

UNIVERSITE PARIS SUD XI

*ECOLE DOCTORALE: Sciences et Technologies de l'Information des  
Télécommunications et des Systèmes (STITS)*

*INSTITUT: NeuroSpin, CEA de Saclay*

*DOMAINE DE RECHERCHE: Imagerie Médicale*

## **Thèse de doctorat**

24 septembre 2012

**Olivier REYNAUD**

# **Développement d'une nouvelle séquence d'IRM de perfusion (FENSI – Flow Enhanced Signal Intensity) et application à la caractérisation de la dynamique des flux microvasculaires par IRM**

*Résumé*

Jury composés de Madame Luisa Ciobanu et Messieurs Bradley Sutton,  
Emmanuel Barbier, Stéphane Lehericy, Xavier Maitre et Denis Le Bihan

# Introduction générale

Les récents développements en RMN et IRM ont eu un impact spectaculaire sur l'imagerie médicale et aident à appréhender de manière fonctionnelle et non invasive de nombreux mécanismes cérébraux. L'imagerie par RMN de perfusion a notamment une importance primordiale en neuroimagerie clinique dans la caractérisation de nombreux désordres cérébrovasculaires (tumeurs cérébrales, AVC). Cependant il n'existe pour le moment aucune technique qui permette de quantifier de manière entièrement non-invasive le bon fonctionnement du réseau microvasculaire cérébral. Cette thèse se concentre sur l'utilisation de la séquence FENSI en imagerie préclinique à haut et ultra haut champ magnétique pour caractériser et quantifier la dynamique des flux microvasculaires dans le cerveau du rat.

Nous présentons tout d'abord les enjeux de l'IRM de perfusion en neuroimagerie, ainsi que les contraintes associées aux méthodes conventionnelles – méthode de marquage de spin artériel (ASL) et IRM dynamique de contraste de susceptibilité magnétique (DSC-MRI) – dont la technique FENSI peut d'affranchir. Cependant d'autres problèmes sont adressés. Les images acquises avec FENSI et pondérées en flux peuvent être contaminées par des effets de transferts d'aimantation (MT) qui empêchent de quantifier le débit sanguin cérébral. Une première technique de correction de ces effets par post-traitement est proposée et nous dérivons les premières cartes de flux sanguin cérébral chez le rat à 7 Tesla. Une seconde approche est considérée, où les effets de transferts d'aimantation dans les images acquises avec et sans saturation des spins circulant dans le réseau capillaire (tag/control) se compensent. Cette seconde approche permet une vraie quantification non-invasive du flux sanguin cérébral (CBFlux) *in-vivo*.

Grâce à cette technique, le réseau microvasculaire est caractérisé à différents stades du développement tumoral dans un modèle de gliosarcome cérébral (9L) chez le rat. Les mesures de flux mettent en évidence une forte hétérogénéité de développement vasculaire des gliosarcomes peu avancés (diamètre inférieur à 3 mm). A un stade avancé, le flux sanguin est significativement plus faible dans la tumeur (-40 %) que dans le sous cortex, en bon accord avec la littérature sur ce type de gliosarcome. De plus, les cartes paramétriques de flux permettent de distinguer différents compartiments dans la tumeur. Une comparaison avec une méthode de marquage endothélial sur coupes histologiques suggère que le flux sanguin calculé avec FENSI est corrélé avec la concentration locale en micro-vaisseaux.

De nombreux efforts ont été réalisés pour tenter d'évaluer la dynamique temporelle de la réponse vasculaire à un stimulus et appliquer FENSI à l'IRM fonctionnelle (IRMf). Nous avons mis en place un protocole d'IRMf chez le rat à 7 tesla et caractérisé la réponse hémodynamique obtenue par contraste BOLD. A 7 tesla la technique FENSI souffre d'un faible SNR temporel et semble plus adaptée pour quantifier des changements métaboliques associées à de longues plages temporelles. L'implémentation de la séquence à ultra-haut champ (17.2 tesla) donne lieu à de sérieux espoirs en IRMf. De plus, nous mettons en évidence à 17.2 tesla des contrastes spécifiques à l'utilisation de différents anesthésiques utilisés en routine à l'hôpital.

La méthode que nous avons mise en place peut être sensibilisée à de nombreuses vitesses, augmentant le nombre de ses applications potentielles. Ainsi, un choix judicieux de paramètres être utilisé pour explorer le volume sanguin ou l'orientation du débit ciblé. Les forces et faiblesses de la méthode sont détaillées. L'utilisation de FENSI n'est en général pas justifiée par un gain de signal par rapport à des séquences ASL optimisées, mais bénéficie de l'actuelle montée en champ des imageurs cliniques pour être étudiée. Les applications potentielles varient de l'IRMf et l'imagerie de diffusion au suivi pharmacologique et diagnostic de désordres cérébrovasculaires, dont l'étude via ASL est limitée dû à l'allongement des temps de transit sanguins.

# I. RMN, IRM, IRM de perfusion et FENSI

**D**ous rappelons dans un premier temps les principales découvertes des cinquante dernières années qui ont permis le développement de la Résonance Magnétique Nucléaire et de l'Imagerie par Résonance Magnétique. Les enjeux cliniques de l'IRM de perfusion sont abordés. Les deux principales techniques d'IRM de perfusion sont présentées et décrites : marquage de spin artériel (ASL) et IRM de contraste de susceptibilité dynamique (DSC-MRI). Celles-ci utilisent respectivement des agents de contraste endogènes et exogènes pour accéder au flux sanguin. Leurs avantages et inconvénients sont discutés. Il n'y a au jour d'aujourd'hui aucune méthode idéale pour quantifier le flux sanguin au niveau microvasculaire. La méthode FENSI (Flow Enhanced Signal and Intensity) est présentée. Celle-ci fait basculer l'aimantation de tous les spins présents dans une fine coupe du cerveau. La diminution de l'aimantation dans une coupe d'imagerie plus large renseigne sur tous la quantité de spins qui ont traversé la coupe de saturation pendant la durée de saturation. Cette méthode peut théoriquement permettre d'augmenter le signal sur bruit obtenu avec les méthodes de type ASL.

## *De la RMN à l'IRM de perfusion*

Les principes de base de la Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) ont été découverts indépendamment par Bloch et Purcell en 1946. Ces deux auteurs partagent d'ailleurs le prix Nobel de physique de 1952 pour cette prouesse. Depuis, la RMN a été utilisée de manière intensive pour étudier la structure moléculaire. Les premières images basées sur le contraste RMN (grâce à l'ajout de gradients de champ magnétique dans les trois directions de l'espace) ont vu le jour en 1973 grâce à Lauterbur et Mansfield. Baptisée Imagerie par Résonance Magnétique (IRM), cette technique permet d'obtenir de façon entièrement non-invasive de précieuses mesures physiologiques et de combiner et superposer des informations anatomiques et métaboliques. L'IRM autorise une excellente résolution spatiale, possède un contraste tissulaire inégalé et bénéficie d'une bonne disponibilité clinique par rapport aux autres méthodes d'imagerie classique (CT, TEP, SPECT, imagerie optique). Selon la séquence et le type d'impulsions radiofréquence utilisés, ainsi que les délais et différents gradients de champ magnétique appliqués au système, le signal RMN peut être rendu sensible à différents paramètres tels que les temps de relaxation  $T_1$ ,  $T_2$ , la densité de proton, la diffusion cellulaire ou encore la perfusion. Ces différents contrastes renseignent sur différentes propriétés tissulaires et caractérisent différentes pathologies. Ainsi l'oxygénation ou la dégradation des tissus est visible en contraste  $T_2$ , alors qu'une image pondérée  $T_1$  servira typiquement à observer les régions où s'accumule un agent de contraste. Ce manuscrit se concentre exclusivement sur l'IRM de perfusion, qui a pour principales applications l'IRM fonctionnelle ou des pathologies de type cancer ou Accidents Vasculaires Cérébraux (AVC).

## *Perfusion*

La perfusion est habituellement caractérisée par le débit sanguin cérébral (CBF). Mesurée en ml/min/g de tissu, elle reflète le volume sanguin délivré aux tissus par unité de masse cérébrale et par unité de temps. En estimant l'apport en oxygène aux tissus et autres organes, le CBF est un bon estimateur du bon fonctionnement de l'organisme. Différentes techniques ont été développées pour estimer la perfusion grâce au signal RMN. Ainsi l'Angiographie par Résonance Magnétique (ARM) permet de visualiser le réseau vasculaire

cérébral (en particulier les artères et veines qui possèdent un important débit sanguin) en 3D. Les méthodes de Mouvement Incohérent Intra-Voxel (IVIM) considèrent que le réseau capillaire est suffisamment tortueux pour pouvoir assigner un coefficient de diffusion apparent au sang et utiliser les techniques habituelles d'IRM de diffusion pour mesurer la perfusion. Cette méthode, inventée en 1988, connaît dernièrement un regain d'intérêt. Cependant, seulement deux techniques sont actuellement utilisées pour mesurer le débit sanguin cérébral, en termes de CBF : ASL et DSC-MRI.

#### *IRM de perfusion en neuroimagerie clinique*

Parmi les principales applications de l'IRM de perfusion se trouvent les AVC. Lors d'une attaque, les tissus viables mais appauvris en oxygène peuvent par exemple être localisés par le décalage spatial entre les zones hypo-intenses mesurant la diffusion cellulaire et le CBF. Les variations de temps de transit sanguin renseignent également sur la présence d'un réseau vasculaire collatéral (qui prend le relai après l'occlusion de l'une des artères principale) souvent corrélé à un pronostic positif. Dans le cas d'une tumeur cérébrale, le volume sanguin cérébral (CBV) est un marqueur du stade tumoral et de sa vascularisation. Les phénomènes angiogéniques accompagnant le développement tumoral peuvent aussi être caractérisés par des changements de taille ou de densité de vaisseaux sanguins. ASL et DSC-MRI peuvent tous deux différencier des tumeurs de stade avancé (III-IV) en se basant sur le CBF. DSC-MRI évalue également la perméabilité des tissus. ASL n'est pas affecté par les altérations locales de la Barrière Hémato-Encéphaliques (BHE) et permet une vraie quantification du CBF. A l'intérieur de la tumeur, les zones de calcification, d'hémorragie ou de nécrose sont aussi détectables par IRM. De nombreuses autres pathologies cérébrales induisent des changements au niveau vasculaire. Maladies d'Alzheimer, épilepsies et infections du système nerveux central ont ainsi un impact sur le CBF. Chez les sujets sains, l'IRM de perfusion révèle une diminution du CBF liée à l'âge qui doit être prise en compte dans l'analyse d'importantes cohortes de patients. Dernièrement l'IRM de perfusion semble enfin apporter une alternative crédible aux techniques classiques d'IRM fonctionnelle (IRMf) basées sur le niveau d'oxygénation du sang dans les tissus.

