Mémoire présenté pour obtenir l'

HABILITATION À DIRIGER DES RECHERCHES

(Discipline : Image, Sciences et Technologies de l'Information)

IRM QUANTITATIVE EN RECHERCHE BIOMÉDICALE :

APPLICATIONS, DÉFIS ET PERSPECTIVES

par

Paulo LOUREIRO de SOUSA

Janvier 2018

Contenu

I.		Présen	TATION DES ACTIVITÉS DE RECHERCHE	. 4
	1.	INTRO	DDUCTION	. 5
	2.	IRM	q ET MALADIES NEUROMUSCULAIRES	. 7
		Avant-	propos	7
		2.1.	Les maladies neuromusculaires	8
		2.2.	Rôle de l'IRM comme outil d'évaluation des traitements	. 10
		2.3.	Caractérisation de la dégénérescence musculaire chronique par IRM conventionnelle	. 11
		2.4.	Caractérisation de la dégénérescence musculaire chronique par IRMq	. 12
		2.5.	IRMq musculaire : études cliniques récentes	. 16
		2.6.	La relaxation transverse (T2) : Un biomarqueur de l'activité de la maladie ?	. 18
		2.7.	Interprétation des modifications de T2 dans les maladies neuromusculaires	. 19
		2.8.	T2 global versus T2 de l'eau musculaire	. 20
		2.9.	Cartographie du T2 de l'eau musculaire : problèmes méthodologiques	. 23
		2.10.	Caractérisation de la fibrose musculaire	. 25
		2.11.	Développements techniques récents	. 28
	3.	IRM	q ET LES MALADIES NEUROLOGIQUES	34
		3.1.	Avant-propos	. 34
		3.2.	Maladies neurologiques et IRMq	. 35
		3.3.	Problèmes méthodologiques	. 38
		3.4.	Recherche de biomarqueurs pour les maladies psychiatriques	. 43
		3.5.	Imagerie de la myéline par IRM	. 44
	4.	AUTE	es travaux de recherche en IRM	50
	5.	Prop	RIÉTÉS ÉLECTRIQUES DES TISSUS BIOLOGIQUES	52
		5.1.	Avant-propos	. 52
		5.2.	Introduction	. 52
		5.3.	Projet scientifique	. 56
		5.4.	Opportunités par rapport au contexte local et possibles collaborations	. 58
		5.5.	Retombées	. 59
	6.	Bibli	OGRAPHIE	60
II.			JLUM VITAE	69
	In	formati	ons personnelles	70
	Fc	ormatio	n	70
	Pa	arcours	professionnel	70
	Μ	1ots clés7		
Activités			d'encadrement	71

	Thèses encadrées	71
	Contributions associées à des travaux de thèse	71
	Encadrements d'ingénieurs	72
	Encadrements de stages	73
A	Activités d'enseignement	. 74
F	Participation à des jurys et à des comités de suivi de thèse	. 74
P	Participation à des projets de recherche financés	. 76
E	xpertise	. 76
B	Brevets	. 77
Ν	Aissions internationales (Groupes de travail)	. 77
C	Drganisation de réunions scientifiques	. 77
F	Prix et distinctions	. 77
F	Publications de l'auteur	. 78
C	Communications internationales avec <i>proceedings</i>	. 81
III.	PUBLICATIONS REPRÉSENTATIVES	. 85

I. PRÉSENTATION DES ACTIVITÉS DE

RECHERCHE

1. INTRODUCTION

La rédaction de ce mémoire a été un exercice très particulier : la première difficulté à laquelle j'ai été confrontée a été de trouver une structure qui me semblait cohérente pour présenter mes activités de recherche. Comme le lecteur pourra l'apprécier, mes activités couvrent un spectre assez large. Il m'a semblé important, dans ce préambule, de donner quelques éléments qui permettront au lecteur de comprendre la structure de ce document.

Pour cela, nous pouvons prendre comme point de départ ma thèse de doctorat : à l'issue de ma formation universitaire en physique et d'une maîtrise de science en physique médicale, spécialisation en biomagnétisme, j'ai choisi de faire un doctorat en physique, avec une spécialisation en RMN/IRM.

Après la thèse, j'ai souhaité explorer d'autres possibilités dans le domaine de la RMN/IRM. Mes postdoctorats successifs m'ont donc permis de me familiariser avec ce domaine de recherche, à la fois dans ses aspects plus fondamentaux, comme au cours de mes travaux en imagerie multi-quanta intermoléculaire (iMQC), mais également dans des projets plus orientés biomédical et applicatif. J'y ai aussi découvert un thème qui allait être au cœur de mes activités à partir de là : l'IRM quantitative (IRMq).

Au cours des dernières années, les techniques d'IRMq ont gagné en popularité. Habituellement, en IRM, les valeurs d'une image sont caractérisées par des unités arbitraires. La différence relative des valeurs est perçue comme un contraste d'image et utilisée pour des applications médicales. L'imageur IRM est alors utilisé comme un "appareil photo" très sophistiqué, qui produit des images de l'intérieur du corps humain. En IRMq, non seulement le contraste, mais aussi son échelle absolue porte des informations sur les propriétés bio-physiques des tissus. L'imagerie quantitative représente un changement de paradigme vers l'utilisation de l'IRM comme instrument de mesure scientifique.

C'est dans ce contexte que j'ai rejoint en 2007 l'équipe de recherche dirigée par Pierre Carlier (Laboratoire de RMN, Institut de Myologie - IdM/CEA, à Paris). Cette équipe, constituée par d'experts en RMN/IRM, dans le traitement d'image médicale, des médecins et biologistes, a comme seul et unique thème de recherche l'exploration fonctionnelle, métabolique et structurelle des muscles par RMN/IRM. Intégrer cette équipe me semblait alors être une opportunité de travailler sur des projets

originaux en IRMq, chez l'Homme et chez l'animal, de façon efficace. La diversité, la qualité et l'impact des travaux réalisés en collaboration avec cette équipe démontrent que j'avais raison.

En 2011 j'ai intégré le CNRS et, par la suite, le laboratoire ICube, ayant comme projet d'y développer la thématique de recherche de l'IRMq appliquée au cerveau, tout en gardant mes collaborations avec l'IdM sur le volet « muscle ». Mon intégration au sein d'une équipe multidisciplinaire (IMIS) m'a permis de bénéficier d'un soutien important sur les aspects méthodologiques et applicatifs de mes projets. Mon activité comme responsable scientifique de la plate-forme IRIS m'a permis de mieux comprendre les besoins des médecins et chercheurs en neuro-sciences, et en conséquence orienter ma démarche.

Mes travaux de recherche depuis ces dix dernières années s'articulent ainsi autour de l'IRMq en deux axes thématiques : muscle squelettique et cerveau. Cette organisation est arbitraire, motivée par mon histoire personnelle ; dans les faits, ces deux thématiques sont connectées soit par le transfert de méthodologie (par exemple dans l'utilisation de séquences ou techniques initialement développées pour le cerveau et maintenant appliquées au muscle squelettique) soit par le besoin d'une compréhension plus globale de la maladie (par exemple dans l'utilisation récente de l'IRMq cérébrale dans la maladie de Duchenne, une maladie génétique musculaire).

La structure de ce document est donc la suivante : dans le chapitre 2, j'exposerai le contexte et l'état de l'art de l'IRMq musculaire et mes contributions dans ce domaine. Dans le chapitre 3, je décrirai mes travaux en cours en IRMq appliquée aux maladies neurologiques. Dans le chapitre 4 sont présentés autres de mes travaux, toujours dans le domaine de l'IRM (thèse, post-docs, collaborations, etc.). Dans le cinquième chapitre je présenterai mon projet de recherche pour les prochaines années. La partie II est un *curriculum vitae* étendu récapitulant mon parcours professionnel, mes activités d'encadrement, expertises, publications, etc. Enfin, dans la dernière partie, quatre de mes publications, les plus représentatives de la thématique IRMq, sont présentées.

2. IRMq et maladies neuromusculaires

I often say that when you can measure what you are speaking about, and express it in numbers, you know something about it; but when you cannot measure it, when you cannot express it in numbers, your knowledge is of a meagre and unsatisfactory kind: it may be the beginning of knowledge, but you have scarcely, in your thoughts, advanced to the stage of **science**, whatever the matter may be.

– LORD KELVIN (1824 - 1907)

Avant-propos

Au cours des dernières années, des techniques d'IRM ont gagné un intérêt accru de la communauté scientifique dans le domaine des maladies neuromusculaires. Cela est dû au potentiel de leurs applications en tant qu'outils d'investigation non-invasive pour l'étude de la composition chimique, de la physiologie et du métabolisme du muscle squelettique. Le développement assez récent des méthodes d'imagerie quantitative par RMN (IRMq) a offert la possibilité de déterminer des biomarqueurs qui pourront viabiliser le suivi de la progression de maladies et l'étude détaillée des essais thérapeutiques.

Ce chapitre détaille mes contributions dans le domaine de l'IRMq musculaire lors de mon séjour à l'Institut de Myologie (IdM), à Paris (de 2007 à 2011), et dans les années suivantes. Un des objectifs de mes travaux a été d'adapter des méthodes quantitatives existantes et de mettre au point de nouvelles méthodes pour la caractérisation des altérations du muscle squelettique dans les pathologies neuromusculaires. Ces travaux se sont focalisés essentiellement sur les questions liées à la sensibilité, la spécificité, la rapidité et la robustesse des séquences d'IRMq et sur leurs applications dans des protocoles de recherche préclinique et clinique. Je me suis aussi intéressé à l'interprétation biophysique de ces mesures pour la caractérisation de la structure et la composition du muscle malade.

Le bilan de mon activité de recherche en IRMq musculaire est, en chiffres : 13 publications et 21 communications internationales avec actes. J'ai aussi co-encadré (à 50%) la thèse d'Ericky C. de Araujo, aujourd'hui employé comme chargé de recherche à l'IdM. J'ai également assuré l'encadrement scientifique de 2 étudiants de licence.

J'ai participé au montage et à la réalisation du projet « Application de la Résonance Magnétique Nucléaire à l'étude des dystrophies musculaires » (CAPES-COFECUB : programme

binational France-Brésil). Ce projet a eu pour objectif principal l'établissement d'une collaboration scientifique entre le laboratoire Centro de Estudos do Genoma Humano (CEGH), Universidade de São Paulo, au Brésil, et le laboratoire de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN-IdM/CEA/UPMC) de l'Institut de Myologie, en France. Le programme CAPES-COFECUB a soutenu des missions francobrésiliennes liées au développement du projet des deux laboratoires, l'organisation d'un symposium international à São Paulo en 2011 (*Nuclear Magnetic Resonance Imaging and Imaging Techniques for Functional Evaluation of Animal Models in Therapeutic Protocols*) et des stages doctoraux et postdoctoraux.

J'ai aussi contribué, comme expert au sein du réseau européen Treat-NMD (Translational Research in Europe for the Assessment and Treatment of Neuromuscular Disease) et comme membre du Management Committee du programme COST (European Cooperation in the field of Scientific and Technical Research), à l'effort de divulgation et d'harmonisation des protocoles d'IRMq dans le domaine des maladies neuromusculaires. Dans ce cadre nous avons organisé un atelier international *Muscle NMRI workshop* à Paris, en 2009. Nos recommandations en matière d'IRMq musculaire sont aujourd'hui suivies dans plusieurs protocoles de recherche multicentriques, principalement en Europe.

Dans ce chapitre j'exposerai le contexte et l'état de l'art de l'IRMq musculaire et mes contributions dans ce domaine, en particulier dans le développement de méthodologie pour la caractérisation tissulaire musculaire.

2.1. Les maladies neuromusculaires

Il ne s'agit pas d'une seule maladie mais de plus de 200 maladies différentes (source AFM-Téléthon) (Fig. 2.1). Ce sont des maladies qui atteignent les cellules nerveuses motrices de la moelle épinière ou motoneurones (amyotrophies spinales, sclérose latérale amyotrophique), les racines et les nerfs des membres (neuropathies périphériques), la jonction entre le nerf et le muscle (myasthénie) et le muscle (myopathies). Elles sont très différentes dans leurs causes, leur âge d'apparition (du nouveau-né au sujet âgé), leur sévérité et leurs conséquences évolutives, ainsi que dans leur prise en charge thérapeutique (qui dépend de la cause). Elles peuvent toucher la motricité des jambes ou des bras mais quelquefois aussi d'autres organes et fonctions qui dépendent des muscles (motricité des yeux ou du cœur, parole, déglutition, digestion, respiration).

La plupart de ces maladies sont d'origine génétique. L'anomalie génétique empêche la fabrication d'un constituant ou d'une enzyme indispensable au bon fonctionnement de la cellule musculaire (dystrophies musculaires, myopathies congénitales, myopathies métaboliques, canalopathies musculaires, etc.), de la jonction neuromusculaire (syndromes myasthéniques



Figure 2.1 - Ce diagramme ne montre qu'une fraction des maladies neuromusculaires existantes. Les maladies inscrites dans les bulles gris foncé sont plus courantes que celles inscrites dans les bulles gris pâle (adaptée de www.muscle.ca).

congénitaux) ou encore de la cellule nerveuse motrice (amyotrophies spinales, maladie de Charcot-Marie-Tooth, etc.).

D'autres maladies neuromusculaires sont dues à un dysfonctionnement du système de défense de l'organisme (système immunitaire). Dans la myasthénie auto-immune, le système immunitaire neutralise certains constituants de la jonction neuromusculaire : l'ordre de contraction qui chemine le long des motoneurones a du mal à être transmis au muscle. Dans les myosites, la réponse immunitaire anormale entraine une réaction inflammatoire au niveau des muscles.

Il existe bien d'autres causes possibles : toxicité médicamenteuse ou environnementale, carence vitaminique, maladies endocriniennes ou générales, infections.

Les traitements sont différents selon la cause de la maladie. Comme la majorité de ces pathologies est d'origine génétique, elles étaient jusqu'à présent peu curables. Les traitements disponibles étaient essentiellement de soutien ou palliatifs. Appartenant toutes à la catégorie des maladies rares, elles sont longtemps restées hors du champ de la recherche menée par l'industrie pharmaceutique. Aujourd'hui, les maladies rares ont été repositionnées au cœur des préoccupations, avec d'importants programmes de recherche initiés et financés par des institutions publiques au niveau transnational. Plus déterminant encore, les progrès de la thérapie génique et de la pharmacogénétique (injection de micro-dystrophine, CRISPR Cas-9, saut d'exon, etc.) sont sur le point, si ce n'est déjà fait, de révolutionner l'impact de ces maladies sur la vie des patients.

2.2. Rôle de l'IRM comme outil d'évaluation des traitements

Suite à ces innovations thérapeutiques, de nouveaux besoins ont rapidement émergé, dont la nécessité de contrôler l'effet des traitements sur les muscles au cours du temps. Pour ce faire, de nouveaux outils de mesure sont devenus nécessaires, et qui seraient, idéalement, non-invasifs, peu coûteux et fournissant des résultats faciles à interpréter. On peut distinguer trois catégories : les outils fonctionnels, les biomarqueurs de fluides biologiques et l'imagerie.

Les études fonctionnelles sont au premier plan, avec une variété de dispositifs et de protocoles, dont beaucoup sont optimisés pour la mesure de mouvements spécifiques, et d'autres visant plutôt à une évaluation de l'activité globale du patient. Les marqueurs des fluides biologiques ont commencé à faire la preuve de leur utilité, en particulier depuis la découverte et l'exploitation des µRNA (Hathout *et al.*, 2016). Enfin, troisième grande classe d'outils de mesure, l'imagerie est de plus en plus utilisée, bien qu'elle requière d'importants investissements en équipements – les appareils à ultra-sons les plus performants ne faisant pas exception. En outre, les méthodes tomographiques, la tomodensitométrie et l'IRM sont pénalisées par leur absence de portabilité. Néanmoins, l'IRM est la seule technique qui permet d'évaluer l'anatomie, la composition et la fonction du muscle au cours d'un même examen. Ces facultés de l'IRM sont aujourd'hui de mieux en mieux comprises et appréciées, comme en témoignent les recommandations en matière d'imagerie émises par les instances régulatrices (l'agence européenne des médicaments - EMA¹ et l'agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux - FDA²) pour l'homologation de nouveaux médicaments.

Par un parcours fort similaire à ce qui s'est passé pour la plupart des organes, l'IRM est devenue un acteur pivot dans l'imagerie quantitative des muscles squelettiques. Les variables et indices quantitatifs obtenus par imagerie et spectroscopie RMN sont les meilleurs candidats de l'imagerie médicale en vue d'une utilisation comme biomarqueur ou comme outils d'évaluation dans les essais cliniques dédiés aux pathologies musculaires (Bonati *et al.,* 2015a).

¹ http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2015/12/WC500199239.pdf

² https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidances/ucm268555.pdf



Figure 2.2 – Classification visuelle de l'infiltration graisseuses par l'échelle de Lamminen-Mercuri : Grade 0 – apparence normal, 1 - Petites zones dispersées en hyper-signal, 2a - Moins de 30% de zones de hyper-signal, 2b – plusieurs zones (entre 30 et 60%) en hyper-signal, 3 très peu de zones non remplacées par la graisse, 4 – remplacement total (Kinali et al., 2011).

L'imagerie et la spectroscopie par RMN peuvent générer une multitude d'informations pertinentes sur l'anatomie du muscle, sa structure ou sa composition, sa physiologie et sa biochimie. Bien qu'un nombre important de ces paramètres soient en cours d'évaluation et que leurs places comme biomarqueurs soit à l'étude, seuls trois d'entre ils sont communément acceptés, sinon totalement validés, pour le suivi longitudinal du muscle squelettique. Ils visent à évaluer :

- i. la trophicité du muscle, via les mesures de surface et de volume,
- ii. le degré de dégénérescence musculaire via la fraction de graisse,
- iii. l'activité de la maladie dans les pathologies évolutives, via le temps de relaxation T2 de l'eau musculaire.

Dans ce chapitre, je vais focaliser ma discussion sur les points (ii) et (iii), pour lesquels j'ai apporté des contributions.

2.3. Caractérisation de la dégénérescence musculaire chronique par IRM conventionnelle

Les dommages chroniques aux myocytes mais aussi les anomalies structurelles des fibres ont pour résultat à long terme le remplacement du tissu contractile par de la graisse et/ou du tissu conjonctif. L'imagerie de la fibrose reste une question épineuse, qui sera traitée un peu plus loin. À l'opposé, les changements dégénératifs graisseux sont facilement détectés et quantifiés par IRM, en tirant parti des différences entre les fréquences de résonance (déplacement chimique) ou encore entre les temps de relaxation T2 et T1 de l'eau et des lipides. Pour une revue exhaustive des techniques, voir Bley *et al.* ou Hu et Kan (Bley *et al.* 2010 ; Hu et Kan 2013).

Une classification visuelle de l'infiltration graisseuse sur des images pondérées en T1, par

exemple à l'aide de l'échelle de Lamminen-Mercuri (Lamminen 1990, Mercuri *et al.*, 2002) (Fig. 2.2), est suffisante à des fins diagnostiques mais est totalement inappropriée pour suivre la progression des lésions dégénératives, qui est considérablement plus subtile à apprécier. Une étude multicentrique récente (Willis *et al.* 2013) a démontré sans ambiguïté l'impossibilité d'évaluer au moyen de la classification de Lamminen-Mercuri la progression de la dystrophie musculaire des ceintures chez des patients adultes atteints de la forme I.

Des tentatives ont été faites il y a un certain temps (Leroy-Willig *et al.* 1997) mais aussi plus récemment (Pichiecchio *et al.* 2002 ; Mattei *et al.* 2006) pour séparer l'eau et la graisse par un seuillage appliqué à des images de routine pondérées en T1, en essayant de tirer avantage de l'apparente simplicité de cette approche. Certains travaux ont tenté de prendre en compte la possible coexistence de graisse et d'eau dans le même voxel et ont estimé la fraction graisseuse en utilisant une combinaison linéaire de signaux de graisse pure et de muscle pur (Leroy-Willig *et al.* 1997). Les études plus récentes ont juste opéré un classement binaire des voxels de la graisse et du muscle, ce qui est totalement inadapté à l'évaluation de l'infiltration graisseuse dans un contexte de maladie musculaire chronique (Pichiecchio *et al.* 2002 ; Mattei *et al.* 2006).

2.4. Caractérisation de la dégénérescence musculaire chronique par IRMq

Toutes ces approches basées sur l'utilisation d'images standards T1w supposent un émetteur radiofréquence ainsi qu'une réception parfaitement ou quasi-parfaitement homogènes, ce qui n'est jamais le cas. C'était un postulat à peu près acceptable par le passé lorsqu'il était habituel de travailler sur des imageurs à champ magnétique « faible », 0,5 tesla. Ce n'est plus le cas, pour les imageurs à haut champ, 3T ou plus, dû aux effets dits « diélectriques » (la longueur d'onde de RF devient de l'ordre des dimensions de l'objet à imager) (Fig. 2.3), ou quand la réception du signal s'effectue via un réseau d'antennes de surfaces. Il faut espérer qu'un jour des solutions techniques seront mises en œuvre et garantiront une très grande homogénéité d'émission et de réception et/ou



Figure 2.3 – Exemple d'image T2w musculaire à 3T, avec des zones de hyperet hypo-signaux dues aux « effets diélectriques » (Marty et al., 2016)



Figure 2.4 - Exemple d'acquisition Dixon à 3 points sur une cuisse saine. (a-c) : images d'amplitude correspondant à 3 TE différents (2,75, 3,95 et 5,15 ms); (d-f) images de phase respectives; (g et h) les images de graisse F et de l'eau W calculées à partir de (a-f); (i) le pourcentage de graisse % F = F / (F + W)/100 (Hollingsworth et al., 2012).

des corrections parfaites de leurs imperfections en post-traitement.

Pour le suivi des changements dégénératifs chroniques musculaires, on préfère aujourd'hui les séquences d'imagerie eau-graisse, le plus souvent appelées séquences Dixon (Ma, 2008) (Figures. 2.4 et 2.5). Le principal avantage de cette approche est que la séparation de l'eau et des graisses est, au premier ordre, indépendante de l'homogénéité des champs magnétiques (B0 et B1+) et de la chaine de réception. Une conséquence importante est, qu'avec cette technique, il est possible d'explorer sans difficulté de grands champs de vue, plus adaptés à l'imagerie du corps entier.

Après la publication de l'article séminal de Wren et collaborateurs (Wren *et al.*, 2008) qui ont suggéré l'utilisation de la méthode Dixon pour quantification de l'infiltration musculaire chez les patients DMD, la communauté scientifique neuromusculaire a décidé d'évaluer cette approche pour plusieurs types de myopathies.

Dans la technique d'origine proposée par Dixon en 1984 (Dixon, 1984), deux images d'écho de spin sont acquises avec des temps d'écho (TE1 et TE2) légèrement différents. Le décalage



Figure 2.5 – Cartographie de la fraction de graisse chez les patients LGMD21 montrent une large gamme de sévérité dans le remplacement graisseux des muscles de la cuisse (Willis et al., 2013)

chimique du groupe méthylène des lipides (3,5 ppm = 440 Hz à 3 teslas) provoque un déphasage de signal, dépendant de TE. Les images à TE1 sont ainsi acquises avec le signal de l'eau et graisse en phase, autant que les images à TE2 sont en opposition de phase. Dixon a montré que les images complexes à TE1 et TE2 pouvaient être combinées de sorte que les images de graisse et d'eau seulement puissent être créées. Cette technique est cependant sensible à l'homogénéité de B0, considéré comme parfait dans la publication originale. Une modification de cette méthode a été proposée avec l'utilisation d'un troisième TE pour résoudre ce problème (Glover et Schneider, 1991). Ces deux méthodes sont aujourd'hui connues comme Dixon à 2 et 3 points. Finalement, si les images sont acquises sans pondération en T1 (c'est-à-dire, avec TR >> T1) les images de graisse (F) peuvent être normalisées par l'intensité des images de l'eau et graisse combinées (W+F) de façon à estimer un rapport, la fraction volumique de graisse, exprimée en pourcentage (%F = 100xF/(W+F)) (Fig. 5). Comme l'utilisation d'une séquence d'écho de spin avec TR >> T1 rend le temps d'acquisition prohibitif pour les applications cliniques, il est préférable d'utiliser les séquences d'écho de gradient (FLASH, SPGR, GE, ...), avec TR court et angle de bascule très faible, de façon à minimiser l'effet de la pondération en T1.

Dans le cadre du réseau européen Treat-NMD (*Translational Research in Europe for the Assessment and Treatment of Neuromuscular Disease*) nous avons mis au point et validé des protocoles utilisant la méthode Dixon à 3 points basée sur les séquences en écho de gradient, pour les applications en recherche neuromusculaire. Ce travail, réalisé en collaboration avec des collègues chercheurs du Newcastle Magnetic Resonance Centre (Institute of Cellular Medicine, Newcastle University, Newcastle upon Tyne, UK), a eu comme objectif de proposer des paramètres de séquence

utilisables dans des imageurs IRM cliniques 1.5T et 3T, de différents constructeurs (Hollingsworth *et al.*, 2012).

Ignorer les autres résonances lipidiques génère un certain degré d'imprécision (Wokke *et al.* 2013). Celle-ci peut être réduite par une modélisation plus complète du spectre des lipides, habituellement avec 3 ou 4 résonances principales, ce qui nécessite la collecte de 6 échos. Cela implique en un allongement des temps de répétition et par conséquent, du temps total d'acquisition. Malgré ce fait, cette approche dénommée IDEAL (*Iterative Decomposition of water and fat with Echo Asymmetry and Least-squares estimation*), constitue la méthode la plus avancée actuellement disponible pour réaliser une imagerie eau-graisse. Elle possède la capacité d'identifier d'éventuelles modifications du spectre lipidique, que celles-ci soient induites par l'alimentation ou par une pathologie. Il y a peu d'indications que ce soit le cas au niveau du muscle strié squelettique, ou si ces différences existent, elles sont de faible amplitude et difficilement détectables dans les conditions habituelles.

Si les intensités relatives du spectre lipidique dans les muscles infiltrés peuvent être considérées comme étant indépendantes de l'état du patient, ce qui semble une hypothèse raisonnable, il n'est pas nécessaire de passer par une acquisition avec 6 échos. Un facteur de correction linéaire peut être appliqué au signal de la graisse et la fraction de graisse exacte sera obtenue à partir d'une mesure standard à 3 points (Azzabou *et al.* 2015b).

La façon d'exprimer la teneur en graisse musculaire peut également varier. On peut simplement regarder le pourcentage du signal RMN attribuable à la graisse dans le voxel ou dans le



Figure 2.6 – Évaluations qualitatives (Mercuri) et quantitatives (Dixon) de la fraction de graisse chez les DMD : le classement visuel utilisé commence en 1 (apparence normale) et va jusqu'à 4 (gravement affecté) (Wokke et al., 2013).

muscle. En fonction du temps de répétition des images et du temps d'écho choisis, des corrections pour les effets des pondérations T1 et T2 peuvent être appliquées. On peut aller plus loin et tenter d'exprimer le contenu graisseux en grammes de lipides par unité de masse ou de volume musculaire. Ces procédures ont été développées pour le foie et nécessitent des hypothèses supplémentaires ou des mesures de la composition en lipides du tissu (Longo *et al.* 1995).

Bien que la séparation eau-graisse basée sur la différence des déplacements chimiques soit la méthode acceptée suivant les règles de l'état de l'art pour évaluer l'infiltration graisseuse tissulaire, de nombreux groupes cliniques continuent à utiliser la décroissance mono-exponentielle du T2 musculaire (Garrood *et al.* 2009 ; Kim *et al.* 2010 ; Forbes *et al.* 2014 ; Willcocks *et al.* 2014 ; Kim *et al.* 2015). En l'absence de lipides mobiles dans les tissus, un T2 élevé indique une inflammation ou un œdème tissulaire. L'augmentation du T2 due à l'inflammation ou aux œdèmes dépasse rarement 5 à 10 ms. Mais lorsque des changements dégénératifs graisseux sont présents, le T2 des lipides étant très sensiblement plus long que celui de l'eau musculaire, l'ajustement mono-exponentiel de la décroissance du T2 musculaire est largement déterminé par le degré d'infiltration graisseuse et le T2 global du muscle devient essentiellement une mesure du contenu en lipides du muscle (Carlier 2014). On démontre l'étroite corrélation entre le T2 global et la fraction de graisse calculée à partir des images Dixon (Azzabou *et al.* 2015b) ou la fraction lipidique mesurée par une spectroscopie 1H localisée (Kim *et al.* 2015).

2.5. IRMq musculaire : études cliniques récentes

Qu'elle soit basée sur une véritable séparation eau-graisse ou qu'elle soit estimée à partir de changement global du T2, l'évaluation de l'étendue des changements dégénératifs chroniques musculaires peut être précisément réalisée, de même que l'évolution de la maladie et les réponses aux traitements peuvent être finement suivies. Cela a été démontré dans un grand nombre de maladies neuromusculaires.

Au niveau de la cuisse des patients atteints de la maladie de Duchenne, le taux moyen de progression des dégénérescences graisseuses a été mesuré à 5 % par an. Lorsque le pourcentage de graisse atteint 50 %, ce signe a une valeur prédictive élevée de la perte de la marche dans l'année (Fischmann *et al.* 2013).

En combinant les pourcentages de graisse avec une segmentation manuelle des muscles, on a pu déterminer des indices de perte de masse contractile chez les patients atteints de la maladie de Duchenne (Wokke *et al.* 2016). La confrontation des cartographies de pourcentage de graisses au classement de Lamminen-Mercuri a montré une surestimation systématique des changements dégénératifs avec les méthodes qualitatives (Fig. 2.6). L'administration de corticostéroïdes pendant une année à de jeunes garçons qui sont atteints de la maladie de Duchenne a arrêté le processus d'infiltration de la graisse dans la cuisse et la jambe tandis que le taux annuel d'infiltration graisseuse était respectivement de 7 % et 3 % chez les enfants non-traités (Arpan *et al.* 2014). La gravité de la maladie a facilité la détection d'une progression des lésions dégénératives au bout de 18 mois, cette fois basée uniquement sur des mesures d'intensité d'une imagerie pondérée en T1, avec également la démonstration d'une grande variabilité interindividuelle et intermusculaire (Hollingsworth *et al.* 2013). Une telle approche est néanmoins obsolète au regard des capacités de l'imagerie quantitative et ne peut pas être recommandée pour de futurs protocoles. La même méthodologie avait été utilisée précédemment, en combinaison avec des mesures globales du T2 pour décrire les implications variables de différents territoires musculaires chez 5 patients atteints de la maladie de Duchenne (Garrood *et al.* 2009).

Une étude multicentrique qui a porté pendant un an sur des patients atteints d' une dystrophie musculaire des ceintures du type 1 (LGMD1, pour *Limb-Girdle Muscular Dystrophy, Autosomal Dominant*) a établi sans ambiguïté la supériorité de l'imagerie quantitative eau-graisse. Celle-ci a détecté des variations statistiquement significatives du contenu graisseux de l'ordre de 1 à 4 %, alors que la gradation par l'échelle de Lamminen-Mercuri n'a mis en évidence aucun changement et l'évaluation fonctionnelle standard n'a montré qu'une tendance à la dégradation, sans atteindre le seuil de signification statistique, à l'exception des tests respiratoires (Willis *et al.* 2013).

