = 147,13$ g/mol).

1.1 . Première approche de gluCEST quantitatif in vitro

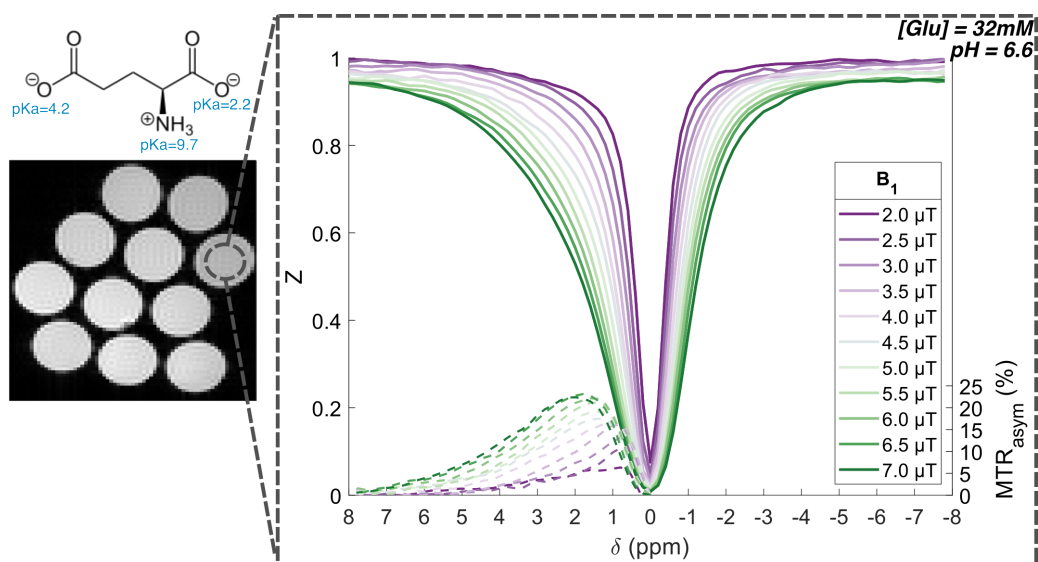


FIGURE 66 – Exemples d'imagerie de fantômes et de Z-spectra acquis à différents B_1 , ici pour une solution à 32 mM de glutamate et pH = 6,6.

Nous avons pu voir au chapitre V qu'il était possible en théorie d'estimer à la fois la concentration et le taux d'échange du glutamate à l'aide de mesures CEST à plusieurs B_1 . Pour mettre à l'épreuve cette théorie, des fantômes de glutamate à concentration variable ont été préparés dans du PBS (Phosphate Buffer Saline, 10 mM). Comme nous savons que l'effet gluCEST est dépendant du pH, deux sets de 5 solutions de concentrations variant entre 2 et 32 mM ont ainsi été préparés à pH 6.6 et pH 7.2. Le pH de ces échantillons a été contrôlé avec un pHmètre calibré à l'aide de

solutions tampons de pH 4.0 et 7.0, puis ajusté grâce à l'ajout de quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl, 1 à 10%) ou de soude (NaOH, 5 à 20%).

Les fantômes ont ensuite été scannés à l'IRM dans des tubes scellés sans air à température ambiante, placés au centre de l'antenne volumique de configuration chaude en mode TX/RX.

Des Z-spectra ont été acquis entre -8 et +8 ppm, avec une saturation de 1 s et un B_1 variant entre 2 et 7 μT , normalisés par un M_0 acquis à -20 ppm. En moyennant les mesures CEST dans des régions d'intérêt tracées à la main, des Z-spectra moyens ont pu être extraits pour être modélisés (voir figure 66).

1.1.1 . Premières observations

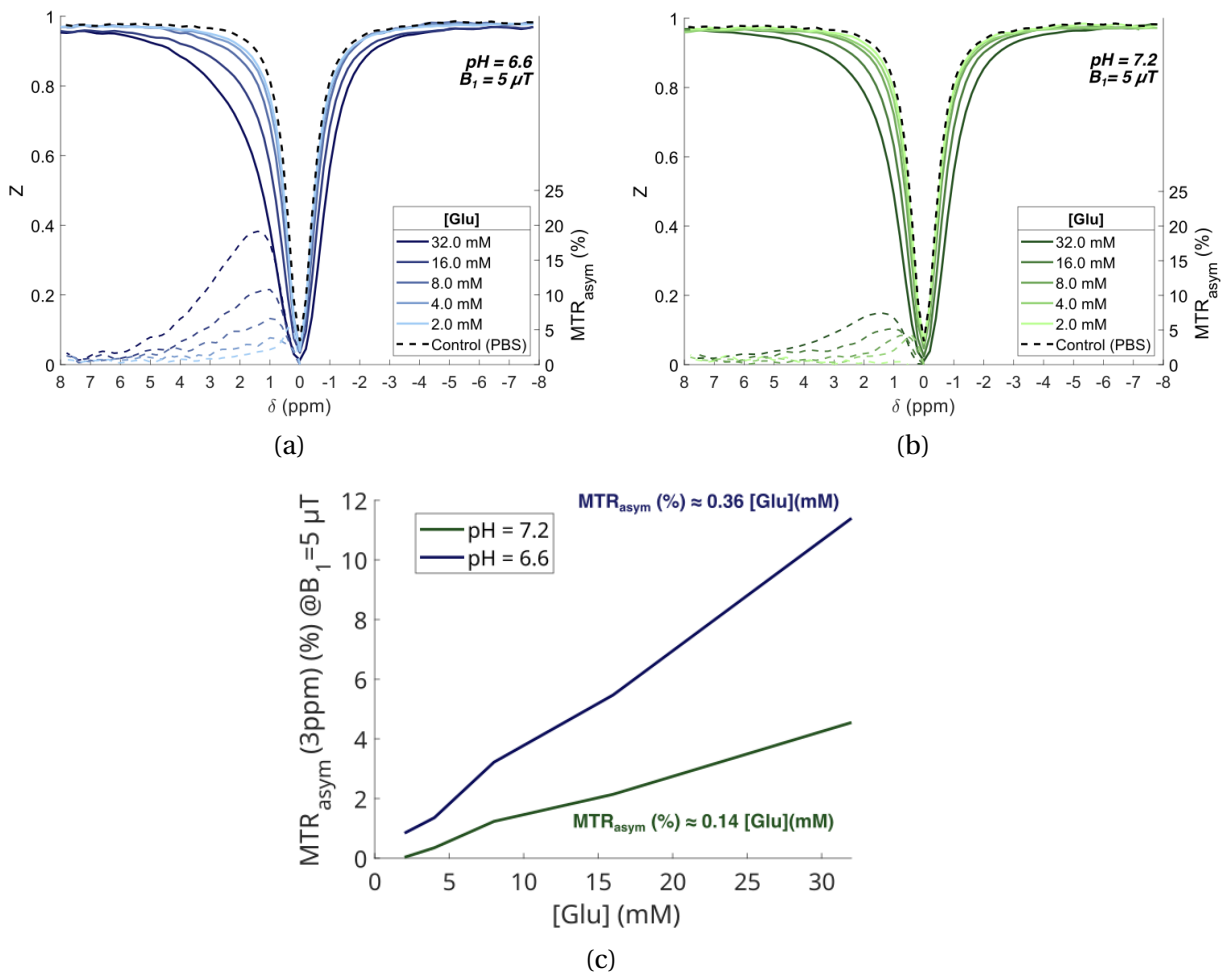


FIGURE 67 – Z-spectra acquis à $B_1 = 5 \mu\text{T}$ dans les différents fantômes à (a) pH = 6,6 et (b) pH = 7,2. La dépendance du MTR_{asym} (3 ppm) à la concentration [Glu] est tracée en (c).

On observe bien la forte dépendance de l'effet gluCEST à la concentration en glutamate [Glu] grâce à ces fantômes (voir figure 67). En première approche, on peut même modéliser la relation concentration/ MTR_{asym} avec une régression linéaire, comme cela avait pu être proposé par [K. Cai et al., 2012](#). À $B_1 = 5 \mu\text{T}$, cela donne :

$$\begin{cases} [\text{Glu}] \text{ (mM)} \approx 2,8 \times \text{MTR}_{\text{asym}, 3 \text{ ppm}} (\%) & \text{à pH} = 6,6 \text{ (} R^2 = 0,997 \text{)} \\ [\text{Glu}] \text{ (mM)} \approx 7,1 \times \text{MTR}_{\text{asym}, 3 \text{ ppm}} (\%) & \text{à pH} = 7,2 \text{ (} R^2 = 0,988 \text{)} \end{cases} \quad (\text{VII .1})$$

On constate également une forte dépendance de l'effet gluCEST au pH de la solution. En effet, rappelons le, le pH conditionne le taux d'échange des protons entre la fonction amine (NH_3^+) du glutamate et l'eau. Ainsi, il serait plus robuste de pouvoir estimer simultanément la concentration [Glu] et le taux d'échange $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$ à partir de mesures CEST.

1.1.2 . Tentative d'estimation simultanée de [Glu] et $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$

Nous avons donc essayé de fitter les Z-spectra acquis à différents B_1 avec des simulations CEST pseudo-analytiques (voir chapitre IV) et à l'aide de la fonction `lsqcurvefit` de Matlab. Lorsqu'on utilise la fonction de fit non linéaire `lsqcurvefit`, le modèle est ajusté aux n points expérimentaux en minimisant les moindres carrés $\sum_i^n (y_i - \hat{y}_i)^2$. On peut alors calculer un pseudo-coefficient de détermination R^2 :

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_i^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_i^n (y_i - \text{mean}(y_i))^2} \quad (\text{VII .2})$$

Ce coefficient permet de renseigner sur la proximité du modèle fitté aux données, mais ne donne pas d'information sur la précision de l'estimation de chacune des k variables d'intérêt. On peut en revanche calculer, en utilisant le Jacobien J_f de l'algorithme de fit, un intervalle de confiance à 95% sur l'estimation de la variable j :

$$\text{CI}^{95\%}(j) = \pm 1.96 \sqrt{\frac{1}{n-k} \left(J_f^T J_f \right)^{-1}_{jj} \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2} \quad (\text{VII .3})$$

Cette expression de l'intervalle de confiance à 95% repose sur diverses hypothèses (Amemiya, 1985), dont une sur l'indépendance statistique des résidus; ce qui n'est pas tout à fait vrai dans le cas de fit de Z-spectras, surtout quand le modèle est potentiellement en situation d'underfitting. Cet estimateur n'est donc pas complètement fiable, même s'il permet de se donner une idée de la crédibilité des résultats fittés.

À pH proche de 7, le glutamate se modélise avec uniquement un groupe de 3 protons résonnant à 3,0 ppm, correspondant à la fonction amine NH_3^+ (ce modèle reste valide pour un $\text{pH} > 5,2 = 1 + \text{pKa}^{\text{OH}}$). Dans cette première méthode de fit, la concentration [Glu] et le taux d'échange $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$

Parameter	Initial value	Lower Bound	Upper Bound
[Glu]	15 mM	0 mM	50 mM
$k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$	8000 Hz	0 Hz	100 000 Hz
T_1^w	2,5 s	1 s	4 s
T_2^w	0,5 s	0,1 s	2 s
ΔB_0	0 ppm	-1,5 ppm	+1,5 ppm

TABLE 4 – Paramètres laissés libres dans ce premier modèle de fit de l'effet gluCEST in vitro.

sont laissés comme paramètres libres. Les T_1^w et T_2^w de l'eau, mesurés à l'aide de cartes quantitatives, sont pris en entrée des simulations, mais un degré de liberté est quand même laissé dessus pour la flexibilité du fit. Une variabilité sur ΔB_0 de $\pm 1,5$ ppm est également prévue. Ces degrés de liberté sont résumés dans le tableau 4.

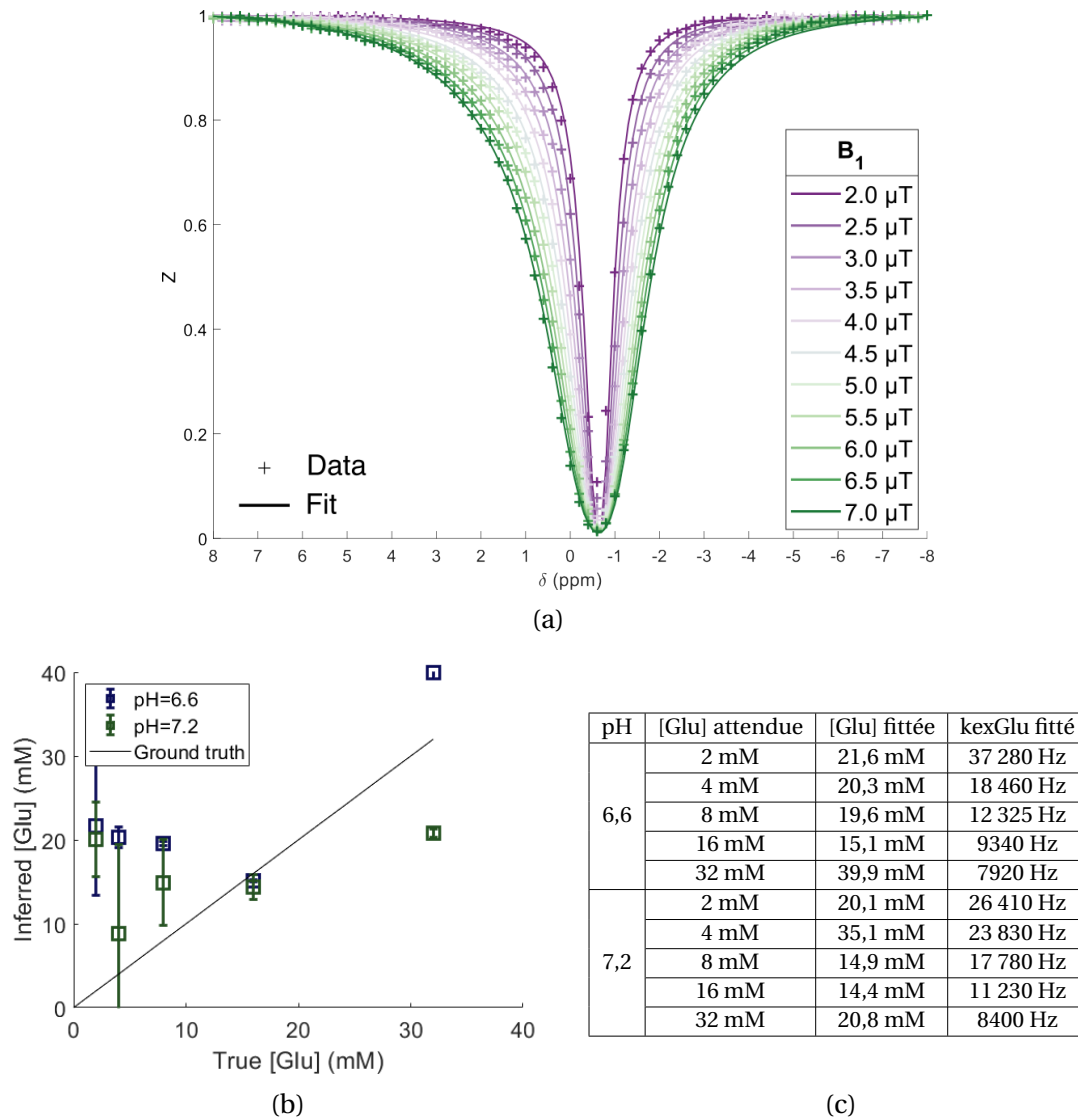


FIGURE 68 – (a) Exemple de fit multi- B_1 de Z-spectra, ici sur le fantômes à 16 mM, pH 6,6. (b) Résultats d'estimation de [Glu] avec cette approche de fit versus les concentrations attendues. Les barres d'erreur indiquées verticalement correspondent à l'intervalle de confiance à 95% estimé pour [Glu] (voir équation VII .3). (c) Détail des résultats de fit pour les différents fantômes.

En utilisant ce premier modèle, les résultats sont en fait assez décevants (figure 68). Les concentrations estimées sont très peu fiables, et les k_{ex}^{Glu} semblent hasardeux. On aurait pu pourtant s'attendre, au vu de l'état de l'art sur la quantification CEST (chapitre V), à pouvoir fitter correctement séparément les deux paramètres de concentration et de taux d'échange. On peut expliquer ici l'échec de l'algorithme par deux raisons :

- Pour les fantômes les moins concentrés, **le signal est trop faible** : on a très peu de variations en changeant le B_1 , sur le MTR par exemple. Les résultats de l'algorithme de fit sont donc

très incertains, et cela se traduit d'ailleurs par de larges CI^{95%}.

- Pour les fantômes plus concentrés, on a plutôt une difficulté de **problème mal posé dû au régime d'échange rapide du glutamate**. En effet, in vitro, le glutamate présente un taux d'échange très rapide, ce qui a pour double effet d'effacer tout pic clairement visible sur le Z-spectrum, et de similariser toutes les variations du signal CEST en fonction du B_1 . Par exemple, la figure 69 montre quelques simulations de la variation du MTR_{asym} à 3 ppm en fonction du B_1 pour différents k_{ex}^{Glu} et concentrations [Glu]. On remarque que pour des k_{ex}^{Glu} très différents (8 000 contre 14 000 Hz), la forme des courbes est très similaire, et en particulier, le maximum de signal est obtenu pour un B_1^{opt} presque identique (entre 6,2 et 7,2 μT ici). On sent que la gamme de B_1 choisie pour cette première acquisition sur fantômes était assez limitée (il aurait fallu monter à plus haut B_1). On voit également que les simulations [32 mM, 14 000 Hz] et [14 mM, 8 000 Hz] sont quasiment analogues : on en déduit que le modèle n'est pas bijectif, et que les paramètres [Glu] et k_{ex}^{Glu} , ayant des effets concomitants sur le signal, ne peuvent donc pas être estimés simultanément.

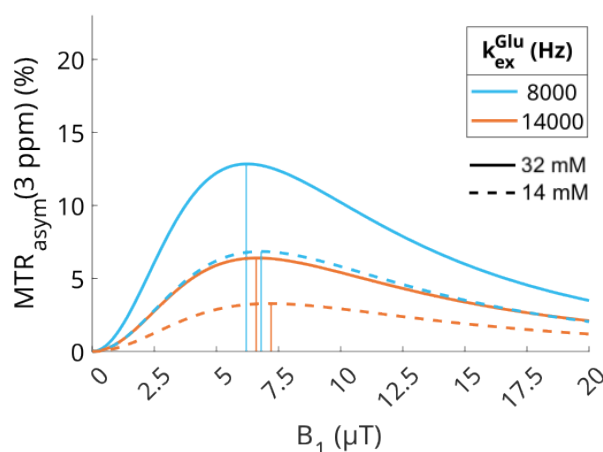


FIGURE 69 – Simulations à 11,7T du $MTR_{asym}(3ppm)$ du glutamate pour différents taux d'échange et concentrations. Ici, un t_{sat} de 1 s a été considéré, avec un T_1^w de 2 s et un T_2^w de 100 ms.

1.1.3 . Estimation de k_{ex}^{Glu} et conclusion

Bien que l'estimation simultanée de [Glu] et de k_{ex}^{Glu} soit un échec, on peut tout de même estimer les taux d'échange k_{ex}^{Glu} de ces fantômes dont on connaît bien la concentration. Si l'on reprend le modèle de fit précédent (table 4), mais que l'on impose cette fois ci la concentration [Glu] comme paramètre fixé, on peut alors estimer k_{ex}^{Glu} . On trouve sur ces fantômes :

$$\begin{cases} k_{ex}^{Glu} \approx 7450\text{Hz} & \text{à pH} = 6,6 \text{ (} R^2 = 0,998 \text{)} \\ k_{ex}^{Glu} \approx 14330\text{Hz} & \text{à pH} = 7,2 \text{ (} R^2 = 0,998 \text{)} \end{cases} \quad (\text{VII.4})$$

En utilisant cette valeur de k_{ex}^{Glu} en entrée du modèle de fit, et en laissant la concentration [Glu] libre, on retrouve des estimations quantitatives de [Glu] plus correctes (figure 70). Les estimations ne sont pas non plus idéales, indiquant peut-être que d'autres paramètres comme les T_1^w/T_2^w peuvent aussi participer à la mauvaise définition du problème de fit.

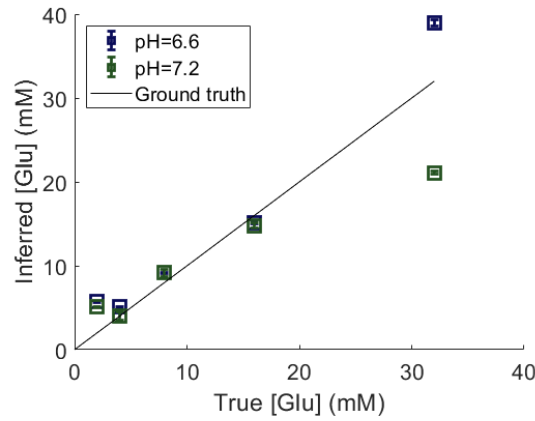


FIGURE 70 – Estimation de [Glu] en imposant $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$ comme paramètre d'entrée fixé à la valeur préalablement déterminé.

1.2 . Caractérisation du taux d'échange dans différentes conditions

Avec ces premiers sets de fantômes, nous avons pu mettre en évidence que la quantification simultanée de la concentration en glutamate et du $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$ semble plus complexe que prévu. En particulier, il semble primordial d'avoir une bonne idée du $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$ pour avoir des quantifications pertinentes de [Glu]. Nous avons donc réalisé d'autres sets de fantômes pour pouvoir caractériser le $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$ dans diverses conditions.

1.2.1 . Influence du pH

Comme nous avons pu le voir dans la figure 67, le pH est un paramètre important conditionnant l'effet gluCEST. En effet, en ce qui concerne la réaction chimique d'échange de protons, les ions hydroxydes (OH^-) sont de très bons catalyseurs : de par leur charge, ils peuvent facilement arracher un proton à une fonction d'intérêt. Cela est d'autant plus vrai pour la fonction amine ($-\text{NH}_3^+$) du glutamate, qui est une fonction acide : elle aura donc beaucoup d'affinités pour les échanges avec des bases.

Ainsi, on dit que l'échange de protons est catalysé par les bases, et donc par un pH croissant. On peut modéliser la dépendance du $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$ au pH ainsi :

$$k_{\text{ex}}^{\text{Glu}} = k_0 + k_1 [\text{OH}^-] = k_0 + k_1 \times 10^{\text{pH}-14} = k_0 + k_b \times 10^{\text{pH}-7} \quad (\text{VII } .5)$$

Un set de fantômes de 40 mM de glutamate à pH variable a été préparé, de nouveau dans du PBS 10 mM, qui offre l'avantage d'être un buffer stabilisant facilement le pH. Les Z-spectra acquis à $t_{\text{sat}} = 1\text{s}$, $B_1 = [3 : 8] \mu\text{T}$ ont été fittés avec la même méthode que décrite précédemment. On constate bien que le $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$ augmente lorsque le pH augmente, et ce assez rapidement (figure 71b). Lorsque le pH devient trop important, les valeurs de $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$ estimées sont d'ailleurs assez incertaines : le signal gluCEST devient très faible, et les intervalles de confiance augmentent nettement. Pour ajuster les valeurs k_0 et k_b , nous avons donc préféré exclure les valeurs à $\text{pH} > 7,5$ (voir figure 71c). Ainsi, nous trouvons ici à température ambiante et dans du PBS 10 mM :

$$k_{\text{ex}}^{\text{Glu}} \approx 1312 + 8087 \times 10^{\text{pH}-7} \quad \text{Hz} \quad (\text{VII } .6)$$

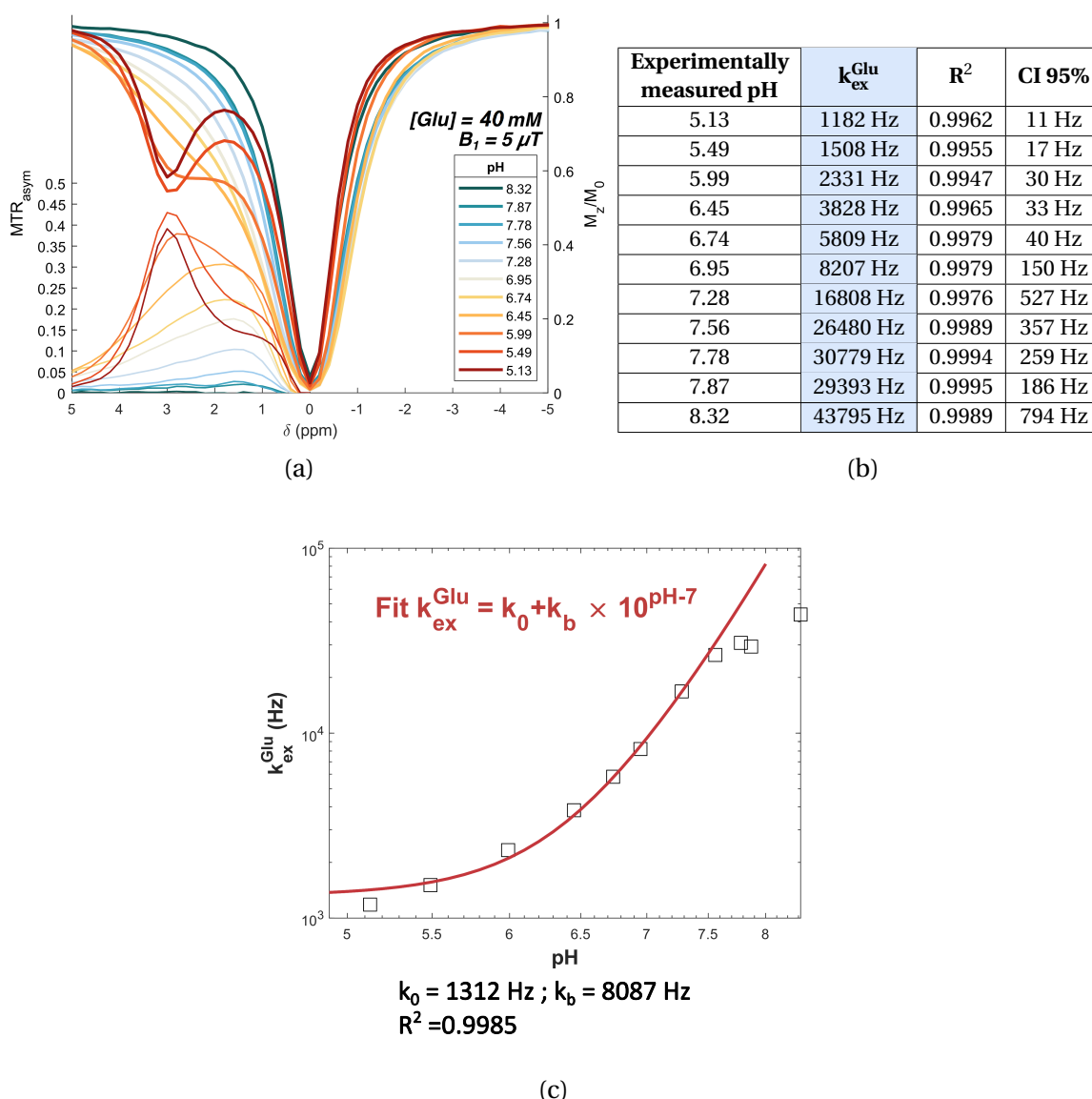


FIGURE 71 – Étude de l’influence du pH sur le taux d’échange du glutamate. (a) Z-spectra acquis à 5 μT à température ambiante pour différents pH. (b) Taux d’échange fittings sur chaque fantôme à différents pH. (c) Modélisation de la loi d’évolution du k_{ex}^{Glu} en fonction du pH.

1.2.2 . Influence du buffer

Tout comme les ions hydroxyles accélèrent les échanges de protons, on peut imaginer que d’autres molécules peuvent jouer le rôle de catalyseurs. [Wermter et al., 2015](#) rapportent ainsi que les ions phosphate HPO_4^{2-} , que l’on retrouve dans les solutions de PBS, peuvent augmenter le taux d’échange de protons entre le glutamate et l’eau. La relation entre k_{ex}^{Glu} et $[HPO_4^{2-}]$ ne semble cependant pas être linéaire, contrairement aux ions hydroxyles.

On peut, plus généralement, écrire :

$$k_{ex}^{Glu} = k_0^{buffer} + k_b \times 10^{pH-7} \tag{VII.7}$$

Pour évaluer la variabilité du taux d’échange en fonction du buffer, trois fantômes de 100 mM de glutamate ont été réalisés à pH = 7.0 dans respectivement de l’eau distillée, de l’HEPES (10

mM) et du PBS (10 mM). Les résultats sont montrés figure 72. On constate bien une variation des taux d'échange en fonction du buffer, et effectivement une augmentation du $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$ dans le PBS. De manière tout à fait marquante, on observe que l'HEPES ralentit beaucoup les échanges de protons avec l'eau, peut être parce que ce buffer a une affinité d'échange plus grande avec le Glu que l'eau et crée donc une sorte de compétition. Ces résultats mettent bien en lumière le rôle que joue l'environnement chimique sur l'effet gluCEST.

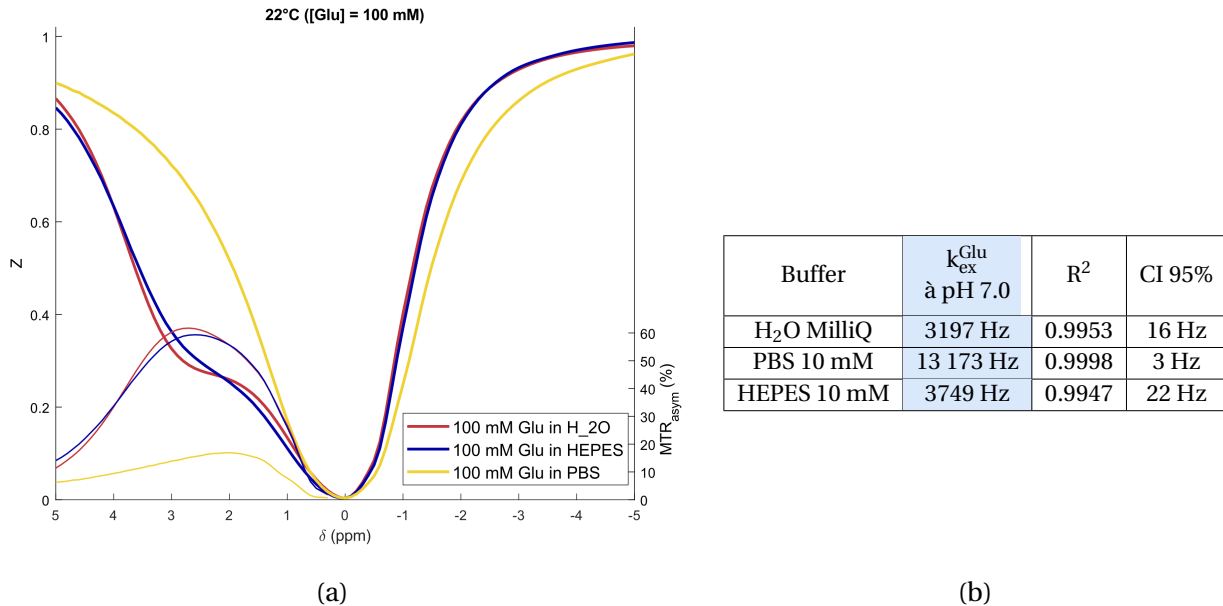


FIGURE 72 – Dépendance du taux d'échange du glutamate au buffer. (a) Z-spectra acquis à température ambiante à $t_{\text{sat}} = 1$ s, $B_1 = 5 \mu\text{T}$ dans les différents fantômes de Glu à pH = 7. (b) Taux d'échange estimés dans les différents buffers par fit multi- B_1 de Z-spectra.

1.2.3 . Influence de la température

Ajoutons enfin que, comme de nombreux procédés de cinétique chimique, les échanges de protons peuvent être accélérés par la température. On modélise l'effet de la température avec la loi d'Arrhenius :

$$k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}(T) = k_0^{\text{buffer}}(T_0) \exp\left(\frac{-E_A}{R} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_0}\right)\right) \quad (\text{VII .8})$$

où E_A est l'énergie d'activation de la réaction d'échange de proton, R la constante des gaz parfaits et T_0 une température de référence.

1.3 . Conclusion sur l'étude in vitro

Cette première étude in vitro a permis de montrer qu'il n'était pas si facile de déterminer simultanément la concentration [Glu] et le taux d'échange $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$ à partir de mesures CEST. Ainsi, pour développer un modèle de quantification CEST robuste du glutamate, il est essentiel d'avoir une bonne caractérisation du $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$ en amont.

Sur fantômes de glutamate, nous avons pu caractériser des $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$ de l'ordre de plusieurs milliers de Hz, dépendants à la fois du pH et du buffer. Dans la table 5, on peut comparer les résultats

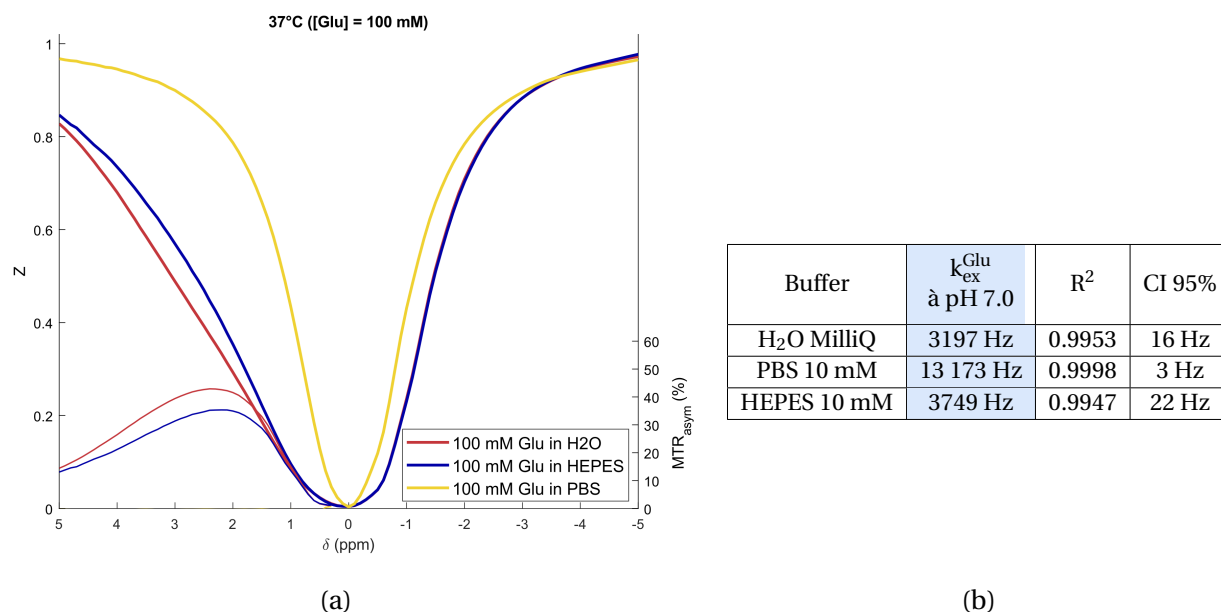


FIGURE 73 – Taux d'échange du glutamate à 37°C. (a) Z-spectra acquis à $t_{sat} = 1$ s, $B_1 = 5 \mu T$ dans les mêmes fantômes de Glu qu'à la figure 72, mais chauffés à $\approx 37^\circ C$ grâce à l'en. (b) Taux d'échange estimés dans les différents buffers par fit multi- B_1 de Z-spectra.

trouvés ici avec ceux de littérature. On constate que nos estimations de k_{ex}^{Glu} semblent plus élevées que celles de la littérature, mais que globalement il y a beaucoup de variabilité dans les valeurs rapportées et il n'y a pas un consensus parfait sur le k_{ex}^{Glu} du glutamate in vitro. Cela peut être expliqué par des méthodologies de quantification différentes (algorithmes, gamme de B_1 mesurés et champ B_0 , ...), mais peut être aussi par des biais expérimentaux (pHmètre utilisé, température exacte du fantôme pendant l'acquisition,...). Les séquences CEST déposent d'ailleurs beaucoup de puissance RF lorsqu'on les utilise : il n'est pas impossible que les échantillons in vitro chauffent de manière non contrôlée lors de leur scan dans l'IRM.

Source	k_{ex}^{Glu} rapporté	Conditions
K. Cai et al., 2012	5500 Hz	PBS, pH 7.0, 37°C
Yadav et al., 2014	6500 Hz	PBS, pH 7.3, 23°C
Wermter et al., 2015	7248 Hz	PBS, pH 7.0, 37°C
	2946 Hz	PBS, pH 7.0, 23°C
Khlebnikov et al., 2019	7480 Hz	PBS, pH 7.0, 37°C
Ici	9400 Hz	PBS, pH 7.0, 23°C

(a)

Source	k_0	k_b	Conditions
Wermter et al., 2015	4023 Hz	3225 Hz	PBS, 37°C
Khlebnikov et al., 2019	2790 Hz	4500 Hz	PBS, 37°C
Ici	1312 Hz	8087 Hz	PBS, 23°C

(b)

TABLE 5 – (a) Comparaison de k_{ex}^{Glu} rapportés dans la littérature. (b) Comparaison de dépendance de k_{ex}^{Glu} au pH rapportées dans la littérature.

Face à tous ces paramètres qui semblent influencer le taux d'échange du glutamate (environnement chimique, pH, température), on peut se demander si les études menées *in vitro* sont vraiment pertinentes pour développer un modèle de quantification destiné à être utilisé *in vivo*. En effet, bien que le pH peut être assez bien connu *in vivo* (sauf dans le cas de pathologies), l'environnement chimique est plus difficile à caractériser. De plus, on peut imaginer qu'*in vivo* l'encombrement moléculaire pourrait encore ralentir les échanges de protons : en effet, *in vivo*, les milieux cellulaires sont complexes et peuplés de beaucoup de larges molécules, qui peuvent rendre la diffusion des agents d'intérêt contrainte, et donc potentiellement ralentir des processus chimiques comme les échanges de protons.

2 . DÉVELOPPEMENT D'UN MODÈLE DE QUANTIFICATION GLUCEST CHEZ LA SOURIS EN UTILISANT LA SPECTROSCOPIE ^1H COMME RÉFÉRENCE

Face aux incertitudes sur l'applicabilité des résultats *in vitro* aux mesures *in vivo*, nous avons donc opté pour un développement d'un modèle de quantification gluCEST **directement *in vivo***. Il s'agit évidemment d'une démarche compliquée, puisqu'*in vivo* de nouvelles difficultés apparaissent, en particulier :

- **Le signal CEST n'est plus spécifique uniquement du glutamate** : comme nous avons pu le voir au chapitre III , le signal CEST *in vivo* entre 0 et 5 ppm est une résultante de contributions de divers métabolites (amides, créatine, etc...). En première approche, en simulant l'effet CEST chez la souris grâce aux paramétrisations proposées par [Khlebnikov et al., 2019](#), nous avons par exemple estimé une contribution d'environ 33% du glutamate au signal gluCEST, typiquement évalué *in vivo* à $t_{\text{sat}} = 1\text{s}$, $B_1 = 5\ \mu\text{T}$ (voir figure 39).
- **Il n'est pas aisé d'avoir un contrôle de la qualité du modèle de quantification**, puisqu'il est complexe de mesurer une référence la concentration [Glu] *in vivo*.

Pour pallier à ces difficultés, et notamment la seconde, nous avons décidé d'utiliser une seconde méthode de mesure pour nous servir de référence interne à la mesure de [Glu] *in vivo* : la spectroscopie quantitative. Ainsi, la modélisation de mesures CEST chez la souris a été combinée à des mesures de [Glu] en ^1H -MRS afin de développer un modèle de quantification correct.

L'étude qui suit rapporte les résultats obtenus *in vivo* chez des souris mâles C57BL6 (Charles River, France), âgées entre 3 et 15 mois, scannées selon le protocole approuvé par la réglementation et décrit au chapitre VI .

2.1 . Spectroscopie quantitative

Décrivons tout d'abord la méthodologie de spectroscopie quantitative que nous avons employé comme référence pour mesurer la concentration du glutamate *in vivo*. Les mesures de spectroscopie ont été réalisées en configuration cryo avec la séquence LASER (voir chapitre VI).

2.1.1 . Principe et méthodes

Lorsqu'on mesure un spectre ^1H *in vivo*, l'intensité des pics observés dépend de beaucoup de paramètres, comme par exemple les antennes utilisées, la proximité du voxel d'intérêt à la sonde de réception, etc... Ainsi, on analyse classiquement les résultats de spectres MRS en parlant de concentrations relatives : par exemple, on normalisera l'intensité des pics de métabolites à un métabolites de référence comme la créatine, et on mesurera typiquement des $[\text{Glu}]/[\text{Cr}]$.

Pour remonter à une concentration [Glu] absolue, on peut en revanche combiner l'acquisition d'un spectre de métabolites à une acquisition d'un pic de l'eau, en désactivant le module de suppression de l'eau. En effet, la concentration de l'eau dans les tissus du cerveau est plutôt bien connue, soit grâce à des études de déshydratation de cerveaux ([Kozler et al., 2022](#)), soit grâce à des approches directes d'IRM ([Shah et al., 2022](#)). On peut donc, en comparant l'intensité du signal MRS à celle du pic de l'eau, dont la concentration est plutôt bien connue, remonter à une estimation de concentration absolue des métabolites. Ainsi, la méthode d'analyse de spectroscopie quantitative se décompose en plusieurs étapes :

1. **Correction des courants de Foucault** : au temps d'écho court de 20 ms auquel les mesures ont été réalisées, il est important de corriger les courants de Foucault avec la phase de la FID

de l'eau, comme il suit (Near et al., 2021).

$$\text{FID}_{\text{corr}} = \text{FID}_{\text{raw}} \times \exp(-i\phi_{\text{water}}(t)) \quad (\text{VII .9})$$

2. **Fit des spectres avec LCModel.** Dans la base LCModel, les spectres simulés des métabolites sont inclus ainsi qu'un spectre expérimental de macromolécules moyenné sur plusieurs animaux.
3. **Mise à l'échelle du spectre de métabolites par rapport à celui de l'eau :** En pratique, on choisit un métabolite de référence dont on compare l'aire de l'un de ses pics celle du pic de l'eau. On peut choisir en théorie n'importe quel métabolite possédant un pic singulet; ici nous avons choisi la PCr et son pic à 3,03 ppm. On normalise de plus les aires par rapport au nombre de protons (2 pour l'eau, 3 pour PCr). Cette étape permet de ramener les résultats à des intensités de concentrations relatives à celle de l'eau.
4. **Correction des effets T₂ :** Lorsqu'on mesure un spectre RMN à un certain temps d'écho TE, le signal des protons de chacune des molécules a déjà relaxé en T₂, avec un T₂ spécifique à chaque groupe de protons. On approximera ici plutôt un T₂ spécifique à chaque molécule. Il faut donc prendre en compte un facteur correctif en $\exp(-TE/T_2)$ pour remettre à l'échelle les différents pics d'intérêts. Les T₂ des différentes molécules seront estimés grâce à des mesures à différents TE et via un fit monoexponentiel.
5. **Détermination de la composition du voxel d'intérêt pour obtenir une estimation exacte de la concentration en eau :** La concentration de l'eau dépend du type de tissu considéré : par exemple, on considère que le liquide céphalo-rachidien (CSF, *CerebroSpinal Fluid*) est composé quasiment d'eau pure, tandis que la matière grise (GM, *Grey Matter*) est moins concentrée en eau, et la matière blanche (WM, *White Matter*) encore moins. Ainsi, pour obtenir une concentration exacte en eau dans le voxel d'intérêt, on le segmente manuellement sur des images anatomiques pour estimer les fractions volumiques f_{CSF} , f_{GM} et f_{WM} des différents types de tissus. En se basant sur les concentrations référencées par Shah et al., 2022, on a alors :

$$[\text{H}_2\text{O}]_{\text{estimée}} = \underbrace{55,6\text{M}}_{\text{eau pure}} \times (f_{\text{CSF}} + 0,81 f_{\text{GM}} + 0,71 f_{\text{WM}}) \quad (\text{VII .10})$$

Comme on considère qu'il n'y a pas de métabolites dans le CSF, mais que ce dernier contamine tout de même le signal de l'eau mesuré, il est d'usage de rajouter une correction de volume partiel :

$$[\text{H}_2\text{O}]_{\text{voxel}} = \frac{[\text{H}_2\text{O}]_{\text{estimée}}}{1 - f_{\text{CSF}}} \quad (\text{VII .11})$$

Au total, la détermination de la concentration [Glu] dans le voxel d'intérêt s'écrit :

$$[\text{Glu}] = \left(\frac{\text{Glu}}{\text{PCr}} \right)_{\text{LCModel}} \times \frac{\frac{1}{3} \int \text{pic PCr}}{\frac{1}{2} \int \text{pic H}_2\text{O}} \times \frac{\exp\left(-\frac{TE}{T_2^{\text{H}_2\text{O}}}\right)}{\exp\left(-\frac{TE}{T_2^{\text{Glu}}}\right)} \times \frac{[\text{H}_2\text{O}]_{\text{estimée}}}{1 - f_{\text{CSF}}} \quad (\text{VII .12})$$

2.1.2 . Validation in vitro

Le pipeline de spectroscopie quantitative a tout d'abord été validé in vitro sur un fantôme mélangé de créatine (15 mM), choline (2.5 mM) et glutamate (15 mM), et son analogue dilué par deux, préparés dans du sérum physiologique à pH 7,2. Les résultats sont présentés en figure 74.

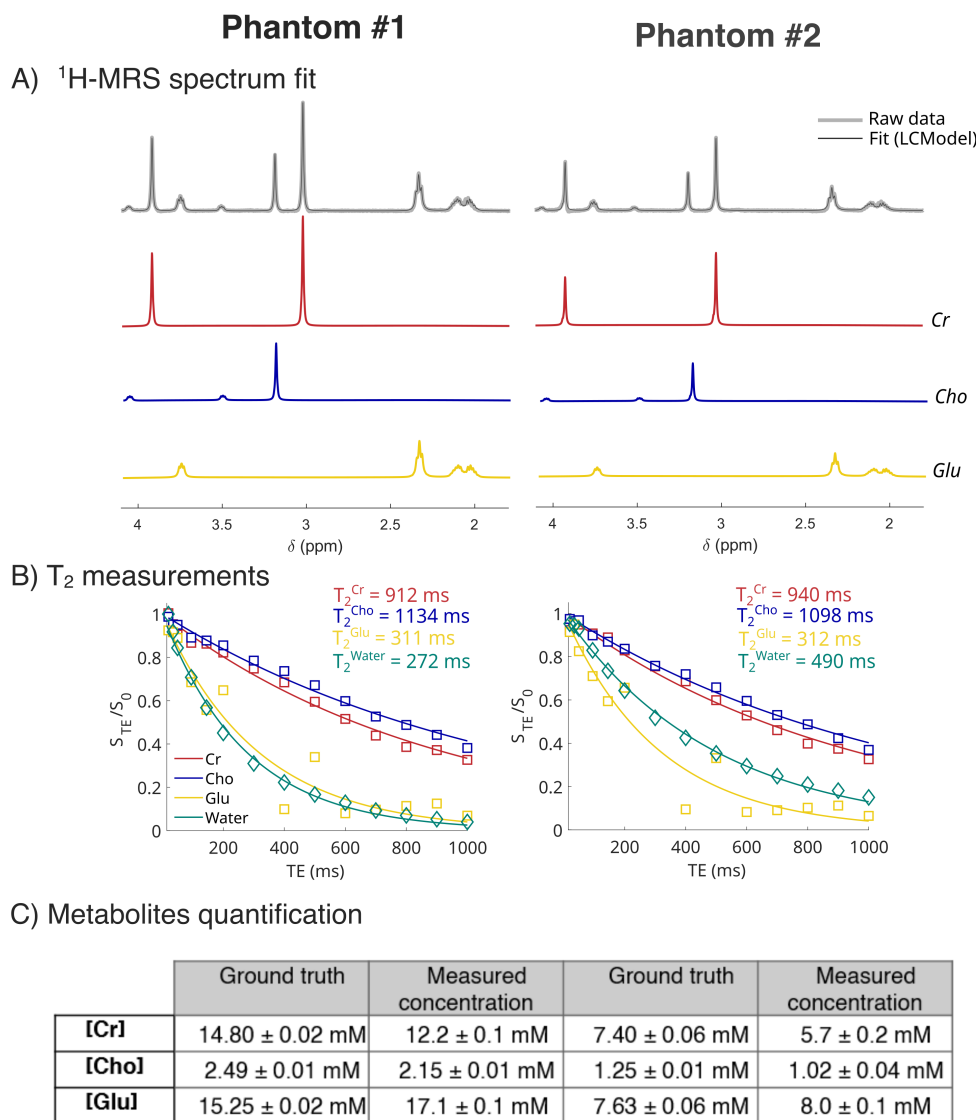


FIGURE 74 – Validation du pipeline de spectroscopie quantitative in vitro. (a) Spectres MRS (32 avg) acquis à TE = 20 ms, TR = 6 s, dans un voxel de 45 μL dans les deux fantômes et fit LCMoDel. (b) Estimations de T_2 à partir des intensités fittées par LCMoDel sur des mesures à différents TE. (c) Quantification des différents métabolites sur les différents fantômes (\pm déviations standards sur 6 mesures) et concentrations exactes attendues calculées à partir des masses et volumes de préparation (\pm incertitudes expérimentales)

LCMoDel a pu donner des estimations avec des bornes inférieures de Cramer-Rao $\text{CRLB} < 2\%$, ce qui est excellent. Les T_2 ont pu être estimés avec $R^2 > 0.98$. Les T_2 estimés sont néanmoins bien plus grands que TE = 20 ms, ce qui fait que la correction T_2 est presque inutile sur fantôme. Globalement, sur ces fantômes, la méthode spectroscopie quantitative a donné d'excellents résultats, avec une erreur de quantification maximum de 22%, et en particulier une erreur moyenne sur

le [Glu] de seulement 8%. À noter que la situation est tout de même beaucoup plus simple in vitro, où il n'y a pas de spectre de macromolécules à acquérir, ce qui rend le fit plus facile et permet de facilement multiplier les acquisitions à différents TE.

2.1.3 . Résultats in vivo

Nous avons choisi de réaliser des mesures in vivo dans deux voxels d'intérêt (VOI) chez la souris (voir figure 75.A) : un dans le striatum (12,8 μ L, 3.2x2x2 mm³), composé quasiment exclusivement de matière grise, et un positionné pour englober au maximum le corps calleux (8 μ L, 4x0.5x4 mm³), composé typiquement de 50 à 60% de matière blanche. Pour chacun de ces VOI, des mesures de métabolites et de macromolécules ont été réalisées à différents TE = [20, 25, 35, 80, 95, 110, 145] ms. Ces TE ont été spécifiquement choisis pour maximiser le signal du glutamate malgré les couplages J (voir annexe B.1.1). Les spectres MM intégrés à la base LCModel ont été moyennés sur 3 animaux, avec 4x64 répétitions par animal. Cela a permis de fitter avec LCModel les intensités de métabolites à différents TE (quelques exemples de fits sont présents en annexe B.1.2). Les fits à TE = 20 ms, là où ont été réalisées les mesures quantitatives, sont montrés figure 75.B. Les estimations de T₂ de différents métabolites ont été réalisées grâce à un fit mono-exponentiel des intensités de concentration données par LCModel aux différents TE mesurés (figure 75.C). Pour l'eau, l'aire de son pic a été mesurée à TE = [20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 85, 100, 140, 200] ms pour avoir une estimation précise du T₂, paramètre primordial à une bonne quantification ¹H-MRS. Les résultats de quantification sont donnés dans le tableau 6.

		Glu	tCr	Ins	tNAA	Tau	Water
T₂ estimé (ms)	Striatum	107 ± 9	145 ± 12	188 ± 19	243 ± 19	125 ± 9	31.7 ± 0.6
	Corps Calleux	99 ± 8	159 ± 4	129 ± 10	278 ± 20	125 ± 6	28.8 ± 1.2
Concentration du VOI (mM)	Striatum	6.5 ± 0.3	7.2 ± 0.2	3.4 ± 0.3	5.3 ± 0.1	12.2 ± 0.7	45.5 ± 0.2 M
	Corps Calleux	5.7 ± 0.4	5.8 ± 0.2	3.3 ± 0.2	4.6 ± 0.3	8.0 ± 0.2	46.5 ± 0.7 M

TABLE 6 – Résultats ¹H-MRS chez la souris : estimations de T₂ et de concentrations dans le striatum et le corps calleux. Les T₂ ont été moyennés sur 5 souris, les concentrations sur 10 souris. Les déviations standards entre animaux sont indiquées.

À noter que l'estimation du T₂ du glutamate s'est révélée plus difficile qu'anticipé : en effet, les fits monoexponentiels étaient de qualité décevante, avec un R² de 0,97. En comparaison, on obtient typiquement un R² de 0,98 pour tCr ou NAA. Cela peut être expliqué potentiellement par une mauvaise simulation de l'évolution du signal du Glu en fonction du TE, peut être à cause d'une valeur légèrement erronée de couplage J, qui propage donc une erreur notamment aux simulations à long TE. C'est en effet une difficulté qui a déjà été rapportée auparavant pour l'estimation des T₂ de métabolites soumis à de forts couplages J (Lopez-Kolkovsky et al., 2016; Xin et al., 2008). Cette hypothèse est corroborée par le fait que les fits T₂ du Ins, lui aussi soumis à de forts couplages J, sont aussi moins précis (R² ≈ 0,96). L'échantillonnage manquant de certaines valeurs de TE peut aussi être mis en cause, notamment à plus long TE, ce qui limite un fit monoexponentiel précis. Cependant, le signal du Glu chute dramatiquement à partir de TE > 150 ms, il n'était pas possible de faire mieux.

Néanmoins, l'estimation du T_2 de l'eau, qui reste le paramètre le plus essentiel et qui influencera le plus les résultats quantitatifs, semble de bonne qualité, avec systématiquement $R^2 > 0,99$.

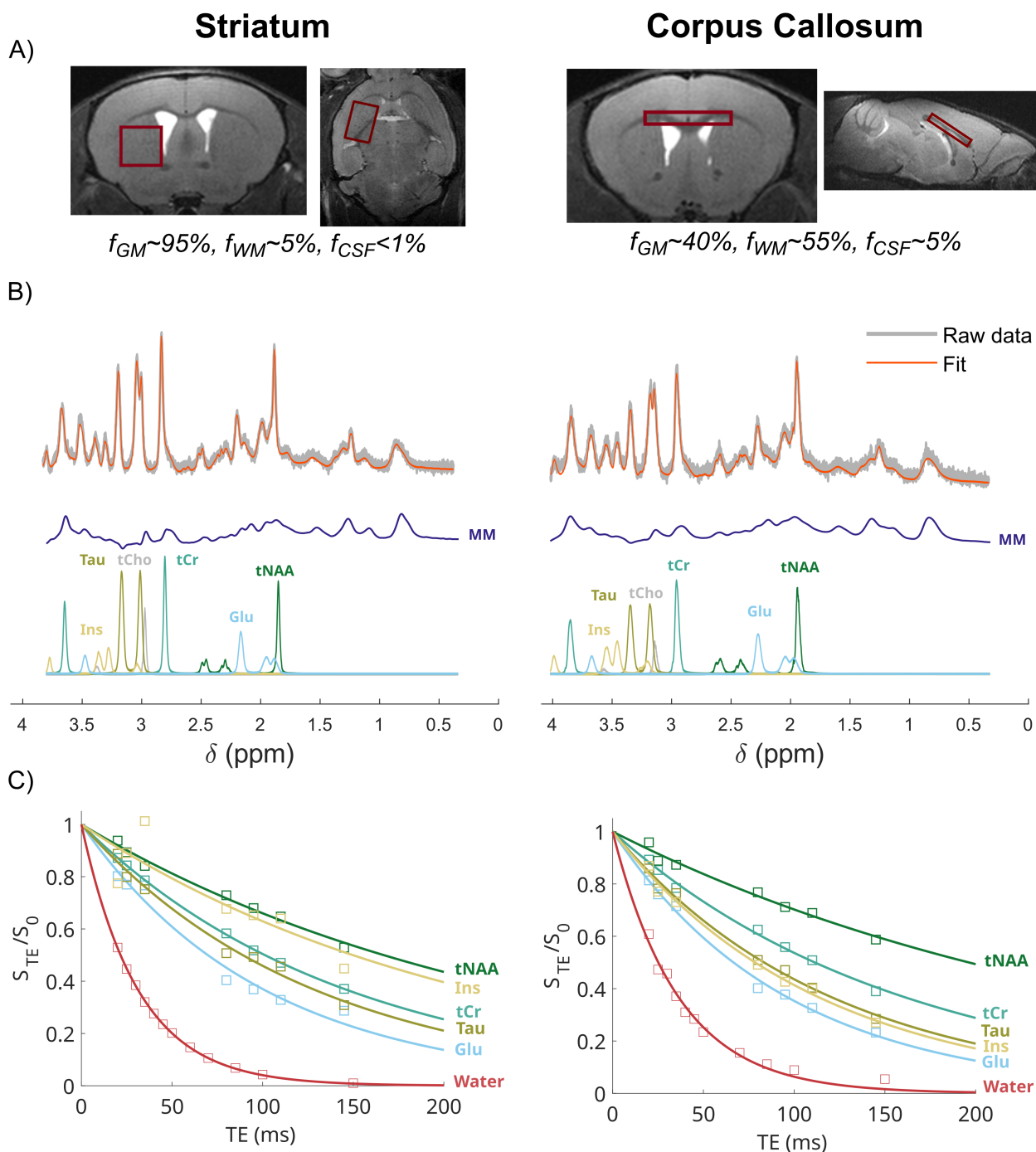


FIGURE 75 – Résultats 1H -MRS in vivo chez la souris. (A) Voxels d'intérêt choisis chez la souris et segmentation typique. (B) Spectre et fit typique obtenu, avec la décomposition LCMODEL en dessous. (C) Estimation de T_2 avec quelques fits mono-exponentiels typiques pour différents métabolites et pour l'eau.