#### *IRM de contraste de susceptibilité dynamique*

Cette technique est basée sur l'injection intraveineuse rapide d'un agent de contraste paramagnétique (typiquement à base de Gadolinium). Le suivi dynamique de la perte de signal reflète l'évolution temporelle de la concentration en agent de contraste dans les tissus. Un signal pondéré en  $T_2/T_2^*$  sera sensible au réseau microvasculaire/macrovasculaire. Différents paramètres tels que le CBV, CBF ou temps de transit moyen (MTT) peuvent être extraits de l'observation du premier passage de l'agent paramagnétique, sous l'hypothèse du modèle cinétique des traceurs non diffusifs. Bien que les spins circulant ne représentent que 1 à 5 % de la totalité des spins, DSC-MRI est extrêmement sensible à d'infimes variations de champ magnétique local, donc de concentration. Il est possible d'acquérir en peu de temps des cartes de CBF, CBV et MTT avec un haut SNR, ce qui fait de DSC-MRI la technique de perfusion IRM la plus utilisée actuellement en imagerie clinique. Cette technique présente néanmoins plusieurs inconvénients. En pratique, la pose d'un cathéter est requise (cette technique est dite peu invasive) et le traceur utilisé est toxique à forte dose. De nombreux cas de fibroses systémiques néphrogéniques ont ainsi été reportés sur des patients sujets à une insuffisance rénale. Le temps de demi-vie du traceur ne permet pas de renouveler l'expérience avant plusieurs heures et empêche toute mesure 'dynamique' de débit sanguin. La robustesse de la méthode est aussi au centre de nombreux débats. Le modèle mathématique utilisé n'est en effet valide que si l'agent de contraste reste confiné dans le réseau vasculaire. Cette hypothèse est par exemple infondée dans le cadre de tumeurs cérébrales (ouverture locale de la BHE et

accumulation du Gd) et des techniques spécifiques incluant des pré-injections et du post-traitement doivent être mises en place. D'autres hypothèses sont également faites (pas de dispersion, effet  $T_1$  négligeable, pas de recirculation du Gd) et mènent à des imprécisions de mesures. Enfin cette technique ne permet d'obtenir qu'une quantification relative du débit sanguin cérébral, en l'absence d'une mesure précise la fonction d'entrée artérielle.

### *Techniques de Marquage de Spin Artériel*

Les techniques de marquage de spin artériel (ASL) utilisent les spins circulant comme des agents de contraste endogènes et permettent ainsi une quantification réellement non-invasive du débit sanguin. A l'intérieur d'une artère alimentant le cerveau, l'aimantation des spins est inversée. Une image (appelée « tag ») est acquise après un temps correspondant au temps de transit sanguin entre la coupe d'inversion et la coupe d'imagerie. Par rapport à une image acquise à l'équilibre et sans inversion (dite « control »), la perte de signal RMN est proportionnelle à la quantité de spins qui se sont déplacés de l'artère vers la coupe d'imagerie. Le CBF peut être calculé à partir d'information supplémentaire au niveau physiologique ( $T_1$ , densité protonique sang/cerveau) ou relative aux différents paramètres d'imagerie (efficacité de l'inversion, durée de saturation). A l'inverse de DSC-MRI, les séquences ASL sont peu sensibles aux altérations de la BHE car les spins retournent à leur niveau d'équilibre rapidement (avec un temps caractéristique  $T_1$  de l'ordre de la seconde) et ne peuvent s'accumuler dans les tissus. Ces techniques permettent également des mesures dynamiques de CBF : ASL est depuis peu utilisé en IRMf. Enfin, en bénéficiant de la tendance actuelle vers les hauts et très hauts champ magnétiques, ASL va probablement à terme remplacer DSC-MRI en pratique clinique. Le terme ASL regroupe quatre grandes familles de techniques : ASL continu (CASL), ASL pulsé (PASL), ASL pseudo-continu (PCASL) et ASL sélectif en vitesse (VS-ASL). Les techniques ASL souffrent néanmoins d'un manque de signal, car elles ne sont sensibles qu'à l'infime fraction de spins circulant dans le réseau vasculaire. Des méthodes d'encodage rapides (EPI, Spiral) sont développés pour maximiser le SNR obtenu par unité de temps, au risque de rendre les images sujets aux distorsions, notamment à haut champ. Il convient également d'accumuler du signal via de multiples répétitions (temps d'acquisition entre 4 et 6 min), ce qui peut introduire des artefacts de mouvement. Les effets de transfert d'aimantation (MT) dus aux impulsions radiofréquences servant à inverser l'aimantation des spins peuvent causer une importante surestimation du débit sanguin. Lorsque cela est possible, il faut tenter de symétriser ces effets entre les images « control » et « tag ». Enfin, ASL souffre d'une grande sensibilité aux temps de transit artériel (ATT). Le calcul du CBF est en effet biaisé lorsque ce paramètre est affecté par une pathologie, ce qui rend les techniques ASL peu attractives dans le cas d'AVC.

### *DESIRE*

Commençons par présenter la technique DESIRE (Diffusion Enhancement of Signal and Resolution). Celle-ci repose sur l'idée suivante. En saturant de manière répétée les spins au niveau microscopique, ceux-ci diffusent aux alentours et génèrent une extension de la zone de saturation initiale. Après accumulation des spins et si les distances de diffusion excèdent la résolution spatiale, la perte d'aimantation due à la diffusion des molécules peut croître de plusieurs ordres de grandeur. Cette séquence a récemment été implémentée pour la première fois en 2D à 17.2 Tesla et offre une alternative intéressante à l'imagerie classique pondérée en diffusion par des gradients de champ magnétique (séquences PGSE, OGSE et autres).

La technique appelée FENSI (pour Flow Enhanced Signal Intensity) dérive directement de la méthode DESIRE implémentée en une dimension. Au niveau macroscopique, le débit sanguin est en effet sujet à des vitesses de l'ordre de plusieurs mm/s. Ainsi, même en utilisant des coupes de saturation relativement larges (300-2000  $\mu\text{m}$ ), cette technique permet d'accumuler de nombreux spins en dehors de la bande de saturation. Une image « control » mesure l'aimantation de tous les spins dans une coupe d'imagerie (épaisseur 8-10 mm). On utilise une simple impulsion de saturation (5 ms) pour éliminer la contribution des spins statiques au centre de cette coupe. En mode « tag », le module de préparation répète l'impulsion de saturation pendant plusieurs secondes. L'aimantation des spins circulant est mise à zéro lorsqu'ils traversent la bande de saturation. Ceux-ci peuvent s'accumuler dans la coupe d'imagerie alors que d'autres spins sont à leur tour saturés. La différence d'intensité entre les images « control » et « tag » est proportionnelle au flux sanguin local à l'intérieur de la bande de saturation.

#### Calcul du flux sanguin

Avec FENSI, l'augmentation de signal  $E$  (par rapport à une simple saturation) dépend de l'aimantation manquante - notée  $m$  et définie par  $m(x,y,z,t) = 1 - M(x,y,z,t) / M_0(x,y,z)$ , où  $M$  et  $M_0$  sont l'aimantation après saturation et à l'équilibre. Il est possible de résoudre les équations de Bloch qui gouvernent l'évolution de l'aimantation  $m$  pendant et après la saturation. On obtient en l'absence de relaxation  $T_1$  des spins le comportement suivant.  $E$  varie selon la vitesse du sang, et dépend de trois paramètres  $v_{\text{MIN}}$ ,  $v_P$  et  $E_{\text{MAX}}$ . Ceux-ci sont entièrement caractérisés par les paramètres d'imagerie  $L_{\text{IMG}}$ ,  $L_{\text{PS}}$ ,  $T_{\text{SAT}}$  et  $L_{\text{SAT}}$  détaillés plus loin dans ce manuscrit. Pour  $v < v_{\text{MIN}}$ ,  $E=0$ .  $E$  varie linéairement entre  $v_{\text{MIN}}$  et  $v_P$ . Au-delà de  $v_P$ ,  $E$  atteint un plateau : les spins sont tellement rapides qu'ils quittent la bande d'imagerie avant la fin de la saturation. Cet accroissement  $E(v)$  est en pratique pondéré par le nombre de spins possédant cette vitesse. L'existence d'un plateau permet d'accéder via un choix de paramètres judicieux à une mesure de la fraction de spins circulant. A l'inverse il est possible d'estimer la vitesse des spins via  $E$ , et d'en déduire une mesure du flux sanguin, via la formule suivante.

$$\text{CBFlux} = \left\{ \frac{I_{\text{FLUX}}}{I_{\text{STATIC}}} \right\} \times \frac{\lambda}{\alpha} \times \frac{V_{\text{TAG}}}{S_{\text{CS}}} \times \frac{60}{T_{\text{SAT}}} \times \exp\left(\frac{T_{\text{SAT}}}{T_{1b}}\right) \times \exp\left(\frac{TE}{T_{2b}}\right)$$

$I_{\text{FLUX}}$  et  $I_{\text{STATIC}}$  représentent les intensités de signal uniquement relatives au flux et aux tissus statiques.  $\lambda$  est la densité protonique tissu/cerveau,  $V_{\text{TAG}}$  et  $S_{\text{CS}}$  le volume et section de coupe d'un voxel,  $\alpha$  l'efficacité de saturation,  $TE$  le temps d'écho et  $T_{\text{SAT}}$  la durée de saturation.  $T_{1b}$  et  $T_{2b}$  valent pour les temps de relaxation longitudinal et transverse du sang.

#### Etat de l'art

FENSI a tout d'abord été introduite en 2007 en tant que méthode qualitative dédiée à l'imagerie fonctionnelle. Une augmentation de 7 % du flux sanguin fut établie au niveau de l'aire visuelle humaine en réponse à une stimulation visuelle. Bien que réalisée sur un nombre limité de sujets, cette première étude démontre le potentiel de la méthode en IRMf. Plus récemment, la technique a été utilisée pour estimer le CBF au niveau de l'hippocampe et étudier les possibles corrélations entre CBF, âge, temps de réaction et activité cérébrale. Dans ces deux publications, les effets MT n'ont néanmoins pas été pris en compte en entraînant un probable augmentation du flux sanguin « au repos ». Cela a peu d'importance pour la détection de l'activité neuronale mais impacte directement les mesures, même relatives, de flux sanguin.



## II. Quantifier le flux sanguin avec FENSI

Ce chapitre envisage la possibilité de quantifier le flux sanguin *in vivo* grâce à la méthode FENSI. Pour ce faire, la quantité de transfert d'aimantation introduit par le module de préparation précédemment décrit est mesurée. Après avoir estimé quantitativement son impact sur des "fantômes" et rats sacrifiés, nous proposons une première méthode de post-traitement des données FENSI. Grâce à cette technique sont obtenues les premières cartes de flux sanguin sans effet MT, publiées en 2011. Les résultats obtenus dans la matière blanche et grise dans le cerveau du rat sont en bon accord avec la littérature existante sur le sujet. Une deuxième approche, plus efficace, est proposée. En modifiant la structure du module de préparation, les effets MT peuvent être symétrisés entre les images « control » et « tag ». Ceci permet l'application de FENSI à de nombreuses pathologies et/ou circonstances dans lesquelles l'effet MT ne peut être prédit. Nos résultats sont discutés et nous comparons notre approche et méthode de quantification avec celle d'un groupe de recherche ayant publié en 2012 des premiers résultats utilisant la méthode FENSI « MT symétrisée » sur un scanner clinique.