Chez les patients atteints de dystrophie fascio-scapulo-humérale, l'imagerie quantitative eaugraisse a révélé une distribution bimodale particulière des lésions dégénératives au sein de leurs muscles, ainsi qu'une progression allant de distal en proximal pour les muscles affectés (Janssen *et al.* 2014). Il a été montré chez les malades atteints de dystrophie musculaire oculo-pharyngée que le contenu en graisse des membres inférieurs pouvait augmenter jusqu'à 15 % en 13 mois, alors qu'il restait inchangé chez les sujets contrôles d'âge équivalent (Fischmann *et al.* 2012). Ni l'évaluation fonctionnelle standard exhaustive, ni le score visuel des images ne détectait le moindre changement durant la même période d'observation.

Le pouvoir discriminant extrêmement élevé des méthodes Dixon a été confirmé chez des patients adultes atteints de la maladie de Pompe. Chez la plupart d'entre eux, les lésions dégénératives musculaires progressent lentement, à un rythme considérablement ralenti par rapport à celui observé dans les dystrophinopathies. Au niveau des membres inférieurs de ces patients, le taux annuel moyen d'infiltration graisseuse s'est révélé être inférieur à 1 % mais a été détecté avec un haut degré de signification statistique (Carlier *et al.* 2015).

Le suivi à un an de patients atteints de la maladie de Charcot-Marie-Tooth 1A a montré un accroissement significatif de la fraction graisseuse au niveau du mollet (1,2 %) mais pas au niveau de la cuisse (0,2 %) alors que chez les patients souffrant de myosite à inclusions, la progression était de 2,6 % au niveau des mollets et de 3,3 % au niveau des cuisses (Morrow *et al.* 2016).

Semblables observations ont également été faites dans des pathologies qui affectent secondairement le muscle strié squelettique. Chez les patients atteints de sclérose latérale amyotrophique, une augmentation significative du T2 global des muscles des jambes a été notée au terme d'une période d'observation de 4 mois, signe de la progression des dégénérescences graisseuses. Le déclin de la contraction isométrique volontaire maximale lors d'une dorsiflexion du pied était corrélé à celle-ci (Bryan *et al.* 1998).

Alors que le contenu total en graisse des muscles de la jambe n'était pas affecté, les diabétiques de type 2 présentaient une distribution préférentielle des lipides en intramusculaire (Karampinos *et al.* 2012). L'imagerie Dixon corps entier a identifié un contenu musculaire en graisse accru en cas de paralysie périodique hyperkaliémique (Lee *et al.* 2015).

Des changements dans la composition des muscles striés squelettiques ont été systématiquement et régulièrement constatés chez les sujets âgés, même s'ils restent d'une amplitude limitée jusqu'à un âge très avancé. Le pourcentage du signal lipidique intramusculaire double généralement, de 2 à 4%, entre la deuxième et la septième décennie (Schwenzer *et al.* 2009 ; Alizai *et al.* 2012 ; Csapo *et al.* 2014 ; Morrow *et al.* 2014 ; Azzabou *et al.* 2015a). Pour l'essentiel, cette augmentation représente un véritable accroissement de la teneur lipidique du muscle et elle ne reflète qu'accessoirement la perte de tissu contractile avec l'âge (Csapo *et al.* 2014).

2.6. La relaxation transverse (T2) : Un biomarqueur de l'activité de la maladie ?

Des études sur des modèles murins de dystrophie musculaire ont montré il y a déjà presque vingt ans que les tissus musculaires pathologiques présentaient des T2 élevés (McIntosh *et al.* 1998 ; Tardif-de Géry *et al.* 2000). La même observation a été réalisée chez le GRMD (*Golden retriever muscular dystrophy*), un modèle canin de la myopathie de Duchenne, plus proche du phénotype humain (Thibaud *et al.* 2007 ; Thibaud *et al.* 2012 ; Wang *et al.* 2013). De façon très intéressante, le T2 musculaire a tendance à se normaliser lorsqu'une thérapie génique restaure efficacement la protéine défective (Walter *et al.* 2005 ; Pacak *et al.* 2007 ; Yokota *et al.* 2009).

Plus récemment, plusieurs travaux ont confirmé ces observations, et ont amélioré notre compréhension des processus d'altération du T2 sur ces modèles animaux de dystrophie musculaire. L'évolution temporelle du T2 musculaire a été précisément décrite chez la souris mdx. Un pic



Figure 2.7 – Augmentation du T2 musculaire observée chez trois modèles rongeur de dystrophie musculaire (Martins-Bach et al., 2105)

d'élévation du T2 est systématiquement observé entre 4 et 8 mois, suivi d'une baisse progressive (Pratt *et al.* 2013 ; Heier *et al.* 2014 ; Vohra *et al.* 2016). Des anomalies du T2 ont également été décrites dans d'autres modèles de dystrophie (Vohra *et al.* 2015 ; Martins-Bach *et al.* 2015), avec des différences notables dans leur distribution à l'intérieur des muscles impliqués, notamment entre les souris Large et les souris mdx (Fig. 2.7). Les muscles dystrophiques sont aussi caractérisés par une sensibilité plus importante à l'exercice excentrique. Cela a été illustré par une élévation anormalement importante du T2 de la souris mdx soumise à un exercice de course en descente (Mathur *et al.* 2011).

Des mesures quantitatives du T2 ont également été réalisées au cours de différents essais thérapeutiques sur ces modèles animaux. Après l'expression du gène de la micro-dystrophine chez la souris mdx, la cartographie du T2 a démontré un pouvoir discriminant supérieur à celui de l'imagerie de transfert d'aimantation et de l'imagerie du tenseur de diffusion (Park *et al.* 2015). Un autre essai, par saut d'exon U7, mené avec succès chez le chien GRMD a été accompagné d'une baisse significative du T2 dans les membres traités (Le Guiner *et al.* 2014). Enfin, un traitement au Losartan a démontré un effet de normalisation du T2 musculaire sur un modèle murin de dystrophie congénitale lié au gène de la laminine (Vohra *et al.* 2015).

2.7. Interprétation des modifications de T2 dans les maladies neuromusculaires

Le T2, ou temps de relaxation spin-spin des molécules d'eau du muscle squelettique, peut ainsi être interprété comme un indicateur de l'activité de la maladie. Ce terme est intentionnellement vague étant donné qu'une variation de T2 est un processus non spécifique qui peut être engendré par différents mécanismes tels que l'inflammation, la nécrose, la dystrophie musculaire, la dénervation aiguë, ou toute autre situation pouvant être accompagnée par un œdème intracellulaire, extracellulaire, ou mixte. Cela a été montré de façon extensive sur des modèles animaux (Wishnia *et al.* 2001 ; Heemskerk *et al.* 2007 ; Bryant *et al.* 2014 ; Ha *et al.* 2015) ainsi que chez l'Homme.

L'exercice physique d'intensité modérée a comme conséquence une augmentation du T2 musculaire par un mécanisme d'accumulation d'eau dans les myocytes impliqués. Ce processus est transitoire, et contrairement à une élévation pathologique du T2, les valeurs de T2 se normalisent au bout de quelques heures. On comprend donc que les résultats d'une imagerie réalisée peu après un exercice physique pourront être faussés à cause de ce phénomène.

Les modèles pathologiques animaux ne développent que très rarement des infiltrations graisseuses au niveau des tissus musculaires. De ce fait, une augmentation globale de T2 mesurée par un ajustement mono-exponentiel de la décroissance du signal RMN sera interprétée de manière non ambiguë par une augmentation du T2 de l'eau musculaire. Chez l'Homme, par contre, une infiltration graisseuse est très fréquemment observée chez des patients atteints de pathologies neuromusculaires chroniques. Les protons des lipides ayant des temps de relaxation T2 beaucoup plus élevés que les protons de l'eau, la présence de graisse dans les tissus musculaires, même à hauteur de quelques pourcents, augmentera de façon significative le T2 global mesuré avec un modèle monoexponentiel, vers des valeurs comparables à celles observées pour des tissus musculaires enflammés ou endommagés. De nombreuses équipes ont mesuré le T2 des muscles infiltrés de graisse des patients Duchenne. Certaines ont observé une augmentation du T2 global avec l'âge des patients (Garrood et al. 2009 ; Kim et al. 2010; Arpan et al. 2013 ; Forbes et al. 2014 ; Willcocks et al. 2014 ; Kim et al. 2015), alors que d'autres, au contraire, ont observé une diminution du T2 musculaire au cours du temps chez les patients Duchenne et chez des modèles souris (Wary et al. 2015). Ces résultats, apparemment contradictoires, ont de quoi mettre en cause l'utilité de l'IRMq. L'explication réside dans le fait que les premiers ont déterminé le T2 global, son augmentation reflétant alors principalement les changements dégénératifs liés aux infiltrations graisseuses. Nous avons montré que cette information est donc redondante avec celle fournie par les séquences de type Dixon, les résultats obtenus avec ces deux techniques étant fortement corrélés (Azzabou et al. 2015b). Les seconds ont mesuré spécifiquement le T2 de l'eau musculaire.

La diminution progressive du T2 observée pourrait soit être due à la croissance, comme cela a déjà été montré chez des individus sains, au moins chez le chien (Thibaud *et al.* 2012), ou alors à l'épuisement progressif des capacités régénératives du muscle dystrophique.

2.8. T2 global versus T2 de l'eau musculaire

Par souci de clarté, il est essentiel de faire la distinction entre le T2 global, dont les

altérations reflètent principalement les changements dégénératifs liés à l'infiltration graisseuse, et le T2 de l'eau musculaire, qui évalue plus spécifiquement l'implication du tissu musculaire à proprement parler dans le processus pathologique (Carlier 2014). L'utilisation de l'évaluation du T2 global dans des muscles infiltrés de graisse ne permet pas de séparer clairement les deux processus pathologiques évoqués. Cela génère, en outre, une ambiguïté qui peut être levée par l'utilisation de méthodes d'analyse plus sophistiquées pour l'étude de la décroissance T2 du muscle (voir section 2.12).

L'utilisation du T2 de l'eau musculaire comme indicateur d'activité de la maladie est non seulement possible chez l'Homme, mais elle constitue une variable pertinente, au moins autant que dans les modèles animaux. Le T2 de l'eau est anormalement élevé dans les muscles des enfants Duchenne (Arpan et al. 2013 ; Forbes et al. 2014 ; Wary et al. 2015 ; Wokke et al. 2016), mais pas chez les patients Becker (Wokke et al. 2016). Chez les patients atteints de la forme tardive de la maladie de Pompe, environ un tiers des muscles examinés présentent une augmentation modérée du T2 de l'eau (Carlier et al. 2015). Dans les myopathies inflammatoires, le T2 de l'eau musculaire est systématiquement augmenté (Park et al. 1990 ; Maillard et al. 2004 ; Yao et Gai 2012). En imagerie diagnostique, l'inflammation liée à la pathologie est généralement détectée grâce à des séquences pondérées en T2 combinées avec une suppression de graisse (Walker 2008 ; Degardin et al. 2010). Chez les patients atteints de dystrophie musculaire fascio-scapulo-humérale (DMFSH), certains muscles sont STIR positifs (c'est-à-dire, ils présentent des zones de hyper-signal dans une séquence T2w avec suppression du signal de la graisse) et comportent des signes inflammatoires à la biopsie (Tasca et al. 2012). Néanmoins, cette évaluation qualitative permet uniquement de détecter des contrastes entre des muscles sains et muscles altérés. Si tous les muscles d'un membre sont atteints, cet examen standard ne détectera aucune anomalie. Une telle situation s'est présentée chez des patients atteints de dermatomyosite juvénile (Carlier et al. 2013). Pour éviter ces faux-négatifs il serait plus judicieux d'utiliser systématiquement la quantification du T2 de l'eau pour l'évaluation et la réponse aux traitements des myopathies inflammatoires.

Outre le manque de spécificité du T2, il reste également difficile d'établir avec certitude des liens temporels entre les événements pathologiques et ces modifications de T2. Existe-t-il un délai entre les deux et si oui, quelle est sa durée ? Par exemple, chez certains patients atteints de myopathies inflammatoires, il peut y avoir discordance entre les mesures de T2 et le statut clinique. La fluctuation naturelle du T2 au cours des dystrophies musculaires n'est encore que très peu documentée.

De manière intéressante, il a été montré que le T2 de l'eau musculaire pouvait être élevé dans les myopathies congénitales, tout au moins dans des modèles animaux avec des mutations du

gène de la nébuline, ACTA1 ou encore de la dynamine. Cela tend à démontrer qu'un certain degré de désorganisation cellulaire peut altérer suffisamment les mouvements intracellulaires, et notamment ceux des molécules d'eau pour avoir un effet sur le T2. Le fait d'avoir observé une augmentation du T2 de l'eau chez des patients atteints d'une myopathie stable représente tout de même une limitation à l'utilisation généralisée de ce biomarqueur comme indicateur absolu de l'activité de la maladie. Dans le même ordre d'idées, les modifications du T2 de l'eau observées à la suite d'une dénervation sont dues à l'augmentation relative de l'espace extracellulaire qui accompagne l'atrophie du tissu musculaire, ce qui reflète davantage une réorganisation structurelle du muscle que l'activité de la maladie au sens strict.

Il serait dès lors plus prudent de restreindre l'utilisation du T2 de l'eau musculaire au suivi de l'activité de la maladie dans des conditions maîtrisées, où l'on sait que les valeurs seront modifiées par des processus pathologiques destructifs, au moins pendant certaines périodes de leur évolution. Dans ces cas, la quantification du T2 de l'eau musculaire fournit indubitablement un biomarqueur représentatif de la progression de la pathologie ainsi que de la réponse à un traitement. De nombreuses études cliniques ont maintenant confirmé toutes les observations réalisées sur les modèles animaux. Il a été montré que la valeur du T2 avait une valeur prédictive quant à la vitesse de progression des altérations dégénératives chroniques. Chez les enfants Duchenne, l'instauration d'une corticothérapie est accompagnée rapidement d'une réduction de quelques ms du T2 au niveau des jambes, qui est suivie d'une stabilisation du processus d'infiltration graisseuse (Arpan et al. 2014). Comme mentionné précédemment, chez les patients adultes atteints de la maladie de Pompe, un tiers des muscles des membres inférieurs présente des altérations du T2 de l'eau, légères à modérées, sur au moins un des deux examens réalisés à un an d'intervalle. Dans ces muscles, le taux d'infiltration graisseuse a en moyenne augmenté 35 % plus rapidement que dans les muscles présentant des T2 normaux (Carlier et al. 2015). Pour l'ensemble des muscles, cette étude a démontré une corrélation significative entre la valeur moyenne du T2 et le taux moyen d'infiltration graisseuse entre les deux visites. Chez les patients souffrant d'une dystrophie musculaire facioscapulo-humérale, les muscles qui présentaient des hyperintensités dans des images T2w avec saturation de graisse étaient ceux qui subissaient les plus fortes augmentations d'infiltrations graisseuses entre deux examens successifs (Janssen et al. 2014). Ces résultats sont cruciaux et prouvent l'utilité du T2 de l'eau musculaire en tant que biomarqueur de l'activité de la maladie dans les pathologies neuromusculaires.

De nombreuses zones d'ombre restent cependant à éclaircir. Par exemple, quel sera le rôle du T2 de l'eau pour étudier la réponse à l'expression du gène de la dystrophine chez des patients Duchenne déjà sous traitement stéroïdien ? Les stéroïdes normalisant quasiment les valeurs de T2, il

n'est dès lors pas certain que l'expression partielle du gène de la dystrophine, dans des proportions identiques à celles obtenues dans les essais thérapeutiques de saut d'exon s'accompagnera d'une nouvelle baisse significative du T2.

2.9. Cartographie du T2 de l'eau musculaire : problèmes méthodologiques

Différents problèmes méthodologiques et expérimentaux compliquent la détermination précise du T2. Nous avons déjà évoqué en détail les difficultés engendrées par l'infiltration et le remplacement graisseux des muscles. Il est extrêmement difficile d'obtenir une suppression parfaite du signal RMN des lipides, et leur présence, même à hauteur de quelques pourcents suffit déjà à perturber la mesure du T2 de l'eau. Les méthodes les plus efficaces à ce jour ne visent pas à minimiser ou éliminer totalement le signal de la graisse, mais plutôt à séparer, à l'acquisition ou à la reconstruction, les contributions de l'eau et des lipides en tirant profit du déplacement chimique entre les deux espèces de protons, ou encore de la différence entre leurs temps de relaxation T1 et T2. Ces méthodes sophistiquées ne sont pas nombreuses, et les plus populaires sont basées sur l'acquisition d'échos de spin multiples, couvrant une large gamme de temps d'échos.

Le moyen le plus simple (et le plus long) d'évaluer T2 en IRM consiste à utiliser une seule séquence spin-écho (SE) et acquérir un ensemble d'images à différentes valeurs de temps d'écho (TE). Le temps d'acquisition peut être réduit en utilisant une séquence multi-spin écho (MSE). Dans cette séquence, un train d'échos est appliqué après une impulsion d'excitation de 90°, et chaque écho est utilisé pour générer une image. Il s'agit d'un moyen très efficace de mesurer T2 dans une IRM clinique avec des séquences standard. Une acquisition entrelacée pendant le temps de récupération (TR) peut être utilisée pour les mesures de T2 multi-coupes. Augmenter le nombre de coupes peut augmenter le TR, si un long train d'écho est utilisé. En conséquence, le prix payé pour l'acquisition de plusieurs valeurs de TE est un manque de couverture de volume.

Les normes limitant la quantité d'énergie radiofréquence maximale déposée dans le patient (SAR) peuvent avoir un impact sur le nombre d'échos, le nombre de coupes et le TR, en particulier à 3T si l'antenne corps est utilisée comme antenne d'émission. Cela conduit des nombreux fabricants à spécifier un angle de bascule inférieur à 180° par défaut, pour les impulsions de refocalisation. Pour être exacte, la mesure du T2 exige une méthodologie rigoureuse. Dans une séquence d'échos de spin multiples (MSE), les impulsions d'excitation et de refocalisation doivent être idéalement ajustées à 90° et 180°. Si les angles de bascule s'écartent de ces valeurs nominales, la décroissance du signal RMN va être trop rapide dans le cas où des gradients de déphasage efficaces sont appliqués (ce qui est rarement le cas sur des systèmes cliniques), ou trop lente, dans le cas contraire où des échos stimulés vont se former et s'additionner aux échos de spin (Lebel et Wilman, 2010).



Figure 2.8 - Cartes de B1+ relatif (en %) et du T2 de l'eau musculaire (en ms). Les aires délimitées par les lignes rouges correspondent à une distribution de B1+ relatif entre 85% et 130% (Azzabou et al., 2015b)

Une approche pratique consiste à utiliser, en plus de la séquence MSE, une autre séquence pour cartographier le champ magnétique B1+, et connaître exactement l'angle de bascule appliqué à chaque voxel du volume d'intérêt. Lorsque celui-ci s'écarte significativement de la valeur prescrite, le voxel en question est retiré de l'analyse T2 (Azzabou *et al.* 2015b). Cette méthode est simple et efficace, mais elle a le désavantage d'éliminer un grand nombre de voxels dans les zones où le B1+ n'est pas homogène (Fig. 2.8).

D'autres solutions plus efficaces ont été proposées et commencent à être implémentées dans des protocoles de recherche clinique. Des modèles plus réalistes que de simples exponentielles peuvent être utilisés pour décrire précisément la formation des échos de spins et des échos stimulés, et permettent de s'affranchir de l'acquisition de la séquence de cartographie de B1+. Une option logique est d'utiliser un modèle basé sur les équations de Bloch et ainsi gérer les effets des inhomogénéités des champs B0 et B1+ et des échos stimulés (Ben-Eliezer *et al.*, 2015). Nous avons appliqué cette technique pour améliorer l'estimation du T1 du muscle cardiaque à 3T (Marty *et al.*, 2015). Bien qu'elle soit plus réaliste, cette approche est très demandeuse en temps calcul. Une autre approche, plus efficace, est basée sur le formalisme EPG (pour *Extended Phase Graph*) et sera



Figure 2.9 - Cartes du T2 de l'eau musculaire (utilisant la méthode T2-EPG) d'un patient de 12 ans souffrant de dermatomyosite juvénile (DM) avant et après 3 mois de traitement par stéroïdes (DM-ster) (Marty et al., 2016).

expliqué en détail dans la section 2.12. Nous avons utilisé cette approche pour évaluer l'efficacité d'un traitement par les stéroïdes chez des patients diagnostiqués avec dermatomyosite juvénile (Marty *et al.*, 2016). La réduction du T2 de l'eau musculaire suite au traitement par stéroïdes, a pu confirmer la réduction des processus d'inflammation dans les tissus musculaires (fig. 2.9).

2.10. Caractérisation de la fibrose musculaire

Le remplacement du muscle squelettique strié par du tissu conjonctif, majoritairement du collagène, constitue l'autre forme de transformation dégénérative chronique qui affecte les tissus musculaires pathologiques (Klingler *et al.* 2012). Plus encore que l'infiltration graisseuse, dont les effets délétères sont indirects et liés à la perte de tissu contractile associée, la fibrose impacte directement la fonction musculaire. La fibrose endomysiale est fortement corrélée à la perte de fonction motrice chez les patients atteints de la maladie de Duchenne (Desguerre *et al.* 2009). C'est pourquoi une partie de la recherche thérapeutique vise à bloquer, voire à rendre réversible, l'accumulation pathologique de tissu conjonctif (Zhou et Lu 2010). Si l'imagerie pouvait amener des biomarqueurs de la fibrose, ceux-ci constitueraient une aide cruciale à l'évaluation de l'efficacité de ces agents anti-fibrotiques. Malheureusement, si la détection et la quantification des infiltrations graisseuses sont facilement accessibles par des méthodes dédiées d'imagerie RMN, l'évaluation de la fibrose interstitielle par RMN reste jusqu'à présent un défi majeur à relever.

Le grand nombre de méthodes RMN qui ont été, et sont encore, proposées afin de détecter la fibrose reflète avant tout le fait qu'aucune d'entre elles ne donne pour le moment entière satisfaction. Le collagène, les autres macromolécules de l'espace interstitiel, mais également leurs molécules d'eau d'hydratation ont des T2s très courts, de l'ordre d'un à quelques centaines de µs (Edzes et Samulski 1978 ; Siu *et al.* 2015). Avec des séquences standards ou même dites « rapides », acquises à des TE de quelques ms, le signal RMN de ces spins est totalement déphasé au moment de la réception et ne contribue plus à l'image. Les tissus conjonctifs denses, comme les tendons ou les tissus cicatriciels apparaissent comme des plages dépourvues de signal, et sont facilement détectables en imagerie standard. La fibrose interstitielle devrait également abaisser l'intensité du signal du voxel et contribuer aux distributions d'intensité de signal observées dans des muscles profondément remodelés par une pathologie. L'hétérogénéité du signal musculaire, en particulier sur les images pondérées en T2, est possiblement une caractéristique reproductible du muscle dystrophique et très probablement un reflet de la fibrose locale, dans une proportion difficile à quantifier pour le moment (Thibaud *et al.* 2012 ; Wary *et al.* 2015).

Les expériences de transfert d'aimantation sont bien adaptées à l'étude des échanges entre spins ; que ce soit à travers des interactions dipôle-dipôle, ou des échanges chimiques entre des groupes de spins mobiles ou semi-mobiles. En pratique, sur des tissus biologiques, elles permettent de mesurer les taux d'échange entre l'eau libre et les macromolécules, ainsi que les concentrations relatives de ces différents groupes de protons (Henkelman et al. 2001). Par le passé, de nombreuses études ont essayé d'établir un lien entre le contraste de transfert d'aimantation et la concentration en collagène tissulaire, en particulier au niveau du foie, mais n'ont généré que des résultats mitigés. Très récemment, des séquences d'imagerie rapide avec des schémas de saturation optimisés ont donné des résultats encourageants avec une bonne corrélation entre le contraste de transfert d'aimantation et le taux de fibrose dans le foie (Yarnykh et al. 2015). Le contraste de transfert d'aimantation est élevé dans le muscle squelettique et son origine et les mécanismes sous-jacents ont été étudiés par plusieurs groupes dans le muscle normal, vieillissant, et pathologique, avec une attention particulière sur son lien avec la fibrose, qui reste toujours insuffisamment compris (Schwenzer et al. 2009; Sinclair et al. 2010; Sinclair et al. 2012; Morrow et al. 2014; Li et al. 2014; Li et al. 2015). La corrélation négative entre le contraste de transfert d'aimantation et l'âge dans une cohorte d'individus sains est par exemple, relativement déroutante (Morrow et al. 2014). Ces résultats ont cependant été obtenus pour une fréquence et une puissance d'irradiation particulière et ne peuvent donc pas être extrapolés facilement à d'autres conditions de saturation. L'effet négatif de l'infiltration graisseuse sur le contraste de transfert d'aimantation a également été évalué (Li et al. 2015). Des expériences de transfert d'aimantation combinées à du filtrage double quantum et de l'imagerie à temps d'écho très court (UTE) ont également été réalisées dans le but d'améliorer la spécificité de cette technique au collagène (Kusmia et al. 2013 ; Eliav et al. 2014). Les résultats sont encourageants mais doivent pour le moment être considérés comme préliminaires.

Le développement de séquences à temps d'écho « ultra court » (UTE) représente, de loin, la méthode la plus prometteuse pour une imagerie directe de la fibrose. Ces séquences opèrent à des TEs très inférieurs à 1 ms. Elles sont alors capables de collecter le signal RMN des spins ayant un T2 très court, jusqu'à quelques µs (Robson *et al.* 2003). Les composantes à T2 court peuvent être mises en évidence par simple soustraction d'une image de référence obtenue à un TE plus long, par une saturation double-bande, un module d'inversion adiabatique ou, encore mieux, par extraction de la fraction à T2 très court grâce à un ajustement multi-exponentiel du signal obtenu avec ces séquences à différents TEs, et reconstruction de cartes paramétriques qui peuvent corriger les effets de relaxation T2*, mais aussi les effets dus à la présence de lipides (Wang *et al.* 2010 ; CA Araujo *et al.* 2017).

L'imagerie UTE a démontré sa capacité à visualiser de manière non ambiguë l'os cortical, les couches profondes des cartilages, les tendons et les aponévroses (Robson et Bydder 2006 ; Du *et al.* 2009 ; Du *et al.* 2011). La visualisation directe de l'infarctus du myocarde a également été établie



Figure 2.10 – Fraction (%) de la composante à T2 ultra court (CA Araujo et al. 2017)

avec cette technique (de Jong *et al.* 2011). Concernant le muscle squelettique, la visualisation des tissus conjonctifs ainsi que des tentatives de quantification ont déjà été réalisées sur des sujets normaux, sur des groupes de personnes âgées, ainsi que chez des patients myopathes (Vignaud *et al.* 2014 ; Csapo *et al.* 2014 ; Caldas de A. Araujo *et al.* 2017) (Fig. 2.10). De nombreux problèmes restent tout de même à élucider, en particulier la possible superposition d'une composante lipidique à T2 ultra-court. Néanmoins, le défi le plus important sera d'isoler la fraction de molécules à T2 très court représentatifs du tissu conjonctif. La même problématique concerne également les autres approches, en particulier les expériences de transfert d'aimantation, pour lesquelles une part significative du contraste provient des protéines de l'appareil contractile. Comme mentionné précédemment, la combinaison du filtrage double quantum, de transfert d'aimantation et des séquences UTE pourrait représenter une solution pour isoler plus spécifiquement le signal provenant du collagène (Kusmia *et al.* 2013 ; Eliav *et al.* 2014). L'utilisation de l'UTE et du transfert d'aimantation quantitatif pour la détection de la fibrose musculaire sont deux voies que nous souhaitons explorer dans notre collaboration avec l'IdM.

Le signal RMN peut être sensibilisé au mouvement à une échelle submillimétrique et cela peut servir à suivre la propagation des ondes de pression. La vitesse de propagation des ondes de pression augmente avec la rigidité du milieu traversé. Ce marqueur peut donc être utilisé pour estimer les propriétés viscoélastiques d'un tissu (Glaser *et al.* 2012). Ce phénomène est la base de l'élastographie par IRM (ERM), qui est une méthode validée pour la quantification de la fibrose hépatique. Cette technique a été transposée au domaine du muscle squelettique et un certain

nombre de situations ont été évaluées (Hirsch *et al.*, 2017; Ringleb *et al.* 2007). Le muscle squelettique constitue un ensemble structurel hautement différencié, lui-même au sein d'un environnement complexe. Il ne semble dès lors pas trivial d'établir un lien direct entre la vitesse de propagation d'une onde de pression à une position donnée et la structure tissulaire du muscle en ce même point. L'environnement global des éléments contractiles et non-contractiles doit avoir un impact et contrôler la vitesse des ondes de pression en tout point du muscle. En particulier, les effets des dépôts de graisse sont susceptibles d'être non négligeables sur la vitesse de propagation des ondes de pression. Il en est de même pour les œdèmes et autres phénomènes inflammatoires McCullough *et al.* 2011). Encore une fois, cette technique peut manquer de spécificité. Il est également à noter que les propriétés visco-élastiques des tissus peuvent également être évaluées par des méthodes ultrasonores, avec des résultats comparables à la RMN mais un net avantage en termes de facilité d'implémentation (Drakonaki *et al.* 2012).

Dans le cadre d'un projet collaboratif (API ICube - 2017 - *Elastography for Multi-modality Muscular Imaging*, porteur du projet : Simon Chatelin), la technique MRE couplée à différentes modalités d'IRMq sera évaluée pour l'investigation de la fibrose dans les muscles squelettiques.

2.11. Développements techniques récents

La quantité d'information additionnelle sur la structure et la fonction du muscle que la RMN/IRM sera capable de fournir dans le futur, et qu'elle est déjà largement capable de générer, ainsi que la multiplicité des sites anatomiques à étudier amènent une difficulté majeure : le temps nécessaire à la réalisation de ces mesures. Le problème est double : à la fois économique, au travers du coût accru de l'examen, et pratique ainsi qu'éthique, de par l'obligation pour les patients d'avoir à supporter des acquisitions de plus d'une heure. Ce dernier aspect est particulièrement pénalisant en pédiatrie. Afin de limiter le temps d'acquisition, des efforts considérables ont été consacrés, et continueront de l'être, vers 1) une accélération des acquisitions, 2) une collecte simultanée de plusieurs variables RMN et d'autant de potentiels biomarqueurs au cours d'une acquisition unique. Ces deux objectifs peuvent être poursuivis conjointement dans de nombreux cas, comme nous allons voir dans la suite.

a. Toujours plus rapide ...

Plus spécifiquement pour la cartographie T2, nous avons proposé des nouvelles stratégies d'acquisition rapide, en 3D, dérivées de séquences en précession libre en régime stationnaire (SSFP) (de Sousa *et al.* 2012). Une de ces approches utilise la méthode T2-pSSFP initialement proposée par Bieri et collaborateurs (Bieri *et al.* 2011). La méthode T2-pSSFP est basée sur le fait que la suppression de l'aimantation traverse par les impulsions de RF (RF *spoiling*) est dépendent du T2



Figure 2.11 - Image T2w et cartes de T2-pSSFP chez un sujet sain et chez un patient atteint d'une maladie musculaire inflammatoire (de Sousa et al, 2011)

(Ganter, 2006). Plus long est le T2 (par rapport au TR), plus l'effet du RF *spoiling* est important. Si le T2 est court l'effet du RF *spoiling* est négligeable. Une solution analytique récursive a été dérivée pour le signal pSSFP en fonction du T1 et T2 et des paramètres de séquence (Ganter, 2006). Ainsi, à partir de cette équation et d'au moins deux images, acquises à des conditions différentes de RF *spoiling* il est possible d'estimer le T2. Par rapport aux méthodes basées sur la séquence bSSFP (*balanced* SSFP ou TrueFISP), comme la DESPOT2 (Deoni *et al.*, 2005), la T2-pSSFP est insensible aux inhomogénéités de B0 et très peu sensible au T1. Comme pour la DESPOT2, les inhomogénéités du champ de RF sont facilement traitables par une correction de la valeur de l'angle de l'impulsion de RF, à partir d'une mesure de B1+ (de Sousa *et al.* 2012).