2.2 . Modélisation de mesures CEST localisées à 5 μ T

Directement à la suite des mesures ^1H -MRS, des mesures CEST ont été réalisées dans les deux VOI avec le module LASER, et avec t_{sat} de 1 s, $\text{TR} = 5$ s, pour 51 offsets répartis entre -5 et +5 ppm par pas de 0,2 ppm. Un M_0 à -100 ppm a été mesuré après un dummy scan. Les Z-spectra ont été acquis à plusieurs B_1 ([1, 3, 5, 7] μ T, avec environ 6 min par Z-spectrum). Dans l'étude de ce chapitre, nous nous sommes cependant concentrés sur les données CEST acquises à $t_{\text{sat}} = 1$ s, $B_1 = 5$ μ T, ce qui correspond au paradigme de saturation classiquement utilisé pour les études gluCEST chez le petit animal.

Dans cette section, nous allons développer un modèle pour décrire les données CEST à 5 μ T chez la souris, et notamment estimer un $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$ in vivo. Comme nous avons pu le voir sur l'étude in vitro, il est difficile d'estimer simultanément le $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$ et la concentration [Glu] en fittant des données CEST, et d'autant plus in vivo où d'autres effets CEST entrent en jeu et compliquent le problème. C'est pourquoi dans cette partie, nous imposerons systématiquement la concentration [Glu] au modèle en utilisant la mesure de [Glu] de spectroscopie comme valeur de référence individuelle pour chaque animal.

2.2.1 . Correction de la contamination du CSF sur les données expérimentales

La présence de CSF dans le VOI du corps calleux est particulièrement gênante : en effet, même si présent en petite fraction ($f_{\text{CSF}} < 10\%$), l'aimantation du CSF contamine significativement le signal CEST, car ayant un T_2 beaucoup plus long que le reste des tissus. Nous avons ainsi estimé sur des cartes quantitatives un T_2 d'environ 110 ms pour le CSF à 11,7 T. Le CSF ne comportant pas de métabolites, et donc pas de glutamate, il dilue fortement l'effet CEST d'intérêt. Avant de modéliser les données CEST, nous avons donc procédé à une correction des données acquises dans le corps calleux.

En supposant que le ratio d'aimantation au repos entre le tissu d'intérêt M_0^{CC} et la contribution du CSF M_0^{CSF} peut être totalement décrit par la concentration en eau et l'effet T_2 , on a :

$$\frac{M_0^{\text{CSF}}}{M_0^{\text{CC}}} = \frac{f_{\text{CSF}}}{1 - f_{\text{CSF}}} \times \frac{[\text{H}_2\text{O}]^{\text{CSF}}}{[\text{H}_2\text{O}]^{\text{CC}}} \times \frac{\exp\left(-\frac{TE}{T_2^{\text{CC}}}\right)}{\exp\left(-\frac{TE}{T_2^{\text{CSF}}}\right)} \quad (\text{VII} .13)$$

La fraction f_{CSF} et les concentrations en eau $[\text{H}_2\text{O}]$ étant connues grâce aux segmentations manuelles des voxels, et le T_2^{CC} grâce aux mesures de l'eau à différents TE, ce ratio peut être calculé en supposant $T_2^{\text{CSF}} = 110$ ms.

Ce que l'on mesure expérimentalement en CEST, c'est $M_z^{\text{exp}} = M_z^{\text{CC}} + M_z^{\text{CSF}}$, ou bien lorsqu'on se place à -100 ppm $M_0^{\text{exp}} = M_0^{\text{CC}} + M_0^{\text{CSF}}$. On peut donc estimer séparément M_0^{CC} et M_0^{CSF} avec la relation VII .13. Grâce à des mesures dans des ROI comportant uniquement du CSF, un Z-spectrum typique de CSF Z^{CSF} a pu être déterminé préalablement. À partir de là, le Z-spectrum dans le corps calleux peut être corrigé avec la formule suivante :

$$Z_{\text{corr}} = \frac{M_z^{\text{exp}} - Z^{\text{CSF}} M_0^{\text{CSF}}}{M_0^{\text{CC}}} \quad (\text{VII} .14)$$

Visuellement, la correction du CSF sur des Z-spectra acquis dans le corps calleux est représentée en figure 76. On peut voir que le signal gluCEST est réhaussé par cette correction.

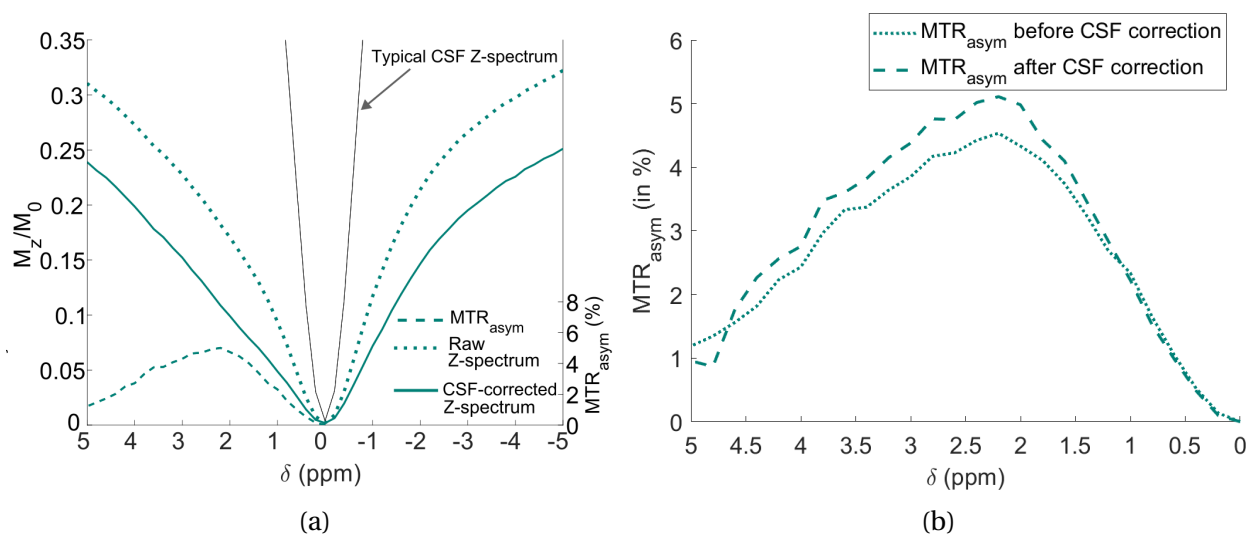


FIGURE 76 – Effet de la correction de la contamination du CSF sur les mesures CEST : (a) sur un Z-spectre acquis dans le corps calleux et (b) sur le MTR_{asym} moyen.

2.2.2 . Choix d'un modèle et des compartiments à inclure

Nous discutons maintenant dans cette section de comment modéliser ces données CEST in vivo. Comme nous avons pu le voir au chapitre III, de nombreux métabolites peuvent contribuer au signal CEST mesuré à 5 μ T in vivo. Toute la question est de savoir lesquels sont les plus pertinents à inclure dans le modèle; sachant que l'inclusion de trop de compartiments et de degrés de liberté peut mener à de l'overfitting.

Pour répondre à cette problématique, nous avons testé différentes combinaisons de "compartiments-candidats", et nous avons choisi d'utiliser des critères statistiques pour déterminer le modèle le plus pertinent, à savoir les critères d'information bayésien (BIC), d'Akaike (AIC) et son analogue corrigé pour les larges degrés de liberté (cAIC). Ces différents critères évaluent la qualité d'un modèle en fonction de sa capacité à coller aux données et en fonction du nombre de variables libres. Ils doivent être minimisés pour obtenir le meilleur modèle parmi tous ceux testés. Leurs expressions sont les suivantes :

$$BIC = n \log(\sigma^2) + k \log(n) + \underbrace{n(1 + \log(2\pi))}_{\text{constante de définition}} \quad (\text{VII .15})$$

$$AIC = n \log(\sigma^2) + 2k + \underbrace{n(1 + \log(2\pi))}_{\text{constante de définition}} \quad (\text{VII .16})$$

$$cAIC = AIC + \frac{2k(k+1)}{n-k-1} \quad (\text{VII .17})$$

avec $n = 51$ le nombre de points expérimentaux, k le nombre de degrés de libertés, et la variance des résidus $\sigma^2 = \frac{1}{n} \sum_1^n (y_i - \hat{y}_i)^2$.

Les "compartiments-candidats" considérés ici, autre que le compartiment MT et le glutamate qui ont été inclus de base, sont les suivants :

- **Un compartiment de guanidines (Guan)** : il s'agit des protons faisant partie de fonctions chimiques de type guanidium, résonant à 2 ppm, tels que ceux de la créatine, la phosphocréatine, les arginines, etc... Pour ce compartiment, nous avons choisi un $k_{\text{ex}}^{\text{Guan}}$ de 300 Hz, de l'ordre de ce qui a pu être rapporté chez la souris (Z. Zhang et al., 2023).
- **Un compartiment d'amides (APT)**, composé principalement de protéines résonant à 3,5 ppm. Un $k_{\text{ex}}^{\text{APT}}$ de 22 Hz a été fixé, comme rapporté précédemment chez le rongeur (Heo, Y. Zhang et al., 2016; Ji et al., 2023; J. Zhou, Payen et al., 2003).
- **Un compartiment hydroxyle (OH)** : il s'agit des protons de fonctions hydroxyles (OH), résonant à 1,0 ppm, principalement ceux du myo-inositol, mais aussi potentiellement du glucose, etc... Un $k_{\text{ex}}^{\text{OH}}$ de 2000 Hz a été considéré, en se basant sur ce qui a pu être mesuré in vitro pour le myo-inositol (Khlebnikov et al., 2019).
- **Deux compartiments NOE différents**, l'un résonant à -3,5 ppm avec un taux d'échange de $k_{\text{ex}}^{\text{NOE1}} = 15$ Hz (Heo, Y. Zhang et al., 2016); et l'autre résonant à -1,6 ppm avec un taux d'échange de $k_{\text{ex}}^{\text{NOE2}} = 10$ Hz, inféré à partir des maxima de signal rapportés (Viswanathan et al., 2024).
- **Un compartiment de taurine (Tau)**, inclus au vu de son importante concentration chez la souris et de sa potentielle contribution au vu des simulation préliminaire (voir figure 39b). Un taux d'échange de 50 000 Hz (Khlebnikov et al., 2019) ou de 10 000 Hz (Wermter et al., 2015) a été utilisé, avec une résonance à 3,2 ppm.

Dans cette approche d'optimisation de modèle, nous avons **fixé la concentration du glutamate avec la valeur individuelle mesurée pour cet animal en spectroscopie**. Par ailleurs, nous avons fixé les taux d'échange des compartiments-candidats (sauf celui du Glu, que l'on cherche à déterminer) afin de réduire le nombre de variables libres. Les concentrations des différents compartiments sont en revanche laissées libres. Le compartiment MT est modélisé par une super-lorentzienne de fréquence de coupure ± 1 ppm, avec une fréquence de résonance, un taux d'échange et une fraction protonique libres. Le modèle de fit de cette section est détaillé en annexe B.2.1.

Les résultats de fit avec quelques combinaisons différentes sont présentés en figure 77 et dans la table 7. D'autres combinaisons testées peuvent être retrouvées en annexe B.2.2. On peut voir dans la figure 77 comment les résidus évoluent lors de l'ajout de compartiments : l'ajout du compartiment Guan fait baisser les résidus autour de 2 ppm, celui du compartiment OH autour de 1 ppm, etc... Au final, la combinaison de compartiments qui se révèlent la plus pertinente, minimisant les critères statistiques (table 7), est **un modèle à 6 compartiments : MT, Glu, Guan, APT, OH et NOE¹**. Ce modèle sera donc utilisé par la suite pour décrire les données CEST à 5 μ T.

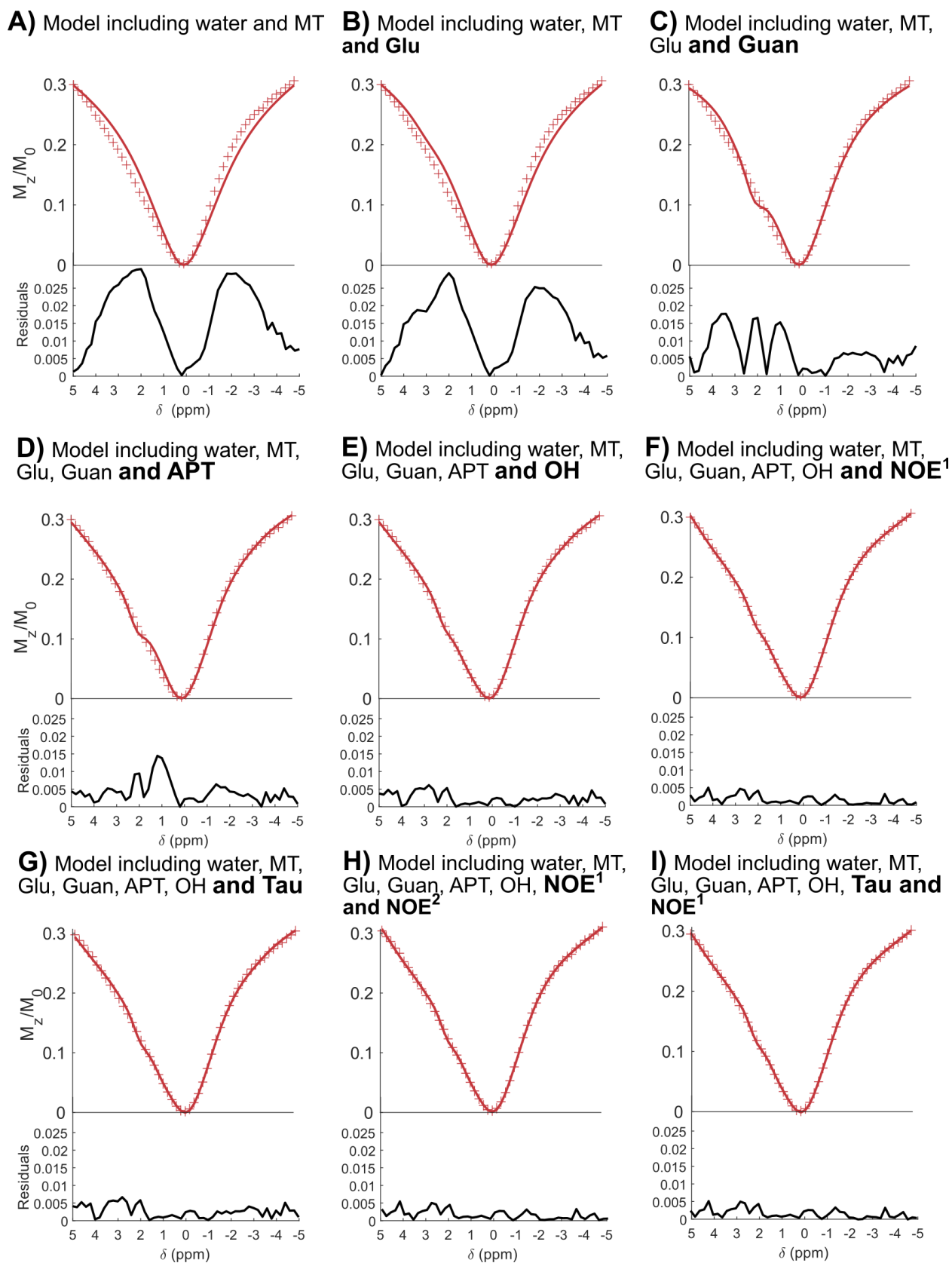


FIGURE 77 – Illustration de la démarche de choix des compartiments à inclure dans le modèle CEST. Ici, des données acquises dans le striatum de la souris ont été fittées avec différentes combinaisons de compartiments candidats. Les résidus sont tracés en noir.

Pools included in the candidate model	R ²	AIC	cAIC	BIC
Water, MT (Figure 77.A)	0.96211	-250	-248	-240
Water, MT, Glu (Figure 77.B)	0.97140	-262	-260	-250
Water, MT, Glu, Guan (Figure 77.C)	0.99225	-327	-324	-313
Water, MT, Glu, Guan, APT (Figure 77.D)	0.99709	-375	-371	-359
Water, MT, Glu, Guan, APT, OH (Figure 77.E)	0.99912	-433	-429	-416
Water, MT, Glu, Guan, APT, OH, NOE ¹ (Figure 77.F)	0.99958	-469	-464	-450
Water, MT, Glu, Guan, APT, OH, Tau (Figure 77.G)	0.99912	-431	-426	-412
Water, MT, Glu, Guan, APT, OH, NOE ¹ , NOE ² (Figure 77.H)	0.99958	-467	-460	-446
Water, MT, Glu, Guan, APT, OH, NOE ¹ , Tau (Figure 77.I)	0.99957	-466	-459	-444

TABLE 7 – Résultats de qualité de modèle avec quelques combinaisons de "compartiments candidats" (les mêmes que celles présentées en figure 77)

2.2.3 . Estimation d'un k_{ex}^{Glu} in vivo

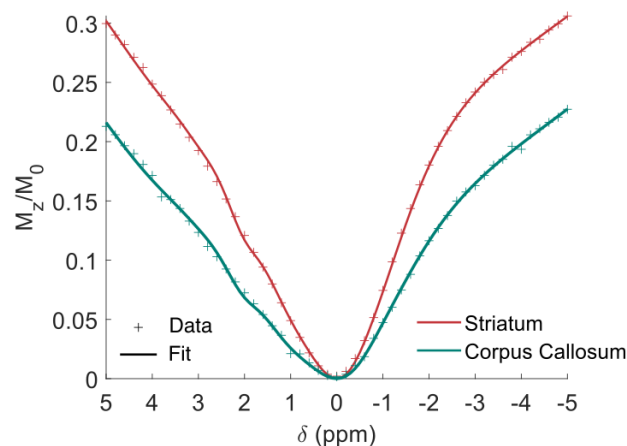


FIGURE 78 – Exemples de fits typiques dans le striatum et le corps calleux.

Une fois le modèle défini, nous pouvons fitter sur différents animaux et dans différents tissus les données, et en particulier une valeur de k_{ex}^{Glu} .

Les résultats de modélisation moyens sont présentés dans la table 8 (N=5 pour le striatum, N=8 pour le corps calleux). On obtient en particulier un k_{ex}^{Glu} de l'ordre de 1300 Hz (1301 ± 26 Hz et 1276 ± 76 Hz respectivement dans le striatum et le corps calleux). Cette valeur est bien plus basse que ce qui avait pu être estimé in vitro, mais se rapproche en revanche de l'estimation très approximative de 2000 Hz rapportée par [K. Cai et al., 2012](#) chez le rat.

Mean R ²	Striatum		Corpus callosum	
	0.9996		0.9959	
	<i>Mean fitted value</i>	<i>Mean CI 95%</i>	<i>Mean fitted value</i>	<i>Mean CI 95%</i>
k_{ex}^{Glu}	1301 ± 26 Hz	19 ± 9	1276 ± 76 Hz	161 ± 151
f_H^{Guan}	0.4 ± 0.1%	(2 ± 1)e-3%	0.7 ± 0.2%	(17 ± 15)e-3%
f_H^{APT}	3.5 ± 0.5%	(14 ± 6)e-3%	4.4 ± 0.8%	(109 ± 105)e-3%
f_H^{OH}	0.5 ± 0.3%	(2 ± 2)e-3%	0.5 ± 0.6%	(6 ± 4)e-3%
f_H^{NOE}	4.1 ± 0.2%	(34 ± 9)e-3%	3.6 ± 1.2%	(181 ± 206)e-3%
f_H^{MT}	10.4 ± 0.9%	0.11 ± 0.04 %	12.9 ± 5.6%	0.8 ± 1.3 %
k_{ex}^{MT}	13.3 ± 0.8 Hz	0.20 ± 0.05 Hz	25.8 ± 18.9 Hz	0.16 ± 0.25 Hz
δ^{MT}	-0.03 ± 0.04 ppm	0.04 ± 0.01 ppm	-0.53 ± 0.82 ppm	0.2 ± 0.25 ppm

TABLE 8 – Résultats moyens de fits dans le striatum (N=5) et dans le corps calleux (N=8) (± déviations standards entre animaux).

2.2.4 . Application d'un modèle de quantification de [Glu]

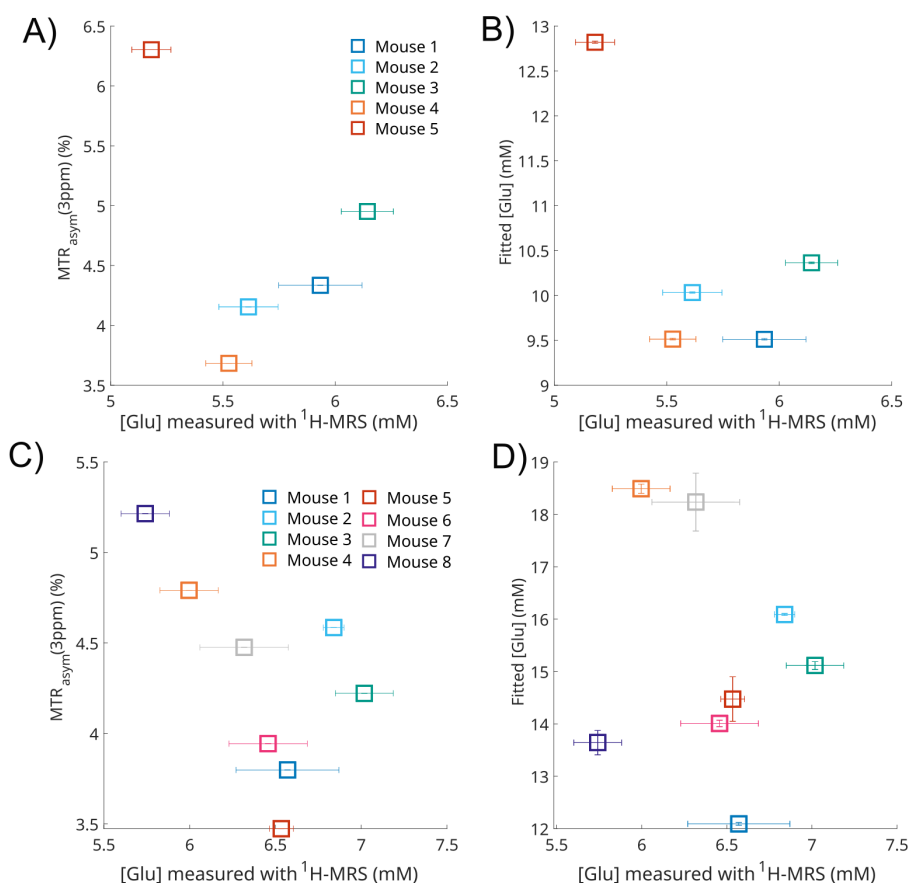


FIGURE 79 – (A) et (C) : MTR_{asym}(3 ppm) en fonction de la concentration estimée en ¹H-MRS, respectivement dans le striatum et le corps calleux. (B) et (D) [Glu] estimées par le modèle quantitatif, tracées en fonction de la concentration estimée en ¹H-MRS, respectivement dans le striatum et le corps calleux. Les barres d'erreur en abscisse correspondent aux erreurs standards estimées pour les mesures ¹H-MRS. Les barres d'erreur en ordonnées sur les graphes (B) et (D) correspondent aux CI^{95%} du fit.

Maintenant le $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$ bien caractérisé in vivo, on peut ensuite développer un modèle de quantification de la concentration en glutamate. Il suffit alors de fixer la valeur de $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$ aux estimations précédentes, et de redonner à l'algorithme de fit de la liberté sur [Glu]. Le modèle quantitatif ainsi proposé est résumé en annexe B.2.3.

Ce modèle de quantification a alors été appliqué aux données précédemment acquises dans le striatum et le corps calleux. Les résultats sont montrés en figure 79. Curieusement, on observe que les [Glu] estimées par le modèle semblent systématiquement supérieures à ce qui est mesuré en $^1\text{H-MRS}$, respectivement de $4,8 \pm 1,6 \text{ mM}$ et $8,8 \pm 2,3 \text{ mM}$ dans le striatum et le corps calleux. Nous rediscuterons de cette observation dans la section de discussion 3. En attendant, on remarque également que le biais de quantification semble systématique, comme en attestent les petites déviations standards : le modèle de quantification reste donc pertinent.

2.3 . Cartographie quantitative du glutamate

Des images CEST (résolution de $0.15 \times 0.15 \text{ mm}^2$, FOV de $19.2 \times 19.2 \text{ mm}^2$, pour 128×128 pixels, avec un volume de shim de 480 mm^3) ont été acquises sur 2 coupes d'épaisseur $0,6 \text{ mm}$ séparées par $2,4 \text{ mm}$ dans le cerveau de souris, grâce à la séquence RARE munie du même module de saturation que précédemment décrit. Les mêmes $n=51$ offsets ont été acquis entre -5 et 5 ppm , avec un M_0 à -100 ppm . Une carte WASSR ($\delta = [-1 : 0.1 : 1] \text{ ppm}$, $B_1 = 0,2 \text{ }\mu\text{T}$) a également été acquise pour produire des cartes MTR_{asym} corrigée en ΔB_0 (M. Kim, Gillen et al., 2009). Ces acquisitions prennent typiquement une heure de scan.

2.3.1 . Prétraitement des données

Les données d'imagerie CEST sont plus bruitées que les données acquises en configuration cryo dans un large voxel. Avant de les modéliser pixel par pixel, nous avons commencer par débruiter les données grâce à une méthode de corrélation spatiotemporelle (Chen, Cao et al., 2020). Il s'agit d'une méthode de décomposition en valeurs singulières du k-space; abrégée MLSVD pour *MultiLinear Singular Value Decomposition*, qui utilise donc des informations de corrélation à la fois spatiales et spectrales pour corriger les données CEST. La matrice du k-space est décomposée en matrices orthonormées U selon $x/y/n$, qui sont ensuite tronquées pour retirer le bruit. Les dimensions du coeur de troncation utilisé ici sont 30×30 pour les dimensions spatiales et 10 pour la dimension spectrale. Ce débruitage est illustré en figure 80.

Le bruit ricien N_R , qui cause un petit décalage systématique de l'aimantation M_z par rapport à 0 , a également été corrigé (K. Wang et al., 2024), en étant estimé comme le minimum d'aimantation mesuré sur chaque pixel, puis avec :

$$Z_{\text{corr}} = \frac{Z - N_R}{1 - N_R} \quad (\text{VII .18})$$

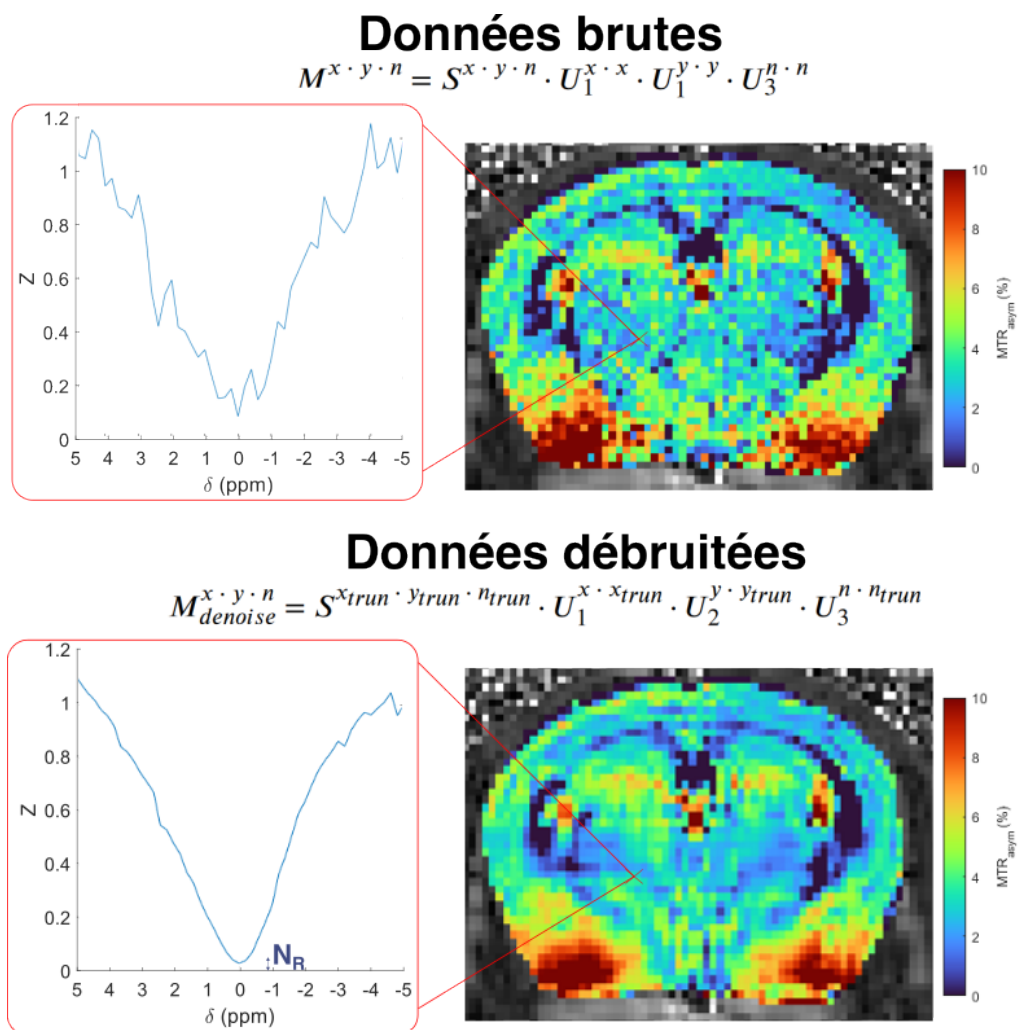


FIGURE 80 – Illustration du débruitage de cartes CEST grâce à la méthode MLSVD : Z-spectrum sur un pixel et carte MTR_{asym} (moyenné entre 2 et 3 ppm) obtenu à 5 μT avant et après débruitage.

2.3.2 . Imagerie quantitative du glutamate

Le fit pixel par pixel par le modèle décrit précédemment, et résumé en annexe B.2.3 a alors été appliqué à des données d'imagerie CEST débruitées. Des exemples sur 3 souris sont donnés en figure 81. On estime, grâce à des ROIs tracées à la main, les concentrations de glutamate suivantes : $[Glu] = 9,1 \pm 0,6$ mM dans le corps calleux; $11,8 \pm 1,0$ mM dans le cortex; $11,2 \pm 1,6$ mM dans l'hippocampe et $10,9 \pm 0,8$ mM dans le striatum. Sur les cartes quantitatives de glutamate, on remarque également que les zones ventriculaires, remplies de CSF, sont bien délimitées, avec un $[Glu]$ de 0 mM estimé. Certains effets de bords de région, que l'on observe sur les cartes MTR_{asym} , ne sont pas présents sur les cartes de $[Glu]$. Certaines zones d'hypersignal sont cependant toujours présentes sur les cartes de $[Glu]$, ou apparaissent même dans certains cas, dues à des estimations aberrantes de $[Glu]$.

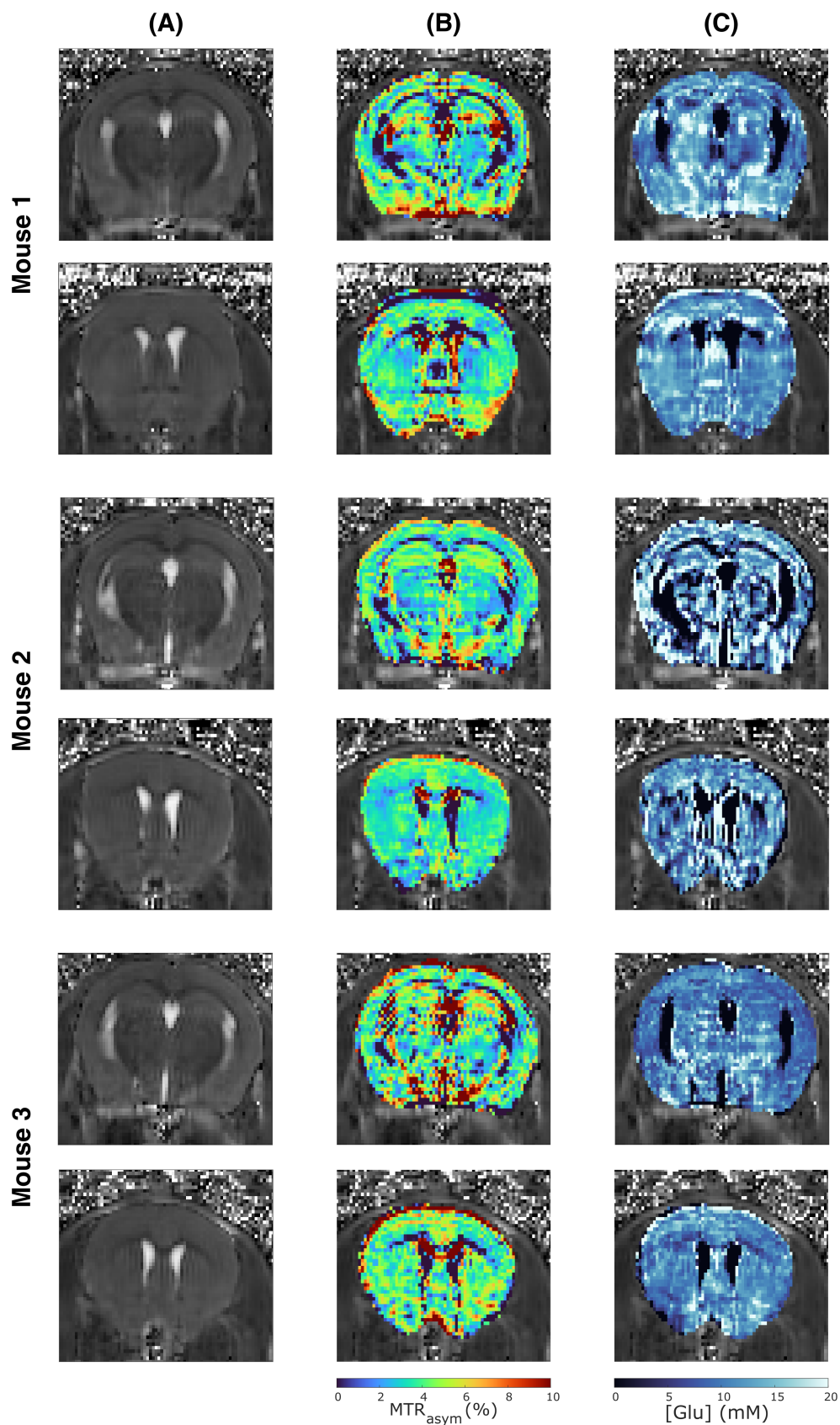


FIGURE 81 – Cartographie quantitative du glutamate chez 3 souris et sur 2 coupes. (A) Images T₂, (B) Cartes MTR_{asym} moyennées entre 2 et 3 ppm (corrégées avec un WASSR) et (C) Cartes de [Glu] obtenues par modélisation pixel par pixel des données CEST.

2.4 . Evaluation critique du modèle

Le modèle proposé ici permet bien de produire des estimations de [Glu], mais quelle est la fiabilité de ces estimations? Les cas où le modèle propose des valeurs aberrantes de [Glu], notamment trop élevées, peuvent en effet interroger sur sa crédibilité. Nous proposons donc dans cette section une approche par simulations pour estimer la robustesse du modèle.

2.4.1 . Précision et exactitude intrinsèques

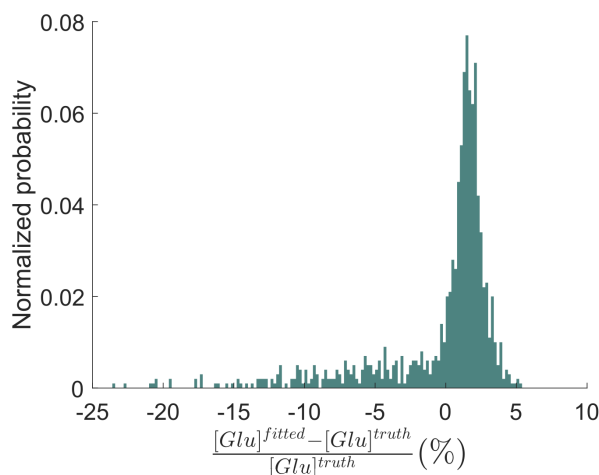


FIGURE 82 – Histogramme de l'erreur commise par le modèle sur l'estimation de [Glu] à travers 2000 simulations.

Nous avons généré un set de 2000 simulations de Z-spectra à 5 μ T, dans lesquelles différents paramètres (T_1^w , T_2^w , [Glu], [Guan], [OH], [NOE], f_H^{MT} , k_{ex}^{MT} , et ΔB_0) varient dans des gammes de fluctuation réalistes (voir annexe B.2.4). Ces simulations ont été fittées avec notre modèle quantitatif pour évaluer son exactitude et sa précision. On peut alors mesurer l'erreur commise par le modèle sur l'estimation de la concentration de glutamate, ici définie par :

$$\text{Erreur sur [Glu]} = \frac{[\text{Glu}]^{\text{fitted}} - [\text{Glu}]^{\text{truth}}}{[\text{Glu}]^{\text{truth}}} \quad (\text{VII .19})$$

En figure 82, on peut voir un histogramme des erreurs commises par le modèle sur l'estimation de [Glu]. Bien qu'il y ait une tendance légère à la surestimation de [Glu], les performances intrinsèque du modèle semblent plutôt bonnes : l'erreur moyenne est de 1,4%, avec une bonne précision (déviatiion standard de l'erreur de 1,4%).

2.4.2 . Résilience au bruit

Si l'on ajoute désormais du bruit ricien au même set de simulation, on peut éprouver la robustesse du modèle au bruit. On constate alors que la précision du modèle se dégrade lorsque le bruit augmente : la déviatiion standard de l'erreur croit vite, passant de 1% sans bruit à 152 % pour 2% de bruit ricien (figure 83c). Le nombre de valeurs aberrantes de [Glu] fittées semblent également augmenter avec le bruit (figures 83a et 83b). Cela témoigne malheureusement de l'instabilité du modèle au bruit.

L'exactitude du modèle reste cependant correcte pour un bruit inférieur à 1%, avec une erreur moyenne qui reste proche de 0. En revanche, au dessus de 1% de bruit, la concentration [Glu] tend à être surestimée : on observe ainsi une surestimation moyenne de [Glu] de 41% pour 2% de bruit ricien.

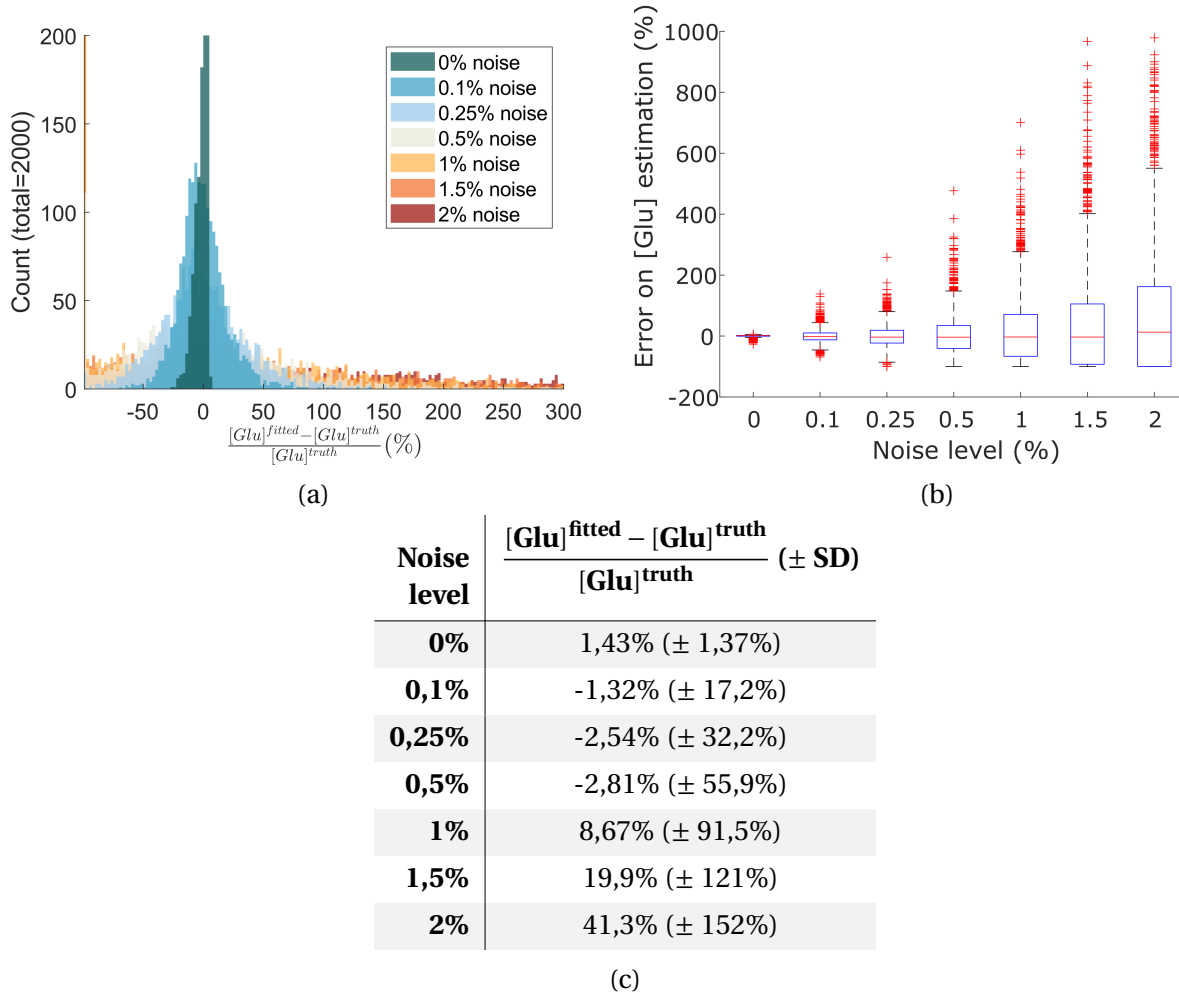


FIGURE 83 – Robustesse au bruit du modèle de quantification gluCEST. (a) Histogrammes superposés des erreurs commises par le modèle en fonction du niveau de bruit. (b) Diagramme en boîtes de l'évolution de l'erreur commise sur [Glu] en fonction du niveau de bruit. (c) Moyennes et déviations standards de l'erreur sur [Glu] en fonction du bruit.

2.4.3 . Résilience aux déviations de taux d'échange

Comme nous avons pu le voir précédemment, le taux d'échange du glutamate k_{ex}^{Glu} est très sensible à son environnement chimique, et il n'est pas à exclure qu'il varie légèrement d'un animal à l'autre, par exemple à cause d'effets de température, ou bien dans le cas de pathologies. Il est donc intéressant d'évaluer la performance du modèle quantitatif lorsque le k_{ex}^{Glu} du glutamate varie par rapport à la valeur basale de ≈ 1300 Hz estimée précédemment.

Des sets de 100 simulations ont été de nouveau générés, mais cette fois-ci en modifiant la valeur de k_{ex}^{Glu} utilisée en entrée du simulateur. On peut alors évaluer l'erreur commise par le modèle sur l'estimation de [Glu] en supposant une valeur erronée de 1300 Hz pour le k_{ex}^{Glu} . Ces résultats sont

montrés en figure 84.A. On regarde ici l'erreur absolue. On constate que l'estimation de [Glu] peut effectivement être affectée si notre mesure de k_{ex}^{Glu} est erronée, avec par exemple une erreur qui monte à 50% si le vrai k_{ex}^{Glu} vaut 3500 Hz au lieu de 1300 Hz. Cependant, l'erreur sur [Glu] reste tout de même faible (<10%) sur une marge relativement grande de k_{ex}^{Glu} , entre 800 et 1850 Hz.

On peut aussi s'interroger sur les valeurs de taux d'échange des autres compartiments utilisés dans le modèle. En effet, nous avons choisi dans l'approche développée ici de fixer les k_{ex} des différents autres agents CEST (APT, Guan, OH, NOE) à des valeurs supposées correctes, déterminées par d'autres études, si possible in vivo, mais parfois à défaut in vitro (comme pour OH). On peut donc se demander si ces hypothèses sur les différents taux d'échange pourraient biaiser systématiquement les estimations de [Glu]. En reprenant la même démarche que précédemment, les simulations correspondant aux figures 84.B-E répondent à cette question. L'erreur commise sur [Glu] reste relativement faible (<20%), même lorsqu'on envisage des taux d'échange des compartiments annexes très différents de l'hypothèse initiale. En particulier, on remarque que l'estimation de [Glu] reste fiable, même lorsqu'en comparaison les estimations de concentrations des autres compartiments sont très loin de la valeurs réelles. On en conclut que le k_{ex}^{Glu} reste le paramètre primordial qui module l'estimation de [Glu], ce qui est plutôt rassurant.

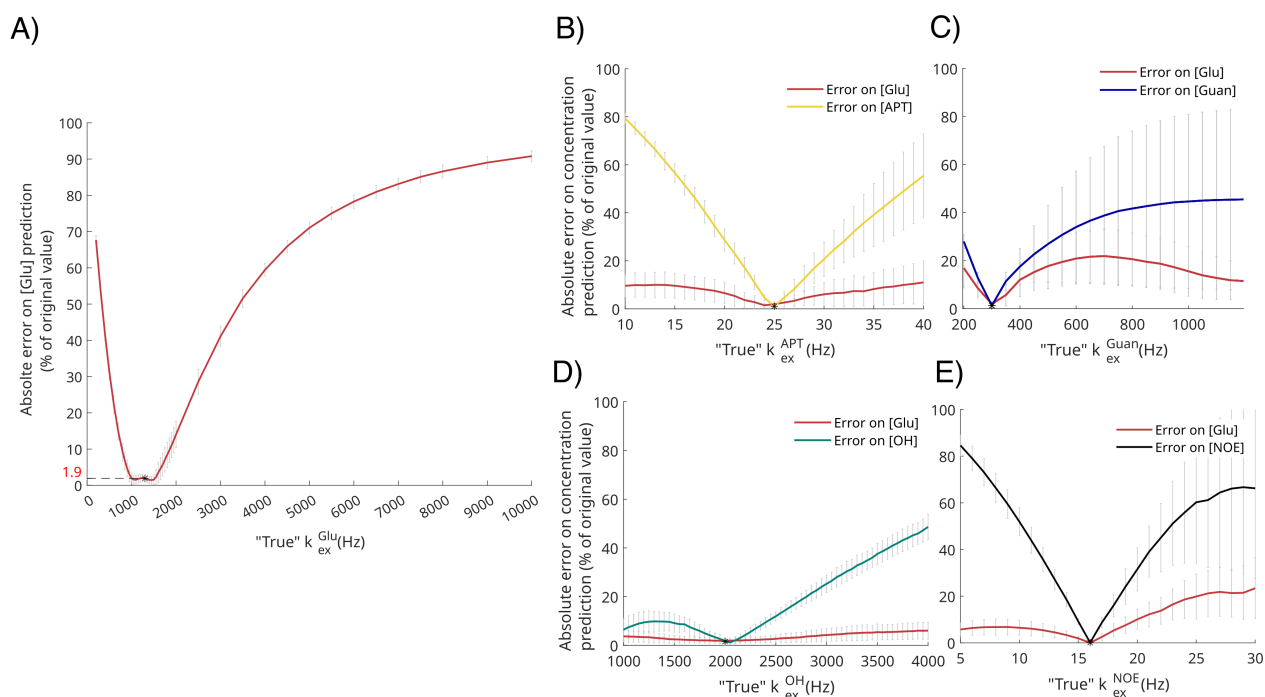


FIGURE 84 – Robustesse du modèle aux déviations de taux d'échange. (A) Évolution de l'erreur absolue commise sur [Glu] en fonction du k_{ex}^{Glu} "vrai", utilisé pour générer les simulations. Les barres d'erreur correspondent à la déviation standard de l'erreur sur le set de 100 simulations. (B-E) Évolution de l'erreur absolue commise sur différentes concentrations en fonction des taux d'échanges, respectivement k_{ex}^{APT} , k_{ex}^{Guan} , k_{ex}^{OH} et k_{ex}^{NOE1} utilisés pour générer les simulations.

3 . DISCUSSION

Dans ce chapitre, nous avons développé un modèle CEST pour quantifier la concentration de glutamate directement in vivo. Ce travail a fait l'objet d'un article scientifique publié dans le journal *Magnetic Resonance in Medicine* (Maguin et al., 2024), ainsi que de diverses communications à des congrès nationaux et internationaux. À notre connaissance, il s'agit de la première fois qu'une étude propose de quantifier l'imagerie gluCEST, et en particulier de mesurer le k_{ex}^{Glu} précisément in vivo.

Nous discutons dans cette section de quelques limitations de l'approche développée, ainsi que des perspectives de ce travail.

3.1 . Remarques, précautions d'interprétation et limitations

3.1.1 . Concernant la spectroscopie quantitative

Bien que nous n'ayons pas mis l'accent dessus dans ce chapitre, les mesures de spectroscopie quantitative réalisées dans ce travail ne sont pas annodines. En effet, il s'agit peut être de l'unique étude de spectroscopie quantitative menée à 11,7 T chez la souris. Ne trouvant pas de référence dans la littérature, nous avons été poussés à mesurer nous-même le T_2 du glutamate à 11,7T; ce qui représente un travail non négligeable : en particulier, les acquisitions de bases de macromolécules correspondant aux différents TE représentent de larges temps d'acquisition.

Nous pouvons donc dire avec confiance que la méthode de spectroscopie quantitative proposée ici a été développée en toute rigueur et en respectant les recommandations des experts du domaine (Near et al., 2021). Cependant, les concentrations de [Glu] finalement obtenues peuvent interpeller, car elles sont légèrement plus faibles que celles rapportées chez la souris dans la littérature. En effet, Duarte et al., 2014 rapportent un [Glu] entre 6 et 10 mM à 14T; Kulak et al., 2010 mesurent 9 mM dans le cortex à 14T; Tkac et al., 2007 9 mM dans le striatum à 9,4T; et Lei et al., 2010 9 et 7 mM respectivement dans l'hippocampe et l'hypothalamus à 14T. Chassain et al., 2008 rapportent pour leur part un [Glu] de 13 mM, mais n'intègrent pas de base de macromolécules expérimentale dans leur outil de fit de spectre MRS : il est donc logique qu'ils obtiennent une [Glu] surestimée par rapport aux autres études.

Au vu des concentrations rapportées dans la littérature, on peut donc se demander si nos estimations de [Glu] ne seraient pas sous-estimées. Néanmoins, notre méthodologie de spectroscopie quantitative a pu être validée in vitro, garantissant le fait qu'il n'y ait pas de biais dû au hardware. On en conclut donc que nos mesures de [Glu] ne souffrent pas de biais méthodologiques et qu'elles restent pertinentes dans le cadre de cette étude. Cela permet également d'approfondir les résultats déjà publiés par d'autres équipes, même si une comparaison stricte des données reste compliquée en raison d'approches méthodologiques, de setups expérimentaux et d'outils d'analyse différents. De plus, les valeurs rapportées ici sont peut être tout simplement le reflet d'une singularité de la cohorte de souris utilisée, toutes issues du même fournisseur (Charles River).

Si l'on devait toutefois émettre des hypothèses pouvant expliquer une sous-estimation de [Glu], les deux suivantes nous paraissent les plus plausibles :

- Un résidu de signal de glutamate contamine la base de MM mesurée expérimentalement (Cudalbu et al., 2012), ce qui pourrait donc mener à des estimations amoindries de [Glu]. Si c'était le cas, on aurait donc un biais, mais toujours systématique, sur nos estimations de [Glu]

- Un phénomène de transfert de saturation vers le glutamate a lieu suite au module de suppression de l'eau et fait diminuer le signal MRS effectif du Glu. Ce phénomène a été rapporté récemment par [Mosso et al., 2024](#), qui estiment par exemple dans leur cas une réduction d'environ 1/4 de la concentration de [Glu] estimée à cause du transfert d'aimantation. Le test d'un protocole de *metabolite cycling*, permettant faire de la spectroscopie sans module de suppression de l'eau, pourrait être une manière de valider ou non cette hypothèse.

3.1.2 . Concernant la mesure du k_{ex}^{Glu} in vivo

Nous rapportons ici **un k_{ex}^{Glu} de l'ordre de 1300 Hz chez la souris**. Cette valeur est considérablement plus faible que ce que nous avons pu mesurer in vitro. Ceci est cependant cohérent avec le fait que l'environnement chimique in vivo serait très encombré, et pourrait donc considérablement ralentir les échanges de protons. Cette hypothèse est corroborée par le fait qu'une observation similaire a été rapporté pour la créatine : [Z. Zhang et al., 2023](#) mesurent ainsi un taux d'échange k_{ex}^{Cr} de l'ordre de 200-400 Hz chez la souris contre ≈ 1000 Hz in vitro.

À noter que le k_{ex}^{Glu} mesuré ici est fortement dépendant du modèle choisi, ainsi que des méthodes de simulations et d'ajustement utilisées. À l'avenir, une standardisation de ces dernières, comme ce qui est proposé par [Schuenke et al., 2023](#), serait très certainement souhaitable.

3.1.3 . Concernant les limites du modèle

En ce qui concerne la quantification du glutamate, **la limite majeure du modèle est sa sensibilité au bruit** (voir figure 83). C'est d'ailleurs pourquoi nous avons débruité nos données d'imagerie CEST avant de les fitter pour estimer le [Glu]. En effet, nous avons estimé sur nos données CEST brutes un bruit d'environ 1%, menant donc fatalement à de larges surestimations de [Glu] et l'obtention de valeurs aberrantes. Les données débruitées par la méthode MLSVD ont plutôt un bruit de l'ordre de 0,5%, ce qui limite a priori ces problèmes. Cette amélioration peut être observée en figure 85, où l'on compare des cartes de [Glu] obtenues avec et sans débruitage préalable.

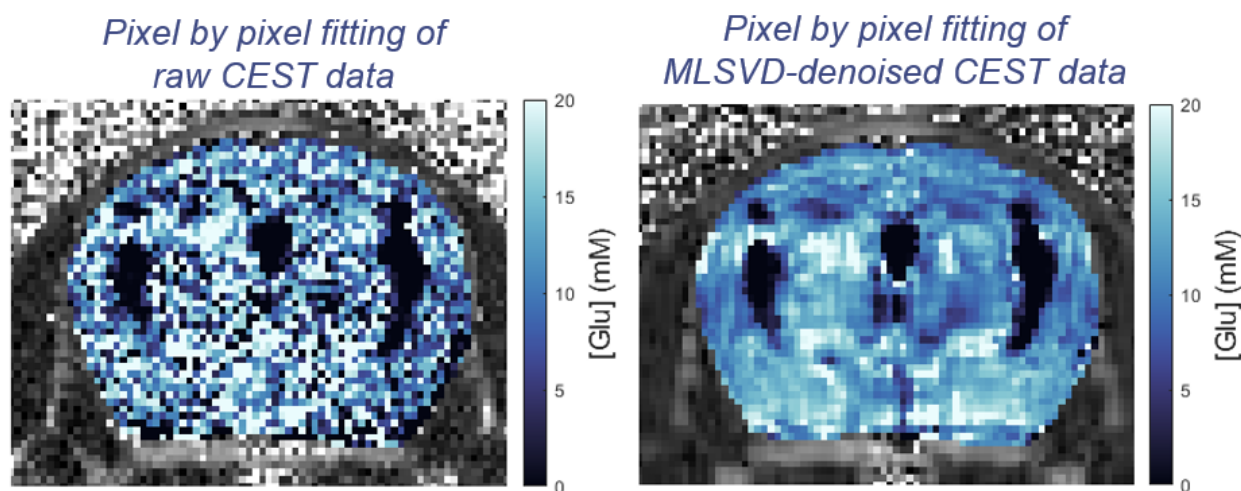


FIGURE 85 – Exemples de cartes de [Glu] obtenues en fittant des données CEST brutes (à gauche) ou débruitées (à droite). Le débruitage permet d'éviter un certain nombre de valeurs aberrantes et de lisser les estimations.

Cette hyper-sensibilité au bruit peut être en partie expliquée par le fait que dans le modèle développé ici, le glutamate ne représente finalement qu'une assez petite contribution au signal. En effet, si l'on simule les contributions des différents compartiments à l'effet CEST avec notre modèle, on trouve une contribution du Glu d'environ 15% (voir figure 86). Ce résultat n'est pas sans rappeler le travail de [Cui et al., 2020](#), qui rapportent une contribution de moins de 12% du glutamate au signal gluCEST chez le rat (évalué dans leur cas à $B_1 = 3,6 \mu\text{T}$, $t_{\text{sat}} = 1 \text{ s}$). En tout cas, on conçoit bien qu'avec une aussi faible portion du signal liée au glutamate, la quantification de Glu devient très sensible au bruit.