### *Transfert d'aimantation*

Le mécanisme sous-jacent aux effets MT est le suivant. Considérons deux populations de protons. Certains sont liés à l'eau libre, d'autres à l'eau liée (macromolécule, protéines...). Les molécules d'eau interagissent entre elles à l'intérieur d'une population mais aussi entre les deux populations. Avec FENSI, une impulsion radiofréquence excite (de manière répétée) les spins dans une fine bande de saturation. Du point de vue des spins présents dans la coupe d'imagerie, cette excitation est vue comme une impulsion décalée de quelques ppm par rapport à leur fréquence de Larmor. Celle-ci génère une diminution de l'aimantation de la population de protons liés (dont la bande énergétique d'absorption est extrêmement large). Grâce aux échanges de protons entre les deux populations de protons, l'aimantation de l'eau libre diminue indirectement dans la coupe d'imagerie. Et l'image « tag » voit son intensité diminuée par le débit sanguin cérébral ET les effets MT introduits par la saturation répétée du module de préparation. Ceci est d'autant plus grave que le débit sanguin ne concerne qu'entre 1 à 5 % des spins circulant dans la bande saturation, alors que les effets MT peuvent impacter jusqu'à 40 % de la totalité des spins présents dans la bande d'imagerie, choisie plus large que la coupe de saturation.

### *Estimation de la quantité de MT introduit par la saturation*

Afin de quantifier ces effets MT, nous introduisons le rapport de transfert d'aimantation (MTR) défini par  $MTR = (M_0 - M_{SAT}) / M_0$ , où  $M_0$  et  $M_{SAT}$  représentent respectivement l'aimantation longitudinale des protons libres à l'équilibre et après saturation par le module FENSI en mode « tag ». Le protocole expérimental est légèrement modifié pour saturer une bande de 300  $\mu m$  à une distance de 1 mm de la coupe d'imagerie, ceci afin d'éviter tout effet parasite de saturation directe du signal. Un premier rat est utilisé pour étudier l'influence de la durée de saturation (250 – 1500 ms) sur le MTR. Pour des paramètres classiques d'imagerie ( $T_{SAT} = 1$  s), le MTR peut atteindre 24 % dans la matière grise (MG) et jusqu'à 35 % dans la matière blanche (MB). Quatre rats sont sacrifiés une fois dans l'IRM pour étudier les variations de MTR entre individus. Le MTR calculé dans la MB/MG est de  $[34.1 \pm 3.9 \text{ \%}] / [23.9 \pm 3.3 \text{ \%}]$  lorsque la coupe d'imagerie est postérieure à la bande de saturation et  $[40.9 \pm 4.1 \text{ \%}] / [29.0 \pm 3.4 \text{ \%}]$  lorsque la coupe d'imagerie lui est antérieure. Aucune différence significative n'est observée entre individus, ce qui suggère que le MTR est quantifiable une fois les différents paramètres de saturation choisis.

### *Post-traitement des effets MT*

En faisant l'hypothèse que le MTR mesuré *ex vivo* est identique lors de mesures de flux *in vivo*, l'intensité du signal IRM « tag » est simplement corrigé pour prendre en compte les effets MT via  $I_{COR} = I_{TAG}/(1-MTR)$ . Les valeurs de MTR sont moyennées sur les quatre rats sacrifiés précédemment. Le protocole d'imagerie du flux sanguin est appliqué à dix rats. Sans correction, les cartes de flux sanguin sont contaminées par les effets MT. En particulier les mesures de CBFlux indiquent un débit sanguin plus important dans la MB que dans la MG, ce qui est incompatible avec les autres techniques de perfusion dans le cerveau du rat sain. Après correction, les valeurs de CBFlux  $0.30 \pm 0.35$  et  $0.74 \pm 0.32$  mL/min/cm<sup>2</sup> calculés dans la MB et MG sont en accord avec les ratios de CBF 0.45/0.30/0.37/0.33 déterminés par PET/CT/DSC-MRI/ASL.

### *Les limites de cette approche*

Bien que permettant de quantifier pour la première fois de façon non-invasive le flux sanguin cérébral, cette approche présente plusieurs inconvénients. Tout d'abord, l'impact des effets MT sur le sang circulant n'est pas clair, n'est pas facilement mesurable, et le modèle mathématique utilisé ici n'est qu'une approximation au premier ordre du MTR. Ensuite, ce MTR dépend grandement des différents paramètres du module de saturation et doit être remesuré si l'un des paramètres change. De plus, ce MTR est différent pour différentes valeurs de champ magnétique et n'est pas transférable d'un scanner IRM à un autre. Le problème principal est la dépendance tissulaire de ces effets. Ceux-ci ont en effet été mesurés dans la MB et la MG, mais le MT est susceptible de varier dans le cas de pathologies cérébrales.

### *Une technique "MT symétrisée"*

Nous proposons ici une deuxième approche afin d'obtenir des cartes de flux sanguin sans effets MT et sans avoir besoin d'information supplémentaire sur les tissus. L'idée s'inspire d'une publication sur la technique TILT (Transfer Insensitive Labeling Technique). Chaque impulsion radiofréquence d'angle de bascule 90° est séparée en deux impulsions consécutives d'angle 45° dans le module de préparation en mode « tag ». En mode « control », la phase de chaque seconde impulsion radiofréquence est décalée de 180°. Ces secondes impulsions sont équivalentes à des impulsions d'angle de bascule -45° et refocalisent les spins immédiatement après leur demi-bascule de 45°. L'avantage de cette astuce repose dans la symétrie de l'énergie radiofréquence déposée en mode « control » et « tag ». Les effets MT n'ont pas disparu mais sont identiques dans les deux modes. Ainsi la différence en intensité « control » - « tag » est quant à elle libérée du MT.

### *Flux sanguin cérébral*

Cette nouvelle approche est appliquée à des échantillons d'agarose. Le MTR atteint 4 % sur les bords de l'échantillon, tandis qu'au centre et à l'intérieur de la région choisie pour homogénéiser le champ magnétique, celui-ci reste confiné en dessous du niveau du bruit. Le MTR a aussi été mesuré dans le cerveau d'un rat *ex vivo*. Celui-ci est de  $0.7 \pm 0.8$  % dans le cortex, ce qui est parfaitement acceptable en regard des 24 % initiaux. Loin du centre de l'aimant et des zones de champ homogènes, il peut atteindre 2.2 % près du cervelet. Des



mesures de flux effectuées *in vivo* puis *ex vivo* dans le cortex cérébral, corps calleux et près de l'artère cérébrale majeure indiquent que les effets MT sont négligeables via cette technique. Sous cette nouvelle forme, la technique FENSI est capable de cartographier le flux sanguin cérébral *in vivo* et de manière complètement non invasive. Associée à un encodage EPI, le CBFlux est mesuré dans différentes régions du cerveau du rat (cortex, striatum et corps calleux) et dans trois directions orthogonales (axial, coronal, sagittal). Le CBFlux semble isotrope au niveau microvasculaire.

#### *Une technique pour deux formules*

Dans la suite de ce manuscrit la dernière approche présentée est considérée comme standard pour évaluer le flux sanguin et étudier la dynamique des flux microvasculaires pendant le développement tumoral et la possibilité d'appliquer FENSI en IRMf. Nos résultats corroborent l'étude de Ouyang et al. qui ont récemment publié sur la même technique (qu'ils appellent qFENSI) mais utilisent une formule différente pour quantifier le flux sanguin (qu'ils appellent Q). La comparaison des deux formules met en évidence l'importance des corrections relatives aux temps de relaxation transverse et efficacités de saturation qui peuvent chacun entraîner une sous-estimation du CBFlux. De même la relaxation  $T_1$  des spins saturés peut poser problème lorsque les durées de saturation excèdent les temps de relaxation longitudinaux et doit être prise en compte. Enfin les deux formules soulèvent la question suivante. Quelle référence doit-être utilisée pour quantifier le flux sanguin ? Nous choisissons d'estimer l'aimantation à l'équilibre voxel par voxel dans le cerveau pour retrouver l'aimantation du sang via la densité protonique cerveau/sang. Avec qFENSI l'aimantation est mesurée à l'équilibre dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) et il est alors possible de déterminer un unique facteur de conversion aimantation/volume. Leur choix est judicieux en termes de bruit car le même facteur est appliqué partout dans le cerveau. Cependant ils ne prennent pas en compte une possible dépendance spatiale de l'intensité. Notre technique est applicable partout dans le cerveau (et ailleurs), ne nécessite pas de « choisir » arbitrairement une région contenant du LCR, et est donc automatisable.

#### *Deux formules pour un flux*

Les deux formules proposées pour mesurer le flux sanguin (CBFlux et Q) sont compatibles lorsqu'elles sont utilisées dans de bonnes conditions, et que l'augmentation de signal E reflète la vitesse des spins et la part de spins circulant. En supposant que les mesures de flux sanguins reflètent le débit sanguin cérébral au travers de la bande de saturation, il est possible de calculer grâce à la méthode FENSI une mesure du CBF. D'après nos calculs, nous estimons le CBF à 70 mL/min/100g tissue dans la MG, ce qui est en bon accord avec les valeurs rapportées par des techniques de type PASL ou VS-ASL, et les récents travaux sur la méthode qFENSI. Il n'est néanmoins pas conseillé d'étendre la comparaison ASL/FENSI au cas général, car les deux techniques mesurent deux quantités physiquement distinctes et qui pourraient différer significativement, notamment dans les milieux où une direction de flux est privilégiée. FENSI et ASL sont des outils complémentaires pour étudier en profondeur les mécanismes microvasculaires.

### III. Caractériser la dynamique des flux microvasculaires avec FENSI

**D**ans ce chapitre, la technique « MT symétrisée » FENSI est utilisée pour caractériser le flux sanguin cérébral à différents stades du développement tumoral. Tout d'abord, le contexte et les mécanismes de la croissance tumorale sont présentés. L'avantage potentiel de FENSI par rapport à ASL y est discuté. A partir du modèle de gliosarcome choisi dans cette étude, les relevés réguliers de volume tumoral révèlent deux phases distinctes. Les mesures de flux réalisées pendant la phase d'extension modérée ne dégagent aucune tendance d'une analyse interindividuelle. Le flux sanguin mesuré dans les larges tumeurs (et qui s'étendent rapidement) est par contre significativement moins élevé (40 %) quand dans le striatum normal. De plus, les cartes de flux révèlent une compartimentation de la tumeur à un stade avancé, qui se retrouve lors de l'analyse immunohistologique. La technique FENSI semble avoir le potentiel pour témoigner des changements microvasculaires accompagnant les phénomènes angiogéniques et les quantifier de manière longitudinale.

#### *Glioblastome*

Le Glioblastome Multiforme (GBM) représente aujourd'hui le type le plus courant de tumeurs cérébrales malignes et plus de 40 % des tumeurs du système nerveux central. L'espérance de vie des patients atteints de cette pathologie de stade IV est très faible (un à deux ans), et ce malgré les récentes avancées en matière de traitement (chimiothérapie, rayons, chirurgie) parfois multimodales. Ces tumeurs très agressives sont habituellement caractérisées par une importante prolifération microvasculaire, une hypertrophie endothéliale et des zones nécrotiques occasionnelles. Elles peuvent apparaître *de novo* ou résulter du développement de tumeurs moins avancées (stade II-III).