Nous avons effectué une analyse théorique complète et une optimisation de la méthode T2pSSFP pour les applications en imagerie neuromusculaire. Nous avons démontré que la méthode T2pSSFP était suffisamment sensible pour détecter des altérations du T2 de l'eau musculaire à longue durée et les variations de T2 après un exercice excentrique, comme une conséquence de la dégénérescence tissulaire suivi par une réaction inflammatoire réparatrice (de Sousa *et al.* 2012). T2pSSFP a également été utilisé pour évaluer les dégâts de muscle dans une forme sévère de la myopathie nécrosante (Fig. 2.11). Les régions marquées par une inflammation sévère et/ou œdèmes, qui ont bien été détectées par l'imagerie pondéré en T2 avec suppression de graisse, ont été confirmées par la cartographie T2-pSSFP. Toutefois, d'autres zones dans le muscle, dans lequel T2pSSFP a signalé des augmentations significatives du T2, n'ont pas été détectées dans les images pondérées en T2. Il s'agit ici d'un exemple typique de nombreuses situations où l'évaluation quantitative du T2 offre plus de sensibilité dans la détection d'une lésion musculaire que l'évaluation subjective des images en T2.

b. ... et plus de paramètres

Dans le domaine de la caractérisation tissulaire musculaire, l'acquisition simultanée de cartographies pour plusieurs variables est une direction prometteuse, toujours dans l'objectif d'accélérer les évaluations quantitatives. Nous avons étudié la faisabilité d'une imagerie multiparamétrique rapide, avec des temps d'acquisition de 2 secondes par coupe. Elle a permis de suivre les adaptations rapides du muscle squelettique à divers stimuli physiologiques et métaboliques (de Sousa *et al.* 2011)(Fig. 2.12). La séquence utilisée dans cette étude est constituée d'une impulsion d'inversion suivie de l'acquisition de plusieurs images en régime SSFP équilibré (bSSFP) pendant que le signal s'approche d'un état stationnaire (Schmitt *et al.* 2004). Les valeurs de T1, T2 et M0 (la densité relative de protons) peuvent alors être déduites d'une régression mono-exponentielle à trois paramètres sur la série d'images.

La trajectoire du signal en IR-bSSFP peut être modélisée plus précisément à partir des équations de Bloch ou du formalisme EPG afin de prendre en compte certaines erreurs d'instrumentation (les inhomogénéités de B1+ et B0, l'efficacité d'inversion et les profils de coupes non-idéaux) (Hennig *et al.* 2004 ; Weigel 2015 ; Marty *et al.* 2015) et la composition des tissus (les composantes eau/graisse).

Comme discuté précédemment, la fraction graisseuse et le T2 de l'eau sont les deux biomarqueurs RMN les plus matures et s'affirment comme les plus utiles pour les études musculaires. Parvenir à extraire d'une même séquence l'information nécessaire à la création de





cartographies de fraction graisseuse et de T2 représentera un gain de temps considérable. Une méthode appelée IDEAL-CPMG, combinant l'algorithme IDEAL avec une séquence de Carr-Purcell-Meiboom-Gill a récemment été proposée (Janiczek *et al.* 2011) (Fig. 2.13). Les images produites sont séparées en eau et graisse pour chaque écho. On procède ensuite à une régression exponentielle sur chaque décroissance pour quantifier le T2 de l'eau et celui de la graisse. La fraction graisseuse est calculée à partir des images en densité de proton de l'eau et de la graisse obtenues via la méthode de reconstruction IDEAL. Néanmoins, des formes d'impulsion RF imparfaites et un champ RF inhomogène peuvent donner lieu à la génération d'échos stimulés et rendre l'estimation du T2 très incertaine avec des modèles purement exponentiels. De plus, la conception de cette séquence d'impulsions impose l'utilisation d'une large bande passante de lecture, ce qui abaisse le rapport signal sur bruit des images produites.

Une originalité de notre travail a été d'exploiter une séquence standard MSE, existante dans la plupart des appareils IRM récents, pour extraire simultanément la fraction de graisse et le T2 de l'eau. Initialement, nous avons proposé de procéder à une régression multi-composante sur les données acquises avec la séquence MSE en tirant partie des différences de temps de relaxation T1 et T2 entre les protons de l'eau et de la graisse, pour séparer les deux composantes (Azzabou *et al.* 2015b). Cette méthode, basée sur une séquence standard, est simple et efficace mais elle a le désavantage d'être sensible aux inhomogénéités de B1+. Plus récemment, nous avons proposé une autre méthode pour extraire simultanément la fraction de graisse et le T2 de l'eau à partir d'une séquence MSE, mais plus robuste face aux inhomogénéités de B1+ et B0 (Marty *et al.* 2016)(Fig.



Figure 2.13 - Diagramme EPG pour une séquence multi-spin écho avec un pulse de refocalisation de 120° (Weigel 2015).



Figure 2.14 - Cartes de T2 de l'eau musculaire obtenues à partir de trois modèles du signal RMN, dont le nôtre, basé sur l'EPG (Marty et al. 2016)

2.15). Cette méthode, basée sur un modèle EPG, sera expliquée ensuite.

Le concept d'EPG peut être compris comme une solution de l'équation de Bloch en utilisant sa représentation dans l'espace-k (Weigel 2015). Cette méthode assume que le déphasage de l'aimantation transverse induit par un gradient est égal à 2π à l'intérieur d'un voxel. L'aimantation transversale peut être alors écrite comme la somme de deux états déphasés, à savoir : un état F_n^+ et un état F_n^- . L'indice *n* représente le nombre de multiples de 2π dans le voxel, induits et accumulés à chaque nouvelle application du gradient (Fig. 2.14). L'effet d'une impulsion de RF est de mélanger l'aimantation transverse et l'aimantation longitudinale, représentée par ses coefficients Z_n . Nous pouvons alors définir une base, où chaque coefficient représente un « état de configuration », défini par les coefficients F_n^+ , F_n^- et Z_n . L'effet des gradients, des impulsions radiofréquences (RF), des phénomènes de relaxation et de mouvement (diffusion moléculaire) pendant la séquence d'IRM est caractérisé comme l'action de quelques opérations matricielles sur ces états de configuration. Ainsi, la méthode EPG permet une quantification rapide et précise des intensités des échos, même si plusieurs gradients et impulsions RF sont appliqués. Les diagrammes EPG aident à la compréhension de différents types d'échos et à leur temps d'écho correspondant.

Lebel et Wilman ont été les premiers à modéliser le signal obtenu par la séquence MSE avec le formalisme EPG afin d'estimer précisément le T2 dans des zones présentant des échos stimulés (Lebel et Wilman, 2010). Il a depuis été suggéré que cette méthode pouvait être utilisée pour améliorer la précision et la concordance des mesures du T2 musculaire, en absence de graisse (Rooney *et al.*, 2011). Par la suite, nous avons montré que les differences dans les valeurs de T1 et T2 de l'eau et de la graisse permettent l'utilisation de l'EPG pour séparer les signaux de ces deux composantes, y compris dans des régions de forte inhomogeneité de B1+ (Marty *et al.* 2016). Ce travail a été récompensé par deux prix à la conférence ISMRM 23rd Annual Meeting and Exhibition

2015 (International Society for Magnetic Resonance in Medicine), et a fait la couverture du journal NMR in Biomedicine en 2016. Plus important, cette méthode commence à être utilisée dans plusieurs études en Europe.

3. IRMq et les maladies neurologiques

3.1. Avant-propos

Cette thématique a démarrée avec mon arrivée à Strasbourg, notamment via l'immersion dans le milieu de la neurologie et des neurosciences. Elle est devenue un deuxième axe de recherche pour moi, parallèlement à l'axe historique sur l'IRMq musculaire.

Un domaine d'activité dans ce thème qui m'intéresse en particulier est l'extraction de données quantitatives en ayant comme objectif la caractérisation tissulaire chez l'Homme et chez les modèles murins. La recherche de nouveaux biomarqueurs en imagerie est un des thèmes de l'équipe « Imagerie Multimodale Intégrative en Santé » (IMIS). Pour mieux comprendre les relations entre les structures et les fonctions cérébrales, nous nous intéressons tout particulièrement aux paramètres associés à la quantité de myéline dans la substance blanche, à la quantité de fer dans les tissus, ainsi qu'à leurs microarchitectures. Nous étudions de plus la corrélation entre les altérations physiologiques et les paramètres dérivés de l'IRMq, tels que les relaxivités longitudinale et transversale, la susceptibilité magnétique (χ_m) et la fraction de protons liés aux macromolécules (MPF).

L'originalité de notre projet repose sur l'exploration de l'IRM multiparamétrique (IRM quantitative et fonctionnelle) combinée à d'autres marqueurs phénotypiques (histologiques, physiologiques, sensoriels, cognitifs et comportementaux) chez l'Homme et dans des modèles murins. Cette approche est particulièrement pertinente dans le cas de pathologies neurodégénératives, neuro-psychiatriques, et neuro-développementales, pour lesquelles le besoin de nouveaux biomarqueurs diagnostiques et le besoin de traitements neuro-protecteurs et/ou neuro-réparateurs sont particulièrement prégnants.

À ce jour, plusieurs études en cours, menées par des chercheurs du laboratoire ICube, utilisent l'IRMq pour évaluer les altérations de la microstructure cérébrale. Ces derniers portent sur la maladie à corps de Lewy, la maladie d'Alzheimer, la sclérose en plaques, la schizophrénie, les dépressions résistantes et sur les anomalies de développement cérébral chez les fœtus. La finalité de ces études est d'évaluer l'utilisation de ces paramètres comme marqueurs de substitution (*surrogate markers*) pour l'indication de l'état biologique ou physiologique du tissu.

Le bilan de mon activité en IRMq cérébrale, à ce jour : 4 publications acceptées, 1 publication soumise et 5 communications internationales avec *proceedings*. J'encadre (à 80%) la thèse de Lucas Soustelle. J'ai également co-encadré (avec Jack Foucher) le master recherche "Neuropsychologie et

Neurosciences cliniques" de Mathilde Roser et sa thèse de médecine.

Dans ce chapitre j'exposerai brièvement le contexte de l'IRMq appliquée au cerveau, des problèmes méthodologiques rencontrés et mes travaux en cours à Strasbourg dans ce domaine.

3.2. Maladies neurologiques et IRMq

Des centaines de millions de personnes dans le monde sont atteintes de troubles neurologiques. La démence affecte 1 personne sur 14 à partir de 65 ans, et 1 personne sur 6 après 80 ans – elle touche 35,6 millions de malades dans le monde. La maladie d'Alzheimer est la cause la plus courante de démence et serait à l'origine de jusqu'à 70 % des cas. Elle touche environ 900 000 personnes en France 3, plus de 4,9 millions de personnes en Europe 2 et environ 25 millions de personnes dans le monde. Ces chiffres devraient doubler d'ici à 2030 pour atteindre 50 millions dans le monde, et plus que tripler d'ici à 2050 pour atteindre 80,78 millions. En France, avec 220 000 nouveaux cas par an, le nombre de malade devrait dépasser les 1,3 millions en 2020 compte tenu de l'augmentation de l'espérance de vie. Elle touche 1 personne sur 20 à partir de 65 ans, et plus d'1 personne sur 8 après 80 ans. Les pathologies du système nerveux représentent 1/3 du coût humain des maladies en Europe. Toutes les maladies et troubles liés au système nerveux et au cerveau ont couté près 800 milliards d'euros pour l'Europe en 2010 (Sources : OMS, EBC (European Brain Council), INSERM, ICM (Institut du Cerveau et de la Moelle Epinière), FRC (Fédération pour la Recherche sur le Cerveau)).

Un obstacle majeur à la mise au point de nouveaux traitements pour les troubles neurologiques est la faible quantité d'indicateurs quantitatifs (biomarqueurs) permettant un diagnostic clinique plus précoce de ces maladies et la surveillance de l'efficacité thérapeutique. Il est donc essentiel d'établir des biomarqueurs statistiquement significatifs qui permettent d'obtenir des économies substantielles et d'accroître la faisabilité des essais cliniques.

Des efforts considérables ont été déployés au cours des dernières décennies pour identifier les paramètres d'imagerie IRM les plus pertinents et sensibles pour leur utilisation dans les études en neurologie. Cependant, à ce jour, peu de ces paramètres se sont révélés cliniquement utiles. Ce relatif échec s'explique par de nombreux facteurs, dont la difficulté technique de réaliser une image quantitative précise et reproductible en IRM et le manque de sensibilité et de spécificité des paramètres dérivés de l'IRM.

Des exemples actuels de paramètres d'IRMq utilisés dans des études cliniques multi-centres sont la volumétrie et le débit sanguin. D'autres paramètres, dérivés de la relaxométrie, de la diffusométrie, de l'imagerie du transfert d'aimantation et de l'imagerie quantitative de susceptibilité magnétique (QSM) sont en cours d'évaluation.



Figure 3.1 - Exemples d'images paramétriques moyennes acquises au cours d'une même séance d'IRM sur des sujets sains (stage de M. Bouhaha, collaboration avec S.Faisan, V.Noblet et J.Foucher (ICube)).

En pratique, les métriques quantitatives d'IRM sont extraites en acquérant des images multiples de la même modalité, en utilisant différents paramètres expérimentaux (par exemple, la direction des gradients, pour l'IRM du tenseur de diffusion). En modélisant le changement de signal en fonction de ces paramètres, on peut extraire des informations quantitatives.

Bien que les différentes informations soient habituellement exploitées séparément, des mesures complémentaires de l'IRM peuvent également être combinées pour extraire des informations complètes et spécifiques sur le tissu, ce qui peut aider au diagnostic et au pronostic des troubles neurodégénératifs (Groeschel *et al.*, 2016). Combiner plusieurs paramètres obtenus en IRMq a pour but de pratiquer une « pseudohistologie » in vivo à partir des différentes propriétés physiques des tissus de la même façon que les colorations histologiques sont fondées sur leurs propriétés chimiques (Weiskopf *et al.*, 2015).

Plusieurs paramètres sont aujourd'hui utilisés de façon unique ou combinés à d'autres pour évaluer la richesse en macromolécules, la quantité de fer dans les tissus ainsi que leurs microarchitectures : la relaxivité longitudinale (R1 = 1/T1), la relaxivité transversale (T2 = 1/T2), la relaxivité transversale apparente (R2* = 1/T2*), la susceptibilité magnétique (χ_m), la fraction de protons liés à des macromolécules (MPF), le coefficient moyen de diffusion (ADC), la fraction
d'anisotropie (FA), entre autres (Fig. 3.1). Ces paramètres, utilisés dans plusieurs de nos études cliniques, sont décrits brièvement ci-dessous.

Le transfert d'aimantation (MT) en IRM a été largement utilisé dans la recherche sur la sclérose en plaques au cours des deux dernières décennies. L'approche la plus répandue, et techniquement la plus simple, est l'estimation d'un rapport (le MTR) qui reflète une réduction relative de l'intensité du signal, provoquée par le phénomène de transfert d'aimantation consécutif à l'application d'une impulsion de saturation hors-résonance. La principale limitation de cette approche est liée à une dépendance complexe du MTR à plusieurs paramètres influençant l'effet du transfert d'aimantation.

Dans le modèle utilisé pour décrire le signal en présence de MT, la dynamique de l'aimantation relie la relaxation croisée entre l'eau et les protons macromoléculaires et les processus de relaxation au sein de chaque groupe de protons. Les paramètres de relaxation et de relaxation croisée contribuent au rapport MT, souvent avec des effets opposés, ce qui limite sa spécificité pathologique et sa gamme dynamique de changements liés à la maladie

Des méthodes plus complexes pour la cartographie quantitative des paramètres de MT ont été proposées et testées, notamment dans les études sur la SEP. La limitation commune de ces méthodes est la longue durée d'acquisition de données en raison de la nécessité de collecter un grand nombre d'images pondérées en MT avec différents paramètres de saturation (amplitude et fréquence de l'impulsion). Récemment, une nouvelle méthode a été développée pour la cartographie de la fraction de protons macromoléculaires (MPF) sur le cerveau entier (Yarnykh, 2016 ; Yarnykh, 2012). Ce paramètre a été très positivement corrélé avec les mesures histologiques de la densité de la myéline chez les modèles animaux (Khodanovich *et al.*, 2017). Une étude récente a montré que la cartographie de la fraction de proton macromoléculaire du cerveau entier permet une évaluation quantitative de la démyélinisation dans la substance blanche et grise d'apparence normale et est mieux corrélée à l'état clinique de la SEP que le MTR et la cartographie de R1 (Yarnykh *et al.*, 2014).

La susceptibilité magnétique (χ_m) est la capacité intrinsèque d'un matériau à s'aimanter sous l'action d'un champ magnétique extérieur. On parle de paramagnétisme lorsque l'aimantation induite se fait dans le même sens que le champ magnétique et de diamagnétisme quand l'aimantation s'oppose au champ appliqué. Dans les tissus cérébraux le facteur majeur de paramagnétisme est le fer complexé présent par exemple dans la transferrine ou l'hémosidérine, alors que les éléments diamagnétiques majeurs sont les phospholipides et donc de la myéline (Liu *et al.*, 2015 ; Wang & Liu, 2015). Les effets de susceptibilité magnétique de la myéline et du fer ont tendance à se contrebalancer, d'où l'intérêt de combiner cette mesure avec d'autres (MPF, R1, diffusion) pour pouvoir en interpréter les résultats (Stüber et al., 2014).

Les paramètres de relaxométrie (R1, R2 et R2*) varient en fonction du compartiment dans lequel se trouvent les spins (intra / extracellulaires), et de l'environnement moléculaire avec des sensibilités variables en fonction de la concentration locale en macromolécules et en ions ferriques.

Les paramètres dérivés de la mesure de la diffusion de l'eau moléculaire sont sensibles aux propriétés microstructurales des tissus. Si ces paramètres sont correctement interprétés (à partir d'un modèle réaliste), les mesures macroscopiques d'imagerie par diffusion peuvent donner un aperçu de plusieurs aspects de la microstructure tissulaire. Le modèle le plus couramment appliqué pour quantifier la diffusion dans le cerveau est le modèle du tenseur, qui constitue la base de l'imagerie du tenseur de diffusion (DTI). À partir de ce modèle on peut évaluer différents paramètres qui caractérisent la diffusion le long (diffusivité axiale) d'une fibre ou perpendiculairement (diffusivité radiale) à une fibre. D'autres modèles prometteurs, comme le modèle NODDI (*neurite orientation dispersion and density imaging*), ont été introduits et commencent à être validés par l'histologie (Zhang *et al.*, 2012).

Ces paramètres sont multi-déterminés et varient en fonction de plusieurs facteurs biophysiques. Par exemple, une variation de la quantité de myéline retentira sur le MPF, le R1 ainsi que sur le R2. Si celle-ci s'accompagne de modifications microstructurales, ce seront les paramètres de diffusion qui seront impactés en même temps (Stikov *et al.*, 2011).

Pour mieux comprendre comment l'environnement chimique complexe influence ces mesures quantitatives, plusieurs équipes essayent de modéliser le rapport entre la microstructure du tissu cérébral et le signal d'IRM généré (Duval *et al.*, 2016). En utilisant ces modèles, il est alors possible d'extraire des indices significatifs, tels que la taille et la densité des fibres de tissu, la concentration de myéline ou de fer dans un voxel et l'épaisseur de la gaine de myéline entourant les axones. Ces mesures microstructurales sont habituellement appelées "métriques quantitatives basées sur un modèle" par opposition à "métriques quantitatives physiques" (par exemple, les temps de relaxation T1, T2, T2*). La capacité d'évaluer quantitativement de nombreux paramètres différents et de les intégrer dans un modèle unique permettrait une caractérisation plus complète du tissu cérébral, de sa composition à sa microstructure.

3.3. Problèmes méthodologiques

Si d'une part la combinaison de plusieurs paramètres permet d'améliorer notre compréhension de la microstructure et de renforcer la sensibilité et la puissance statistique des biomarqueurs pour les essais cliniques, elle comporte le désavantage d'augmenter la durée des examens, ainsi que leur coût. La durée des séquences impacte aussi sur la qualité des images, du fait de la fatigue des patients, qui finissent par bouger pendant les acquisitions. Des adaptations importantes sont ainsi nécessaires pour arriver à des séquences rapides, capables de fournir des images quantitatives en 3D (ou 2D jointives), une résolution isotropique proche de 1 mm, peu ou pas sensibles à l'inhomogénéité des champs magnétiques, etc. Une partie importante de mon activité de recherche à Strasbourg a été d'évaluer différentes méthodologies en IRMq cérébrale et de les mettre en place dans des études cliniques. De façon à réduire le temps d'acquisition nous avons privilégié lorsque c'était possible l'utilisation de séquences rapides en régime stationnaire.

Pour la cartographie T1 nous utilisons la méthode *variable flip angle* (VFA ou DESPOT1) (Cheng *et al.*, 2006 ; Deoni *et al.*, 2005). Cette méthode est basée sur l'acquisition d'au moins deux images SPGR (*spoiled gradient echo sequence*) avec des angles de bascule différents. Dans la version originale de cette méthode, une expression analytique (équation d'Ernst) est utilisée pour décrire le signal collecté. Cette expression suppose que le *spoiling* de l'aimantation transverse est parfait. En pratique, ce n'est jamais le cas, avec les séquences utilisées dans les IRM cliniques (Yarnykh, 2010 ; Nehrke, 2009 ; Preibisch & Deichmann, 2009). Nous avons mis en place des corrections permettant de compenser l'effet du *spoiling* incomplet et les inhomogénéités de B1+ dans les estimations de T1 utilisant les séquences SPGR (Heule *et al.*, 2016 ; Preibisch & Deichmann, 2009). Pour la cartographie du champ de RF, nous utilisons les techniques *Actual Flip Angle* (AFI) (Yarnykh, 2007) et *multiple transmission multi-slice B1-mapping technique with Echo Planar readout* (XFL)(Amadon *et al.*, 2010), les deux séquences programmées par nos collaborateurs de NeuroSpin et SIEMENS.

En collaboration avec Mathieu Santin (ICM, Paris) et Ludovic de Rochefort (CRMBM, Marseille) nous avons mis en œuvre des séquences et méthodes de reconstruction pour la quantification de la susceptibilité magnétique (QSM). Nous avons exploré la possibilité de reconstruire les cartes de QSM et de T1 à partir des mêmes données de façon à extraire des



Figure 3.2 - Image de phase combinée par la méthode *adaptative combine* (SIEMENS) et carte de susceptibilité magnétique correspondant.



Figure 3.3 – Reconstruction d'images de phase : (gauche) *adaptative combine* (SIEMENS), (droite) notre méthode (Santini et al., 2016).

informations de la microstructure cérébrale (abstract ISMRM 2013). Nous avons aussi proposé une nouvelle méthode de reconstruction des images de phase (abstract ISMRM 2016), comme discuté dans la suite.

En QSM, plusieurs images complexes sont acquises à des valeurs de temps d'écho différents. La qualité de l'estimation de χ_m dépend de la qualité des images de phase ainsi collectées. Quand une antenne multi-éléments est utilisée, les différentes bobines réceptrices ont différentes sensibilités de phase en raison de leur géométrie, et les données complexes doivent être manipulées avant la combinaison afin d'éviter les interférences destructrices. Bien que plusieurs méthodes aient été publiées (Robinson *et al.*, 2017), une combinaison de phase précise n'est pas encore proposée par le pipeline de reconstruction générique des imageurs SIEMENS. Par conséquent les images de phase et les cartes de susceptibilité sont alors corrompues par les interférences destructrices si une reconstruction par défaut (*adaptative combine*) est utilisée (Figs. 3.2 et 3.3).

En collaboration avec Mathieu Santin (ICM, Paris), et Francesco Santini (Universitätsspital Basel) nous avons mis en place une nouvelle méthode de combinaison de phase (Santini *et al.*, 2016). L'efficacité de cette méthode a été démontrée pour des antennes de 12 à 64 canaux, sur des imageurs 3T SIEMENS (Verio et Prisma), pour l'imagerie du cerveau et abdominale. Cette nouvelle méthode est une extension logique des travaux précédents de Parker (Parker *et al.*, 2014) et de Santini (Santini *et al.*, 2015). Parker avait proposé de rephaser les images complexes de chaque canal (pour un TE donné), à partir d'une valeur de référence. Cela correspond à attribuer une valeur arbitraire de phase (par exemple, zéro) à un voxel représentatif, c'est-à-dire, un voxel visible par tous

les éléments d'antenne. Les phases de chaque canal sont alors « synchronisées » en conséquence. Ensuite, ces images rephasées sont combinées (somme complexe, pondérée par leur amplitude) pour former une image d'une « bobine virtuelle ». Cette première étape élimine une grande partie des différences de phase entre les images de chaque bobine, mais son efficacité dépend de la sensibilité des éléments d'antenne au voxel de référence. Si le voxel choisi n'est pas bien détecté par un ou plusieurs éléments d'antenne, la correction de phase apportée à l'image du canal correspondant ne sera pas correcte. La méthode de Parker va donc comparer la phase de l'image du « *virtual coil* » avec les images rephasées de chaque canal. La différence entre les images sera alors lissée pour éliminer l'effet du bruit, et cette carte de différences sera utilisée pour corriger à nouveau les images de phase de chaque canal.

Santini avait proposé de rephaser les images sans une référence générique (Santini *et al.*, 2015). Il va traiter le problème de combinaison de phases comme un problème d'optimisation : on veut maximiser le signal total combiné. Les valeurs d'offset de phase de chaque canal correspondent à la solution du problème d'optimisation $\max_{\varphi_c} \sum_r ||\sum_c I_c(r) e^{i\varphi_c(r)}||$. En première approximation, si on considère que les décalages de phase sont indépendants de la position, soit $\varphi_c(r) = \varphi_{c,0}$, alors la solution est $\varphi_{c,0} = -\frac{1}{N}\sum_r \arg(I_c(r))$, c'est-à-dire que la valeur du décalage correspond à la phase conjuguée de la moyenne du signal complexe de chaque bobine (*N* voxels). Cette approche, nommée GRPC (pour *Generic Referenceless Phase Combination*) évite le problème du choix arbitraire d'un voxel de référence mais elle est aussi dépendante du rapport signal-bruit.

Dans notre abstract ISMRM de 2016 nous avons proposé de combiner les deux approches : nous utilisons la méthode GRPC pour calculer l'image du « *virtual coil* », qui sera ensuite utilisée pour estimer les corrections de phase de chaque canal, comme dans la méthode de Parker. Cette solution a ensuite été adoptée pour nos études sur les maladies psychiatriques.

Plus spécifiquement pour la cartographie T2, avec Alexandre Vignaud (NeuroSpin) nous avons évalué des nouvelles stratégies d'acquisition dérivées de séquences en précession libre en régime stationnaire (SSFP pour *Steady State Free Precession*) (de Sousa *et al.* 2012). Dans le cadre d'une collaboration avec NeuroSpin, nous avons montré que les séquences pSSFP peuvent être utilisées pour l'estimation du T2 chez l'Homme à 7T même en présence d'une importante inhomogénéité de B0 et de B1+ (abstract ISMRM 2013) (Fig. 3.4).

Cependant, ces séquences sont extrêmement sensibles au flux et au mouvement, en raison des très importants gradients de spoiling (Santini et al, 2008). L'état stationnaire est perturbé par le mouvement des isochromats et ce phénomène peut entraîner des artefacts et des pertes de signal, principalement pour les tissus avec T2 long comme le liquide cérébro-spinal (Fig. 3.5).



Figure 3.4 – Cartes de T2 chez un sujet sain à 7T (NeuroSpin) : (b) méthode T2-pSSFP utilisant la solution approximée proposée dans Bieri et al. (2011), (c) notre méthode basée sur l'EPG et (a) les cartes de B1+ (de Sousa et al., 2014). Les flèches indiquent les régions de très forte variation de B1+.

Une alternative à pSSFP est la séquence bSSFP, qui a un moment de gradient nul et est donc moins sensible au flux et au mouvement. Une méthode de cartographie rapide de T2 (DESPOT2) basée sur la bSSFP a été proposée il y a plusieurs années, mais elle n'est pas encore très utilisée à 3T, car cette séquence est sensible aux inhomogénéités de B0 et aux effets de transfert d'aimantation (Deoni *et al.*, 2005). Récemment, une nouvelle solution analytique a été proposée pour la combinaison des images bSSFP acquises avec différentes phases de pulse de RF (Jutras *et al.*, 2016). Cette méthode permet une acquisition et reconstruction rapide et robuste des cartes de T2, avec correction des inhomogénéités de B0 et B1+. C'est la solution que nous avons retenue pour la cartographie du T2 sur le cerveau entier.

Plusieurs méthodes d'IRMq cérébrale ont été mises en place et sont couramment utilisées dans des études chez l'Homme à Strasbourg. Dans la suite de ce chapitre j'évoquerai une étude



Figure 3.5 – artefacts de mouvement du LCR observé chez des patients Alzheimer, avec les séquences pSSFP, à 3T.

portant sur les maladies psychiatriques, pour lequel j'ai apporté des contributions.

3.4. Recherche de biomarqueurs pour les maladies psychiatriques

La santé mentale, composante essentielle de la santé est un état de bien-être, une aptitude de l'esprit à fonctionner normalement et répondre de manière appropriée aux stimuli de l'environnement. On parle alors de troubles mentaux lorsque cet état de bien-être est perturbé par des affections spécifiques (dépression, schizophrénie, troubles bipolaires). L'individu est alors dans l'incapacité de s'adapter aux situations difficiles voire douloureuses et de maintenir son équilibre psychique.

Les troubles les plus fréquemment rencontrés sont la dépression, les troubles bipolaires, la schizophrénie, les troubles anxieux et les addictions. En France, les troubles psychiatriques touchent plus d'un adulte sur quatre soit 27% de la population française. La schizophrénie touche elle seule 21 millions d'individus dans le monde, soit environ 7 personnes sur 1000. On dénombre 600 000 cas en France (source ICM).

Encore mal compris, les troubles du comportement peuvent être l'expression symptomatique de certaines maladies du cerveau. Le concept médical de maladie regroupe les patients non sur la base de leurs symptômes, mais sur celle de l'étiologie (cause) ou de la physiopathologie. La psychiatrie peine à s'inscrire dans ce schéma. À l'heure actuelle, le diagnostic de schizophrénie repose uniquement sur des manifestations cliniques. La disponibilité d'une mesure plus objective pourrait aider les psychiatres dans le processus de diagnostic et augmenter sa fiabilité. En outre, une mesure objective pourrait servir de base au diagnostic à un stade précoce, ce qui pourrait conduire à un meilleur traitement.

Les thérapies courantes de la schizophrénie utilisent essentiellement les neuroleptiques, des médicaments qui permettent de contrôler les symptômes "positifs", comme le délire et les hallucinations, et "négatifs", comme l'émoussement affectif et émotionnel, mais qui ne sont pas efficaces contre les déficits "cognitifs", caractérisés par la désorganisation de la pensée. De plus, jusqu'à un tiers de patients ne répondent pas à ces thérapies. Ainsi, des nouvelles cibles thérapeutiques sont activement recherchées pour améliorer le traitement de cette maladie et particulièrement les déficits cognitifs.