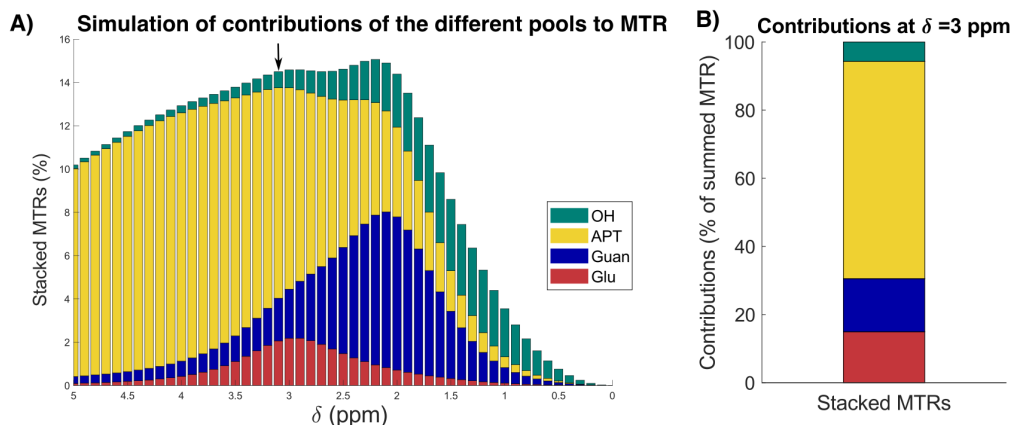


FIGURE 86 – Simulations des contributions des différents compartiments au modèle au signal CEST à $5 \mu\text{T}$, en utilisant les paramètres moyens estimés dans le striatum de la table 8 avec $[\text{Glu}] = 6,5 \text{ mM}$.

Une autre limitation du modèle est qu'il n'est certainement pas fiable pour estimer les concentrations des autres métabolites inclus dans les 6 compartiments du modèle. En effet, outre le fait que des mesures à $5 \mu\text{T}$ ne sont probablement pas les plus optimales en terme de sensibilité pour ces compartiments, les concentrations estimées sont largement dépendantes des hypothèses faites sur les taux d'échange (voir figures 84 B-E). Cela peut potentiellement expliquer pourquoi les fractions protoniques estimées pour ces compartiments sont si élevées : en effet, si l'on considère que le compartiment [Guan] est constitué uniquement de créatine, alors les $f_{\text{H}}^{\text{Guan}}$ estimées dans la table 8 sont équivalents à plus de 90-160 mM de [Cr], ce qui est aberrant! Il est donc probable qu'une autre espèce de proton contribue à ce signal, avec potentiellement un autre taux d'échange qui ne serait pas pris en compte ici.

3.1.4 . Concernant la « véracité » du modèle

Alors que [K. Cai et al., 2012](#) estimaient dans leur étude originelle une contribution de 70-75% de Glu au signal gluCEST in vivo (à $B_1 = 5,9 \mu\text{T}$, $t_{\text{sat}} = 1 \text{ s}$), et que plusieurs études rapportent des corrélations convaincantes entre le [Glu] mesuré en ^1H -MRS et l'effet gluCEST ([Bagga et al., 2018](#); [Haris, Nath et al., 2013](#)), on peut s'interroger sur la « véracité » du modèle présenté ici qui estime une contribution de Glu de seulement 15 % au signal gluCEST (figure 86).

Tout d'abord, considérons que le modèle à 6 compartiments utilisé ici a été déduit de l'optimisation de critères statistiques parmi des combinaisons d'un nombre fini de différents compartiments. Cependant, on conçoit bien que cela ne garantit pas que ce modèle soit le "vrai" modèle pour décrire l'effet CEST in vivo. Il est possible par exemple que certains compartiments candidats

non envisagés ici, ou avec des hypothèses différentes sur le taux d'échange, auraient plus être plus pertinents à inclure. On peut donc tout à fait envisager qu'il existe d'autres agents CEST "inconnus" qui pourraient contribuer à l'effet gluCEST.

Rappelons alors ici une observation faite précédemment : notre modèle semble systématiquement surestimer la concentration de [Glu]. Ce constat a été établi sur les données CEST acquises avec la séquence LASER, pour lesquelles nous avons pu comparer la [Glu] fittée à la [Glu] mesurée en $^1\text{H-MRS}$ (figure 79), mais on peut aussi observer que les [Glu] fittées sur les données d'imagerie CEST sont également plus élevées que les estimations moyennes en $^1\text{H-MRS}$ (voir section 2.3.2). Ce biais de surestimation de [Glu], observé sur des données où l'on estime un bruit $\leq 0,5\%$, n'est pas attendu à ce niveau de bruit d'après notre analyse en simulations (voir 83c). Il ne s'agit donc pas d'un biais algorithmique, et l'origine de cette surestimation vient d'autre part. Cela suggère donc qu'**il pourrait effectivement y avoir d'autres agents CEST inconnus qui contribuent au signal gluCEST**.

Un autre fait qui corrobore cette hypothèse est ce qu'on obtient lorsqu'on essaye d'étendre le modèle à des mesures CEST à différents B_1 . En effet, nous avons en fait acquis des mesures CEST à différentes valeurs de $B_1 = [1, 3, 5, 7] \mu\text{T}$. Si l'on essaye d'appliquer le modèle de quantification gluCEST à ces données multi- B_1 , on constate que le modèle ne permet pas de coller aux données (figure 87). En particulier, on note :

- Que les données à haut B_1 ne sont pas correctement fittées, avec un modèle qui semble sous-estimer l'effet CEST entre 0 et 5 ppm, comme s'il manquait un compartiment à échange rapide pour décrire le signal CEST à haut B_1 .
- Que les compartiments à échanges lents (Guan et APT), auxquels on est surtout sensibles à bas B_1 semblent être surestimés par le modèle (la ligne pleine produit des pics d'effets CEST à 1 μT à 2 et 3,5 ppm plus importants que les points expérimentaux). On peut expliquer cet effet par le fait que le modèle exagère la concentration de ces compartiments pour essayer

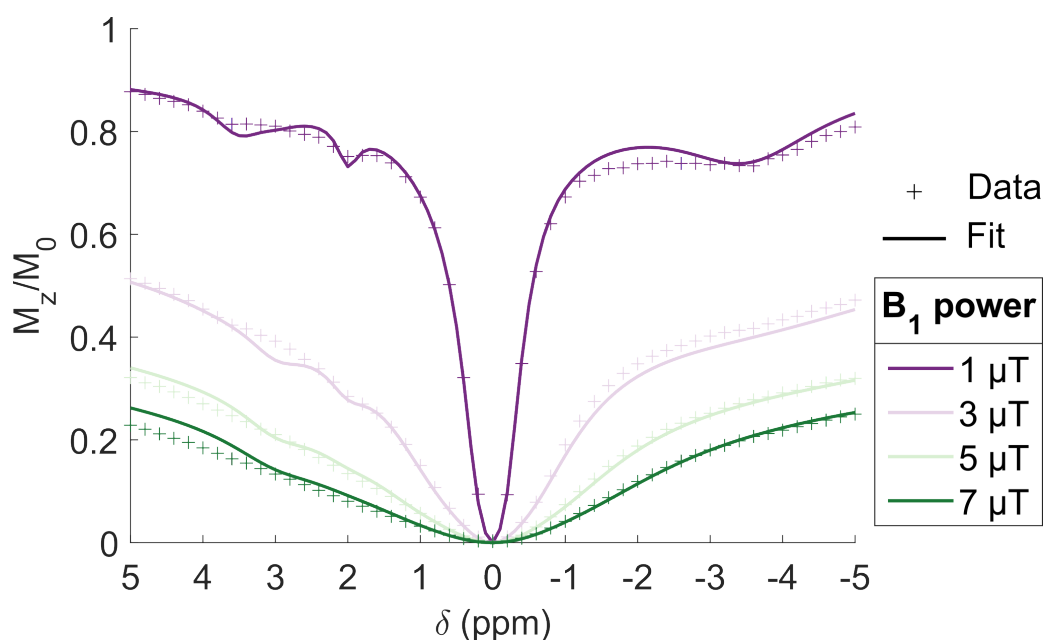


FIGURE 87 – Tentative d'application du modèle de quantification gluCEST à des données multi- B_1 , ici acquise dans le striatum.

d'améliorer le fit à haut B_1 en augmentant donc leurs contributions.

En moyenne, si l'on applique ce modèle sur les données multi- B_1 acquises dans le striatum de souris, on obtient une [Glu] complètement surestimée de $30,8 \pm 3,5$ mM ($N=5$, R^2 moyen de 0,994). Cette inadéquation du modèle à d'autres puissances de saturation que $5 \mu\text{T}$ permet bien de démontrer qu'il nous manque très probablement un compartiment supplémentaire pour décrire correctement l'effet CEST à haut B_1 .

Cette hypothèse d'une contribution supplémentaire inconnue au signal gluCEST avait en fait déjà été soulevée par [Cui et al., 2020](#), qui suggèrent par exemple une contribution significative de protéines inconnues à échanges rapides. On peut aussi songer au glutamate vésiculaire : en effet, le glutamate encapsulé dans des vésicules pré-synaptiques pourrait être indétectable en $^1\text{H-MRS}$, à cause d'un T_2 ultra-court, comme cela a pu être observé pour l'eau ([López-Beltrán et al., 1996](#)). Cela pourrait très bien expliquer les différences entre [Glu] estimée en CEST et [Glu] estimée en $^1\text{H-MRS}$. Nous explorerons cette idée plus en profondeur dans le chapitre suivant.

3.2 . Perspectives

3.2.1 . Concernant les avantages et inconvénients de l'imagerie gluCEST quantitative

La quantification de l'imagerie gluCEST permet de s'affranchir d'un certain nombre de problèmes d'interprétabilité du contraste CEST classique. De plus, les cartes de [Glu] n'ont plus de problème de sensibilité aux inhomogénéités ΔB_0 que peuvent présenter les cartes MTR_{asym} . Il n'y a en particulier pas besoin de recourir à une acquisition WASSR, puisque le ΔB_0 est un paramètre pris en compte dans le modèle de fit CEST. L'imagerie quantitative du glutamate, proposée ici avec une bien meilleure résolution que ce qui peut être obtenu en $^1\text{H-MRS}$, pourrait également ouvrir de nouvelles perspectives en neurosciences.

En revanche, pour la translation en clinique, la méthodologie présentée ici semble difficilement applicable telle quelle. En effet, les acquisitions prennent beaucoup trop de temps (1h par animal) pour une application clinique. De plus, le SNR en clinique est souvent beaucoup plus bas que ce qu'on peut obtenir ici en configuration cryo; or, nous avons constaté que la fiabilité du modèle est très sensible au bruit... Ce double problème pourrait cependant être réglé par une meilleure optimisation de l'échantillonnage.

3.2.2 . Concernant l'optimisation de l'échantillonnage

Dans ce travail, nous avons certainement suréchantillonné le Z-spectrum à $5 \mu\text{T}$, car notre objectif était principalement de développer un modèle plutôt que d'optimiser un protocole. Cependant, on conçoit bien que certains offsets sont plus importants à acquérir que d'autres pour quantifier correctement le glutamate. Des études sur simulations pourraient sans aucun doute permettre de raccourcir le temps d'acquisition en sélectionnant les points les plus importants. De plus, on pourrait aussi estimer, en fonction du SNR natif d'un setup expérimental, quel nombre de répétitions seraient nécessaires pour obtenir des estimations de [Glu] fiables avec le modèle proposé ici.

Des approches de fingerprinting ou de machine learning se révéleraient certainement très puissantes pour répondre à cette problématique. Cependant, pour tirer parti au maximum de la force du fingerprinting, consistant à faire varier le B_1 durant le planning d'acquisition, il nous faudrait un modèle de simulation CEST qui permette de bien décrire l'effet CEST à n'importe quel B_1 , ce qui n'est pas encore le cas.

4 . POINTS CLÉS DE CE CHAPITRE

- ➔ À cause du régime d'échange rapide du glutamate, la quantification simultanée de la concentration [Glu] et du taux d'échange $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$ se révèle être ardue : on est face à un problème mal posé. Pour quantifier [Glu] correctement, on en conclut qu'il est nécessaire de bien connaître le $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$.
- ➔ Ce $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$ du glutamate est en fait très sensible à son environnement chimique et à différents paramètres (pH, température, etc...). On en déduit qu'il est peu judicieux de s'appuyer sur des $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$ estimés in vitro pour réaliser une quantification in vivo.
- ➔ Nous avons donc plutôt estimé $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$ directement in vivo, en s'appuyant sur la spectroscopie quantitative comme référence interne pour mesurer [Glu], et nous rapportons un $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$ de l'ordre de 1300 Hz chez la souris. Nous proposons ainsi un modèle pour réaliser l'imagerie quantitative du glutamate in vivo.
- ➔ Des surestimations systématiques de [Glu], ainsi qu'une inadéquation du modèle avec des mesures multi- B_1 , laissent à penser que d'autres agents, non envisagés jusqu'ici, contribuent à l'effet CEST à haut B_1 . Cette hypothèse sera explorée dans le prochain chapitre.

VIII - Étude de la potentielle contribution du glutamate vésiculaire au signal CEST

Dans le chapitre précédent, nous avons pu proposer un modèle pour la quantification du glutamate, mais nous avons aussi pu voir ses limites. En particulier, nous ne sommes pas convaincus que le modèle décrit bien toutes les contributions physiologiques à l'effet CEST, notamment à haut B_1 . Dans ce chapitre, nous proposons d'approfondir la modélisation et nous explorerons l'hypothèse de la contribution du glutamate vésiculaire à l'effet gluCEST.

1 . CARACTÉRISATION APPROFONDIE D'UNE CONTRIBUTION INCONNUE AU SIGNAL GLUCEST

Dans cette section, nous tentons d'affiner la modélisation des données multi- B_1 acquises chez la souris, où la concentration de [Glu], a priori de glutamate cellulaire libre, est mesurée en $^1\text{H-MRS}$.

1.1 . Caractérisation de l'effet MT

Une bonne modélisation de l'effet MT semble essentielle pour analyser correctement les données CEST, notamment l'effet gluCEST : en effet, à haut B_1 , les pics d'effets CEST et donc du glutamate ne sont pas bien définis sur le Z-spectrum. On peut ainsi avoir du mal à distinguer quelle proportion de la saturation provient effectivement d'un effet CEST et quelle proportion provient plutôt de la « ligne de base » créée par l'effet MT et la saturation directe de l'eau. Il est donc essentiel de bien caractériser l'effet MT pour affiner correctement la modélisation CEST entre -5 et +5 ppm à différentes échelles de B_1 .

1.1.1 . Données CEST étendues spectralement

Afin d'améliorer la modélisation de l'effet CEST, nous avons donc commencé par mieux caractériser l'effet MT aux B_1 d'intérêt [1, 3, 5, 7] μT . Nous avons ainsi acquis des Z-spectra sur des gammes de fréquences étendues, entre -120 et +120 ppm, dans le striatum et le corps calleux de la souris. La contamination du CSF dans le corps calleux a été corrigée comme décrit dans le chapitre VII . Des Z-spectra moyens sont présentés en figure 88.

On observe bien ici la large étendue spectrale de l'effet MT. De plus, on note à haut B_1 un MTR_{asym} négatif jusqu'à 60-80 ppm, très loin de la résonance de l'eau, ce qui témoigne a priori de l'asymétrie de l'effet MT. Par ailleurs, ces mesures valident le choix d'un M_0 évalué à -100 ppm utilisé jusqu'à maintenant, qui semble bien affranchi de tout effet de transfert de saturation.

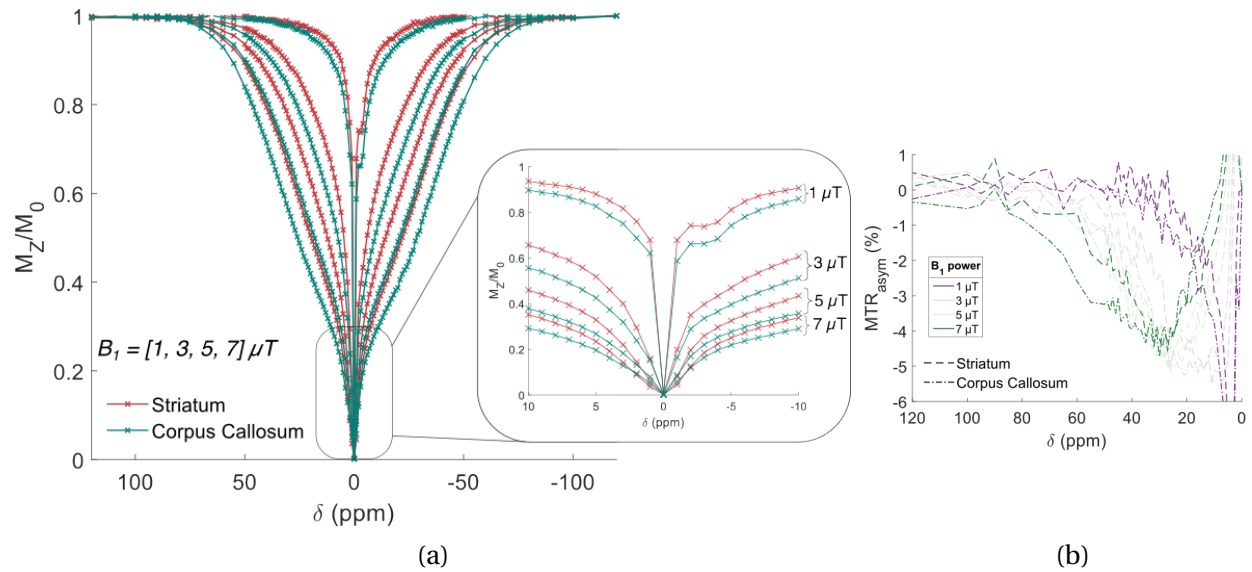


FIGURE 88 – (a) Z-spectra et (b) MTR_{asym} moyens dans le striatum (N=5) et le corps calleux (N=5) de la souris pour étudier l'effet MT à $t_{sat} = 1$ s et à différents B_1 .

1.1.2 . Modélisation super-lorentzienne avec correction d'ordre dipolaire

Pour caractériser l'effet MT, nous avons essayé d'ajuster un modèle incluant uniquement un compartiment d'eau et un compartiment MT (incluant l'effet d'ordre dipolaire, cf chapitre IV) à ces données CEST, en excluant les points acquis entre -10 et +10 ppm. En effet, nous avons estimé qu'il vaudrait mieux exclure ces offsets pour être bien affranchis des effets CEST de métabolites endogènes (voir simulations en annexe 135).

Dans cette approche de fit, les valeurs de T_1/T_2 de l'eau ont été fixées (2 s / 31,7 ms et 1,9 s / 28,8 ms respectivement pour le striatum et le corps calleux), tandis que les paramètres du compartiments MT (f_H^{MT} , k_{ex}^{MT} , δ^{MT} et T_2^{MT}) ont été laissés libres (le détail de fit est indiqué en annexe 22). Les temps de relaxation T_{1D} de l'ordre dipolaire ont également été fixés aux valeurs rapportées dans la littérature à 11,7T chez la souris : 5,6 ms dans le striatum et 6,1 ms dans le corps calleux (Prevost et al., 2017). Un exemple de fit sur une souris est montré en figure 89, et les résultats moyens sont présentés en table 9.

	Striatum	Corps calleux
f_H^{MT}	$8,94 \pm 1,87 \%$	$15,99 \pm 1,95 \%$
k_{ex}^{MT}	$32,2 \pm 9,3$ Hz	$18,4 \pm 2,6$ Hz
δ^{MT}	$-1,43 \pm 0,11$ ppm	$-1,46 \pm 0,11$ ppm
T_2^{MT}	$7,3 \pm 0,1$ μ s	$7,4 \pm 0,2$ μ s
R^2	$0,9975 \pm 0,0013$	$0,9976 \pm 0,0007$

TABLE 9 – Résultats moyens de fit de l'effet MT dans le striatum (N=5) et le corps calleux (N=5) de la souris

Comme attendu, on trouve une fraction protonique MT plus élevée dans le corps calleux (~16%), puisqu'il s'agit d'une région avec beaucoup de fibres, que dans le striatum (~9%). On re-

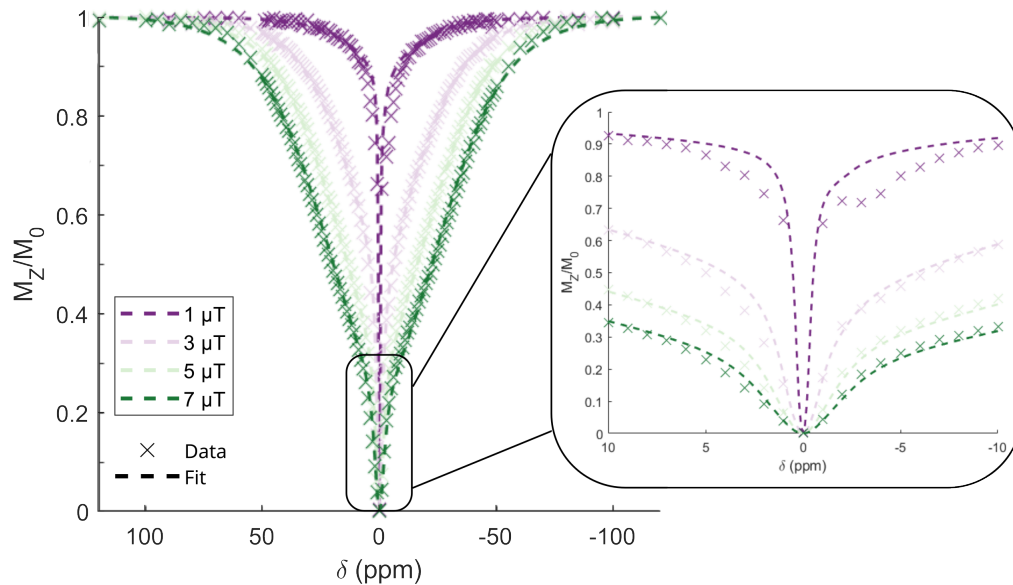


FIGURE 89 – Exemple de fit de données CEST acquises dans le striatum d’une souris. Nous montrons un zoom pour visualiser la différence entre modèle à deux compartiments (eau + MT) et les données réelles, mais les points entre -10 et +10 ppm ont bien été exclus du fit.

marque également que l’on trouve une dynamique d’échange d’aimantation très différente entre les deux tissus, avec un $k_{\text{ex}}^{\text{MT}}$ d’environ 32 Hz dans le striatum et 18 Hz dans le corps calleux. Ces valeurs sont par ailleurs bien plus faibles que ce qui avait pu être rapporté chez l’homme (50 Hz d’après [Hua et al., 2007](#), 60-70 Hz d’après [D. Liu et al., 2013](#)) ou sur des fantômes d’albumine de sérum bovin (40 Hz d’après [Zaiss, Zu et al., 2015](#)).

Il est intéressant de noter que, quelque soit le tissu, le modèle converge de manière fiable vers une fréquence de résonance δ^{MT} d’environ -1,45 ppm, confirmant donc bien l’asymétrie de l’effet MT. Chez l’homme, [Hua et al., 2007](#) avait évalué une fréquence de résonance assez différente, de -2,34 ppm en moyenne. Concernant le T_2^{MT} , [Morrison, G. Stanisz et al., 1995](#) avaient mis en évidence que l’évaluation du T_2^{MT} pouvait être très incertaine avec cette approche de fit, et le résultat est donc à prendre avec précaution. On trouve néanmoins systématiquement un T_2^{MT} de l’ordre de 7 μs (contre par exemple 10-11 μs chez l’homme d’après [Hua et al., 2007](#)).

Les différences entre la paramétrisation du modèle MT trouvée ici et celles rapportées chez l’homme peuvent évidemment être expliquées par une spécificité des tissus de la souris, bien que l’on puisse également invoquer les différences de méthodologie entre notre approche et la littérature. Cela montre bien qu’il était intéressant de bien caractériser l’effet MT de nos propres données. Il s’agit d’ailleurs, à notre connaissance, de la première étude de modélisation MT chez la souris avec ce genre de modèle.

1.2 . Modélisation CEST multi- B_1 approfondie

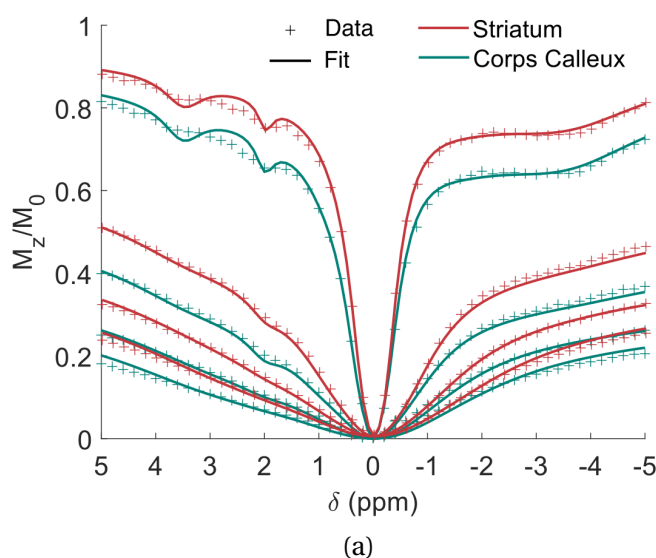
Une fois l’effet MT bien caractérisé, nous pouvons nous réattaquer à la modélisation CEST multi- B_1 ; cette fois-ci en retirant certaines incertitudes sur l’effet MT. À partir de maintenant, sauf si indiqué contraire, nous imposerons dans notre modèle CEST un δ^{MT} de -1,5 ppm, et un $k_{\text{ex}}^{\text{MT}}$ approprié en fonction de la région du cerveau étudiée.

1.2.1 . Tentative de modèle plus libre

Nous avons pu voir dans le chapitre précédent, au cours de la discussion, que l'application du modèle développé pour le gluCEST quantitatif aux données CEST multi- B_1 n'était pas satisfaisante. On peut se dire que c'est normal, car le modèle a été spécifiquement développé pour 5 μT , par exemple pour choisir les compartiments. On a aussi imposé certaines valeurs de taux d'échange pour les différents compartiments; or, les taux d'échange sont précisément les paramètres qui permettent de moduler l'allure de l'effet CEST à différentes échelles de B_1 .

En première approche pour modéliser ces données multi- B_1 , on peut donc songer à relâcher les différents degrés de liberté du modèle sur les taux d'échange. Un résultat de cette approche est montré en figure 90 (le détail du modèle utilisé est donné dans l'annexe C.2.1). On constate que le modèle plus libre, bien qu'il offre visuellement un fit relativement satisfaisant (voir figure 90a), estime des valeurs aberrantes de concentrations (voir figure 90b). On obtiendra ainsi des [Glu] de l'ordre de 80-130 mM, que ce soit dans le striatum ou le corps calleux, mais aussi des concentrations d'autres métabolites probablement aussi surestimées : [Cr] de l'ordre de 30-50 mM, [Ins] de l'ordre de 10-40 mM... Nous sommes face à une situation d'overfitting.

On peut essayer différentes versions de modèles ainsi : en ajoutant les métabolites classiques que l'on retrouve en table 4, en contraignant plus ou moins les bornes sur les paramètres de [Glu], en contraignant mieux les paramètres des autres compartiments, ... Les résultats ne sont pas montrés ici, mais nous sommes systématiquement arrivés à la conclusion qu'il manquait un compartiment pour bien décrire l'effet CEST in vivo; en particulier, un compartiment à haut taux d'échange semble manquer. Et ce n'est en fait un constat pas tout à fait nouveau : Cui et al., 2020 suggéraient également qu'il existerait une contribution inconnue au signal gluCEST autre que le glutamate et les petits métabolites comme la créatine, le myo-inositol, etc...



	Striatum	Corps calleux
R^2	$0,9989 \pm 0,0002$	$0,997 \pm 0,001$
[Glu]	$81 \pm 17 \text{ mM}$	$129 \pm 59 \text{ mM}$
$k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$	$5720 \pm 250 \text{ Hz}$	$5670 \pm 1070 \text{ Hz}$
[Cr]	$30 \pm 3 \text{ mM}$	$52 \pm 4 \text{ mM}$
[Ins]	$10 \pm 4 \text{ mM}$	$37 \pm 25 \text{ mM}$
$f_{\text{H}}^{\text{APT}}$	$0,7 \pm 0,05\%$	$1,0 \pm 0,1\%$
$f_{\text{H}}^{\text{NOE}}$	$4,6 \pm 0,2\%$	$6,4 \pm 1,0\%$

(b)

FIGURE 90 – Tentative de modélisation plus libre des données CEST. (a) Exemples de fits à $B_1 = [1,3,5,7] \mu\text{T}$ dans le striatum et le corps calleux de la souris. (b) Résultats moyens obtenus sur quelques paramètres.

1.2.2 . Caractérisation de la contribution inconnue

Une problématique récurrente lors de ces approches de fit est que le modèle compense souvent le « manque d'effet CEST » à haut B_1 en ajoutant beaucoup de protons dans les compartiments où il n'y a pas de bornes supérieures sur la concentration ; c'est-à-dire les compartiments ici comme la créatine, les amides, et autres compartiments à échange plutôt lents. C'est pour cela que l'on observe sur la figure 90a des pics fittés à $1 \mu\text{T}$ qui semblent aberrants à 2 et 3,5 ppm : ce sont des pics exagérés pour la créatine et les amides. C'est aussi pour cela que l'on trouvait dans le modèle du chapitre VII une contribution majoritaire des compartiments Guan et APT à l'effet gluCEST, et seulement une contribution de 12% pour le glutamate (voir figure 86).

On peut donc essayer une autre approche : fitter tout d'abord ces compartiments à échange lents à bas B_1 , là où l'effet CEST du glutamate est a priori négligable, pour obtenir une bonne approximation des fractions protoniques de ces compartiments. Ensuite, on peut étendre la simulation du modèle à des B_1 plus élevés en incluant un compartiment de glutamate de concentration de référence [Glu] mesurée en spectroscopie et, par exemple, un $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$ de 1300 Hz. Avec cette approche, on perd l'information multi- B_1 qui permet normalement de bien estimer les taux d'échange. Néanmoins, on peut ainsi comparer ce que le modèle prédit à plus haut B_1 et ce que l'on obtient expérimentalement. Le détail de cette approche est indiqué en annexe 2.2.

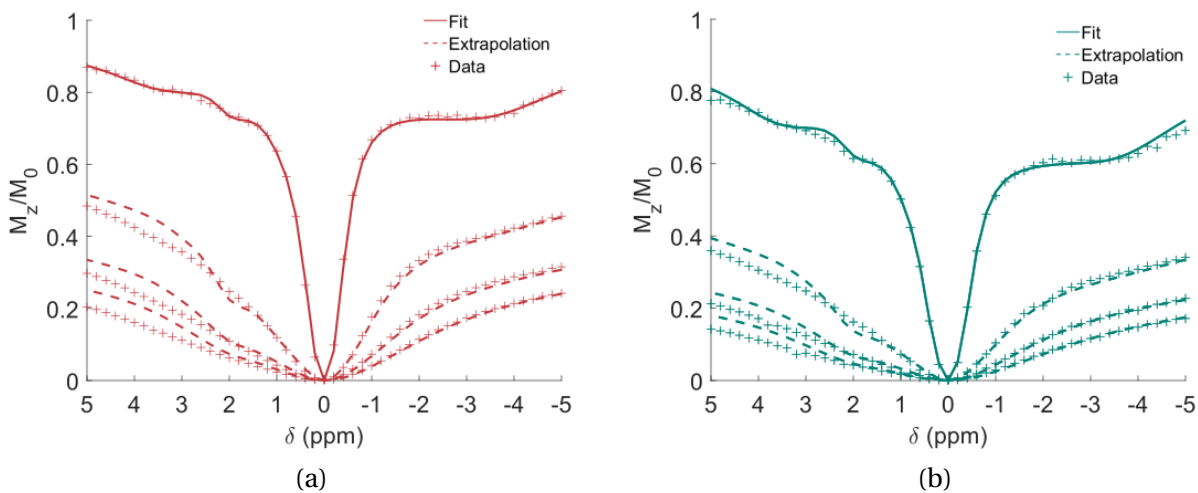


FIGURE 91 – Estimation de la contribution manquante à la modélisation CEST haut B_1 avec l'approche décrite précédemment. Exemples de fits à $1 \mu\text{T}$ (ligne solide) et simulations de l'extrapolation du modèle à [3,5,7] μT (ligne en pointillés) chez des souris dans (a) le striatum et (b) le corps calleux.

Des exemples de cette approches sont montrés en figure 91. On comprend bien ici que la concentration de [Glu] trouvée en ^1H -MRS n'est pas suffisante pour décrire complètement l'effet CEST à haut B_1 lorsque les contributions des compartiments à échange plus lents sont bien prises en compte, sans exagération. Ces résultats sont quand même à interpréter avec précaution, car un fit de l'effet CEST avec une seule valeur de B_1 est peu précis. Néanmoins, on peut pseudo-quantifier la contribution manquante ici en faisant la différence entre signal simulé et signal expérimental. On estime alors qu'il existe à 3 ppm **une contribution manquante à l'effet gluCEST à $5 \mu\text{T}$ d'environ $2,81 \pm 0,60\%$ dans le striatum (N=5), et d'environ $1,83 \pm 0,57\%$ dans le corps calleux (N=8).**

2 . MODÉLISATION DU GLUTAMATE VÉSICULAIRE

Dans cette section, nous proposons de développer un modèle pour décrire l'effet CEST de glutamate encapsulé dans des vésicules pré-synaptiques. En effet, le modèle CEST classique consiste à considérer un système homogène, où tous les échanges auraient lieu dans un volume uniforme. Or, ici, lorsqu'on considère des vésicules de glutamate, on imagine bien que les échanges de protons eau-glutamate ont lieu uniquement au sein de quelques vésicules, avec une certaine fraction encapsulée de l'eau totale, qui peut elle-même échanger avec l'eau libre. On a alors des dynamiques d'échanges de protons très particulières, qui peuvent produire un effet CEST unique, et nécessitent donc un modèle spécifique.

2.1 . Mise au point d'un modèle

2.1.1 . Modèle dit « LipoGlu »

Dans un premier temps, nous proposons de considérer un modèle à 3 compartiments : de l'eau libre, de l'eau vésiculaire et du glutamate vésiculaire (voir figure 92). On suppose que le glutamate reste uniquement dans la vésicule, tandis que les membranes sont perméables à l'eau qui peut entrer et sortir avec un taux d'échange k_{ex}^{ves} . Les échanges de protons entre l'eau et le glutamate se font uniquement à l'intérieur de la vésicule avec un taux d'échange k_{ex}^{Glu} . Ainsi, ici, le compartiment de glutamate n'échange pas directement avec le compartiment de l'eau libre, comme c'est classiquement le cas dans un modèle CEST conventionnel.

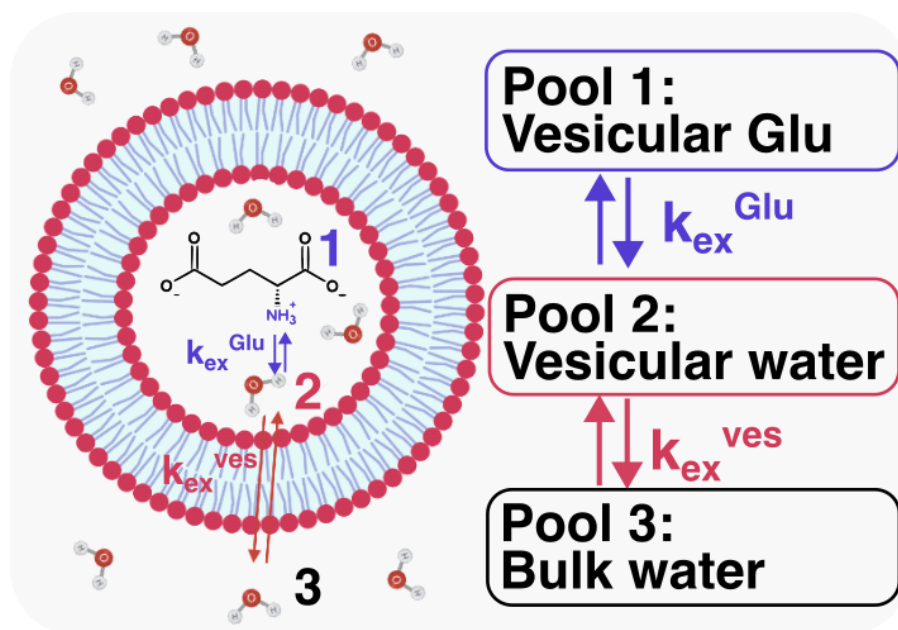


FIGURE 92 – Illustration du modèle « LipoGlu » à 3 compartiments.

En gardant les hypothèses classiques sur les cinétiques d'échange, on a les taux « d'échange-retour » k_{bex} qui valent :

$$\begin{cases} k_{bex}^{Glu} = k^{B-Glu} = f_H^{Glu, ves} k_{ex}^{Glu} \\ k_{bex}^{ves} = k^{B-ves} = f_H^{H_2O, ves} k_{ex}^{ves} \end{cases} \quad (VIII .1)$$

avec ici

$$\left\{ \begin{array}{l} f_{\text{H}}^{\text{Glu, ves}} = \frac{3 \times [\text{Glu}]^{\text{ves}}}{2 \times 55,6\text{M}} \quad \text{la fraction protonique de glutamate à l'intérieur de la vésicule} \\ f_{\text{H}}^{\text{H}_2\text{O, ves}} = \frac{C_{\text{ves}} \times N_V}{C_{\text{bulk}}^{\text{H}_2\text{O}}} \quad \text{la fraction protonique d'eau vésiculaire comparée à l'eau libre} \end{array} \right. \quad (\text{VIII .2})$$

où C_{ves} est la concentration en vésicules dans le milieu, N_V le nombre de molécules d'eau encapsulées par vésicule et $C_{\text{bulk}}^{\text{H}_2\text{O}}$ la concentration de l'eau libre.

En terme d'équations, le système se modélise toujours avec une équation matricielle du premier ordre :

$$\frac{d}{dt} \vec{M} = \mathbf{A}_{\text{LipoGlu}} \cdot \vec{M} + \vec{C} \quad (\text{VIII .3})$$

mais avec la nouvelle matrice de Bloch-McConnell $\mathbf{A}_{\text{LipoGlu}}$ qui s'écrit ainsi :

$$\mathbf{A}_{\text{LipoGlu}} = \begin{pmatrix} \mathbf{L}_w - \mathbf{K}_{\text{B-ves}} & +\mathbf{K}_{\text{ves}} & 0 \\ \mathbf{K}_{\text{B-ves}} & \mathbf{L}_1 - \mathbf{K}_{\text{ves}} & +\mathbf{K}_{\text{Glu}} \\ 0 & \mathbf{K}_{\text{B-Glu}} & \mathbf{L}_2 \end{pmatrix} \quad (\text{VIII .4})$$

avec les matrices d'échanges 3x3 \mathbf{K}_i :

$$\mathbf{K}_i = \begin{pmatrix} k_{\text{ex}}^i & 0 & 0 \\ 0 & k_{\text{ex}}^i & 0 \\ 0 & 0 & k_{\text{ex}}^i \end{pmatrix}$$

et L_i les matrices 3x3 classiques, inchangées :

$$\mathbf{L}_i = \begin{pmatrix} -1/T_2^i & (\omega_i - \omega) & 0 \\ -(\omega_i - \omega) & -1/T_2^i & +\omega_1 \\ 0 & -\omega_1 & -1/T_1^i \end{pmatrix}$$

Sur la nouvelle matrice $\mathbf{A}_{\text{LipoGlu}}$, on remarque les nouveaux termes hors-diagonal qui sont apparus, ainsi que la non communication entre les compartiments 1 (eau libre) et 3 (glutamate intravésiculaire).

2.1.2 . Méthodologie de simulation

Le modèle LipoGlu s'écrivant toujours sous la forme d'une équation matricielle du premier ordre, sa solution peut donc en théorie encore être obtenue numériquement en inversant la matrice $\mathbf{A}_{\text{LipoGlu}}$ (voir chapitre IV). Cependant, nous avons pu observer en tentant ce genre de résolution des instabilités numériques, comme cela peut être observé en figure 93, surtout dans le cas de très faibles concentrations en vésicules C_{ves} . Cela s'explique par le fait que la nouvelle matrice $\mathbf{A}_{\text{LipoGlu}}$ peut parfois avoir un déterminant proche de 0, et donc être compliquée à inverser. Nous avons donc parfois plutôt opté pour une résolution d'équation différentielle ordinaire (ODE), avec le solver "ode23" (Matlab, 2023b), où l'évolution du système est calculé numériquement pas à pas. Cela ne résout pas totalement toutes les instabilités de résolution, notamment au niveau de la résonance de l'eau, comme on peut le voir en figure 93, mais cela améliore tout de même la simulation.

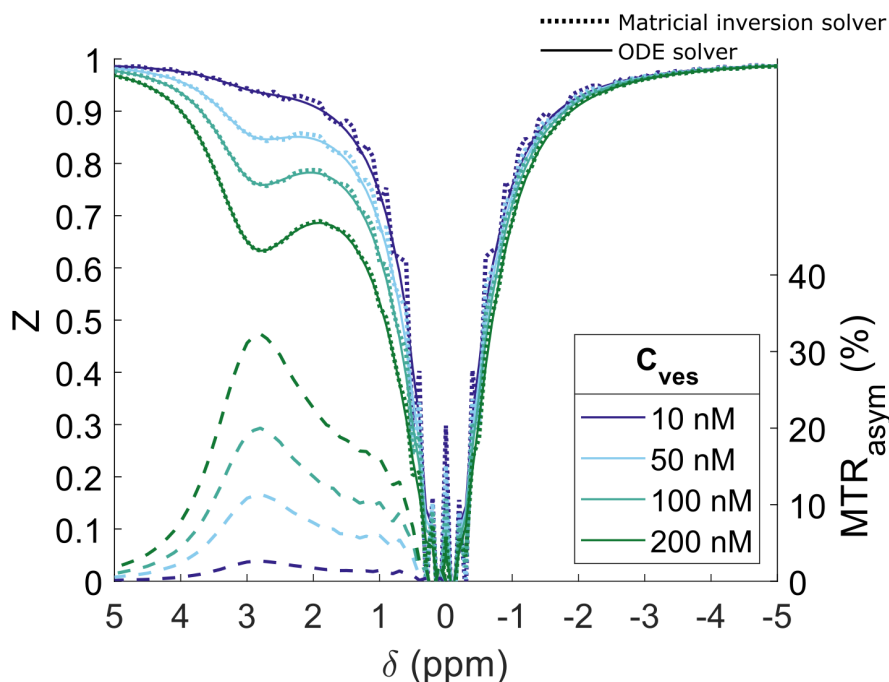


FIGURE 93 – Exemples d’instabilités numériques sur les simulations LipoGlu. Ici, des simulations du modèle LipoGlu ont été réalisées pour différentes concentrations vésiculaires en considérant les paramètres suivants : $B_1 = 5 \mu\text{T}$, $t_{\text{sat}} = 1 \text{ s}$, $T_1 = 2,5 \text{ s}$, $T_2 = 800 \text{ ms}$, $k_{\text{ex}}^{\text{ves}} = 4000 \text{ Hz}$, $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}} = 1800 \text{ Hz}$, $[\text{Glu}]^{\text{ves}} = 150 \text{ mM}$ et $N_V = 1,4e8$ (cela correspond à des vésicules d’environ 200 nm de diamètre).

2.2 . Simulation de l’effet CEST du glutamate vésiculaire in vivo

2.2.1 . Quelques données sur les vésicules pré-synaptiques et application du modèle

Tentons maintenant de simuler, grâce à ce modèle LipoGlu, l’effet CEST que pourrait produire in vivo le glutamate encapsulé dans les vésicules pré-synaptique. À cette fin, voici ainsi quelques données que l’on peut trouver dans la littérature pour nous aider à définir les paramètres du modèle in vivo :

- **Concernant la $[\text{Glu}]^{\text{ves}}$:**

La concentration de glutamate intravésiculaire dépend du type de synapse considéré, et sa mesure semble varier selon la méthodologie utilisée : on retrouve ainsi dans la littérature des $[\text{Glu}]^{\text{ves}}$ variant entre 60 mM (Burger et al., 1989) et 210 mM (Riveros et al., 1986). Nous prendrons ici comme référence une $[\text{Glu}]^{\text{ves}}$ de 100 mM.

- **Concernant le $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$:**

Comme toujours in vivo, il est difficile de prédire le taux d’échange du glutamate. Cependant, il est connu que le pH intravésiculaire est assez faible, entre 5,5 et 5,8 (Egashira et al., 2022; Gowrisankaran et al., 2020). On pourrait donc s’attendre à un taux d’échange plus faible que pour le glutamate cytoplasmique, qui est à $\text{pH} \approx 7,2$. Mais en même temps, si l’on considère que l’environnement chimique dans le cytoplasme et dans les vésicules est différent, et notamment que l’on a sûrement moins d’encombrement moléculaire dans les vésicules, alors il devient dur de vraiment prédire une valeur de $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$. À défaut, nous prendrons pour cette simulation le taux d’échange que nous avons estimé in vitro à $\text{pH} = 5,8$; à savoir $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}} \approx 1800 \text{ Hz}$.

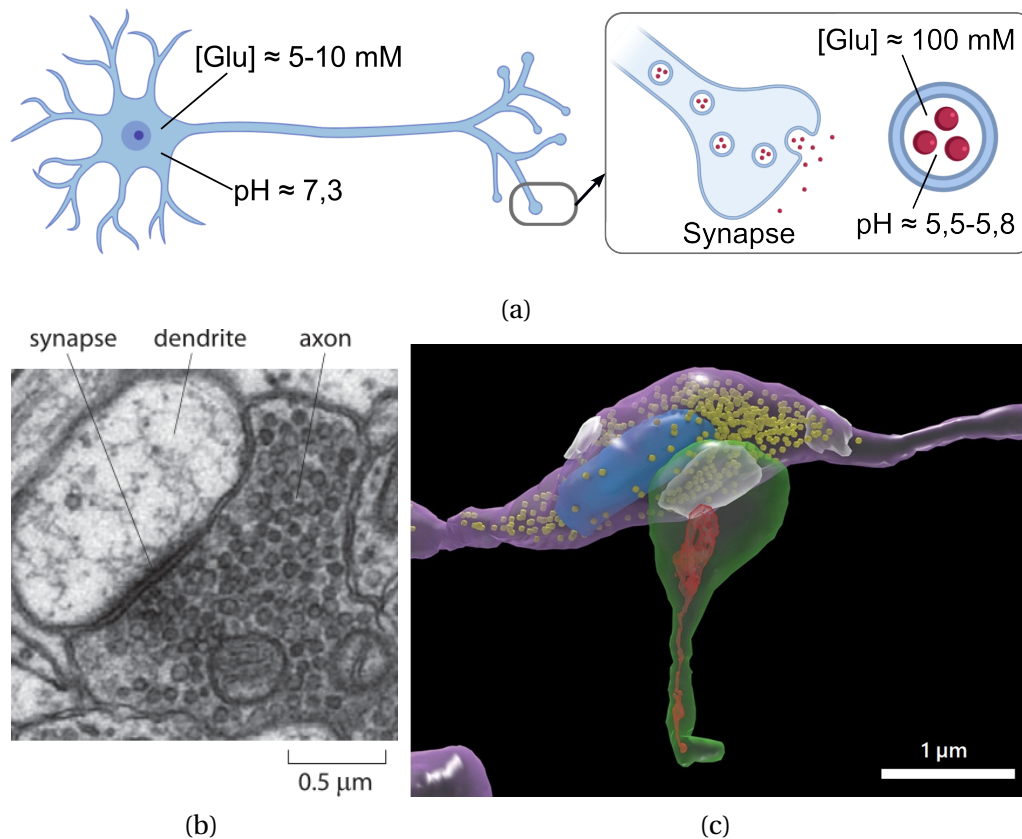


FIGURE 94 – (a) Schéma d'une synapse avec ses vésicules et quelques ordres de grandeurs, (b) image de microscopie électronique d'une synapse, où l'on peut voir les vésicules (crédits L. Ostroff), et (c) reconstruction 3D d'une synapse (en blanc) dans le cortex de souris, avec l'axone en violet, les vésicules synaptiques en jaune et la dendrite post-synaptique en vert (tiré de [Kasthuri et al., 2015](#)).

- **Concernant la C_{ves} :**

La densité synaptique, et donc a fortiori la concentration en vésicules synaptiques dans le cerveau, dépend de la région étudiée. Dans le cerveau de la souris, on rapporte des valeurs de densités synaptiques variant entre 0,4 à 2,5 synapses/ μm^3 , sachant que les synapses glutamergiques représentent environ 90% des synapses ([Reichmann et al., 2015](#); [Santuy et al., 2020](#); [Schüz et al., 1989](#)). Nous prendrons ici pour cette simulation $\rho_{synapse}=1$ synapse/ μm^3 . Le nombre de vésicules par synapse varie aussi beaucoup en fonction du type de tissus mais aussi de neurones, pouvant aller de 2 à 1300 vésicules par synapse ([Kasthuri et al., 2015](#)). Nous prendrons pour référence $N_{ves} = 100$ vésicules par synapse, ce qui donne :

$$C_{ves} = \frac{N_{ves} \times \rho_{synapse}}{N_A} = 100 \text{ ves}/\mu\text{m}^3 \times \frac{1}{N_A} \approx 170 \text{ nM} \quad (\text{VIII .5})$$

- **Concernant le N_V :**

Le nombre de molécules d'eau par vésicules dépend bien évidemment de la taille de la vésicule. Les vésicules pré-synaptiques ont des tailles variant entre 30 et 40 nm de diamètre ([Featherstone, 2009](#)) ; nous prendrons ici $d_{ves} = 35$ nm. En prenant une concentration d'eau à peu près pure dans la vésicule, on peut approximer, avec N_A le nombre d'Avogadro :

$$N_V = 55,6\text{M} \times N_A \times \frac{4}{3} \pi \left(\frac{d_{ves}}{2} \right)^3 \approx 7,5 \times 10^5 \quad (\text{VIII .6})$$

On a ainsi :

$$f_H^{\text{H}_2\text{O, ves}} = \frac{C_{\text{ves}} \times N_V}{C_{\text{bulk}}^{\text{H}_2\text{O}}} = 0,46\% \quad (\text{VIII .7})$$

• **Concernant le $k_{\text{ex}}^{\text{ves}}$:**

Le taux d'échange de l'eau entre l'intérieur et l'extérieur de la vésicule est peut être le paramètre le plus dur à estimer ici. Il dépend de la surface A_{ves} et du volume V_{ves} d'échange, donc de la taille de la vésicule, mais aussi de la perméabilité membranaire de l'eau P_d . Ce paramètre dépend notamment de la composition membranaire et de l'environnement chimique, ce qui rend difficile de le prédire pour les vésicules pré-synaptiques. À défaut, nous prendrons ici $P_d = 30 \mu\text{m/s}$, valeur rapportée pour des membranes cellulaires in vitro (Yang et al., 2015). Le taux d'échange vaut alors :

$$k_{\text{ex}}^{\text{ves}} = P_d \frac{A_{\text{ves}}}{V_{\text{ves}}} = \frac{6P_d}{d_{\text{ves}}} \approx 5000\text{Hz} \quad (\text{VIII .8})$$

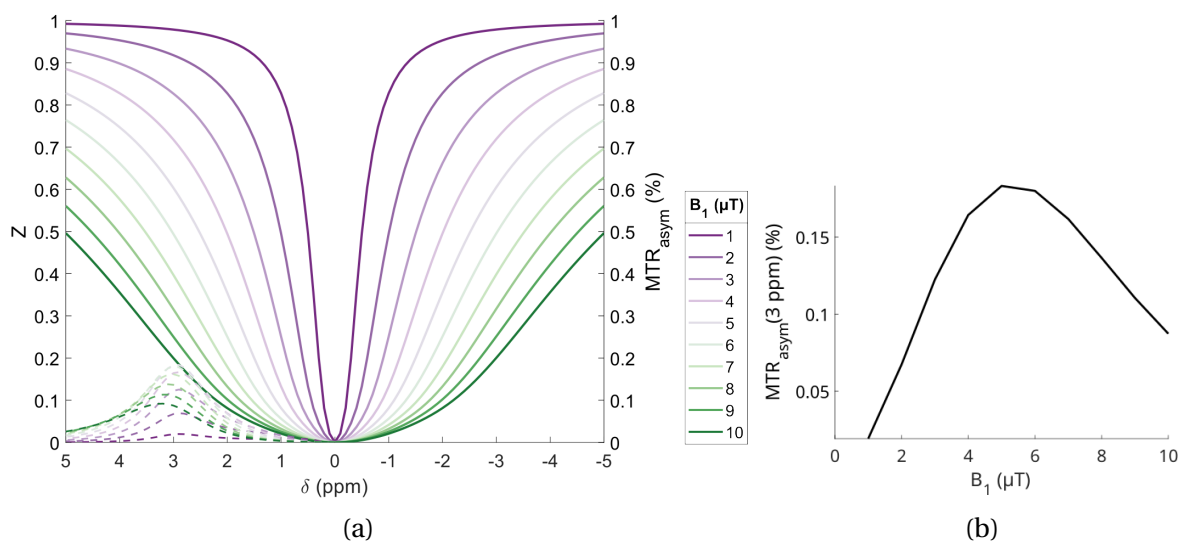


FIGURE 95 – Simulation de l'effet CEST du glutamate vésiculaire in vivo pour un t_{sat} de 1 s et les paramètres décrits dans cette section. (a) Z-spectra à différents B_1 et (b) $\text{MTR}_{\text{asymp}}$ évalué à 3 ppm en fonction du B_1 .

En figure 95, on peut voir les simulations de ce modèle LipoGlu avec un T_1 de l'eau de 2 s et un T_2 de 30 ms. On constate qu'on obtient finalement un effet CEST assez faible, d'au maximum 0,18% au B_1 qui semble optimal de 5 μT . L'effet est cependant fortement dépendant des paramètres choisis : par exemple, si l'on considère une densité synaptique de 2 synapses / μm^3 , comme on pourrait avoir dans certaines régions comme l'hippocampe, et que l'on suppose environ 400 vésicules par synapse, alors $f_H^{\text{H}_2\text{O, ves}}$ atteint 1,8%, et on arrive alors à un MTR d'environ 1,2%, ce qui devient significatif.

2.2.2 . Influence de différents paramètres

Testons un peu plus en détail le modèle, et en particulier les paramètres qui influencent le modèle. En figure 96, on peut voir des extensions de la simulation précédente en faisant varier différents paramètres du modèle. Les paramètres C_{ves} et $[Glu]^{ves}$ modulent majoritairement l'intensité de l'effet CEST, comme on pouvait s'y attendre. Le k_{ex}^{Glu} semble plutôt contrôler la forme de l'effet CEST, et fait notamment varier le B_1 optimal pour lequel l'effet est maximum. Curieusement, le k_{ex}^{ves} n'a pas d'effet sur la simulation : en effet, il semble que nous nous trouvions dans un régime où les échanges intra-extra vésiculaires sont tellement rapides, qu'il ne s'agit pas d'un paramètre limitant l'effet CEST. Nous reviendrons sur ce constat dans la prochaine section.

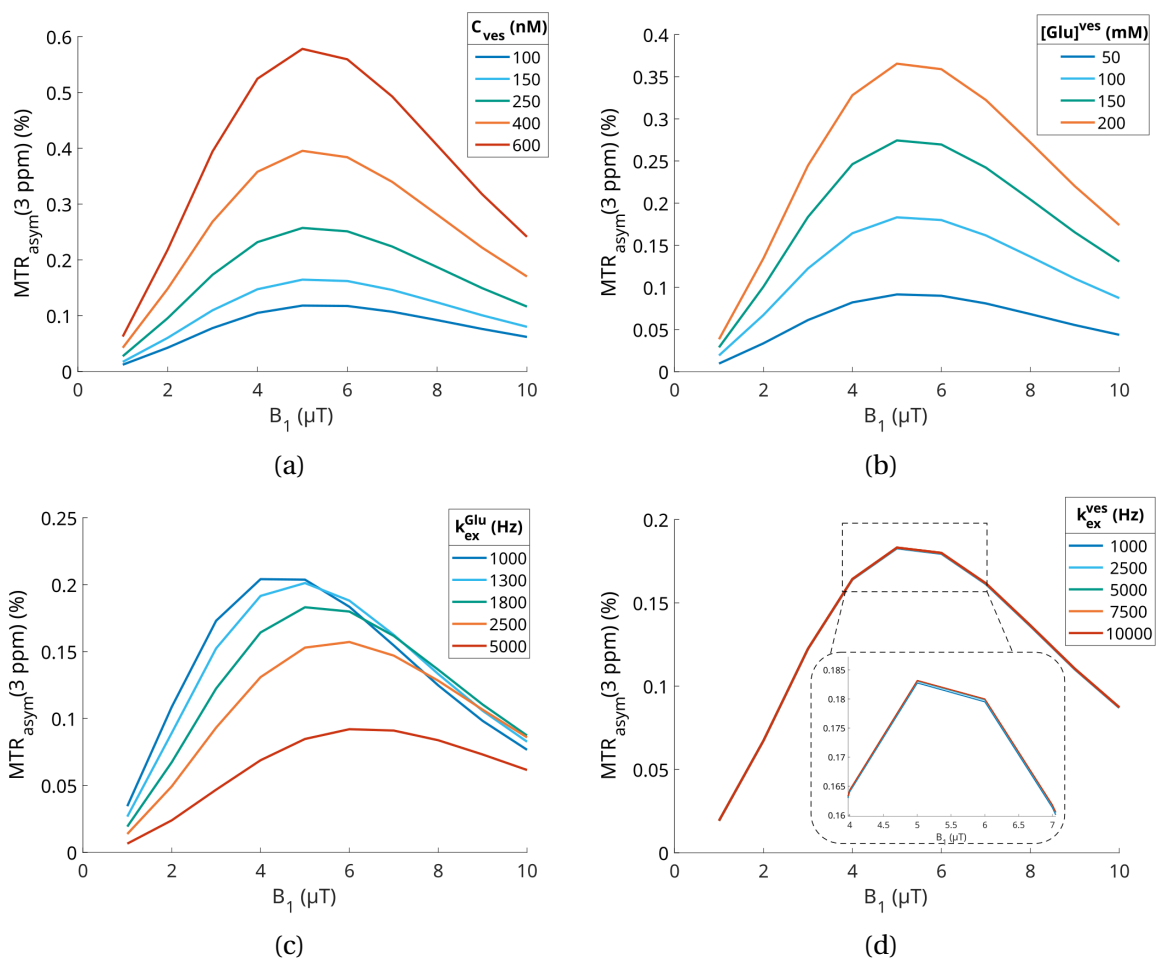


FIGURE 96 – Influence de différents paramètres sur l'effet LipoGlu : (a) influence de C_{ves} , (b) de $[Glu]^{ves}$, (c) de k_{ex}^{Glu} et (d) de k_{ex}^{ves} . Tous les paramètres de simulation sont les mêmes que ceux décrits précédemment dans la section 2.2.1.