#### *Angiogenèse*

Le phénomène d'angiogenèse (formation de vaisseaux sanguins) est essentiel pour le bon développement des organes et leur guérison. Cependant, un mauvais équilibre entre les protéines pro- et anti-angiogéniques peut entraîner la formation de métastases et favoriser la croissance tumorale. Les mécanismes déclencheurs de ce phénomène restent aujourd'hui mystérieux. Multiples sont les stimuli qui peuvent favoriser l'angiogenèse sous certaines conditions (pression mécanique, métabolique, activation d'oncogènes). L'observation de ce phénomène a son importance en neuroimagerie clinique car il constitue un bio-marqueur important des tumeurs de stade IV, associées à un pronostic défavorable. Les tumeurs de stade moins avancées peuvent aussi être fatales mais l'espérance de vie associée à ces pathologies reste supérieure à 3 ans. Il est vital de détecter rapidement les premières marques de prolifération microvasculaire caractéristique de la malignité tumorale.

#### *IRM de perfusion par ASL et FENSI*

Dans ce contexte, l'IRM de perfusion (et ASL en particulier) est un outil puissant pour déterminer de façon peu invasive le stade ou la réponse au traitement dans le cadre du cancer.

Ces techniques renseignent sur le dérèglement métabolique associé aux tumeurs cérébrales. Ainsi, l'observation de régions hypoxiques tumorales (apport affaibli en oxygène dû à une mauvaise vascularisation) est caractéristique de tumeurs agressives et en pleine expansion. Par rapport à des techniques de type ASL, FENSI présente l'avantage d'être moins sensible au flux provenant des larges vaisseaux sanguins. De plus, aucun délai n'est nécessaire entre la fin de la saturation et l'acquisition du signal RMN, rendant la technique moins sensible aux effets de relaxation  $T_1$  et temps de transit sanguins allongés. L'inconvénient principal de FENSI reste sa limitation à l'imagerie d'une coupe unique.

### *Le gliosarcome 9L*

Sous le terme de GBM sont regroupées trois différentes variantes de tumeurs : le GBM conventionnel, le GBM cellule géante et le gliosarcome. Les gliosarcomes, qui représentent 2 % des GBM, sont caractérisés par une croissance biphasique (composantes gliales et mésenchymales). Il a été depuis 1971 l'un des modèles de tumeur cérébrale les plus utilisées en recherche, notamment en chimiothérapie, radiothérapie, immunothérapie ou thérapie génique. Le gliosarcome 9L possède de nombreuses similitudes histo-pathologiques avec les tumeurs cérébrales humaines. Celui-ci est en règle générale hautement vascularisé et concentré en cellules. Un motif de croissance (masse solide tumorale entourée d'une zone vascularisée chaotique périphérique) est régulièrement observé.

### *Protocole expérimental*

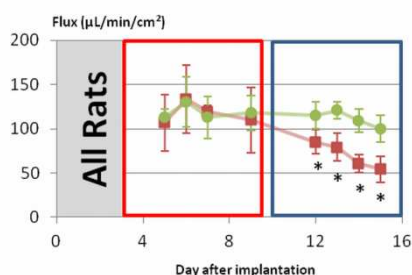
$10^5$  cellules gliales 9L sont implantées dans le striatum de 8 rats mâles Fisher. Les acquisitions IRM démarrent cinq jours après implantation, sur les 5 rats qui ont développé des tumeurs (taille moyenne 1-1.4 mm). Quatre rats sont scannés six fois entre J+5 et J+15. Un rat (#4) est scanné seulement trois fois et a dû être sacrifié à J+9. Un marquage immunohistologique (noyaux et cellules endothéliales) est effectué sur le rat #2. Pendant les acquisitions, les animaux sont anesthésiés (2 % isoflurane) et maintenus immobiles dans l'aimant à l'aide de barres d'oreilles et d'un mors de dents. Température et respiration sont surveillées et ajustés avec attention. Les paramètres d'imagerie de flux sont les suivants : TR/TE = 6000/13 ms, résolution spatiale 250 x 280  $\mu\text{m}$ , épaisseur de coupe de saturation/imagerie = 1/6.5 mm, durée de saturation 3 s. Les effets MT sont compensés entre les images « control » et « tag » grâce au module de préparation décrit dans le chapitre précédent. 150 répétitions sont enregistrés (temps d'acquisition 1 heure). Une image pondérée en T2 (RARE, TR/TE = 3000/56 ms, résolution spatiale 200 x 200 x 1000  $\mu\text{m}$ , NA = 4, temps d'acquisition 3 min 12 s) sert à la localisation de la zone tumorale et à la mesure du diamètre tumoral.

### *Expansion tumorale*

Les tumeurs se développent autour du chemin pris par l'aiguille pour injecter les cellules gliales. D'une taille de  $1.5 \pm 0.2$  mm à J+5, elles atteignent  $2.5 \pm 0.2$  mm à J+9. A partir du jour 9, leur croissance s'accélère. Les diamètres atteignent respectivement  $4.6 \pm 0.3$  mm,  $6.2 \pm 0.2$  mm et  $6.5 \pm 0.5$  mm à J+12, J+13 et J+15. La courbe de croissance révèle deux zones distinctes de développement tumoral, pour des diamètres inférieurs et supérieurs à 3 mm.

### Quantification du flux sanguin tumoral

Les mesures de flux sanguin tumoral (TBFlux) sont comparées au CBFlux contralatéral à différents stades de développement. Lorsque le diamètre des tumeurs est inférieur à 3 mm, les résultats révèlent une grande hétérogénéité de vascularisation des tumeurs. Sur 15 mesures, 6 présentent un flux plus important dans la tumeur ( $p < 0.05$ ), 5 un flux moins important, et 4 une différence non significative. L'analyse de groupe (**Figure 1**) ne révèle pas de différence significative de flux entre les deux hémisphères (tumeur et contrôle). Lorsque le diamètre excède 3 mm, toutes les mesures effectuées ( $n=11$ ) révèlent un flux moins important dans la tumeur, en moyenne 40 % plus faible que dans le sous-cortex sain (analyse de groupe,  $p < 0.01$ ).



**Figure 1** Evolution temporelle du flux sanguin tumoral (TBFlux, vert) et cérébral (CBFlux, rouge) après implantation des cellules gliales 9L.

\* $p < 0.05$

### Discussion sur les résultats de flux

Les effets de MT et de saturation directe sont négligeables près des zones tumorales et contrôle. Cependant ceux-ci peuvent être importants près du cervelet et amener une surestimation importante (+100 %) du CBFlux dans ces régions. Il est nécessaire d'ajuster l'homogénéité du champ magnétique local avec précaution. L'influence de la BHE n'a pas été étudiée ici. L'orientation coronale de nos images a un impact supposé faible sur le CBFlux, car celui-ci est isotrope dans les tissus sains et supposé chaotique dans la tumeur. Nos mesures à un stade avancé corroborent les résultats obtenus par ASL, DSC-MRI et autoradiographie sur ce même type de tumeurs et suggèrent que FENSI est capable de renseigner sur l'évolution temporelle du flux au niveau microvasculaire.

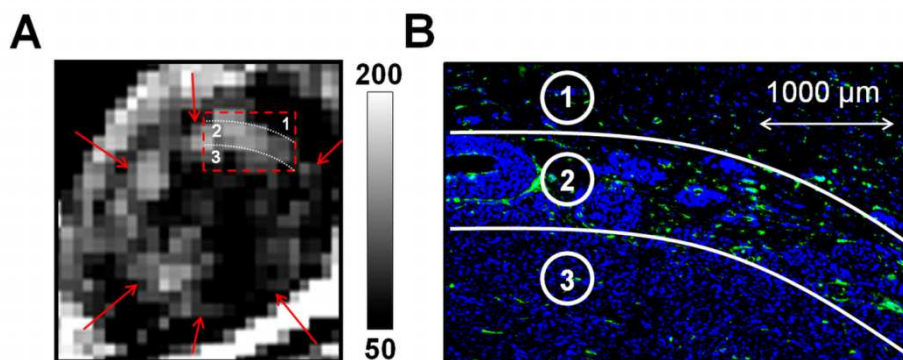
### Compartimentation des tumeurs à un stade avancé

A un stade avancé la tumeur peut être segmentée, basée sur la distribution de flux sanguin tumorale. Deux compartiments sont obtenus en minimisant la variance interclasse (algorithme d'Otsu). Ceux-ci révèlent des noyaux très peu vascularisés entourés d'anneaux où le TBFlux est significativement plus élevé, sans toutefois atteindre des valeurs de type « contrôle » ( $p < 0.05$ ). Observés sur quatre rats, la position des noyaux tumoraux n'est pas forcément au centre de la tumeur, mais concorde avec la position initiale de l'injection cellulaire.

### Immuno-histochimie

Une étude immuno-histochimique est réalisée sur le rat #2, qui présente un motif particulier de flux sanguin (flux faible au centre et plus élevé en périphérie). Son cerveau est

extrait après avoir été perfusé au paraformaldéhyde (PFA). Celui-ci est successivement conservé dans le PFA pendant 2h, puis dans une solution de sucrose 15% pendant 12h et de sucrose 30% pendant 24h pour une meilleure cryo-protection. Deux marquages sont réalisés : DAPI pour observer les noyaux cellulaires, et CD31 pour mettre en évidence les cellules endothéliales qui forment les parois des micro-vaisseaux sanguins. La tumeur est hautement cellulaire. En zoomant dans une région périphérique (**Figure 2**), il est possible d'observer une hausse de la concentration en cellule endothéliale en bordure de tumeur. Ceci suggère que la concentration en micro-vaisseaux est corrélée avec nos mesures de flux sanguin dans la tumeur. Une faible zone de nécrose est observée au cœur de la tumeur, en bon accord avec une région hypo-intense présente sur notre image anatomique (pondérée T<sub>2</sub>).



**Figure 2** Caractérisation de la vascularisation tumorale à l'aide de la microscopie de fluorescence. **A.** Zoom dans la région tumorale du CBFlux du rat #2 (in  $\mu\text{L}/\text{min}/\text{cm}^2$ ). La tumeur est délimitée par les flèches rouges. **B.** Immuno-histochimie des noyaux (DAPI - bleu) et vaisseaux sanguins (CD31 - vert) dans la MB (region #1), en bord de tumeur (region #2) et au centre de la tumeur (region #3).