La physiopathologie de cette maladie reste mal connue, ce qui est un obstacle à la mise au point de nouvelles thérapies. Ce que les manuels de classification internationaux appellent « schizophrénie » ne correspond pas à un phénotype unitaire. Une de ces formes, la catatonie périodique, est un phénotype de psychose dont l'expression clinique s'étale entre des manifestations bipolaires et schizophréniques. Cette forme de psychose est caractérisée par une atteinte de la psychomotricité, c'est-à-dire l'ensemble des processus mentaux qui vont de la prise de décision à la programmation, à l'initiation et à la réalisation de l'action. Cette pathologie débute en moyenne vers 20-25 ans, et touche autant les hommes que les femmes. Ce phénotype est relativement fréquent puisqu'il correspond à environ 20% des troubles schizo-affectifs et schizophréniques.

Dans une étude en cours pilotée par Jack Foucher (ICube et CEMNIS) nous évaluons l'utilisation de l'imagerie multiparamétrique (IRM quantitative et fonctionnelle) comme outil de diagnostic pour la catatonie périodique. Les premiers résultats de cette étude, sur une petite cohorte constituée de 14 patients atteints de catatonie périodique stabilisée et 26 sujets sains, montrent qu'au niveau du cortex, l'aire motrice cingulaire présente une susceptibilité magnétique (χ_m) augmentée. Dans cette région, la valeur de χ_m est corrélée avec la symptomatologie catatonique et la sévérité des symptômes (PANSS) sans être corrélée à la symptomatologie dépressive, au traitement antipsychotique ou à la durée d'évolution de la pathologie.

Au niveau de la substance blanche, celle présente sous le cortex cingulaire antérieur est caractérisée par une diminution bilatérale de R1 et une augmentation de χ_m chez les patients, ce qui suggère un défaut de myélinisation. Il en est de même pour la substance blanche sous-corticale du cortex prémoteur, avec une diminution bilatérale de R1. Enfin, la substance blanche sous le sillon temporal supérieur est altérée de façon bilatérale en termes de myélinisation (diminution du R1, diminution du R2 et du MPF) et d'organisation des faisceaux de fibres (exprimée par une diminution de la FA).

En résumé, les altérations bilatérales de l'aire motrice cingulaire antérieure, de par sa corrélation avec la symptomatologie et la concordance anatomo-clinique, sont de bons candidats pour expliquer la physiopathologie de la catatonie périodique. Il existe en effet une bonne concordance entre les symptômes spécifiques de ce phénotype et les symptômes rapportés en cas d'atteinte de cette région. Les anomalies de la substance grise du sillon temporal supérieur gauche sont concordantes avec certaines données de la littérature mais ne pourraient expliquer qu'une partie de la symptomatologie de nos patients. Ces premiers résultats restent à confirmer sur un échantillon plus large. Ce travail a été récompensé par un prix de meilleur poster au Congrès Français de Psychiatrie, en 2016 (travail présenté par Mathilde Roser).

3.5. Imagerie de la myéline par IRM

La gaine de myéline est une membrane lipoprotéique qui entoure l'axone. Son rôle principal est de faciliter la transmission des signaux nerveux au niveau du système nerveux central. Dans la plupart des cas, la destruction de la myéline (démyélinisation) génère une large gamme de dysfonctionnements du système nerveux. L'imagerie du tenseur de diffusion a été largement utilisée comme outil de recherche pour comprendre les changements structurels associés à la pathologie de la substance blanche. D'autres techniques, comme l'imagerie quantitative du transfert d'aimantation (qMTI), et l'imagerie de la fraction d'eau piégée entre les bicouches lipidiques de la myéline (MWF) ont aussi démontré leur sensibilité à la myéline. Ces techniques (DTI, qMTI et MWF) ont permis d'approfondir notre compréhension du développement, des dégâts et des réparations de la myéline (Song *et al.,* 2002 ; Harsan *et al.,* 2006; Laule *et al.,* 2006; Laule *et al.,* 2007 ; Ou *et al.,* 2009, Levesque *et al.,* 2010 ; Alonso-Ortiz *et al.,* 2015).

Le point commun entre ces techniques est l'utilisation du proton de l'eau comme source du signal RMN. Ces séquences reflètent l'interaction des protons de la membrane lipoprotéique avec les protons de l'eau libre (intra et extra cellulaire). Cette détection indirecte a l'avantage de se servir du fort signal de l'eau pour créer une image de bonne qualité, mais rend ces techniques intrinsèquement non-spécifiques de la myéline. La détection directe de la myéline par IRM est évoquée clairement dès 2011, dans un article publié dans MRM (Horch *et al.*, 2011), même si des images à temps d'écho très court (UTE pour *ultrashort TE*) sur le cerveau humain ont été réalisées bien avant (ex. : Waldman *et al.*, 2003). Horch et collaborateurs ont montré que dans les nerfs myélinisés des amphibiens et des mammifères, le signal RMN présente une composante avec des valeurs de T2 comprises majoritairement entre 50 µs et 1 ms. Ils ont aussi montré que ces signaux à T2 ultra-court proviennent principalement des protons du groupe méthylène dans les membranes de



Figure 3.6 – Images UTE *ex vivo* de la moelle épinière d'un rat, acquises à deux TE et image de différence (Wilhelm et al., 2012).

myéline, et ont suggéré que la mesure directe des signaux avec T2 < 1 ms pourrait être utilisée comme nouvelle méthode de cartographie quantitative de la myéline.

Dans un autre article plus récent, publié dans PNAS, Wilhelm et collaborateurs ont montré que le spectre RMN à 400 MHz du proton dans l'extrait de myéline bovine se compose d'une résonance étroite de l'eau, superposée à une large enveloppe décalée à ~ 3,5 ppm, suggérant la présence de protons méthyléniques (Wilhelm *et al.*, 2012). Ce signal est composé par des spectres superposés de groupes fonctionnels correspondants aux déplacements chimiques des constituants de la myéline (lipides) et peut être modélisé comme une somme de super-Lorentziennes avec une distribution de T2 couvrant un large éventail de valeurs entre 8 μ s et 26 ms. À 37 °C 44,8% du signal RMN de la myéline bovine a un T2 inférieur à 1 μ s et 86,3% est inférieur à 1 ms (Wilhelm *et al.*, 2012). À l'aide d'une séquence 3D-UTE, avec une combinaison d'inversion adiabatique et de soustraction d'écho, ces auteurs ont démontré la faisabilité de l'imagerie directe de la myéline *ex vivo* sur la moelle épinière de rat (Fig. 3.6).

Dans le cadre de la thèse de Lucas Soustelle, nous évaluons l'hypothèse que la détection directe de la myéline du cerveau de la souris (voire sa quantification) est possible par IRM-UTE, sous condition de suppression du signal de l'eau. Le choix de l'utilisation d'un modèle murin pour cette étude est lié au besoin d'une validation histologique de la méthode et la possibilité d'avoir une modèle de démyélinisation, comme discuté dans ce qui suit.

Comme l'ont remarqué précédemment d'autres auteurs (Laule *et al.*, 2007) une difficulté avec l'imagerie de la myéline par UTE est précisément l'élimination du signal de contamination de l'eau libre, majoritaire. La méthode de choix la plus triviale pour la suppression du signal de l'eau en UTE repose sur le phénomène d'inversion-récupération (IR) du signal de la composante à T2 long, et sur l'hypothèse d'une aimantation longitudinale théoriquement nulle après un délai approprié entre



Figure 3.7 – Séquence 3D Diff-UTE. Le signal à T2 court est collecté après l'impulsion α_2 . Les gradients de spoil et les impulsions α_1 et α_2 contribuent à suppression du signal à T2 long.



Figure 3.8– Images DIff-UTE d'une tête de souris fixée, démontrant un contraste important dans l'os cortical et au sein des régions fortement myélinisées.

l'excitation et l'inversion. Cependant, l'impulsion d'inversion (adiabatique) en IR-UTE peut saturer l'aimantation d'une composante à T2 court : l'aimantation maximale exploitable de la composante d'intérêt est donc celle ayant récupéré durant le temps d'inversion estimé pour la suppression du signal de la composante à T2 long.

Afin de répondre à cette limitation, nous avons proposé une méthode alternative et originale, basée sur des mécanismes d'atténuation du signal de la composante à T2 long, par diffusion et relaxation, dans une séquence radiale UTE en régime stationnaire (Diff-UTE) (Soustelle *et al.*, 2017a) (Fig. 3.7). Le signal de la composante aqueuse dans la Diff-UTE peut être décrit par le formalisme EPG. Comme discuté précédemment (section 2.12), ce formalisme EPG modélise le signal en termes d'états de configuration (composantes de Fourier du signal RMN, créées par la répétition des impulsions de gradient et de radiofréquence). De par un choix optimal des paramètres de séquence (amplitude et phase des impulsions RF, moments de gradients et délais), il est alors possible de moduler la population des différents états de configuration de façon à aboutir à une combinaison destructive du signal à T2 long. En évitant l'utilisation d'un module d'inversion, cette séquence permet la réduction du TR, tout en générant un contraste théoriquement plus important.

L'efficacité de cette méthode a été démontrée sur des fantômes et sur une tête de souris *ex vivo* (Soustelle *et al.*, 2017a-b) (Fig. 3.8).

À l'aide d'une autre séquence UTE en 2D, nous avons essayé de caractériser les temps de relaxation transverse dans le corps calleux d'un cerveau de souris (travail soumis à l'ISMRM 2018). Les résultats montrent deux composantes : une avec T2 de ~13 ms, probablement de l'eau piégée entre les bicouches lipidiques de la myéline, et une autre composante, avec T2 ~150 µs (Fig. 3.9). Ces deux composantes sont séparées en fréquence de 3,1 ppm, ce qui suggère que la composante à T2 ~150 µs pourrait être constituée par de protons de méthylène à longue chaîne.

En collaboration avec Cristina Antal (Université de Strasbourg, Faculté de médecine/Institut d'histologie et ICube) nous avons mis en place une étude visant à établir la sensibilité et la sélectivité du contraste généré par la Diff-UTE, en utilisant un modèle murin de démyélinisation (par ingestion de cuprizone). Les premiers résultats, *ex vivo*, montrent que la séquence Diff-UTE est sensible à la démyélinisation dans le corps calleux et dans la capsule externe, chez les animaux traités par la cuprizone (Fig. 3.10). Ce travail a été soumis à l'ISMRM 2018. Par la suite, le marquage immunohistochimique de la protéine basique de la myéline nous permettra d'évaluer, chez ces



Figure 3.9 – Mesure *ex vivo* du T2* UTE sur le corps calleux et sur la boîte crânienne d'une souris, sous condition de suppression du signal de la composante aqueuse.



Figure 3.10- Images paramétriques DIff-UTE chez une souris contrôle (gauche) et une souris traitée par la cuprizone. Un effet de la démyélinisation est évident dans le corps calleux. Les images sont normalisées par le signal UTE d'une référence placée à côté de la tête (un morceau de gomme – $T2 \sim 0,5$ ms).

animaux, la spécificité du contraste générée par Diff-UTE.

Ce travail de thèse ouvre des perspectives intéressantes pour l'application de l'UTE dans la recherche clinique et pose aussi quelques nouvelles questions : les sources de signaux à T2- court en Diff-UTE proviennent-ils de protons lipidiques? Comment la valeur du T2 de la composante à T2 < 1 ms reflète-t-elle la structure et l'organisation de la myéline ? Quel est le rapport entre le signal en Diff-UTE et les métriques dérivées de l'imagerie du transfert d'aimantation (y compris la nouvelle méthode ihMT (Varma *et al.,* 2015)) ? Ces questions ne pourront pas être examinées à partir d'un modèle souris et sur un imageur préclinique, en raison du faible signal UTE et de la faible quantité de myéline chez le rongeur. La transposition de la séquence Diff-UTE sur un IRM clinique 3T, et son évaluation chez l'Homme, est la prochaine étape de notre projet. Une demande de partenariat scientifique a été déposée auprès de SIEMENS, pour support dans la programmation de cette séquence sur un imageur clinique.

Le bilan de ce projet, à ce jour : 1 publication en revue internationale (MRM), 1 publication en préparation (NMR in Biomed.), 4 communications internationales avec proceedings (1 ISMRM 2016, 3 ISMRM 2017), 5 soumissions à l'ISMRM 2018. Un dépôt de brevet en rapport avec la méthode Diff-UTE a été effectué à l'Office Européen des Brevets.

4. AUTRES TRAVAUX DE RECHERCHE EN IRM

En complément des travaux de recherches présentés ci-dessus, j'ai été à l'origine ou associé à différents projets, dans le domaine de l'IRM, le long de mon parcours scientifique. Afin de retracer l'histoire de ces travaux, dans la suite du texte j'ai choisi de les présenter par ordre chronologique inversée et par laboratoire d'accueil.

ICube, Strasbourg, France

Caractérisation d'un nouvel agent de contraste IRM. Travail réalisé dans le cadre d'une collaboration avec le Laboratoire de Synthèse des Assemblages Moléculaires Multifonctionnels, à Strasbourg. Pour ce projet j'ai mis en œuvre un protocole de mesure de la relaxivité de l'agent de contraste in vitro à 3T et 7T. Travail publié en 2016 dans Inorganic Chemistry.

Centre de Biophysique Moléculaire (CBM), CNRS, Orléans, France

Phénotypage d'un modèle murin de malaria cérébrale. Travail réalisé dans le cadre d'une collaboration avec le laboratoire « Immunologie et Embryologie Moléculaire » (IEM, UMR 6218, CNRS, Orléans). Pour ce projet j'ai mis en œuvre un protocole d'imagerie du cerveau de souris, sur un 9.4T Bruker Biospec, pour la détection de lésions et/ou altérations dans le réseau vasculaire. Travail publié en 2008 dans PloS One.

Phénotypage d'un modèle murin de la trisomie 21. Travail réalisé dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe d'Y. Hérault (IEM, UMR 6218, CNRS, Orléans), actuellement directeur de l'Institut Clinique de la Souris (ICS), à Illkirch. Pour ce projet, j'ai mis en œuvre (a) la méthode MEMRI (*Manganese Enhanced MRI*) pour l'étude du cerveau de souris, sur un 9.4T Bruker Biospec, (b) un protocole d'imagerie cardiaque chez la souris adulte (« in vivo », à 9.4T) et (c) un protocole d'imagerie cardiaque chez l'embryon de souris « in vitro », sur un 17.6T Bruker (au laboratoire CEMHTI, UPR3079, CNRS, Orléans).

Caractérisation « in vivo » d'un nouvel agent de contraste IRM. Travail réalisé dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe d'E. Toth (CBM, CNRS), à Orléans. Pour ce projet j'ai mis au point un protocole de mesure rapide de la relaxivité de l'agent de contraste chez la souris (avec l'appui de W. Même, du Laboratoire de Neurobiologie, Université d'Orléans). Travail publié en 2008 dans Contrast Media and Molecular Imaging.

Grupo de Espectroscopia e Imagens por RMN, UFPE, Recife, Brésil

Évaluation de l'impact d'une agression physiologique (nutritionnelle ou pharmacologique) pendant la période critique de développement du système nerveux central chez le rat : Travail réalisé dans le cadre d'une collaboration entre chercheurs de l'Universidade Federal de Pernambuco (UFPE, Recife, Brésil) et du Laboratory of Functional and Molecular Imaging, National Institute of Neurological Disorders and Stroke (Bethesda, EUA). Comme partie de cette étude, j'ai mis en œuvre un protocole d'imagerie quantitative du cerveau de rat, marqués par un agent de contraste neuronal Mn, à différents âges (11 à 31 jours). Travail publié en 2007 dans J. Mag. Resonance Imaging.

Étude de la diffusion anormale de l'eau dans les matériaux structurés : Travail réalisé dans le cadre d'une collaboration entre chercheurs du laboratoire RMN (DF, UFPE) et de l'Universidade

de Campinas (UNICAMP, Campinas, Brésil). Pour cette étude, j'ai mis en œuvre un protocole d'imagerie pour la mesure du profil de pénétration de l'eau dans des échantillons de zéolites synthétiques. Travail publié en 2006 dans le journal Physical Review E.

Institut de Physique Biologique (IPB, UMR 7004–CNRS/ULP/IFR 37, CNRS), Université Louis Pasteur, Strasbourg, France

Imagerie du tenseur de diffusion (DTI): Dans le cadre d'un projet d'application de l'IRM pour l'étude de maladies du système nerveux chez les modèles murins (travail de thèse de Laura Harsan), j'ai apporté des modifications à une séquence existante sur le 4.7T SMIS, pour permettre la détermination du tenseur de diffusion de l'eau dans le cerveau de souris. Cette étude a permis de démontrer que la technique DTI est un outil sensible pour l'évaluation de la démyélinisation et remyélinisation. Travail publié en 2006 dans Journal of Neuroscience Research.

iMQC imaging : Nouvelle méthode de contraste par IRM, basée sur la détection de cohérences intermoléculaires multi-quanta (iMQC). Méthode potentiellement sensible aux modifications de la structure ou de l'activité du cerveau dans une échelle microscopique. Différents résultats de ma recherche dans ce domaine ont été publiés entre 2003 et 2004 dans J. Mag. Res. Imaging, J. Mag. Res. et CRC. Des résultats préliminaires chez le rat obtenus à l'IPB, en 2005.

RMN du Xénon : Dans le cadre d'un projet d'utilisation « in vivo » du xénon hyperpolarisé (travail de thèse d'Alain Oregioni, à l'IPB), j'ai proposé une nouvelle méthode de caractérisation de l'efficacité des agents transporteurs du xénon. Ce travail a été publié en 2003 dans Mag. Res. Medicine.

Laboratoire DCSO, École Polytechnique, Palaiseau, France

Projet : **Développement d'une méthode rapide pour la mesure du coefficient de diffusion de liquides ou gaz dans des milieux poreux**, dans le cadre d'une collaboration avec le Laboratoire de Physique de la Matière Condensée (École Polytechnique, Palaiseau). Travail publié en 2001 dans Chemical Physics Letters.

5. Propriétés électriques des tissus biologiques

5.1. Avant-propos

Ce projet de recherche est une suite logique de mes travaux précédents dans le domaine de l'IRMq. Comme discuté dans les chapitres précédents, l'IRM est une modalité d'imagerie polyvalente qui permet de collecter des informations sur différentes propriétés tissulaires, comme les relaxivités longitudinale et transversale, la diffusivité, la fraction de protons liés aux macromolécules, la fraction de graisse dans le muscle, les propriétés viscoélastiques et magnétiques (la susceptibilité), etc. Nous avons montré que, par sa polyvalence, l'IRMq peut jouer un rôle important dans la recherche clinique. C'est pour cela que nous cherchons toujours à identifier des nouveaux paramètres potentiellement utiles. La cartographie des propriétés électriques est une technique émergente qui utilise un imageur IRM pour obtenir des informations non invasives sur les propriétés électriques des tissus telles que la conductivité et la permittivité. Comme cela sera exposé par la suite, nous pensons que des telles propriétés peuvent fournir des informations complémentaires sur la structure et la composition des tissus, et ainsi peuvent servir de bon complément aux informations fournies par les méthodes d'IRM traditionnelles.

5.2. Introduction

La conductivité électrique (σ) caractérise l'aptitude d'un matériau ou d'une solution à laisser les charges électriques se déplacer librement et donc permettre le passage d'un courant électrique. La permittivité (ϵ) est directement liée à l'effet de la polarisation électrique qui se produit lorsque les charges électriques des molécules se séparent pour contrecarrer le champ électrique externe. Dans les tissus biologiques sous l'influence d'un champ électrique oscillant de fréquence angulaire ω , l'admittance $\kappa = \sigma + i\omega\epsilon$ (parfois appelée conductivité complexe) est déterminée par les concentrations ioniques dans les fluides intracellulaires et extracellulaires, la structure et la densité cellulaire, les compositions moléculaires, les caractéristiques membranaires et d'autres facteurs.

Alors que les concentrations et les mobilités des ions et des molécules affectent la valeur de la conductivité, les membranes cellulaires contribuent principalement à la permittivité. Les spectres d'admittance de divers tissus biologiques montrent des changements de conductivité et de permittivité dépendants de la fréquence. Pour la plupart des tissus biologiques, $\kappa \approx \sigma$ aux basses fréquences inférieures à 1 kHz, alors que le terme $\omega \varepsilon$ n'est pas négligeable au-dessus de 10 kHz en raison des structures membranaires abondantes dans les organismes. Ceci implique que les spectres de fréquence de la conductivité véhiculent des informations différentes sur la composition et



Figure 5.1 - Image T2w et carte de conductivité des seins. Les flèches verte et orange correspondent à des kystes et une tumeur, respectivement. Adapté de Zhang et al., 2014.

l'organisation tissulaire. Puisque les valeurs d'admittance des tissus et des organes changent avec leurs conditions physiologiques et pathologiques, elles fournissent des informations diagnostiques utiles (Fig. 5.1).

Les propriétés électriques peuvent potentiellement être utilisées comme biomarqueurs indiquant l'état de santé du tissu. Plusieurs travaux ont montré que diverses maladies provoquent des changements locaux des propriétés électriques par rapport aux tissus sains voisins. Des études *ex vivo* suggèrent une valeur diagnostique des propriétés électriques dans le domaine de la viabilité du muscle cardiaque après un infarctus du myocarde (Schaefer *et al.* 2002). Des changements significatifs de conductivité et de permittivité ont également été rapportés dans des études *ex vivo* sur le tissu cérébral en relation avec un AVC (Liu *et al.*, 2006). L'ischémie locale et le gonflement des cellules qui se produisent en raison d'une crise focale pendant l'épilepsie peuvent également modifier les propriétés électriques (Lux *et al.*, 1986). Une étude récente a révélé de fortes différences dans la conductivité *in vivo* des tissus contenant des cellules tumorales et des tissus sains, et entre les tumeurs bénignes et malignes dans le sein (Shin *et al.*, 2015). Ces résultats suggèrent que la conductivité électrique tissulaire pourrait être un marqueur pronostique du cancer du sein. Dans le domaine des maladies neuromusculaires, plusieurs études ont montré que les propriétés électriques musculaires sont altérées par la maladie et que ces propriétés peuvent être utilisées comme biomarqueurs pour le suivi thérapeutique (Sanchez & Rutkove, 2016).

Dans la recherche biomédicale, la caractérisation des propriétés électriques est nécessaire : pour la localisation précise des sources électriques internes dans l'électroencéphalographie (EEG) et l'électrocardiographie (ECG) ; pour l'estimation de la quantité d'énergie absorbée par l'utilisateur d'un téléphone portable ou IRM ; pour le monitoring de la thermoablation par radiofréquence dans le traitement du cancer ; pour la planification des thérapies basées sur la neuromodulation électromagnétique, comme la stimulation cérébrale profonde (DBS) utilisé pour atténuer les symptômes de la maladie de Parkinson, et la stimulation transcrânienne magnétique (TMS) ou à



Deep brain stimulation (DBS)

Transcranial magnetic stimulation (TMS)

Transcranial direct-current Stimulation (tDCS)

Figure 5.2 – Illustration des méthodes de neuromodulation électromagnétique, DBS, TMS et tDCS.

courant continu (tDCS), toutes deux utilisées en neuropsychiatrie (Fig. 5.2).

Bien que les méthodes de neuromodulation électromagnétique soient à différents stades de développement, le principe physique qui sous-tend ces techniques est similaire. À savoir, un champ électrique est induit dans certaines structures spécifiques du cerveau soit par injection de courant à travers des électrodes posées sur le cuir chevelu (tDCS), ou implantées (DBS), soit par induction électromagnétique (TMS). Dans les trois cas, le champ électrique induit module les potentiels transmembranaires neuronaux et, de ce fait, l'excitabilité ou l'activité neuronale.

La connaissance de la distribution du champ électrique induit est fondamentale pour évaluer la localisation, l'intensité et l'étendue de la stimulation. Étant donné qu'il est très difficile, sinon impossible, de visualiser directement le champ électrique induit par ces techniques, des modèles computationnels sont utilisés pour prédire les effets physiques de la neuromodulation et ainsi guider la pratique clinique (Klooster *et al.*, 2016 ; Windhoff *et al.*, 2013 ; Opitz *et al.*, 2011 ; Thielscher *et al.*, 2011). La nécessité d'un calcul précis a conduit à l'élaboration de modèles électriques du cerveau de plus en plus réalistes, partant de simples sphères homogènes jusqu'à des modèles spécifiques au patient. Ces derniers sont obtenus à partir de la segmentation d'un nombre limité de tissus et de structures, sur des images anatomiques (par exemple la substance blanche, la substance grise et le liquide céphalo-rachidien, parfois la boîte crânienne et la peau). Dans ces modèles, les tissus sont très souvent considérés comme homogènes et isotropes en termes de propriétés électriques. Ceci est évidemment trop simpliste et pourrait expliquer pourquoi certains patients ne répondent pas au traitement. Des études récentes suggèrent que les ventricules, la topologie du cortex et l'anisotropie de conductivité électrique de la substance blanche peuvent déformer le champ électrique induit



Figure 5.3 – Illustration des méthodes MREIT et MREPT, et exemple de cartes de conductivité.

d'une manière non triviale (Opitz *et al.*, 2015 ; Thielscher *et al.*, 2011). Les modifications structurelles du cerveau lors du vieillissement ou au cours d'une maladie (atrophie, lésions corticales, tumeurs, démyélinisation, etc.) ont également un impact sur la distribution des champs électriques.

De plus, les valeurs des propriétés électriques des tissus du cerveau utilisées dans les simulations numériques sont généralement estimées à partir des données expérimentales *ex vivo* chez d'autres espèces animales (Huang *et al.*, 2017) et sont sujettes à caution. Par exemple, les valeurs de la conductivité électrique publiées pour la substance blanche varient entre 0.090 et 0.290 S/m (Schmidt *et al.*, 2015). Cette incertitude résulte principalement des difficultés associées au procédé de mesure, à l'inhomogénéité et à l'anisotropie des structures étudiées et des variations interindividuelles. Pour arriver à une planification efficace des thérapies basées sur la neuromodulation électromagnétique, il est donc essentiel de pouvoir caractériser individuellement, pour chaque patient, les propriétés électriques du cerveau.

En raison de ses principes électromagnétiques sous-jacents, l'IRM est une approche logique pour cartographier les propriétés électriques tissulaires *in vivo* et chez l'Homme (Haacke *et al.*, 1991). À l'heure actuelle, deux stratégies sont proposées pour étudier les propriétés électriques en milieu vivant par IRM (Fig. 5.3) : la première, MREIT (*magnetic resonance electrical impedance tomography*) repose sur l'injection d'un courant électrique sur le corps à imager (Seo and Woo, 2011), et la seconde, MREPT (*magnetic resonance electrical properties tomography*) utilise le champ de radiofréquence de l'IRM pour estimer la conductivité et la permittivité (Zhang *et al.*, 2014 ; Voigt *et al.*, 2011). Ces deux méthodes fournissent des informations sur les propriétés électriques du corps humain à différentes gammes de fréquences. MREIT fournit des cartes de conductivité aux basses fréquences en dessous de 1 kHz, tandis que MREPT fournit des cartes à la fréquence de Larmor (128

MHz à 3 teslas pour le proton). Étant donné que les tissus biologiques présentent un spectre de conductivité dépendant de la fréquence, MREIT et MREPT peuvent fournir des informations différentes et complémentaires : les membranes cellulaires se comportent comme isolants électriques pour les basses fréquences. Les courants ne pouvant pas passer à travers l'intérieur des cellules, la conductivité reflète plutôt la mobilité des ions dans le volume extracellulaire, qui dépend de la distribution et forme des cellules. Pour les fréquences élevées (comme dans la MREPT) l'effet résistif de la membrane disparaît, et le courant pénètre dans les cellules.

À ce jour, la méthode MREIT a été restreinte à des preuves de concept sur des objets-test et sur des animaux (rat, chien et porc) (ex. : Oh *et al.,* 2015). Chez l'Homme, dû aux difficultés associées à l'injection d'un courant électrique, quelques rares exemples d'imagerie musculaire ont été publiés (Jeong *et al.,* 2014). Concernant la méthode MREPT, des preuves de concept ont été réalisées sur des objets-test, sur des cœurs isolés, sur des animaux et chez l'Homme (cerveau, sein, foie et pelvis).

5.3. Projet scientifique

Mon projet scientifique consiste en l'investigation des propriétés électriques tissulaires pour les applications en recherche clinique neuromusculaire et neurologique.

Ce projet s'articule autour de deux axes fondamentaux : d'un côté, ce projet a pour objectif de développer des méthodes d'acquisition (y compris l'instrumentation électronique et les séquences IRM) et de traitement des données pour obtenir les propriétés électriques du muscle squelettique et du cerveau humain par IRM. D'un autre, ce projet a pour objectif de mieux comprendre la relation entre les changements tissulaires et cellulaires et les propriétés électriques, mesurées à différentes fréquences. Ce projet a également un versant translationnel, en appliquant les développements prometteurs des deux axes précédents dans des essais cliniques.

Axe nº1 : Développement de méthodes d'acquisition et de traitement du signal pour l'imagerie des propriétés électriques

L'objectif de cet axe est de rechercher les méthodes les mieux adaptées et les plus innovantes pour cartographier les propriétés électriques des tissus à différentes fréquences et d'adapter ces méthodes aux contraintes de la recherche clinique. En plus du développement de l'instrumentation électronique et de son interfaçage avec l'IRM, deux autres aspects doivent être distingués : les méthodes d'acquisition et les méthodes de traitement du signal.

Concernant le premier point, il est essentiel que 1) un nombre limité d'images soit acquis très rapidement de façon à éviter l'influence des mouvements du sujet sur la qualité des images ; 2) que

56

la séquence d'impulsions soit optimisée en termes de sensibilité aux variations de phase, permettant ainsi d'une part de diminuer l'amplitude du courant injecté (pour la MREIT) et, d'autre part d'améliorer la qualité et la robustesse de la reconstruction des images. Le développement de nouvelles séquences d'IRM, préférentiellement en 3D, plus rapides et optimisées en termes de sensibilité aux variations du champ magnétique local, permettrait d'une part de diminuer l'amplitude du courant injecté dans la MREPT et, d'autre part d'améliorer la qualité des images.

Concernant le second point, des nouvelles stratégies seront utilisées pour améliorer la stabilité et la robustesse de reconstructions des cartes des paramètres électriques, comme l'intégration de connaissances a priori. Une des options envisagée est l'utilisation conjointe des images morphologiques et des images paramétriques comme a priori pour guider le calcul des cartes de conductivité.

Une autre approche élégante qui sera évaluée dans ce projet est l'utilisation de séquences « hybrides », c'est-à-dire des séquences d'IRM pouvant acquérir simultanément des cartes de conductivité à basse et à haute fréquence (Kim *et al.*, 2014a), ou des cartes de conductivité et de susceptibilité magnétique (Kim *et al.*, 2014b). En plus de la réduction du temps total d'acquisition, cette approche facilite la comparaison entre les deux cartes, car elles partagent la même géométrie (résolution spatiale et couverture).

À terme, la réduction du temps d'acquisition des images et l'amélioration de la qualité et de la sensibilité des cartes de propriétés électriques devront permettre la réalisation d'études chez des volontaires sains, à différentes âges et conditions physiques, afin d'établir des valeurs de référence.