Au vu des intensités de MTR_{asym} simulées ici, on peut se demander si l'effet du glutamate vésiculaire peut vraiment contribuer de manière significative au signal CEST in vivo. Cependant, l'intensité de l'effet obtenu est très dépendant de C_{ves} et de $[Glu]^{ves}$, qui sont des paramètres finalement assez mal connus in vivo. En regardant la carte produite en figure 97, on peut constater que l'effet CEST du glutamate vésiculaire pourrait atteindre 2,5% dans des régions dotées d'une haute densité de vésicules fortement concentrées en glutamate, comme par exemple peut être l'hippocampe.

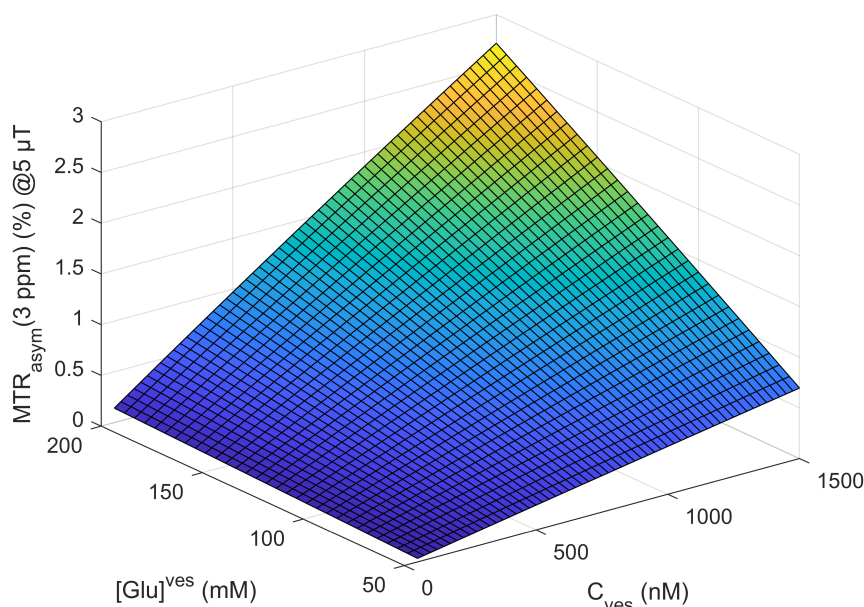


FIGURE 97 – Simulation de l'intensité que pourrait atteindre l'effet CEST du glutamate vésiculaire en fonction des caractéristiques vésiculaires (même paramètres de simulation que décrits en section 2.2.1).

2.3 . Possibilité de simplification du modèle en deux compartiments effectifs

Nous avons pu constater dans la section précédente que le paramètre k_{ex}^{ves} n'avait pas d'effet sur la simulation. En élargissant les gammes de variation, on constate que le k_{ex}^{ves} n'a un effet sur la simulation qu'à de très faibles valeurs, à partir de 50 Hz. Par ailleurs, lorsqu'on étudie séparément les différentes composantes d'aimantation des 3 compartiments du modèle, on observe que pour $k_{ex}^{ves} > 50$ Hz, l'aimantation de l'eau intra-vésiculaire et de l'eau libre se comportent exactement pareil (voir figure 98). Cela s'explique par le fait que, dans nos conditions, les compartiments d'eau intra-extra vésiculaires s'équilibrent beaucoup plus vite que les dynamiques d'échanges avec le glutamate à l'intérieur de la vésicule.

On peut alors se demander s'il est pertinent de garder un modèle à 3 compartiments dans ces conditions. En effet, on peut alors simplifier le modèle en un modèle effectif à deux compartiments; eau libre et glutamate effectif. Ainsi, sous la condition :

$$k_{ex}^{ves} \gg f_H^{Glu, ves} k_{ex}^{Glu, ves} \quad (\text{VIII .9})$$

alors le modèle LipoGlu est équivalent à un modèle à deux compartiments (eau+Glu), avec une concentration de glutamate effectif :

$$[Glu]^{eff} = [Glu]^{ves} \times f_H^{H_2O, ves} \quad (\text{VIII .10})$$

ou encore

$$[Glu]^{eff} = [Glu]^{ves} \times N_{ves} \rho_{synapse} \frac{4}{3} \pi (d_{ves}/2)^3 \quad (\text{VIII .11})$$

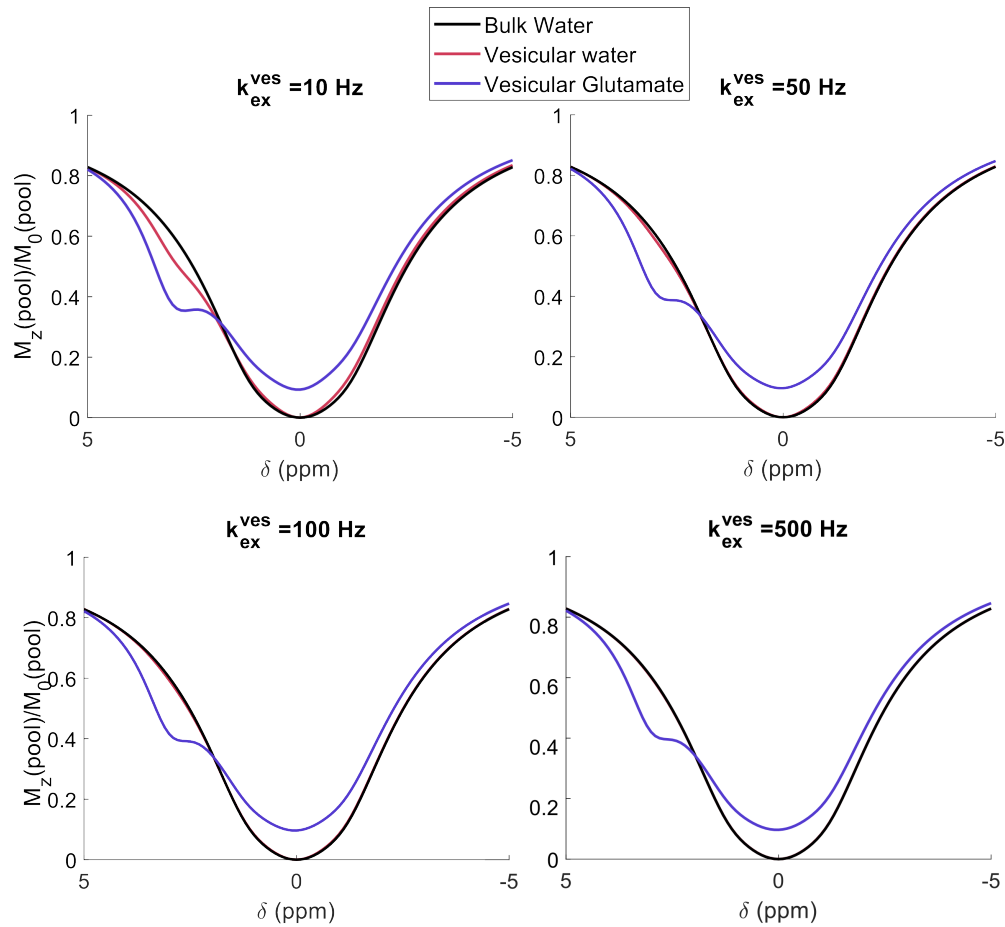


FIGURE 98 – Simulation des différentes composantes d'aimantation des 3 compartiments du modèle Li-poGlu en fonction du $k_{\text{ex}}^{\text{ves}}$ (même paramètres de simulation que décrits en section 2.2.1). L'aimantation de chaque compartiment est normalisée par le M_0 propre à chaque compartiment.

Nous avons pu vérifier avec des simulations que cette simplification est correcte, comme en atteste la figure 99. Ainsi, pour un $[\text{Glu}]^{\text{ves}}$ de l'ordre de 100 mM et une $f_{\text{H}}^{\text{H}_2\text{O}, \text{ves}}$ de quelques %, l'effet CEST du glutamate vésiculaire se résume à un équivalent de quelques millimolaires de glutamate avec un taux d'échange égal à $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}, \text{ves}}$. Ce $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}, \text{ves}}$ est conditionné par le pH intra-vésiculaire.

On peut donc conclure qu'in vivo, l'effet gluCEST serait la somme de deux compartiments de glutamate : un avec des dynamiques d'échange a priori plutôt rapide (le glutamate cytoplasmique à $\text{pH} \approx 7,2$) et un avec des dynamiques relativement plus lentes (le glutamate vésiculaire à $\text{pH} \approx 5,8$).

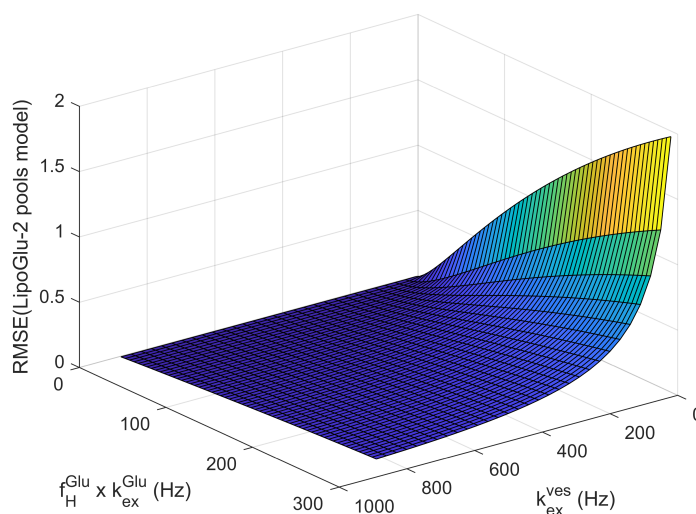


FIGURE 99 – Limite de validité de la simplification du modèle LipoGlu en modèle à 2 compartiments. Ici, nous avons simulé l'écart quadratique moyen (RMSE) entre le modèle LipoGlu et un modèle simplifié à deux compartiments avec $[Glu]^{eff} = [Glu]^{ves} \times f_H^{H_2O, ves}$, en fonction du k_{ex}^{ves} et pour différentes valeurs de $f_H^{Glu, ves} k_{ex}^{Glu, ves}$. Les paramètres de simulation de base sont les mêmes que décrits dans la section 2.2.1).

3 . VALIDATION DU MODÈLE IN VITRO

Afin de mettre à l'épreuve notre modèle, nous avons ensuite cherché à le valider in vitro. Comme nous le verrons dans cette section, il n'est en fait malheureusement pas possible de vraiment reproduire in vitro d'aussi petites vésicules de glutamate que celles que l'on peut observer in vivo. Néanmoins, nous présentons dans cette section quelques résultats obtenus sur des liposomes remplis de glutamate préparés in vitro.

3.1 . Préparation de liposomes de glutamate

Je tiens à remercier, d'une part, Simli Dey, Feng Ching Tsai et Patricia Bassereau pour m'avoir aidée et permis de réaliser des expériences préliminaires à l'Institut Curie concernant la préparation de liposomes; et d'autre part, François-Xavier Legrand et Maxime Girardon à l'Institut Galien pour nous avoir synthétisé à plusieurs reprises d'excellents échantillons de vésicules de glutamate.

3.1.1 . Protocole

Pour préparer les vésicules de glutamate, des films de lipides sont d'abord préparés avec une certaine composition lipidique spécifique. La composition lipidique peut affecter beaucoup de paramètres : la taille des vésicules synthétisées, la perméabilité, etc... Nous en avons testé 2 ici (voir 3.1.2), incluant divers types de lipides, comme par exemple du cholestérol ou du DSPE-PEG₂₀₀₀, qui sont connus pour imperméabiliser les membranes.

Les films sont ensuite réhydratés avec une solution de glutamate à 152,5 mM et à pH 5,8, qui sera donc encapsulée à l'intérieur des liposomes formés. Ce choix de concentration est motivé par une question d'osmolarité : en effet, pour que les vésicules restent stables, il faut que les milieux à l'intérieur et à l'extérieur du liposome soient d'osmolarité égales. Nous avons réalisé des mesures d'osmolarité des solutions de glutamate en fonction de leur concentration (voir en annexe la figure

136). La concentration de $[Glu] = 152,5 \text{ mM}$ correspond à une osmolarité de 273 mOsmol/kg , ce qui est exactement l'osmolarité du sérum physiologique ($\text{NaCl } 0,9\%$). On pourra donc suspendre sans problème ces vésicules dans du sérum physiologique sans risquer de les faire éclater ou fuir. Une fois les liposomes formés par sonication, ils sont extrudés pour réduire leur taille. Idéalement, nous aurions aimé obtenir des vésicules de taille de 35 nm de diamètre, représentatives des vésicules in vivo. Malheureusement, ce genre de taille est impossible à obtenir in vitro : les contraintes de courbures limitent grandement les diamètres atteignables. Ici, les vésicules ont été extrudées à 200 nm puis 100 nm afin de quand même réduire leur taille au maximum. Après extrusion, le diamètre hydrodynamique typique des vésicules est mesuré par DLS (*Dynamic Light Scattering*).

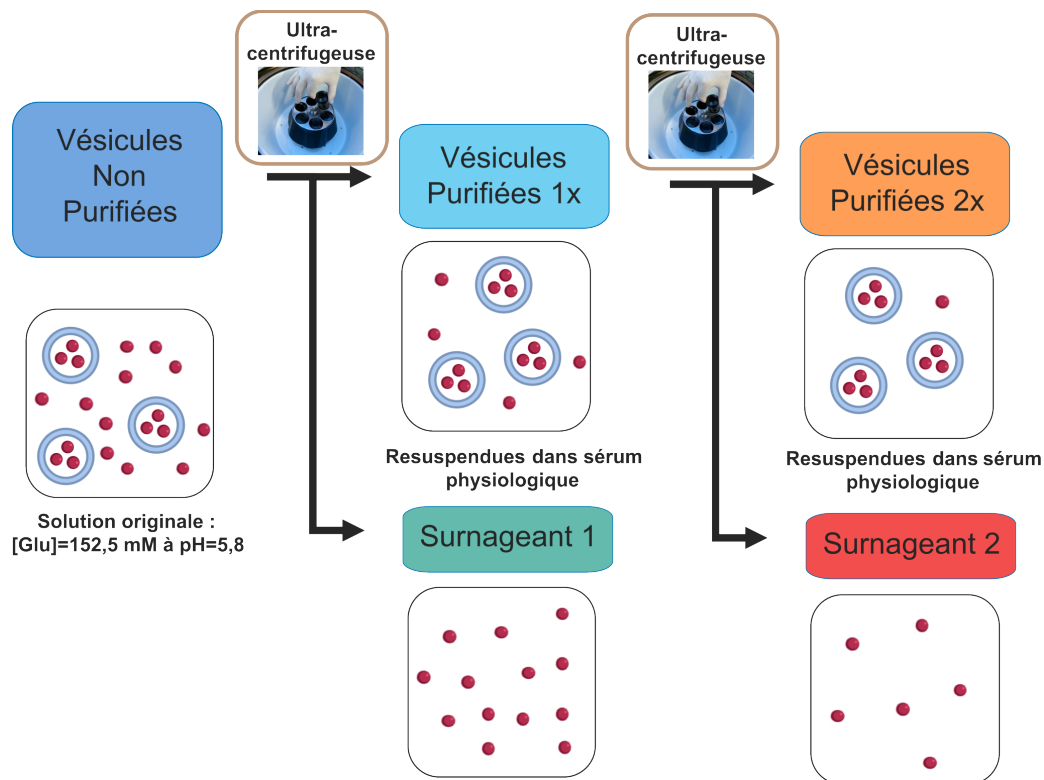


FIGURE 100 – Schéma du protocole de purification des liposomes de glutamate.

On a alors des liposomes remplis de glutamate, mais aussi suspendus dans un milieu de glutamate assez concentré. Pour pouvoir observer l'effet spécifique de vésicules de glutamate, donc sans glutamate libre autour, nous avons procédé à des étapes de purification du milieu extérieur des vésicules (voir figure 100). Les vésicules ont ainsi été ultra-centrifugées à deux reprises pendant 3 à 4 h ($T = 4 \text{ }^\circ\text{C}$, $50\,000 \text{ rpm}$). À la fin de chaque cycle de centrifugation, le surnageant, composé principalement de glutamate libre, a été retiré et remplacé par du sérum physiologique. Cela a donc permis de retirer le glutamate libre de l'échantillon et donc d'obtenir des vésicules remplies de glutamate suspendues dans un milieu sans glutamate.

Les échantillons ainsi préparés ont été scannés à $11,7\text{T}$ en configuration cryogénique dans des tubes scellés sans air à température ambiante.

3.1.2 . Échantillons préparés

Les résultats que nous présentons dans cette section ont été obtenus sur des échantillons de vésicules de glutamate préparées à l'Institut Galien. Les différents sets sont résumés en table 10. Pour l'échantillon C, la particularité de l'expérience était que nous n'avons pas redilué les vésicules après purification avec exactement le même volume de sérum physiologique que le volume de surnageant retiré : ainsi, nous avons pu augmenter par approximativement 2,5 la concentration en vésicules lors du scan.

Batch	Composition lipidique	Concentration en lipides initiale (mM)	Concentration en lipides finale (estimée) (mM)	Diamètre évalué en DLS (nm)
A	EPC/Chol/DSPE-PEG ₂₀₀₀ (60/35/5)	20	20	131 ± 1
B	EPC/Chol/EPA (60/30/10)	20	20	170 ± 2
C	DPPC/Chol/DSPE-PEG ₂₀₀₀ (60/35/5)	20	≈ 50	161 ± 1

TABLE 10 – Résumé des échantillons de liposomes de glutamate étudiés dans cette thèse.

3.2 . Contrôle de la qualité des liposomes

Avant d'aborder les mesures CEST réalisées sur ces échantillons, nous montrons d'abord quelques mesures, IRM ou non, qui nous ont permis de valider la structure et la composition de nos échantillons.

3.2.1 . Microscopie électronique

Merci à Luc Bousset et Mehdi Kabani pour le scan des grilles de microscopie.

Nous avons pu contrôler la bonne structure et la taille approximative des vésicules de glutamate grâce à la microscopie électronique. À l'aide de grilles de fixation avec de l'acétate d'uranyle comme agent de contraste, des images de microscopie électronique ont pu être réalisées en routine (voir figure 101a). Nous avons ainsi bien pu contrôler que la structure des vésicules était préservée avant et après purification.

Quelques images de cryomicroscopie électronique, de meilleure qualité mais demandant plus de temps, ont également pu être acquises sur l'échantillon B (voir figure 101b). Sur ces images, on peut parfois apercevoir des vésicules multi-lamellaires (avec plusieurs couches de membranes), mais elles restent relativement rares.

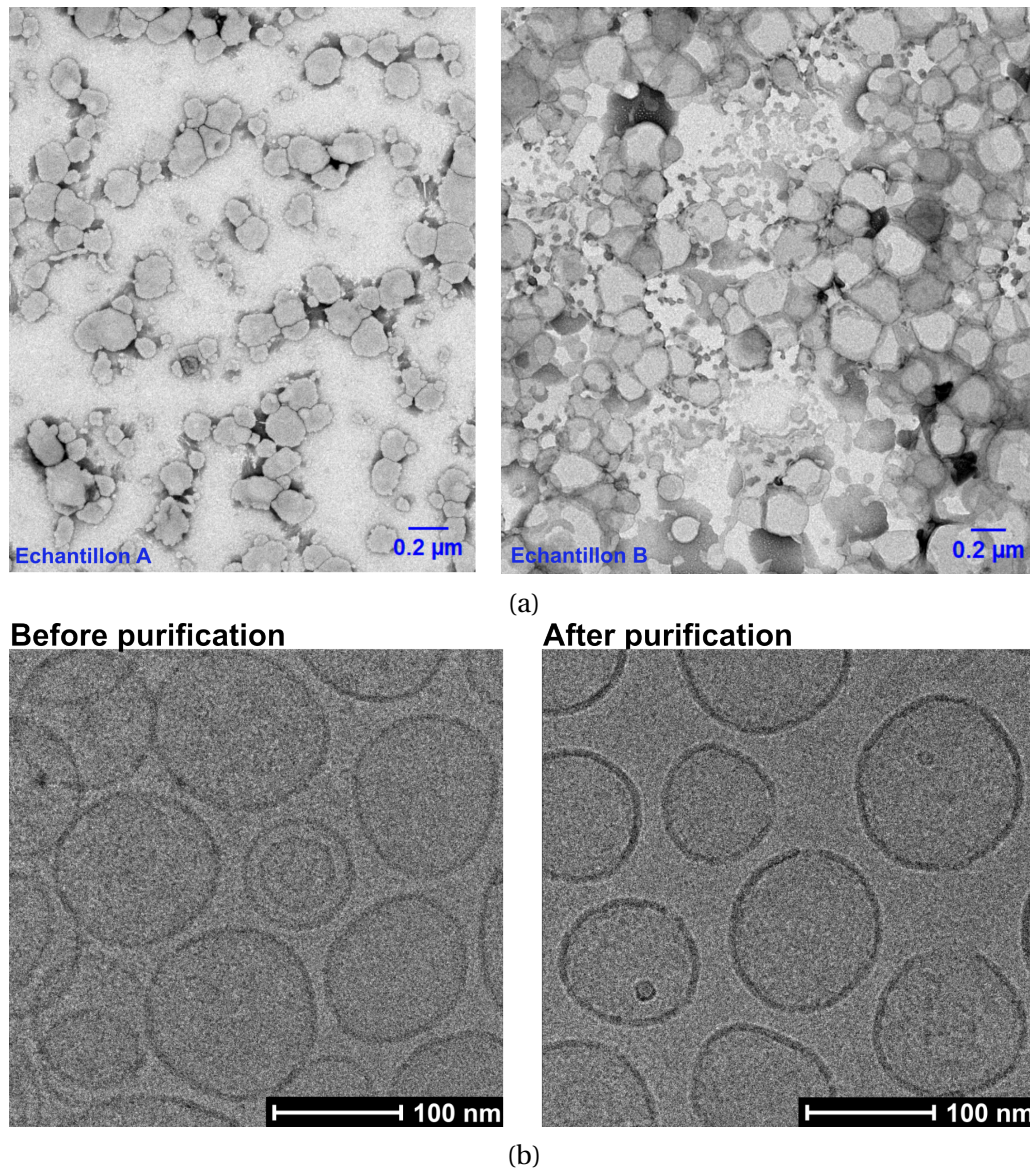


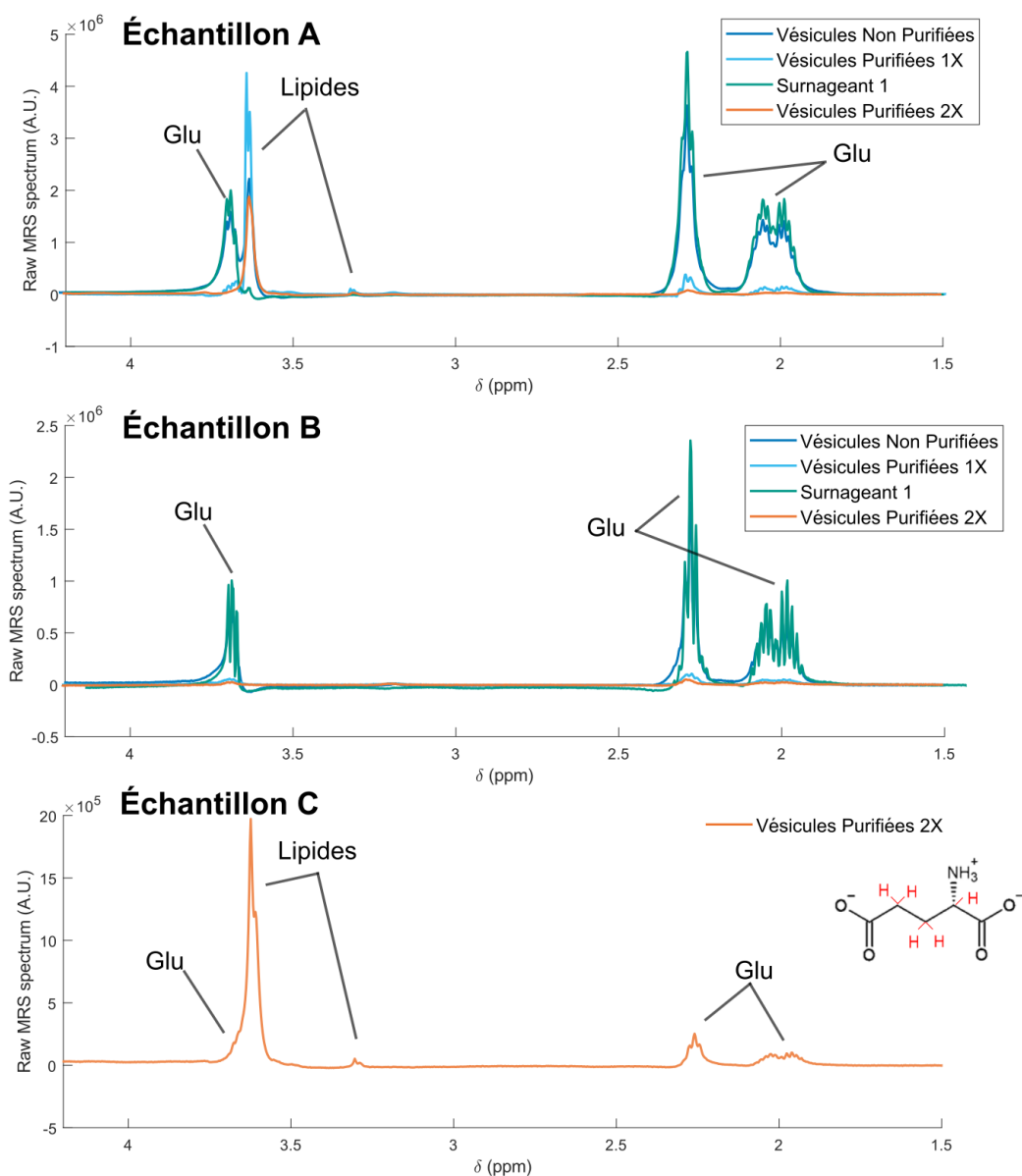
FIGURE 101 – Microscopie électronique de vésicules de glutamate in vitro; (a) avec de l'acétate d'uranyle en agent de contraste, (b) en cryomicroscopie électronique.

3.2.2 . Spectroscopie pseudo-quantitative

Nous avons également acquis des spectres ^1H -MRS sur les divers échantillons de vésicules (voir figure 102). Sur ces spectres, on observe les trois pics correspondant au glutamate, avec parfois des déplacements chimiques légèrement différents ce qu'on peut obtenir in vivo, à cause du pH et de la température différents. On observe aussi des pics de lipides vers 3,6 ppm sur les échantillons A et C, probablement dûs au DSPE-PEG₂₀₀₀. Ces pics, très proches du pic à 3,7 ppm du Glu, ont rendu une analyse LCModel compliquée.

On constate visuellement que l'intensité des pics de glutamate diminuent lorsque l'échantillon est purifié : cela montre bien que le glutamate extra-vésiculaire est retiré du milieu extérieur. On peut aussi constater sur l'échantillon A, en regardant le pic de lipide, que le surnageant n'a pas trop enlevé de vésicules, puisque le pic de lipides est tout petit.

Les spectres de l'échantillon B ont pu être fittés avec LCModel avec une base de Glu ajustée, et les

FIGURE 102 – Spectres ^1H -MRS des différents échantillons de vésicules in vitro.

résultats ont été mis à l'échelle en comparant l'aire du pic de Glu à 3,7 ppm à l'aire du pic d'eau. On obtient alors des [Glu] « pseudo-quantitatives » : en effet, il n'est pas correct de comparer le singulet de l'eau au triplet de Glu à 3,7 ppm. Il ne s'agit donc que de concentrations approximatives : d'ailleurs, on trouve des concentrations parfois supérieures à 152,5 mM, la concentration initiale du buffer de préparation, ce qui n'est donc pas possible.

Néanmoins, les résultats, résumés dans le tableau 11, permettent de mettre en évidence que les étapes de purification ont bien retiré la plupart du glutamate du milieu : environ 90% du Glu semble extrait après la première étape de centrifugation, et la deuxième étape semble encore retirer 50% du Glu restant.

Échantillon	Pseudo-[Glu]
Vésicules Non Purifiées	163 mM
Vésicules Purifiées 1X	13 mM
Surnageant 1	159 mM
Vésicules Purifiées 2X	6 mM

TABLE 11 – Spectroscopie pseudo-quantitative sur les vésicules de glutamate in vitro.

3.2.3 . Spectroscopie de diffusion

Merci à Éloïse Mougel pour l'analyse des données de diffusion.

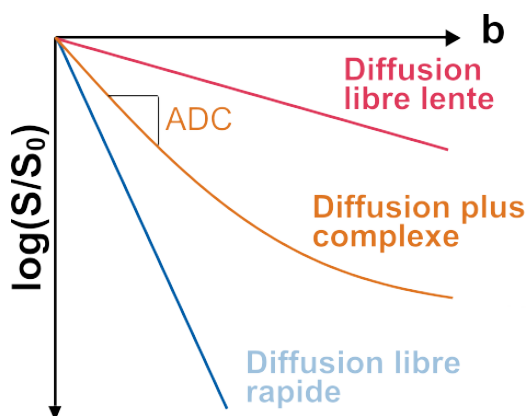


FIGURE 103 – Illustration du principe de spectroscopie de diffusion et de la mesure d'ADC.

Enfin, pour contrôler si le glutamate était bien encapsulé dans nos vésicules, et n'avait pas fuité vers le milieu extérieur, nous avons procédé à des mesures de spectroscopie de diffusion (DW-MRS pour *Diffusion-Weighted MRS*). Les mesures DW-MRS permettent de sonder les propriétés de diffusion des molécules. En ajoutant des gradients de diffusion à la séquence MRS, le signal mesuré est d'autant plus atténué que les spins diffusent vite hors du voxel. Cela permet donc de discriminer entre des molécules libres, qui diffusent rapidement, et des molécules encapsulées par exemple dans des liposomes, qui diffuseraient moins vite. On calcule alors habituellement un coefficient de diffusion apparent (ADC) en estimant la pente à l'origine de l'atténuation de signal d'une molécule (voir figure 103).

Les mesures DW-MRS ont été réalisées avec une séquence ste-LASER à différentes valeurs b de pondération en diffusion. Des exemples de mesures de diffusion du glutamate et de l'eau sont présentés en figure 104. On observe que le glutamate diffuse plus lentement dans les échantillons de vésicules purifiées, comparé aux non purifiées ou au surnageant, confirmant que le glutamate est bien encapsulé. En réitérant des mesures au cours du temps, on peut aussi juger de l'état de dégradation des vésicules : on constate par exemple pour l'échantillon B que la diffusion du glutamate semble légèrement augmenter au cours du temps, lorsqu'on répète les mesures à +30h et +6j après la purification. Cela peut témoigner d'une fuite du glutamate vers l'extérieur des vésicules. En revanche, pour les vésicules composées de DSPE-PEG₂₀₀₀ (échantillons A et C), l'encapsulation semble beaucoup plus stable.

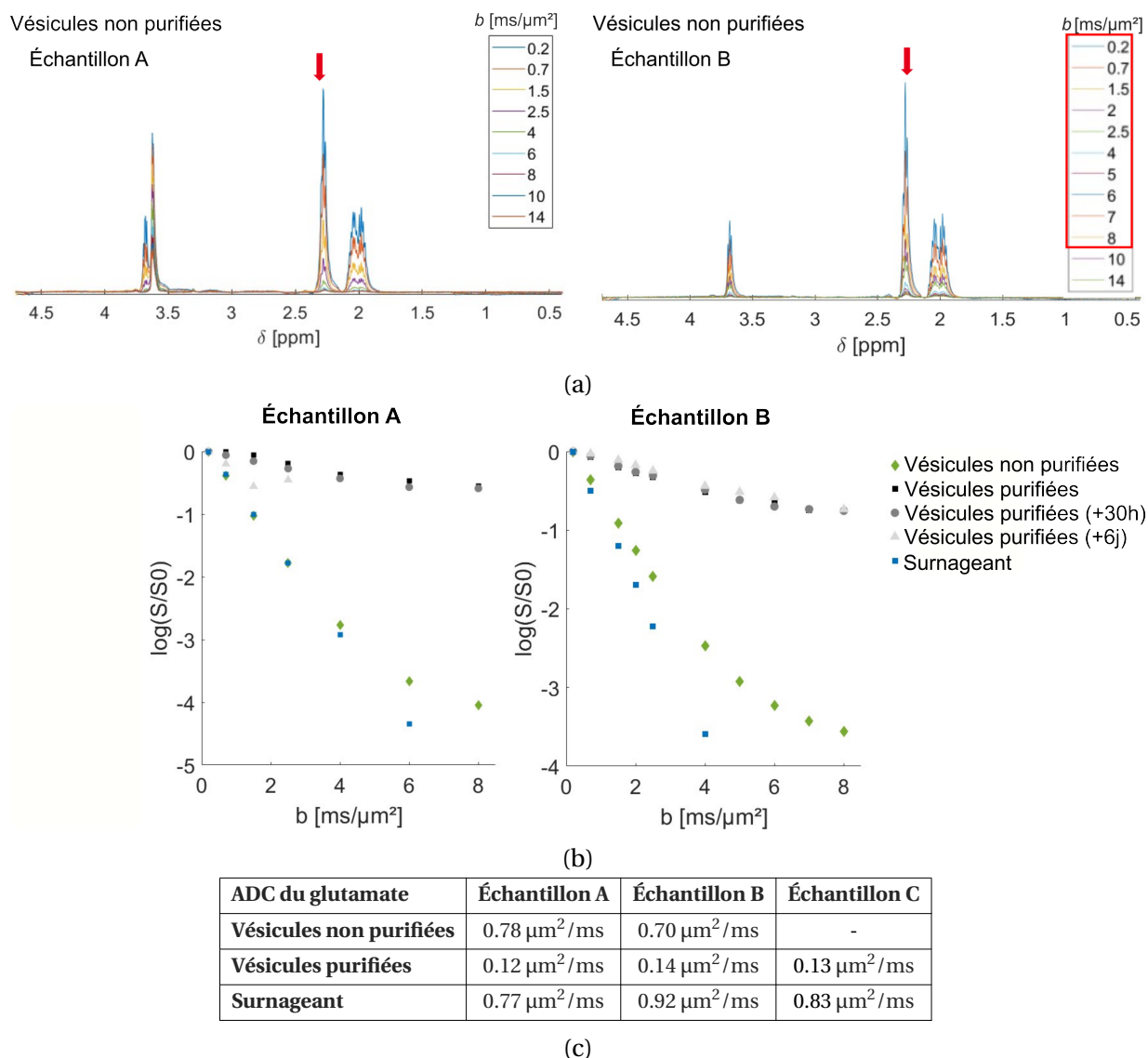


FIGURE 104 – Mesures de spectroscopie de diffusion sur les vésicules de glutamate in vitro. (a) Quelques spectres de vésicules non purifiées des échantillons A et B en fonction de la pondération en diffusion. (b) Signal du glutamate à 2,3 ppm en fonction de la pondération en diffusion pour les échantillons A et B. (c) Mesures d'ADC sur les différents échantillons.

3.3 . Mesures CEST et modélisation

3.3.1 . Premières observations

Des mesures CEST ont été réalisées sur les différents échantillons de vésicules avec la séquence LASER-CEST à $t_{\text{sat}} = 1$ s. On peut observer dans un premier temps la variation de l'effet CEST avant et après purification en figure 105. Les vésicules non purifiées ont un signal CEST très similaire à celui du surnageant, donc principalement dû au glutamate libre. Après purification, le signal est très atténué mais néanmoins toujours significatif. On peut aussi vérifier ici avec des vésicules vides qu'il n'y a pas d'effet CEST asymétrique intrinsèquement dû aux liposomes.

L'effet CEST étant très dépendant du T_1 et du T_2 de l'eau, nous avons également évalué ces valeurs sur les différents échantillons scannés (voir table 12). Des exemples de mesures sont donnés

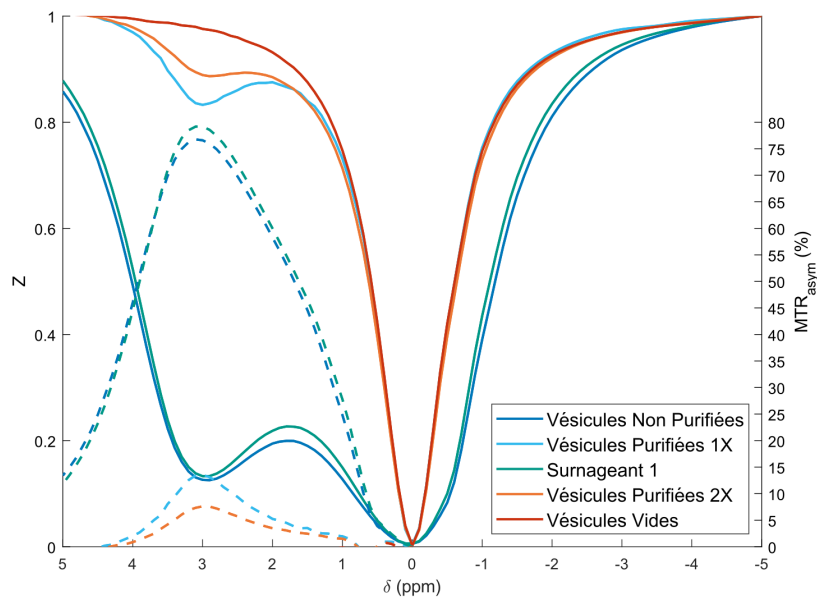


FIGURE 105 – Mesures CEST sur différents échantillons de vésicules à $B_1 = 5 \mu\text{T}$, $t_{\text{sat}} = 1 \text{ s}$ du lot B.

en figure annexe 137. Alors que les valeurs de T_1 sont relativement stables entre les échantillons, on observe que les valeurs de T_2 varient beaucoup entre les échantillons de glutamate libre (vésicules non purifiées et surnageant) et glutamate encapsulé (vésicules purifiées). Cela explique aussi en partie la différence d'allure des mesures CEST, notamment la largeur de la saturation directe de l'eau.

T_1 de l'eau	Échantillon A	Échantillon B	Échantillon C
Vésicules non purifiées	2920 ms	2550 ms	-
Vésicules purifiées	2670 ms	2640 ms	2480 ms
Surnageant	2620 ms	2620 ms	2410 ms

(a)

T_2 de l'eau	Échantillon A	Échantillon B	Échantillon C
Vésicules non purifiées	180 ms	120 ms	-
Vésicules purifiées	1050 ms	910 ms	440 ms
Surnageant	200 ms	120 ms	130 ms

(b)

TABLE 12 – (a) T_1 et (b) T_2 de l'eau des échantillons de vésicules de glutamate in vitro.

3.3.2 . Modélisation

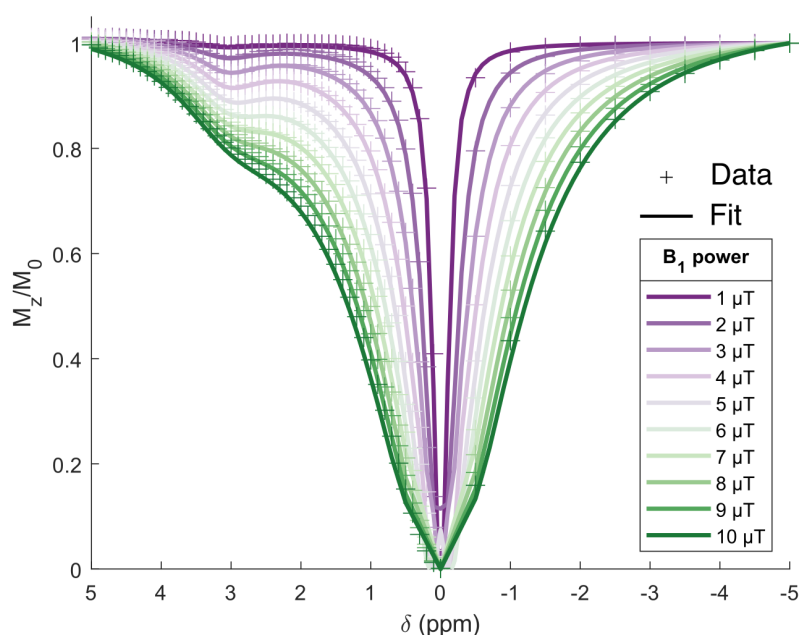


FIGURE 106 – Exemple de fit multi- B_1 des données CEST de vésicules de glutamate in vitro (ici, issu des vésicules purifiées de l'échantillon B).

Nous avons ensuite modélisé les mesures CEST des échantillons, en prenant les T_1 et T_2 mesurés comme valeurs de référence à $\pm 10\%$ de liberté dans le fit. Puisque nous avons déjà pu voir auparavant qu'il était ardu de fitter simultanément les concentrations $[Glu]$ et taux d'échange k_{ex}^{Glu} , voici comment nous avons procédé pour réduire le nombre de paramètres du modèle :

- **Le k_{ex}^{Glu} a été estimé grâce au surnageant**, dont les données CEST ont été fittées en imposant la concentration connue de $[Glu] = 152,5 \text{ mM}$ (avec une marge de variabilité $\pm 20\%$). On observe un taux d'échange relativement proche entre les différents échantillons de surnageant (voir table 13), mais plus bas que le taux d'échange de 1800 Hz que nous avons estimé précédemment à pH 5,8 pour le glutamate : cela peut provenir d'une cinétique d'échange perturbée par la présence de lipides dans le milieu.

	Surnageant A	Surnageant B	Surnageant C
R^2	0,995	0,992	0,992
k_{ex}^{Glu} estimé	1330 Hz	1473 Hz	1276 Hz

TABLE 13 – Taux d'échange du glutamate estimé pour les échantillons de vésicules in vitro.

- **Le k_{ex}^{ves} n'a ici pas beaucoup d'impact, donc il peut être fixé à une valeur approximative.** En effet, si l'on reprend notre ordre de grandeur précédent d'une perméabilité de l'eau de $30 \mu\text{m/s}$, et que l'on suppose un diamètre vésiculaire de l'ordre de 200 nm, alors on obtient $k_{ex}^{ves} \approx 900 \text{ Hz}$. On est donc encore dans le régime où les échanges d'eau sont trop rapides pour avoir un impact sur l'effet CEST ($f_H^{Glu, ves} k_{ex}^{Glu, ves} \sim 10 \text{ Hz}$).
- **Le nombre de molécules d'eau par vésicules N_V est calculé grâce au diamètre vésiculaire mesuré en DLS**, avec la formule de l'équation (VIII .6).

- La concentration de glutamate $[Glu]^{ves}$ est imposée à 152,5 mM.

Il ne reste donc plus que la variable C_{ves} à estimer. Nous avons donc fitté les données CEST multi- B_1 à la fois avec le modèle LipoGlu et avec le modèle simplifié à 2 compartiments (voir section 2.3). Les résultats de fit sont présentés dans la table 14. Le modèle LipoGlu, de par sa résolution numérique, présentait beaucoup d'instabilités de simulation : ainsi, les R^2 obtenus sont en général plus faible qu'avec le modèle simplifié à deux compartiments. Les deux modèles sont néanmoins en plutôt bon accord sur leur estimation de C_{ves} .

Méthode	Vésicules A	Vésicules B	Vésicules C
C_{ves} obtenue avec le modèle LipoGlu	73 nM ($R^2=0,925$)	48 nM ($R^2=0,955$)	111 nM ($R^2=0,984$)
C_{ves} obtenue avec le modèle simplifié	87 nM ($R^2=0,977$)	47 nM ($R^2=0,987$)	102 nM ($R^2=0,998$)
C_{ves} attendue (calcul approximatif)	80 nM	47 nM	130 nM

TABLE 14 – Estimations de concentration vésiculaire in vitro, à la fois avec le modèle LipoGlu et avec le modèle simplifié à deux compartiments équivalents. Les C_{ves} attendues ont été calculées selon la méthode proposée en section 3.3.3.

3.3.3 . Validation ?

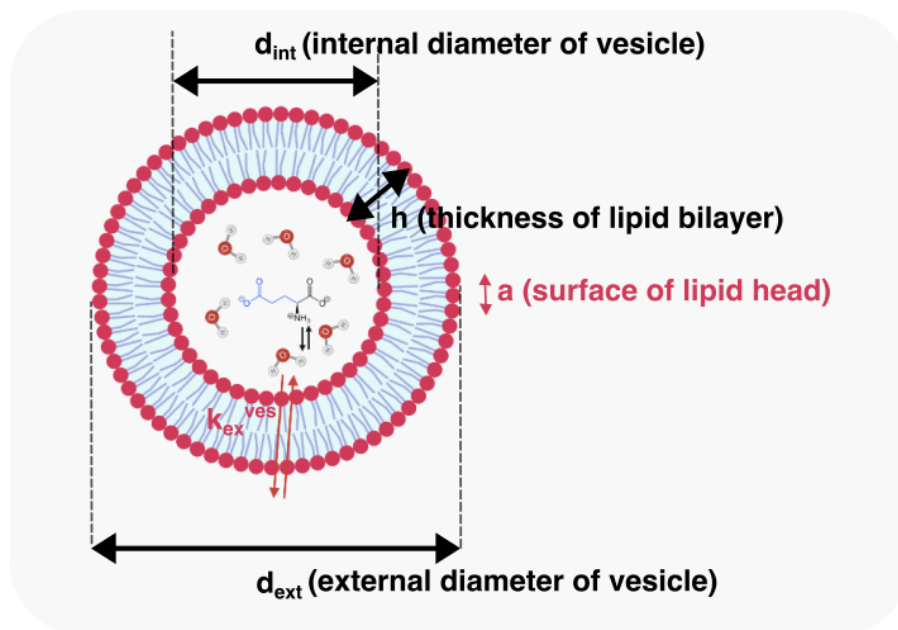


FIGURE 107 – Grandeurs géométriques d'une vésicule.

Pour savoir si les concentrations vésiculaires C_{ves} estimées sont pertinentes, nous avons tenté d'estimer la C_{ves} que nous nous attendions à avoir dans ces échantillons de vésicules à partir d'un calcul approximatif.

En considérant les paramètres suivants :

- La concentration de lipides utilisée pour préparer les liposomes C_{lipid}
- Le diamètre caractéristique des vésicules formées d_{ext} , mesuré en DLS

- L'épaisseur $h = d_{\text{ext}} - d_{\text{int}}$ de la bicouche lipidique
- La surface caractéristique a d'une tête lipidique

alors on en déduit le nombre de lipides réquisitionnés par liposome N_{lipids} :

$$N_{\text{lipids}} = \frac{4\pi \left(\left(\frac{d_{\text{ext}}}{2} \right)^2 + \left(\frac{d_{\text{ext}}}{2} - h \right)^2 \right)}{a} \quad (\text{VIII .12})$$

et ainsi la concentration en liposomes :

$$[\text{Ves}] = \frac{C_{\text{lipid}}}{N_{\text{lipids}}} \quad (\text{VIII .13})$$

ou plus explicitement :

$$[\text{Ves}] = \frac{aC_{\text{lipid}}}{\pi(d_{\text{ext}}^2 + (d_{\text{ext}} - 2h)^2)} \quad (\text{VIII .14})$$

En utilisant cette formule, et en supposant $a = 0,5 \text{ nm}^2$ et $h = 10 \text{ nm}$, on obtient alors les estimations de concentrations vésiculaires C_{ves} présentées dans la dernière ligne du tableau 14.

Au premier abord, il semble que nous arrivions donc bien à retrouver à peu près les C_{ves} attendues grâce à notre méthode de quantification, ce qui tendrait à valider notre modélisation. Cependant, ce calcul de prédiction de C_{ves} reste approximatif : en particulier, le paramètre a est assez incertain, et il est possible qu'il y ait eu des pertes lors de la préparation des liposomes, ce qui ferait diminuer la concentration C_{lipid} . Pour obtenir des estimations de C_{ves} plus précises, des méthodes de dosage expérimentales des vésicules sont actuellement envisagées.

4 . APPLICATION DU MODÈLE IN VIVO

4.1 . Imagerie multi- B_1 chez la souris

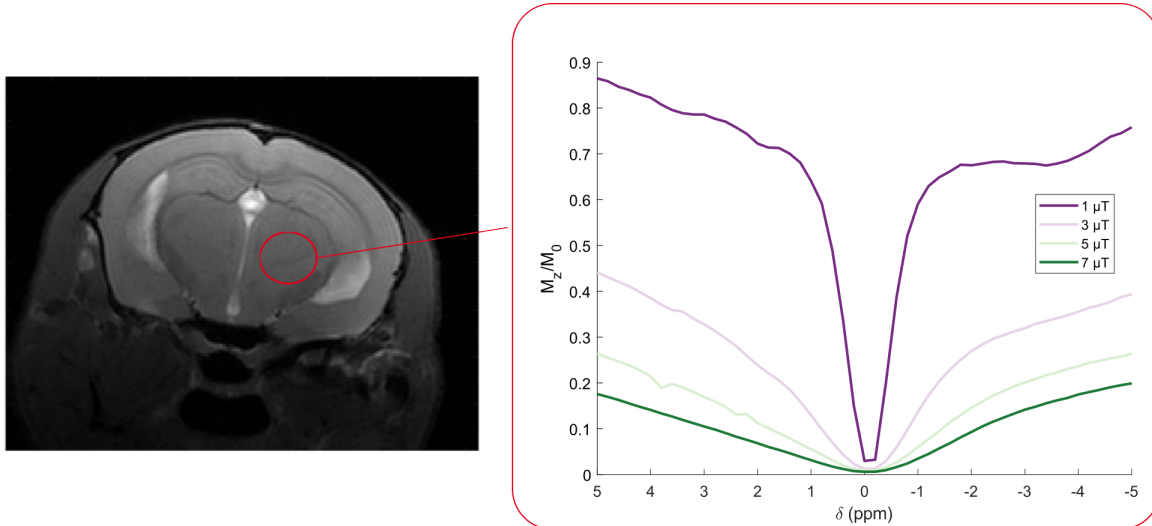


FIGURE 108 – Imagerie multi- B_1 chez la souris, avec une unique coupe de 0,6 mm et de résolution $150 \times 150 \mu\text{m}^2$.

Pour compléter cette étude sur la possible contribution du glutamate vésiculaire au signal glu-CEST, nous avons réalisé des cartes d'imagerie CEST aux B_1 d'intérêt [1, 3, 5, 7] μT en configuration chaude. À cause d'artefacts-fantômes, probablement dûs à des mouvements, il a été difficile d'obtenir des sets de données corrects, et nous n'avons donc pour l'instant que $n = 1$ set exploitable (voir 108). D'autres mesures sont encore en cours d'acquisition pour étendre l'étude.

Des données moyennes ont été extraites dans différentes régions du cerveau, où l'on s'attend à obtenir des concentrations de [Glu] et des densités synaptiques différentes (voir figure 109).

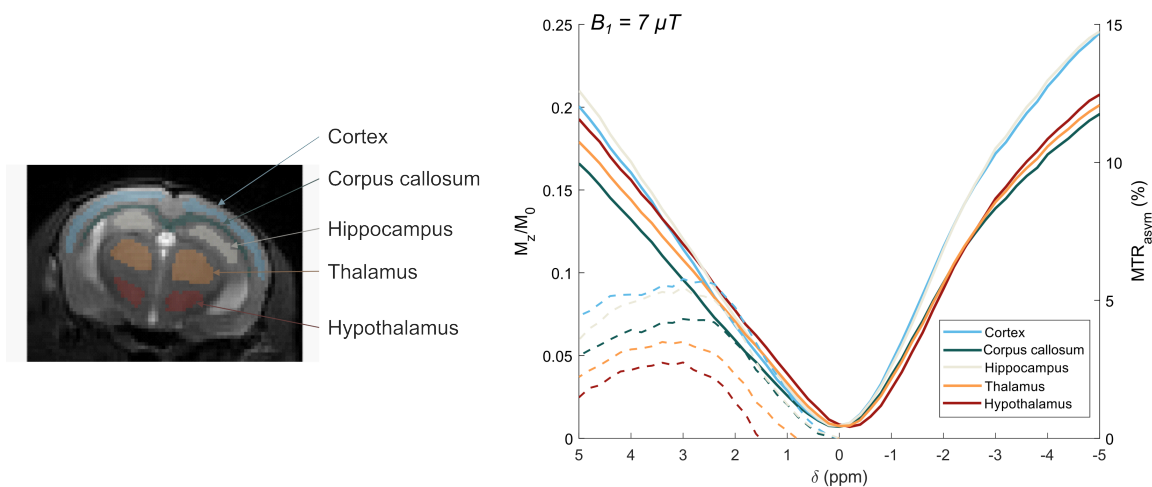


FIGURE 109 – Exemples de mesures CEST à $B_1 = 7 \mu\text{T}$ dans différentes régions du cerveau de la souris.

4.2 . Modélisation en prenant en compte le glutamate vésiculaire

Nous avons donc tenté de fitter les données multi- B_1 moyennées dans différentes régions du cerveau en reprenant le modèle à 6 compartiments du chapitre VII , mais en ajoutant un compartiment supplémentaire pour le glutamate vésiculaire.

La difficulté ici est que nous avons beaucoup d'incertitudes sur les paramètres d'échange, comme $k_{ex}^{Glu, ves}$, mais aussi $k_{ex}^{Glu, libre}$. En effet, le $k_{ex}^{Glu, libre}$ estimé précédemment a été obtenu en partant du postulat qu'il n'y a avait que le glutamate libre mesuré en spectroscopie qui représentait les protons à échanges rapides in vivo. Il n'est donc pas fiable dans ce contexte où l'on ajoute de nouveaux compartiments au modèle.

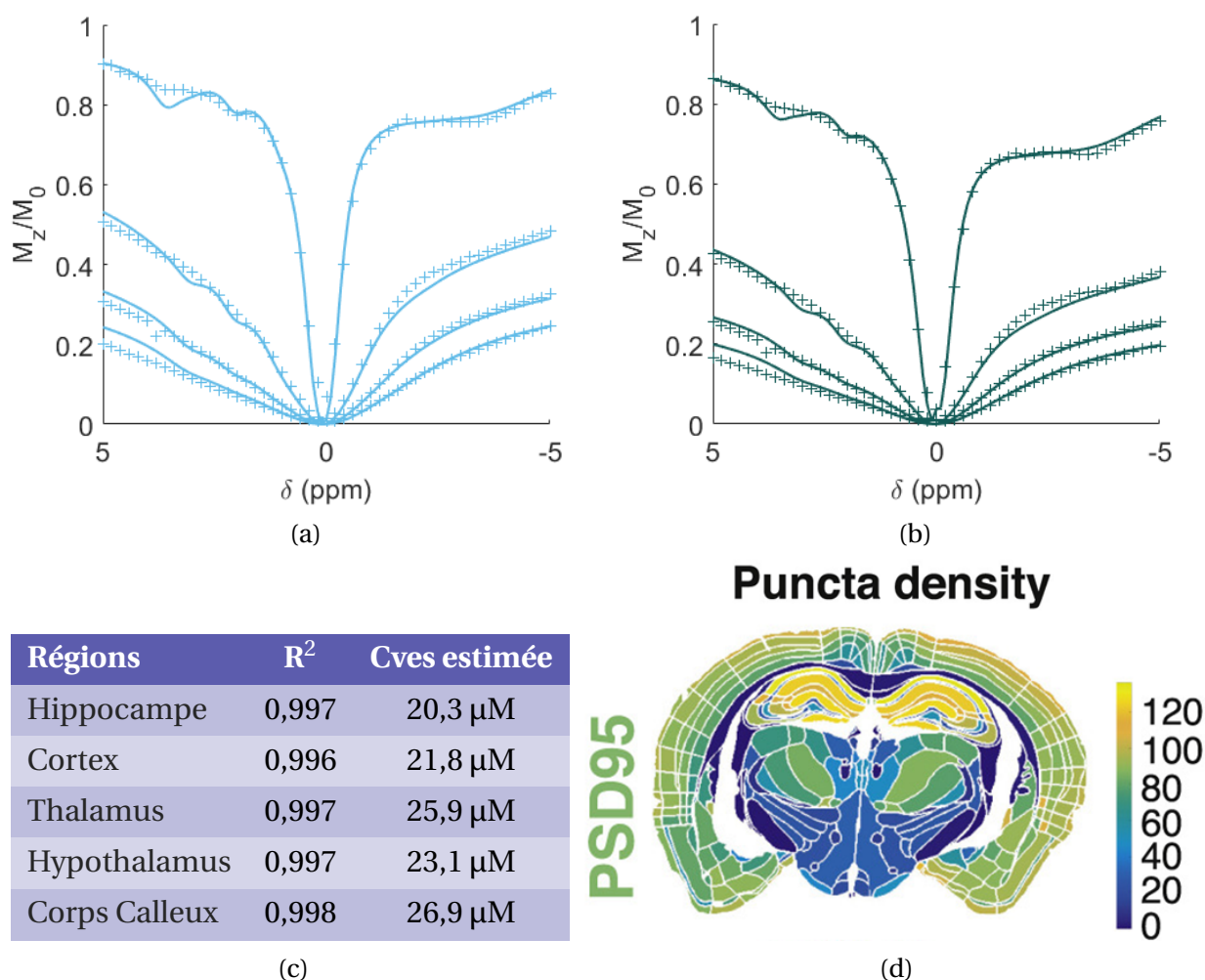


FIGURE 110 – Application du modèle de glutamate vésiculaire sur des données multi- B_1 dans différentes régions du cerveau. (a-b) Exemples de fit obtenus dans la région du cortex ou du corps calleux. (c) C_{ves} estimées dans les différentes régions du cerveau de la souris, classées de la plus dense en synapses à la moins dense. (d) Cartes de densité synaptique relative chez la souris obtenue avec un marqueur spécifique, issue de F. Zhu et al., 2018.