#### Discussion sur l'immuno-histochimie

Dans la tumeur, les régions de faible flux sont corrélées avec les zones d'implantation des cellules. L'identification de deux zones de développement ainsi que la présence de différentes régions intra-tumorales (partageant un motif particulier) est en bon accord avec la littérature sur le sujet. De plus, ces régions peuvent être observées en immuno-histochimie. Ainsi la neo-vascularization tumorale (associées à l'angiogenèse et aux tumeurs de stade IV) peut être observée en imagerie de flux sans avoir recours à la biopsie. Ces résultats gagneraient à être confirmés sur une plus grande cohorte d'animaux, ce qui était impossible au moment de l'expérience à cause des problèmes techniques. De plus, la comparaison directe entre une unique coupe histologique et le CBFlux souffre d'une différence d'épaisseur de coupe et de potentielles distorsions de signal. Nous fondons de bons espoirs sur une extension de cette étude et une validation quantitative du lien entre le flux et la concentration en micro-vaisseau.

#### Conclusion

Nous démontrons dans ce chapitre l'utilité de la technique FENSI quant à la quantification longitudinale de changements de flux au niveau microvasculaires tout au long du développement tumoral. Non seulement, FENSI renvoie à un stade avancé des résultats cohérents avec différentes techniques d'IRM de perfusion, mais permet également de différencier différentes zones à l'intérieur de la tumeur. Ces zones semblent reliées à la différente concentration en micro-vaisseau sanguin observée en microscopie de fluorescence.

## IV. Vers l'imagerie de flux fonctionnelle

Parmi les potentielles applications de l'IRM de perfusion se trouve l'IRM fonctionnelle qui connaît depuis une vingtaine d'années un essor formidable. Nous envisageons ici l'éventuelle implémentation d'une technique d'imagerie du flux dynamique dédiée à l'IRMf, et ses avantages par rapport aux techniques classiques basées sur le niveau d'oxygénation du sang dans les veines (contraste BOLD). Après une brève description du mécanisme BOLD, nous discutons des bienfaits de l'IRMf de perfusion. Un protocole IRMf est implémenté sur notre scanner préclinique et optimisé pour obtenir une réponse BOLD reproductible et robuste. A 7 T, l'imagerie de flux ne révèle pas de différence significative sous stimulation somato-sensorielle. Cette absence est supposément due à un SNR peu élevé. Les protocoles sont passés sur le scanner IRM préclinique à 17.2 T afin d'augmenter le niveau de signal obtenu avec FENSI. L'effet de différents anesthésiques sur le contraste BOLD est étudié à haut champ, avant de vérifier que la réponse BOLD hémodynamique est inchangée. L'imagerie de flux à ultra haut champ offre des perspectives intéressantes pour comparer dans un avenir proche les réponses hémodynamiques et microvasculaires à un stimulus, et leur localisation respective. FENSI semble toutefois mieux adapté vis-à-vis de la caractérisation longitudinale de flux en raison de fortes contraintes sur le SNR.

### *Cartographier l'activité cérébrale par IRM*

Belliveau et ses collègues furent les premiers à réaliser en 1991 la première expérience d'IRM fonctionnelle sur un patient. En DSC-MRI, l'observation du premier passage de l'agent de contraste Gd renseigne sur le CBV local. En mesurant ce CBV au repos et sous stimulation, on obtient une variation du volume sanguin qui reflète l'activité métabolique liée à l'activation neuronale. Au même moment, Turner et ses collègues mirent au point l'étude des changements rapides du niveau d'oxygénation du sang (chez le chat soumis à l'anoxie) en associant l'imagerie EPI au contraste BOLD. Depuis le nombre d'étude utilisant l'IRM pour caractériser la réponse à une tâche spécifique évolue de manière exponentielle. Une requête sur le moteur de recherche de Pubmed renvoie plus de 27000 publications au mot-clé 'fMRI', et 3000 rien qu'en 2011. En général, l'IRMf est utilisée pour explorer la fonctionnalité d'une région du cerveau. A cause de la forte sensibilité du contraste BOLD à de faibles changements physiologiques, celui-ci est souvent préféré à DSC-MRI ou aux autres techniques d'IRM de perfusion.

### *Les bases du signal BOLD*

En 1990, Ogawa apporta la preuve du contraste IRM généré à 7 T par le changement du niveau d'oxygénation du sang, posant ainsi les bases de l'IRMf sans agent de contraste exogène. Le principe sous-jacent au contraste BOLD est le suivant. Tout d'abord l'imagerie pondérée  $T_2^*$  est extrêmement sensible aux inhomogénéités de champ magnétique. A cela s'ajoute le fait que les molécules d'hémoglobines ont des propriétés magnétiques différentes selon qu'elles transportent de l'oxygène (oxyhémoglobine, diamagnétique) ou pas (déoxyhémoglobine, paramagnétique). Un faible changement du rapport de concentration en oxyhémoglobine/déoxyhémoglobine se traduit par un changement de signal RMN. Or pendant l'activité cérébrale, les flux ioniques de potassium, calcium et sodium augmentent. Du glucose est consommé, et la concentration en ATP augmente. Les neurones et astrocytes en charge réclament une augmentation de l'apport sanguin - via des signaux vaso-actifs - pour compenser cette élévation métabolique. Le CBV et le CBF augmentent. L'apport en oxygène excède cependant le taux de consommation par les astrocytes et le taux d'oxyhémoglobine augmente.



Au niveau des capillaires et des structures veineuses, la susceptibilité locale décroît et donne lieu à une augmentation du signal  $T_2^*$ .

### *IRMf de type BOLD et IRMf de perfusion*

En règle générale, une expérience fonctionnelle est constituée de multiples acquisitions IRM utilisant des techniques d'encodage du signal rapides (EPI, Spiral) alors qu'un paradigme de stimulation est appliqué. Détecter l'activité neuronale revient alors à corréliser les changements de signal BOLD au paradigme de stimulation. Typiquement, une séance dure 2 à 3 min à 1.5 T et peut détecter l'activité cérébrale à des résolutions millimétriques. Mais l'IRM de perfusion est tout aussi capable de détecter l'activité neuronale. De plus, celle-ci ne souffre pas d'un manque de spécificité spatial inhérent au contraste BOLD dont la majeure partie du signal provient du retour veineux. Si le contraste BOLD dépend de l'activation neuronale, il ne lui est en effet qu'indirectement relié. L'IRMf de perfusion permettrait ainsi d'accéder à des résolutions sub-millimétriques. Ensuite, la forme et l'amplitude du signal BOLD dépend du réseau vasculaire local, et les délais de réponse hémodynamique ne représentent pas forcément une inférence neurale. Enfin, BOLD n'est qu'un marqueur indirect et non quantitatif du métabolisme cérébral. Il dépend de nombreuses variables telles que le CBF, le CBV, l'absorption d'oxygène par les tissus, ou encore l'homogénéité du champ magnétique  $B_0$  en l'absence de stimulation. En accédant au débit sanguin ou au flux au niveau des capillaires sanguins, une vraie mesure du CBF/CBFflux est possible, et reflète de manière quantitative l'activité cérébrale. Ces avantages potentiels ne doivent pas faire oublier les défauts inhérents aux techniques de perfusion. Même si le CBF local connaît une forte hausse - entre 50 et 100 % - pendant la stimulation, celles-ci souffrent d'une faible sensibilité qui peut gêner la détection de rapides variations de signal.

### *Implémentation d'un protocole robuste d'IRMf de type BOLD*

De nombreux paramètres entrent en jeu dans la mise en place d'un protocole d'imagerie fonctionnelle. Les paramètres physiologiques (température, respiration, rythme cardiaque, anesthésie) doivent être rigoureusement surveillés et maintenus constants pour déterminer une réponse fiable. Etant donné l'étendue de la littérature sur le sujet, nous nous sommes portés sur un modèle de rat (Sprague Dawley) et une stimulation électrique de la patte avant. Le choix de l'anesthésique ainsi que les différents paramètres de stimulation sont importants. Nous sommes partis d'un protocole décrit par Zhang et collègues (anesthésie à base de médétomidine), et avons affiné nos réglages afin d'obtenir une activation forte et reproductible. Après optimisation, les paramètres de stimulation choisis sont les suivants : 5 unités constituées de blocs de 30 s de stimulation suivis de 30 s de repos, fréquence des impulsions 7 Hz, durée des impulsions 0.3 ms, amplitude 2 mA. L'anesthésie a également été modifiée. La perfusion est régulièrement augmentée pour éviter toute habituation du sujet à l'anesthésie.

### *La réponse BOLD à 7 T*

En utilisant les paramètres précédents, un changement de signal est détecté au niveau du cortex somato-sensoriel moteur (zone S1) du rat 45 minutes après la première injection de médétomidine. Cette activation se maintient pendant plus de 3h. En moyennant les résultats obtenus sur huit rats différents, on accède à une réponse hémodynamique moyenne. On observe une augmentation de 2.6 % du signal BOLD 4.5 s après le début de la stimulation. Celui-ci se stabilise ensuite à +1.4 %. Lorsque la stimulation s'achève, il reprend lentement son



niveau d'équilibre. La forme de la réponse est satisfaisante et son amplitude est même supérieure à celle déterminée par Zhang (1.6//0.6 %). Le reproductibilité des mesures ainsi que sa sensibilité suggère que le protocole est bien calibré à 7 T. Nous le considérons comme standard dans la suite du manuscrit. Il fut présenté à la communauté scientifique sous la forme d'une présentation orale (EUROMAR 2010).

#### *IRMf de flux à 7 T*

Parce que FENSI doit acquérir deux images (« control » et « tag ») et que la durée de saturation doit être suffisamment importante pour que les spins « lents » s'échappent de la bande de saturation, le temps de répétition ne peut être raccourci autant que désiré. De plus, le faible SNR encourage le moyennage des mesures de flux. Pour ces deux raisons FENSI est d'abord appliqué à l'étude de changements relativement lents de flux sanguin. Une première étude cherche à caractériser les changements de flux en condition hypercapnique. En alternant 5 minutes de repos (100 % Air) et 5 minutes d'hypercapnie (95 % Air + 5 % CO<sub>2</sub>), FENSI est incapable de détecter l'augmentation du débit sanguin reporté dans la littérature. Une seconde expérience mesure le flux sanguin (après stabilisation de l'animal) pendant 30 minutes sous les deux conditions et révèle 73 et 142 % d'augmentation du CBFlux dans le cortex et sous cortex. En se basant sur ce jeu de données et les variations temporelles de signal, nous calculons qu'il n'est pas possible de détecter des changements dynamiques de flux sanguin sous la barre des 10 minutes de résolution temporelle. Ceci est confirmé par l'échec de la détection de changements de CBFlux lors de la stimulation électrique de la patte avant du rat soumis au protocole décrit dans les paragraphes précédents. Nous nous tournons alors vers l'imagerie à ultra haut champ magnétique (UHF).