Axe nº2 : Investigation des interactions entre le tissu biologique et les champs électromagnétiques

L'extraction de données quantitatives en imagerie et leur traduction en termes de modifications microstructurales sont dépendantes du modèle biophysique utilisé et présentent des biais et des limitations liés aux hypothèses adoptées. Afin de pouvoir interpréter de façon plus réaliste les données et résultats dérivés, il est nécessaire d'atteindre une compréhension physique plus profonde pour comprendre quels paramètres biophysiques impactent sur les propriétés électriques et sur le signal IRM.

L'objectif de cet axe de recherche est donc d'étudier le lien entre la biologie, la physiologie et les propriétés électriques du tissu musculaire. Nous nous intéresserons particulièrement aux liens entre le spectre de conductivité électrique et la composition, la texture et l'architecture musculaire (comme la taille des myofibres, l'œdème, l'infiltration graisseuse et la fibrose). Pour cela, des

57

modèles biophysiques seront développés pour expliquer la relation entre les propriétés électriques du tissu, sa structure et sa composition. Ces modèles seront alimentés par des données issues de l'histologie, et par des informations microstructurales obtenues à partir d'autres techniques d'IRM quantitative, chez l'Homme et chez l'animal. Les facteurs physiologiques et structurels responsables des modifications des propriétés électriques dans les maladies neuromusculaires seront identifiés en collaboration avec l'Institut de Myologie, à Paris, grâce à l'utilisation de modèles animaux, comme le modèle GRMD, pour lequel nous avons une large expérience dans l'interprétation des données d'imagerie.

Axe nº3 : Translation vers la clinique

Les implications sociales sont au centre des préoccupations de ce projet avec une ambition de contribuer à la surveillance de l'efficacité des thérapies. Sur le plan physiopathologique, nous souhaitons étudier les pathologies musculaires, pour lesquelles l'absence de traitement efficace est particulièrement prégnante, comme la maladie de Duchenne. Sur le plan thérapeutique, la modélisation des effets de thérapies basées sur la neuromodulation électrique ou magnétique pourra nous aider à mieux comprendre les effets physiologiques induits par ces techniques. Au-delà d'une meilleure réponse thérapeutique, on s'attend à ce que cette approche réduise également le risque d'effets indésirables.

L'objectif de cet axe est de regrouper les compétences nécessaires à une recherche translationnelle efficace et innovante pour à la fois assurer la bonne conduite des projets en cours, définir les projets scientifiques de demain, obtenir les financements de recherche et créer les collaborations nécessaires à une science orientée vers une utilité clinique.

5.4. Opportunités par rapport au contexte local et possibles collaborations

Strasbourg offre une infrastructure optimale permettant d'associer scientifiques et professionnels de santé grâce à une forte interaction des centres de recherche avec l'hôpital, via la plate-forme IRIS (ICube), le CEntre de neuro-Modulation Non-Invasive de Strasbourg (CEMNIS), le Centre d'Investigation Clinique des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, et la Fédération de Médecine Translationnelle de Strasbourg (FMTS). L'implantation des équipes de recherche à l'Hôpital Civil de Strasbourg et la présence de praticiens hospitaliers au sein de l'équipe IMIS permettront un transfert efficace des preuves de concept de la recherche vers la clinique.

Ce projet pourra s'appuyer sur l'expertise et les infrastructures du Laboratoire ICube, qui regroupe les compétences et les moyens nécessaires à son accomplissement, en particulier au sein

58

des équipes de recherche IMIS, AVR, IMAGeS et SMH et la plate-forme IRIS. Ce projet pourra aussi compter sur les collaborations déjà bien établies avec l'Institut de Myologie et NeuroSpin (à Paris), l'Universitätsspital Basel (à Bâle), et sur les nouvelles collaborations, à niveau régional, avec l'IADI, à Nancy et l'Université de Reims.

Pour finir, le montage d'un projet de collaboration avec le Danish Research Center for Magnetic Resonance - DRCMR (Hvidovre, Danemark) est en cours, via le programme de coopération international Åsgard. Un des axes de recherche du DRCMR est justement la modélisation des champs électriques induits par la TMS.

5.5. Retombées

La mise en place d'une méthode rapide pour la quantification in vivo de la conductivité électrique des tissus biologiques permettrait de compléter le portfolio de techniques d'IRMq proposées par la plate-forme IRIS (ICube). La modélisation de la conductivité musculaire et cérébrale nous permettrait de faire le lien entre les altérations des propriétés électriques et les modifications de la microstructure dans le cas de pathologies. À terme, ces résultats nous diront si la conductivité électrique pourrait être utilisée comme un biomarqueur pour ces pathologies.

Ce projet ouvre de plus de nombreuses perspectives autour des techniques de neuromodulation. La connaissance de la répartition du champ électrique dans le cerveau pourra nous aider à mieux comprendre les effets physiologiques induits par ces techniques. Au-delà d'une meilleure réponse thérapeutique, on s'attend à ce que cette approche réduise également le risque d'effets indésirables cognitifs par rapport aux protocoles thérapeutiques basés sur des modèles plus simplistes.

6. BIBLIOGRAPHIE

Alizai, H., Nardo, L., Karampinos, D. C., Joseph, G. B., Yap, S. P., Baum, T., ... & Link, T. M. (2012). Comparison of clinical semi-quantitative assessment of muscle fat infiltration with quantitative assessment using chemical shift-based water/fat separation in MR studies of the calf of post-menopausal women. *European radiology*, 22(7), 1592-1600.

Alonso-Ortiz, E., Levesque, I. R., & Pike, G. B. (2015). MRI-based myelin water imaging: A technical review. Magnetic Resonance in Medicine, 73(1), 70-81.

Amadon, A., Boulant, N., Cloos, M. A., Giacomini, E., Wiggins, C. J., Luong, M., ... & Fautz, H. P. (2010). B1mapping of an 8-channel TX-array over a human-head-like volume in less than 2 minutes: The XEP sequence. In Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med (Vol. 18, p. 2828).

Arpan, I., Forbes, S. C., Lott, D. J., Senesac, C. R., Daniels, M. J., Triplett, W. T., ... & Vandenborne, K. (2013). T2 mapping provides multiple approaches for the characterization of muscle involvement in neuromuscular diseases: a cross-sectional study of lower leg muscles in 5–15-year-old boys with Duchenne muscular dystrophy. *NMR in Biomedicine*, *26*(3), 320-328.

Arpan, I., Willcocks, R. J., Forbes, S. C., Finkel, R. S., Lott, D. J., Rooney, W. D., ... & Finanger, E. L. (2014). Examination of effects of corticosteroids on skeletal muscles of boys with DMD using MRI and MRS. *Neurology*, 83(11), 974-980.

Azzabou, N., Hogrel, J. Y., & Carlier, P. G. (2015a). NMR based biomarkers to study age-related changes in the human quadriceps. *Experimental gerontology*, *70*, 54-60.

Azzabou, N., Loureiro de Sousa, P., Caldas, E., & Carlier, P. G. (2015b). Validation of a generic approach to muscle water T2 determination at 3T in fat-infiltrated skeletal muscle. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, *41*(3), 645-653.

Ben-Eliezer, N., Sodickson, D. K., & Block, K. T. (2015). Rapid and accurate T2 mapping from multi–spin-echo data using Bloch-simulation-based reconstruction. *Magnetic Resonance in Medicine*, *73*(2), 809-817.

Bieri, O., Scheffler, K., Welsch, G. H., Trattnig, S., Mamisch, T. C., & Ganter, C. (2011). Quantitative mapping of T2 using partial spoiling. *Magnetic Resonance in Medicine*, 66(2), 410-418.

Bley, T. A., Wieben, O., François, C. J., Brittain, J. H., & Reeder, S. B. (2010). Fat and water magnetic resonance imaging. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 31(1), 4-18.

Bonati, U., Hafner, P., Schädelin, S., Schmid, M., Devasia, A. N., Schroeder, J., ... & Sinnreich, M. (2015a). Quantitative muscle MRI: a powerful surrogate outcome measure in Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscular Disorders*, 25(9), 679-685.

Bonati, U., Schmid, M., Hafner, P., Haas, T., Bieri, O., Gloor, M., ... & Fischer, D. (2015b). Longitudinal 2-point dixon muscle magnetic resonance imaging in becker muscular dystrophy. *Muscle & nerve*, 51(6), 918-921.

Bryan, W. W., Reisch, J. S., McDonald, G., Herbelin, L. L., Barohn, R. J., & Fleckenstein, J. L. (1998). Magnetic resonance imaging of muscle in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology*, *51*(1), 110-113.

Bryant, N. D., Li, K., Does, M. D., Barnes, S., Gochberg, D. F., Yankeelov, T. E., ... & Damon, B. M. (2014). Multi-parametric MRI characterization of inflammation in murine skeletal muscle. *NMR in biomedicine*, 27(6), 716-725.

CA Araujo, E., Azzabou, N., Vignaud, A., Guillot, G., & Carlier, P. G. (2017). Quantitative ultrashort TE imaging of the short-T2 components in skeletal muscle using an extended echo-subtraction method. *Magnetic Resonance in Medicine*, 78(3), 997-1008.

Carlier, P. G., Azzabou, N., de Sousa, P. L., Florkin, B., Deprez, E., Romero, N. B., ... & Servais, L. (2013). P. 14.4 Diagnostic role of quantitative NMR imaging exemplified by 3 cases of juvenile dermatomyositis. *Neuromuscular Disorders*, 23(9), 814.

Carlier, P. G. (2014). Global T2 versus water T2 in NMR imaging of fatty infiltrated muscles: different methodology, different information and different implications. *Neuromuscular Disorders*, 24(5), 390-392.

Carlier, P. G., Azzabou, N., de Sousa, P. L., Hicks, A., Boisserie, J. M., Amadon, A., ... & Laforêt, P. (2015). Skeletal muscle quantitative nuclear magnetic resonance imaging follow-up of adult Pompe patients. *Journal of inherited metabolic disease*, *38*(3), 565-572.

Cheng, H. L. M., & Wright, G. A. (2006). Rapid high-resolution T1 mapping by variable flip angles: Accurate and precise measurements in the presence of radiofrequency field inhomogeneity. Magnetic Resonance in Medicine, 55(3), 566-574.

Csapo, R., Malis, V., Sinha, U., Du, J., & Sinha, S. (2014). Age-associated differences in triceps surae muscle composition and strength-an MRI-based cross-sectional comparison of contractile, adipose and connective tissue. *BMC musculoskeletal disorders*, 15(1), 209.

Degardin, A., Morillon, D., Lacour, A., Cotten, A., Vermersch, P., & Stojkovic, T. (2010). Morphologic imaging in muscular dystrophies and inflammatory myopathies. *Skeletal radiology*, *39*(12), 1219-1227.

de Jong, S., Zwanenburg, J. J., Visser, F., van der Nagel, R., van Rijen, H. V., Vos, M. A., ... & Luijten, P. R. (2011). Direct detection of myocardial fibrosis by MRI. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 51(6), 974-979.

de Sousa, P. L., Vignaud, A., Fleury, S., & Carlier, P. G. (2011). Fast monitoring of T1, T2, and relative proton density (M0) changes in skeletal muscles using an IR-TrueFISP sequence. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 33(4), 921-930.

de Sousa, P. L., Vignaud, A., Caldas de Almeida Araújo, E., & Carlier, P. G. (2012). Factors controlling T2 mapping from partially spoiled SSFP sequence: Optimization for skeletal muscle characterization. *Magnetic Resonance in Medicine*, 67(5), 1379-1390.

Deoni, S. C., Peters, T. M., & Rutt, B. K. (2005). High-resolution T1 and T2 mapping of the brain in a clinically acceptable time with DESPOT1 and DESPOT2. Magnetic resonance in medicine, 53(1), 237-241.

Desguerre, I., Mayer, M., Leturcq, F., Barbet, J. P., Gherardi, R. K., & Christov, C. (2009). Endomysial fibrosis in Duchenne muscular dystrophy: a marker of poor outcome associated with macrophage alternative activation. Journal of Neuropathology & Experimental Neurology, 68(7), 762-773.

Dixon, W. T. (1984). Simple proton spectroscopic imaging. Radiology, 153(1), 189-194.

Drakonaki, E., Allen, G. M., & Wilson, D. J. (2012). Ultrasound elastography for musculoskeletal applications. The British journal of radiology, 85(1019), 1435-1445.

Du, J., Takahashi, A. M., & Chung, C. B. (2009). Ultrashort TE spectroscopic imaging (UTESI): application to the imaging of short T2 relaxation tissues in the musculoskeletal system. Journal of Magnetic Resonance Imaging, 29(2), 412-421.

Du, J., Bydder, M., Takahashi, A. M., Carl, M., Chung, C. B., & Bydder, G. M. (2011). Short T2 contrast with three-dimensional ultrashort echo time imaging. Magnetic resonance imaging, 29(4), 470-482.

Duval, T., Stikov, N., & Cohen-Adad, J. (2016). Modeling white matter microstructure. *Functional neurology*, 31(4), 217.

Edzes, H. T., & Samulski, E. T. (1978). The measurement of cross-relaxation effects in the proton NMR spinlattice relaxation of water in biological systems: hydrated collagen and muscle. Journal of Magnetic Resonance (1969), 31(2), 207-229.

Eliav, U., Komlosh, M. E., Basser, P. J., & Navon, G. (2014). Collagen Composition and Content-Dependent Contrast in Porcine Annulus Fibrosus Achieved by Using Double Quantum and Magnetization Transfer Filtered UTE MRI. Magnetic resonance in medicine, 71(1), 388-393.

Fischmann, A., Hafner, P., Fasler, S., Gloor, M., Bieri, O., Studler, U., & Fischer, D. (2012). Quantitative MRI can detect subclinical disease progression in muscular dystrophy. *Journal of neurology*, 259(8), 1648-1654.

Fischmann, A., Hafner, P., Gloor, M., Schmid, M., Klein, A., Pohlman, U., ... & Fischer, D. (2013). Quantitative MRI and loss of free ambulation in Duchenne muscular dystrophy. *Journal of neurology*, 260(4), 969-974.

Forbes, S. C., Willcocks, R. J., Triplett, W. T., Rooney, W. D., Lott, D. J., Wang, D. J., ... & Russman, B. S. (2014). Magnetic resonance imaging and spectroscopy assessment of lower extremity skeletal muscles in boys with Duchenne muscular dystrophy: a multicenter cross sectional study. *PloS one*, *9*(9), e106435.

Ganter, C. (2006). Steady state of gradient echo sequences with radiofrequency phase cycling: analytical solution, contrast enhancement with partial spoiling. *Magnetic Resonance in Medicine*, 55(1), 98-107.

Garrood, P., Hollingsworth, K. G., Eagle, M., Aribisala, B. S., Birchall, D., Bushby, K., & Straub, V. (2009). MR imaging in duchenne muscular dystrophy: quantification of T1-weighted signal, contrast uptake, and the effects of exercise. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, *30*(5), 1130-1138.

Glaser, K. J., Manduca, A., & Ehman, R. L. (2012). Review of MR elastography applications and recent developments. Journal of Magnetic Resonance Imaging, 36(4), 757-774.

Glover, G. H., & Schneider, E. (1991). Three-point dixon technique for true water/fat decomposition with B0 inhomogeneity correction. *Magnetic resonance in medicine*, *18*(2), 371-383.

Groeschel, S., Hagberg, G. E., Schultz, T., Balla, D. Z., Klose, U., Hauser, T. K., ... & Krägeloh-Mann, I. (2016). Assessing white matter microstructure in brain regions with different myelin architecture using MRI. *PloS one*, 11(11), e0167274.

Ha, D. H., Choi, S., Kang, E. J., & Park, H. T. (2015). Diffusion tensor imaging and T2 mapping in early denervated skeletal muscle in rats. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 42(3), 617-623.

Haacke, E. M., Petropoulos, L. S., Nilges, E. W., & Wu, D. H. (1991). Extraction of conductivity and permittivity using magnetic resonance imaging. *Physics in medicine and biology*, 36(6), 723.

Harsan, L. A., Poulet, P., Guignard, B., Steibel, J., Parizel, N., Loureiro de Sousa, P., ... & Ghandour, M. S. (2006). Brain dysmyelination and recovery assessment by noninvasive in vivo diffusion tensor magnetic resonance imaging. Journal of neuroscience research, 83(3), 392-402.

Hathout, Y., Seol, H., Han, M. H. J., Zhang, A., Brown, K. J., & Hoffman, E. P. (2016). Clinical utility of serum biomarkers in Duchenne muscular dystrophy. *Clinical proteomics*, *13*(1), 9.

Heemskerk, A. M., Strijkers, G. J., Drost, M. R., van Bochove, G. S., & Nicolay, K. (2007). Skeletal muscle degeneration and regeneration after femoral artery ligation in mice: monitoring with diffusion MR imaging. *Radiology*, 243(2), 413-421.

Heier, C. R., Guerron, A. D., Korotcov, A., Lin, S., Gordish-Dressman, H., Fricke, S., ... & Nagaraju, K. (2014). Non-invasive MRI and spectroscopy of mdx mice reveal temporal changes in dystrophic muscle imaging and in energy deficits. *PloS one*, *9*(11), e112477.

Henkelman, R. M., Stanisz, G. J., & Graham, S. J. (2001). Magnetization transfer in MRI: a review. NMR in Biomedicine, 14(2), 57-64.

Hennig, J., Weigel, M., & Scheffler, K. (2004). Calculation of flip angles for echo trains with predefined amplitudes with the extended phase graph (EPG)-algorithm: principles and applications to hyperecho and TRAPS sequences. *Magnetic Resonance in Medicine*, 51(1), 68-80.

Heule, R., Ganter, C., & Bieri, O. (2016). Variable flip angle T1 mapping in the human brain with reduced t2 sensitivity using fast radiofrequency-spoiled gradient echo imaging. Magnetic Resonance in Medicine, 75(4), 1413-1422.

Hirsch, S., Braun, J., & Sack, I. (2017). MRE of Skeletal Muscle. Magnetic Resonance Elastography: Physical Background And Medical Applications, 325-332.

Hollingsworth, K. G., de Sousa, P. L., Straub, V., & Carlier, P. G. (2012). Towards harmonization of protocols for MRI outcome measures in skeletal muscle studies: consensus recommendations from two TREAT-NMD NMR workshops, 2 May 2010, Stockholm, Sweden, 1–2 October 2009, Paris, France. *Neuromuscular Disorders*, *22*, S54-S67.

Hollingsworth, K. G., Garrood, P., Eagle, M., Bushby, K., & Straub, V. (2013). Magnetic resonance imaging in Duchenne muscular dystrophy: longitudinal assessment of natural history over 18 months. *Muscle & nerve*, 48(4), 586-588.

Horch, R. A., Gore, J. C., & Does, M. D. (2011). Origins of the ultrashort-T21H NMR signals in myelinated nerve: A direct measure of myelin content?. *Magnetic Resonance in Medicine*, 66(1), 24-31.

Hu, H. H., Börnert, P., Hernando, D., Kellman, P., Ma, J., Reeder, S., & Sirlin, C. (2012). ISMRM workshop on fat-water separation: insights, applications and progress in MRI. *Magnetic resonance in medicine*, 68(2), 378-388.

Hu, H. H., & Kan, H. E. (2013). Quantitative proton MR techniques for measuring fat. *NMR in biomedicine*, 26(12), 1609-1629.

Huang, Y., Liu, A. A., Lafon, B., Friedman, D., Dayan, M., Wang, X., ... & Parra, L. C. (2017). Measurements and models of electric fields in the in vivo human brain during transcranial electric stimulation. Elife, 6, e18834.

Janiczek, R. L., Gambarota, G., Sinclair, C. D., Yousry, T. A., Thornton, J. S., Golay, X., & Newbould, R. D. (2011). Simultaneous T2 and lipid quantitation using IDEAL-CPMG. *Magnetic Resonance in Medicine*, 66(5), 1293-1302.

Janssen, B. H., Voet, N. B., Nabuurs, C. I., Kan, H. E., de Rooy, J. W., Geurts, A. C., ... & Heerschap, A. (2014). Distinct disease phases in muscles of facioscapulohumeral dystrophy patients identified by MR detected fat infiltration. *PLoS One*, *9*(1), e85416.

Jeong, W. C., Meng, Z. J., Kim, H. J., Kwon, O. I., & Woo, E. J. (2014). Experimental validations of in vivo human musculoskeletal tissue conductivity images using MR-based electrical impedance tomography. *Bioelectromagnetics*, 35(5), 363-372.

Jutras, J. D., Wachowicz, K., & Zanche, N. (2016). Analytical corrections of banding artifacts in driven equilibrium single pulse observation of T2 (DESPOT2). *Magnetic Resonance in Medicine*, 76(6), 1790-1804.

Karampinos, D. C., Baum, T., Nardo, L., Alizai, H., Yu, H., Carballido-Gamio, J., ... & Majumdar, S. (2012). Characterization of the regional distribution of skeletal muscle adipose tissue in type 2 diabetes using chemical shift-based water/fat separation. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, *35*(4), 899-907.

Kim, H. J., Jeong, W. C., Sajib, S. Z., Kim, M. O., Kwon, O. I., Je Woo, E., & Kim, D. H. (2014a). Simultaneous imaging of dual-frequency electrical conductivity using a combination of MREIT and MREPT. Magnetic resonance in medicine, 71(1), 200-208.

Kim, D. H., Choi, N., Gho, S. M., Shin, J., & Liu, C. (2014b). Simultaneous imaging of in vivo conductivity and susceptibility. *Magnetic Resonance in Medicine*, 71(3), 1144-1150.

Kim, H. K., Laor, T., Horn, P. S., Racadio, J. M., Wong, B., & Dardzinski, B. J. (2010). T2 mapping in Duchenne muscular dystrophy: distribution of disease activity and correlation with clinical assessments. *Radiology*, 255(3), 899-908.

Kim, H. K., Serai, S., Lindquist, D., Merrow, A. C., Horn, P. S., Kim, D. H., & Wong, B. L. (2015). Quantitative skeletal muscle MRI: part 2, MR spectroscopy and T2 relaxation time mapping—comparison between boys with Duchenne muscular dystrophy and healthy boys. *American Journal of Roentgenology*, 205(2), W216-W223.

Kinali, M., Arechavala-Gomeza, V., Cirak, S., Glover, A., Guglieri, M., Feng, L., ... & Quinlivan, R. M. (2011). Muscle histology vs MRI in Duchenne muscular dystrophy. *Neurology*, *76*(4), 346-353.

Klingler, W., Jurkat-Rott, K., Lehmann-Horn, F., & Schleip, R. (2012). The role of fibrosis in Duchenne muscular dystrophy. Acta Myologica, 31(3), 184. Lamminen, A. E. (1990). Magnetic resonance imaging of primary skeletal muscle diseases: patterns of distribution and severity of involvement. *The British journal of radiology*, 63(756), 946-950.

Khodanovich, M. Y., Sorokina, I. V., Glazacheva, V. Y., Akulov, A. E., Nemirovich-Danchenko, N. M., Romashchenko, A. V., ... & Yarnykh, V. L. (2017). Histological validation of fast macromolecular proton fraction mapping as a quantitative myelin imaging method in the cuprizone demyelination model. *Scientific Reports*, 7.

Klooster, D. C., de Louw, A. J., Aldenkamp, A. P., Besseling, R. M. H., Mestrom, R. M. C., Carrette, S., ... & Carrette, E. (2016). Technical aspects of neurostimulation: focus on equipment, electric field modeling, and stimulation protocols. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 65, 113-141.

Kusmia, S., Eliav, U., Navon, G., & Guillot, G. (2013). DQF-MT MRI of connective tissues: application to tendon and muscle. Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine, 26(2), 203-214.

Lamminen, A. E. (1990). Magnetic resonance imaging of primary skeletal muscle diseases: patterns of distribution and severity of involvement. *The British journal of radiology*, 63(756), 946-950.

Laule, C., Leung, E., Li, D. K., Traboulsee, A. L., Paty, D. W., MacKay, A. L., & Moore, G. R. (2006). Myelin water imaging in multiple sclerosis: quantitative correlations with histopathology. Multiple Sclerosis Journal, 12(6), 747-753.

Laule, C., Vavasour, I. M., Kolind, S. H., Li, D. K., Traboulsee, T. L., Moore, G. W., & MacKay, A. L. (2007). Magnetic resonance imaging of myelin. *Neurotherapeutics*, 4(3), 460-484.

Lebel, R. M., & Wilman, A. H. (2010). Transverse relaxometry with stimulated echo compensation. *Magnetic resonance in medicine*, 64(4), 1005-1014.

Lee, Y. H., Lee, H. S., Lee, H. E., Hahn, S., Nam, T. S., Shin, H. Y., ... & Kim, S. M. (2015). Whole-body muscle MRI in patients with hyperkalemic periodic paralysis carrying the SCN4A mutation T704M: Evidence for chronic progressive myopathy with selective muscle involvement. *Journal of Clinical Neurology*, *11*(4), 331-338.

Le Guiner, C., Montus, M., Servais, L., Cherel, Y., Francois, V., Thibaud, J. L., ... & Dutilleul, M. (2014). Forelimb treatment in a large cohort of dystrophic dogs supports delivery of a recombinant AAV for exon skipping in Duchenne patients. *Molecular Therapy*, 22(11), 1923-1935.

Levesque, I. R., Giacomini, P. S., Narayanan, S., Ribeiro, L. T., Sled, J. G., Arnold, D. L., & Pike, G. B. (2010). Quantitative magnetization transfer and myelin water imaging of the evolution of acute multiple sclerosis lesions. Magnetic resonance in medicine, 63(3), 633-640.

Leroy-Willig, A., Willig, T. N., Henry-Feugeas, M. C., Frouin, V., Marinier, E., Boulier, A., ... & Syrota, A. (1997). Body composition determined with MR in patients with Duchenne muscular dystrophy, spinal muscular atrophy, and normal subjects. *Magnetic resonance imaging*, *15*(7), 737-744.

Li, K., Dortch, R. D., Welch, E. B., Bryant, N. D., Buck, A. K., Towse, T. F., ... & Park, J. H. (2014). Multiparametric MRI characterization of healthy human thigh muscles at 3.0 T–relaxation, magnetization transfer, fat/water, and diffusion tensor imaging. NMR in Biomedicine, 27(9), 1070-1084.

Li, K., Dortch, R. D., Kroop, S. F., Huston, J. W., Gochberg, D. F., Park, J. H., & Damon, B. M. (2015). A rapid approach for quantitative magnetization transfer imaging in thigh muscles using the pulsed saturation method. *Magnetic Resonance Imaging*, 33(6), 709-717.

Liu, L., Dong, W., Ji, X., Chen, L., Chen, L., He, W., & Jia, J. (2006). A new method of noninvasive brainedema monitoring in stroke: cerebral electrical impedance measurement. *Neurological research*, 28(1), 31-37.

Liu, C., Li, W., Tong, K. A., Yeom, K. W., & Kuzminski, S. (2015). Susceptibility-weighted imaging and quantitative susceptibility mapping in the brain. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 42(1), 23-41.

Longo, R., Pollesello, P., Ricci, C., Masutti, F., Kvam, B. J., Bercich, L., ... & Tiribelli, C. (1995). Proton MR spectroscopy in quantitative in vivo determination of fat content in human liver steatosis. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 5(3), 281-285.

Lux, H. D., Heinemann, U., & Dietzel, I. (1986). Ionic changes and alterations in the size of the extracellular space during epileptic activity. *Advances in neurology*, 44, 619-639.

Ma, J. (2008). Dixon techniques for water and fat imaging. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 28(3), 543-558.

Maillard, S. M., Jones, R., Owens, C., Pilkington, C., Woo, P., Wedderburn, L. R., & Murray, K. J. (2004). Quantitative assessment of MRI T2 relaxation time of thigh muscles in juvenile dermatomyositis. *Rheumatology*, *43*(5), 603-608.

Martins-Bach, A. B., Malheiros, J., Matot, B., Martins, P. C., Almeida, C. F., Caldeira, W., ... & Carlier, P. G. (2015). Quantitative T2 combined with texture analysis of nuclear magnetic resonance images identify different degrees of muscle involvement in three mouse models of muscle dystrophy: mdx, Largemyd and mdx/Largemyd. *PloS one*, *10*(2), e0117835.

Marty, B., Vignaud, A., Greiser, A., Robert, B., de Sousa, P. L., & Carlier, P. G. (2015). BLOCH equationsbased reconstruction of myocardium t1 maps from modified look-locker inversion recovery sequence. *PloS one*, *10*(5), e0126766.

Marty, B., Baudin, P. Y., Reyngoudt, H., Azzabou, N., Araujo, E. C., Carlier, P. G., & Sousa, P. L. (2016). Simultaneous muscle water T2 and fat fraction mapping using transverse relaxometry with stimulated echo compensation. *NMR in biomedicine*, 29(4), 431-443.

Mathur, S., Vohra, R. S., Germain, S. A., Forbes, S., Bryant, N. D., Vandenborne, K., & Walter, G. A. (2011). Changes in muscle T2 and tissue damage after downhill running in mdx mice. *Muscle & nerve*, *43*(6), 878-886.

Mattei, J. P., Fur, Y. L., Cuge, N., Guis, S., Cozzone, P. J., & Bendahan, D. (2006). Segmentation of fascias, fat and muscle from magnetic resonance images in humans: the DISPIMAG software. *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine*, 19(5), 275-279.

McCullough, M. B., Domire, Z. J., Reed, A. M., Amin, S., Ytterberg, S. R., Chen, Q., & An, K. N. (2011). Evaluation of muscles affected by myositis using magnetic resonance elastography. Muscle & nerve, 43(4), 585-590.

McIntosh, L. M., Baker, R. E., & Anderson, J. E. (1998). Magnetic resonance imaging of regenerating and dystrophic mouse muscle. *Biochemistry and Cell Biology*, 76(2-3), 532-541.

Mercuri, E., Pichiecchio, A., Counsell, S., Allsop, J., Cini, C., Jungbluth, H., ... & Bydder, G. (2002). A short protocol for muscle MRI in children with muscular dystrophies. *European Journal of Paediatric Neurology*, *6*(6), 305-307.

Morrow, J. M., Sinclair, C. D., Fischmann, A., Reilly, M. M., Hanna, M. G., Yousry, T. A., & Thornton, J. S. (2014). Reproducibility, and age, body-weight and gender dependency of candidate skeletal muscle MRI outcome measures in healthy volunteers. *European radiology*, 24(7), 1610-1620.

Morrow, J. M., Sinclair, C. D., Fischmann, A., Machado, P. M., Reilly, M. M., Yousry, T. A., ... & Hanna, M. G. (2016). MRI biomarker assessment of neuromuscular disease progression: a prospective observational cohort study. *The Lancet Neurology*, 15(1), 65-77.

Nehrke, K. (2009). On the steady-state properties of actual flip angle imaging (AFI). Magnetic resonance in medicine, 61(1), 84-92.

Oh, T. I., Kim, H. B., Jeong, W. C., Sajib, S. Z., Kyung, E. J., Kim, H. J., ... & Woo, E. J. (2015). Sub-millimeter resolution electrical conductivity images of brain tissues using magnetic resonance-based electrical impedance tomography. *Applied Physics Letters*, 107(2), 023701.

Opitz, A., Windhoff, M., Heidemann, R. M., Turner, R., & Thielscher, A. (2011). How the brain tissue shapes the electric field induced by transcranial magnetic stimulation. *Neuroimage*, 58(3), 849-859.