Néanmoins, on sait qu'il n'est pas judicieux de fitter simultanément la concentration et le taux d'échange des compartiments de glutamate envisagés. À défaut, nous imposerons donc pour ces compartiments des taux d'échange un peu arbitraires, à savoir un $k_{ex}^{Glu, ves}$ de 1300 Hz et un $k_{ex}^{Glu, libre}$ de 8000 Hz. Par ailleurs, pour réduire le nombre de paramètres libres, nous avons imposé au fit

des concentrations de glutamate libre en fonction des régions du cerveau (avec des marges de variation de $\pm 30\%$), à savoir [5.7, 9, 8, 7, 7] mM dans respectivement le corps calleux, le cortex, l'hippocampe, le thalamus et l'hypothalamus (Duarte et al., 2014).

Les résultats de fits de cette manière sont résumés dans la figure 110. Visuellement, le fit n'est pas très satisfaisant, mais on passe quand même d'un R^2 moyen de 0,994 à 0,997 en incluant le glutamate vésiculaire dans le modèle. Toutefois, on constate que les concentrations vésiculaires C_{ves} estimées par ce modèle sont de l'ordre de 20 μM , soit 100 fois plus grandes que ce qu'on s'attendait à obtenir... Même une très haute densité synaptique ne suffit pas à expliquer ces ordres de grandeur de quelques dizaines de μM . On pourrait se dire que ces concentrations aberrantes sont potentiellement le résultat d'un mauvais choix de $k_{ex}^{Glu, ves}$. Cependant, on peut constater, en comparant les C_{ves} estimées des différentes régions du cerveau en figure 110c aux cartes de densités synaptiques disponibles dans la littérature (figure 110d) qu'il ne semble pas y avoir de corrélation. Même si le $k_{ex}^{Glu, ves}$ n'était pas adapté, on s'attendrait tout de même à obtenir des C_{ves} significativement plus grandes dans l'hippocampe que dans le corps calleux; ce qui n'est pas le cas ici.

4.3 . Conclusions

L'application du modèle de glutamate vésiculaire aux données CEST in vivo ne semble pas donc pas convaincante. Le modèle proposé ici n'est pas encore très affiné, ce qui peut potentiellement expliquer en partie les mauvais résultats. Par exemple, il est peut être difficile de vraiment prédire de manière précise la C_{ves} in vivo. Un travail de simulation pourrait être envisagée pour répondre à cette question. De plus, nous avons supposé ici une concentration de glutamate intra-vésiculaire de 100 mM de manière homogène, alors qu'il s'agit peut être d'un paramètre dépendant des régions du cerveau. Cela pourrait aussi expliquer l'incohérence des C_{ves} estimées.

Néanmoins, même si l'on parvient à trouver des C_{ves} en meilleur accord avec les densités synaptiques attendues, l'allure de la modélisation reste peu satisfaisante (figure 110a et 110b). En particulier, on voit que le modèle compense le manque de signal CEST modélisé à haut B_1 en ajoutant trop d'amides ou de créatine au modèle. Il semble que le glutamate vésiculaire ne soit donc pas suffisant pour expliquer la contribution manquante au signal gluCEST; ce qui pouvait dans une certaine mesure être prévisible au vu des simulations préalables (voir section 2.2.1) qui prévoyaient un MTR_{asym} assez faible (<1%) pour le glutamate vésiculaire.

Il existe donc probablement encore une ou plusieurs autres contributions inconnues au signal gluCEST. Cui et al., 2020 suggéraient par exemple des amides à échanges rapides, que l'on ne pourrait donc pas bien détecter à bas B_1 . On peut de la même manière supposer qu'il existe peut être diverses dynamiques d'échange pour les fonctions guanidines ou pour les protons NOE : on aurait alors de nouveaux compartiments à taux d'échange rapides à inclure dans le modèle. Par ailleurs, il n'est pas à exclure que d'autres compartiments de glutamate pourraient exister in vivo, par exemple du glutamate encapsulé dans des organelles telles que les mitochondries. Pour répondre à ces questions, un travail de modélisation encore plus approfondi est nécessaire, avec probablement une nécessité d'acquérir de plus nombreuses valeurs de B_1 et éventuellement de t_{sat} .

5 . POINTS CLÉS DE CE CHAPITRE

- ➔ Nous avons mis en évidence que le glutamate « libre », que l'on peut mesurer en ^1H -MRS, ne semble pas être suffisant pour expliquer l'effet CEST que l'on mesure in vivo, notamment à haut B_1 . Il y a donc d'autres origines moléculaires au signal gluCEST, qui comptent pour environ 2-3% du signal manquant à 5 μT .
- ➔ Nous avons pu proposer un modèle pour décrire l'effet CEST du glutamate vésiculaire, et pu en partie le valider sur des vésicules in vitro. Sous l'hypothèse de $k_{\text{ex}}^{\text{ves}}$ assez grand, on peut résumer la situation in vivo à deux compartiments de glutamate, un libre et un encapsulé dans des vésicules, avec des dynamiques d'échange différentes.
- ➔ L'application du modèle de glutamate vésiculaire in vivo n'a cependant pour l'instant pas pu donner de résultats convaincants, ce qui peut s'expliquer potentiellement par une mauvaise calibration des paramètres de fit, comme par exemple les taux d'échange. Mais cela peut aussi indiquer, au vu de la qualité des fits et des simulations préliminaires, que le glutamate vésiculaire n'est probablement pas la seule contribution manquante pour décrire le signal gluCEST in vivo.

TROISIÈME PARTIE :
PROJETS SECONDAIRES ET
PERSPECTIVES

IX - Quantification glucoCEST

1 . CONTEXTE DE L'ÉTUDE

Initialement, cette thèse devait porter sur la quantification du métabolisme cérébral et de l'effet glucoCEST. En effet, un précédent doctorant de l'équipe avait mené des études glucoCEST chez le rat, donc de suivi CEST après injection de glucose et analogues, en conditions saine et pathologique (Mathieu-Daudé, 2022). On voit en figure 111a les cinétiques de MTR_{asym} mesurées au cours du temps dans le striatum de rat à différentes fréquences de résonance du glucose, après une injection à $t = 0$ de 2-deoxy-D-glucose (ou 2DG), un analogue du glucose. En figure 111b, on peut voir une différence de dynamique de signal glucoCEST mise en évidence par Mathieu-Daudé, 2022 entre des rats WT et des rats BACHD, un modèle de la maladie de Huntington (Yu-Taeger et al., 2012).

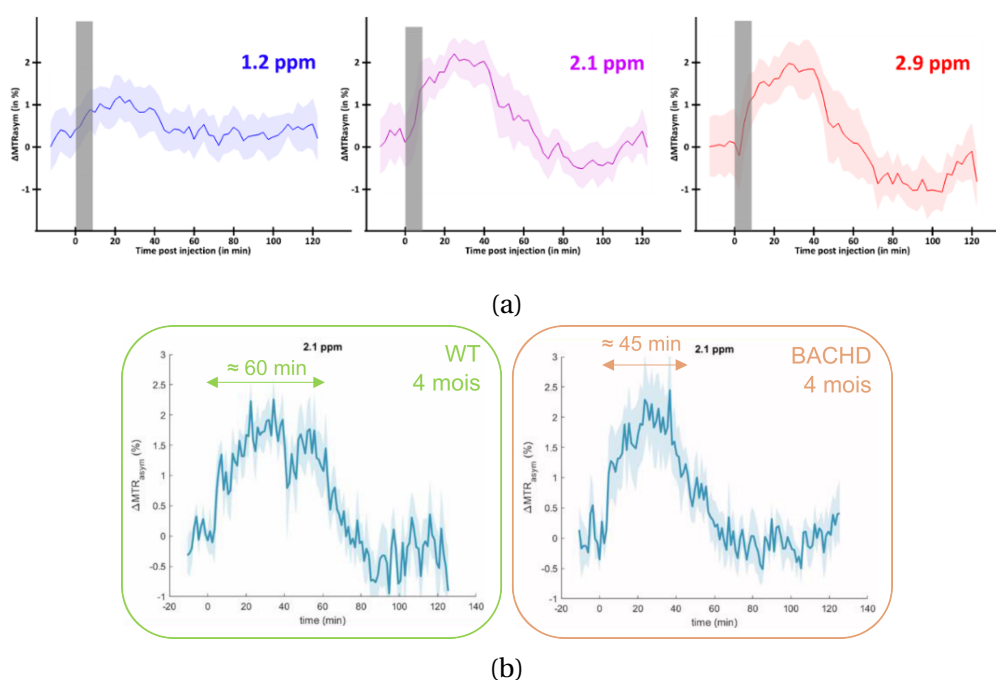


FIGURE 111 – Résultats glucoCEST précédemment obtenus au laboratoire par Mathieu-Daudé, 2022 chez le rat. (a) Évolution du signal glucoCEST à différentes fréquences de résonance après injection de 2DG chez un rat WT. (b) Comparaison de dynamiques de signal glucoCEST à 4 mois chez des rats WT (N=6) et des rats BACHD (N=6), modèle de la maladie de Huntington.

Cependant, les données de ce travail n'avaient pas pu être quantifiées, ce qui limite les possibilités d'interprétation des résultats. En particulier, il aurait été d'un grand intérêt d'appliquer des modèles de métabolisation du glucose pour remonter à la mesure de la consommation cérébrale de glucose : le CMR_{Glc} . Toutefois, cela s'est révélé impossible sans quantification des mesures de ΔMTR_{asym} en concentration de [Glc] ou [2DG]. Un des objectifs initiaux de cette thèse était ainsi de quantifier ces mesures glucoCEST précédemment acquises afin d'obtenir des courbes d'évolution de [Glc] au cours du temps, et ainsi pouvoir approfondir la modélisation du métabolisme

cérébral. Finalement, nos efforts pendant cette thèse se sont plutôt concentrés sur la quantification de l'effet gluCEST, qui s'est révélée plus complexe et plus intéressante que prévue, et le projet gluCEST a été mis de côté par manque de temps. Nous montrons néanmoins dans ce chapitre les quelques résultats que nous avons obtenu en ce qui concerne la quantification gluCEST.

2 . CARACTÉRISATION DE L'EFFET GLUCOCEST IN VITRO

2.1 . Premières observations

Un set de fantômes de D-glucose ($M = 180,16 \text{ g/mol}$) a été préparé dans du sérum physiologique avec différentes concentrations variant entre 3 et 50 mM, à $\text{pH} \approx 7,0$ (le pH n'étant pas facilement contrôlable dans du sérum physiologique). Deux fantômes supplémentaires à 40 mM mais à pH respectifs 4,1 et 7,9 furent aussi préparés et scannés en même temps à 11,7T en configuration chaude. Des Z-spectra ont été acquis à $t_{\text{sat}} = 1 \text{ s}$, avec des B_1 entre 1 et 7 μT .

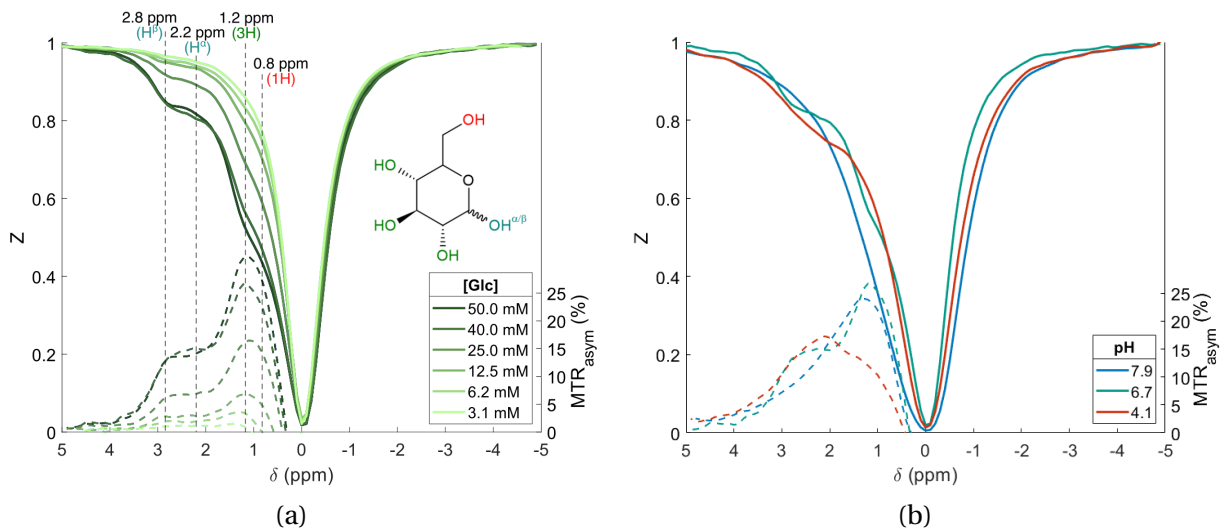


FIGURE 112 – Z-spectra fantômes de D-glucose scannés à température ambiante avec $t_{\text{sat}} = 1 \text{ s}$, $B_1 = 5 \mu\text{T}$. (a) D-glucose à $\text{pH} \approx 7$ pour différentes concentrations. (b) D-glucose à 40 mM pour différents pH.

Le D-glucose se modélise avec 3 groupes de protons échangeables, dont un qui peut avoir deux configurations anomériques α et β avec un ratio anomérique $\alpha/(\alpha + \beta)$ de 0,36 a priori. On obtient donc un modèle CEST incluant 4 compartiments, résonants à 0,7 ppm, 1,3 ppm, 2,1 ppm, et 2,9 ppm d'après la littérature (Zaiss, Anemone et al., 2019). En pratique, ici on remarque que les résonances du D-glucose semblent être légèrement décalées (voir figure 112) : on observe plutôt des pics à 0,8 ppm, 1,2 ppm, 2,2 et 2,8 ppm.

2.2 . Modélisation in vitro

2.2.1 . Caractérisation des taux d'échange

En fittant ces données de fantômes (voir figure 113), tout en imposant la concentration de [Glc] et le ratio anomérique aux valeurs connues, on peut estimer les taux d'échange des différents groupes de protons. Une petite marge de liberté ($\pm 0,15 \text{ ppm}$) est également laissée sur les fréquences de résonance des différents groupes. Les résultats obtenus à différents pH sont présentés en table 15. On trouve ici des taux d'échange bien plus faibles que ce qui avait pu être rapporté in vitro par Zaiss, Anemone et al., 2019 (2900 Hz, 6500 Hz, 5200 Hz et 14 000 Hz pour les différents

groupes de protons à pH 7,2). Ceci peut s'expliquer par la différence de buffer (on utilise ici du sérum physiologique au lieu de PBS) et par la température plus faible (23°C ici au lieu de 37°C). On constate également une dépendance au pH, mais les taux d'échange semblent augmenter moins vite avec le pH que pour le glutamate qui atteignait des k_{ex} de l'ordre plusieurs 10^4 Hz à pH 7,9. Curieusement, à pH 4,1, il semble qu'un groupe de protons disparaît et que l'on obtient également un régime d'échange surprenamment rapide. Ce fantôme est peut être à pH trop bas pour pouvoir expliquer les dynamiques d'échanges de protons par un simple modèle de catalyse par base.

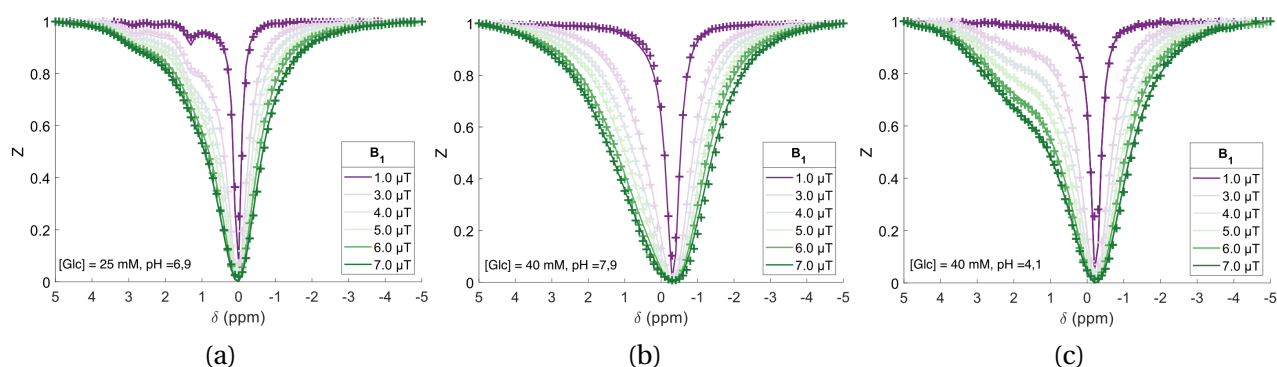


FIGURE 113 – Exemples de fits multi- B_1 de Z-spectra de D-glucose à (a) 25 mM, pH \approx 7; (b) 40 mM, pH 7,9 et (c) 40 mM, pH 4,1. Les R^2 obtenus pour tous les fantômes sont supérieurs à 0,997.

Paramètre fitté	pH	1H	3H	H^α	H^β
δ	\approx 7	$0,85 \pm 0,03$ ppm	$1,30 \pm 0,01$ ppm	$2,18 \pm 0,03$ ppm	$2,84 \pm 0,01$ ppm
	7.9	$0,85 \pm 0,07$ ppm	$1,18 \pm 0,03$ ppm	$2,25 \pm 0,05$ ppm	$3,03 \pm 0,06$ ppm
	4.1	$0,85 \pm 0,24$ ppm	-	$2,25 \pm 0,16$ ppm	$2,73 \pm 0,03$ ppm
k_{ex}	\approx 7	1189 ± 83 Hz	226 ± 16 Hz	367 ± 34 Hz	355 ± 21 Hz
	7.9	2522 ± 278 Hz	4040 ± 156 Hz	6778 ± 571 Hz	15 ± 3 Hz
	4.1	4240 ± 593 Hz	0 ± 1 Hz	3460 ± 695 Hz	2620 ± 63 Hz

TABLE 15 – Taux d'échange et fréquences de résonance estimés in vitro pour le D-glucose. Les valeurs indiquées en \pm correspondent aux $CI^{95\%}$ estimés par le fit. Tous les fantômes à pH \approx 7 ont été fittés simultanément pour obtenir les taux d'échange et fréquences de résonance indiquées ici.

2.2.2 . GlucoCEST quantitatif

On peut ensuite tester in vitro les performances d'un algorithme de glucoCEST quantitatif. En première approche, si l'on tente d'estimer simultanément la concentration [Glc] et les taux d'échange k_{ex}^i , on peut constater en figure 114a que les résultats sont médiocres. Les estimations sont particulièrement mauvaises pour les fantômes peu concentrés, donc avec peu de signal CEST, pour lesquels l'algorithme tend vers des k_{ex}^i très faibles et des [Glc] très élevées. Pour de plus hautes concentrations, les estimations de [Glc] sont moins aberrantes.

Dans un second temps, si l'on impose les taux d'échange aux valeurs estimées précédemment en table 15, alors les estimations de [Glc] sont bien meilleures (voir figure 114b), avec une erreur absolue moyenne de 17% à pH \approx 7. Ici, on peut remarquer que les performances de l'algorithme

quantitatif restent meilleures que ce qu'on avait pu obtenir in vitro pour le glutamate. Cela peut s'expliquer par la meilleure définition des pics de l'effet glucoCEST sur le Z-spectrum, grâce à des taux d'échange plus lents, que dans le cas du gluCEST, aidant donc à obtenir des estimations plus robustes.

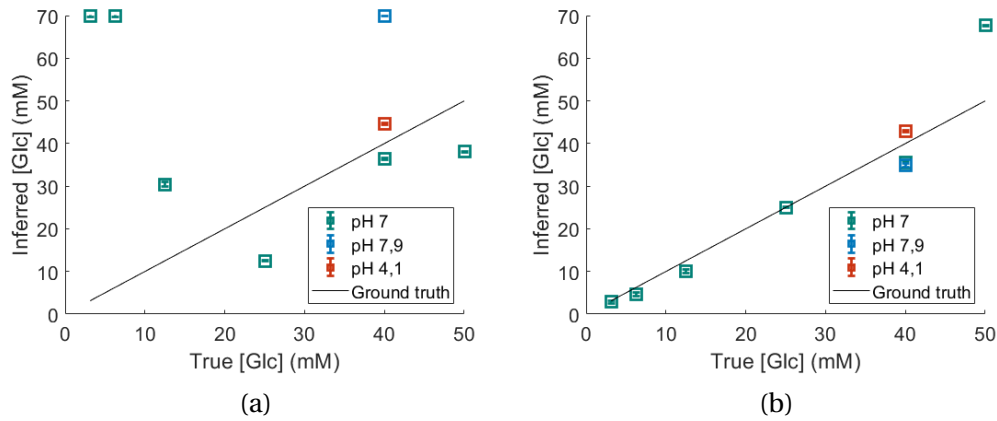


FIGURE 114 – GlucoCEST quantitatif in vitro, (a) en laissant les taux d'échange libres et (b) en les fixant aux valeurs trouvées en table 15.

En conclusion, on peut retenir que pour des concentrations de [Glc] assez faibles, il sera essentiel d'avoir une bonne idée du taux d'échange des protons pour obtenir des estimations quantitatives fiables. On note aussi que, comme pour le glutamate, les taux d'échange mesurés in vitro semblent varier d'une étude à l'autre, et dépendent de différents paramètres chimiques (pH, température, buffer,...). La revue de [M. Kim, Eleftheriou et al., 2022](#) montre ainsi différentes études explorant la dépendance au pH et à la concentration de PBS. Ces éléments laissent donc à penser qu'il est dur de prédire les k_{ex}^{Glc} in vivo à partir d'études sur fantômes.

3 . MESURES 2DG-CEST CHEZ LE RONGEUR

Afin de pouvoir quantifier les données glucoCEST chez le rongeur, il faut pouvoir développer un modèle adapté à ce qu'il se passe in vivo, et notamment avoir une idée des taux d'échange. Cependant, tout comme pour le cas du glutamate, il est assez incertain d'étendre les mesures de taux d'échange in vitro à la situation in vivo. Nous avons donc plutôt décidé de voir s'il était possible de développer directement un modèle in vivo, en comptant sur le fait que les taux d'échange plus faibles du glucose pourraient peut être permettre d'avoir des pics mieux définis sur le Z-spectrum, et ainsi être plus facilement caractérisables.

Nous avons donc reproduits des expériences glucoCEST, avec le protocole précédemment établi par [Mathieu-Daudé, 2022](#), mais en améliorant l'échantillonnage spectral des données CEST, afin de pouvoir les modéliser. Les expériences ont été menées chez la souris et chez le rat.

3.1 . Protocole

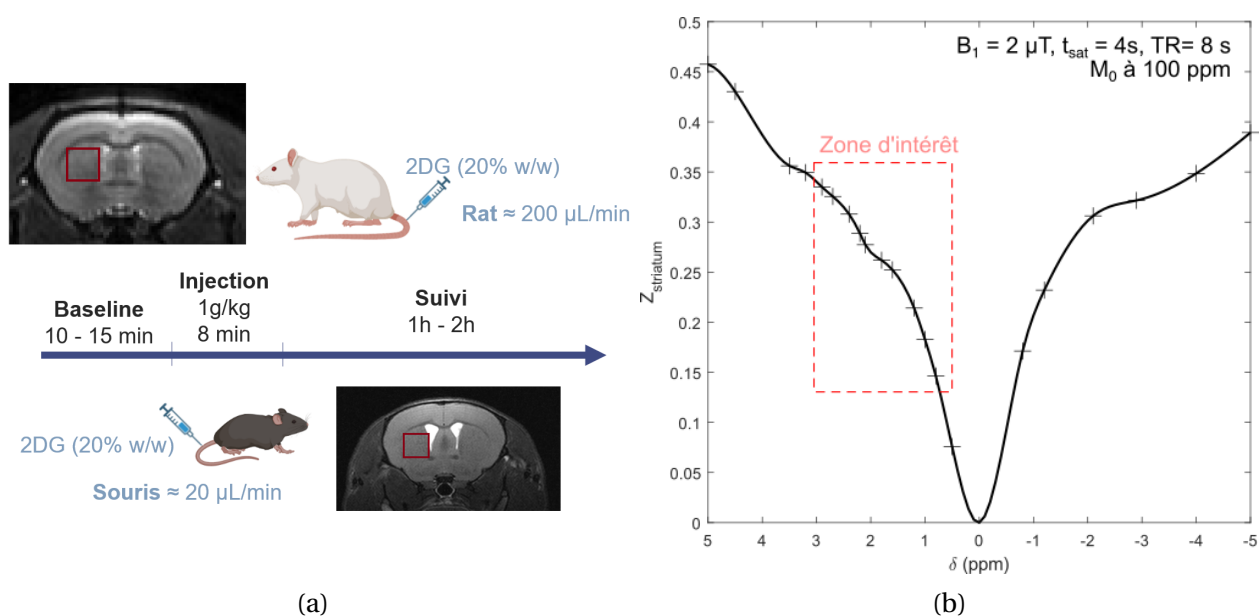


FIGURE 115 – (a) Protocole des expériences glucoCEST et (b) échantillonnage du Z-spectrum choisi ici.

Les animaux ont été scannés en configuration cryo pour les souris et en configuration chaude pour les rats. Les acquisitions CEST ont été réalisées avec la séquence LASER-CEST, dans un voxel placé dans le striatum ($3,2 \times 2 \times 2 \text{ mm}^3$ pour la souris, $2,5 \times 2,5 \times 2,5 \text{ mm}^3$ pour le rat), avec le paradigme de saturation de [Mathieu-Daudé, 2022](#), à savoir $t_{\text{sat}} = 4\text{s}$ et $B_1 = 2 \mu\text{T}$. Nous avons utilisé un TR de 8 s pour pouvoir laisser un temps de récupération T_{rec} de 4 s entre deux mesures CEST. Les Z-spectra ont été échantillonnés avec 21 offsets, après un dummy scan, normalisé par un M_0 acquis à -100 ppm, en incluant beaucoup d'offsets proches des fréquences de résonance attendues du 2DG, comme montré en figure 115b. Une acquisition de Z-spectrum prend ainsi environ 3 minutes.

Les animaux ont été anesthésiés à l'isoflurane (1-1,5%), et un cathéter a été posé sur une veine caudale afin de réaliser une injection intraveineuse de 2DG. En effet, [Mathieu-Daudé, 2022](#) avait observé que le signal glucoCEST était plus intense en injectant du 2DG plutôt que du D-glucose, comme cela avait pu être rapporté également par [Jin, Mehrens, Hendrich et al., 2014](#), et

avait réalisé la plupart de ses mesures avec du 2DG. Nous avons donc décidé de garder le même protocole. Après avoir acquis une « baseline » CEST sur 10 min, une solution de 2DG concentré à 20% en masse a donc été injectée aux animaux sur 8 min pour atteindre en tout une dose de 1g/kg. Les acquisitions CEST ont ensuite continué entre 1 à 2h après l'injection, en fonction de la condition de l'animal.

3.2 . Résultats chez la souris

Les expériences glucoCEST ont d'abord été menées chez la souris, mais n'ont pas été concluantes. Comme on peut le voir en figure 116a, le signal CEST aux fréquences de résonance d'intérêt n'a pas montré d'évolution particulièrement notable suite à l'injection de 2DG, que ce soit en moyenne ou individuellement chez chaque souris. De plus, nous n'avons pas constaté de changements particuliers dans l'allure du Z-spectrum au cours du temps, comme on peut le voir en figure 116b. Pourtant, les animaux injectés ont bien présentés des baisses drastiques de vitesse de respiration après le début de l'injection, signe physiologique attestant que les perfusions de 2DG soient bien passées. Nous n'expliquons donc pas avec certitude pourquoi ces expériences chez la souris n'ont pas permis d'observer une variation de signal CEST, alors que chez le rat l'effet glucoCEST est clairement visible (voir figure 111a). Une hypothèse est que le 2DG serait capté en majorité par les autres organes de la souris plutôt que d'arriver au cerveau, et les résultats ici sont peut être ainsi preuve d'une différence de métabolisme entre la souris et le rat.

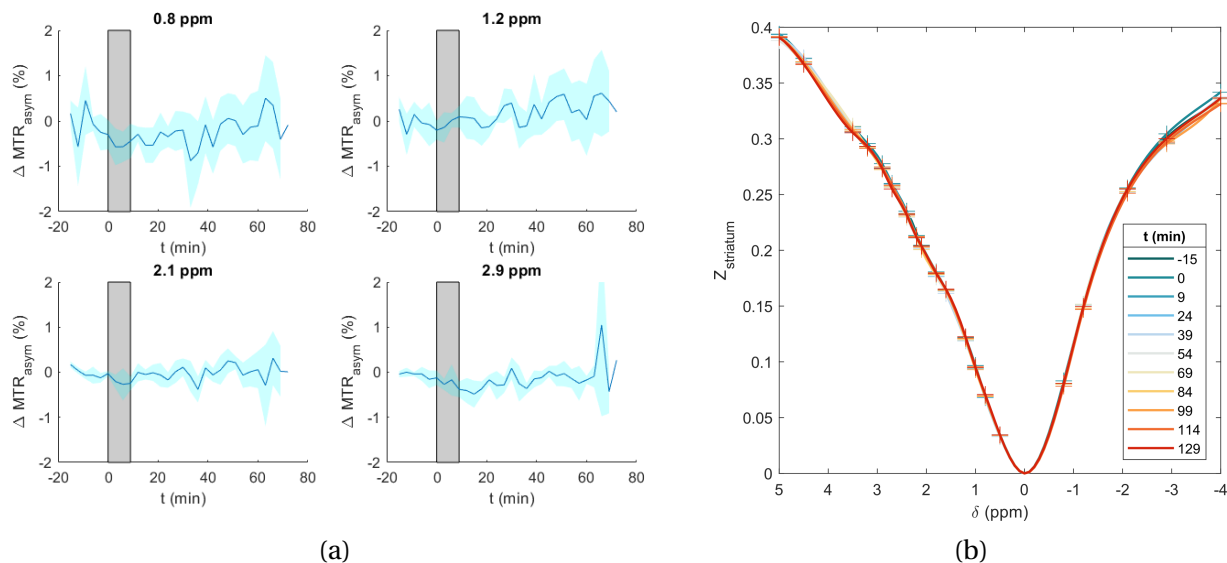


FIGURE 116 – Résultats glucoCEST chez la souris. (a) Évolution moyenne (N=4) de la variation de MTR_{asym} aux fréquences de résonance d'intérêt du 2DG. La barre en gris représente la période d'injection de 2DG. (b) Exemple de quelques Z-spectra acquis sur une souris au cours du temps de l'expérience glucoCEST.

3.3 . Résultats chez le rat

3.3.1 . Premières observations

Nous avons donc plutôt essayé de mener les expériences glucoCEST chez le rat, puisque [Mathieu-Daudé, 2022](#) avait déjà montré une réponse glucoCEST chez cette espèce. Nous n'avons pas eu le temps de faire plus que N=3 expériences, sur des rats âgés de 16 mois, mais les résultats sont néanmoins déjà intéressants.

En figure 117, on peut voir que l'on obtient bien une augmentation du MTR_{asym} aux fréquences de résonance de 2,1 et 2,9 ppm. Les autres fréquences de résonance ne semblent pas donner de réponse CEST, ce qui est notamment assez surprenant pour la résonance vers 1,2 ppm qui correspond à un groupe de trois protons, mais cette observation est cohérente avec les résultats précédemment obtenus par [Mathieu-Daudé, 2022](#) qui observait une réponse très faible à 1,2 ppm. Dans nos mesures, l'amplitude de variation du signal semble plus faible si l'on compare à la figure 111a, mais cependant l'allure de la dynamique paraît similaire : en effet, le « plateau » de signal CEST maximum atteint semble durer environ 45 min, ce qui est du même ordre de grandeur que ce qui avait pu être rapporté par [Mathieu-Daudé, 2022](#) dans le striatum du rat.

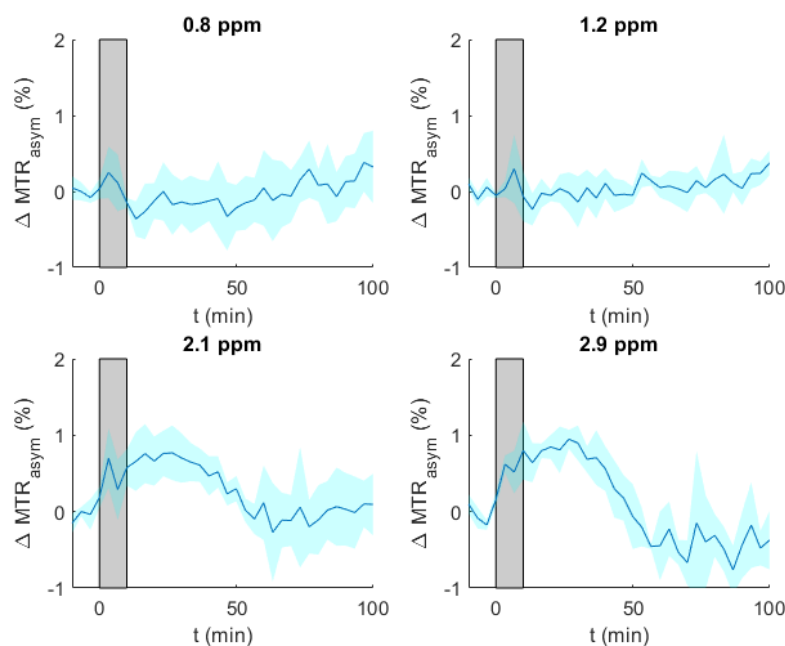


FIGURE 117 – Évolution moyenne (N=3) de la variation de MTR_{asym} aux fréquences de résonance d'intérêt du 2DG. La barre en gris représente la période d'injection de 2DG ; la zone en bleu clair la déviation standard du signal entre animaux.

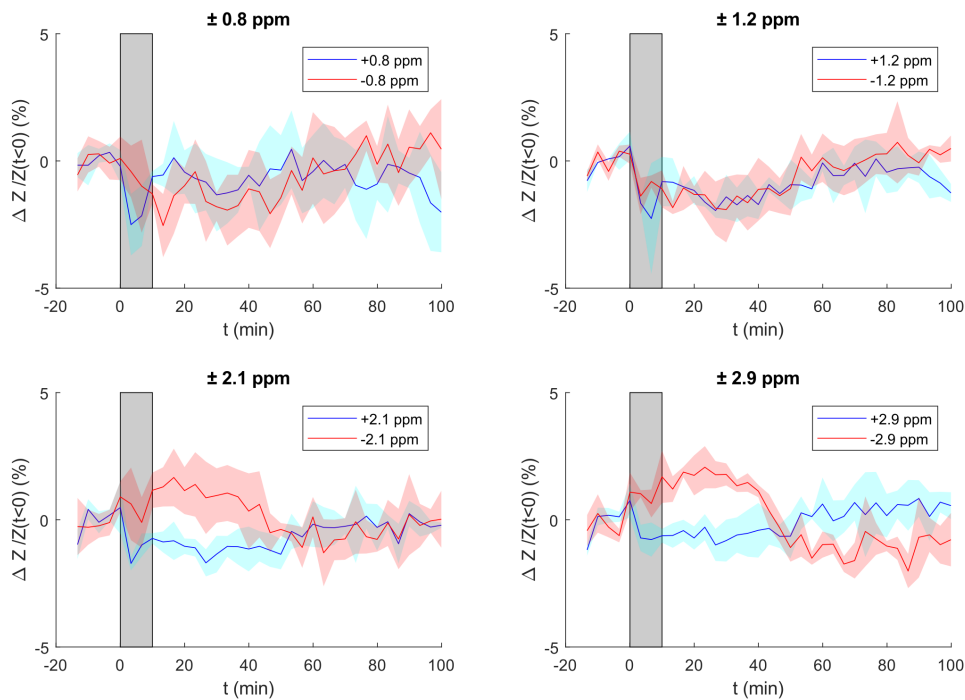


FIGURE 118 – Évolution moyenne (N=3) de la variation de $Z=M_z/M_0$ aux fréquences de résonance d'intérêt du 2DG (en bleu) et aux fréquences symétriques en amont de la résonance de l'eau (en rouge). La barre en gris représente la période d'injection de 2DG.

3.3.2 . Analyse approfondie et mise en évidence d'un effet en amont de la résonance de l'eau

Ces premières observations tendent à montrer que nous avons pu obtenir un effet glucoCEST chez le rat suite à l'injection de 2DG. Cependant, une étude plus poussée en décomposant le signal vient nuancer notre interprétation. En effet, nous avons en première intention calculé une variation de MTR_{asym} , comme ce qui avait été proposé par [Mathieu-Daudé, 2022](#). Or, le MTR_{asym} est calculé en incluant une composante de signal prise en amont de la résonance de l'eau (dans les fréquences négatives) :

$$MTR_{\text{asym}}(2.9 \text{ ppm}) = \frac{M_z(-2.9 \text{ ppm}) - M_z(+2.9 \text{ ppm})}{M_0} \quad (\text{IX.1})$$

Lorsqu'on décompose le signal en fonction de ces deux composantes (voir figure 118), on s'aperçoit alors que ce qui semble vraiment varier n'est pas le signal au niveau des fréquences de résonance du 2DG, mais plutôt le signal dans les fréquences négatives du Z-spectrum, correspondant plutôt à des zones de résonance d'effets NOE. On aurait ainsi une **diminution de l'effet NOE entre -2 et -3 ppm lors de l'injection de 2DG**, qui se traduit par une augmentation de $M_z(-2,1 \text{ ppm})$ et de $M_z(-2,9 \text{ ppm})$, et qui induirait donc en conséquence une variation de MTR_{asym} . Le signal d'intérêt à $M_z(+2,1 \text{ ppm})$ et $M_z(+2,9 \text{ ppm})$ lui, resterait plutôt stable. On peut également constater cet effet en observant l'allure des Z-spectra au cours du temps (figure 119) : il semble que le signal dans les fréquences positives reste plutôt stable, tandis qu'il semble plus variable dans les fréquences négatives. Cette observation est toutefois à nuancer en considérant le fait qu'il y a moins de points d'échantillonnage dans les fréquences négatives (puisque ce n'était initialement

pas le phénomène que l'on comptait étudier).

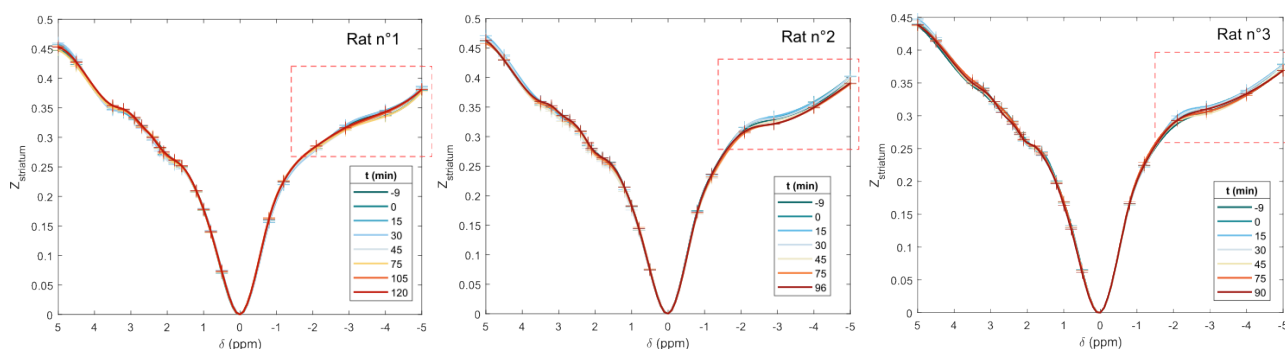


FIGURE 119 – Quelques Z-spectra au cours du temps chez les 3 rats scannés lors d'expériences glucoCEST. Il semble bien que le signal qui semble varier le plus se situe dans les fréquences négatives.

L'origine de cette diminution de NOE est assez incertaine. Il semblerait qu'il s'agisse d'une plutôt diminution du groupe NOE vers 3,5 ppm que celui vers 1,6 ppm; groupe que l'on attribue souvent à des molécules avec de longues chaînes aliphatiques. On peut songer à un changement dans la valeur des couplages dipolaires de ce groupe, qui pourrait venir de variations physiologiques induites par l'injection (osmolarité, viscosité, ...). On peut aussi songer à des changements métaboliques dans les conformations et réquisitions d'enzymes, comme par exemple l'hexokinase, qui sont des grosses molécules dotées de longues chaînes carbonées et pouvant donc contribuer à un effet NOE.

De manière intéressante, on pourra noter dans la figure 118 qu'on découvre en décomposant le signal **une légère diminution du signal à 1,2 ppm suite à l'injection, qui pourrait alors être effectivement un effet CEST dû au 2DG**. Bien que l'effet reste léger, cela serait cohérent avec le fait que cette résonance correspond à 3 protons du 2DG, et dont on peut donc attendre une plus grande variation de signal que pour les autres résonances.

3.3.3 . Tentative de modélisation et de quantification

Bien que les résultats précédents ne soient pas spectaculaires, nous avons tenté de les modéliser afin d'essayer de quantifier les éventuelles variations de 2DG ou de NOE. Pour modéliser un Z-spectrum acquis à bas B_1 , nous avons inclus dans le modèle des compartiments de MT, créatine ou affiliés (Cr), phosphocréatine (PCr), des amides (APT), du glutamate (Glu), deux compartiments NOE à -3,5 et -1,6 ppm et du 2DG. Le détail du modèle utilisé est donné en annexe dans la table 24a.

Dans un premier temps, nous avons fitté les données CEST acquises au repos, avant l'injection de 2DG, en laissant de nombreux paramètres libres (voir figure 120). Cela nous a permis d'établir une ligne de base par animal de paramétrisation pour les différentes variables évaluées, afin d'ensuite pouvoir les fixer lors de l'ajustement du modèle aux données CEST dynamiques acquises lors de et après l'injection de 2DG. Initialement, sans fixer les taux d'échange du 2DG, les concentrations [2DG] fittées étaient aberrantes (> 40 mM), comme on pouvait s'y attendre dans une certaine mesure, au vu de l'étude préliminaire sur fantômes. Nous avons donc plutôt fixé les taux d'échange, par défaut aux valeurs évaluées précédemment in vitro (en table 15). Les résultats de fit de [2DG] sont donc à prendre avec précaution, au vu de ce choix relativement arbitraire de

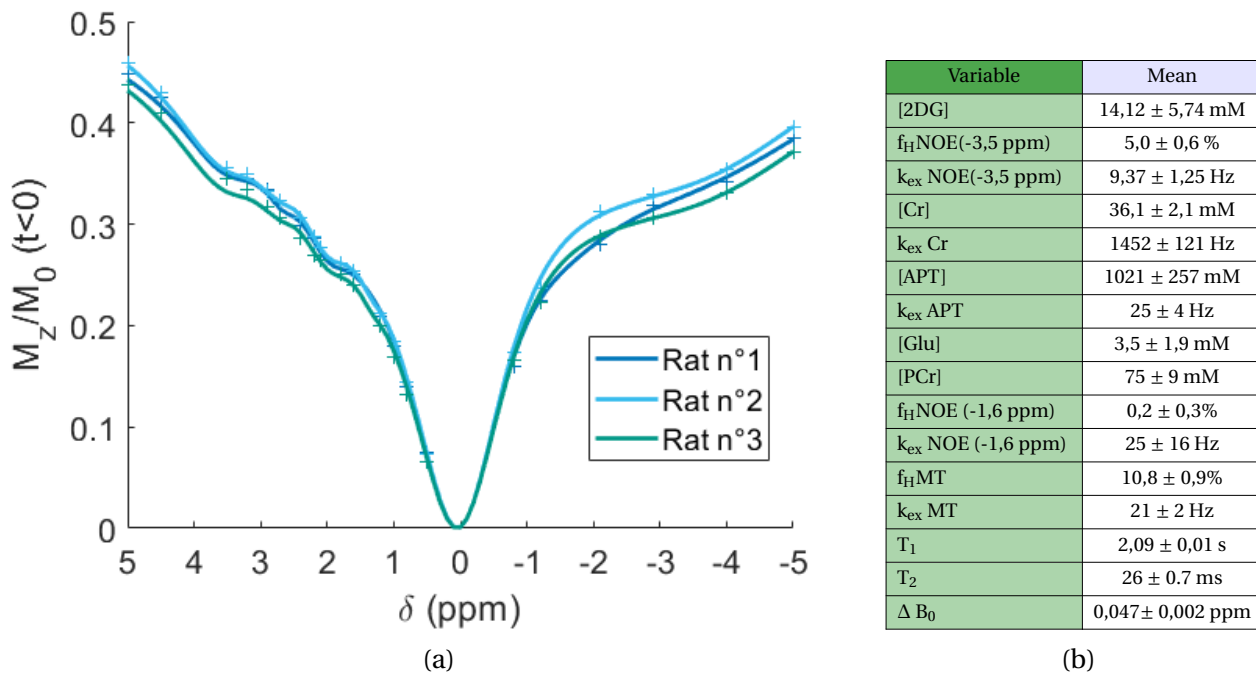


FIGURE 120 – Tentative de modélisation d’une expérience glucoCEST, ici sur les données acquises au repos. (a) Exemples de fits de Z-spectra acquis durant la baseline d’une expérience glucoCEST. (b) Paramètres moyens (N=3) fittés sur la baseline d’expériences glucoCEST sur rats.

k_{ex} . On remarque d’ailleurs en figure 120b que le modèle fit initialement une [2DG] de 14 mM en moyenne, ce qui est bien sûr surestimé. Néanmoins, il pourra être intéressant de regarder la variation relative de [2DG] estimée par le modèle sur les données dynamiques.

Une fois la ligne de base établie, on peut fixer la plupart des variables du modèle et ne laisser libres que [2DG] et [NOE_{3,5 ppm}]. En figure 121, on peut voir les variations moyennes (N=3 rats) sur les paramètres fittés par le modèle. On remarque que le modèle semble détecter une augmentation de presque 100% de [2DG], bien que les incertitudes continuent d’exister sur la pertinence de cette concentration fittée au vu des taux d’échange incertains. Le modèle estime également une diminution de fraction protonique NOE_{3,5 ppm} d’environ 0,4%, bien que ce résultat soit à prendre avec précaution vu le sous-échantillonnage des offsets dans cette zone du Z-spectrum.

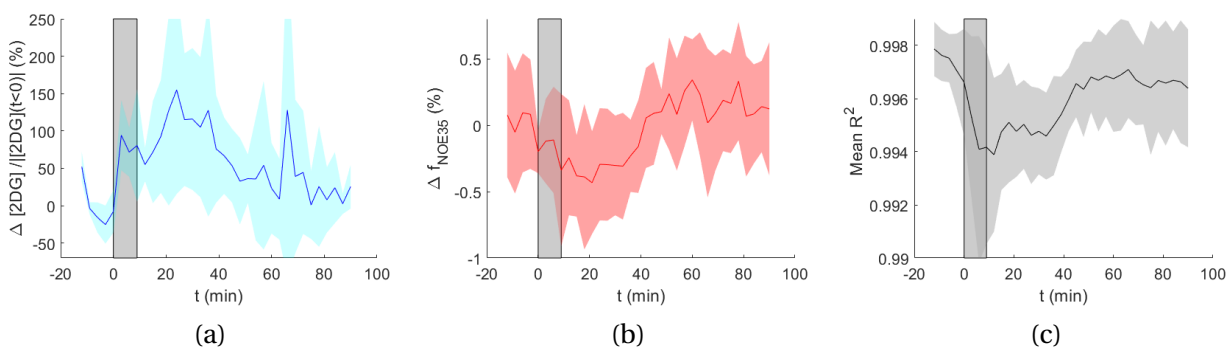


FIGURE 121 – Résultats de modélisation moyens sur les données dynamiques d’expériences glucoCEST, avec (a) la variation relative de [2DG] estimée par le modèle, (b) la variation de $f_H^{NOE_{3,5\text{ ppm}}}$ et (c) la qualité du fit avec le R^2 au cours du temps.

Toutefois, on constate en 121c que la qualité du fit est également variable au cours du temps. En effet, le R^2 du fit semble systématiquement chuter pour chaque animal lors de l'injection de 2DG. **On en conclut donc que l'on ne peut pas vraiment se fier aux résultats de modélisation**, puisque le changement dans la qualité de fit semble indiquer une modélisation inadaptée de ce qu'il se passe suite à l'injection de 2DG. Les variations estimées de [2DG] et [NOE_{3,5 ppm}] pourraient ainsi provenir d'ajustements inadaptés du modèle. Pour pouvoir conclure, il aurait fallu avoir une qualité de fit constante au cours du temps; ce que nous n'avons pas réussi à obtenir malgré différents essais de modèles.

3.4 . Conclusion et perspectives

Bien que nous ayons pu reproduire en partie les expériences glucoCEST de [Mathieu-Daudé, 2022](#), les résultats obtenus chez le rat sont mitigés : l'effet CEST dû spécifiquement au 2DG semble très faible, et d'ailleurs bien plus faible que ce qui a déjà pu être rapporté dans la littérature ([Jin, Mehrens, P. Wang et al., 2016](#)). Cela peut éventuellement être dû à un mauvais choix de paradigme de saturation : [Zaiss, Anemone et al., 2019](#) recommande par exemple un temps de saturation plutôt court pour l'imagerie du glucose. Cela pourrait peut être également expliquer pourquoi nous n'avons pas pu mesurer d'effet 2DG-CEST chez la souris.

Il est néanmoins intéressant d'avoir pu mettre en évidence une variation d'effet NOE lors d'expériences 2DG-CEST. En effet, il n'y a pas de consensus sur la meilleure métrique à utiliser entre le ΔMTR_{asym} ou la variation relative de signal $\Delta Z = \Delta S / S_0$ pour l'analyse glucoCEST ([M. Kim, Eleftheriou et al., 2022](#)). Ici, nous avons pu mettre en évidence que la métrique ΔMTR_{asym} semble être biaisée par des variations NOE, et l'analyse en ΔZ est certainement plus pertinente.

Enfin, la modélisation proposée ici pour l'expérience glucoCEST ne semble pas convaincante, au vu de la variation de qualité de fit au cours du temps, mais l'approche de modélisation pourrait néanmoins se révéler pertinente dans la quantification plus poussée de l'effet glucoCEST. L'acquisition de Z-spectra dans d'autres conditions de saturation et avec un échantillonnage différent pourrait peut être aider à définir un meilleur modèle, mais nous n'avons malheureusement pas eu le temps de le faire durant cette thèse.

4 . POINTS CLÉS DE CE CHAPITRE

- ➔ Pour pouvoir quantifier de manière fiable des petites concentrations de [Glc], l'étude préliminaire in vitro a montré qu'il faut avoir une bonne idée des taux d'échange du glucose. Or, ces taux d'échange peuvent être difficiles à prédire in vivo.
- ➔ Nous n'avons pas réussi à obtenir chez la souris une augmentation de signal glucoCEST suite à l'injection de 2DG. Cela peut être éventuellement expliqué par une différence de métabolisation du 2DG chez la souris comparée au rat.
- ➔ Chez le rat, nous avons mis en évidence une évolution du signal NOE lors de l'injection de 2DG, ce qui démontre qu'une analyse par MTR_{asym} des expériences glucoCEST peut être inadaptée.

X - Optimisation des acquisitions CEST quantitatives

Jusqu'ici, nous avons proposé des méthodes de quantification CEST à l'aide de fit de Z-spectra probablement largement suréchantillonnés, et réquisitionnant donc fatalement beaucoup de temps d'acquisition. La question de l'optimisation de l'échantillonnage des acquisitions CEST quantitatives s'impose donc naturellement. Il s'agit d'ailleurs d'une question qui anime beaucoup les recherches actuelles en CEST quantitatif. Bien que nous n'ayons pas eu le temps d'explorer au maximum cette question, nous présentons dans ce chapitre quelques pistes préliminaires explorées, et notamment une approche innovante de sélection d'attributs (ou *feature selection*), ainsi que quelques idées pour la suite.

1 . PREMIÈRES APPROCHES ET LIMITATIONS

Plusieurs questions se posent dans la problématique de l'optimisation des acquisitions CEST quantitatives : quels B_1 ou t_{sat} échantillonner ? Quels offsets choisir ? Nous parlerons notamment dans cette section d'optimiser le schéma d'acquisition CEST, c'est-à-dire de trouver pour chacun des n points d'acquisition la meilleure combinaison des paramètres $[B_1, t_{\text{sat}}, \delta_{\text{sat}}]$ pour quantifier une variable CEST de manière précise. Nous désignerons ceci sous le terme d'optimisation du « planning d'acquisition ».

Comme nous le verrons dans cette section, le principal facteur limitant à la mise en place d'algorithmes d'optimisation est le temps de calcul. Ainsi, comme souvent dans les problèmes d'optimisation, nous considérerons à chaque fois deux questions principales :

- **Quel est le temps de calcul de la « fonction objectif » ?**

En optimisation, ce qu'on appelle la fonction objectif est la mesure de la pertinence d'une combinaison donnée des paramètres à optimiser. Ici, **la fonction objectif est donc l'évaluation de la précision de la quantification** des variables CEST d'intérêt pour un planning d'acquisition donné, avec la méthode de quantification envisagée.

- **Comment procéder à la recherche du meilleur planning d'acquisition ?**

Pour trouver le meilleur planning d'acquisition, on cherchera dans un espace multi-dimensionnel des paramètres d'acquisition. Par exemple, on a un espace à 3 dimensions si l'on considère que l'on veut optimiser les paramètres $[B_1, t_{\text{sat}}, \delta_{\text{sat}}]$ pour un point d'acquisition. Si l'on suppose que l'on a n points dans le planning d'acquisition, alors le nombre de combinaisons possibles augmente en puissance de n . On peut donc se retrouver avec un espace des possibles plannings d'acquisition considérablement vaste, et toute la question est de savoir comment opérer la recherche d'optimisation dans cet espace pour converger rapidement vers un bon planning d'acquisition.

Nous présentons dans cette section quelques pistes préliminaires qui ont été envisagées pour l'optimisation du planning d'acquisition, mais qui ont finalement été laissées de côté au vu de leur limitation. Ici, nous avons surtout axé nos recherches sur l'optimisation de ce planning d'acquisition pour la quantification du glutamate ou du glucose.

1.1 . Recherche naïve coordonnée par coordonnées

Dans un premier temps, nous avons tenté ce que nous appelons la « recherche naïve », c'est-à-dire une optimisation basique (et fastidieuse) en scannant point par point l'espace des coordonnées des paramètres à optimiser. Ici, nous nous sommes par exemple posé la question de l'optimisation des B_1 à échantillonner. Considérons le problème suivant : nous pouvons acquérir n_{scan} Z-spectra avec une certaine résolution spectrale et un temps de saturation t_{sat} dans notre temps d'acquisition imparti. Dans ces conditions, quels sont les meilleurs B_1 à acquérir ? Quelle précision peut-on attendre sur l'estimation de $[\text{Glu}]$ en fonction du nombre n_{scan} ?

Pour répondre à ces questions, nous avons généré des sets de 500 simulations CEST à différents B_1 , bruitées à 0,5%, en faisant varier un certain nombre de variables dans des gammes physiologiques réalistes (voir annexe E, table 25 pour le détail). Nous avons ensuite essayé de fitter différentes combinaisons de n_{scan} B_1 pour évaluer la fiabilité de l'estimation de $[\text{Glu}]$. Un exemple de résultat est montré en figure 122.

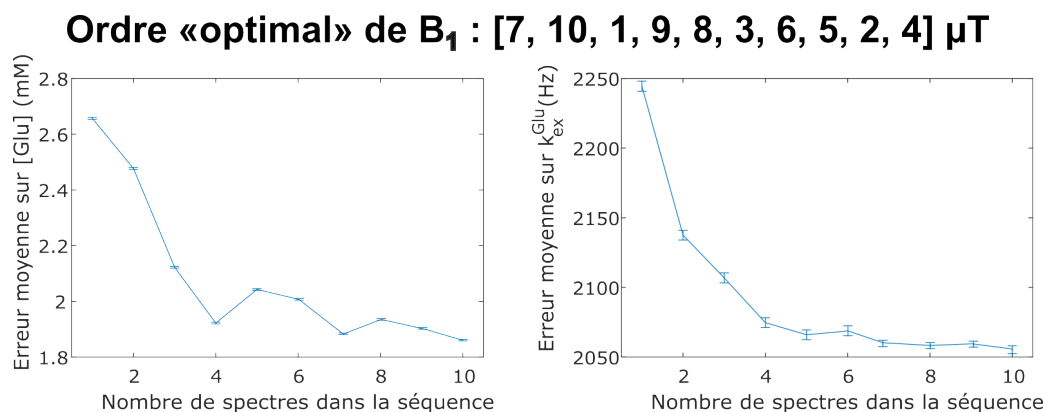


FIGURE 122 – Exemple d'optimisation « naïve » en procédant par recherche de coordonnées.