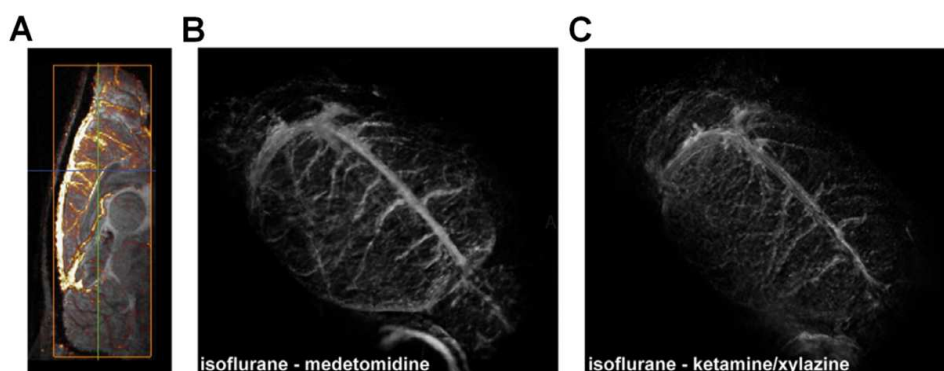
#### *UHF : une sensibilité accrue à l'anesthésie*

L'effet des différentes anesthésies utilisées en pratique clinique sur le système nerveux central est peu documenté et les publications sur le sujet sont souvent en désaccord, suggérant une forte dépendance au dosage ou aux paramètres de ventilation. L'idée est ici de quantifier l'impact de ces différentes anesthésies (médétomidine, kétamine-xylazine, isoflurane) sur le contraste BOLD, ce qui est rendu possible à UHF par une sensibilité accrue à des variations de susceptibilité magnétique. Les animaux sont intubés et ventilés durant toute la durée de l'expérience. La pression sanguine, le taux de respiration, la quantité de CO<sub>2</sub> expiré et la température sont constamment surveillées pour entretenir un état de normocapnie. Le taux de saturation partiel en O<sub>2</sub> n'a pas pu être établi à cause d'une incompatibilité du système de mesure avec le scanner IRM. Les gaz de sang sont mesurés en début et fin de chaque expérience et trouvés constants aux imprécisions de mesures près. L'animal est anesthésié à l'isoflurane, un cathéter est posé. Une image pondérée T2\* est acquise. L'isoflurane est alors arrêtée et une autre anesthésie utilisée. Une seconde image est acquise, et comparée à la première. L'animal se réveille ensuite de lui-même après l'expérience. 6 / 4 animaux sont utilisés à 17.2 / 7 T, 3 / 2 sous chacune des deux conditions (isoflurane/autre).

#### *Impact de l'anesthésie sur le contraste BOLD*

Pour chaque image, le nombre de pixels N dont l'intensité est inférieure à 75 % de l'intensité moyenne dans le cortex est calculé. Ce critère met en évidence différents

phénomènes. Tout d'abord,  $N$  est largement supérieur à 17.2 T lorsque les mêmes anesthésies sont comparées. Ensuite,  $N$  augmente significativement (~480%) lorsque l'animal est anesthésié au moyen de la médétomidine ou kétamine-xylazine, par rapport à l'isoflurane. Les pixels correspondant à ce critère semblent appartenir au réseau macrovasculaire veineux. L'acquisition de volumes 3D permet de construire un veinogramme du cerveau du rat (**Fig 3**). Ceci implique que l'anesthésie a un impact direct sur le contraste tissu/vaisseaux en imagerie pondérée  $T_2^*$ , en particulier à UHF, même si ce phénomène dans une moindre mesure visible à 7 T.



**Figure 3** Soustraction d'intensités obtenues sous deux différentes anesthésies à 17.2 T. **A.** isoflurane – medetomidine, plan sagittal (la différence est superposée sur l'image acquise sous médétomidine) **B.** isoflurane – medetomidine (rendu 3D) **C.** isoflurane – ketamine/xylazine (rendu 3D).

#### *IRMf de type BOLD à UHF*

Le contraste BOLD provient des changements de susceptibilité magnétique, et donc des temps de relaxation transverse  $T_2^*$ . Ceux-ci varient avec le champ magnétique, et avec eux l'amplitude du signal BOLD. Afin de calibrer notre protocole IRMf à UHF, il convient de modifier nos paramètres d'imagerie. TE est raccourci pour correspondre au critère de Menon :  $TE \sim T_2^*$ . Tout comme à 7 T, une séquence de type GE-EPI est utilisée pour acquérir le signal. La réponse hémodynamique obtenue à 17.2 T (pic 2 %, plateau 1.4 %) est comparable à celle obtenue à 7 T.

#### *L'avenir de l'IRMf de flux*

Le SNR n'est en IRMf pas le meilleur indicateur des performances des techniques de type ASL et FENSI. On lui préfère le SNR temporel, qui reflète le nombre d'acquisitions nécessaires afin de détecter des variations significatives de débit ou de flux sanguin. Celui-ci est à 7 T de l'ordre de 0.4, ce qui est insuffisant pour résoudre la dynamique des flux microvasculaires en réponse à la stimulation que nous avons mise en place. A 17.2 T, nous atteignons un SNR temporel de 1.2, comparable à des techniques PASL et VS-ASL qui se sont révélées capables de détecter des changements de CBF en utilisant un paradigme de stimulation comparable au nôtre. Ceci est de bon augure et suggère que FENSI est capable d'accéder à UHF au « vrai » signal de flux dans des temps raisonnables (~5 s). Nous attendons actuellement la conception d'une antenne découplée en émission et réception pour améliorer encore les performances de FENSI et comparer les réponses hémodynamiques et microvasculaires. La méthode peut cependant déjà être utilisée pour observer et quantifier de manière non invasive des changements physiologiques dans le cadre de traitements pharmacologiques, études métaboliques et autres pathologies cérébrovasculaires.

## V. Cartographier le réseau vasculaire et son orientation

Ce chapitre peut être considéré comme un guide quant à l'utilisation de la méthode FENSI et son implémentation efficace sur un scanner IRM. L'influence de différents paramètres sur l'accroissement de signal est discutée. Les difficultés relatives aux techniques ASL sont tout d'abord évoquées, dans des situations où les temps de transit artériels ne sont pas clairement définis. Certaines techniques, comme VS-ASL, permettent de s'affranchir de ce problème. Avec FENSI, quatre paramètres caractérisent entièrement les liens entre le signal RMN et la vitesse des spins circulant. Un ajustement fin de ces paramètres permet d'obtenir une sensibilité accrue à un intervalle de vitesse bien définie, et de s'affranchir du problème de contamination du flux microvasculaire par les gros vaisseaux sanguins. Une utilisation différente de la technique FENSI permet de mesurer la fraction de spins circulant. La sensibilité de la technique à l'orientation du flux est également présentée, et met en évidence plusieurs obstacles pour quantifier de manière fiable le flux sanguin cérébral.

### *Les limitations inhérentes aux techniques PASL, CASL, PCASL et VS-ASL*

Utilisées en routine, ces méthodes étiquettent le sang au niveau du cercle de Willis puis enregistrent le signal RMN dans une coupe d'intérêt du cerveau. On comprend que le signal pondéré en perfusion est maximal lorsque le délai séparant les impulsions radiofréquences de l'acquisition RMN correspond au temps de transit sanguin. Ce délai dépend de la vitesse particulière des spins situés à l'intérieur du réseau vasculaire, mais aussi de la position respective des coupes d'imagerie et de saturation, et du chemin emprunté par le sang. Optimisé au niveau de la MG, il varie entre 1 et 1.5 s pour des distances typiques de l'ordre de 6 à 10 mm. Une correction est introduite lors de l'acquisition de plusieurs coupes d'imagerie, et peut engendrer un biais de calcul. Le débit sanguin collatéral est très mal décrit par le modèle ASL à cause de l'extrême sensibilité de la technique à ces délais. De même, les débits sanguins considérés comme « lents » (par exemple dans la MB) sont souvent sous estimés. Il est possible de résoudre une partie de ces problèmes en introduisant des délais ou des temps de saturation variables, au prix de temps d'acquisition étendus. VS-ASL a été proposé comme solution au problème de dépendance au temps de transit sanguin. Le principe est ici de cibler tous les spins circulant au-delà d'une vitesse critique  $v_c$  sans aucune sélection spatiale. Ensuite, seuls les spins dont la vitesse est inférieure à  $v_c$  contribuent au signal RMN. Le résultat caractérise uniquement les spins décélérant (afin d'éliminer la contribution veineuse) du réseau vasculaire. Le niveau de bruit atteint par cette méthode est similaire à celui déterminé par des techniques classiques de type PASL ou CASL. Le paramètre d'importance est ici  $v_c$ . Et de multiples acquisitions (avec différents  $v_c$ ) sont toujours nécessaires pour quantifier efficacement le débit « normal » (MG) et le débit sanguin réduit.

### *Accroissement de signal et vitesse des spins*

Tout comme les techniques précédentes, le signal pondéré en flux dépend de nombreux paramètres. Les relations entre augmentation de signal et vitesse du sang peuvent être entièrement caractérisés par quatre paramètres indépendants que sont la durée de saturation  $T_{SAT}$  et les épaisseurs de coupe d'imagerie, de saturation, et de post-saturation  $L_{IMG}$ ,  $L_{SAT}$  et  $L_{PS}$ . Celles-ci ont un impact sur  $E_{MAX}$ ,  $v_{MIN}$  et  $v_P$  via les équations suivantes :  $E_{MAX} = (L_{IMG} -$

$L_{PS}/2 * L_{SAT}$  ;  $v_{MIN} = (L_{PS} - L_{SAT})/2 * T_{SAT}$  ;  $v_P = (L_{IMG} - L_{SAT})/2 * T_{SAT}$ . Ainsi,  $L_{IMG}$  et  $L_{PS}$  n'affectent pas la forme de la réponse FENSI, mais modifient le niveau du plateau  $E_{MAX}$  en permettant à un plus grand nombre de spins de s'accumuler dans la coupe effective d'imagerie  $L_{IMG} - L_{PS}$ .  $L_{PS}$  doit cependant être choisi assez grand (en pratique,  $1.5 \times L_{SAT}$ ) pour éviter tout effet de saturation directe de la coupe d'imagerie. Augmenter  $T_{SAT}$  revient à autoriser les spins lents à atteindre la coupe d'imagerie (attention aux temps de relaxation  $T_1$  et temps d'acquisition). Augmenter l'épaisseur de saturation  $L_{SAT}$  déplace l'intervalle de vitesse  $[v_{MIN} - v_P]$  vers les vitesses faibles, au prix d'une perte de résolution spatiale (**Tableau 1**).

**Tableau 1 Comment améliorer la détection des spins « lents » avec FENSI**

	$v_{MIN}$	$v_P$	$E_{MAX}$	Drawbacks
<b>Augmenter <math>L_{IMG}</math></b>	0	+	+	Artefacts (oreilles), résolution
<b>Diminuer <math>L_{PS}</math></b>	-	0	+	Saturation directe, diffusion, mouvement, bruit
<b>Augmenter <math>T_{SAT}</math></b>	-	-	0	Temps d'acquisition, relaxation $T_1$
<b>Augmenter <math>L_{SAT}</math></b>	-	-	-	Perte de résolution spatiale

*Eviter la contamination macrovasculaire*

Au delà de  $v_P$ , tous les spins participent de manière équitable au signal FENSI. De plus,  $T_{SAT}$  n'a aucun impact sur la valeur du plateau  $E_{MAX}$ . En introduisant quelques impulsions de saturation dans le module de préparation en mode « control », les spins rapides peuvent être saturés de manière identique à la fois dans l'image « control » et l'image « tag ». La différence d'intensité est alors libre de toute contamination par les spins rapides du réseau macrovasculaire (artères et grosses veines,  $v > 10$  mm/s). En estimant la vitesse critique  $v_c$  au-delà de laquelle tout signal doit être éliminé, il est possible de calculer le nombre d'impulsions  $N$  (appelées « control tags ») à mettre en place via la formule  $N = (L_{IMG} - L_{SAT}) / (2 * v_c * \Delta T)$ , où  $\Delta T$  est la durée d'un unique couple d'impulsions  $45/\pm 45$  degrés.