Ou, X., Sun, S. W., Liang, H. F., Song, S. K., & Gochberg, D. F. (2009). The MT pool size ratio and the DTI radial diffusivity may reflect the myelination in shiverer and control mice. NMR in biomedicine, 22(5), 480-487.

Pacak, C. A., Walter, G. A., Gaidosh, G., Bryant, N., Lewis, M. A., Germain, S., ... & Byrne, B. J. (2007). Long-term skeletal muscle protection after gene transfer in a mouse model of LGMD-2D. *Molecular Therapy*, *15*(10), 1775-1781.

Park, J. H., Vansant, J. P., Kumar, N. G., Gibbs, S. J., Curvin, M. S., Price, R. R., ... & James Jr, A. E. (1990). Dermatomyositis: correlative MR imaging and P-31 MR spectroscopy for quantitative characterization of inflammatory disease. *Radiology*, *177*(2), 473-479.

Park, J., Wicki, J., Knoblaugh, S. E., Chamberlain, J. S., & Lee, D. (2015). Multi-parametric MRI at 14T for muscular dystrophy mice treated with AAV vector-mediated gene therapy. *PloS one*, *10*(4), e0124914.

Parker, D. L., Payne, A., Todd, N., & Hadley, J. R. (2014). Phase reconstruction from multiple coil data using a virtual reference coil. *Magnetic Resonance in Medicine*, 72(2), 563-569.

Pichiecchio, A., Uggetti, C., Egitto, M., Berardinelli, A., Orcesi, S., Gorni, K., ... & Tagliabue, A. (2002). Quantitative MR evaluation of body composition in patients with Duchenne muscular dystrophy. *European radiology*, *12*(11), 2704-2709.

Pratt, S. J., Xu, S., Mullins, R. J., & Lovering, R. M. (2013). Temporal changes in magnetic resonance imaging in the mdx mouse. *BMC research notes*, *6*(1), 262.

Preibisch, C., & Deichmann, R. (2009). Influence of RF spoiling on the stability and accuracy of T1 mapping based on spoiled FLASH with varying flip angles. Magnetic resonance in medicine, 61(1), 125-135.

Ringleb, S. I., Bensamoun, S. F., Chen, Q., Manduca, A., An, K. N., & Ehman, R. L. (2007). Applications of magnetic resonance elastography to healthy and pathologic skeletal muscle. Journal of Magnetic Resonance Imaging, 25(2), 301-309.

Robinson, S. D., Bredies, K., Khabipova, D., Dymerska, B., Marques, J. P., & Schweser, F. (2017). An illustrated comparison of processing methods for MR phase imaging and QSM: combining array coil signals and phase unwrapping. NMR in Biomedicine, 30(4).

Robson, M. D., Gatehouse, P. D., Bydder, M., & Bydder, G. M. (2003). Magnetic resonance: an introduction to ultrashort TE (UTE) imaging. Journal of computer assisted tomography, 27(6), 825-846.

Robson, M. D., & Bydder, G. M. (2006). Clinical ultrashort echo time imaging of bone and other connective tissues. NMR in Biomedicine, 19(7), 765-780.

Rooney, W. D., Pollaro, J., Forbes, S. C., Wang, D. J., Vandenborne, K., & Walter, G. A. (2011). Application of the extended phase graph technique to improve T2 quantitation across sites. In *Proc Intl Soc Mag Reson Med* (Vol. 19, p. 138).

Sanchez, B., & Rutkove, S. B. (2016). Electrical impedance myography and its applications in neuromuscular disorders. Neurotherapeutics, 1-12.

Santini, F., Bieri, O., & Scheffler, K. (2008). Flow compensation in non-balanced SSFP. In *Proceedings of the 16th Annual Meeting of ISMRM*, Toronto, Canada (p. 3124).

Santini, F., Ganter, C., Ehses, P., Scheffler, K., & Bieri, O. (2015). A Generic Referenceless Phase Combination (GRPC) Method: Application at High and Ultra-High Fields. In 23rd Annual Meeting and Exhibition of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM 2015), Toronto, Canada.

Santini, F., Santin, M., de Sousa, PL and Bieri O. (2016) "Combination (GRPC) for accurate phase image reconstruction from multiple receiver coils," in 24th ISMRM Annual Meeting and Exhibition of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM 2016), Singapore.

Schaefer, M., Gross, W., Ackemann, J., & Gebhard, M. M. (2002). The complex dielectric spectrum of heart tissue during ischemia. *Bioelectrochemistry*, 58(2), 171-180.

Schmidt, C., Wagner, S., Burger, M., van Rienen, U., & Wolters, C. H. (2015). Impact of uncertain head tissue conductivity in the optimization of transcranial direct current stimulation for an auditory target. Journal of neural engineering, 12(4), 046028.

Schmitt, P., Griswold, M. A., Jakob, P. M., Kotas, M., Gulani, V., Flentje, M., & Haase, A. (2004). Inversion recovery TrueFISP: quantification of T1, T2, and spin density. *Magnetic Resonance in Medicine*, 51(4), 661-667.

Schwenzer, N. F., Martirosian, P., Machann, J., Schraml, C., Steidle, G., Claussen, C. D., & Schick, F. (2009). Aging effects on human calf muscle properties assessed by MRI at 3 Tesla. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 29(6), 1346-1354.

Seo, J. K., & Woo, E. J. (2011). Magnetic resonance electrical impedance tomography (MREIT). *SIAM review*, 53(1), 40-68.

Shin, J., Kim, M. J., Lee, J., Nam, Y., Kim, M. O., Choi, N., ... & Kim, D. H. (2015). Initial study on in vivo conductivity mapping of breast cancer using MRI. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 42(2), 371-378.

Sinclair, C. D., Samson, R. S., Thomas, D. L., Weiskopf, N., Lutti, A., Thornton, J. S., & Golay, X. (2010). Quantitative magnetization transfer in in vivo healthy human skeletal muscle at 3 T. Magnetic resonance in medicine, 64(6), 1739-1748.

Sinclair, C. D. J., Morrow, J. M., Miranda, M. A., Davagnanam, I., Cowley, P. C., Mehta, H., ... & Thornton, J. S. (2012). Skeletal muscle MRI magnetisation transfer ratio reflects clinical severity in peripheral neuropathies. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 83(1), 29-32.

Siu, A. G., Ramadeen, A., Hu, X., Morikawa, L., Zhang, L., Lau, J. Y., ... & Wright, G. A. (2015). Characterization of the ultrashort-TE (UTE) MR collagen signal. *NMR in Biomedicine*, 28(10), 1236-1244.

Song, S. K., Sun, S. W., Ramsbottom, M. J., Chang, C., Russell, J., & Cross, A. H. (2002). Dysmyelination revealed through MRI as increased radial (but unchanged axial) diffusion of water. Neuroimage, 17(3), 1429-1436.

Soustelle, L., Lamy, J., de Sousa, P. L., Rousseau, F., Armspach, J-P (2017a). , "Long-T2 Suppression Based on Saturation and Diffusion in a Steady-State 3D-UTE Sequence", in 25th ISMRM meeting, Honolulu, USA, 2017, p. 4031.

Soustelle, L., de Sousa, P. L., Lamy, J., Santin, M., Rousseau, F., Armspach, J-P (2017b), "Myelin and Cortical Bone Short-T2 Quantification Using Saturation and Diffusion-Based Long-T2 Suppression in a Steady-State 3D-UTE Sequence", in 25th ISMRM meeting, Honolulu, USA, 2017, p. 4030.

Stikov, N., Perry, L. M., Mezer, A., Rykhlevskaia, E., Wandell, B. A., Pauly, J. M., & Dougherty, R. F. (2011). Bound pool fractions complement diffusion measures to describe white matter micro and macrostructure. Neuroimage, 54(2), 1112-1121.

Stüber, C., Morawski, M., Schäfer, A., Labadie, C., Wähnert, M., Leuze, C., ... & Spemann, D. (2014). Myelin and iron concentration in the human brain: a quantitative study of MRI contrast. *Neuroimage*, 93, 95-106.

Tardif-de Géry, S., Vilquin, J. T., Carlier, P., Raynaud, J. S., Wary, C., Schwartz, K., & Leroy-Willig, A. (2000). Muscular transverse relaxation time measurement by magnetic resonance imaging at 4 Tesla in normal and dystrophic dy/dy and dy2j/dy2j mice. *Neuromuscular Disorders*, *10*(7), 507-513.

Tasca, G., Pescatori, M., Monforte, M., Mirabella, M., Iannaccone, E., Frusciante, R., ... & Ricci, E. (2012). Different molecular signatures in magnetic resonance imaging-staged facioscapulohumeral muscular dystrophy muscles. *PloS one*, *7*(6), e38779.

Thibaud, J. L., Monnet, A., Bertoldi, D., Barthelemy, I., Blot, S., & Carlier, P. G. (2007). Characterization of dystrophic muscle in golden retriever muscular dystrophy dogs by nuclear magnetic resonance imaging. *Neuromuscular disorders*, *17*(7), 575-584.

Thibaud, J. L., Azzabou, N., Barthelemy, I., Fleury, S., Cabrol, L., Blot, S., & Carlier, P. G. (2012). Comprehensive longitudinal characterization of canine muscular dystrophy by serial NMR imaging of GRMD dogs. *Neuromuscular Disorders*, *22*, S85-S99.

Thielscher, A., Opitz, A., & Windhoff, M. (2011). Impact of the gyral geometry on the electric field induced by transcranial magnetic stimulation. *Neuroimage*, 54(1), 234-243.

Varma, G., Duhamel, G., de Bazelaire, C., & Alsop, D. C. (2015). Magnetization transfer from inhomogeneously broadened lines: a potential marker for myelin. Magnetic resonance in medicine, 73(2), 614-622.

Vignaud, A., Guillot, G., Araujo, E. C. A., & Carlier, P. G. (2014). GP 123. Neuromuscular Disorders, 24(9), 837.

Vohra, R., Accorsi, A., Kumar, A., Walter, G., & Girgenrath, M. (2015). Magnetic resonance imaging is sensitive to pathological amelioration in a model for laminin-deficient congenital muscular dystrophy (MDC1A). *PloS one*, *10*(9), e0138254.

Vohra, R. S., Mathur, S., Bryant, N. D., Forbes, S. C., Vandenborne, K., & Walter, G. A. (2016). Age-related T2 changes in hindlimb muscles of mdx mice. *Muscle & nerve*, 53(1), 84-90.

Voigt, T., Katscher, U., & Doessel, O. (2011). Quantitative conductivity and permittivity imaging of the human brain using electric properties tomography. *Magnetic Resonance in Medicine*, 66(2), 456-466.

Waldman, A., Rees, J. H., Brock, C. S., Robson, M. D., Gatehouse, P. D., & Bydder, G. M. (2003). MRI of the brain with ultra-short echo-time pulse sequences. *Neuroradiology*, 45(12), 887-892.

Walker, U. A. (2008). Imaging tools for the clinical assessment of idiopathic inflammatory myositis. *Current opinion in rheumatology*, 20(6), 656-661.

Walter, G., Cordier, L., Bloy, D., & Lee Sweeney, H. (2005). Noninvasive monitoring of gene correction in dystrophic muscle. *Magnetic resonance in medicine*, 54(6), 1369-1376.

Wang, K., Yu, H., Brittain, J. H., Reeder, S. B., & Du, J. (2010). k-space water-fat decomposition with T2* estimation and multifrequency fat spectrum modeling for ultrashort echo time imaging. Journal of Magnetic Resonance Imaging, 31(4), 1027-1034.

Wang, J., Fan, Z., Vandenborne, K., Walter, G., Shiloh-Malawsky, Y., An, H., ... & Styner, M. A. (2013). A computerized MRI biomarker quantification scheme for a canine model of Duchenne muscular dystrophy. *International journal of computer assisted radiology and surgery*, 8(5), 763-774.

Wang, Y., & Liu, T. (2015). Quantitative susceptibility mapping (QSM): decoding MRI data for a tissue magnetic biomarker. Magnetic resonance in medicine, 73(1), 82-101.

Wary, C., Azzabou, N., Giraudeau, C., Le Louër, J., Montus, M., Voit, T., ... & Carlier, P. (2015). Quantitative NMRI and NMRS identify augmented disease progression after loss of ambulation in forearms of boys with Duchenne muscular dystrophy. *NMR in biomedicine*, 28(9), 1150-1162.

Walker, U. A. (2008). Imaging tools for the clinical assessment of idiopathic inflammatory myositis. *Current opinion in rheumatology*, 20(6), 656-661.

Weigel, M. (2015). Extended phase graphs: dephasing, RF pulses, and echoes-pure and simple. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 41(2), 266-295.

Weiskopf, N., Mohammadi, S., Lutti, A., & Callaghan, M. F. (2015). Advances in MRI-based computational neuroanatomy: from morphometry to in-vivo histology. *Current opinion in neurology*, 28(4), 313-322.

Willcocks, R. J., Arpan, I. A., Forbes, S. C., Lott, D. J., Senesac, C. R., Senesac, E., ... & Sweeney, H. L. (2014). Longitudinal measurements of MRI-T 2 in boys with Duchenne muscular dystrophy: Effects of age and disease progression. *Neuromuscular Disorders*, 24(5), 393-401.

Wilhelm, M. J., Ong, H. H., Wehrli, S. L., Li, C., Tsai, P. H., Hackney, D. B., & Wehrli, F. W. (2012). Direct magnetic resonance detection of myelin and prospects for quantitative imaging of myelin density. *Proceedings of*

the National Academy of Sciences, 109(24), 9605-9610.

Willis, T. A., Hollingsworth, K. G., Coombs, A., Sveen, M. L., Andersen, S., Stojkovic, T., ... & Morrow, J. M. (2013). Quantitative muscle MRI as an assessment tool for monitoring disease progression in LGMD2I: a multicentre longitudinal study. *PloS one*, *8*(8), e70993.

Windhoff, M., Opitz, A., & Thielscher, A. (2013). Electric field calculations in brain stimulation based on finite elements: an optimized processing pipeline for the generation and usage of accurate individual head models. Human brain mapping, 34(4), 923-935.

Wishnia, A., Alameddine, H., de Géry, S. T., & Leroy-Willig, A. (2001). Use of magnetic resonance imaging for noninvasive characterization and follow-up of an experimental injury to normal mouse muscles. *Neuromuscular Disorders*, *11*(1), 50-55.

Wokke, B. H., Bos, C., Reijnierse, M., Rijswijk, C. S., Eggers, H., Webb, A., ... & Kan, H. E. (2013). Comparison of dixon and T1-weighted MR methods to assess the degree of fat infiltration in duchenne muscular dystrophy patients. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, *38*(3), 619-624.

Wokke, B. H., Van Den Bergen, J. C., Hooijmans, M. T., Verschuuren, J. J., Niks, E. H., & Kan, H. E. (2016). T2 relaxation times are increased in skeletal muscle of DMD but not BMD patients. *Muscle & nerve*, 53(1), 38-43.

Wren, T. A., Bluml, S., Tseng-Ong, L., & Gilsanz, V. (2008). Three-point technique of fat quantification of muscle tissue as a marker of disease progression in Duchenne muscular dystrophy: preliminary study. *American Journal of Roentgenology*, *190*(1), W8-W12.

Yao, L., & Gai, N. (2012). Fat-corrected T2 measurement as a marker of active muscle disease in inflammatory myopathy. *American Journal of Roentgenology*, *198*(5), W475-W481.

Yarnykh, V. L. (2007). Actual flip-angle imaging in the pulsed steady state: a method for rapid threedimensional mapping of the transmitted radiofrequency field. Magnetic resonance in Medicine, 57(1), 192-200.

Yarnykh, V. L. (2010). Optimal radiofrequency and gradient spoiling for improved accuracy of T1 and B1 measurements using fast steady-state techniques. Magnetic resonance in medicine, 63(6), 1610-1626.

Yarnykh, V. L. (2012). Fast macromolecular proton fraction mapping from a single off-resonance magnetization transfer measurement. Magnetic resonance in medicine, 68(1), 166-178.

Yarnykh, V. L., Bowen, J. D., Samsonov, A., Repovic, P., Mayadev, A., Qian, P., ... & Jung Henson, L. K. (2014). Fast whole-brain three-dimensional macromolecular proton fraction mapping in multiple sclerosis. Radiology, 274(1), 210-220.

Yarnykh, V. L., Tartaglione, E. V., & Ioannou, G. N. (2015). Fast macromolecular proton fraction mapping of the human liver in vivo for quantitative assessment of hepatic fibrosis. NMR in Biomedicine, 28(12), 1716-1725.

Yarnykh, V. L. (2016). Time-efficient, high-resolution, whole brain three-dimensional macromolecular proton fraction mapping. Magnetic resonance in medicine, 75(5), 2100-2106.

Yokota, T., Lu, Q. L., Partridge, T., Kobayashi, M., Nakamura, A., Takeda, S., & Hoffman, E. (2009). Efficacy of systemic morpholino exon-skipping in duchenne dystrophy dogs. *Annals of neurology*, *65*(6), 667-676.

Zhang, H., Schneider, T., Wheeler-Kingshott, C. A., & Alexander, D. C. (2012). NODDI: practical in vivo neurite orientation dispersion and density imaging of the human brain. *Neuroimage*, 61(4), 1000-1016.

Zhang, X., Liu, J., & He, B. (2014). Magnetic-resonance-based electrical properties tomography: a review. *IEEE reviews in biomedical engineering*, 7, 87-96.

Zhou, L., & Lu, H. (2010). Targeting fibrosis in Duchenne muscular dystrophy. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 69(8), 771-776.

II. CURRICULUM VITAE

Informations personnelles

Paulo LOUREIRO DE SOUSA Ingénieur de recherche, CNRS Responsable scientifique de la plate-forme IRIS (ICube) Laboratoire ICube, Université de Strasbourg/CNRS, France Date et lieu de naissance : 13/07/1966, à Campo Grande (Brésil). e-mail : ploureiro@unistra.fr

Téléphone : 03.68.85.40.76

Formation

1999, Ph.D. - Physique/RMN, Universidade de Pernambuco (UFPE), Recife (Brésil)
1995, M.Sc. - Physique Médicale, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto (Brésil)
1993, B. Sc. - Physique, Universidade de São Paulo (USP), São Carlos (Brésil)

Parcours professionnel

2011 à présent : Ingénieur de recherche, CNRS - IR1, BAP C (ICube, UMR 7357).
2007 à 2011 : Responsable méthodologie, Laboratoire de RMN, Institut de Myologie - IdM/CEA, Paris
2005 à 2007 : Chercheur associé, Centre de Biophysique Moléculaire (CBM), CNRS, Orléans
2003 à 2005 : Chercheur associé, Grupo de Espectroscopia e Imagens por RMN (UFPE), Récife (Brésil)
2001 à 2003 : Post-doctorant, Institut de Physique Biologique, Université Louis Pasteur, Strasbourg
1999 à 2001 : Post-doctorant, Laboratoire de Synthèse Organique, École Polytechnique, Palaiseau

Mots clés

IRM quantitative (IRMq), imagerie médicale, IRM musculaire, IRM du cerveau, imagerie multiparamétrique, imagerie rapide.

Activités d'encadrement

Thèses encadrées

- 2014 en cours : Lucas Soustelle, Université de Strasbourg, École doctorale : Mathématiques, Sciences de l'Information et de l'Ingénieur (MSII).
 Titre : « Imagerie de la myéline par IRM à temps d'écho ultra-court ».
 Encadrement à 80 % avec Jean-Paul Armspach et François Rousseau (Directeur et co-directeur de thèse, respectivement).
 Production scientifique : 1 publication en revue internationale (Magn. Res. Med.), 1 publication en préparation (NMR in Biomed.), 4 communications internationales avec actes (1 ISMRM 2016, 3 ISMRM 2017), 5 soumissions à l'ISMRM 2018.
 Valorisation : Un dépôt de brevet.
- 2010 2014 : Ericky Caldas de Almeida Araujo, Université Paris-Sud, École doctorale : Sciences et Technologies de L'Information des Télécommunications et des Systèmes (STITS). Thèse soutenue en mai 2014, à Paris.

Titre : « Adaptation of Proof of Concepts Into Quantitative NMR Methods: Clinical Application for the Characterization of Alterations Observed in the Skeletal Muscle Tissue in Neuromuscular Disorders ». **Encadrement :** 50 % avec Pierre Carlier, (Directeur de thèse, Lab. de RMN, IdM/CEA).

Production scientifique : 2 publications en revues internationales, 4 conférences internationales.

Suivi : Après un post-doctorat au Support Center for Advanced Neuroimaging (SCAN), Institute of Diagnostic and Interventional Neuroradiology, University Hospital, à Bern, Suisse, Ericky C. de A. Araujo est actuellement chargé de recherche à l'IdM, à Paris.

2016 – 2017 : Mathilde Roser, Thèse de médecine, Faculté de Médecine de Strasbourg. Soutenue en octobre 2017, à Strasbourg.

Titre : « *La catatonie périodique. Une étude exploratoire en IRM quantitative multiparamétrique* ». **Encadrement à 50 %** avec Jack Foucher (ICube).

Production scientifique : 3 conférences internationales, 2 publications soumises (PLoS One et European Psychiatry).

Contributions associées à des travaux de thèse

- 2010 2015 : Aurea B. Martins-Bach, Centro de Estudos do Genoma Humano, Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo (USP), Campus de São Paulo et Lab. de RMN, Institut de Myologie, Paris. Dans le cadre du projet CAPES-COFECUB.
 Titre : « Non-invasive evaluation of murine models for genetic muscle diseases ». Thèse en cotutelle avec l'Université Paris-Sud, soutenue en 2015, à São Paulo, Brésil.
 Production scientifique : 2 publications en revues internationales, 1 conférence internationale.
- 2005 2009 : Eduardo N. de Azevedo, Departamento de Física, Universidade Federal de Pernambuco, Universidade de Pernambuco (UFPE), Recife, Brésil. Dans le cadre d'une collaboration avec le Grupo de Espectroscopia e Imagens por RMN (UFPE).
 Titre : « Difusão e Transporte em Meios Porosos e Colóides. Um Estudo Através de Imagens por Ressonância Magnética Nuclear ». Thèse soutenue en 2009, à Recife, Brésil.
 Production scientifique : 1 publication en revue internationale.

- 2005 2007 : Dieudonnée Togbe, Université de Orléans et CNRS, Molecular Immunology and Embryology UMR6218, Orléans, France. Dans le cadre de mon activité comme Chercheur Associé, au Centre de Biophysique Moléculaire (CBM), CNRS, Orléans, de 2005 à 2007.
- Titre : « Récepteurs Toll (TLRs) et leurs voies de signalisation : rôles dans les réponses innée et acquise aux antigènes de la tuberculose et du paludisme (malaria) ». Thèse soutenue en novembre 2007, à Orléans.

Production scientifique : 1 publication en revue internationale.

- 2005 2007 : Patricia L. Pereira, Université de Orléans et CNRS, Molecular Immunology and Embryology UMR6218, Orleans, France. Dans le cadre de mon activité comme Chercheur Associé, au Centre de Biophysique Moléculaire (CBM), CNRS, Orléans, de 2005 à 2007. Titre : « Analyse phénotypique de modèles murins monosomique et trisomique pour la région Abcql-U2afl associée au chromosome 21 humain ». Thèse soutenue en décembre 2007, à Orléans. Production scientifique : 1 conférence internationale.
- 2002 2005 : Sandra L. de Souza, Departamento de Anatomia, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, Recife, Brésil. Dans le cadre de mon activité comme Chercheur Associé, au Grupo de Espectroscopia e Imagens por RMN (UFPE), entre 2003 et 2005. Titre : « Sistema serotoninérgico : estudo comportamental e neuroanatômico por manipulação farmacologica e nutricional em ratos neonatos ». Thèse soutenue en 2005, à Recife, Brésil. Production scientifique : 1 publication en revue internationale.
- 2000 2004 : Wilson Barros Jr., Departamento de Física, Universidade Federal de Pernambuco, Universidade de Pernambuco (UFPE), Recife, Brésil. Dans le cadre de mon activité comme Chercheur Associé, au Grupo de Espectroscopia e Imagens por RMN (UFPE), entre 2003 et 2005. Titre : « Difusão e transporte na presença de macromoléculas. Imagens e espectroscopia por RMN ». Thèse soutenue en 2004, à Recife, Brésil.

Production scientifique : 1 publication en revue internationale.

2001 - 2003 : Alain Oregioni, Institut de Physique Biologique, Université Louis Pasteur, Strasbourg. Dans le cadre de mon activité comme Post-doctorant, à l'Institut de Physique Biologique, entre 2001 et 2003.

Titre : « Résonance magnétique nucléaire du Xénon 129 polarisé pour des applications biomédicales ou dans des systèmes à faible densité de spins ». Thèse soutenue en 2002, à Strasbourg. **Production scientifique :** 1 publication en revue internationale, 1 conférence internationale.

2001 - 2003 : Laura A. Harsan, Institut de Physique Biologique, Université Louis Pasteur, Strasbourg. Dans le cadre de mon activité comme Post-doctorant, à l'Institut de Physique Biologique, entre 2001 et 2003.

Titre: « Brain myelination abnormalities and recovery assessment by diffusion tensor magnetic resonance imaging (DT-MRI) ». Thèse soutenue en mai 2006, à Strasbourg.

Production scientifique : 1 publication en revue internationale, 1 conférence internationale.

Encadrements d'ingénieurs

- **2011 à présent :** Corinne Marrer, Ingénieur d'étude de la plate-forme d'imagerie IRIS (ICube).
- Octobre 2014 à septembre 2015 : Maya Delbany, Ingénieur de Recherche pour le projet ANR Vivabrain (Simulation d'angiographies virtuelles à partir de modèles vasculaires 3D et 3D+t). Objectif du stage : mettre en place sur l'IRM 3T des séquences et protocoles d'IRM pour la mesure de flux in vitro (simulateur mécanique du flux vasculaire) et in vivo (cerveau, chez l'Homme).
Encadrements de stages

- Octobre 2017 à Mai 2018 : Laure Pedrono, Paul Perronno et Laurie Heron, stage de première année, Technologies de l'Information pour la santé, Télécom physique Strasbourg, à Strasbourg (ICube).
 Titre : " Système de monitoring de température et humidité pour IRM ".
 Co-encadrement avec J. Lamy (ICube).
- Mars 2017 à Aout 2017 : Rim Tounsi, dans le cadre de l'obtention de son diplôme national d'ingénieur en réseaux informatiques et télécommunications. Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie (INSAT), Tunis (Tunisie). Stage de 6 mois à Strasbourg (ICube).
 Titre : " *Mise en place d'un logiciel de reconstruction d'images IRM*".
 Co-encadrement avec J. Lamy (ICube).
- Mars 2017 à Septembre 2017 : Mariem Bouhaha, dans le cadre de l'obtention de son diplôme national d'ingénieur en réseaux informatiques et télécommunications. Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie (INSAT), Tunis (Tunisie). Stage de 6 mois à Strasbourg (ICube).
 Titre : " Parcellisation in vivo des aires cérébrales du cortex humain en IRM multiparamétrique".
 Co-encadrement avec S.Faisan, V.Noblet et J.Foucher (ICube).
- Décembre 2015 à Mai 2016 : Mathilde Roser, Master 2 recherche "Neuropsychologie et Neurosciences cliniques", co-organisé par les universités de Grenoble, Lyon 2 et Toulouse 3. Titre : "*Etude de la catatonie périodique en IRM quantitative multiparamétrique*". Co-encadrement avec Jack Foucher (ICube). Production scientifique : 1 conférence internationale.
- Octobre à décembre 2014 : Jeam Haroldo Oliveira Barbosa, doctorant à l'Universidade de São Paulo (USP), Campus de Ribeirão Preto. Stage de trois mois à Strasbourg (ICube). Dans le cadre d'une collaboration avec l'InBrain Lab (Ribeirão Preto Brésil).
 Objectif du stage : mettre en place sur l'IRM 7T des séquences et des protocoles d'IRM pour la mesure de la susceptibilité magnétique et l'analyse des données acquises sur l'IRM 3T.
- Mars à Août 2013: Yvan Dietrich, Master Ingénierie Biomédicale et Pharmaceutique, Parcours Imagerie Médicale, Filière Génie Biomédical, stage de 5ème année, à Strasbourg.
 Titre : « Mise en place d'une séquence IRM pour l'imagerie quantitative de la myéline sur un système Siemens Verio 3T ».
- Mai à Juillet 2009 : Jalil Agoumi, L3 Physique Université Pierre et Marie Curie (Paris VI), à Paris. Titre : « imagerie de la composition musculaire (caractérisation de l'infiltration de graisse) ».
- Mai à Juillet 2009 : Ruth Haiun, Licence de Physique appliquée aux Sciences de la Vie et de la Planète (PSVP), LP390 Imagerie biologique et médicale, Université Pierre et Marie Curie (Paris VI), à Paris. Titre : « imagerie de la composition musculaire (caractérisation de l'inflammation diffuse) ».
- Avril à Juin 2007 : Elhadji Barry, stage de 2ème année de cycle ingénieur Supélec Paris, Université d'Orléans, à Orléans.
 Titre : « Développement d'un plugin pour le logiciel ImageJ, pour le traitement des images quantitatives en IRM ».
- Avril à Juin 2006 : Lauren Savary, stage de 1ère année, Master Sciences et Technologies, Mention : Sciences du Vivant, Université d'Orléans, à Orléans.
 Titre : « Optimisation des conditions d'administration d'un agent de contraste intracellulaire : application à l'étude des structures cérébrales par IRM in vivo ».

Activités d'enseignement

- **2008 à 2010** : Université Pierre et Marie Curie (UPMC), Licence de Sciences et technologies. Mention : Physique, option LP390 : Imagerie biologique et médicale RMN : bases physiques, principes d'imagerie et de spectroscopie et quelques applications, Paris, France (6h/an).
- **2007 à 2010** : École Nationale Supérieure d'Arts et Métiers (ENSAM), Mention : BIOST du Master des Arts et Métiers ParisTech : *L'imagerie par Résonance Magnétique: Principes physiques associés*, Paris, France (6h/an).
- 2003 à 2004 : Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Departamento de Fisica, Licence en Chimie : *Fisica I*, Récife, Brésil (30h).

Participation à des jurys et à des comités de suivi de thèse

 Avril 2018 : Rapporteur, au jury de thèse de Gaël Saïb, École doctorale Electrical, optical, bio-physics and engineering (Orsay, Essonne), en partenariat avec Unité d'imagerie par IRM et de Spectroscopie (laboratoire), IRM clinique à très haut champ et spectroscopie (équipe de recherche) et l'Université Paris-Sud.

Titre : « *Application de la transmission parallèle pour l'IRM du cerveau humain à Ultra Haut Champ*» Direction de thèse : Alexis Amadon et de Laurent Le Brusquet.

 Janvier 2018 et Décembre 2016 : Membre externe du comité de suivi de thèse d'Emilie Poirion, doctorante à l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière (ICM) à Paris, École doctorale Cerveau, Comportement et Cognition – ED3C, Équipe Lubetzki-Stankoff, Mécanismes de myélinisation et remyélinisation du système nerveux central.

Titre : « Bases physiopathologiques de la neurodégénérescence corticale au cours de la Sclérose En Plaques combinant la tomographie par émission de positrons et l'IRM à très haut champ ». Directeur de thèse : Bruno Stankof.

 Novembre 2017 : Membre externe du comité de suivi de thèse de Paul Soullie, doctorant à l'IADI (Imagerie Adaptative Diagnostique et Interventionnelle INSERM U947) à Nancy, Ecole Doctorale IAEM Lorraine.