On peut ainsi évaluer l'évolution de l'erreur sur $[\text{Glu}]$ en fonction du n_{scan} , et déterminer un ordre de priorité pour les B_1 à inclure dans le planning d'acquisition. Cependant, cet ordre de B_1 peut encore varier en fonction du set de simulation généré, ce qui indique qu'il faut sûrement intensifier le nombre de simulations pour avoir un résultat plus robuste.

La limitation de cette approche de recherche coordonnée par coordonnée est son coût en temps de calcul, ce qui fait d'ailleurs qu'on l'utilise très peu souvent dans les problèmes d'optimisation. Par exemple, la production de la figure 122 résulte de plusieurs jours de calcul sur une machine standard. De plus, nous n'avons étudié qu'un nombre limité de 10 valeurs de B_1 , et n'avons même pas pris en compte la possibilité de faire varier les δ_{sat} échantillonnés ou le t_{sat} . Si l'on incluait ces nouvelles dimensions dans les paramètres à optimiser, le temps de calcul augmenterait encore exponentiellement. On sent donc bien ici la limite d'une telle approche.

On a en fait ici un double problème de coût numérique avec l'approche proposée ici :

1. **La recherche coordonnée par coordonnées est inefficace**, car elle scanne tous l'espace des variables à optimiser (B_1 , t_{sat} , δ_{sat} , ...) , avec de plus une résolution limitée.
2. La mesure de l'intérêt de tel ou tel B_1 pour la quantification du $[\text{Glu}]$ est trop longue à évaluer. Ici, le calcul de la fonction objectif, c'est-à-dire l'évaluation de l'erreur moyenne de quantification de l'algorithme pour un planning d'acquisition donné, repose sur le fit répété de plusieurs centaines de Z-spectra, ce qui est très long à calculer (de quelques heures

à quelques dizaines d'heures).

1.2 . Fingerprinting

Pour réduire le temps de calcul de la fonction objectif, on peut songer à utiliser le fingerprinting comme méthode de quantification alternative au fit de Z-spectra. En effet, en fingerprinting conventionnel, on utilise la méthode de *dictionary-matching* pour quantifier les données CEST, ce qui est en général plus rapide à calculer qu'un fit avec des simulations de Bloch-McConnell. De plus, on peut souvent procéder astucieusement pour juger de la qualité d'un planning d'acquisition, en analysant les dictionnaires générés plutôt qu'en moyennant une erreur sur des centaines de simulations.

En effet, pour un planning d'acquisition donné, on peut simuler un dictionnaire de trajectoires de signal représentatif de la variabilité que l'on peut attendre in vivo des paramètres d'intérêt (en faisant varier [Glu], T_1 , T_2 , etc...). On peut alors estimer, en autocorrélant le dictionnaire à lui-même, la capacité discriminatoire du planning d'acquisition : un bon planning permettra de générer un dictionnaire où les trajectoires sont très différentes les unes des autres, ce qui permettra donc une quantification exacte, tandis que dans un mauvais planning, toutes les trajectoires du dictionnaire seront très similaires. On calcule typiquement ce qu'on appelle une norme de Frobenius pour juger de la qualité discriminatoire d'un planning d'acquisition (Perlman, Herz et al., 2020).

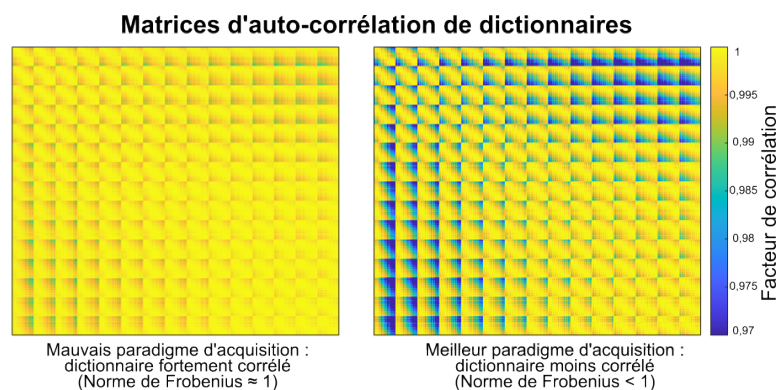


FIGURE 123 – Illustration du principe d'autocorrélation de dictionnaires de fingerprinting.

En utilisant cette technique, le calcul de la fonction objectif de notre problème d'optimisation devient relativement rapide : il nécessite seulement de générer un dictionnaire pour un planning d'acquisition donné et de calculer la norme de Frobenius de sa matrice d'autocorrélation. Selon la complexité du dictionnaire, cela peut prendre cependant quelques minutes à quelques heures. En particulier, pour la quantification du glutamate, on peut souhaiter générer des dictionnaires assez complexes, qui prennent en compte différentes concentrations de [Glu], mais aussi de [Cr], [APT], ou encore [Ins], qui peuvent typiquement contaminer le signal gluCEST in vivo. L'évaluation de la fonction objectif dans ces cas là reste alors relativement longue à cause de la taille des dictionnaires générés, et nécessite de plus une allocation de mémoire vive conséquente. Par exemple, lorsque nous avons envisagé d'utiliser le fingerprinting pour le gluCEST quantitatif, nous avons pu en arriver à générer des dictionnaires de taille atteignant plusieurs centaines de mégaoctets, voire gigaoctets, donc assez difficiles à manipuler.

De plus, cela ne résout pas le problème d'inefficacité de la recherche du meilleur planning d'acquisition. En effet, en fingerprinting conventionnel, on teste différents plannings d'acquisition générés aléatoirement, en espérant que le meilleur parmi le set testé sera un des meilleurs dans l'absolu (Perlman, Herz et al., 2020). Ce n'est donc pas une recherche très efficace, même si cela reste sûrement mieux que la recherche coordonnées par coordonnées. Par ailleurs, si l'on veut faire varier beaucoup de paramètres dans notre planning d'acquisition (par exemple trois, à savoir $[B_1, \delta_{\text{sat}}, \delta_{\text{sat}}]$), cela augmente selon la théorie probabiliste le nombre de plannings d'acquisition aléatoires à tester, afin d'espérer tomber sur un bon. On a donc encore ici un obstacle de coût numérique conséquent.

1.3 . Autres pistes

Une autre approche qui semble prometteuse pour l'optimisation du planning d'acquisition est d'utiliser des réseaux de neurones. En effet, la fonction objectif dans ce cas-là est relativement courte à évaluer : pour évaluer la pertinence d'un planning d'acquisition, on peut générer un set de simulations (beaucoup plus petit qu'un dictionnaire de fingerprinting), entraîner un réseau de neurones sur une portion du set d'entraînement et évaluer sa précision de quantification sur la portion du set restante. Cela prend alors en général entre quelques minutes à quelques heures, selon la complexité du set de simulations, ce qui finalement est à peu près le même temps que dans le cas du fingerprinting.

De plus, un aspect prometteur des réseaux de neurones est qu'il pourrait être facile de les combiner à une recherche efficace dans l'espace d'optimisation du planning d'acquisition. Par exemple, Perlman, B. Zhu et al., 2022 propose une méthode dénommée « autoCEST », où la quantification CEST est effectuée grâce à un réseau de neurones, et où la propagation de gradients lors de l'apprentissage du réseau de neurones est aussi conjointement utilisée pour optimiser le planning de saturation. Ainsi, dans cette méthode, la recherche du meilleur planning d'optimisation est effectuée grâce à une méthode de descente de gradients, ce qui en fait une recherche assez efficace.

Nous avons songé tout d'abord à utiliser cette méthode autoCEST pour l'appliquer à la quantification du glutamate ou du glucose, mais elle a un défaut : elle nécessite d'imposer dès le début le nombre de points d'acquisition n_p du planning. Or, pour la quantification du Glu/Glc, nous n'avons pas une idée précise de quel n_p est nécessaire pour arriver à une bonne quantification. Ainsi, nous avons préféré développer une autre méthode d'optimisation ne nécessitant pas d'a priori sur n_p : la sélection d'attributs, combinée à un réseau de neurones. Il s'agit d'une approche où l'on part d'un planning très fourni, et où les points d'acquisition les moins intéressants sont éliminés au fur et à mesure, pour arriver à la fin à un bon compromis entre précision de quantification et n_p minimum. Nous présentons cette méthode dans la prochaine section.

2 . UN PROTOCOLE D'OPTIMISATION PAR SÉLECTION D'ATTRIBUTS : APPLICATION AU GLUCEST/GLUCOCEST QUANTITATIF

Nous présentons dans cette section une méthode innovante de *feature selection* mise en place pour l'optimisation du planning d'acquisition CEST. Ici, nous avons développé cette méthode dans l'optique de quantifier simultanément des concentrations de glutamate et de glucose, et notamment pour tester la capacité d'une technique de machine learning à bien séparer les contributions de ces deux métabolites. Cependant, l'approche de sélection d'attributs peut être étendue à d'autres problèmes de quantification CEST. D'ailleurs, [M. Singh et Heo, 2023](#) proposent dans une communication à l'ISMRM une méthode de sélection d'attributs en partie similaire pour la quantification de l'effet MT.

2.1 . Principe et méthodes

2.1.1 . Quantification par réseau de neurones

Training a neural network for CEST quantification:

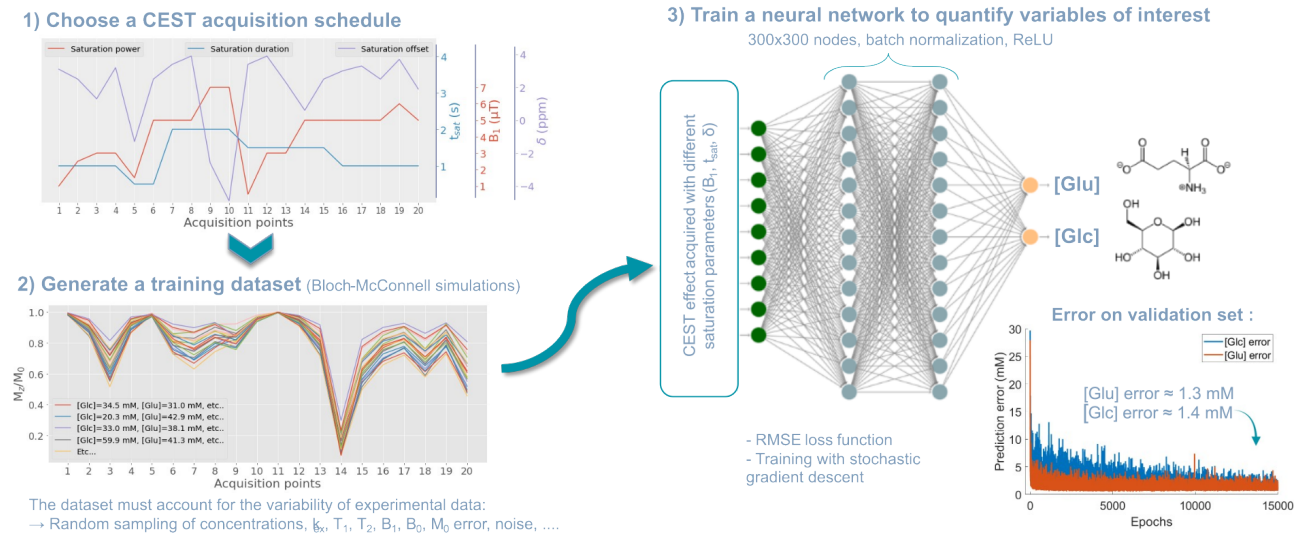


FIGURE 124 – Illustration de la quantification par réseau de neurone.

Tout d'abord, nous avons mis au point une méthode de quantification des données CEST en utilisant un réseau de neurones. Nous avons utilisé un réseau entièrement connecté à double couche, de taille 300x300 neurones, doté de normalisation de lot à chaque couche et de fonction d'activation ReLU. Pour son entraînement, nous avons choisi pour fonction de perte l'erreur quadratique (RMSE) faite sur les prédictions de [Glu] et [Glc]. Ces expériences ont été codées sous Python avec la librairie Pytorch.

Nous avons généré un set de 5000 simulations pseudo-analytiques de Bloch-McConnell en y diversifiant différentes variables physiologiques ([Glu], [Glc], les k_{ex} , etc... voir annexe E, table 26 pour le détail) et expérimentales (ΔB_0 , erreur de mesure sur M_0 , bruit gaussien de 1%). Nous avons en une fois généré l'effet CEST pour diverses valeurs de B_1 (3 : 0.5 : 7 μT), de t_{sat} (1 ou 4 s), et de δ_{sat} (-5 : 0.2 : 5 ppm). Le réseau de neurones a tout d'abord été entraîné sur 80% de ce set de simulations, et les 20% restants ont été utilisés comme set de validation pour vérifier que le réseau de neurones n'overfit pas. L'entraînement a été effectué avec une descente stochastique de gradients

et avec un taux d'apprentissage de $1e^{-3}$.

Dans un premier temps, le réseau de neurones a été entraîné sur 15 000 itérations (ce que l'on appelle des époques dans le jargon de machine learning). Sur les simulations de validation, le réseau de neurones arrive à la fin de son entraînement à atteindre une erreur de prédiction d'environ 1,3 mM pour le [Glu] et 1,4 mM pour le [Glc]. Pour les réentraînements suivants, suite aux étapes de sélection d'attributs, nous nous contenterons de 8000 époques d'entraînement pour raccourcir le temps de calcul.

Avant de passer à la sélection d'attributs, on peut vérifier de la qualité de la quantification du réseau de neurones en comparant ses performances à celles d'un algorithme classiques de fit de Z-spectra (voir table 16). On constate que le réseau de neurones offre une justesse de quantification tout à fait comparable à la méthode classique des moindres carrés, avec même une meilleure précision (comme en témoignent les plus petites déviations standards sur les erreurs). De plus, on note la force du réseau de neurones qui réside dans son analyse ultra-rapide des données CEST.

	Erreur moyenne commise sur [Glu]	Erreur moyenne commise sur [Glc]	Temps d'analyse nécessaire
Fit des moindres carrés	1,4 ± 2,1 mM	1,1 ± 1,5 mM	53 min
Réseau de neurones	1,4 ± 1,4 mM	1,3 ± 0,9 mM	4 ms

TABLE 16 – Comparaison des performances de quantification du réseau de neurones et de la méthode classique de fit par minimisation des moindres carrés sur le set de simulations de validation (1000 simulations). Les temps d'analyse correspondent à l'analyse pixel à pixel d'images de 120x64 pixels.

2.1.2 . Sélection d'attributs

Shorten the acquisition schedule by selecting only the most relevant acquisition points
Greedy recursive feature elimination scheme

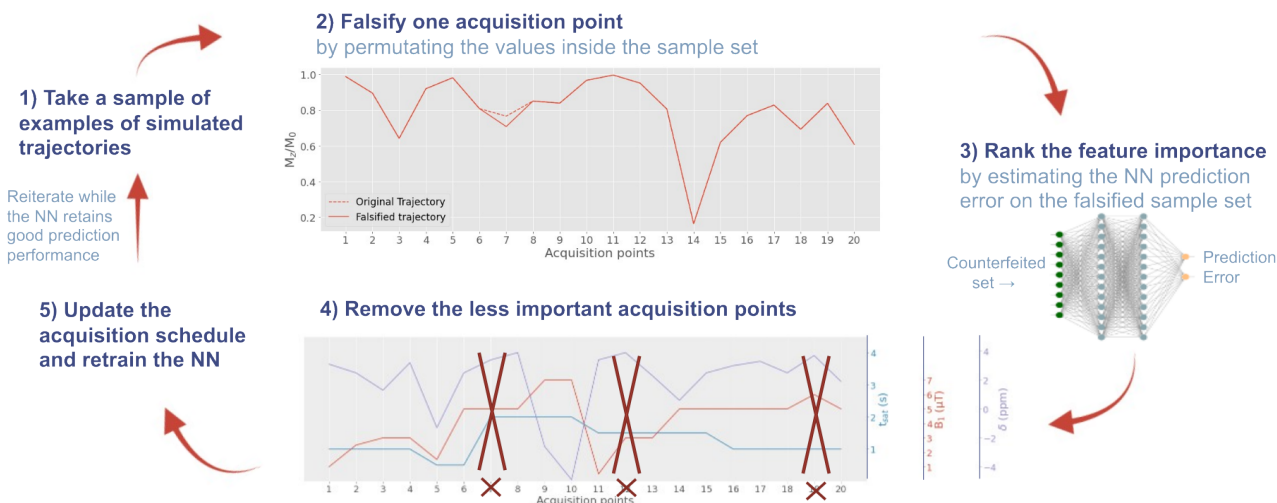


FIGURE 125 – Illustration du principe de sélection d'attributs mise en place aussi.

Le réseau de neurones a donc en premier lieu été entraîné sur des données avec un planning d'acquisition très long et complet : on suppose que sur ce planning, l'erreur de quantification sera minimale, puisqu'il contient beaucoup d'informations. Puis, nous avons mis en place la sélection d'attributs.

Nous avons choisi un schéma de sélection d'attributs par élimination récursive avare, ce qui nous semblait le plus lisible en terme d'interprétation des résultats, mais d'autres schémas de sélection d'attributs existent (Venkatesh et al., 2019). Ce schéma consiste en la réduction de la taille des données d'entrée (i.e. la longueur du planning d'acquisition) en retirant les points les moins importants, ici 10 par itération.

Pour déterminer l'importance d'un certain point d'acquisition du planning, nous avons procédé ainsi (voir aussi figure 125) :

1. Sur un sous-ensemble réduit de simulations, nous avons falsifié les valeurs des données associées à ce point d'acquisition en mélangeant aléatoirement les valeurs de toutes les simulations du set.
2. Pour chaque set falsifié, nous avons évalué l'erreur de prédiction commise par le réseau de neurones sur les concentrations de [Glu] et [Glc]. Si l'erreur de prédiction reste faible, cela veut dire que le point d'acquisition falsifié n'est pas essentiel à la quantification.
3. Nous avons moyenné l'erreur de prédiction sur 30 falsifications (i.e. 30 mélanges aléatoires des valeurs) pour en déterminer le classement d'importance des différents points d'acquisition.

Une fois les 10 points les moins importants retirés, le planning d'acquisition est mis à jour, et le réseau de neurones est ré-entraîné sur le set d'entraînement élargué. Ce procédé est assez long; cependant, cela nous permet de surveiller à chaque itération comment évolue l'erreur de prédiction du réseau de neurones sur le planning raccourci (voir figure 126a). On peut ainsi choisir un compromis entre longueur de planning d'acquisition et erreur de prédiction en connaissance de cause.

Pour l'optimisation de la quantification du [Glu] et du [Glc], on peut voir en figure 126b ce qu'a pu

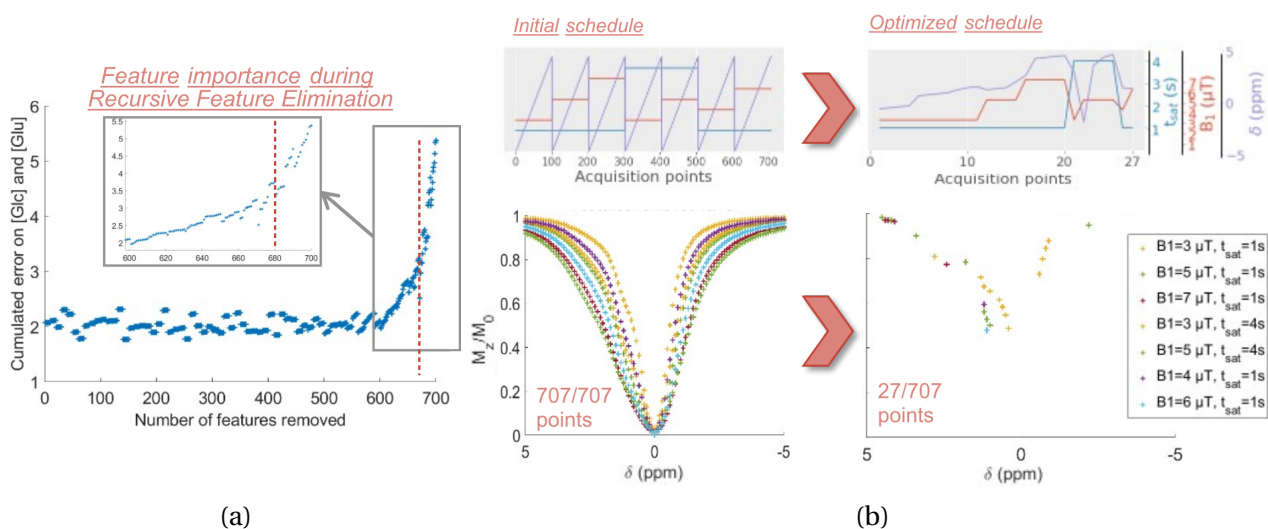


FIGURE 126 – Résultats de la sélection d'attributs pour la quantification du glutamate et du glucose. (a) Évolution de l'erreur de prédiction du réseau de neurones en fonction du nombre de points d'acquisition retirés. (b) Illustration du planning d'acquisition initial, avec en exemple les Z-spectra d'une simulation, et du planning final après sélection d'attributs.

donné la sélection d'attributs : on passe ici d'un planning de 707 points d'acquisition à seulement 27 points, soit une accélération d'un facteur 26.

2.2 . Performances in vitro

Nous avons ensuite évalué la performance de notre réseau de neurones (NN pour *Neural Network*) et de notre sélection d'attributs sur des données acquises sur fantômes.

2.2.1 . Pour la quantification uniquement du [Glc]

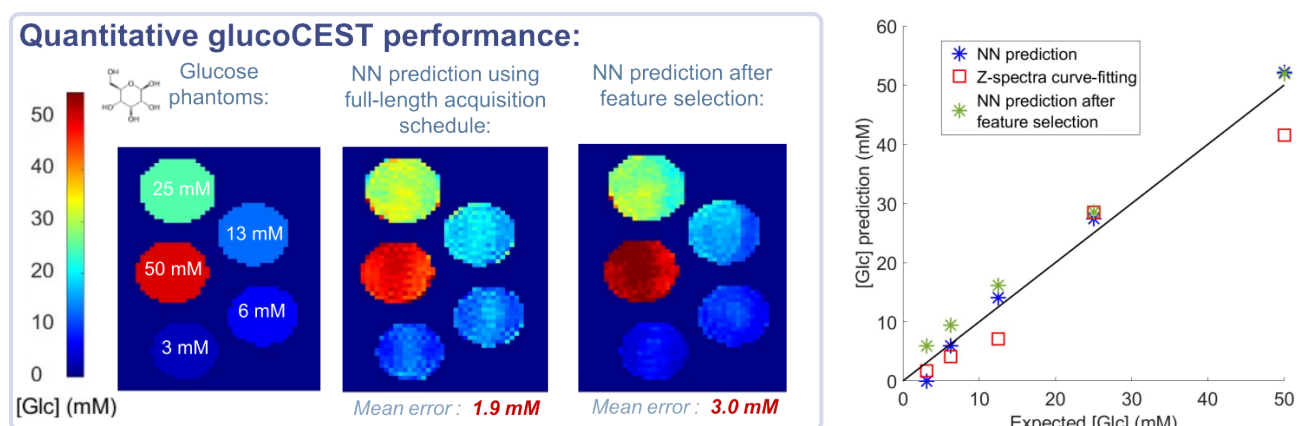


FIGURE 127 – Quantification du glucose avec le réseau de neurones, avant et après sélection d'attributs. À gauche, on peut voir ce que donne les prédictions quantitative pixel à pixel du réseau de neurones avant et après sélection d'attributs. À droite, on peut comparer les performances de prédiction sur des Z-spectra moyens dans les 5 fantômes d'intérêt du réseau de neurones, avant et après sélection d'attributs, ainsi que face à un fit classique de Z-spectra.

Dans un premier temps, si l'on se focalise uniquement sur la quantification d'un seul métabolite, par exemple le glucose, on peut reprendre les données in vitro acquises sur fantômes de D-Glc du chapitre IX . Avec un planning d'acquisition complet, on obtenait typiquement avec un algorithme de fit de Z-spectra un erreur moyenne de prédiction sur [Glc] de 4,2 mM, tandis que l'on obtient ici une erreur moyenne de 1,9 mM avec le NN. Il semble ainsi que le NN soit plus robuste pour la quantification CEST ici, en plus de proposer une temps d'analyse réduit.

Lorsqu'on examine les données CEST élaguées selon le planning d'acquisition optimisé (les 27 points de la figure 126b), le fit de Z-spectra n'est plus fiable, et donne des prédictions de [Glc] médiocres, avec une erreur moyenne >40 mM. En revanche, le réseau de neurones garde une performance de quantification acceptable (voir figure 127), avec une erreur moyenne de seulement 3 mM.

2.2.2 . Pour la quantification simultanée du [Glc] et du [Glu]

Nous avons ensuite essayé d'appliquer le réseau de neurones à des fantômes mélangés de glutamate et de glucose (voir figure 128). En effet, initialement, un des objectifs de ce projet était d'évaluer la capacité d'un réseau de neurones à pouvoir séparer de manière quantitative des effets CEST qui se confondraient, puisqu'il s'agit d'une des grandes problématiques de la quantification CEST in vivo, et tout particulièrement pour le gluCEST. De fait, lorsque nous avons essayé de fitter

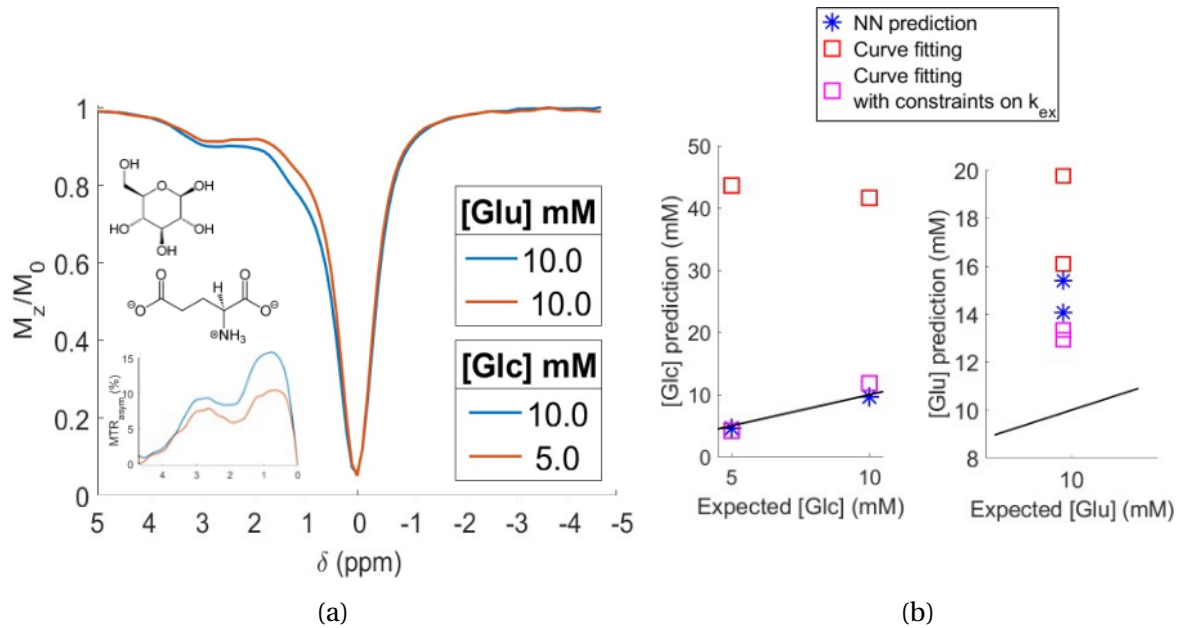


FIGURE 128 – (a) Z-spectra acquis à $B_1 = 5 \mu\text{T}$, $t_{\text{sat}} = 1 \text{ s}$ de fantômes mélangés de glutamate et de glucose. Ces fantômes ont été préparés dans du sérum physiologique, à pH 7, et scannés à température ambiante. (b) Prédictions quantitatives des concentrations de [Glc] et [Glu] pour les différentes méthodes envisagées.

les Z-spectra de ces fantômes mélangés, les prédictions n'étaient pas très bonnes, en particulier pour le glutamate. En contraignant les taux d'échange à des valeurs connues, comme nous avons pu le faire au chapitre IX, alors les prédictions de [Glc] s'améliorent (voir figure 128b). Toutefois, les prédictions de [Glu] restent médiocres.

De manière intéressante, le réseau de neurones arrive à prédire d'assez bonnes estimations de [Glc], alors qu'il n'a aucun a priori sur les taux d'échange, puisqu'il a été entraîné sur des simulations à k_{ex} variables. Néanmoins, les estimations de [Glu] sont peu convaincantes, même si elles restent meilleures qu'un algorithme de fit sans a priori sur les taux d'échange.

	Erreur moyenne commise sur [Glu]	Erreur moyenne commise sur [Glc]
Fit des moindres carrés	$\approx 35 \text{ mM}$	7,9 mM
Fit des moindres carrés en contraignant les k_{ex}	1,3 mM	3,2 mM
Réseau de neurones	0,4 mM	4,8 mM

TABLE 17 – Prédictions de [Glc] et [Glu] des différentes méthodes de quantification envisagées ici.

En revanche, si l'on utilise le planning raccourci par sélection d'attributs, les prédictions deviennent médiocres, quelque soit la méthode de quantification utilisée, avec des erreurs sur [Glu] ou [Glc] de dizaines de mM. Il semble donc que pour la quantification simultanée de [Glu] et [Glc], la méthode d'optimisation proposée ici soit encore déficiente.

2.3 . Conclusions et perspectives

La quantification CEST par réseau de neurones semblent très prometteuse : outre son temps d'analyse ultra-rapide, permettant de traiter des données d'imagerie très rapidement, elle semble offrir une justesse de quantification similaire, voire plus robuste que la quantification conventionnelle par fit de Z-spectra. En revanche, même avec le réseau de neurones, la quantification simultanée du glucose et du glutamate paraît encore ardue, même s'il aurait sûrement fallu étendre l'étude à plus que deux fantômes. La problématique de discrimination des différentes contributions semble donc encore rester une grande problématique de la quantification CEST. Néanmoins, le principe de sélection d'attributs semblent bien marcher pour la quantification d'un seul métabolite. Il aurait été intéressant de comparer ses résultats à une méthode d'optimisation différente (fingerprinting, autoCEST,...), mais nous n'avons pas eu le temps ici. Le point faible de la sélection d'attributs mise en place dans ce travail reste le temps de calcul du classement d'importance des features à chaque itération de sélection. Pour limiter ce problème, on pourrait envisager d'autres méthodes de classement plus rapides, comme par exemple un calcul d'information mutuelle ou de score de Fisher (Jovic et al., 2015).

Plus généralement, l'approche de sélection d'attributs nous semble intéressante pour l'optimisation du planning CEST, notamment car elle offre une bonne interprétation (elle ne fait pas trop « effet boîte noire »). Elle propose également une solution alternative à l'approche autoCEST, sans a priori le nombre de points optimal du planning d'acquisition. À noter tout de même que la méthode de sélection mise en place ici, à savoir l'élimination récursive d'attributs, possède ses défauts : par exemple, elle est connue pour sélectionner des points de données « redondants » en terme d'informations, et pour son effet de *nesting* : les points éliminés ne sont plus jamais reconsidérés pour la suite de l'optimisation, ce qui parfois empêche de converger sur une solution meilleure. Il existe d'autres méthodes de sélection d'attributs qui pourraient être plus pertinentes, mais qui coûteraient sans doute plus en temps de calcul (Venkatesh et al., 2019).

Par ailleurs, le domaine du machine learning étant riche en techniques, on peut songer à utiliser encore d'autres méthodes. Par exemple, on pourrait utiliser les réseaux de neurones récurrents : en prenant 2 réseaux imbriqués (un pour l'optimisation du planning, un pour la quantification), un peu sur la même idée que l'autoCEST, on pourrait chercher de manière efficace, par descente de gradients, l'espace des possibles plannings d'acquisition. L'avantage des réseaux de neurones récurrents est qu'on pourrait implémenter des couches à taille variable, permettant de laisser un degré de liberté dans l'optimisation du nombre de points d'acquisition N_p . On n'aurait donc pas besoin d'imposer un a priori sur N_p .

Les modèles de mélange gaussien pourraient également présenter un intérêt pour l'optimisation « en temps réel » des acquisitions CEST, mais la mise en oeuvre reste peut être encore utopique à cause des coûts de calcul impliqués.

3 . POINTS CLÉS DE CE CHAPITRE

- ➔ Concernant l'optimisation du planning d'acquisition CEST, le facteur le plus limitant est le temps de calcul des méthodes employées.
- ➔ Les réseaux de neurones semblent très prometteur pour la quantification CEST, offrant une analyse ultra-rapide et une robustesse de quantification supérieure au fit conventionnel de Z-spectra.
- ➔ La sélection d'attributs, même si elle gagnerait à être approfondie, semble une bonne piste pour l'optimisation du planning CEST, et a le grand avantage de ne pas faire « effet boîte noire ».

Conclusion générale

Alors que jusqu'ici le développement du CEST quantitatif dans la littérature s'est largement tourné vers l'application à l'imagerie APT ou à l'imagerie de la créatine, le sujet de cette thèse est totalement pionnier, en s'emparant pour la première fois du sujet de la quantification du glutamate par imagerie CEST.

Une des premières conclusions de ce travail est malheureusement que le problème de la quantification du glutamate est bien plus complexe qu'il n'y paraît. D'une part, nous avons pu mettre en évidence une difficulté de problème mal posé pour la quantification du glutamate : la dynamique d'échange rapide du glutamate, à l'origine de l'allure « étalée » de son effet CEST, rend l'estimation de sa concentration très incertaine si l'on n'impose pas un fort a priori sur son taux d'échange. D'autre part, nous avons souligné la problématique *in vivo* de la non-spécificité de l'effet gluCEST : la séparation de la contribution du glutamate des autres effets CEST contaminants rajoute une difficulté conséquente à sa quantification. De plus, les preuves apportées dans le chapitre VIII viennent renforcer des soupçons supportant l'idée que l'on ne connaîtrait pas encore très bien toutes les contributions moléculaires à l'effet CEST *in vivo* à haut B_1 .

Néanmoins, nous avons pu proposer au chapitre VII un modèle pour cartographier de manière quantitative le glutamate *in vivo*, et nous avons pu l'appliquer avec succès chez la souris. On peut cependant se demander ce qui est vraiment quantifié par ce modèle : en effet, les biais systématiques de quantification du modèle comparé à, par exemple, la spectroscopie interrogent. Mais il s'agit finalement d'une question très commune aux problèmes de modélisation : tous les résultats quantitatifs sont fortement dépendants des hypothèses de départ. Ainsi, ce travail n'est peut être qu'une première brique posée pour la construction de l'imagerie gluCEST quantitative, et de futurs travaux pourront certainement améliorer les hypothèses du modèle, notamment la description des différents compartiments d'intérêt. L'estimation de la concentration du glutamate pourrait sans aucun doute être perfectionnée si l'on arrivait à mieux décrire les compartiments participant à l'effet CEST à 5 μ T, et notamment en améliorant les connaissances sur la contribution possible d'autres espèces participant au signal CEST.

En ce sens, il était important d'élucider dans ce travail la question de la potentielle contribution du glutamate vésiculaire au signal gluCEST. En effet, cette hypothèse controversée anime la communauté CEST, qui s'interroge beaucoup sur les origines moléculaires exactes du signal gluCEST. Ici, nous avons pu apporter des éléments de réponse qui tendent à montrer que le glutamate vésiculaire n'aurait pas une contribution si significative au signal gluCEST. La conclusion, bien qu'elle puisse paraître décevante, reste essentielle pour ensuite pouvoir se poser la question suivante : quelle est alors l'origine de cette fameuse « contribution inconnue » s'il ne s'agit pas du glutamate vésiculaire? S'agit-il de compartiments de protéines ou de créatine à échange rapide, ou peut être s'agit-il simplement d'un amoncellement de petites contributions métaboliques qui, combinées, créent un effet CEST significatif? Bien qu'il n'y ait peut être pas de manière évidente pour répondre à ces questions, des modélisations de données CEST à travers différentes espèces ou chez des modèles pathologiques causant certaines déficiences métabolique pourraient éventuellement donner des pistes de réponses.

Bien que l'imagerie quantitative du glutamate soit très prometteuse, ici les méthodes proposées semblent encore loin de l'application clinique. En particulier, la forte sensibilité au bruit du modèle du chapitre VII et le long temps d'acquisition associé limitent fortement son application à l'imagerie CEST chez l'humain. Dans cette optique, les pistes présentées au chapitre X semblent tout particulièrement intéressantes : en effet, nous avons pu constater que l'utilisation de machine learning pouvait mener à des quantifications plus robustes, et donc potentiellement plus résilientes face au bruit des données. Par ailleurs, l'optimisation du planning d'acquisition, en le raccourcissant au maximum sans perdre la qualité de quantification, est un enjeu majeur pour la translation en clinique. Pour cela, différentes voies algorithmiques peuvent être envisagées, particulièrement via machine learning, et leur exploration pourrait sans doute faire l'objet d'une thèse à part entière.

ANNEXE

A - Annexe - théorie de l'effet CEST et simulations

1 . SIMULATIONS COMPLÉMENTAIRES DE L'INFLUENCE DE QUELQUES PARAMÈTRES SUR LE SIGNAL CEST

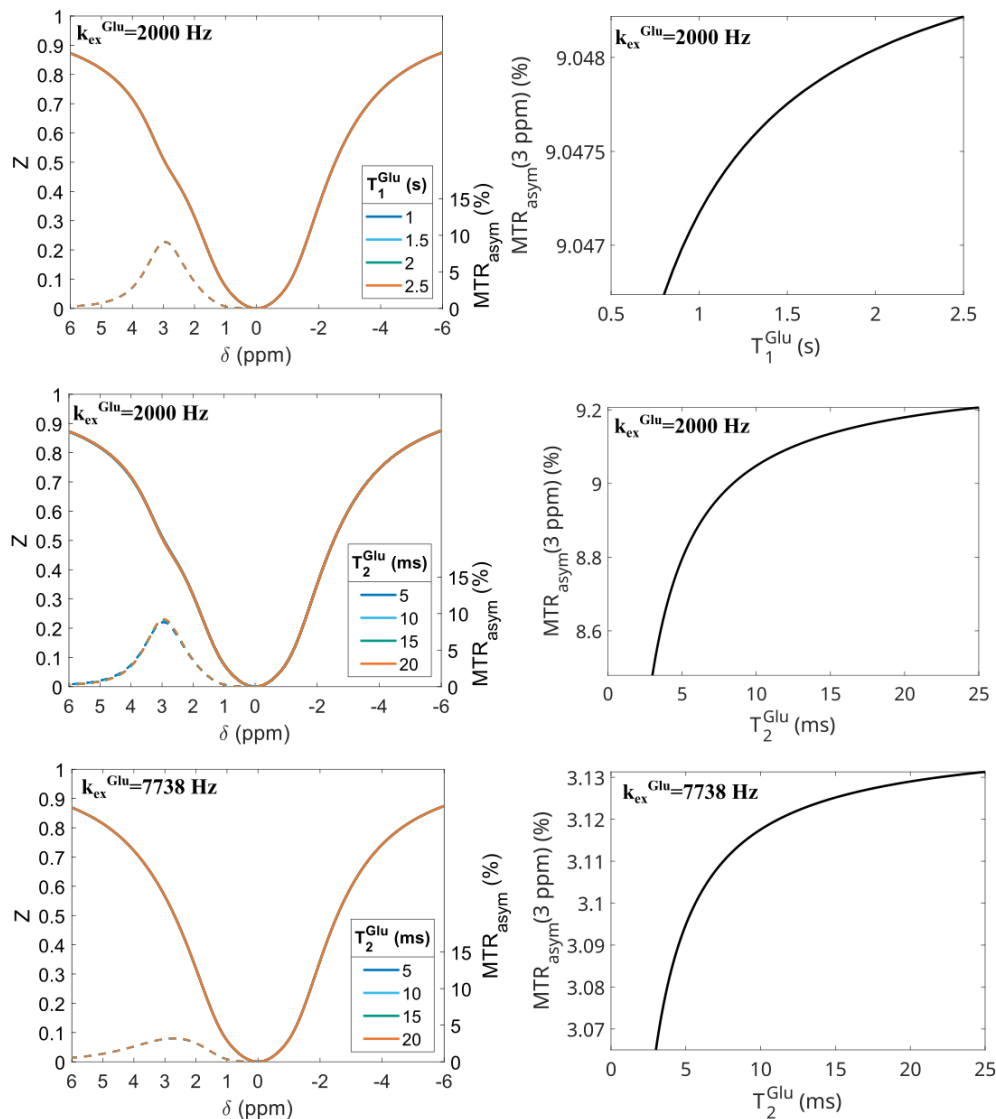


FIGURE 129 – Simulation de l'influence du T_2^{Glu} et du T_1^{Glu} du glutamate sur l'intensité de l'effet CEST du glutamate à 11,7T. À gauche, les Z-spectra simulés, et à droite, le MTR_{asym} évalué à 3 ppm. Pour un taux d'échange de 2000Hz (première ligne), des variations de T_2^{Glu} peuvent légèrement faire varier le signal MTR de quelques dixièmes de %. Pour un taux d'échange plus élevé (deuxième ligne), les variations de MTR dues au T_2^{Glu} sont infimes, de l'ordre du dix-millième au centième de %, et sont bien sûr indétectables dans nos conditions d'acquisition. Idem pour les variations de T_1^{Glu} (dernière ligne).

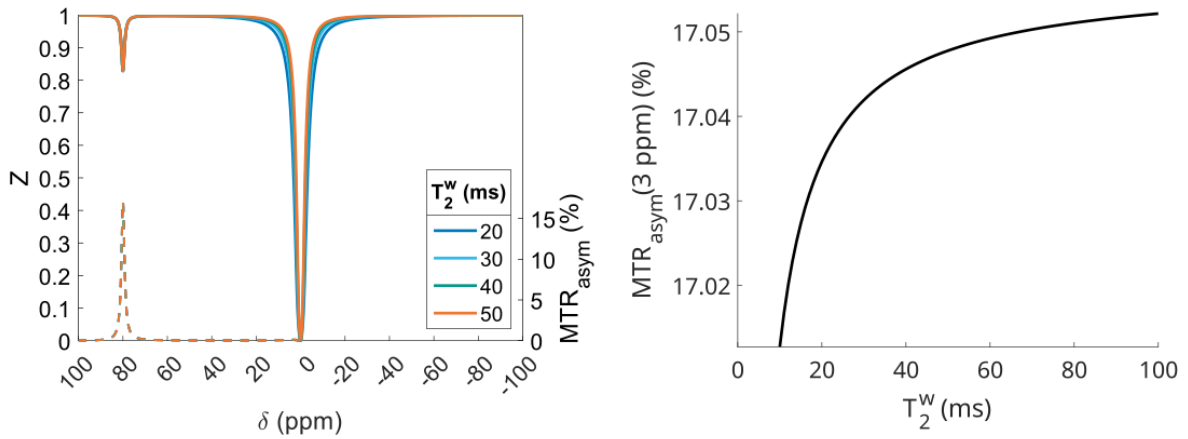


FIGURE 130 – Simulation de l'influence du T_2^w sur l'intensité de l'effet CEST d'une molécule de glutamate imaginaire, résonant à 80 ppm. À gauche, les Z-spectra simulés, et à droite, le MTR_{asym} évalué à 3 ppm. Le signal CEST de cette molécule virtuelle, insensible à l'effet de *spillover*, n'est pas affecté par les changements de T_2^w .

2. RÉSUMÉ DE QUELQUES ÉLÉMENTS DE THÉORIE DE L'EFFET CEST

Table 2. Summary of important parameters of Z-spectroscopy in the general case, in the large-shift limit (LS) and in the full-saturation limit (FS).

Continuous-wave (cw) CEST in a two-pool system with asymmetric populations	General	LS ($\delta\omega_b \gg \omega_1$) at label scan	FS $\delta\omega_b \gg \omega_1 \gg k_b + R_{2b}$ at label scan
R_{eff}	$R_{\text{eff}} = R_{1a} + (R_{2a} - R_{1a}) \frac{\omega_1^2}{\omega_1^2 + \Delta\omega^2}$	$R_{\text{eff}} = R_{1a}$	$R_{\text{eff}} = R_{1a}$
R_{ex}	$R_{\text{ex}}(\Delta\omega) = f_b k_b \frac{\delta\omega_b^2}{\omega_1^2 + \Delta\omega^2} \frac{\omega_1^2}{\Gamma^{2/4} + \Delta\omega_b^2} + f_b R_{2b} \frac{\omega_1^2}{\Gamma^{2/4} + \Delta\omega_b^2} + f_b k_b \sin^2 \theta \frac{R_{2b}(R_{2b} + k_b)}{\Gamma^{2/4} + \Delta\omega_b^2}$	$R_{\text{ex,LS}}^{\text{lab}} = f_b k_b \frac{\omega_1^2}{\omega_1^2 + k_b(k_b + R_{2b})}$	$R_{\text{ex,FS}}^{\text{lab}} = f_b \cdot k_b$
α	$\alpha = \frac{R_{\text{ex}}}{f_b k_b}$	$\alpha = \frac{\omega_1^2}{\omega_1^2 + k_b(k_b + R_{2b})}$	$\alpha = 1$
R_{ex} for $k_b \gg R_{2b}$	$R_{\text{ex}}(\Delta\omega) = f_b k_b \frac{\delta\omega_b^2}{\omega_1^2 + \Delta\omega^2} \frac{\omega_1^2}{\omega_1^2 + k_b^2 + \Delta\omega_b^2}$	$R_{\text{ex,LS}}^{\text{lab}} = f_b k_b \frac{\omega_1^2}{\omega_1^2 + k_b^2}$	$R_{\text{ex,FS}}^{\text{lab}} = f_b \cdot k_b$
Γ		$\Gamma = 2\sqrt{\frac{k_b + R_{2b}}{k_b} \omega_1^2 + (k_b + R_{2b})^2}$	$\Gamma = \infty$
$MTR^{\text{ss}} = 1 - Z^{\text{ss}}$	$1 - \frac{\cos^2 \theta R_{1a}}{R_{\text{eff}} + R_{\text{ex}}}$	$\frac{R_{\text{ex}}}{R_{1a} + R_{\text{ex}}}$	$\frac{k_a}{k_a + R_{1a}}$
$MTR_{\text{asym}}^{\text{ss}}$	$\frac{\cos^2 \theta R_{1a}}{R_{\text{eff}}} - \frac{\cos^2 \theta R_{1a}}{R_{\text{eff}} + R_{\text{ex}}}$	$\frac{R_{\text{ex}}}{R_{1a} + R_{\text{ex}}}$	$\frac{k_a}{k_a + R_{1a}}$
MTR_{Rex}	$\frac{R_{\text{ex}}}{\cos^2 \theta R_{1a}}$	$\frac{R_{\text{ex}}}{R_{1a}}$	$\frac{k_a}{R_{1a}}$
$MTR_{\text{asym}}(\Delta\omega, t)$	$MTR_{\text{asym}}^{\text{ss}}(\Delta\omega) + (P_{\text{zeff}} P_z Z_i - Z_{\text{ref}}^{\text{ss}}) e^{-R_{1\rho}(\Delta\omega_{\text{ref}})t_{\text{sat}}} - (P_{\text{zeff}} P_z Z_i - Z_{\text{lab}}^{\text{ss}}) e^{-R_{1\rho}(\Delta\omega_{\text{lab}})t_{\text{sat}}}$	$\frac{R_{\text{ex}}}{R_{1a} + R_{\text{ex}}} + (Z_i - 1) e^{-R_{1a}t_{\text{sat}}} - \left(Z_i - \frac{R_{1a}}{R_{1a} + R_{\text{ex}}} \right) e^{-(R_{1a} + R_{\text{ex}})t_{\text{sat}}}$	$\frac{k_a}{R_{1a} + R_a} + (Z_i - 1) e^{-R_{1a}t_{\text{sat}}} - \left(Z_i - \frac{R_{1a}}{R_{1a} + k_b} \right) e^{-(R_{1a} + k_b)t_{\text{sat}}}$

FIGURE 131 – Éléments de théorie et solutions des équations de Bloch-McConnell résumés sous différentes conditions d'approximation. Directement tiré de (Zaiss et Bachert, 2013b).

B - Annexes du chapitre VII

1 . CONCERNANT LA SPECTROSCOPIE ^1H : ÉTUDE DU SIGNAL DU GLUTAMATE À DIFFÉRENTS TEMPS D'ÉCHO

1.1 . Choix des TE pour la mesure du T_2 du glutamate in vivo

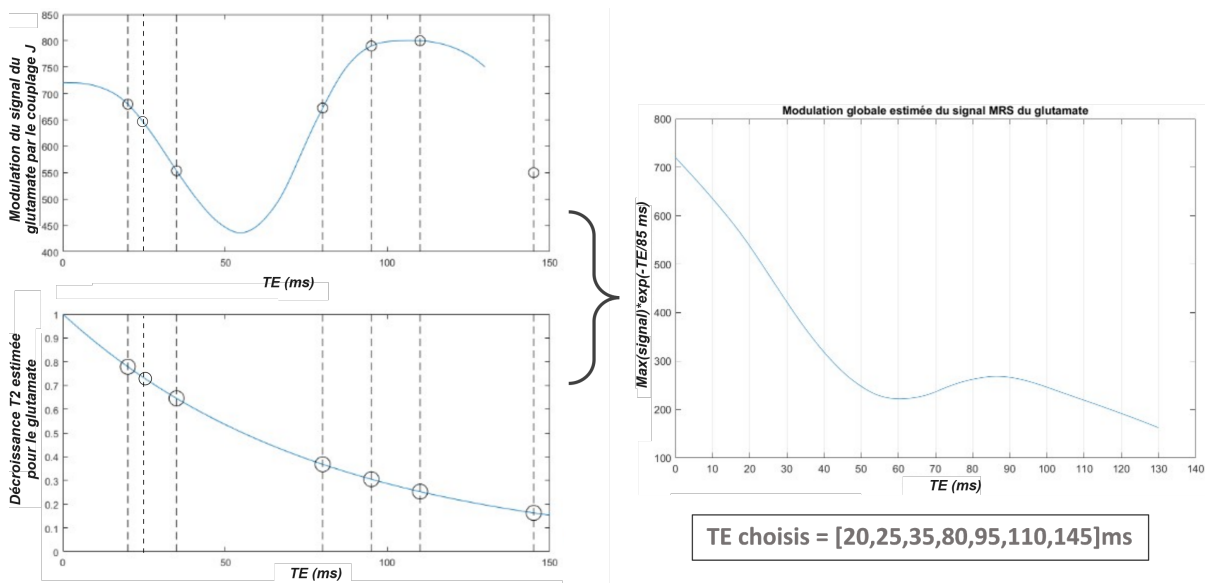


FIGURE 132 – Simulations pour le choix des TE pour la mesure du T_2 du glutamate in vivo. Le signal MRS de Glu est affecté à la fois par la modulation du couplage J (graphe en haut à gauche) et par la relaxation T_2 (graphe en bas à gauche, en considérant un T_2 de 85 ms). Au total, on s'attend à avoir une modulation du signal comme sur le graphe de droite. Les TE ont donc été choisis en conséquence.

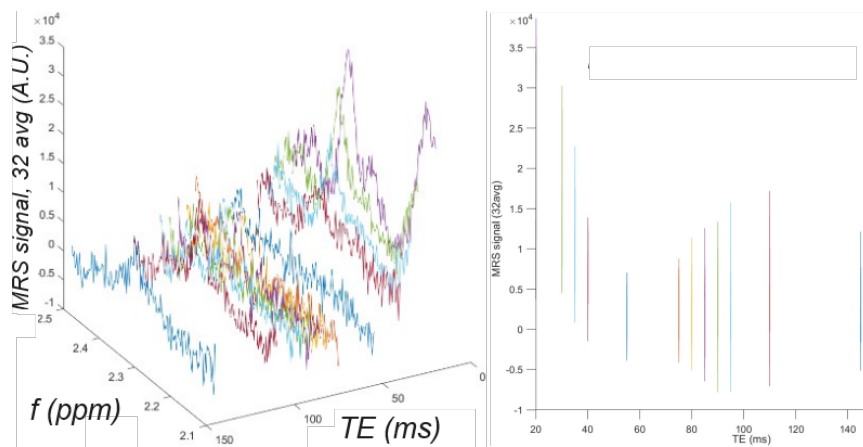


FIGURE 133 – Mesures expérimentales de l'évolution du signal MRS du Glu en fonction du TE. Ici, zoom sur le pic représentatif du Glu à 2.35 ppm et l'évolution de son amplitude à droite.

1.2 . Exemples de fits LCModel à différents TE

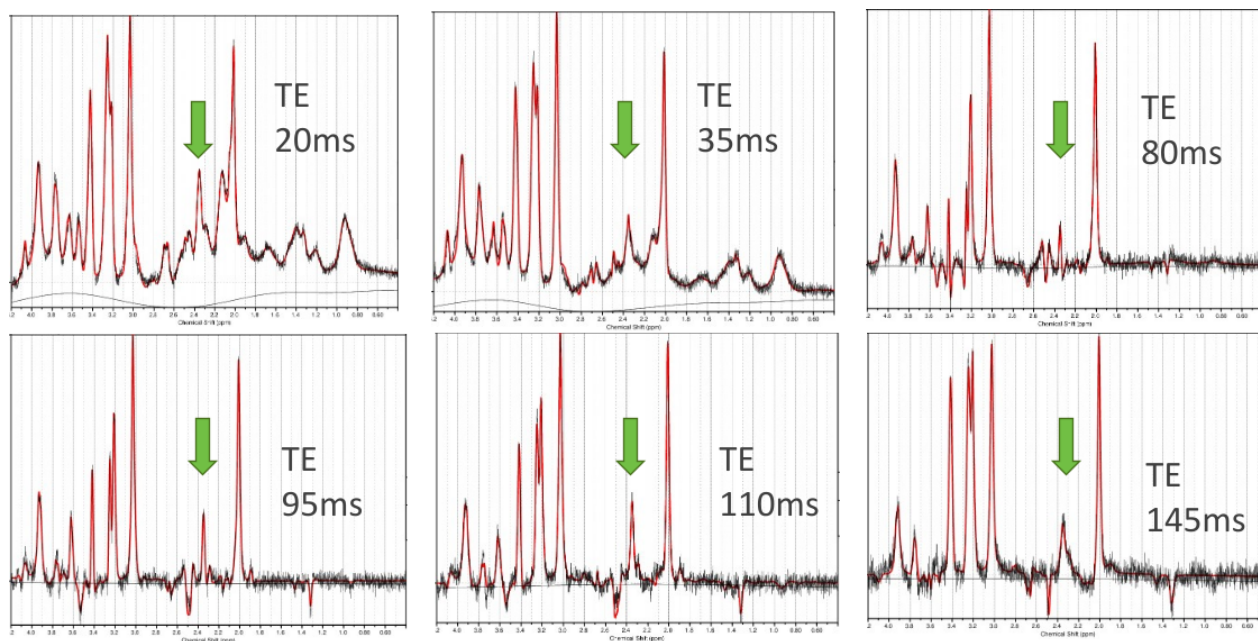


FIGURE 134 – Exemples de fits LCModel à différents TE (ici, sur une souris dans le striatum avec 3x32 avg).

2 . CONCERNANT LA MODÉLISATION CEST

2.1 . Modèle de fit utilisé pour tester différents compartiments candidats

Fixed parameters of the candidate pools				
Pool	Parameter	Fixed value		
Glutamate (Glu)	δ^{Glu}	3.0 ppm		
	$f_{\text{H}}^{\text{Glu}}$	<i>Fixed with MRS</i>		
Guanidium (Guan)	δ^{Guan}	2.0 ppm		
	$k_{\text{ex}}^{\text{Guan}}$	300 Hz		
Amide (APT)	δ^{APT}	3.5 ppm		
	$k_{\text{ex}}^{\text{APT}}$	25 Hz		
Hydroxyl (OH)	δ^{OH}	1.0 ppm		
	$k_{\text{ex}}^{\text{OH}}$	2000 Hz		
NOE ¹	δ^{NOE1}	-3.5 ppm		
	$k_{\text{ex}}^{\text{NOE1}}$	15 Hz		
NOE ²	δ^{NOE2}	-1.6 ppm		
	$k_{\text{ex}}^{\text{NOE2}}$	10 Hz		
Taurine (Tau)	δ^{Tau}	3.2 ppm		
	$k_{\text{ex}}^{\text{Tau}}$	50000 Hz		
Free parameters of the candidate pools				
Pool	Parameter	Initial value	Lower bound	Upper bound
Water	T_1	1.95 s (striatum) 1.85 s (corpus callosum)	-10%	+10%
	T_2	31.7 ms (striatum) 28.8 ms (corpus callosum)	-10%	+10%
MT	δ^{MT}	-2.34 ppm	-2.5 ppm	0 ppm
	$k_{\text{ex}}^{\text{MT}}$	20 Hz	10 Hz	60 Hz
	f_{H}^{MT}	5%	0%	50%
Glu	$k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$	8000 Hz	0 Hz	20000 Hz
	$f_{\text{H}}^{\text{Glu}}$	<i>Fixed with MRS measurement</i>	<i>Fixed with MRS measurement</i>	<i>Fixed with MRS measurement</i>
Guan	$f_{\text{H}}^{\text{Guan}}$	0.07%	0%	2.2%
APT	$f_{\text{H}}^{\text{APT}}$	0.2%	0%	10%
OH	f_{H}^{OH}	0.03%	0%	0.6%
NOE ¹	$f_{\text{H}}^{\text{NOE1}}$	0.5%	0%	8%
NOE ²	$f_{\text{H}}^{\text{NOE2}}$	0.5%	0%	8%
Tau	$f_{\text{H}}^{\text{Tau}}$	0.03%	0%	0.3%

TABLE 18 – Paramètres fixés et libres dans le modèle CEST utilisé pour tester différents compartiments candidats.