*Influence du temps de relaxation longitudinal sanguin  $T_{1b}$*

$T_{1b}$  joue un rôle important en ASL et FENSI car il caractérise la durée pendant laquelle les spins étiquetés le restent. Celui-ci doit être évalué en ASL pour corriger l'efficacité de l'inversion en fonction du temps de transit sanguin. Même si FENSI ne s'occupe que d'imagerie de coupe unique, il a un impact sur TR et  $T_{SAT}$ , notamment. Selon leur vitesse, les spins présents dans la coupe d'imagerie au moment de l'acquisition du signal ont été étiquetés à différents moments pendant  $T_{SAT}$ . Chaque vitesse subit une relaxation  $T_{1b}$  différente, les plus affectés étant les spins lents. De plus, les acquisitions « control » et « tag » étant alternées, TR est également contraint par  $T_{1b}$ . A UHF, TR augmente, mais la relaxation  $T_1$  se fait moins présente et permet de conserver quasiment la totalité de la perte d'aimantation.

*Une seconde utilisation de la technique FENSI*

Comparés aux techniques ASL, FENSI peut être sensibilisé exclusivement aux faibles vitesses, et ainsi caractériser finement le flux sanguin au niveau microvasculaire (artérioles, veinules, capillaires). Mais FENSI peut aussi accéder de manière numérique à la fraction de spins circulant, en ajustant les paramètres d'imagerie de manière à obtenir l'accroissement de signal maximal  $E_{MAX}$  dès les vitesses de spins les plus faibles. Ainsi en utilisant  $L_{SAT}/L_{IMG}/L_{PS} =$

2/8/4 mm, un  $T_{SAT}$  de 200 ms va permettre de quantifier des variations de vitesse autour de 10 mm/s, alors que choisir  $T_{SAT} = 600$  ms garantit un signal constant dès  $v = 5$  mm/s.

### *L'orientation du flux sanguin*

Les calculs détaillés au chapitre 1 supposent que le flux sanguin est uniforme sur l'épaisseur  $L_{SAT}$ , et orienté perpendiculaire à la tranche de saturation. Si ces conditions ne sont pas respectées (milieu tortueux, tumeurs ou tissus) il convient d'introduire l'angle d'attaque  $\theta$  et de remplacer le terme de vitesse  $v$  par  $v \cdot \sin\theta$  dans les équations de flux, modifiant ainsi l'intervalle de vitesse de spins auquel FENSI est sensible. Ceci affecte principalement le réseau macrovasculaire, car le flux sanguin peut être considéré isotrope au niveau capillaire.  $\theta = 90^\circ$  est le cas idéal.  $\theta = 0^\circ$  ne pose pas de problème car les spins étiquetés n'atteignent pas la coupe d'imagerie. Dans le cas d'angles intermédiaires ( $15^\circ < \theta < 60^\circ$ ), des problèmes peuvent se poser. Si la taille des voxels d'imagerie est suffisamment grande, le flux sanguin sera surestimé localement car plus de spins peuvent s'accumuler. Augmenter la résolution n'améliore pas les performances de FENSI, puisque le flux calculé est alors artificiellement délocalisé au niveau de la projection du vaisseau sanguin dans la coupe d'imagerie.

### *Mesures de flux sanguin cérébral dans différentes directions*

En orientant les coupes de saturation et d'imagerie dans différentes directions, il est possible de calculer l'orientation privilégiée du CBFlux dans différentes zones du cerveau. Nos mesures effectuées dans le cortex cérébral indiquent une isotropie du flux sanguin au niveau microvasculaire. Dans un volume d'intérêt traversé par un vaisseau sanguin (détecté par angiographie), le flux augmente considérablement (+136%) lorsque la coupe d'imagerie est positionnée perpendiculairement au vaisseau. D'autres résultats suggèrent que le CBFlux est isotrope dans la majorité des structures tissulaires cérébrales (MG du cortex et sous cortex, MB, cervelet). Ceci permet en principe une bonne corrélation de nos mesures avec des techniques ASL qui ne sont pas sensibles à l'orientation du débit sanguin.

### *Discussion*

Il est possible d'imaginer l'implémentation d'un tenseur de flux à partir du contraste observée avec FENSI. Cela nécessite néanmoins de répéter les acquisitions en utilisant un grand nombre de directions différentes. En pratique il est plus commode de s'orienter vers des techniques ASL qui utilisent des gradients de champ pour atténuer la pondération en flux dans une direction particulière. L'utilisation de FENSI doit se faire en complément d'ASL. Ces deux techniques peuvent en effet mettre en évidence des comportements très différents dans l'étude de tumeurs cérébrales et/ou dans le cas de dégradation de la BHE.

## VI. Avantages et inconvénients, perspectives et applications

**F**ENSI possède de sérieux atouts et inconvénients par rapport aux techniques classiques d'IRM de perfusion. L'objectif est ici d'évaluer dans quelles circonstances le CBFlux apporte une information supérieure au CBF déterminé par ASL ou DSC-MRI. Ainsi, FENSI est quantitatif et non-invasif (DSC-MRI non) et ne souffre pas d'une trop grande sensibilité aux temps de transit sanguin comme les techniques ASL. Cependant la séquence ne permet d'obtenir qu'une seule coupe de flux par acquisition et sa résolution temporelle est limitée. L'avantage des UHF est également discuté. Enfin nous proposons une série d'applications potentielles à cette nouvelle méthode de quantification du flux sanguin par IRM : désordres musculaires, flux collatéral, IRM pharmacologique...

### *Une technique non invasive*

Les méthodes DSC-MRI sont considérées comme peu invasives car elles nécessitent la pose d'un cathéter (sur le bras du patient ou la queue du rat) pour injecter l'agent de contraste. La molécule de Gadolinium est de plus toxique sous sa forme ionique, et doit être encapsulée pour pouvoir être délivrée au niveau médical. Certains patients peuvent développer des allergies ou réagir violemment à l'injection du produit. Des cas de fibrose néphrogéniques systémiques ont également été reportés. Les symptômes peuvent alors être sévères et inclure un gonflement important des tissus. L'injection de Gd doit être évitée (au moins minimisée) chez les patients souffrant d'insuffisance rénale. Les techniques FENSI présentent l'avantage d'être complètement inoffensives en jouant sur l'aimantation (réversible) des molécules d'eau dans le réseau microvasculaire.

### *Une technique quantitative*

Les techniques DSC-MRI ne sont qu'en mesure de fournir une information qualitative sur le débit sanguin cérébral, pour différentes raisons détaillées dans le premier chapitre : les conditions d'application du modèle cinétique des traceurs non diffusifs ne sont en règle générale pas respectées. De plus, il est nécessaire de connaître la fonction d'entrée artérielle pour quantifier de manière absolue le CBF, qui est difficilement déterminée par IRM. Au contraire, FENSI (sous sa nouvelle forme, libérée des effets MT) ne nécessite aucune connaissance additionnelle sur les tissus et permet d'obtenir une information fiable, robuste, et qui permet de suivre de manière dynamique les changements de flux sanguin.

### *Une technique peu sensible aux altérations de temps de transit sanguin*

L'un des avantages majeurs de la technique FENSI est sa sensibilité accrue aux vitesses considérées comme « lentes » par les techniques ASL. En limitant le besoin d'introduire un délai entre le marquage des spins et l'acquisition du signal RMN, les spins prenant un chemin tortueux et/ou fortement ralenti peuvent participer à la perte de signal entre les images « control » et « tag ».

### *Une technique localisée qui ne nécessite pas d'artère*

Afin d'obtenir un marquage efficace des spins (ASL), la position de la bande d'inversion doit être orthogonale à la direction du débit sanguin au niveau de l'artère principale. Ceci limite l'accès à certaines zones peu vascularisées. Avec FENSI, il n'est pas besoin d'artère pour marquer les spins au niveau des capillaires sanguins. Seules les positions de la coupe d'imagerie importe pour limiter les artefacts. L'utilisation de la technique FENSI peut dans un futur proche être étendue à la caractérisation vasculaire loin du réseau artériel principal.

### *Quand utiliser FENSI ?*

Par rapport aux techniques d'IRM de perfusion ASL et DSC-MRI, FENSI présente un avantage certain lorsque les patients ont une contre-indication pour l'injection de particules de Gadolinium, lorsqu'une quantification absolue du flux sanguin est requise, lorsque celui-ci doit être mesuré au niveau microvasculaire et/ou implique des chemins longs tortueux. Enfin FENSI permet de s'affranchir du besoin de localiser une artère en marquant les spins circulant au plus proche des tissus.

### *Unicité de la coupe d'imagerie*

Parce qu'elle enregistre la quantité de spins qui s'échappe de la bande de saturation, la technique FENSI n'est capable de n'imager qu'une seule coupe. Cela rend la méthode très peu efficace comparé aux techniques ASL multi-coupes, où au développement récent des techniques 3D-GRASE qui combinent aussi des acquisitions Gradient Echo et Spin Echo. Nous proposons une alternative à l'utilisation de FENSI lorsque le volume d'intérêt est trop important grâce à la technique pTILT (pour pseudo-continu Transfer Insensitive Labeling Technique). Tout comme FENSI, celle-ci utilise des paires d'impulsions radiofréquences pour compenser les effets MT. Il s'agit d'un compromis entre ASL et FENSI, car le signal est acquis dans différentes coupes d'imagerie proches de la bande de saturation, mais celles-ci ne se superposent pas. pTILT permet comme FENSI une plus grande flexibilité de la géométrie du champ de vue.

### *Contraintes de résolution temporelle*

FENSI demande de longues durées de saturation pour marquer les spins plus lents et leur permettre d'atteindre la bande d'imagerie. De plus, pour éviter que l'image « control » ne soit contaminée par le marquage de l'image « tag » précédente, il convient d'attendre que les spins soient redescendus à leur niveau d'équilibre. Tout ceci augmente le temps de répétition minimal de la séquence. Associé à un niveau de bruit élevé, la technique n'est pas idéalement adaptée pour détecter de rapides changements de CBF<sub>flux</sub>.

### *Contamination par le réseau macrovasculaire*

Des mesures effectuées avec différentes anesthésies à UHF montrent que l'image pondérée en flux obtenue avec FENSI reste contaminée par le signal intra-vasculaire à proximité de gros vaisseaux sanguins (sinus sagittal). L'introduction d'un faible délai entre le marquage des spins et l'imagerie en association avec plusieurs « control tags » permet de se débarrasser de



cette part macrovasculaire. A UHF, l'utilisation d'anesthésies spécifiques permet de s'affranchir de ces délais.