Titre : « *Electrical Properties Tomograpy : Induction in MR* ». Directeurs de thèse : Jacques Felblinger et Freddy Odille.

 Mars 2017 : Examinateur externe, au jury de thèse de Alexandre Fortin, Ecole doctorale Sciences, technologies, santé (Reims, Marne), en partenariat avec (LMR) Laboratoire de Mathématiques de Reims (laboratoire) et de Equipe Modélisation stochastique et numérique - LMR (équipe de recherche), à Reims.

Titre : « *Simulation d'expériences d'angiographie cérébrale par résonance magnétique* » Direction de thèse : Stéphanie Salmon et Emmanuel Durand.

Décembre 2015 : Examinateur externe, au jury de thèse de Takoua Kaaouana, Université Pierre et Marie Curie, à Paris.
 Titre : « Detection and characterization of carabral microblands: Application in clinical imaging

Titre : « *Detection and characterization of cerebral microbleeds: Application in clinical imaging sequences on large populations of subjects* «. Directeur de thèse : Didier Dormont.

• Décembre 2015 : Examinateur externe, au jury de thèse de Khaoula Bouaziz-Verdier, Université Paris-Saclay, à Orsay.

Titre : « Caractérisation de l'os cortical par IRM-UTE ». Directeur de thèse : Geneviève Guillot.

• Mai 2014 : Membre externe du comité de suivi de thèse de Nadège Corbin, Ecole Doctorale MSII, Université de Strasbourg, à Strasbourg. **Titre :** « *L'élastographie par Résonance Magnétique (ERM) dédiée à la planification et au suivi des ablations thermiques* «. Directeur de thèse : Michel de Mathelin.

Décembre 2013 : Membre externe du comité de suivi de thèse de Takoua Kaaouana, Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, à Paris.
 Titre : « Analyse et segmentation automatique des micro-saignements cérébraux : application à des études cliniques multicentriques «. Directeur de thèse : Didier Dormont.

Participation à des projets de recherche financés

- 2018 à 2020 : Projet «MARKKISE : BioMARKer of periodic catatonia (K) using imaging (I), and SEns cam.» (API ICube). Dans le cadre d'une collaboration avec le CEMNIS. Ce projet a pour objet la recherche de nouveaux biomarqueurs susceptibles de différencier les anomalies quantitatives en lien avec la prise de traitements neuroleptiques et celles qui seraient spécifiques de la désorganisation de la catatonie périodique. Coordinateur du projet : J. Foucher (montant 10 k€).
- 2017 à 2019 : Projet FLI WP4 «Développement de méthodes d'IRM quantitative innovantes». Projet de collaboration entre NeuroSpin (Saclay), ICM-CENIR (Paris), CRMBM (Marseille), IR4M (Orsay) et ICube (Strasbourg). Ce projet est à mi-chemin entre une action exploratoire sur des méthodes innovantes d'IRM quantitative et une mise en réseau d'équipes avancées complémentaires en méthodologie IRM pour permettre une dissémination rapide de ces méthodes et leur évaluation comme biomarqueurs potentiels. Coordinateur du projet : J. Lamy (ICube).
- 2015 à 2017 : Projet FLI WP2 «Développement conjoint de méthodes rapides d'IRM quantitatives multiparamétriques à haut et très haut champs (3T et 7T) ». Projet de collaboration entre NeuroSpin (Saclay) et ICube. Ce projet a pour objet le développement et l'évaluation des méthodes rapides d'IRM multiparamétrique à haut et très haut champs (3T et 7T). Coordinateur du projet : P. L. de Sousa (montant 20 k€).
- **2015 à 2016 :** Projet « Développement de méthodes d'IRM quantitatives innovantes », FLI WP2. FLI WP2. Projet de collaboration entre le CRMBM (Marseille), NeuroSpin (Saclay), CENIR (Paris) IR4M (Orsay) et ICube. Ce projet a pour objet le développement et l'évaluation des nouvelles méthodes d'IRM multiparamétrique. Coordinateur du projet : L. de Rochefort.
- 2014 à 2016 : Projet « MorphoMouse » (API ICube). Dans le cadre d'une collaboration avec l'IGBMC (Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire) et l'ICS (Institut Clinique de la Souris). Ce projet a pour objet mettre en place des protocoles d'acquisition IRM (sur le 7T petit animal Bruker) et des chaînes d'analyse automatique d'images permettant d'effectuer de la morphométrie cérébrale chez la souris. Porteurs du projet : P. L. de Sousa et V. Noblet (montant 10 k€).
- **2013 à 2016 :** Projet « Vivabrain » (ANR Modèles numériques, 20%). Simulation d'angiographies virtuelles à partir de modèles vasculaires 3D et 3D+t. Porteur du projet : N. Passat.
- 2011 à 2014 : Projet «Application de la Résonance Magnétique Nucléaire à l'étude des dystrophies musculaires» (CAPES-COFECUB : Programme binational France-Brésil). Ce projet a eu pour objectif principal l'établissement d'une collaboration scientifique entre le laboratoire Centro de Estudos do Genoma Humano (CEGH), Universidade de São Paulo, au Brésil, et le laboratoire de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN-IdM/CEA/UPMC) de l'Institut de Myologie, en France. Porteurs du projet: M. Vainzof et P.G. Carlier.

Expertise

- Relecteur pour des journaux internationaux : Scientific reports, Plos ONE, NMR in Biomedicine, JMRI, Sensors, Spectrochimica Acta.
- Relecteur pour des conférences internationales : ISMRM.
- Évaluateur pour l'INRIA : candidatures postes d'accueil.
- Évaluateur pour la Fondation ARSEP : Appel d'offres annuel.
- Évaluateur pour le Ministère des Affaires Étrangères français : Fonds France Berkeley.

Brevets

• Demande de brevet européen No. 17305421.4 – 1568 (7 avril 2017). Déposants : Université de Strasbourg et CNRS. Co-inventeurs : L. Soustelle, J. Lamy et P.L. de Sousa.

Missions internationales (Groupes de travail)

- **Depuis 2016 :** Membre Electro-Magnetic Tissue Properties Study Group, coordonné par l'International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM);
- **Depuis 2014**: Membre du White Matter Study Group, coordonné par l'International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM);
- **2013 à 2017**: Membre du Management Committee du programme COST European Cooperation in the field of Scientific and Technical Research Action BM1304, Applications of MR imaging and spectroscopy techniques in neuromuscular disease: collaboration on outcome measures and pattern recognition for diagnostics and therapy development;
- **2008 à 2011:** Expert au réseau européen TreatNMD (Translational Research in Europe for the Assessment and Treatment of Neuromuscular Disease), Workpackage 9 (Outcome measures).

Organisation de réunions scientifiques

- **2019** : Président du comité local d'organisation du congrès de la Société Française de Résonance Magnétique en Biologie et Médecine (SFRMBM) en mai 2019, à Strasbourg.
- **2015**: Organisation du Workshop franco-suisse "*MRI and the early diagnosis of neurological diseases*". Dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe d'Oliver Bieri (Div. Radiological Physics, University Hospital Basel, Bâle, Suisse). En 9 mars 2015, à Strasbourg.
- **2013** : Membre du comité d'organisation du Workshop France Life Imaging (FLI), WP2 : "Interventional Imaging & WP4 : Instrumentation". Du 20 au 22 novembre 2013, à Strasbourg.
- **2009** : Participation à l'organisation du *"Muscle NMRI workshop"*. En 30 septembre 2009, à l'Institut de Myologie, Paris.

Prix et distinctions

- 2016: 1er Prix Poster Biologie Psychopathologie Recherche pour le travail « P028 La catatonie périodique, une atteinte de l'aire motrice cingulaire antérieure ? » auteurs: M.M. Roser, O. Mainberger, F. Berna, D. Gounot, J.Lamy, <u>P.L. de Sousa</u>, J.R. Foucher, présenté au Congrès Français de Psychiatrie 8ème édition, qui s'est déroulé à Montpellier, du 23 au 26 novembre 2016.
- **2016** : Page de couverture du journal NMR in Biomedicine, vol. 29, no. 4.
- 2015 : Summa cum laude (plus grande distinction) et le prix du 3^{ème} meilleur travail présenté au Musculoskeletal Study Group pour "Simultaneous Muscle Water T2 and Fat Fraction Mapping using Transverse Relaxometry with Stimulated Echo Compensation", ISMRM 23rd Annual Meeting and Exhibition 2015 (International Society for Magnetic Resonance in Medicine). À Toronto du 30 mai au 5 juin 2015. Travail réalisé en collaboration avec l'équipe de Pierre Carlier (Institut de Myologie-CEA, à Paris).

Publications de l'auteur

Travaux publiés

- [P1] J. Foucher, O. Mainberger, J. Lamy, M. Santin, A. Vignaud, M. Roser and <u>P. L. de Sousa</u>, "Multiparametric quantitative MRI reveals three different white matter subtypes," PLoS One (2018) (accepted).
- [P2] J. Foucher, Y. F. Zhang, M. Roser, J. Lamy, <u>P. L. de Sousa</u>, S. Weibel, P. Vidailhet, O. Mainberger, F. Berna, "A Double Dissociation Between Two Psychotic Phenotypes: Periodic Catatonia and Cataphasia", Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry (2018) (accepted).
- [P3] L. Soustelle, J. Lamy, F. Rousseau, J-P. Armspach, <u>P. L. de Sousa</u>, "A diffusion-based method for long-T2 suppression in steady state sequences: Validation and application for 3D-UTE imaging", Magnetic Resonance in Medicine (*in press*) DOI:10.1002/mrm.27057 (2017)
- [P4] D. Roquet., V. Noblet, P. Anthony, N. Philippi, C. Demuynck, B. Cretin, C. Martin-Hunyadi, <u>P. L. de Sousa</u>, F. Blanc, "Insular atrophy at the prodromal stage of dementia with Lewy bodies: a VBM DARTEL study". Scientific Reports, 7(1), 9437, (2017).
- [P5] M. D. Santin, M. Didier, R. Valabrègue, L. Yahia Cherif, D. García-Lorenzo, <u>P. L. de Sousa</u>, E. Bardinet, and S. Lehéricy, "Reproducibility of R2* and quantitative susceptibility mapping (QSM) reconstruction methods in the basal ganglia of healthy subjects," NMR in Biomedicine, vol. 30, no. 4, (2017).
- [P6] F. Blanc, S. Colloby, B. Cretin, <u>P. L. de Sousa</u>, C. Demuynck, J.T. O'Brien, C. Martin-Hunyadi, I. McKeith I., N. Philippi, J-P. Taylor, "Grey matter atrophy in prodromal stage of dementia with Lewy bodies and Alzheimer's disease", Alzheimer's Research & Therapy, vol. 8, no 1, p. 31, (2016).
- [P7] P. G. Carlier, B. Marty, O. Scheidegger, <u>P. L. de Sousa</u>, P.-Y. Baudin, E. Snezhko, and D. Vlodavets, "Skeletal Muscle Quantitative Nuclear Magnetic Resonance Imaging and Spectroscopy as an Outcome Measure for Clinical Trials," J. Neuromuscul. Dis., vol. 3, no. 1, pp. 1–28, (2016).
- [P8] B. Marty, P. Y. Baudin, H. Reyngoudt, N. Azzabou, E. C. A. Araújo, P. G. Carlier, and <u>P. L. de Sousa</u>, "Simultaneous muscle water T2 and fat fraction mapping using transverse relaxometry with stimulated echo compensation," NMR in Biomedicine, vol. 29, no. 4, pp. 431–443, (2016).
- [P9] A. Sour, S. Jenni, A. Ortí-Suárez, J. Schmitt, V. Heitz, F. Bolze, <u>P. L. de Sousa</u>, C. Po, C. S. Bonnet, A. Pallier, É. Tóth, and B. Ventura, *"Four Gadolinium(III) Complexes Appended to a Porphyrin: A Water-Soluble Molecular Theranostic Agent with Remarkable Relaxivity Suited for MRI Tracking of the Photosensitizer"*, Inorg. Chem., vol. 55, no. 9, pp. 4545–4554, May 2016.
- [P10] N. Azzabou, <u>P. L. de Sousa</u>, E. Caldas, and P. G. Carlier, "Validation of a generic approach to muscle water T2 determination at 3T in fat-infiltrated skeletal muscle," J. Magn. Reson. Imaging, vol. 41, no. 3, pp. 645–653, Mar. 2015.
- [P11] P. G. Carlier, N. Azzabou, <u>P. L. de Sousa</u>, A. Hicks, J. M. Boisserie, A. Amadon, R. Y. Carlier, C. Wary, D. Orlikowski, and P. Laforêt, *"Skeletal muscle quantitative nuclear magnetic resonance imaging follow-up of adult Pompe patients,"* J. Inherit. Metab. Dis., vol. 38, no. 3, pp. 565–572, May 2015.
- [P12] A. B. Martins-Bach, J. Malheiros, B. Matot, P. C. M. Martins, C. F. Almeida, W. Caldeira, A. F. Ribeiro, P. L. de Sousa, N. Azzabou, A. Tannús, P. G. Carlier, and M. Vainzof, "Quantitative T2 combined with texture analysis of nuclear magnetic resonance images identify different degrees of muscle involvement in three mouse models of muscle dystrophy: mdx, Large^{myd} and mdx/Large^{myd}," PLoS One, vol. 10, no. 2, p. e0117835, 2015.
- [P13] B. Marty, A. Vignaud, A. Greiser, B. Robert, <u>P. L. de Sousa</u>, and P. G. Carlier, "Bloch equations-based reconstruction of myocardium T1 maps from modified look- locker inversion recovery sequence," PLoS One, vol. 10, no. 5, p. e0126766, May 2015.

- [P14] T. A. Willis, K. G. Hollingsworth, A. Coombs, M.-L. Sveen, S. Andersen, T. Stojkovic, M. Eagle, A. Mayhew, <u>P. L. de Sousa</u>, L. Dewar, J. M. Morrow, C. D. J. Sinclair, J. S. Thornton, K. Bushby, H. Lochmuller, M. G. Hanna, J.-Y. Hogrel, P. G. Carlier, J. Vissing, and V. Straub, "Quantitative magnetic resonance imaging in limb-girdle muscular dystrophy 21: a multinational cross-sectional study.," PLoS One, vol. 9, no. 2, p. e90377, Feb. 2014.
- [P15] P. C. M. Martins, D. Ayub-Guerrieri, A. B. Martins-Bach, P. Onofre-Oliveira, J. M. Malheiros, A. Tannus, <u>P. L. de Sousa</u>, P. G. Carlier, and M. Vainzof, "Dmd^{mdx}/Large^{myd}: a new mouse model of neuromuscular diseases useful for studying physiopathological mechanisms and testing therapies," Dis. Model. Mech., vol. 6, no. 5, pp. 1167–1174, Sep. 2013.
- [P16] T. A. Willis, K. G. Hollingsworth, A. Coombs, M. L. Sveen, S. Andersen, T. Stojkovic, M. Eagle, A. Mayhew, <u>P. L. de Sousa</u>, L. Dewar, J. M. Morrow, C. D. J. Sinclair, J. S. Thornton, K. Bushby, H. Lochmüller, M. G. Hanna, J. Y. Hogrel, P. G. Carlier, J. Vissing, and V. Straub, "Quantitative Muscle MRI as an Assessment Tool for Monitoring Disease Progression in LGMD21: A Multicentre Longitudinal Study," PLoS One, vol. 8, no. 8, p. e70993, Aug. 2013.
- [P17] <u>P. L. de Sousa</u>, A. Vignaud, E. C. A. Araújo, and P. G. Carlier, "Factors controlling T2 mapping from partially spoiled SSFP sequence: Optimization for skeletal muscle characterization," Magn. Reson. Med., vol. 67, no. 5, pp. 1379–1390, May 2012.
- [P18] K. G. Hollingsworth, <u>P. L. de Sousa</u>, V. Straub and P. G. Carlier, "Towards harmonization of protocols for MRI outcome measures in skeletal muscle studies: Consensus recommendations from two TREAT-NMD NMR workshops, 2 May 2010, Stockholm, Sweden, 1–2 October 2009, Paris, France," Neuromuscul. Disord., vol. 22, pp. S54–S67, 2012.
- [P19] <u>P. L. de Sousa</u>, A. Vignaud, S. Fleury, and P. G. Carlier, "Fast monitoring of T(1), T(2), and relative proton density (M(0)) changes in skeletal muscles using an IR-TrueFISP sequence.," J. Magn. Reson. Imaging, vol. 33, no. 4, pp. 921–30, Apr. 2011.
- [P20] D. Bertoldi, <u>P. L. de Sousa</u>, Y. Fromes, C. Wary, and P. G. Carlier, "Quantitative, dynamic and noninvasive determination of skeletal muscle perfusion in mouse leg by NMR arterial spin-labeled imaging.," Magn. Reson. Imaging, vol. 26, no. 9, pp. 1259–65, Nov. 2008.
- [P21] P. L. de Sousa, J. B. Livramento, L. Helm, A. E. Merbach, W. Même, B.-T. Doan, J.-C. Beloeil, M. I. M. Prata, A. C. Santos, C. F. G. C. Geraldes, and E. Tóth, "In vivo MRI assessment of a novel GdIII-based contrast agent designed for high magnetic field applications.," Contrast Media Mol. Imaging, vol. 3, no. 2, pp. 78–85, 2008.
- [P22] D. Togbe, <u>P. L. de Sousa</u>, M. Fauconnier, V. Boissay, L. Fick, S. Scheu, K. Pfeffer, R. Menard, G. E. Grau, B.-T. Doan, J. C. Beloeil, L. Renia, A. M. Hansen, H. J. Ball, N. H. Hunt, B. Ryffel, and V. F. J. Quesniaux, "Both functional LTbeta receptor and TNF receptor 2 are required for the development of experimental cerebral malaria.," PLoS One, vol. 3, no. 7, p. e2608, Jan. 2008.
- [P23] <u>P. L. de Sousa</u>, S. L. de Souza, A. C. Silva, R. E. de Souza, and R. M. de Castro, "Manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI) of rat brain after systemic administration of MnCl2: changes in T1 relaxation times during postnatal development.," J. Magn. Reson. Imaging, vol. 25, no. 1, pp. 32–8, Jan. 2007.
- [P24] E. de Azevedo, <u>P. L. de Sousa</u>, R. de Souza, M. Engelsberg, M. De Miranda, and M. Silva, "Concentration-dependent diffusivity and anomalous diffusion: A magnetic resonance imaging study of water ingress in porous zeolite," Phys. Rev. E, vol. 73, no. 1, p. 011204, Jan. 2006.
- [P25] L. A. Harsan, P. Poulet, B. Guignard, J. Steibel, N. Parizel, <u>P. L. de Sousa</u>, N. Boehm, D. Grucker, and M. S. Ghandour, "Brain dysmyelination and recovery assessment by noninvasive in vivo diffusion tensor magnetic resonance imaging," J. Neurosci. Res., vol. 83, no. 3, pp. 392–402, Feb. 2006.
- [P26] <u>P. L. de Sousa</u>, D. Gounot, and D. Grucker, "Observation of diffraction-like effects in Multiple Spin Echoe (MSE) experiments in structured samples," Comptes Rendus Chim., vol. 7, no. 3–4, pp. 311–319, Mar. 2004.

- [P27] W. Barros, <u>P. L. de Sousa</u>, and M. Engelsberg, *"Low field intermolecular double-quantum coherence imaging via the Overhauser effect,"* J. Magn. Reson., vol. 165, no. 1, pp. 175–179, Nov. 2003.
- [P28] <u>P. L. de Sousa</u>, D. Gounot, and D. Grucker, "Flow effects in long-range dipolar field MRI," J. Magn. Reson., vol. 162, no. 2, pp. 356–363, Jun. 2003.
- [P29] A. Oregioni, N. Parizel, <u>P. L. de Sousa</u>, and D. Grucker, "Fast measurement of relaxation times by steady-state free precession of 129Xe in carrier agents for hyperpolarized noble gases.," Magn. Reson. Med., vol. 49, no. 6, pp. 1028–32, Jun. 2003.
- [P30] <u>P. L. de Sousa</u>, D. Abergel, and J. Lallemand, "*Experimental time saving in NMR measurement of time dependent diffusion coefficients*," Chem. Phys. Lett., vol. 342, no. July, pp. 45–50, 2001.
- [P31] <u>P. L. de Sousa</u> and M. Engelsberg, "Monte Carlo simulations of non-Fickian water transport in a saturated porous gel.," Phys. Rev. E., vol. 60, no. 6 Pt B, pp. 7541–9, 1999.
- [P32] <u>P. L. de Sousa</u> and M. Engelsberg, and F. G. Brady Moreira, "Tensile water transport in a porous gel.," Phys. Rev. E., vol. 60, no. 2 Pt A, pp. R1174–7, 1999.
- [P33] <u>P. L. de Sousa</u>, R. E. de Souza, M. Engelsberg, and L. A. Colnago, "Mobility and free radical concentration effects in proton-electron double-resonance imaging.," J. Magn. Reson., vol. 135, no. 1, pp. 118–25, 1998.
- [P34] <u>P. L. de Sousa</u>, M. Engelsberg, M. A. Matos, and L. A. Colnago, "Measurements of water transport in a gel by overhauser Magnetic Resonance Imaging," Meas. Sci. Technol., vol. 9, no. 12, pp. 1982–1988, 1998.
- [P35] J. R. Miranda, R. B. Oliveira, <u>P. L. de Sousa</u>, F. J. Braga, and O. Baffa, "A novel biomagnetic method to study gastric antral contractions.," Phys. Med. Biol., vol. 42, no. 9, pp. 1791–1799, 1997.
- [P36] O. Baffa, R. T. Wakai, P. L. de Sousa, and R. M. Verzola, "Fetal heart rate monitoring by magnetocardiograms.," Brazilian J. Med. Biol. Res., vol. 28, no. 11–12, pp. 1333–1337, 1995.
- [P37] R. M. Verzola, O. Baffa, R. T. Wakai, and <u>P. L. de Sousa</u>, "Magnetocardiography in normal subjects and in patients with right bundle branch block.," Braz. J. Med. Biol. Res., vol. 28, no. 11–12, pp. 1327– 1331, 1995.

Communications internationales avec proceedings

Travaux présentés ou acceptés

- [C1] L. Soustelle, E. Araujo, F. Rousseau, J-P. Armspach, P. Carlier, <u>P. L. de Sousa</u>, "On the use of frequency modulated pulses in sat-UTE", in **26th ISMRM meeting**, Paris, France, 2018.
- [C2] L. Soustelle, E. Araujo, F. Rousseau, J-P. Armspach, P. Carlier, <u>P. L. de Sousa</u>, "Inversion-Recovery sat-UTE sequence for short-T2 structures positive contrast generation and quantification", in 26th ISMRM meeting, Paris, France, 2018.
- **[C3]** L. Soustelle, C. Antal, J. Lamy, F. Rousseau, J-P. Armspach, <u>P. L. de Sousa</u>, "A comparison of magnetization transfer, diffusion tensor imaging and ultrashort TE measurements in a murine model of demyelination", in **26th ISMRM meeting**, Paris, France, 2018.
- [C4] L. Soustelle, J. Lamy, F. Rousseau, J-P. Armspach, <u>P. L. de Sousa</u>, "Inversion-Recovery UTE multispoke sequence: comparison of two excitation schemes", in **26th ISMRM meeting**, Paris, France, 2018.
- [C5] L. Soustelle, P. L. de Sousa, J. Lamy, M. Santin, F. Rousseau, J-P. Armspach, "Myelin and Cortical Bone Short-T2 Quantification Using Saturation and Diffusion-Based Long-T2 Suppression in a Steady-State 3D-UTE Sequence", in 25th ISMRM meeting, Honolulu, USA, 2017, p. 4030.
- [C6] L. Soustelle, J. Lamy, <u>P. L. de Sousa</u>, F. Rousseau, J-P. Armspach, "Long-T2 Suppression Based on Saturation and Diffusion in a Steady-State 3D-UTE Sequence", in 25th ISMRM meeting, Honolulu, USA, 2017, p. 4031.
- [C7] L. Soustelle, J. Lamy, <u>P. L. de Sousa</u>, F. Rousseau, J-P. Armspach, "Inversion-Non-Recovery (InoR) Method for Long-T2 Suppression in a Steady-State 3D-UTE Sequence for Short-T2 Imaging", in 25th ISMRM meeting, Honolulu, USA, 2017, p. 4032.
- [C8] J. Foucher, Y. F. Zhang, M. Roser, J. Lamy, <u>P. L. de Sousa</u>, S. Weibel, P. Vidailhet, O. Mainberger, F. Berna, "A Double Dissociation Between Two Psychotic Phenotypes: Periodic Catatonia and Cataphasia", 6th European Conference on Schizophrenia Research, in Berlin, Germany, 14 16 September 2017.
- **[C9]** J. Foucher, M. Roser, O. Mainberger, F. Berna, D. Gounot, J. Lamy, <u>P. L. de Sousa</u>, "*Quantitative multi*parametric MRI of periodic catatonia shows increasing iron in the cingulate area", **OHBM Annual Meeting**, in Vancouver, Canada, June 25-29, 2017.
- [C10] N. Passat, S. Salmon, J. Armspach, B. Naegel, C. Prudhomme, H. Talbot, A. Fortin, S. Garnotel, O. Merveille, O. Miraucourt, R. Tarabay, V. Chabannes, A. Dufour, A. Jezierska, O. Balédent, E. Durand, L. Najman, M. Szopos, A. Ancel, J. Baruthio, M. Delbany, S. Fall, G. Pagé, O. Genevaux, M. Ismail, <u>P. L. de Sousa</u>, M. Thiriet, and J. Jomier, *"From Real MRA to Virtual MRA: Towards an Open-Source Framework*," in **19th MICCAI meeting**, Athens, Greece, 2016.
- [C11] J. Foucher, D. Gounot, M. Roser, M. Santin, A Vignaud, and P. L. de Sousa, "Multi-Parametric Quantitative MRI Reveals Two Different Kinds of White Matter," in 22nd Annual Meeting of the Organization for Human Brain Mapping, Geneva, Switzerland, June 26-30 2016.
- [C12] F. Santini, M. Santin, <u>P. L. de Sousa</u>, and O. Bieri, *"Combination (GRPC) for accurate phase image reconstruction from multiple receiver coils,"* in 24th ISMRM meeting, Singapore, 2016, p. 1808.
- [C13] L. Soustelle, <u>P. L. de Sousa</u>, S. Koehler, C. Po, F. Rousseau, J. Armspach, "Minimum-Time VERSE Pulse Correction for Slice Selectivity Improvement in 2D-UTE Imaging," in 24th ISMRM meeting, Singapore, 2016, p. 1888.
- [C14] D. Gay, M. Chupin, J. Mangin, C. Poupon, H. Dary, T. Kaaouana, <u>P. L. de Sousa</u>, C. Delmaire, L. De Rochefort, J. Bonny, and A. Vignaud, "A standardised clinical multicentric whole brain T2* mapping protocol at 3T," in 24th ISMRM meeting, Singapore, 2016, p. 3305.
- [C15] A. Bouchon, V. Noblet, B. Cretin, B. Jung, N. Philippi, C. Heitz, <u>P. L. de Sousa</u>, J. Armspach, F. Heitz, and F. Blanc, "Diffusion MRI alterations in prodomal dementia with lewy bodies," in 12th International Conference on Alzheimer's and Parkinson's Diseases, 2015.

- [C16] M. Santin, M. Didier, R. Valabrègue, D. Garcia-Lorenzo, <u>P. L. de Sousa</u>, E. Bardinet, and S. Lehéricy, "Reproducibility of Different Brain Quantitative Susceptibility Mapping Techniques in Healthy Subjects," in 23th ISMRM meeting, Toronto, Canada, 2015.
- [C17] B. Marty, P. Baudin, N. Azzabou, E. Araujo, P. Carlier, P. L. de Sousa, Benjamin Marty, Pierre-Yves baudin, Noura Azzabou, Ericky C A Araujo, Pierre G Carlier, and P. de Sousa, "Simultaneous Muscle Water T2 and Fat Fraction Mapping using Transverse Relaxometry with Stimulated Echo," in 23th ISMRM meeting, Toronto, Canada, vol. 23, p. 2015, 2015.
- [C18] H. Reyngoudt, P-Y. Baudin, B. Marty, N. Azzabou, E.C. de Araujo, <u>P. L. de Sousa</u>, & P. G. Carlier, (2015).
 "Validation of a two-component EPG-model to estimate the muscle T2 water values by 1H-MRS" in 20th International Congress of The World Muscle Society, 30 septembre 4 octobre 2015, in Bringhton, UK, in Neuromuscular Disorders, 25, S272-S273, 2015.
- [C19] N. Philippi, I. Wisniewki, V. Noblet, M. Seux, B. Cretin, E. Duron, C. Martin-Hunyadi, X. de Petigny, C. Demuynck, B. Jung, S. Kremer, C. Delmaire, <u>P. L. de Sousa</u>, J. Armspach, O. Hanon, and F. Blanc, "What do we assess using memory tests? A volumetric MRI study of the FCSRT and DMS48," in The 2014 Alzheimer's Disease Congress, 2014.
- [C20] P. Carlier, P. L. de Sousa, and R. Carlier, "Quantitative NMR Imaging in Pompe Patients to Monitor the Progression of Skeletal Muscle Alterations Without and with Enzyme Substitution Therapy," in Joint ISMRM-ESMRMB meeting, Milano, Italy, 2014, p. 4011.
- [C21] P. Carlier, N. Azzabou, <u>P. L. de Sousa</u>, B. Florkin, E. Deprez, N. Romero, V. Decostre, and L. Servais, "Quantitative Skeletal Muscle NMR Imaging of Juvenile Dermatomyositis Patients," in Joint ISMRM-ESMRMB meeting, Milano, Italy, 2014, p. 1237.
- [C22] P. G. Carlier, N. Azzabou, <u>P. L. de Sousa</u>, B. Florkin, E. Deprez, N. B. Romero, S. Denis, V. Decostre, and L. Servais, "P.14.4 Diagnostic role of quantitative NMR imaging exemplified by 3 cases of juvenile dermatomyositis," 18th International Congress of The World Muscle Society, 1-5 October 2013, Asilomar, California, USA, in Neuromuscular Disorders, vol. 23, no. 9–10, p. 814, 2013.
- **[C23]** <u>P. L. de Sousa</u>, A Grigis, A Amadon, D Le Bihan, and A Vignaud, "Whole brain T2 mapping at 7T with *pSSFP and Extended Phase-Graph Data Fitting*," in **ESMRMB 2013**, Toulouse, 2013.
- [C24] A. B. Martins-Bach, J. Malheiros, P. C. Melo Machado, C. F. Almeida, B. Matot, <u>P. L. de Sousa</u>, A. Tannús, P. G. Carlier, and M. Vainzof, "*P.1.18 NMR imaging comparison of dystrophic mouse models: mdx, Large, mdx/Large,*" 18th International Congress of The World Muscle Society, 1-5 October 2013, Asilomar, California, USA, in Neuromuscular Disorders , vol. 23, no. 9–10, p. 747, 2013.
- [C25] P. G. Carlier, N. Azzabou, P. L. de Sousa, R. Y. Carlier, J. M. Boisserie, C. Wary, D. Orlikowski, and P. Laforêt, "P.17.7 Quantitative NMR imaging of lower limb musculature in type II glycogenosis patients: Preliminary analysis of a 4-year follow-up," 18th International Congress of The World Muscle Society, 1-5 October 2013, Asilomar, California, USA, in Neuromuscular Disorders, vol. 23, no. 9–10, p. 828, 2013.
- [C26] L. de Rochefort, H. Wang, P. L. de Sousa, and J.-P. Armspach, "Efficient and Automatic Harmonic Field Pre-Filtering For Brain Quantitative Susceptibility Mapping," in 21th ISMRM meeting, Salt Lake City, USA, 2013, vol. 21, 7357, p. 170.
- [C27] <u>P. L. de Sousa</u>. P.G. Carlier, N. Azzabou, "D.O.6 Quantification of inflammation, necrosis or damages by NMR imaging in fatty infiltrated muscles: A practical approach," 17th International Congress of The World Muscle Society, Perth, Australia, 2012, vol. 22, no. 9–10, p. 807, 2012.
- [C28] E. C. A. Araujo, A. V. Vignaud, <u>P. L. de Sousa</u>, and P. G. Carlier, "mISIS-CPMG: a Method for Localized Multicomponent T2 Measurement Immune to Very Short T2 Relaxation Effects," in 20th ISMRM meeting, Melbourne, Australia, 2012, p. 75013.
- [C29] P. L. de Sousa, A. Vignaud, and J. Armspach, "Simultaneous B1+ and BO Mapping Using Dual-Echo Bloch-Siegert (DEBS) Sequence," in 20th ISMRM meeting, Melbourne, Australia, 2012, p. 2505.
- [C30] N. Azzabou, P. L. de Sousa, and P. G. Carlier, "Validation of a Practical Approach to Muscle T2 Determination in Fatty-Infiltrated Skeletal Muscles," in 20th ISMRM meeting, Melbourne, Australia, 2012, p. 1430.