2.2 . Détail des différentes combinaisons de "compartiments candidats" testées et résultats

Pools included in the candidate model	R ²	AIC	cAIC	BIC
Water, MT	0.96211	-250	-248	-240
Water, MT, Glu	0.97140	-262	-260	-250
Water, MT, Glu, Guan	0.99225	-327	-324	-313
Water, MT, Glu, OH	0.98234	-285	-282	-271
Water, MT, Glu, APT	0.98384	-289	-286	-276
Water, MT, Glu, Tau	0.97243	-262	-259	-248
Water, MT, Glu, NOE ¹	0.97140	-260	-257	-246
Water, MT, Glu, Guan, OH	0.99402	-338	-334	-322
Water, MT, Glu, Guan, APT	0.99709	-375	-371	-359
Water, MT, Glu, Guan, Tau	0.99234	-325	-322	-310
Water, MT, Glu, Guan, NOE ¹	0.99226	-325	-321	-309
Water, MT, Glu, Guan, OH, Tau	0.99402	-336	-331	-318
Water, MT, Glu, Guan, APT, OH	0.99912	-433	-429	-416
Water, MT, Glu, Guan, APT, NOE ¹	0.99759	-382	-378	-365
Water, MT, Glu, Guan, OH, NOE ¹	0.99399	-336	-331	-318
Water, MT, Glu, Guan, OH, NOE ¹ , NOE ²	0.99401	-431	-426	-412
Water, MT, Glu, Guan, APT, NOE ¹ , NOE ²	0.99759	-380	-375	-361
Water, MT, Glu, Guan, APT, OH, Tau	0.99911	-431	-426	-412
Water, MT, Glu, Guan, APT, OH, NOE ¹	0.99958	-469	-464	-450
Water, MT, Glu, Guan, APT, OH, NOE ²	0.99912	-431	-426	-412
Water, MT, Glu, Guan, APT, OH, NOE ¹ , Tau	0.99957	-467	-460	-445
Water, MT, Glu, Guan, APT, OH, NOE ¹ , NOE ²	0.99958	-467	-460	-446
Water, MT, Glu, Guan, APT, OH, NOE ¹ , Tau, NOE ²	0.99957	-464	-456	-441
Water, MT, Glu, Guan, APT, OH, Tau (kex ^{Tau} =10000Hz)	0.99913	-432	-427	-413
Water, MT, Glu, Guan, APT, OH, NOE ¹ , Tau (kex ^{Tau} =10000Hz)	0.99958	-467	-461	-446

TABLE 19 – Résultats de fit de données dans le striatum pour différentes combinaisons de "compartiments-candidats".

2.3 . Modèle appliqué pixel par pixel aux données d'imagerie CEST pour la cartographie quantitative du glutamate

Pool	Parameter	Initial value	Lower bound	Upper bound
Water	T ₁	1.95 s	1.6 s	3.5 s
	T ₂	32 ms	20 ms	45 ms
	ΔB ₀	0 ppm	-1.5 ppm	+1.5 ppm
MT	δ ^{MT}	-2.34 ppm	-2.5 ppm	0 ppm
	k _{ex} ^{MT}	20 Hz	10 Hz	60 Hz
	f _H ^{MT}	5%	0%	50%
Glutamate	f _H ^{Glu}	0.02%	0%	0.5%
	k _{ex} ^{Glu}	1301 Hz (GM) / 1276 Hz (WM)	Fixed	Fixed
Guanidium	f _H ^{Guan}	0.3%	0%	0.7%
	k _{ex} ^{Guan}	300 Hz	Fixed	Fixed
Amide	f _H ^{APT}	3.6%	0%	9%
	k _{ex} ^{APT}	25 Hz	Fixed	Fixed
Hydroxyl	f _H ^{OH}	0.4%	0%	1.1%
	k _{ex} ^{OH}	2000 Hz	Fixed	Fixed
NOE ¹	f _H ^{NOE1}	0.4%	0%	8%
	k _{ex} ^{NOE1}	16 Hz	Fixed	Fixed

TABLE 20 – Modèle de fit utilisé pour la cartographie quantitative du glutamate.

2.4 . Gammes de variation des paramètres de simulations CEST à 5 μ T

Pool	Parameter	Lower bound	Upper bound
Water	T_1	1.5 s	3.0 s
	T_2	25 ms	45 ms
	ΔB_0	-1.0 ppm	+1.0 ppm
MT	δ^{MT}	Fixed to 0 ppm	Fixed to 0 ppm
	k_{ex}^{MT}	12 Hz	30 Hz
	f_H^{MT}	8%	13%
Glutamate	f_H^{Glu}	0.017%	0.049%
	k_{ex}^{Glu}	<i>Fixed</i>	<i>Fixed</i>
Guanidium	f_H^{Guan}	0.2%	0.9%
	k_{ex}^{Guan}	<i>Fixed</i>	<i>Fixed</i>
Amide	f_H^{APT}	3%	5.5%
	k_{ex}^{APT}	<i>Fixed</i>	<i>Fixed</i>
Hydroxyl	f_H^{OH}	0.7%	1%
	k_{ex}^{OH}	<i>Fixed</i>	<i>Fixed</i>
NOE ¹	f_H^{NOE1}	3%	4.5%
	k_{ex}^{NOE1}	<i>Fixed</i>	<i>Fixed</i>

TABLE 21 – Gammes de variation des paramètres de simulations utilisées pour éprouver la robustesse du modèle de quantification du glutamate.

C - Annexes du chapitre VIII

1 . CARACTÉRISATION MT

1.1 . Simulation des portées de l'effet CEST des métabolites endogènes
Voir figure page suivante.

1.2 . Modèle de fit de l'effet MT

	Initial value	Lower Bound	Upper Bound
f_H^{MT}	5,5%	0%	50%
k_{ex}^{MT}	30 Hz	5 Hz	100 Hz
δ^{MT}	-2,3 ppm	-4 ppm	0 ppm
T_2^{MT}	10 μ s	1 μ s	20 μ s

TABLE 22 – Détail du modèle de fit de l'effet MT.

2 . APPROCHES DE FITS MULTI- B_1 APPROFONDIES

2.1 . Modèle libre

Pool	Parameter	Initial value	Lower bound	Upper bound
Water	T_1	1,95 s / 1,85 s	1,85 s / 1,8 s	2,10 s / 2,0 s
	T_2	31,6 ms / 28,8 ms	28 ms / 20 ms	40 ms / 35 ms
MT	k_{ex}^{MT}	22,6 Hz / 13,2 Hz	16 Hz / 10 Hz	28 Hz / 18 Hz
	f_H^{MT}	9,1% / 16,8%	6% / 12%	15% / 20%
Glutamate	[Glu]	6,5 mM	0 mM	500 mM
	k_{ex}^{Glu}	1300 Hz	0 Hz	20000 Hz
Guanidium	[Guan]	15 mM	0 mM	200 mM
	k_{ex}^{Guan}	300 Hz	200 Hz	2000 Hz
Amide	[APT]	170 mM	0 mM	10000 mM
	k_{ex}^{APT}	25 Hz	0 Hz	100 Hz
Hydroxyl	[OH]	4 mM	0 mM	200 mM
	k_{ex}^{OH}	2000 Hz	200 Hz	5000 Hz
NOE ¹	f_H^{NOE1}	5%	0%	8%
	k_{ex}^{NOE1}	16 Hz	5 Hz	30 Hz
NOE ²	f_H^{NOE2}	2%	0%	8%
	k_{ex}^{NOE2}	10 Hz	5 Hz	20 Hz

TABLE 23 – Paramétrisation du modèle de fit multi- B_1 plus libre utilisé dans la section 1.2.1. Lorsqu'il y a deux valeurs indiquées, il s'agit des valeurs pour le striatum / le corps calleux.

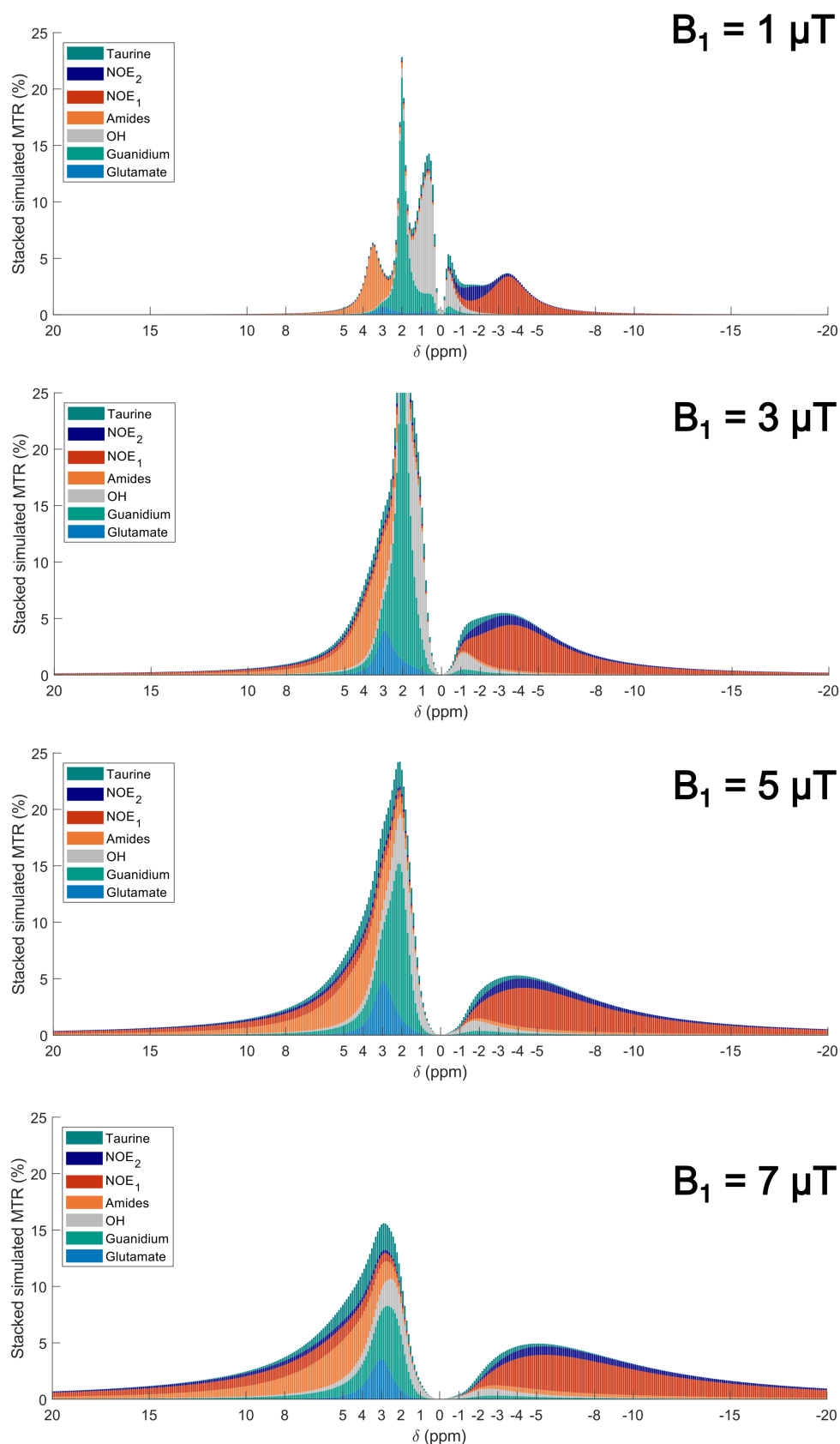


FIGURE 135 – Simulation des effets CEST de différents métabolites à différents B_1 . Le MTR tracé ici est un MTR calculé en soustrayant la lorentzienne de l'eau à la simulation incluant le métabolite d'intérêt.

2.2 . Approche de la section 1.2.2

L'approche de fit de la section 1.2.2 pour estimer la « contribution manquante » se décompose en deux étapes :

1. Tout d'abord, pour chaque souris, les effets MT/NOE sont fittés sur les données multi-B₁ sur les offsets $\delta_{\text{sat}} \leq 0$ ppm des Z-spectra, selon le modèle de fit suivant :

Pool	Parameter	Initial value	Lower bound	Upper bound
Water	T ₁	1,95 s / 1,85 s	1,85 s / 1,8 s	2,10 s / 2,0 s
	T ₂	31,6 ms / 28,8 ms	28 ms / 20 ms	40 ms / 35 ms
MT	k _{ex} ^{MT}	22,6 Hz / 13,2 Hz	16 Hz / 10 Hz	28 Hz / 18 Hz
	f _H ^{MT}	9,1% / 16,8%	6% / 12%	15% / 20%
NOE-3,5 ppm	k _{ex} ^{NOE}	16 Hz	0 Hz	30 Hz
	f _H ^{NOE}	5%	0%	8%
NOE-1,6 ppm	k _{ex} ^{NOE}	10 Hz	0 Hz	20 Hz
	f _H ^{NOE}	2%	0%	8%

2. Puis, les paramètres MT/NOE estimés par la première étape sont fixés. Ensuite, on fit uniquement le Z-spectrum acquis à 1 μ T avec un modèle incluant des compartiments de créatine, d'amides, de glutamate, de myo-inositol et de 2 compartiments NOE. Nous avons considéré un compartiment de glutamate avec un taux d'échange de 1300 Hz et de concentration trouvée en ¹H-MRS. Les paramètres libres de fit sont les suivants :

Pool	Parameter	Initial value	Lower bound	Upper bound
Créatine	[Cr]	15 mM	0 mM	200 mM
	k _{ex} ^{Guan}	300 Hz	200 Hz	2000 Hz
Amide	[APT]	170 mM	0 mM	10 000 mM
	k _{ex} ^{APT}	25 Hz	0 Hz	100 Hz
Myo-inositol	[Ins]	4 mM	0 mM	200 mM
	k _{ex} ^{OH}	2000 Hz	200 Hz	5000 Hz

3. VÉSICULES DE GLUTAMATE IN VITRO

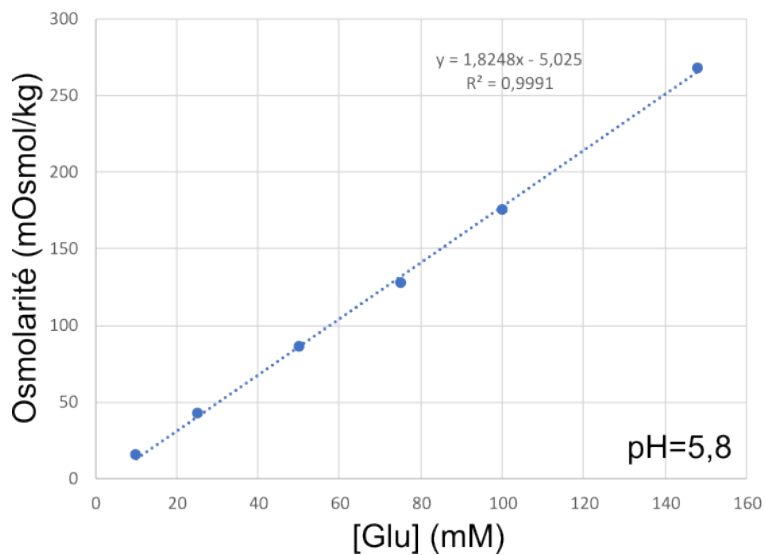


FIGURE 136 – Calibration d'osmolarité de solutions de glutamate à pH 5,8 en fonction de la concentration.

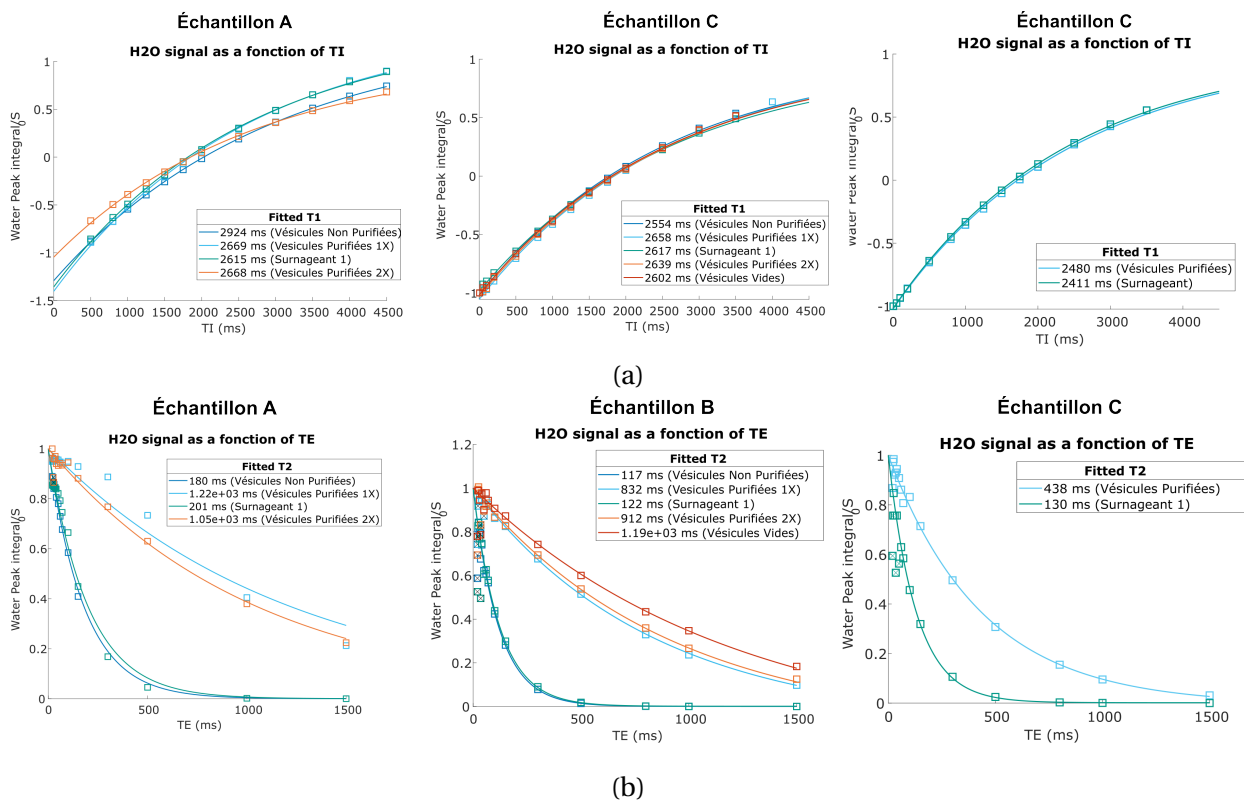


FIGURE 137 – Mesures (a) T₁ et (b) T₂ de vésicules de glutamate in vitro

D - Annexes du chapitre IX

1. MODÉLISATION DE LA « BASELINE » DES EXPÉRIENCES GLUCOCEST

Variable	Initial value	Lower bound	Upper bound
[2DG] (mM)	3	0	150
$k_{\text{ex}} \text{Glc}^1$ (Hz)	1200	Fixed	Fixed
$k_{\text{ex}} \text{Glc}^2$ (Hz)	225	Fixed	Fixed
$k_{\text{ex}} \text{Glc}^3$ (Hz)	400	Fixed	Fixed
$k_{\text{ex}} \text{Glc}^4$ (Hz)	350	Fixed	Fixed
$f_{\text{H}}^{\text{NOE}}(-3,5 \text{ ppm})$	0,004	0	0,18
$k_{\text{ex}} \text{NOE}(-3,5 \text{ ppm})$ (Hz)	16	5	50
[Cr] (mM)	8,8	5	150
$k_{\text{ex}} \text{Cr}$ (Hz)	300	200	2000
[APT] (mM)	70	0	3000
$k_{\text{ex}} \text{APT}$ (Hz)	25	0	50
[Glu] (mM)	8,8	0	20
$k_{\text{ex}} \text{Glu}$ (Hz)	1300	Fixed	Fixed
[PCr] (mM)	5	0	400
$k_{\text{ex}} \text{PCr}^1$ (Hz)	67	Fixed	Fixed
$k_{\text{ex}} \text{PCr}^2$ (Hz)	128	Fixed	Fixed
$f_{\text{H}}^{\text{NOE}}(-1,6 \text{ ppm})$	0,0005	0,0000	0,1800
$k_{\text{ex}} \text{NOE}(-1,6 \text{ ppm})$ (Hz)	10	5	50
f_{H}^{MT}	0,126	0	0,5
$k_{\text{ex}} \text{MT}$ (Hz)	19	10	60
T_1 (s)	1,95	1,9	2,1
T_2 (s)	0,03	0,025	0,04
ΔB_0 (ppm)	0	-0,05	0,05

(a)

Variable	Rat 1	Rat 2	Rat 3	Mean	SD
[2DG] (mM)	7,68	16,00	18,68	14,12	5,74
$f_{\text{H}}^{\text{NOE}}(3,5 \text{ ppm})$	0,06	0,04	0,05	0,05	0,01
$k_{\text{ex}} \text{NOE}(3,5 \text{ ppm})$ (Hz)	7,93	9,97	10,20	9,37	1,25
[Cr] (mM)	35,13	34,67	38,52	36,11	2,10
$k_{\text{ex}} \text{Cr}$ (Hz)	1522,25	1312,63	1521,21	1452,03	120,73
[APT] (mM)	726,82	1137,95	1198,78	1021,18	256,73
$k_{\text{ex}} \text{APT}$ (Hz)	30,00	22,79	23,58	25,46	3,95
[Glu] (mM)	1,42	3,72	5,26	3,47	1,93
[PCr] (mM)	84,44	67,05	72,18	74,56	8,94
$f_{\text{H}}^{\text{NOE}}(-1,6 \text{ ppm})$	0,0048	0,0000	0,0006	0,0018	0,0026
$k_{\text{ex}} \text{NOE}(-1,6 \text{ ppm})$ (Hz)	39,40	7,30	27,55	24,75	16,23
f_{H}^{MT}	0,11	0,10	0,11	0,11	0,01
$k_{\text{ex}} \text{MT}$ (Hz)	20,21	22,73	19,71	20,89	1,62
T_1 (s)	2,09	2,07	2,10	2,09	0,01
T_2 (s)	0,03	0,03	0,03	0,03	0,00
ΔB_0 (ppm)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,00

(b)

TABLE 24 – (a) Modèle utilisé pour fitter la baseline des expériences glucoCEST. Une fois la baseline fittée, tous les paramètres ont été fixés à la moyenne trouvée sur la baseline, à part [Glc] et $f_{\text{H}}^{\text{NOE}}(3,5 \text{ ppm})$ qui sont laissés libres avec les bornes indiquées ci dessus. (b) Résultat du fit de la baseline des expériences glucoCEST sur 3 animaux.

E - Annexes du chapitre X

1 . SIMULATIONS UTILISÉES POUR L'OPTIMISATION « NAÏVE »

Pool	Parameter	Lower bound	Upper bound
Water	T_1	1.85 s	2.10 s
	T_2	25 ms	35 ms
	ΔB_0	-1.0 ppm	+1.0 ppm
MT	δ^{MT}	Fixed to -1,5 ppm	Fixed to -1,5 ppm
	k_{ex}^{MT}	10 Hz	40 Hz
	f_H^{MT}	5%	17%
Glutamate	[Glu]	5.0 mM	12.5 mM
	k_{ex}^{Glu}	1000 Hz	8000 Hz
Guanidium	[Guan]	4.5 mM	9.0 mM
	k_{ex}^{Guan}	200 Hz	2000 Hz
Amide	[APT]	0.5%	5%
	k_{ex}^{APT}	20 Hz	28 Hz
Hydroxyl	[OH]	4.5 mM	15 mM
	k_{ex}^{OH}	600 Hz	2000 Hz
NOE ¹	f_H^{NOE1}	1%	6%
	k_{ex}^{NOE1}	12 Hz	20 Hz

TABLE 25 – Gammes de variation des paramètres des simulations de la recherche « naïve », utilisées pour générer la figure 122.

2 . SIMULATIONS POUR ENTRAÎNER LE RÉSEAU DE NEURONES

Pool	Parameter	Lower bound	Upper bound
Water	T_1	1.5 s	2.5 s
	T_2	200 ms	1 s
	ΔB_0	-0.2 ppm	+0.2 ppm
Glucose	[Glc]	0 mM	60 mM
	$k_{ex}^{Glc, 1}$	200 Hz	3000 Hz
	$k_{ex}^{Glc, 2}$	200 Hz	3000 Hz
	$k_{ex}^{Glc, 3}$	200 Hz	3000 Hz
	$k_{ex}^{Glc, 4}$	200 Hz	3000 Hz
Glutamate	[Glu]	0 mM	60 mM
	k_{ex}^{Glu}	6000 Hz	7000 Hz

TABLE 26 – Gammes de variation des paramètres des simulations utilisées pour entraîner le réseau de neurones présenté dans la section 2, destiné à le glutamate et le glucose sur fantômes.

Bibliographie

- Aime, S., Delli Castelli, D. et Terreno, E. (2005). « Highly sensitive MRI chemical exchange saturation transfer agents using liposomes ». *Angewandte Chemie (International Ed. in English)*, 44(34), p. 5513-5515. DOI : [10.1002/anie.200501473](https://doi.org/10.1002/anie.200501473) (cf. p. 29).
- Allen, N. J. et Barres, B. A. (2009). « Glia more than just brain glue ». *Nature*, 457(7230). Publisher : Nature Publishing Group, p. 675-677. DOI : [10.1038/457675a](https://doi.org/10.1038/457675a) (cf. p. 4).
- Alsop, D. C., Ercan, E., Girard, O. M., Mackay, A. L., Michal, C. A., Varma, G., Vinogradov, E. et Duhamel, G. (2023). « Inhomogeneous magnetization transfer imaging : Concepts and directions for further development ». *NMR in Biomedicine*, 36(6), e4808. DOI : [10.1002/nbm.4808](https://doi.org/10.1002/nbm.4808) (cf. p. 62).
- Amemiya, T. (1985). *Advanced Econometrics*. Harvard University Press, section 4.3 (cf. p. 107).
- Andersen, J. V., Markussen, K. H., Jakobsen, E., Schousboe, A., Waagepetersen, H. S., Rosenberg, P. A. et Aldana, B. I. (2021). « Glutamate metabolism and recycling at the excitatory synapse in health and neurodegeneration ». *Neuropharmacology*, 196, p. 108719. DOI : [10.1016/j.neuropharm.2021.108719](https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108719) (cf. p. 6, 7, 33).
- Aroulmoji, V., Mathlouthi, M., Feruglio, L., Murano, E. et Grassi, M. (2012). « Hydration properties and proton exchange in aqueous sugar solutions studied by time domain nuclear magnetic resonance ». *Food Chemistry*, 132(4). 6th International Conference on Water in Food, p. 1644-1650. DOI : [10.1016/j.foodchem.2011.01.110](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.110) (cf. p. 75).
- Bagga, P., Pickup, S., Crescenzi, R., Martinez, D., Borthakur, A., D'Aquila, K., Singh, A., Verma, G., Detre, J. A., Greenberg, J., Hariharan, H. et Reddy, R. (2018). « In vivo GluCEST MRI : Reproducibility, background contribution and source of glutamate changes in the MPTP model of Parkinsons disease ». *Scientific Reports*, 8, p. 2883. DOI : [10.1038/s41598-018-21035-3](https://doi.org/10.1038/s41598-018-21035-3) (cf. p. 34, 134).
- Bai, Y., Lin, Y., Zhang, W., Kong, L., Wang, L., Zuo, P., Vallines, I., Schmitt, B., Tian, J., Song, X., Zhou, J. et Wang, M. (2017). « Noninvasive amide proton transfer magnetic resonance imaging in evaluating the grading and cellularity of gliomas ». *Oncotarget*, 8(4), p. 5834-5842. DOI : [10.18632/oncotarget.13970](https://doi.org/10.18632/oncotarget.13970) (cf. p. 29, 30).
- Bateman, R. J., Xiong, C., Benzinger, T. L. S., Fagan, A. M., Goate, A., Fox, N. C., Marcus, D. S., Cairns, N. J., Xie, X., Blazey, T. M., Holtzman, D. M., Santacruz, A., Buckles, V., Oliver, A., Moulder, K., Aisen, P. S., Ghetti, B., Klunk, W. E., McDade, E., Martins, R. N., Masters, C. L., Mayeux, R., Ringman, J. M., Rossor, M. N., Schofield, P. R., Sperling, R. A., Salloway, S., Morris, J. C. et Dominantly Inherited Alzheimer Network (2012). « Clinical and biomarker changes in dominantly inherited Alzheimer's disease ». *The New England Journal of Medicine*, 367(9), p. 795-804. DOI : [10.1056/NEJMoa1202753](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1202753) (cf. p. 7).
- Bloch, F. (1946). « Nuclear Induction ». *Phys. Rev.*, 70 (7-8), p. 460-474. DOI : [10.1103/PhysRev.70.460](https://doi.org/10.1103/PhysRev.70.460) (cf. p. 7, 12).

- Bloch, F., Hansen, W. W. et Packard, M. (1946). « The Nuclear Induction Experiment ». *Phys. Rev.*, 70 (7-8), p. 474-485. DOI : [10.1103/PhysRev.70.474](https://doi.org/10.1103/PhysRev.70.474) (cf. p. 7).
- Burger, P. M., Mehl, E., Cameron, P. L., Maycox, P. R., Baumert, M., Lottspeich, F., De Camilli, P. et Jahn, R. (1989). « Synaptic vesicles immunisolated from rat cerebral cortex contain high levels of glutamate ». *Neuron*, 3(6), p. 715-720. DOI : [10.1016/0896-6273\(89\)90240-7](https://doi.org/10.1016/0896-6273(89)90240-7) (cf. p. 145).
- Cai, K., Haris, M., Singh, A., Kogan, F., Greenberg, J. H., Hariharan, H., Detre, J. A. et Reddy, R. (2012). « Magnetic Resonance Imaging of Glutamate ». *Nature medicine*, 18(2), p. 302-306. DOI : [10.1038/nm.2615](https://doi.org/10.1038/nm.2615) (cf. p. 32, 39, 75, 106, 113, 124, 134).
- Cai, X., Zhang, J., Lu, J., Yi, L., Han, Z., Zhang, S., Yang, X. et Liu, G. (2020). « N-Aryl Amides as Chemical Exchange Saturation Transfer Magnetic Resonance Imaging Contrast Agents ». *Chemistry (Weinheim an Der Bergstrasse, Germany)*, 26(51), p. 11705-11709. DOI : [10.1002/chem.202002415](https://doi.org/10.1002/chem.202002415) (cf. p. 28, 29).
- Camandola, S. et Mattson, M. P. (2017). « Brain metabolism in health, aging, and neurodegeneration ». *The EMBO journal*, 36(11), p. 1474-1492. DOI : [10.15252/embj.201695810](https://doi.org/10.15252/embj.201695810) (cf. p. 6).
- Cember, A. T. J., Nanga, R. P. R. et Reddy, R. (2023). « Glutamate-weighted CEST (gluCEST) imaging for mapping neurometabolism : An update on the state of the art and emerging findings from in vivo applications ». *NMR in biomedicine*, 36(6), e4780. DOI : [10.1002/nbm.4780](https://doi.org/10.1002/nbm.4780) (cf. p. 35, 39).
- Chappell, M. A., Donahue, M. J., Tee, Y. K., Khrapitchev, A. A., Sibson, N. R., Jezard, P. et Payne, S. J. (2013). « Quantitative Bayesian Model-Based Analysis of Amide Proton Transfer MRI ». *Magnetic resonance in medicine*, 70(2), p. 556-567. DOI : [10.1002/mrm.24474](https://doi.org/10.1002/mrm.24474) (cf. p. 75, 90).
- Chassain, C., Bielicki, G., Durand, E., Lolignier, S., Essafi, F., Traore, A. et Durif, F. (2008). « Metabolic changes detected by proton magnetic resonance spectroscopy in vivo and in vitro in a murin model of Parkinson's disease, the MPTP-intoxicated mouse ». *Journal of Neurochemistry*, 105(3), p. 874-882. DOI : [10.1111/j.1471-4159.2007.05185.x](https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.05185.x) (cf. p. 132).
- Chen, L., Barker, P. B., Weiss, R. G., Van Zijl, P. C. M. et Xu, J. (2019). « Creatine and phosphocreatine mapping of mouse skeletal muscle by a polynomial and Lorentzian line-shape fitting CEST method ». *Magnetic resonance in medicine*, 81(1), p. 69-78. DOI : [10.1002/mrm.27514](https://doi.org/10.1002/mrm.27514) (cf. p. 30, 88).
- Chen, L., Cao, S., Koehler, R. C., Zijl, P. C. M. van et Xu, J. (2020). « High-sensitivity CEST mapping using a spatiotemporal correlation-enhanced method ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 84(6), p. 3342-3350. DOI : [10.1002/mrm.28380](https://doi.org/10.1002/mrm.28380) (cf. p. 126).
- Choi, C., Coupland, N. J., Bhardwaj, P. P., Kalra, S., Casault, C. A., Reid, K. et Allen, P. S. (2006). « T2 measurement and quantification of glutamate in human brain in vivo ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 56(5), p. 971-977. DOI : [10.1002/mrm.21055](https://doi.org/10.1002/mrm.21055) (cf. p. 75).
- Cohen, O., Huang, S., McMahon, M. T., Rosen, M. S. et Farrar, C. T. (2018). « Rapid and quantitative chemical exchange saturation transfer (CEST) imaging with magnetic resonance fingerprinting (MRF) ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 80(6), p. 2449-2463. DOI : [10.1002/mrm.27221](https://doi.org/10.1002/mrm.27221) (cf. p. 91, 92).
- Crescenzi, R., DeBrosse, C., Nanga, R. P. R., Byrne, M. D., Krishnamoorthy, G., D'Aquila, K., Nath, H., Morales, K. H., Iba, M., Hariharan, H., Lee, V. M. Y., Detre, J. A. et Reddy, R. (2017). « Lon-

- itudinal imaging reveals subhippocampal dynamics in glutamate levels associated with histopathologic events in a mouse model of tauopathy and healthy mice ». *Hippocampus*, 27(3), p. 285-302. DOI : [10.1002/hipo.22693](https://doi.org/10.1002/hipo.22693) (cf. p. 34).
- Croal, P., Msayib, Y., Ray, K., Craig, M. et Chappell, M. (2018). « QuantiCEST : Bayesian Model-based Analysis of CEST MRI ». In : *ESMRMB-ISMIRM Joint Annual Meeting 2018* (cf. p. 90).
- Cudalbu, C., Mlynárik, V. et Gruetter, R. (2012). « Handling macromolecule signals in the quantification of the neurochemical profile ». *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 31 Suppl 3, S101-115. DOI : [10.3233/JAD-2012-120100](https://doi.org/10.3233/JAD-2012-120100) (cf. p. 132).
- Cui, J. et Zu, Z. (2020). « Towards the molecular origin of glutamate CEST (GluCEST) imaging in rat brain ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 83(4), p. 1405-1417. DOI : [10.1002/mrm.28021](https://doi.org/10.1002/mrm.28021) (cf. p. 134, 136, 141, 164).
- Currie, S., Hoggard, N., Craven, I., Hadjivassiliou, M. et Wilkinson, I. (2012). « Understanding MRI : Basic MR physics for physicians ». *Postgraduate medical journal*, 89. DOI : [10.1136/postgradmedj-2012-131342](https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2012-131342) (cf. p. 18).
- Damadian, R. (1971). « Tumor Detection by Nuclear Magnetic Resonance ». *Science*, 171(3976), p. 1151-1153. DOI : [10.1126/science.171.3976.1151](https://doi.org/10.1126/science.171.3976.1151) (cf. p. 7).
- Davis, K. A., Nanga, R. P. R., Das, S., Chen, S. H., Hadar, P. N., Pollard, J. R., Lucas, T. H., Shinohara, R. T., Litt, B., Hariharan, H., Elliott, M. A., Detre, J. A. et Reddy, R. (2015). « Glutamate Imaging (GluCEST) Lateralizes Epileptic Foci in Non-Lesional Temporal Lobe Epilepsy ». *Science translational medicine*, 7(309), 309ra161. DOI : [10.1126/scitranslmed.aaa7095](https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaa7095) (cf. p. 34).
- De Graaf, R. A. (2007). « Spectral Quantification ». In : *In Vivo NMR Spectroscopy*. John Wiley Sons, Ltd. Chap. 9, p. 445-477. DOI : <https://doi.org/10.1002/9780470512968.ch9> (cf. p. 75).
- De Graaf, R. A., Brown, P. B., McIntyre, S., Nixon, T. W., Behar, K. L. et Rothman, D. L. (2006). « High magnetic field water and metabolite proton T1 and T2 relaxation in rat brain in vivo ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 56(2), p. 386-394. DOI : [10.1002/mrm.20946](https://doi.org/10.1002/mrm.20946) (cf. p. 12).
- DeBrosse, C., Nanga, R. P. R., Bagga, P., Nath, K., Haris, M., Marincola, F., Schnall, M. D., Hariharan, H. et Reddy, R. (2016). « Lactate Chemical Exchange Saturation Transfer (LATEST) Imaging in vivo A Biomarker for LDH Activity ». *Scientific Reports*, 6, p. 19517. DOI : [10.1038/srep19517](https://doi.org/10.1038/srep19517) (cf. p. 36, 75).
- Delebarre, T., Gras, V., Mauconduit, F., Vignaud, A., Boulant, N. et Ciobanu, L. (2023). « Efficient optimization of chemical exchange saturation transfer MRI at 7 T using universal pulses and virtual observation points ». *Magnetic Resonance in Medicine*, n/a(n/a). DOI : <https://doi.org/10.1002/mrm.29617> (cf. p. 41).
- Dixon, W. T., Ren, J., Lubag, A. J. M., Ratnakar, J., Vinogradov, E., Hancu, I., Lenkinski, R. E. et Sherry, A. D. (2010). « A concentration-independent method to measure exchange rates in PARCEST agents ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 63(3), p. 625-632. DOI : [10.1002/mrm.22242](https://doi.org/10.1002/mrm.22242) (cf. p. 86).
- Duarte, J. M. N., Do, K. Q. et Gruetter, R. (2014). « Longitudinal neurochemical modifications in the aging mouse brain measured in vivo by 1H magnetic resonance spectroscopy ». *Neurobiology of Aging*, 35(7). DOI : [10.1016/j.neurobiolaging.2014.01.135](https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.01.135) (cf. p. 75, 132, 164).

- Dula, A. N., Arlinghaus, L. R., Dortch, R. D., Dewey, B. E., Whisenant, J. G., Ayers, G. D., Yankeelov, T. E. et Smith, S. A. (2013). « Amide Proton Transfer Imaging of the Breast at 3 T : Establishing Reproducibility and Possible Feasibility Assessing Chemotherapy Response ». *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 70(1). Publisher : NIH Public Access, p. 216. DOI : [10.1002/mrm.24450](https://doi.org/10.1002/mrm.24450) (cf. p. 80).
- Dula, A. N., Pawate, S., Dethrage, L. M., Conrad, B. N., Dewey, B. E., Barry, R. L. et Smith, S. A. (2016). « CEST of the Cervical Spinal Cord at 7 Tesla ». *NMR in biomedicine*, 29(9), p. 1249-1257. DOI : [10.1002/nbm.3581](https://doi.org/10.1002/nbm.3581) (cf. p. 34, 80).
- Egashira, Y., Katsurabayashi, S. et Takamori, S. (2022). « Quantitative Analysis of Presynaptic Vesicle Luminal pH in Cultured Neurons ». *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 2417, p. 45-58. DOI : [10.1007/978-1-0716-1916-2_4](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1916-2_4) (cf. p. 145).
- Eleftheriou, A., Ravotto, L., Wyss, M. T., Warnock, G., Siebert, A., Zaiss, M. et Weber, B. (2023). « Simultaneous dynamic glucose-enhanced (DGE) MRI and fiber photometry measurements of glucose in the healthy mouse brain ». *NeuroImage*, 265, p. 119762. DOI : [10.1016/j.neuroimage.2022.119762](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2022.119762) (cf. p. 35).
- Featherstone, D. E. (2009). « Intercellular Glutamate Signaling in the Nervous System and Beyond ». *ACS Chemical Neuroscience*, 1(1), p. 4-12. DOI : [10.1021/cn900006n](https://doi.org/10.1021/cn900006n) (cf. p. 146).
- Foo, L. S., Yap, W.-S., Hum, Y. C., Manan, H. A. et Tee, Y. K. (2020). « Analysis of model-based and model-free CEST effect quantification methods for different medical applications ». *Journal of Magnetic Resonance (San Diego, Calif. : 1997)*, 310, p. 106648. DOI : [10.1016/j.jmr.2019.106648](https://doi.org/10.1016/j.jmr.2019.106648) (cf. p. 90).
- Forsén, S. et Hoffman, R. (1963). « Study of Moderately Rapid Exchange Reactions by Means of Nuclear Magnetic Double Resonance ». *The Journal of Chemical Physics*, 39, p. 2892-2901. DOI : [10.1063/1.1734121](https://doi.org/10.1063/1.1734121) (cf. p. 22).
- Garwood, M. et DelaBarre, L. (2001). « The Return of the Frequency Sweep : Designing Adiabatic Pulses for Contemporary NMR ». *Journal of Magnetic Resonance*, 153(2), p. 155-177. DOI : [10.1006/jmre.2001.2340](https://doi.org/10.1006/jmre.2001.2340) (cf. p. 101).
- Goerke, S., Zaiss, M. et Bachert, P. (2014). « Characterization of creatine guanidinium proton exchange by water-exchange (WEX) spectroscopy for absolute-pH CEST imaging in vitro ». *NMR in Biomedicine*, 27(5), p. 507-518. DOI : [10.1002/nbm.3086](https://doi.org/10.1002/nbm.3086) (cf. p. 75).
- Govindaraju, V., Young, K. et Maudsley, A. A. (2000). « Proton NMR chemical shifts and coupling constants for brain metabolites ». *NMR in biomedicine*, 13(3), p. 129-153. DOI : [10.1002/1099-1492\(200005\)13:3<129::aid-nbm619>3.0.co;2-v](https://doi.org/10.1002/1099-1492(200005)13:3<129::aid-nbm619>3.0.co;2-v) (cf. p. 20, 30, 32, 36, 75, 103).
- Gowrisankaran, S. et Milosevic, I. (2020). « Regulation of synaptic vesicle acidification at the neuronal synapse ». *IUBMB Life*, 72(4), p. 568-576. DOI : [10.1002/iub.2235](https://doi.org/10.1002/iub.2235) (cf. p. 145).
- Guivel-Scharen, V., Sinnwell, T., Wolff, S. D. et Balaban, R. S. (1998). « Detection of proton chemical exchange between metabolites and water in biological tissues ». *Journal of Magnetic Resonance (San Diego, Calif. : 1997)*, 133(1), p. 36-45. DOI : [10.1006/jmre.1998.1440](https://doi.org/10.1006/jmre.1998.1440) (cf. p. 22).

- Hammond, T. C. et Lin, A.-L. (2022). « Glucose Metabolism is a Better Marker for Predicting Clinical Alzheimers Disease than Amyloid or Tau ». *Journal of cellular immunology*, 4(1), p. 15-18 (cf. p. 7).
- Haris, M., Cai, K., Singh, A., Hariharan, H. et Reddy, R. (2011). « In vivo Mapping of Brain Myo-Inositol ». *NeuroImage*, 54(3), p. 2079-2085. DOI : [10.1016/j.neuroimage.2010.10.017](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2010.10.017) (cf. p. 36, 75).
- Haris, M., Nanga, R. P. R., Singh, A., Cai, K., Kogan, F., Hariharan, H. et Reddy, R. (2012). « Exchange rates of creatine kinase metabolites : feasibility of imaging creatine by chemical exchange saturation transfer MRI ». *NMR in Biomedicine*, 25(11), p. 1305-1309. DOI : [10.1002/nbm.2792](https://doi.org/10.1002/nbm.2792) (cf. p. 31, 75).
- Haris, M., Nath, K., Cai, K., Singh, A., Crescenzi, R., Kogan, F., Verma, G., Reddy, S., Hariharan, H., Melhem, E. R. et Reddy, R. (2013). « Imaging of glutamate neurotransmitter alterations in Alzheimer's disease ». *NMR in biomedicine*, 26(4), p. 386-391. DOI : [10.1002/nbm.2875](https://doi.org/10.1002/nbm.2875) (cf. p. 34, 134).
- Henkelman, R. M., Stanisz, G. J. et Graham, S. J. (2001). « Magnetization transfer in MRI : a review ». *NMR in Biomedicine*, 14(2), p. 57-64. DOI : [10.1002/nbm.683](https://doi.org/10.1002/nbm.683) (cf. p. 60, 61).
- Heo, H.-Y., Han, Z., Jiang, S., Schär, M., Van Zijl, P. C. et Zhou, J. (2019). « Quantifying Amide Proton Exchange rate and Concentration in Chemical Exchange Saturation Transfer Imaging of the Human Brain ». *NeuroImage*, 189, p. 202-213. DOI : [10.1016/j.neuroimage.2019.01.034](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.01.034) (cf. p. 75).
- Heo, H.-Y., Jones, C. K., Hua, J., Yadav, N., Agarwal, S., Zhou, J., Van Zijl, P. C. M. et Pillai, J. J. (2016). « Whole-brain amide proton transfer (APT) and nuclear overhauser enhancement (NOE) imaging in glioma patients using low-power steady-state pulsed chemical exchange saturation transfer (CEST) imaging at 7T ». *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*, 44(1), p. 41-50. DOI : [10.1002/jmri.25108](https://doi.org/10.1002/jmri.25108) (cf. p. 31, 32).
- Heo, H.-Y., Zhang, Y., Lee, D.-H., Hong, X. et Zhou, J. (2016). « Quantitative assessment of amide proton transfer (APT) and nuclear overhauser enhancement (NOE) imaging with extrapolated semi-solid magnetization transfer reference (EMR) signals : Application to a rat glioma model at 4.7 tesla ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 75(1), p. 137-149 (cf. p. 75, 122).
- Herz, K., Mueller, S., Perlman, O., Zaitsev, M., Knutsson, L., Sun, P. Z., Zhou, J., Van Zijl, P., Heinecke, K., Schuenke, P., Farrar, C. T., Schmidt, M., Dörfler, A., Scheffler, K. et Zaiss, M. (2021). « PulseqCEST : Towards multisite multivendor compatibility and reproducibility of CEST experiments using an opensource sequence standard ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 86(4), p. 1845-1858. DOI : [10.1002/mrm.28825](https://doi.org/10.1002/mrm.28825) (cf. p. 64, 90).
- Hodge, R. D., Bakken, T. E., Miller, J. A., Smith, K. A., Barkan, E. R., Graybuck, L. T., Close, J. L., Long, B., Johansen, N., Penn, O., Yao, Z., Eggermont, J., Höllt, T., Levi, B. P., Shehata, S. I., Aevermann, B., Beller, A., Bertagnolli, D., Brouner, K., Casper, T., Cobbs, C., Dalley, R., Dee, N., Ding, S.-L., Ellenbogen, R. G., Fong, O., Garren, E., Goldy, J., Gwinn, R. P., Hirschstein, D., Keene, C. D., Keshk, M., Ko, A. L., Lathia, K., Mahfouz, A., Maltzer, Z., McGraw, M., Nguyen, T. N., Nyhus, J., Ojemann, J. G., Oldre, A., Parry, S., Reynolds, S., Rimorin, C., Shapovalova, N. V., Somasundaram, S., Szafer, A., Thomsen, E. R., Tieu, M., Quon, G., Scheuermann, R. H., Yuste, R., Sunkin, S. M., Lelieveldt, B., Feng, D., Ng, L., Bernard, A., Hawrylycz, M., Phillips, J. W., Tasic, B., Zeng, H., Jones, A. R., Koch, C. et Lein, E. S. (2019). « Conserved cell types with

- divergent features in human versus mouse cortex ». *Nature*, 573(7772). Publisher : Nature Publishing Group, p. 61-68. DOI : [10.1038/s41586-019-1506-7](https://doi.org/10.1038/s41586-019-1506-7) (cf. p. 5).
- Hua, J., Jones, C. K., Blakeley, J., Smith, S. A., Van Zijl, P. C. et Zhou, J. (2007). « Quantitative Description of the Asymmetry in Magnetization Transfer Effects around the Water Resonance in the Human Brain ». *Magnetic resonance in Medicine*, 58(4), p. 786-793. DOI : [10.1002/mrm.21387](https://doi.org/10.1002/mrm.21387) (cf. p. 61, 75, 140).
- Igarashi, H., Ueki, S., Kitaura, H., Kera, T., Ohno, K., Ohkubo, M., Terumitsu-Tsujita, M., Kakita, A. et Kwee, I. L. (2020). « Longitudinal GluCEST MRI Changes and Cerebral Blood Flow in 5xFAD Mice ». *Contrast Media & Molecular Imaging*, 2020, p. 8831936. DOI : [10.1155/2020/8831936](https://doi.org/10.1155/2020/8831936) (cf. p. 34).
- Ji, Y., Lu, D., Sun, P. Z. et Zhou, I. Y. (2023). « In vivo pH mapping with omega plot-based quantitative chemical exchange saturation transfer MRI ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 89(1), p. 299-307. DOI : [10.1002/mrm.29444](https://doi.org/10.1002/mrm.29444) (cf. p. 30, 75, 122).
- Jin, T., Mehrens, H., Hendrich, K. S. et Kim, S.-G. (2014). « Mapping brain glucose uptake with chemical exchange-sensitive spin-lock magnetic resonance imaging ». *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 34(8), p. 1402-1410. DOI : [10.1038/jcbfm.2014.97](https://doi.org/10.1038/jcbfm.2014.97) (cf. p. 171).
- Jin, T., Mehrens, H., Wang, P. et Kim, S.-G. (2016). « Glucose metabolism-weighted imaging with chemical exchange-sensitive MRI of 2-deoxyglucose (2DG) in brain : Sensitivity and biological sources ». *NeuroImage*, 143, p. 82-90. DOI : [10.1016/j.neuroimage.2016.08.040](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.08.040) (cf. p. 177).
- Jones, C. K., Polders, D., Hua, J., Zhu, H., Hoogduin, H. J., Zhou, J., Luijten, P. et Van Zijl, P. C. M. (2012). « In vivo three-dimensional whole-brain pulsed steady-state chemical exchange saturation transfer at 7 T ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 67(6), p. 1579-1589. DOI : [10.1002/mrm.23141](https://doi.org/10.1002/mrm.23141) (cf. p. 80, 81).
- Jones, K. M., Pollard, A. C. et Pagel, M. D. (2018). « Clinical applications of chemical exchange saturation transfer (CEST) MRI : Clinical Applications of CEST MRI ». *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 47(1), p. 11-27. DOI : [10.1002/jmri.25838](https://doi.org/10.1002/jmri.25838) (cf. p. 23, 28).
- Jovic, A., Brkić, K. et Bogunovic, N. (2015). « A review of feature selection methods with applications ». In : *2015 38th International Convention on Information and Communication Technology, Electronics and Microelectronics (MIPRO)*, p. 1200-1205. DOI : [10.1109/MIPRO.2015.7160458](https://doi.org/10.1109/MIPRO.2015.7160458) (cf. p. 187).
- Kang, B., Kim, B., Schär, M., Park, H. et Heo, H.-Y. (2021). « Unsupervised learning for magnetization transfer contrast MR fingerprinting : Application to CEST and nuclear Overhauser enhancement imaging ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 85(4), p. 2040-2054. DOI : [10.1002/mrm.28573](https://doi.org/10.1002/mrm.28573) (cf. p. 94).
- Kasthuri, N., Hayworth, K. J., Berger, D. R., Schalek, R. L., Conchello, J. A., Knowles-Barley, S., Lee, D., Vázquez-Reina, A., Kaynig, V., Jones, T. R., Roberts, M., Morgan, J. L., Tapia, J. C., Seung, H. S., Roncal, W. G., Vogelstein, J. T., Burns, R., Sussman, D. L., Priebe, C. E., Pfister, H. et Lichtman, J. W. (2015). « Saturated Reconstruction of a Volume of Neocortex ». *Cell*, 162(3), p. 648-661. DOI : [10.1016/j.cell.2015.06.054](https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.06.054) (cf. p. 146).
- Khlebnikov, V., Kemp, W. J. M. van der, Hoogduin, H., Klomp, D. W. J. et Prompers, J. J. (2019). « Analysis of chemical exchange saturation transfer contributions from brain metabolites to

- the Z-spectra at various field strengths and pH ». *Scientific Reports*, 9(1), p. 1089. DOI : [10.1038/s41598-018-37295-y](https://doi.org/10.1038/s41598-018-37295-y) (cf. p. 35, 36, 50, 52, 53, 72, 75, 113, 115, 122).
- Kim, B., Schär, M., Park, H. et Heo, H.-Y. (2020). « A deep learning approach for magnetization transfer contrast MR fingerprinting and chemical exchange saturation transfer imaging ». *NeuroImage*, 221, p. 117165. DOI : [10.1016/j.neuroimage.2020.117165](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2020.117165) (cf. p. 92).
- Kim, M., Eleftheriou, A., Ravotto, L., Weber, B., Rivlin, M., Navon, G., Capozza, M., Anemone, A., Longo, D. L., Aime, S., Zaiss, M., Herz, K., Deshmame, A., Lindig, T., Bender, B. et Golay, X. (2022). « What do we know about dynamic glucose-enhanced (DGE) MRI and how close is it to the clinics? Horizon 2020 GLINT consortium report ». *Magma (New York, N.y.)*, 35(1), p. 87-104. DOI : [10.1007/s10334-021-00994-1](https://doi.org/10.1007/s10334-021-00994-1) (cf. p. 35, 170, 177).
- Kim, M., Gillen, J., Landman, B. A., Zhou, J. et Zijl, P. C. van (2009). « Water saturation shift referencing (WASSR) for chemical exchange saturation transfer (CEST) experiments ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 61(6), p. 1441-1450. DOI : [10.1002/mrm.21873](https://doi.org/10.1002/mrm.21873) (cf. p. 42, 126).
- Kogan, F., Haris, M., Debrosse, C., Singh, A., Nanga, R. P., Cai, K., Hariharan, H. et Reddy, R. (2014). « In vivo chemical exchange saturation transfer imaging of creatine (CrCEST) in skeletal muscle at 3T ». *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*, 40(3), p. 596-602. DOI : [10.1002/jmri.24412](https://doi.org/10.1002/jmri.24412) (cf. p. 31).
- Kozler, P., Maresova, D. et Pokorny, J. (2022). « Determination of Brain Water Content by Dry/Wet Weight Measurement for the Detection of Experimental Brain Edema ». *Physiological Research*, 71(6 Suppl 2), S277-S283. DOI : [10.33549/physiolres.934996](https://doi.org/10.33549/physiolres.934996) (cf. p. 115).
- Kujawa, A., Kim, M., Demetriou, E., Anemone, A., Livio Longo, D., Zaiss, M. et Golay, X. (2019). « Assessment of a clinically feasible Bayesian fitting algorithm using a simplified description of Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST) imaging ». *Journal of Magnetic Resonance*, 300, p. 120-134. DOI : [10.1016/j.jmr.2019.01.006](https://doi.org/10.1016/j.jmr.2019.01.006) (cf. p. 75).
- Kulak, A., Duarte, J. M. N., Do, K. Q. et Gruetter, R. (2010). « Neurochemical profile of the developing mouse cortex determined by in vivo 1H NMR spectroscopy at 14.1 T and the effect of recurrent anaesthesia ». *Journal of Neurochemistry*, 115(6), p. 1466-1477. DOI : [10.1111/j.1471-4159.2010.07051.x](https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.07051.x) (cf. p. 75, 132).
- Lauterbur, P. C. (1973). « Image Formation by Induced Local Interactions : Examples Employing Nuclear Magnetic Resonance ». *Nature*, 242(5394). Publisher : Nature Publishing Group, p. 190-191. DOI : [10.1038/242190a0](https://doi.org/10.1038/242190a0) (cf. p. 7).
- Lee, D.-H., Woo, C.-W., Kwon, J.-I., Chae, Y. J., Ham, S. J., Suh, J.-Y., Kim, S.-T., Kim, J. K., Kim, K. W., Woo, D.-C. et Lee, D.-W. (2019). « Cerebral mapping of glutamate using chemical exchange saturation transfer imaging in a rat model of stress-induced sleep disturbance at 7.0T ». *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 50(6), p. 1866-1872. DOI : [10.1002/jmri.26769](https://doi.org/10.1002/jmri.26769) (cf. p. 34).
- Lei, H., Poitry-Yamate, C., Preitner, F., Thorens, B. et Gruetter, R. (2010). « Neurochemical profile of the mouse hypothalamus using in vivo 1H MRS at 14.1T ». *NMR in Biomedicine*, 23(6), p. 578-583. DOI : [10.1002/nbm.1498](https://doi.org/10.1002/nbm.1498) (cf. p. 75, 132).
- Li, H., Luo, X., Qi, K., Lv, Y., Kan, J., Yang, C., Lin, X., Tao, J., Zhang, W., Liu, Y., Rong, K., Wang, A., Jiang, Z. et Li, X. (2024). « Glutamate Chemical Exchange Saturation Transfer (GluCEST) MRI to Evaluate the Rapid Antidepressant Effects of Ketamine in the Hippocampus of Rat Depression