#### *Rapport Signal à Bruit temporel*

Après optimisation de la séquence, le SNR temporel atteint 0.4 à 7 T et 1.2 à 17.2 T. Ceci est en bon accord avec les valeurs rapportées par les méthodes PASL / VS-ASL (2.1 / 1.1) et juste suffisant pour espérer appliquer FENSI à l'IRMf à UHF. A 7 T, le tSNR est trop faible pour caractériser la dynamique du CBFlux en réponse à une stimulation électrique. Afin d'augmenter ce SNR, différentes améliorations de la technique peuvent être envisagées. Ainsi il a été prouvé qu'ASL bénéficiait d'une augmentation de SNR lorsque des impulsions de suppression de bruit de fond étaient implémentées. On peut également penser à instaurer une asymétrie d'acquisition (« control »/ « tag ») pour emmagasiner davantage d'information relative au flux sanguin.

#### *Sur l'utilisation de FENSI*

En dépit d'importantes améliorations de la séquence, celle-ci reste limitée comparée aux techniques de type ASL optimisées. Elle souffre en particulier d'une faible couverture spatiale et d'un niveau de bruit trop élevé pour apporter un réel plus par rapport à des techniques qui commencent à être utilisées en routine au niveau clinique. Le rôle de FENSI semble devoir se cantonner à des domaines précis où ASL ne permet pas de quantifier de manière fiable le CBF.

#### *FENSI et les très hauts champs magnétiques*

FENSI va bénéficier de la tendance actuelle vers l'augmentation des champs magnétiques. Le  $T_{1b}$ , qui augmente linéairement avec le champ, passe de 7 à 17.2 T de 2200 ms à 3400 ms, et permet un marquage des spins (et notamment des plus lents) plus efficace. De plus, le SNR augmente aussi linéairement avec le champ, et permet une notable réduction du bruit à UHF. Expérimentalement le SNR temporel augmente ainsi de +160 %, encourageant l'utilisation de FENSI à haut champ, malgré une augmentation des artefacts de susceptibilité. Il est également nécessaire de vérifier que le profil de saturation engendré par un couple d'impulsions radiofréquence  $45+45^\circ$  est bien respecté, car celui-ci devient extrêmement sensible à des effets « off-résonance ».

#### *FENSI et le mouvement incohérent intra-voxel*

Les interactions entre l'IRM de perfusion et l'IRM de diffusion peuvent être étudiées à haut champ grâce aux techniques IVIM. En percevant le réseau capillaire comme un milieu dans lequel les spins changent constamment de direction, il est possible d'associer à la fraction des spins circulant  $f$  un coefficient de diffusion apparent  $D^*$  et d'estimer celui-ci à l'aide de techniques de diffusion classiques (PGSE) pondérées faiblement en diffusion. Etant donné que le lien entre IVIM et perfusion est actuellement au centre de nombreux débats, il serait intéressant d'étudier la dépendance spatiale de  $D^*$  (et de  $f$ ) dans le cas de tumeurs cérébrales connues pour affecter le CBF (ou CBFlux). Nous proposons d'implémenter un protocole d'imagerie « multiple » comprenant des techniques de mesure de flux sanguin, de diffusion, des scans anatomiques et une validation microvasculaire via des coupes histologiques. Des résultats préliminaires indiquent que les fractions de spins circulants déterminées grâce à IVIM et FENSI semblent corrélées. Le processus de comparaison avec la concentration en capillaire sanguin (via un marquage endothélial) est en cours.

### *IRMf de flux*

Nous avons décrit dans le chapitre 4 nos efforts fournis vers l'IRMf de flux. En dépit de l'implémentation d'un protocole robuste et reproductible basé sur le contraste BOLD, il n'a pas été possible d'obtenir une réponse pondérée en flux à la stimulation électrique de la patte avant du rat, dû à un niveau de bruit trop élevé à 7 T. A très haut champ, le SNR temporel est comparable aux techniques ASL classiquement utilisées en IRMf et permet de garder espoir quant à la possible résolution des mécanismes de couplage neurovasculaire basés sur la comparaison des réponses hémodynamiques et vasculaires à une stimulation extérieure.

### *IRM pharmacologique et suivi de traitement*

A l'inverse de BOLD, FENSI permet d'accéder à un vrai marqueur quantitatif du métabolisme cérébral au travers du CBFlux. Cela permet d'envisager des études longitudinales et de comparer différents jeux de données entre plusieurs centres de recherche. Ces propriétés font de FENSI un choix judicieux pour l'IRM pharmacologique ainsi que le suivi de traitement et diagnostique par IRM.

### *Désordres cérébrovasculaires, ischémies et circulation collatérale*

La plupart des séquences ASL (à l'exception de VS-ASL et FAIR) ne peut pas quantifier de manière efficace les faibles débits sanguins en raison de temps de transit artériels élevés. Ces techniques ont été optimisées pour des scanners cliniques et débits sanguins « normaux ». Il en résulte un biais dans la mesure du CBF chez les patients souffrant de malformation artérioveineuse, occlusion artérielle, ischémie ou autre pathologie cérébrovasculaire. De l'autre côté, FENSI a été spécialement conçu pour déterminer le flux microvasculaire et marquer des spins à des vitesses oscillant entre 1 et 30 mm/s. Au moyen de longues durées de saturation, les spins lents peuvent s'accumuler dans la coupe d'imagerie. FENSI est, avec FAIR et VS-ASL, plus adaptée que les techniques ASL typiques pour caractériser localement la micro-perfusion au moyen du CBFlux. Concernant les sujets ischémiques, ASL peut être utilisé pour localiser la zone de « pénombre », définie comme la région affectée par l'infarctus, mais dont les tissus sont encore viables. Habituellement caractérisée en TEP, la détection de cette zone et ses limites est cruciale, car son volume est corrélé avec le pronostic clinique. La quantification du flux au niveau microvasculaire peut permettre de renseigner davantage sur son extension et sera étudiée prochainement. De plus, FENSI va pouvoir renseigner sur l'étendue du réseau vasculaire secondaire (circulation collatérale, temps de transit élevés) qui prend le relai lorsque le réseau principal est défaillant.

### *Désordres musculaires*

Enfin, nous nous proposons de tester la technique FENSI dans des circonstances défavorables aux méthodes classiques ASL. En l'absence d'une artère large et orientée favorablement, celles-ci souffrent d'un mauvais marquage. En théorie, FENSI n'est pas soumis au même désagrément et permet une mesure précise du CBFlux dans des régions éloignées du réseau vasculaire principal et ainsi aider et participer au diagnostic et traitement de désordres musculaires.

## Conclusion générale

L'objectif de ce travail était le développement d'une nouvelle séquence IRM de perfusion (la méthode FENSI) et son application potentielle à la caractérisation de la dynamique des flux microvasculaires par IRM.

Les enjeux de l'IRM de perfusion sont présentés. Une fois les méthodes conventionnelles (ASL et DSC-MRI) introduites et leurs désavantages discutés, les bienfaits théoriques de la méthode FENSI sont présentés. Celle-ci souffre dans son implémentation initiale de plusieurs défauts et obstacles qui empêchent une quantification efficace du CBF<sub>flux</sub>. La difficulté principale repose sur la contamination du signal pondéré en flux par des effets de MT. Ceux-ci sont quantifiés à 7 T. Nous proposons une méthode de post-traitement des données FENSI pour compenser ces effets parasites, et publions les premières cartes de flux sanguin cérébral chez le rongeur à 7 T. Une deuxième approche est établie, où les effets MT sont compensés entre les images « control » et « tag ». Ainsi modifiée, la nouvelle technique FENSI permet la caractérisation non-invasive du flux sanguin cérébral *in vivo*.

Nous utilisons cette méthode pour quantifier l'évolution temporelle du flux sanguin tumoral à différentes étapes de développement du gliosarcome 9L. Nos résultats indiquent de fortes variations inter sujet lorsque la tumeur est peu développée (diamètre inférieur à 3 mm). A un stade plus avancé, le flux sanguin diminue fortement dans la tumeur, ceci en bon accord avec l'état de l'art sur le sujet. De plus, les cartes de flux sanguin mettent en évidence une compartimentation de la tumeur basée sur sa vascularisation, validée par une comparaison immuno-histochimique.

De nombreux efforts ont été réalisés tout au long de cette thèse pour tenter d'appliquer la méthode FENSI à l'IRMf. Un protocole IRMf reproductible et robuste est implémenté à 7 T, et la réponse BOLD est caractérisée avec précision. Cependant le SNR temporel est trop faible pour détecter des changements de flux rapides avec FENSI. La méthode semble plus adaptée aux études longitudinales qu'à la caractérisation dynamique de flux. L'implémentation de FENSI à UHF donne néanmoins de l'espoir quant à la possible comparaison des réponses BOLD et pondérées en flux.

L'ajustement des différents paramètres d'imagerie permet de sensibiliser la technique FENSI à différentes vitesses et augmente ainsi le nombre de ses applications potentielles. Nous proposons une seconde utilisation pour la technique (quantifiant la fraction de spins circulant) et soulignons sa dépendance vis-à-vis de l'orientation du flux. Après optimisation, les forces et faiblesses de FENSI sont détaillées par rapport aux techniques ASL et DSC-MRI. Bien que possédant un faible SNR, FENSI bénéficie de la montée progressive en champ des imageurs RMN. Ses applications vont de l'IRMf à l'IRM de diffusion en passant par le traitement ischémique et pharmacologique. FENSI peut être utilisé en complément d'ASL pour caractériser au niveau microvasculaire les zones apparemment hypo-perfusées en CBF.

Différents outils et techniques furent développés durant cette thèse. Pour la première fois, une technique de quantification du flux sanguin entièrement non invasive est implémentée sur deux scanners précliniques, à haut et ultra haut champ magnétique. Un protocole IRMf est également mis au point à 7 et 17.2 T et peut être utilisé en routine aujourd'hui. Les développements méthodologiques incluent la programmation de séquences de diffusion, perfusion et d'IRM fonctionnelle synchronisée sur la stimulation électrique. Le traitement des données est réalisé à l'aide de codes informatiques générés par mes soins pour automatiser les processus de calcul. Enfin le modèle de tumeur cérébrale 9L est maintenant utilisé couramment pour étudier les perturbations vasculaires associées au développement tumoral.

Au-delà des progrès méthodologiques et expérimentaux, nous commençons à comprendre les mécanismes sous-jacents à l'IRM de flux et au contraste microvasculaire. La quantification du CBFlux chez des sujets ischémiques sera effectuée dans les prochains mois. Les performances de FENSI à UHF vont permettre d'étudier en profondeur les disparités de localisation de l'activité neuronale détectée en flux et en contraste BOLD. Une prochaine étude va également valider la corrélation entre le CBFlux et la concentration en capillaire sanguin observée en immuno-histochimie. L'étude comparée de la fraction de spins circulant (via FENSI et IVIM) peut également clarifier la vraie nature du mouvement incohérent intra-voxel. Enfin, certaines des expériences réalisées soulèvent des questions d'importance primordiale en pratique clinique. Peut-on surveiller en temps réel les effets des différentes anesthésies sur le système nerveux central par IRM ?