- Model ». *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 59(4), p. 1373-1381. DOI : [10.1002/jmri.28921](https://doi.org/10.1002/jmri.28921) (cf. p. 34).
- Li, J. G., Graham, S. J. et Henkelman, R. M. (1997). « A flexible magnetization transfer line shape derived from tissue experimental data ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 37(6), p. 866-871. DOI : [10.1002/mrm.1910370610](https://doi.org/10.1002/mrm.1910370610) (cf. p. 62).
- Lindeman, L. R., Randtke, E. A., High, R. A., Jones, K. M., Howison, C. M. et Pagel, M. D. (2018). « A comparison of exogenous and endogenous CEST MRI methods for evaluating in vivo pH ». *Magnetic resonance in medicine*, 79(5), p. 2766-2772. DOI : [10.1002/mrm.26924](https://doi.org/10.1002/mrm.26924) (cf. p. 28).
- Ling, W., Regatte, R. R., Navon, G. et Jerschow, A. (2008). « Assessment of glycosaminoglycan concentration in vivo by chemical exchange-dependent saturation transfer (gagCEST) ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(7), p. 2266-2270. DOI : [10.1073/pnas.0707666105](https://doi.org/10.1073/pnas.0707666105) (cf. p. 35).
- Liu, D., Zhou, J., Xue, R., Zuo, Z., An, J. et Wang, D. J. J. (2013). « Quantitative characterization of nuclear overhauser enhancement and amide proton transfer effects in the human brain at 7 tesla ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 70(4), p. 1070-1081. DOI : [10.1002/mrm.24560](https://doi.org/10.1002/mrm.24560) (cf. p. 75, 140).
- Liu, J., Liu, H., Liu, Q., Xu, J., Liu, X., Zheng, H. et Wu, Y. (2022). « Encoding capability prediction of acquisition schedules in CEST MR fingerprinting for pH quantification ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 87(4), p. 2044-2052. DOI : [10.1002/mrm.29074](https://doi.org/10.1002/mrm.29074) (cf. p. 92).
- Loomba, S., Straehle, J., Gangadharan, V., Heike, N., Khalifa, A., Motta, A., Ju, N., Sievers, M., Gempt, J., Meyer, H. S. et Helmstaedter, M. (2022). « Connectomic comparison of mouse and human cortex ». *Science*, 377(6602). Publisher : American Association for the Advancement of Science, eabo0924. DOI : [10.1126/science.abo0924](https://doi.org/10.1126/science.abo0924) (cf. p. 5).
- López-Beltrán, E. A., Maté, M. J. et Cerdán, S. (1996). « Dynamics and environment of mitochondrial water as detected by ^1H NMR ». *The Journal of Biological Chemistry*, 271(18), p. 10648-10653. DOI : [10.1074/jbc.271.18.10648](https://doi.org/10.1074/jbc.271.18.10648) (cf. p. 136).
- Lopez-Kolkovsky, A. L., Mériaux, S. et Boumezbeur, F. (2016). « Metabolite and macromolecule T1 and T2 relaxation times in the rat brain in vivo at 17.2T ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 75(2), p. 503-514. DOI : [10.1002/mrm.25602](https://doi.org/10.1002/mrm.25602) (cf. p. 75, 118).
- Madeira, C., Vargas-Lopes, C., Brandão, C. O., Reis, T., Laks, J., Panizzutti, R. et Ferreira, S. T. (2018). « Elevated Glutamate and Glutamine Levels in the Cerebrospinal Fluid of Patients With Probable Alzheimer's Disease and Depression ». *Frontiers in Psychiatry*, 9. Publisher : Frontiers. DOI : [10.3389/fpsy.2018.00561](https://doi.org/10.3389/fpsy.2018.00561) (cf. p. 7).
- Maguin, C., Mougél, E., Valette, J. et Flament, J. (2024). « Toward quantitative CEST imaging of glutamate in the mouse brain using a multi-pool exchange model calibrated by ^1H -MRS ». *Magnetic Resonance in Medicine*. DOI : [10.1002/mrm.30353](https://doi.org/10.1002/mrm.30353) (cf. p. 132).
- Mansfield, P. et Maudsley, A. A. (1977). « Medical imaging by NMR ». *British Journal of Radiology*, 50(591), p. 188-194. DOI : [10.1259/0007-1285-50-591-188](https://doi.org/10.1259/0007-1285-50-591-188) (cf. p. 7).
- Mao, Y., Zhuang, Z., Chen, Y., Zhang, X., Shen, Y., Lin, G. et Wu, R. (2019). « Imaging of glutamate in acute traumatic brain injury using chemical exchange saturation transfer ». *Quantitative*

- Imaging in Medicine and Surgery*, 9(10), p. 1652-1663. DOI : [10.21037/qims.2019.09.08](https://doi.org/10.21037/qims.2019.09.08) (cf. p. 34).
- Martin, W. R. W. (2007). « MR spectroscopy in neurodegenerative disease ». *Molecular Imaging and Biology*, 9(4), p. 196-203. DOI : [10.1007/s11307-007-0087-2](https://doi.org/10.1007/s11307-007-0087-2) (cf. p. 21).
- Mathieu-Daudé, Y. (2022). « Étude du métabolisme énergétique in vivo par IRM-CEST du glucose ». Thèse de doct. Université Paris-Saclay (cf. p. 1, 35, 167, 171, 173, 174, 177).
- McConnell, H. M. (1958). « Reaction Rates by Nuclear Magnetic Resonance ». *The Journal of Chemical Physics*, 28(3), p. 430-431. DOI : [10.1063/1.1744152](https://doi.org/10.1063/1.1744152) (cf. p. 22, 55).
- McMahon, M. T., Gilad, A. A., Zhou, J., Sun, P. Z., Bulte, J. W. M. et Zijl, P. C. M. van (2006). « Quantifying exchange rates in chemical exchange saturation transfer agents using the saturation time and saturation power dependencies of the magnetization transfer effect on the magnetic resonance imaging signal (QUEST and QUESP) : Ph calibration for poly-L-lysine and a starburst dendrimer ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 55(4), p. 836-847. DOI : [10.1002/mrm.20818](https://doi.org/10.1002/mrm.20818) (cf. p. 86).
- Michaelis, T., Merboldt, K. D., Bruhn, H., Hänicke, W. et Frahm, J. (1993). « Absolute concentrations of metabolites in the adult human brain in vivo : quantification of localized proton MR spectra ». *Radiology*. DOI : [10.1148/radiology.187.1.8451417](https://doi.org/10.1148/radiology.187.1.8451417) (cf. p. 75).
- Morrison, C., Stanisiz, G. et Henkelman, R. M. (1995). « Modeling Magnetization Transfer for Biological-like Systems Using a Semi-solid Pool with a Super-Lorentzian Lineshape and Dipolar Reservoir ». *Journal of Magnetic Resonance, Series B*, 108(2), p. 103-113. DOI : [10.1006/jmrb.1995.1111](https://doi.org/10.1006/jmrb.1995.1111) (cf. p. 61, 140).
- Morrison, C. et Mark Henkelman, R. (1995). « A Model for Magnetization Transfer in Tissues ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 33(4), p. 475-482. DOI : [10.1002/mrm.1910330404](https://doi.org/10.1002/mrm.1910330404) (cf. p. 60).
- Mosso, J., Döring, A., Kreis, R., Cudalbu, C. et Lanz, B. (2024). « Metabolite-cycling at 14.1T : sequence implementation and initial explorations using SPECIAL and diffusion-weighted SPECIAL ». In : *Proceedings of the 2024 Annual Meeting of ISMRM*. Singapore, p. 0252 (cf. p. 133).
- Msayib, Y., Harston, G., Tee, Y., Sheerin, F., Blockley, N., Okell, T., Jezard, P., Kennedy, J. et Chappell, M. (2019). « Quantitative CEST imaging of amide proton transfer in acute ischaemic stroke ». *NeuroImage : Clinical*, 23, p. 101833. DOI : [10.1016/j.nicl.2019.101833](https://doi.org/10.1016/j.nicl.2019.101833) (cf. p. 75).
- Mulkern, R. V. et Williams, M. L. (1993). « The general solution to the Bloch equation with constant rf and relaxation terms : application to saturation and slice selection ». *Medical Physics*, 20(1), p. 5-13. DOI : [10.1118/1.597063](https://doi.org/10.1118/1.597063) (cf. p. 80).
- Nagar, D., Vladimirov, N., Farrar, C. T. et Perlman, O. (2023). « Dynamic and rapid deep synthesis of chemical exchange saturation transfer and semisolid magnetization transfer MRI signals ». *Scientific Reports*, 13(1). Publisher : Nature Publishing Group, p. 18291. DOI : [10.1038/s41598-023-45548-8](https://doi.org/10.1038/s41598-023-45548-8) (cf. p. 69, 70).
- Neal, A., Moffat, B. A., Stein, J. M., Nanga, R. P. R., Desmond, P., Shinohara, R. T., Hariharan, H., Glarin, R., Drummond, K., Morokoff, A., Kwan, P., Reddy, R., O'Brien, T. J. et Davis, K. A. (2019). « Glutamate weighted imaging contrast in gliomas with 7Tesla magnetic resonance imaging ». *NeuroImage. Clinical*, 22, p. 101694. DOI : [10.1016/j.nicl.2019.101694](https://doi.org/10.1016/j.nicl.2019.101694) (cf. p. 34, 77).

- Near, J., Harris, A. D., Juchem, C., Kreis, R., Marjańska, M., Öz, G., Slotboom, J., Wilson, M. et Gasparovic, C. (2021). « Preprocessing, analysis and quantification in single-voxel magnetic resonance spectroscopy : Experts consensus recommendations ». *NMR in biomedicine*, 34(5), e4257. DOI : [10.1002/nbm.4257](https://doi.org/10.1002/nbm.4257) (cf. p. 116, 132).
- Neuhaus, D. et Williamson, M. P. (2000). *The Nuclear Overhauser Effect in Structural and Conformational Analysis* (cf. p. 59).
- O'Grady, K. P., Dula, A. N., Lyttle, B. D., Thompson, L. M., Conrad, B. N., Box, B. A., McKeithan, L. J., Pawate, S., Bagnato, F., Landman, B. A., Newhouse, P. et Smith, S. A. (2019). « Glutamate Sensitive Imaging and Evaluation of Cognitive Impairment in Multiple Sclerosis ». *Multiple sclerosis (Houndmills, Basingstoke, England)*, 25(12), p. 1580-1592. DOI : [10.1177/1352458518799583](https://doi.org/10.1177/1352458518799583) (cf. p. 34).
- Pampel, A., Müller, D. K., Anwander, A., Marschner, H. et Möller, H. E. (2015). « Orientation dependence of magnetization transfer parameters in human white matter ». *NeuroImage*, 114, p. 136-146. DOI : [10.1016/j.neuroimage.2015.03.068](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.03.068) (cf. p. 62).
- Pépin, J. (2018). « Développement de l'imagerie métabolique par IRM-CEST : application à la maladie de Huntington ». Thèse de doct. Université Paris-Saclay (cf. p. 1).
- Pépin, J., Jegou, P., Valette, J., Bonvento, G. et Flament, J. (2017). « Imaging of neuronal compartment using gluCEST method. » In : *Proceedings of the 25th Annual Meeting of ISMRM*. Honolulu, HI, p. 3741 (cf. p. 33).
- Pépin, J., Longprez, L. de, Trovero, E., Brouillet, E., Valette, J. et Flament, J. (2020). « Complementarity of gluCEST and 1H-MRS for the study of mouse models of Huntington's disease ». *NMR in Biomedicine*, 33(7), e4301. DOI : [10.1002/nbm.4301](https://doi.org/10.1002/nbm.4301) (cf. p. 34, 105).
- Perlman, O., Farrar, C. T. et Heo, H.-Y. (2022). « MR fingerprinting for semisolid magnetization transfer and chemical exchange saturation transfer quantification ». *NMR in Biomedicine*, n/a, e4710. DOI : [10.1002/nbm.4710](https://doi.org/10.1002/nbm.4710) (cf. p. 92).
- Perlman, O., Herz, K., Zaiss, M., Cohen, O., Rosen, M. S. et Farrar, C. T. (2020). « CEST MR-Fingerprinting : Practical considerations and insights for acquisition schedule design and improved reconstruction ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 83(2), p. 462-478. DOI : [10.1002/mrm.27937](https://doi.org/10.1002/mrm.27937) (cf. p. 92, 180, 181).
- Perlman, O., Zhu, B., Zaiss, M., Rosen, M. S. et Farrar, C. T. (2022). « An end-to-end AI-based framework for automated discovery of rapid CEST/MT MRI acquisition protocols and molecular parameter quantification (AutoCEST) ». *Magnetic Resonance in Medicine*, n/a. DOI : [10.1002/mrm.29173](https://doi.org/10.1002/mrm.29173) (cf. p. 94, 181).
- Pérot, J.-B. (2021). « IRM multiparamétrique pour la recherche de biomarqueurs précoces des maladies par expansion de polyglutamine ». Thèse de doct. Université Paris-Saclay (cf. p. 1).
- Prevost, V. H., Girard, O. M., Mchinda, S., Varma, G., Alsop, D. C. et Duhamel, G. (2017). « Optimization of inhomogeneous magnetization transfer (ihMT) MRI contrast for preclinical studies using dipolar relaxation time (T1D) filtering ». *NMR in biomedicine*, 30(6). DOI : [10.1002/nbm.3706](https://doi.org/10.1002/nbm.3706) (cf. p. 139).
- Provencher, S. W. (2001). « Automatic quantitation of localized in vivo 1H spectra with LCModel ». *NMR in biomedicine*, 14(4), p. 260-264. DOI : [10.1002/nbm.698](https://doi.org/10.1002/nbm.698) (cf. p. 103).

- Provotorov, B. N. (1962). « Theory of Double Magnetic Resonance in Solids ». *Physical Review*, 128(1). Publisher : American Physical Society, p. 75-76. DOI : [10.1103/PhysRev.128.75](https://doi.org/10.1103/PhysRev.128.75) (cf. p. 62).
- Reichmann, F., Painsipp, E., Holzer, P., Kummer, D., Bock, E. et Leitinger, G. (2015). « A novel unbiased counting method for the quantification of synapses in the mouse brain ». *Journal of Neuroscience Methods*, 240. Publisher : Elsevier, p. 13. DOI : [10.1016/j.jneumeth.2014.10.020](https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2014.10.020) (cf. p. 146).
- Riveros, N., Fiedler, J., Lagos, N., Muñoz, C. et Orrego, F. (1986). « Glutamate in rat brain cortex synaptic vesicles : influence of the vesicle isolation procedure ». *Brain Research*, 386(1), p. 405-408. DOI : [10.1016/0006-8993\(86\)90181-2](https://doi.org/10.1016/0006-8993(86)90181-2) (cf. p. 145).
- Roalf, D. R., Nanga, R. P. R., Rupert, P. E., Hariharan, H., Quarmley, M., Calkins, M. E., Dress, E., Prabhakaran, K., Elliott, M. A., Moberg, P. J., Gur, R. C., Gur, R. E., Reddy, R. et Turetsky, B. I. (2017). « Glutamate imaging (GluCEST) reveals lower brain GluCEST contrast in patients on the psychosis spectrum ». *Molecular psychiatry*, 22(9), p. 1298-1305. DOI : [10.1038/mp.2016.258](https://doi.org/10.1038/mp.2016.258) (cf. p. 34).
- Santuy, A., Tomás-Roca, L., Rodríguez, J.-R., González-Soriano, J., Zhu, F., Qiu, Z., Grant, S. G. N., DeFelipe, J. et Merchán-Pérez, A. (2020). « Estimation of the number of synapses in the hippocampus and brain-wide by volume electron microscopy and genetic labeling ». *Scientific Reports*, 10(1). Publisher : Nature Publishing Group, p. 14014. DOI : [10.1038/s41598-020-70859-5](https://doi.org/10.1038/s41598-020-70859-5) (cf. p. 146).
- Schröder, L., Lowery, T. J., Hilty, C., Wemmer, D. E. et Pines, A. (2006). « Molecular imaging using a targeted magnetic resonance hyperpolarized biosensor ». *Science (New York, N.Y.)*, 314(5798), p. 446-449. DOI : [10.1126/science.1131847](https://doi.org/10.1126/science.1131847) (cf. p. 29).
- Schuenke, P., Herz, K., Zu, Z., Yadav, N., Huemer, M., Stollberger, R., Xu, J., Wang, K., Longo, D., van Zijl, P. C. et Zaiss, M. (2023). « BMSim_challenge - Validate your CEST simulation! » In : *Proceedings of the 2023 Annual Meeting of ISMRM*. T. #0907. Toronto (cf. p. 90, 133).
- Schulte, R. F. et Boesiger, P. (2006). « ProFit : two-dimensional prior-knowledge fitting of J-resolved spectra ». *NMR in biomedicine*, 19(2), p. 255-263. DOI : [10.1002/nbm.1026](https://doi.org/10.1002/nbm.1026) (cf. p. 104).
- Schulze, A. (2003). « Creatine deficiency syndromes ». *Molecular and Cellular Biochemistry*, 244(1-2), p. 143-150 (cf. p. 30).
- Schüz, A. et Palm, G. (1989). « Density of neurons and synapses in the cerebral cortex of the mouse ». *Journal of Comparative Neurology*, 286(4), p. 442-455. DOI : [10.1002/cne.902860404](https://doi.org/10.1002/cne.902860404) (cf. p. 146).
- Shah, N. J., Abbas, Z., Ridder, D., Zimmermann, M. et Oros-Peusquens, A.-M. (2022). « A novel MRI-based quantitative water content atlas of the human brain ». *NeuroImage*, 252, p. 119014. DOI : [10.1016/j.neuroimage.2022.119014](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2022.119014) (cf. p. 115, 116).
- Shampine, L. F. et Gordon, M. K. (1975). *Computer solution of ordinary differential equations : the initial value problem*. OCLC : 1093545. W.H. Freeman (cf. p. 64).
- Sheikh-Bahaei, N. (2024). « Magnetic Resonance Spectroscopy (MRS) in Alzheimers Disease ». In : *Biomarkers for Alzheimers Disease Drug Development*. Sous la dir. de R. Perneczky. New York, NY : Springer US, p. 115-142. DOI : [10.1007/978-1-0716-3774-6_9](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3774-6_9) (cf. p. 21).

- Singh, A., Debnath, A., Cai, K., Bagga, P., Haris, M., Hariharan, H. et Reddy, R. (2019). « Evaluating the feasibility of creatine-weighted CEST MRI in human brain at 7 T using a Z-spectral fitting approach ». *NMR in Biomedicine*, 32(12), e4176. DOI : [10.1002/nbm.4176](https://doi.org/10.1002/nbm.4176) (cf. p. 30).
- Singh, M. et Heo, H.-Y. (2023). « Sequence optimization for saturation transfer MR fingerprinting ». In : *Proceedings of the 2023 Annual Meeting of ISMRM*. Toronto, p. 3281 (cf. p. 182).
- Singh, M., Jiang, S., Li, Y., Zijl, P. van, Zhou, J. et Heo, H.-Y. (2023). « Bloch simulator-driven deep recurrent neural network for magnetization transfer contrast MR fingerprinting and CEST imaging ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 90(4), p. 1518-1536. DOI : [10.1002/mrm.29748](https://doi.org/10.1002/mrm.29748) (cf. p. 92).
- Sled, J. G. (2018). « Modelling and interpretation of magnetization transfer imaging in the brain ». *NeuroImage. Microstructural Imaging*, 182, p. 128-135. DOI : [10.1016/j.neuroimage.2017.11.065](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2017.11.065) (cf. p. 62).
- Smith, S. A., Bulte, J. W. et Van Zijl, P. C. (2009). « Direct saturation MRI : Theory and application to imaging brain iron ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 62(2), p. 384-393. DOI : [10.1002/mrm.21980](https://doi.org/10.1002/mrm.21980) (cf. p. 80).
- Solomon, I. (1955). « Relaxation Processes in a System of Two Spins ». *Physical Review*, 99(2). Publisher : American Physical Society, p. 559-565. DOI : [10.1103/PhysRev.99.559](https://doi.org/10.1103/PhysRev.99.559) (cf. p. 58).
- Stanisz, G. J., Odobina, E. E., Pun, J., Escaravage, M., Graham, S. J., Bronskill, M. J. et Henkelman, R. M. (2005). « T1, T2 relaxation and magnetization transfer in tissue at 3T ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 54(3), p. 507-512. DOI : [10.1002/mrm.20605](https://doi.org/10.1002/mrm.20605) (cf. p. 67).
- Stefan, D., Cesare, F. D., Andrasescu, A., Popa, E., Lazariiev, A., Vescovo, E., Strbak, O., Williams, S., Starcuk, Z., Cabanas, M., Ormond, D. v. et Graveron-Demilly, D. (2009). « Quantitation of magnetic resonance spectroscopy signals : the jMRUI software package ». *Measurement Science and Technology*, 20(10), p. 104035. DOI : [10.1088/0957-0233/20/10/104035](https://doi.org/10.1088/0957-0233/20/10/104035) (cf. p. 103).
- Suetens, P. (2009). *Fundamentals of Medical Imaging*. 2^e éd. Cambridge : Cambridge University Press. DOI : [10.1017/CB09780511596803](https://doi.org/10.1017/CB09780511596803) (cf. p. 9, 10, 12, 14).
- Sun, P. Z. (2021). « Quasisteady-state CEST (QUASS CEST) solution improves the accuracy of CEST quantification : QUASS CEST MRI-based omega plot analysis ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 86(2), p. 765-776. DOI : [10.1002/mrm.28744](https://doi.org/10.1002/mrm.28744) (cf. p. 86).
- Sun, P. Z., Van Zijl, P. C. M. et Zhou, J. (2005). « Optimization of the irradiation power in chemical exchange dependent saturation transfer experiments ». *Journal of Magnetic Resonance*, 175(2), p. 193-200. DOI : [10.1016/j.jmr.2005.04.005](https://doi.org/10.1016/j.jmr.2005.04.005) (cf. p. 44).
- Sydnor, V. J., Larsen, B., Kohler, C., Crow, A. J. D., Rush, S. L., Calkins, M. E., Gur, R. C., Gur, R. E., Ruparel, K., Kable, J. W., Young, J. F., Chawla, S., Elliott, M. A., Shinohara, R. T., Nanga, R. P. R., Reddy, R., Wolf, D. H., Satterthwaite, T. D. et Roalf, D. R. (2021). « Diminished Reward Responsiveness is Associated with Lower Reward Network GluCEST : An Ultra-High Field Glutamate Imaging Study ». *Molecular psychiatry*, 26(6), p. 2137-2147. DOI : [10.1038/s41380-020-00986-y](https://doi.org/10.1038/s41380-020-00986-y) (cf. p. 34).
- Yu-Taeger, L., Petrasch-Parwez, E., Osmand, A. P., Redensek, A., Metzger, S., Clemens, L. E., Park, L., Howland, D., Calaminus, C., Gu, X., Pichler, B., Yang, X. W., Riess, O. et Nguyen, H. P. (2012). « A novel BACHD transgenic rat exhibits characteristic neuropathological features of Hunting-

- ton disease ». *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 32(44), p. 15426-15438. DOI : [10.1523/JNEUROSCI.1148-12.2012](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1148-12.2012) (cf. p. 167).
- Tanenbaum, L., Tsiouris, A., Johnson, A., Naidich, T., DeLano, M., Melhem, E., Quarterman, P., Parameswaran, S., Shankaranarayanan, A., Goyen, M. et Field, A. (2017). « Synthetic MRI for Clinical Neuroimaging : Results of the Magnetic Resonance Image Compilation (MAGiC) Prospective, Multicenter, Multireader Trial ». *American Journal of Neuroradiology*, 38(6), p. 1103-1110. DOI : [10.3174/ajnr.A5227](https://doi.org/10.3174/ajnr.A5227) (cf. p. 17).
- Tkac, I., Dubinsky, J. M., Keene, C. D., Gruetter, R. et Low, W. C. (2007). « Neurochemical changes in Huntington R6/2 mouse striatum detected by in vivo 1H NMR spectroscopy ». *Journal of Neurochemistry*, 100(5), p. 1397-1406. DOI : [10.1111/j.1471-4159.2006.04323.x](https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.04323.x) (cf. p. 75, 132).
- Tkác, I., Starcuk, Z., Choi, I. Y. et Gruetter, R. (1999). « In vivo 1H NMR spectroscopy of rat brain at 1 ms echo time ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 41(4), p. 649-656. DOI : [10.1002/\(sici\)1522-2594\(199904\)41:4<649::aid-mrm2>3.0.co;2-g](https://doi.org/10.1002/(sici)1522-2594(199904)41:4<649::aid-mrm2>3.0.co;2-g) (cf. p. 103).
- Tomba, C. (2014). « Primary brain cells in in vitro controlled microenvironments : single cell behaviors for collective functions ». Thèse de doct. (cf. p. 5).
- Van Zijl, P. C. M. et Barker, P. B. (1997). « Magnetic Resonance Spectroscopy and Spectroscopic Imaging for the Study of Brain Metabolism ». *Annals of the New York Academy of Sciences*, 820(1), p. 75-96. DOI : [10.1111/j.1749-6632.1997.tb46190.x](https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1997.tb46190.x) (cf. p. 75).
- Van Zijl, P. C. M., Jones, C. K., Ren, J., Malloy, C. R. et Sherry, A. D. (2007). « MRI detection of glycogen in vivo by using chemical exchange saturation transfer imaging (glycoCEST) ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(11), p. 4359-4364. DOI : [10.1073/pnas.0700281104](https://doi.org/10.1073/pnas.0700281104) (cf. p. 36).
- Van Zijl, P. C. M. et Yadav, N. N. (2011). « Chemical exchange saturation transfer (CEST) : What is in a name and what isn't? : CEST : What is in a Name and What Isn't? ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 65(4), p. 927-948. DOI : [10.1002/mrm.22761](https://doi.org/10.1002/mrm.22761) (cf. p. 32).
- Van Zijl, P. C., Lam, W. W., Xu, J., Knutsson, L. et Stanisiz, G. J. (2018). « Magnetization Transfer Contrast and Chemical Exchange Saturation Transfer MR. Features and analysis of the field-dependent saturation spectrum ». *NeuroImage*, 168, p. 222-241. DOI : [10.1016/j.neuroimage.2017.04.045](https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2017.04.045) (cf. p. 59, 75).
- Van Zijl, P. C., Zhou, J., Mori, N., Payen, J.-E., Wilson, D. et Mori, S. (2003). « Mechanism of magnetization transfer during on-resonance water saturation. A new approach to detect mobile proteins, peptides, and lipids ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 49(3), p. 440-449. DOI : [10.1002/mrm.10398](https://doi.org/10.1002/mrm.10398) (cf. p. 59, 60).
- Venkatesh, B. et Anuradha, J. (2019). « A Review of Feature Selection and Its Methods ». *Cybernetics and Information Technologies*, 19(1), p. 3-26. DOI : [10.2478/cait-2019-0001](https://doi.org/10.2478/cait-2019-0001) (cf. p. 184, 187).
- Vinogradov, E., Sherry, A. D. et Lenkinski, R. E. (2013). « CEST : From basic principles to applications, challenges and opportunities ». *Journal of Magnetic Resonance*, 229, p. 155-172. DOI : [10.1016/j.jmr.2012.11.024](https://doi.org/10.1016/j.jmr.2012.11.024) (cf. p. 29).

- Viswanathan, M., Kurmi, Y. et Zu, Z. (2024). « Nuclear Overhauser enhancement imaging at 1.6 ppm in rat brain at 4.7T ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 91(2), p. 615-629. DOI : [10.1002/mrm.29896](https://doi.org/10.1002/mrm.29896) (cf. p. 122).
- Wang, H., Tan, L., Wang, H.-F., Liu, Y., Yin, R.-H., Wang, W.-Y., Chang, X.-L., Jiang, T. et Yu, J.-T. (2015). « Magnetic Resonance Spectroscopy in Alzheimer's Disease : Systematic Review and Meta-Analysis ». *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 46(4), p. 1049-1070. DOI : [10.3233/JAD-143225](https://doi.org/10.3233/JAD-143225) (cf. p. 21).
- Wang, K., Huang, J., Ju, L., Xu, S., Gullapalli, R. P., Liang, Y., Rogers, J., Li, Y., Zijl, P. C. M. van, Weiss, R. G., Chan, K. W. Y. et Xu, J. (2024). « Creatine mapping of the brain at 3T by CEST MRI ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 91(1), p. 51-60. DOI : [10.1002/mrm.29876](https://doi.org/10.1002/mrm.29876) (cf. p. 30, 126).
- Ward, K. M., Aletras, A. H. et Balaban, R. S. (2000). « A new class of contrast agents for MRI based on proton chemical exchange dependent saturation transfer (CEST) ». *Journal of Magnetic Resonance (San Diego, Calif. : 1997)*, 143(1), p. 79-87. DOI : [10.1006/jmre.1999.1956](https://doi.org/10.1006/jmre.1999.1956) (cf. p. 22, 28).
- Weigand-Whittier, J., Sedykh, M., Herz, K., Coll-Font, J., Foster, A. N., Gerstner, E. R., Nguyen, C., Zaiss, M., Farrar, C. T. et Perlman, O. (2023). « Accelerated and quantitative three-dimensional molecular MRI using a generative adversarial network ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 89(5), p. 1901-1914. DOI : [10.1002/mrm.29574](https://doi.org/10.1002/mrm.29574) (cf. p. 94).
- Weinberg, B. D., Kuruva, M., Shim, H. et Mullins, M. E. (2021). « Clinical applications of magnetic resonance spectroscopy (MRS) in of brain tumors : from diagnosis to treatment ». *Radiologic clinics of North America*, 59(3), p. 349-362. DOI : [10.1016/j.rcl.2021.01.004](https://doi.org/10.1016/j.rcl.2021.01.004) (cf. p. 21).
- Wermter, F. C., Bock, C. et Dreher, W. (2015). « Investigating GluCEST and its specificity for pH mapping at low temperatures ». *NMR in Biomedicine*, 28(11), p. 1507-1517. DOI : [10.1002/nbm.3416](https://doi.org/10.1002/nbm.3416) (cf. p. 72, 75, 111, 113, 122).
- Westi, E. W., Andersen, J. V. et Aldana, B. I. (2023). « Using stable isotope tracing to unravel the metabolic components of neurodegeneration : Focus on neuron-glia metabolic interactions ». *Neurobiology of Disease*, 182, p. 106145. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2023.106145> (cf. p. 6).
- Wilson, M., Reynolds, G., Kauppinen, R. A., Arvanitis, T. N. et Peet, A. C. (2011). « A constrained least-squares approach to the automated quantitation of in vivo ^1H magnetic resonance spectroscopy data ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 65(1), p. 1-12. DOI : [10.1002/mrm.22579](https://doi.org/10.1002/mrm.22579) (cf. p. 103).
- Woessner, D. E., Zhang, S., Merritt, M. E. et Sherry, A. D. (2005). « Numerical solution of the Bloch equations provides insights into the optimum design of PARACEST agents for MRI ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 53(4), p. 790-799. DOI : [10.1002/mrm.20408](https://doi.org/10.1002/mrm.20408) (cf. p. 64).
- Wolff, S. D. et Balaban, R. S. (1989). « Magnetization transfer contrast (MTC) and tissue water proton relaxation in vivo ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 10(1), p. 135-144. DOI : [10.1002/mrm.1910100113](https://doi.org/10.1002/mrm.1910100113) (cf. p. 22).
- Wong, H. H.-W., Chou, C. Y. C., Watt, A. J. et Sjöström, P. J. (2023). « Comparing mouse and human brains ». *eLife*, 12, e90017. DOI : [10.7554/eLife.90017](https://doi.org/10.7554/eLife.90017) (cf. p. 5).

- Woods, M., Woessner, D. E. et Sherry, A. D. (2006). « Paramagnetic lanthanide complexes as PARACEST agents for medical imaging ». *Chem. Soc. Rev.*, 35 (6), p. 500-511. DOI : [10.1039/B509907M](https://doi.org/10.1039/B509907M) (cf. p. 28).
- Xin, L., Gambarota, G., Mlynárik, V. et Gruetter, R. (2008). « Proton T2 relaxation time of J-coupled cerebral metabolites in rat brain at 9.4 T ». *NMR in Biomedicine*, 21(4). _eprint : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/nbm.1205>, p. 396-401. DOI : [10.1002/nbm.1205](https://doi.org/10.1002/nbm.1205) (cf. p. 118).
- Xu, J., Zaiss, M., Zu, Z., Li, H., Xie, J., Gochberg, D. F., Bachert, P. et Gore, J. C. (2014). « On the origins of chemical exchange saturation transfer (CEST) contrast in tumors at 9.4 T ». *NMR in Biomedicine*, 27(4), p. 406-416. DOI : [10.1002/nbm.3075](https://doi.org/10.1002/nbm.3075) (cf. p. 31, 79, 80).
- Yadav, N. N., Xu, J., Xu, X., McMahon, M. T. et Van Zijl, P. C. M. (2014). « Hybrid frequency encoding/water relaxation method for detecting exchangeable solute protons with increased sensitivity and specificity ». In : *Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med.* 22 (cf. p. 75, 113).
- Yan, G., Zhang, T., Dai, Z., Yi, M., Jia, Y., Nie, T., Zhang, H., Xiao, G. et Wu, R. (2016). « A Potential Magnetic Resonance Imaging Technique Based on Chemical Exchange Saturation Transfer for In Vivo -Aminobutyric Acid Imaging ». *PLoS ONE*, 11(10), e0163765. DOI : [10.1371/journal.pone.0163765](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163765) (cf. p. 36).
- Yanez Lopez, M., Pardon, M.-C., Baiker, K., Prior, M., Yuchun, D., Agostini, A., Bai, L., Auer, D. P. et Faas, H. M. (2019). « Myoinositol CEST signal in animals with increased Iba-1 levels in response to an inflammatory challenge Preliminary findings ». *PLoS ONE*, 14(2), e0212002. DOI : [10.1371/journal.pone.0212002](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212002) (cf. p. 36).
- Yang, N. J. et Hinner, M. J. (2015). « Getting Across the Cell Membrane : An Overview for Small Molecules, Peptides, and Proteins ». *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1266, p. 29-53. DOI : [10.1007/978-1-4939-2272-7_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2272-7_3) (cf. p. 147).
- Zaiss, M., Anemone, A., Goerke, S., Longo, D. L., Herz, K., Pohmann, R., Aime, S., Rivlin, M., Navon, G., Golay, X. et Scheffler, K. (2019). « Quantification of hydroxyl exchange of D-Glucose at physiological conditions for optimization of glucoCEST MRI at 3, 7 and 9.4 Tesla ». *NMR in biomedicine*, 32(9), e4113. DOI : [10.1002/nbm.4113](https://doi.org/10.1002/nbm.4113) (cf. p. 75, 168, 177).
- Zaiss, M., Angelovski, G., Demetriou, E., McMahon, M. T., Golay, X. et Scheffler, K. (2018). « QUESP and QUEST revisited - fast and accurate quantitative CEST experiments ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 79(3), p. 1708-1721. DOI : [10.1002/mrm.26813](https://doi.org/10.1002/mrm.26813) (cf. p. 86, 87).
- Zaiss, M. et Bachert, P. (2013a). « Chemical exchange saturation transfer (CEST) and MR Z -spectroscopy *in vivo* : a review of theoretical approaches and methods ». *Physics in Medicine and Biology*, 58(22), R221-R269. DOI : [10.1088/0031-9155/58/22/R221](https://doi.org/10.1088/0031-9155/58/22/R221) (cf. p. 57, 59, 65).
- (2013b). « Exchange-dependent relaxation in the rotating frame for slow and intermediate exchange modeling off-resonant spin-lock and chemical exchange saturation transfer ». *NMR in Biomedicine*, 26(5), p. 507-518. DOI : [10.1002/nbm.2887](https://doi.org/10.1002/nbm.2887) (cf. p. 44, 64-66, 68, 193).
- Zaiss, M., Schmitt, B. et Bachert, P. (2011). « Quantitative separation of CEST effect from magnetization transfer and spillover effects by Lorentzian-line-fit analysis of z-spectra ». *Journal of Magnetic Resonance (San Diego, Calif. : 1997)*, 211(2), p. 149-155. DOI : [10.1016/j.jmr.2011.05.001](https://doi.org/10.1016/j.jmr.2011.05.001) (cf. p. 87).

- Zaiss, M., Xu, J., Goerke, S., Khan, I. S., Singer, R. J., Gore, J. C., Gochberg, D. F. et Bachert, P. (2014). « Inverse Z-spectrum analysis for spillover-, MT-, and T1-corrected steady-state pulsed CEST-MRI application to pH-weighted MRI of acute stroke ». *NMR in Biomedicine*, 27(3), p. 240-252. DOI : [10.1002/nbm.3054](https://doi.org/10.1002/nbm.3054) (cf. p. 79, 82, 83).
- Zaiss, M., Zu, Z., Xu, J., Schuenke, P., Gochberg, D. F., Gore, J. C., Ladd, M. E. et Bachert, P. (2015). « A combined analytical solution for Chemical Exchange Saturation Transfer and semi-solid Magnetization Transfer ». *NMR in biomedicine*, 28(2), p. 217-230. DOI : [10.1002/nbm.3237](https://doi.org/10.1002/nbm.3237) (cf. p. 61, 67, 75, 140).
- Zeng, Z., Dong, Y., Zou, L., Xu, D., Luo, X., Chu, T., Wang, J., Ren, Q., Liu, Q. et Li, X. (2023). « Glu-CEST Imaging and Structural Alterations of the Bilateral Hippocampus in First-Episode and Early-Onset Major Depression Disorder ». *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*, 58(5), p. 1431-1440. DOI : [10.1002/jmri.28651](https://doi.org/10.1002/jmri.28651) (cf. p. 34).
- Zhang, X.-Y., Wang, F., Jin, T., Xu, J., Xie, J., Gochberg, D. F., Gore, J. C. et Zu, Z. (2017). « MR imaging of a novel NOE-mediated magnetization transfer with water in rat brain at 9.4T ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 78(2), p. 588-597. DOI : [10.1002/mrm.26396](https://doi.org/10.1002/mrm.26396) (cf. p. 59).
- Zhang, X.-Y., Wang, F., Li, H., Xu, J., Gochberg, D. F., Gore, J. C. et Zu, Z. (2017). « Accuracy in the quantification of chemical exchange saturation transfer (CEST) and relayed nuclear Overhauser enhancement (rNOE) saturation transfer effects ». *NMR in Biomedicine*, 30(7), e3716. DOI : [10.1002/nbm.3716](https://doi.org/10.1002/nbm.3716) (cf. p. 59, 75, 80, 81).
- Zhang, Y. et Shen, J. (2016). « Simultaneous quantification of glutamate and glutamine by J-modulated spectroscopy at 3 Tesla ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 76(3), p. 725-732. DOI : [10.1002/mrm.25922](https://doi.org/10.1002/mrm.25922) (cf. p. 75).
- Zhang, Z., Wang, K., Park, S., Li, A., Li, Y., Weiss, R. G. et Xu, J. (2023). « The exchange rate of creatine CEST in mouse brain ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 90(2), p. 373-384. DOI : [10.1002/mrm.29662](https://doi.org/10.1002/mrm.29662) (cf. p. 30, 31, 75, 122, 133).
- Zhao, Y., Wang, X., Wang, Y., Wang, B., Zhang, L., Wei, X. et He, X. (2022). « Application of a Markov chain Monte Carlo method for robust quantification in chemical exchange saturation transfer magnetic resonance imaging ». *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*, 12(11), p. 5140-5155. DOI : [10.21037/qims-22-313](https://doi.org/10.21037/qims-22-313) (cf. p. 90).
- Zhao, Y., Sun, C. et Zu, Z. (2023). « Assignment of molecular origins of NOE signal at 3.5 ppm in the brain ». *Magnetic Resonance in Medicine*, n/a(n/a). DOI : [10.1002/mrm.29643](https://doi.org/10.1002/mrm.29643) (cf. p. 59).
- Zhou, I. Y., Wang, E., Cheung, J. S., Zhang, X., Fulci, G. et Sun, P. Z. (2017). « Quantitative chemical exchange saturation transfer (CEST) MRI of glioma using Image Downsampling Expedited Adaptive Least-squares (IDEAL) fitting ». *Scientific Reports*, 7(1), p. 84. DOI : [10.1038/s41598-017-00167-y](https://doi.org/10.1038/s41598-017-00167-y) (cf. p. 88).
- Zhou, J., Payen, J.-F., Wilson, D. A., Traystman, R. J. et Van Zijl, P. C. M. (2003). « Using the amide proton signals of intracellular proteins and peptides to detect pH effects in MRI ». *Nature Medicine*, 9(8), p. 1085-1090. DOI : [10.1038/nm907](https://doi.org/10.1038/nm907) (cf. p. 29, 75, 122).
- Zhou, J., Tryggstad, E., Wen, Z., Lal, B., Zhou, T., Grossman, R., Wang, S., Yan, K., Fu, D.-X., Ford, E., Tyler, B., Blakeley, J., Laterra, J. et Van Zijl, P. C. M. (2011). « Differentiation between glioma and radiation necrosis using molecular magnetic resonance imaging of endogenous proteins and peptides ». *Nature medicine*, 17(1), p. 130-134. DOI : [10.1038/nm.2268](https://doi.org/10.1038/nm.2268) (cf. p. 29).

- Zhou, J., Wilson, D. A., Sun, P. Z., Klaus, J. A. et Van Zijl, P. C. M. (2004). « Quantitative description of proton exchange processes between water and endogenous and exogenous agents for WEX, CEST, and APT experiments ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 51(5), p. 945-952. DOI : [10.1002/mrm.20048](https://doi.org/10.1002/mrm.20048) (cf. p. 86).
- Zhou, Y., Bie, C., Zijl, P. C. M. van et Yadav, N. N. (2023). « The relayed nuclear Overhauser effect in magnetization transfer and chemical exchange saturation transfer MRI ». *NMR in Biomedicine*, 36(6), e4778. DOI : [10.1002/nbm.4778](https://doi.org/10.1002/nbm.4778) (cf. p. 58, 59).
- Zhou, Z., Han, P., Zhou, B., Christodoulou, A. G., Shaw, J. L., Deng, Z. et Li, D. (2018). « Chemical exchange saturation transfer fingerprinting for exchange rate quantification ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 80(4), p. 1352-1363. DOI : [10.1002/mrm.27363](https://doi.org/10.1002/mrm.27363) (cf. p. 91).
- Zhu, F., Cizeron, M., Qiu, Z., Benavides-Piccione, R., Kopanitsa, M. V., Skene, N. G., Koniaris, B., DeFelipe, J., Fransén, E., Komiyama, N. H. et Grant, S. G. (2018). « Architecture of the Mouse Brain Synaptome ». *Neuron*, 99(4), 781-799.e10. DOI : [10.1016/j.neuron.2018.07.007](https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.07.007) (cf. p. 163).
- Zhuang, Z., Shen, Z., Chen, Y., Dai, Z., Zhang, X., Mao, Y., Zhang, B., Zeng, H., Chen, P. et Wu, R. (2019). « Mapping the Changes of Glutamate Using Glutamate Chemical Exchange Saturation Transfer (GluCEST) Technique in a Traumatic Brain Injury Model : A Longitudinal Pilot Study ». *ACS Chemical Neuroscience*, 10(1). Publisher : American Chemical Society, p. 649-657. DOI : [10.1021/acscchemneuro.8b00482](https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.8b00482) (cf. p. 34).
- Zu, Z. (2018). « Ratiometric NOE(1.6) contrast in brain tumors ». *NMR in Biomedicine*, 31(12), e4017. DOI : [10.1002/nbm.4017](https://doi.org/10.1002/nbm.4017) (cf. p. 59, 75).
- Zu, Z., Lin, E. C., Louie, E. A., Xu, J., Li, H., Xie, J., Lankford, C. L., Chekmenev, E. Y., Swanson, S. D., Does, M. D., Gore, J. C. et Gochberg, D. F. (2020). « Relayed nuclear Overhauser enhancement sensitivity to membrane Cho phospholipids ». *Magnetic Resonance in Medicine*, 84(4), p. 1961-1976. DOI : [10.1002/mrm.28258](https://doi.org/10.1002/mrm.28258) (cf. p. 59).

Table des figures

1	Cellules du cerveaux et synapses	4
2	Comparaison des cerveaux rongeurs et humain	5
3	Métabolisme du cerveau	6
4	Evolution au cours du temps des biomarqueurs de la maladie d'Alzheimer	7
5	Rapports gyromagnétiques et abondance naturelle de quelques noyaux atomiques.	8
6	Effet Zeeman du proton	9
7	Bascule de l'aimantation sous l'application d'un champ RF	10
8	Relaxations T_1 et T_2	12
9	Principe de l'écho de spin	14
10	Méthodes d'encodage pour la localisation en 3D du signal IRM	16
11	Imagerie pondérée en T_1 ou T_2 chez l'humain et séquences SE/FSE	17
12	Séquence d'inversion-récupération	18
13	Exemple d'une acquisition ^1H -MRS dans le cerveau de souris à 11.7 T	20
14	L'expérience de Forsén et Hoffman	22
15	Illustration du principe de saturation	23
16	Principe de l'effet CEST	24
17	Chronogramme d'une expérience CEST basique	25
18	Principe du Z-spectrum et du MTR	27
19	Fréquences de résonance de différents agents CEST	28
20	Quelques exemples d'agents CEST exogènes	29
21	Illustration de l'imagerie APT	30
22	Illustration de l'imagerie CrCEST	31
23	Illustration de l'imagerie NOE	32
24	Première publication gluCEST	32
25	Illustration de l'imagerie gluCEST	33
26	Applications précliniques et cliniques de l'imagerie gluCEST	34
27	GlucoCEST et DGE	35
28	Influence des temps de relaxation de l'eau sur le signal CEST	39
29	Influence du champ B_0 sur le signal CEST	40
30	Illustration de l'importance d'avoir un champ B_1 homogène	41
31	Illustration du biais induit par les inhomogénéités B_0 sur la mesure MTR_{asym}	42
32	Illustration du déroulé expérimental d'une acquisition CEST	43
33	Influence du B_1 sur l'effet CEST dans le cas où la saturation directe de l'eau est négligeable	44
34	L'effet de la saturation directe de l'eau sur le signal CEST	46
35	Influence du B_1 sur l'effet CEST dans le cas où la saturation directe de l'eau n'est pas négligeable	48

36	Comparaison entre B_1^{optimal} théorique et B_1^{optimal} simulé	49
37	Cartes de sensibilité du signal CEST du glutamate en fonction du B_1/t_{sat}	50
38	Comparaison des cartes de sensibilité du glutamate et de la créatine à 3 et 2 ppm	51
39	Simulations des différentes contributions in vivo au signal gluCEST	53
40	Simulations des différentes contributions in vivo au $R_{\text{ex}}^{\text{total}}$ gluCEST	54
41	Schématisation du système à deux compartiments.	55
42	Les différents mécanismes de transferts d'aimantation existant in vivo	58
43	Existence de deux principaux pools NOE in vivo	59
44	Illustration de l'effet MT	60
45	Les différentes modélisations de l'effet MT	61
46	Effet de l'ordre dipolaire sur la modélisation MT	63
47	Champ effectif $\vec{\omega}_{\text{eff}}$ dans le référentiel tournant	65
48	Exemples de simulateurs CEST par deep learning	69
49	Comparaisons de simulations numériques et pseudo-analytiques	70
50	Temps de calculs de simulations numériques et pseudo-analytiques	71
51	MTR_{asym} et biais in vivo	78
52	Méthode des 3 points pour calculer $MTR_{3\text{pt}}$	80
53	Méthode de calcul de MTR_{LD} (soustraction directe de la saturation de l'eau)	81
54	Illustration de la méthode QUESP et Ω -plot	87
55	Illustration de la méthode PLOF	88
56	Illustration de la quantification par fit de Z-spectra	89
57	Illustration du principe de fingerprinting	91
58	Illustration d'un exemple de réseau de neurones pour la quantification CEST	93
59	Instrumentation à MIRCen pour le rongeur	99
60	Lits souris pour les expériences IRM à MIRCen	99
61	Séquence RARE-CEST	100
62	Exemples de cartes T_1 et T_2 quantitatives	101
63	Chronogramme de la séquence LASER-CEST	102
64	Chronogramme de la séquence LASER pour la spectroscopie	102
65	Spectroscopie dans le cerveau de la souris	103
66	Étude de fantômes de glutamate	105
67	Dépendance de l'effet gluCEST à la concentration [Glu] pour deux valeurs de pH	106
68	Tentative d'estimation simultanée de [Glu] et $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$	108
69	Mise en évidence d'un problème mal posé pour le gluCEST in vitro	109
70	GluCEST quantitatif in vitro	110
71	Étude de l'influence du pH sur le taux d'échange du glutamate	111
72	Dépendance du taux d'échange du glutamate au buffer	112
73	Dépendance du taux d'échange du glutamate à la température	113
74	Validation du pipeline de spectroscopie quantitative in vitro	117
75	Résultats ^1H -MRS in vivo chez la souris	119
76	Correction de la contamination du CSF sur les mesures CEST	121
77	Illustration de la démarche de choix des compartiments à inclure dans le modèle CEST123	122
78	Exemples de fits typiques dans le striatum et le corps calleux	124

79	Application du modèle de quantification aux données CEST localisées et comparaison aux résultats $^1\text{H-MRS}$	125
80	Illustration du débruitage de cartes CEST grâce à la méthode MLSVD	127
81	Cartographie quantitative du glutamate chez la souris	128
82	Erreur intrinsèque du modèle de quantification gluCEST	129
83	Robustesse au bruit du modèle de quantification gluCEST	130
84	Robustesse du modèle aux déviations de taux d'échange	131
85	Comparaison de la cartographie quantitative du glutamate avec ou sans débruitage préalable des données	133
86	Contribution simulée des compartiments au modèle gluCEST développé ici	134
87	Tentative d'application du modèle de quantification gluCEST à des données multi- B_1	135
88	Profils moyens de l'effet MT dans le striatum et le corps calleux de la souris	139
89	Exemple de fit de l'effet MT dans le striatum de la souris	140
90	Tentative de modélisation plus libre des données CEST	141
91	Estimation de la contribution manquante à la modélisation CEST haut B_1	142
92	Illustration du modèle « LipoGlu »	143
93	Exemples d'instabilités numériques sur les simulations LipoGlu	145
94	Illustration de vésicules synaptiques.	146
95	Simulation de l'effet CEST du glutamate vésiculaire in vivo	147
96	Influence de différents paramètres sur l'effet LipoGlu	148
97	Simulation de l'intensité que pourrait atteindre l'effet CEST du glutamate vésiculaire en fonction des caractéristiques vésiculaires.	149
98	Simulation des différentes composantes d'aimantation	150
99	Limite de validité de la simplification du modèle LipoGlu en modèle à 2 compartiments	151
100	Protocole de purification des liposomes de glutamate	152
101	Microscopie électronique de vésicules de glutamate in vitro	154
102	Spectres $^1\text{H-MRS}$ des échantillons de vésicules in vitro	155
103	Illustration du principe de spectroscopie de diffusion	156
104	Mesures de spectroscopie de diffusion sur les vésicules de glutamate in vitro	157
105	Mesures CEST sur différents échantillons de vésicules	158
106	Exemple de fit multi- B_1 des données CEST de vésicules de glutamate in vitro.	159
107	Grandeurs géométriques d'une vésicule.	160
108	Imagerie multi- B_1 chez la souris.	162
109	Mesures CEST dans différentes régions du cerveau.	162
110	Application du modèle de glutamate vésiculaire sur des données multi- B_1 dans différentes régions du cerveau	163
111	Contexte de l'étude glucoCEST : résultats précédemment obtenus au laboratoire	167
112	Étude in vitro de l'effet glucoCEST	168
113	Fit de l'effet glucoCEST in vitro	169
114	GlucoCEST quantitatif in vitro	170
115	Protocole des expériences glucoCEST	171
116	Résultats glucoCEST chez la souris	172
117	Résultats glucoCEST chez le rat	173
118	Décomposition du signal glucoCEST chez le rat	174
119	Allures de Z-spectra au cours du temps lors d'expériences glucoCEST chez le rat	175
120	Tentative de modélisation d'une expérience glucoCEST	176

121	Résultats de modélisation moyens des expériences glucoCEST	176
122	Exemple d'optimisation « naïve » en procédant par recherche de coordonnées	179
123	Illustration du principe d'autocorrélation de dictionnaires de fingerprinting.	180
124	Illustration de la quantification par réseau de neurone.	182
125	Illustration de la sélection d'attributs.	183
126	Feature Selection pour la quantification du glutamate et du glucose	184
127	Quantification du glucose avec le réseau de neurones	185
128	Quantification simultanée sur des fantômes mélangés de glutamate et de glucose	186
129	Influence du T_1^{Glu} et du T_2^{Glu} sur le signal CEST	192
130	Insensibilité du signal CEST d'un agent exogène à des variations de T_2^w	193
131	Solutions de l'effet CEST sous différentes approximations	193
132	Simulations pour le choix des TE pour la mesure du T_2 du glutamate in vivo	194
133	Mesures expérimentales du signal du Glu en fonction du TE	194
134	Exemples de fits LCMoDel à différents TE	195
135	Simulation de la portée spectrale des effets CEST pour différents B_1	200
136	Calibration d'osmolarité de solutions de glutamate à pH 5,8 en fonction de la concentration.	202
137	Mesures T_1 et T_2 de vésicules de glutamate in vitro	202

Liste des tableaux

1	Résumé des avantages et inconvénients des différentes simulations CEST	71
2	Agents CEST endogènes et paramètres de modélisation rapportés dans la littérature	73
3	Comparaison des différentes approches de quantification de l'effet CEST	95
4	Modèle de fit de fantômes de glutamate	107
5	Comparaison de $k_{\text{ex}}^{\text{Glu}}$ rapportés dans la littérature	113
6	Résultats $^1\text{H-MRS}$ in vivo	118
7	Résultats de qualité de modèle avec quelques combinaisons de "compartiments candidats"	124
8	Paramètres moyens estimés par la modélisation de données chez la souris	125
9	Fit du modèle MT dans le striatum et le corps calleux de la souris	139
10	Résumé des échantillons de liposomes de glutamate étudiés dans cette thèse.	153
11	Spectroscopie pseudo-quantitative sur les vésicules de glutamate in vitro.	156
12	T_1 et T_2 de l'eau des échantillons de vésicules de glutamate in vitro	158
13	Taux d'échange du glutamate estimé pour les échantillons de vésicules in vitro.	159
14	Estimations de concentration vésiculaire in vitro	160

15	Caractérisation des taux d'échange du D-glucose in vitro	169
16	Comparaison des performances de quantification du réseau de neurones et de la méthode classique de fit	183
17	Prédictions de [Glc] et [Glu] des différentes méthodes de quantification envisagées ici.	186
18	Modèle de fit utilisé pour tester différents compartiments candidats	196
19	Détail des différentes combinaisons de "compartiments candidats" testées	197
20	Modèle de fit utilisé pour la cartographie quantitative du glutamate	197
21	Gammes de variation des paramètres de simulations CEST à 5 μ T	198
22	Détail du modèle de fit de l'effet MT.	199
23	Modèle de fit multi- B_1 plus libre	199
24	Fit des expériences glucoCEST	203
25	Gammes de variation des paramètres des simulations de la recherche naïve	204
26	Gammes de variation des paramètres des simulations pour entraîner le réseau de neurones	204

Titre : Modélisation du signal IRM-CEST pour la quantification du métabolisme cérébral

Mots clés : IRM, Neuroimagerie, CEST, métabolisme cérébral, glutamate, quantification

Résumé : L'imagerie CEST est une technique émergente d'IRM permettant de cartographier, de manière non invasive, la distribution de certaines molécules essentielles au métabolisme, comme par exemple le glutamate, principal neurotransmetteur du cerveau. Il s'agit donc d'une technique d'un grand intérêt pour l'étude et le diagnostic des maladies cérébrales. Cependant, l'imagerie CEST est souvent réduite à une imagerie de contraste, c'est-à-dire générant des images où l'on distingue des zones plus ou moins intenses, mais sans fournir une valeur quantifiée des concentrations absolues des molécules d'intérêt. Pourtant, la concentration du glutamate, par exemple, est une information essentielle d'un point de vue physiologique, et qui permettrait de mieux interpréter les

études CEST, notamment en réduisant les biais expérimentaux. Dans cette thèse, nous développons des outils de modélisation pour la quantification de l'imagerie CEST, et nous proposons notamment une méthode pour cartographier de manière quantitative la concentration du glutamate dans le cerveau du rongeur. Pour aller plus loin, et afin de mieux comprendre l'origine du signal CEST, nous tentons de répondre grâce à divers modèles à la question controversée du rôle que joue le glutamate vésiculaire pré-synaptique dans l'effet CEST. Enfin, nous explorons quelques nouvelles perspectives, allant de la quantification du glucose grâce au CEST à l'utilisation de machine learning pour l'amélioration du CEST quantitatif.

Title : Modeling of CEST-MRI signal for the quantification of brain metabolism

Keywords : MRI, Neuroimaging, CEST, cerebral metabolism, glutamate, quantification

Abstract : CEST imaging is a new emerging MRI technique with promising potential. It enables the non-invasive mapping of some molecules of high biological relevance, like for instance glutamate, the main neurotransmitter of the brain. This technique holds significant interest for the study and diagnosis of brain diseases. However, CEST imaging is often reduced to contrast imaging, which generates images where regions of varying intensities can be distinguished, but without providing quantified values of the concentrations of the molecules of interest. Yet, the concentration of glutamate, for instance, is an essential information from a physiological perspective. Its quantifica-

tion would allow for better interpretation of CEST studies, notably by reducing experimental biases. In this thesis, we develop modeling tools for the quantification of CEST imaging, and we propose a method for quantitatively mapping the concentration of glutamate in the rodent brain. Furthermore, to better understand the origin of the CEST signal, we address through various models the controversial question of the role played by presynaptic vesicular glutamate in the CEST effect. Finally, we explore the possibilities of new perspectives, like for instance the quantification of glucose using CEST, or the use of machine learning for improved and accelerated quantitative CEST.