- [C31] N. Azzabou, P. L. de Sousa, and P. Carlier, "Evaluation of B1 Receive Non-Uniformity Correction Techniques for Quantitative Musculoskeletal NMR Imaging," in 19th ISMRM meeting, Montréal, Québec, Canada, 2011, p. 1148.
- [C32] <u>P. L. de Sousa</u>, A. Vignaud, E. Araujo, and J. Carlier, "*Partially spoiled SSFP NMR imaging : a novel* approach to fast and reliable T2 mapping of inflamed and damaged skeletal muscle," in **4th** International Congress of Myology, Lille, France, 2011, p. 103.
- [C33] N. Azzabou, P. L. de Sousa, P. Carlier, N. Azzabou, P. de Sousa, and P G Carlier, "B1 receive nonuniformity correction: specific optimization for quantitative NMR imaging of skeletal muscle," in 4th International Congress of Myology, Lille, France, 2011, p. 121.
- [C34] N. Azzabou, <u>P. L. de Sousa</u>, and P. G. Carlier, "Non-uniformity correction using cosine functions basis and total variation constraint," in 2010 7th IEEE International Symposium on Biomedical Imaging: From Nano to Macro, ISBI 2010, 2010, Rotterdam, The Netherlands, April 14-17, pp. 748–751.
- [C35] <u>P. L. de Sousa</u>, A. Vignaud, L. Cabrol, and P. G. Carlier, *"Simultaneous T1 and T2 mappings using partially Spoiled Steady State Free Precession (pSSFP),"* in ISMRM-ESMRMB Joint meeting, Stockholm, Sweden, 2010, p. 2968.
- [C36] N. Azzabou, P. L. de Sousa, and P. G. Carlier, "Non Uniformity Correction Using Cosine Functions and Total Variation Constraint in Musculoskeletal NMR Imaging," in ISMRM-ESMRMB Joint meeting, Stockholm, Sweden, 2010, p. 3098.
- [C37] <u>P. L. de Sousa</u>, A. Vignaud, S. Fleury, and P. G. Carlier, *"Rapid and Simultaneous Measurements of T1, T2 and Relative Proton Density (M0) for Dynamic Musculoskeletal Studies,"* in ISMRM-ESMRMB Joint meeting, Stockholm, Sweden, 2010, p. 4984.
- [C38] B. Doan, E. Toth, A. Almhdie, P. Lopes-Pereira, <u>P. L. de Sousa</u>, S. Meme, F. Szeremeta, C. Colombier, V. Brault, C. Leger, R. Ledee, R. Harba, Y. Herault, and J. Beloeil, "Morphological study of mouse brain models with Down syndrome using MEMRI," 17th ISMRM meeting, Hawaii, USA, 2009, p. 1283.
- [C39] P. L. de Sousa, N. Azzabou, and P. G. Carlier, "Quantitative assessment of skeletal muscle by NMR imaging: pitfalls and solutions," in Treat-NMD/NIH International Conference: Bringing down the barriers in translational medicine in inherited neuromuscular diseases, Brussels, Belgium, November 17-19, 2009, p. 68.
- [C40] <u>P. L. de Sousa, 'Quantitative imaging: (almost) ready to be implemented. T2 mapping: pitfalls and solutions', 2nd NMR TreatNMD workshop, Work Package 9.1, Skeletal Muscle NMR Imaging: Advanced Quantitative Imaging, Image Registration and Segmentation, Texture Analysis, Pattern Recognition, Imaging Registries, Paris, October 1-2, 2009.</u>
- [C41] <u>P. L. de Sousa</u>, A. Vignaud, and P. G. Carlier, "*Dynamic, multi-parameter NMR imaging quantification in human calf at rest and in conditions of reactive hyperemia*," in International Congress of Myology, Marseille, 2008, p. 464.
- [C42] D. Togbe, <u>P. L. de Sousa</u>, M. Fauconnier, V. Boissay, L. Fick, S. Scheu, K. Pfeffer, R. Menard, G. Grau, L. Renia, B. Ryffel, V. Quesniaux, B.-T. Doan, and J.-C. Beloeil, "In vivo MRI and MRA at 9.4T show how (LT) α–TNF receptor 2 or LTB receptor deficiency on mutant mice affects the development of experimental malaria," in 16th ISMRM meeting, 2008, Toronto, Canada, p. 2189.
- [C43] <u>P. L. de Sousa</u>, J. B. Livramento, W. Même, A. Merbach, L. Helm, B.-T. Doan, J.-C. Beloeil, and E. Toth, "In vivo assessment of a novel contrast agent with remarkable relaxivity at high magnetic field," in ESMRMB 2006 - 23th Annual Scientific Meeting, 2006, Warsaw, PL, September 21 - 23, 2006.
- [C44] L-H. Harsan, P. Poulet, B.Guignard, J. Steibel, N. Parizel, <u>P. L. de Sousa</u>, D. Grucker, S. Ghandour, 'Dysmyelination and remyelination study by diffusion tensor MRI in a transgenic mouse model', In: NEUREX 2004 Meeting, April 23, 2004, Freiburg, Germany.
- [C45] W. Barros, P. L. de Sousa, M. Engelsberg, 'Applications of low field Overhauser imaging', In: The 45th ENC Experimental Nuclear Magnetic Resonance Conference, April 18 – 23, 2004, Asilomar Conference Center, Pacific Grove, USA.

- **[C46]** A. Oregioni, <u>P. L. de Sousa</u>, N. Parizel, D. Grucker, '*Fast Measurement of*¹²⁹*Xe relaxation times by SSFP technic: interest for the evaluation of carrier agents for Hyperpolarized noble gases*'. In: XXXI Congress Ampere, Poznan, PL, 2002, p. 194.
- [C47] M. Engelsberg, <u>P. L. de Sousa</u>. '*Water Transport in a Porous Gel: A PEDRI Study*'. In: International Workshop of in vivo EPR and PEDRI, 1999, Aberdeen, UK, p. 27.
- [C48] <u>P. L. de Sousa</u>, R.E. de Souza, M. Engelsberg, L.A. Colnago. 'DNP-Enhanced MRI in a 16 Mili-Tesla Whole-body Imager'. In: 38th ENC Experimental Nuclear Magnetic Resonance Conference, 1997, Orlando – Florida, USA. p. 55.
- [C49] O. Baffa, R.B. Oliveira, R. Brandt, J.R. de A. Miranda, <u>P. L. de Sousa</u>, 'Mixing Power of Food in the Stomach Evaluated by a Biomagnetic Technique'. In: 9th International Conference on Biomagnetism, Vienna, Austria, 1995. p. 753-756.

III. PUBLICATIONS REPRÉSENTATIVES

- Marty, B., Baudin, P. Y., Reyngoudt, H., Azzabou, N., Araujo, E. C., Carlier, P. G., & <u>Sousa, P. L.</u> (2016). *Simultaneous muscle water T2 and fat fraction mapping using transverse relaxometry with stimulated echo compensation*. NMR in biomedicine, 29(4), 431-443.
- 2 <u>de Sousa, P. L.</u>, Vignaud, A., Caldas de Almeida Araújo, E., & Carlier, P. G. (2012). *Factors* controlling T2 mapping from partially spoiled SSFP sequence: Optimization for skeletal muscle characterization. Magnetic Resonance in Medicine, 67(5), 1379-1390.
- 3 Hollingsworth, K. G., <u>de Sousa, P. L.</u>, Straub, V., & Carlier, P. G. (2012). Towards harmonization of protocols for MRI outcome measures in skeletal muscle studies: consensus recommendations from two TREAT-NMD NMR workshops, 2 May 2010, Stockholm, Sweden, 1–2 October 2009, Paris, France. Neuromuscular Disorders, 22, S54-S67.
- 4 <u>de Sousa, P. L.</u>, Vignaud, A., Fleury, S., & Carlier, P. G. (2011). *Fast monitoring of T1, T2, and relative proton density (M0) changes in skeletal muscles using an IR-TrueFISP sequence*. Journal of Magnetic Resonance Imaging, 33(4), 921-930.

VOLUME 29 • NUMBER 4 • APRIL 2016

ISSN 0952-3480 Pages 373-528

NMR INBIOMEDICINE



>60.0

53.3

46.7

40.0

33.3

26.9

>10.0

8.3

6.7

5.0

3.3

1.7

0

WILEY

20

CI (ms)











Received: 9 March 2015,

Revised: 20 October 2015,

(wileyonlinelibrary.com) DOI: 10.1002/nbm.3459

Simultaneous muscle water T_2 and fat fraction mapping using transverse relaxometry with stimulated echo compensation

Accepted: 13 November 2015,

Benjamin Marty^{a,b}*, Pierre-Yves Baudin^c, Harmen Reyngoudt^{a,b}, Noura Azzabou^{a,b}, Ericky C. A. Araujo^{a,b}, Pierre G. Carlier^{a,b} and Paulo L. de Sousa^d

Skeletal muscle inflammation/necrosis and fat infiltration are strong indicators of disease activity and progression in many neuromuscular disorders. They can be assessed by muscle T₂ relaxometry and water-fat separation techniques, respectively. In the present work, we exploited differences between water and fat T_1 and T_2 relaxivities by applying a bi-component extended phase graph (EPG) fitting approach to simultaneously quantify the muscle water T₂ and fat fraction from standard multi-slice multi-echo (MSME) acquisitions in the presence of stimulated echoes. Experimental decay curves were adjusted to the theoretical model using either an iterative non-negative least-squares (NNLS) procedure or a pattern recognition approach. Twenty-two patients (age, 49 ± 18 years) were selected to cover a large range of muscle fat infiltration. Four cases of chronic or subchronic juvenile dermatomyositis (age, 8 ± 3 years) were investigated before and 3 months following steroid treatment. For control, five healthy volunteers (age, 25 ± 2 years) were recruited. All subjects underwent the MSME sequence and EPG fitting procedure. The EPG fitting algorithm allowed a precise estimation of water T₂ and fat fraction in diseased muscle, even in the presence of large B₁⁺ inhomogeneities. In the whole cohort of patients, there was no overall correlation between water T₂ values obtained with the proposed method and the fat fraction estimated inside muscle tissues (R² = 0.02). In the patients with dermatomyositis, there was a significant decrease in water T₂ (-4.09 ± 3.7 ms) consequent to steroid treatment. The pattern recognition approach resulted in a 20-fold decrease in processing time relative to the iterative NNLS procedure. The fat fraction derived from the EPG fitting approach correlated well with the fat fraction derived from a standard three-point Dixon method (≈1.5% bias). The bi-component EPG fitting analysis is a precise tool to monitor muscle tissue disease activity and is able to handle bias introduced by fat infiltration and B₁⁺ inhomogeneities. Copyright © 2016 John Wiley & Sons, Ltd.

Keywords: skeletal muscle; water T_2 ; fat fraction; MSME sequence; extended phase graph; fat infiltration

INTRODUCTION

Recent years have seen a growing use of nuclear MRI and MRS for the study of neuromuscular disorders. Muscle transverse relaxometry (1–3) and water-fat separation techniques (4) have proven to be efficient non-invasive methods for the assessment and monitoring of disease activity and progression, respectively. Although reflecting inflammatory infiltration, myocyte swelling, sarcoplasmic leakiness, cell necrosis or simply hydrostatic edema, and therefore being non-specific, muscle water transverse relaxation time (T_{2H_2O}) changes provide relevant information about disease activity, particularly in dystrophies and inflammatory myopathies, and about muscle physiological status (5). Fat infiltration and replacement in muscles, however, reveals the extent and severity of muscle destruction and loss in chronic conditions. The quantification of fat infiltration, as opposed to simple qualitative rating of T_1 -weighted images with Lamminen-Mercuri scoring (6,7), allows the precise measurement of the amount of remaining muscle tissues, and has already been shown to correlate with functional abilities, for example, in a cohort of patients with Duchenne muscular dystrophy (DMD) (8) and in oculopharyngeal muscular dystrophy (9). In the field of neuromuscular disorders, muscle T_{2H_2O} and fat fraction (FF) measurements have been proposed as markers of

- Correspondence to: B. Marty, NMR Laboratory, Institute of Myology, Bâtiment Babinski, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, 47–83 boulevard Vincent Auriol, 75651 Paris Cedex 13, France. E-mail: b.marty@institut-myologie.org
- a B. Marty, H. Reyngoudt, N. Azzabou, E. C. A. Araujo, P. G. Carlier Institute of Myology, NMR Laboratory, Paris, France
- b B. Marty, H. Reyngoudt, N. Azzabou, E. C. A. Araujo, P. G. Carlier CEA, DSV, I²BM, MIRCen, NMR Laboratory, Paris, France
- c P.-Y. Baudin Consultants for Research in Imaging and Spectroscopy, Tournai, Belgium
- d P. L. de Sousa Université de Strasbourg, CNRS, ICube, FMTS, Strasbourg, France

Abbreviations used: AM, adductor magnus; BF, biceps femoris; CI, confidence interval; DM, dermatomvositis; DMD, Duchenne muscular dystrophy; EPG, extended phase graph; ES, echo spacing; ETL, echo train length; FF, fat fraction; FOV, field of view; GR, gracilis; MSME, multi-slice multi-echo; MT, magnetization transfer; NNLS, non-negative least squares; PSSFP, partially spoiled steady-state free precession; RF, rectus femoris; ROI, region of interest; SA, sartorius; SC, subcutaneous; SM, semimembranosus; ST, semitendinosus; STIR, short tau inversion recovery; TH, slice thickness; $T_{2H,Or}$ longitudinal relaxation time of water; $T_{2H,Or}$ transverse relaxation time of water; T_{1fab} longitudinal relaxation time of fat; T_{2fat}, transverse relaxation time of fat; VI, vastus intermedius; VL, vastus lateralis; VM, vastus medialis: IDEAL, terative decomposition of water and fat with echo asymmetry and least-squares estimation; CPMG, Carr-Purcell-Meiboom-Gill.

disease activity and progression, and potential indicators of response to treatment (10,11).

Transverse relaxation time and FF are usually measured separately using dedicated NMR sequences. The muscle T_{2H_2O} estimation is most often derived from standard multi-slice multi-echo (MSME) acquisitions and exponential fitting of the temporal signal decay (12), whereas methods exploiting the chemical shift between water and fat protons (e.g. Dixon or iterative decomposition of water and fat with echo asymmetry and least-squares estimation (IDEAL) techniques) are the most popular approaches for FF estimation (13–15). These separate measures often lead to relatively long acquisition times, especially if the evaluation is performed on several body parts (e.g. shoulders, upper limbs, pelvis, lower limbs).

Furthermore, in practice, the MSME signal rarely displays pure spin echo decay. It is strongly sensitive to instrumental imperfections, such as non-ideal slice pulse profiles, radiofrequency (B_1^+) and static (B_0) field inhomogeneities and inefficient crushing schemes (16–20). Non-ideal 180° refocusing pulses lead to the generation of T_1 -weighted stimulated echoes that contaminate the T_2 decay curves (21) and render T_2 determination highly unreliable using simple exponential models, unless voxels with inappropriate spin nutation are rejected based on B_1^+ values in corresponding areas (22). In the context of neuromuscular disorders, the acquisition of images with fields of view (FOV) larger than 45 cm^2 is often desirable to determine patterns of muscle involvement that can be disease specific (23). This can lead to large B_1^+ inhomogeneities resulting in unreliable T_2 determination.

To tackle this limitation of multi-spin echo acquisitions, new sequences, such as T2-pSSFP (T2-partially spoiled steady-state free precession), have been proposed recently for T_2 quantification (24,25). These sequences are not based on a train of 180° refocusing pulses and, although promising, are still in the exploratory stage. Another approach is to use more sophisticated models to represent the evolution of the magnetization signal during the MSME sequence. For example, the extended phase graph (EPG) algorithm is a powerful tool to depict and understand the magnetization response of an arbitrary multi-pulse MRI sequence. EPG formalism efficiently describes the spin system in Fourier space, using a reduced number of k components corresponding to different dephasing states. It considers dephasing caused by gradient application and the effects of imperfect excitation and refocusing radiofrequency pulses. It also allows the computation of echo amplitudes under different T_1 and T_2 relaxation constraints, using only a few matrix multiplications. Recently, Lebel and Wilman (21) have proposed the modeling of the MSME signal using the EPG algorithm to take into account the stimulated echoes for precise T_2 relaxometry. Rooney et al. (26) have suggested that EPG modeling could be used to improve the agreement and accuracy of muscle T_2 mapping across multiple sites.

In addition to the B_1^+ inhomogeneity issue, quantitative relaxometry in skeletal muscle is complicated as water and fat protons display different longitudinal and transverse relaxation times. At 3 T, the longitudinal relaxation times of water (T_{1H_2O}) and fat (T_{1fat}) protons are around 1400 and 365 ms, respectively, whereas T_{2H_2O} and T_{2fat} are around 30 and 80 ms, respectively (27). Thus, in fat-infiltrated muscles, because of the longer T_{2fat} compared with T_{2H_2O} , a single-component fit of the non-fat-suppressed MSME signal results in a 'muscle' T_2 determination that primarily reflects the fat content in tissue (28–30). Consequently, possible underlying alterations in muscle T_{2H_2O} are hidden. Selective water excitation and fat suppression represent possible solutions to this issue, but are only valid for small volumes in which sufficient B_0 field homogeneity can be achieved. Approaches based on multiexponential decomposition of MSME signal decays have been introduced in several studies, modeling the muscle signal as a combination of pure fat and water signals (22,31,32). These methods provided precise T_{2H_2O} and FF values in regions with reasonable B_1 homogeneities, but did not allow the correction of stimulated echo effects when the 180° refocusing pulses were no longer ideal, contrary to the EPG fitting approach. Furthermore, Prasloski et al. (33) have already extended the EPG approach to quantify multi-component T_2 in the brain and the technique has been applied recently to measure myelin content in the preterm brain (34). In the present study, we propose to exploit the differences between water and fat T_1 and T_2 relaxivities by applying a bi-component EPG fitting to simultaneously quantify the muscle $T_{\rm 2H_{2}O}$ and FF from standard MSME acquisitions. The potential value of this methodology over more standard approaches, such as exponential fitting of MSME data, will be demonstrated in terms of accuracy and precision on T_{2H_2O} estimation. This simultaneous evaluation of T_{2H_2O} and FF could also represent a real advantage for whole-body investigations, as it is a first step towards decreasing the acquisition time in order to improve patient comfort.

MATERIALS AND METHODS

Subjects

The imaging protocol was performed in 22 patients (thirteen women aged 43 ± 20 years; nine men aged 57 ± 13 years) with a variety of neuromuscular diseases covering a large range of muscle fat infiltration/replacement (congenital myopathy, n = 5; limb girdle muscular dystrophy 2L, n = 2; Charcot–Marie–Tooth disease, n = 1; channelopathy, n = 2; inclusion body myopathy, n = 2; sarcoidosis, n = 1; necrotizing myopathy, n = 4; unknown myopathy, n = 5). Diagnoses were made based on clinical, biological, immunological, histological or imaging experiments. Four cases of chronic or subchronic juvenile dermatomyositis (DM) (three girls aged 6 ± 1 years; one boy aged 12 years), as confirmed by muscular pathology, were also investigated before and 3 months following steroid treatment. Patient scans were part of the standard procedures of care in our institute. Five healthy volunteers (two women aged 24±4 years; three men aged 25 ± 2 years) were scanned as part of a methodology protocol approved by the local ethics committee (Comité de Protection des Personnes Ile de France VI). Informed consent was obtained for all volunteers.

MRI experiments

MRI experiments were carried out on a 3-T Trio Tim system (Siemens AG Healthcare Sector, Erlangen, Germany) with an inner diameter of 60 cm and equipped with a 45-mT/m whole-body gradient system. Radiofrequency transmission was performed by the body coil, and a multi-channel phase array receiver coil (body-matrix coil) was positioned on the thighs for signal collection. The MSME sequence was performed on the thighs with the following parameters: TR = 3000 ms; nominal flip angles, 90°/180°; truncated sinc3 excitation and refocusing pulses (2.56 and 3.84 ms, respectively); refocusing width = $2.25 \times$ excitation width; a train of 17 echoes [TEs from 9.5 to 161 ms; echo spacing (ES), 9.5 ms]; FOV, 224 × 448 mm²; pixel size, 1.4 × 1.4 mm²; bandwidth, 446 Hz/pixel; 11 slices [slice thickness (TH), 10 mm; slice gap, 25 mm]; $T_{acq} = 3 \text{ min } 41 \text{ s.}$ For comparison and validation, quantitative water-fat imaging (three-point Dixon technique) was also performed using a three-dimensional gradient echo sequence with three TEs (TE1/TE2/TE3/TR = 2.75/3.95/7.55/10 ms; spatial resolution, $1 \times 1 \times 5 \text{ mm}^3$; flip angle, 3°; $T_{acq} = 1 \text{ min } 36 \text{ s}$). As reliable reproducibility in volume localization was crucial for the comparison of quantitative parameters between successive visits, special care was paid to acquire images at the same slice level. In all examinations, the stack of slices was centered at one-third of the length between the upper edge of the patella and the anterior–superior iliac spine.

Volume co-registration and regions of interest (ROIs)

For each subject, the series of multiple TE volumes and the three-dimensional gradient echo images were co-registered using an in-house MatLab (MathWorks, Natick, MA, USA) program that extracts the position of each volume and automatically computes the translation and scale factors to be applied. Ten different muscles of the thigh were identified (VL, vastus lateralis; VM, vastus medialis; VI, vastus intermedius; RF, rectus femoris; SA, sartorius; GR, gracilis; SM, semimembranosus; ST, semitendinosus; BF, biceps femoris; AM, adductor magnus) and corresponding ROIs were manually drawn on the left and right thighs of the different subjects. The ROIs delimited the interior of the muscle avoiding fasciae and large blood vessels (Fig. 1).

EPG algorithm for MSME signal modeling

In this study, images were processed using a voxel-based analysis approach. The MSME signal was modeled using the EPG algorithm, which partitions magnetization following a radiofrequency pulse application into several coherence pathways and evaluates T_1 and T_2 relaxation along each pathway to accurately compute the amplitudes of the echoes formed from the mixture of these pathways (35). The EPG algorithm was implemented in Python (http://www.python.org/), following the guidelines detailed in the review of Weigel (36), and was then set up to simulate the MSME sequence. The effects of slice profiles were considered as described in the study of Lebel and Wilman (21).

To analyze the fitting performance of this EPG approach, the global muscle T_2 value was also generated using a monoexponential fit to the signal decay in the group of healthy volunteers. Another comparison was performed with a mono-exponential fitting of the experimental data whilst discarding the first echo from the analysis. This practical method is sometimes recommended to account for the presence of stimulated echoes (22,31).

Bi-component signal modeling in fat-infiltrated muscle tissues

Assuming a bi-component model to represent fat and water protons within muscle tissue, and the prescribed sequence of refocusing flip angles ($\alpha_{1,2,...,ETL}$), a theoretical echo decay curve ($M_1, M_2, ..., M_n$) was generated, parametrized by several input parameters [echo train length (ETL), ES, water and fat longitudinal and transverse relaxation times T_{1H_2O} , T_{2H_2O} , T_{1fat} and T_{2fatr} respectively, apparent B_1 , fat proton density *f* and water proton density *w*):

$$\begin{bmatrix} M_1 \\ M_2 \\ \vdots \\ M_{ETL} \end{bmatrix} = f \times \text{EPG} \{ T_{1fat}, T_{2fat}, \text{ES}, B_1, \alpha_{1,2,\dots,ETL} \}$$
[1]
+w×EPG { $T_{1H_2O}, T_{2H_2O}, \text{ES}, B_1, \alpha_{1,2,\dots,ETL} \}$

As a first approach, the simulated model was adjusted to the experimental decay curve using an iterative non-negative least-squares (NNLS) procedure. T_{1fat} and T_{1H_2O} were fixed to 365 and 1400 ms, respectively, corresponding to reference values found in the literature (27). Sequence parameters (ES, ETL, $\alpha_{1,2,...ETL}$) were set to the nominal values of the MSME sequence. The remaining unknown parameters were then T_{2fat} , T_{2H_2O} , apparent B_1 , and fat and water proton density (*f* and *w*). For each subject, a value of T_{2fat} was estimated in the subcutaneous (SC) fat with a single-component EPG model (assuming that w = 0 in SC fat). In this case, to ensure a high degree of confidence in T_{2fat} estimation, only regions in which B_1^+ values estimated by the EPG algorithm were higher than 0.7 were retained for analysis. The mean T_{2fat} across all the subjects was then retained as a reference value. It has already been demonstrated that T_{2fat} of infiltrated muscle



Figure 1. Example of regions of interest manually drawn to delineate the left (_L) and right (_R) thigh muscles in a healthy volunteer. AM, adductor magnus; BF, biceps femoris; GR, gracilis; RF, rectus femoris; SA, sartorius; SM, semimembranosus; ST, semitendinosus; VI, vastus intermedius; VL, vastus lateralis; VM, vastus medialis.

is not significantly different from T_2 of SC fat (22). For every voxel in muscle tissue, $T_{2\text{fat}}$ was fixed to this reference value and, consequently, *f*, *w*, $T_{2\text{H}_2\text{O}}$ and B_1 were simultaneously quantified using the bi-component model.

FF was calculated using the following equation:

$$\mathsf{FF}_{\mathsf{EPG}} = \frac{f}{w+f}$$
[2]

Effects of input values on the precision of estimated water T_2 and FF

Simulations were performed to quantify the influence of T_{2fat} , $T_{1H_{2}O}$ and T_{1fat} estimation on $T_{2H_{2}O}$ and FF quantification. A large set of signal decays was generated using the EPG algorithm and standard *in vivo* parameters: $T_{1H_{2}O} = 1400$ ms; $T_{2H_{2}O} = 32.0$ ms; $T_{1fat} = 365$ ms; $T_{2fat} = 126.5$ ms; ETL = 17; ES = 9.5 ms; FF varying from 10% to 60%. Each dataset was then processed with our method using modified values for T_{2fat} , $T_{1H_{2}O}$ and T_{1fat} (from -10% to +10% difference from the nominal values). Differences between estimated and nominal values of $T_{2H_{2}O}$ and FF were then calculated for each dataset.

Magnetization transfer (MT) effects

As the MSME sequence is, by definition, a two-dimensional acquisition, it might be prone to MT effects. Exchange rates, as well as T_1 relaxation times, are different between fat and water protons and, consequently, MT will affect the fat and water signals differently. As a result, FF quantification will thus depend on MT effects and, from a practical point of view, on the number of imaging slices. To quantify and correct for this bias, two different MSME acquisitions were performed on four subjects: the first acquisition covered 11 slices, as described previously, and the second acquisition used a single-slice sequence to avoid MT effects. Water and fat signals were computed using the EPG approach for each acquisition.

EPG fitting using a dictionary-based method

To accelerate the fitting procedure, a pattern recognition technique was also implemented as already proposed by Huang *et al.* (37). This method was compared with the previous fitting procedure in terms of accuracy and computing time. A dictionary of normalized signal decay curves with various T_{2H_2O} and B_1 values was first generated using the EPG algorithm. There were 10 000 entries in the dictionary, each containing a water and fat signal decay, denoted as $d_{H_2O}^i$ and d_{fat}^i respectively. The *i*-th dictionary entry can be written as:

$$\begin{bmatrix} \boldsymbol{d}_{H_2O}^i & \boldsymbol{d}_{fat}^i \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} EPG \{ \boldsymbol{T}_{1H_2O}, \boldsymbol{T}_{2H_2O}^i, ES, \boldsymbol{B}_1^i, \alpha_{1,2,\dots,ETL} \}, \quad [3] \\ EPG \{ \boldsymbol{T}_{1fat}, \boldsymbol{T}_{2fat}, ES, \boldsymbol{B}_1^i, \alpha_{1,2,\dots,ETL} \} \end{bmatrix}$$

Two hundred $T_{2H_2O}^i$ values between 20 and 80 ms and 50 B_1^i values between 0.2 and 1 were used to build the dictionary, with fixed T_{1fat} and T_{2fat} values. For each pixel in muscle tissue, the most resembling entry in the dictionary was then computed by minimizing the L2 norm of the differences between the normalized decay curve and the entries in the dictionary. The optimal pair ($T_{2H_2O}^i$, B_1^i) and the amplitudes of fat and water signals (*w* and *f*, respectively) were determined by solving the following problem:

$$\begin{bmatrix} w \\ f \end{bmatrix} = \arg\min_{w, f \ge 0} \left\| \boldsymbol{y} - \begin{bmatrix} \boldsymbol{d}_{H_2 \boldsymbol{0}}^i & \boldsymbol{d}_f^i \end{bmatrix} \begin{bmatrix} w \\ f \end{bmatrix} \right\|_2$$
 [4]

where the observed signal decay was denoted as vector y. FF was estimated as described previously using Equation [2]. All the results were computed on a 2.70-GHz Intel CPU and 8-GB RAM system.

FF estimation using the Dixon method

To validate the fat quantification obtained with our approach, reference FF maps were derived using a standard three-point Dixon approach from the three-dimensional gradient echo images. Fat and water signal maps (f_{Dix} and w_{Dix} , respectively) were corrected for B_0 inhomogeneities as described in ref. (15). The T_2^* decay between the first and second echoes was compensated by assuming a single exponential model and inverting the predicted signal decrease using the T_2^* values estimated from the measured decay between the first and third echoes. This simple method is known to underestimate the fat signal because it accounts only for the methylene component in the triglyceride molecule in body fat (38). To account for this, a correction step was introduced, as presented in ref. (22), to obtain a more accurate FF estimation. The corrected FF (FF_{Dix-corr}) was estimated according to the following relation:

$$\mathsf{FF}_{\mathsf{Dix-corr}} = \frac{\mathsf{FF}_{\mathsf{Dix}}}{(1-p)\mathsf{FF}_{\mathsf{Dix}} + p}$$
[5]

where

 $FF_{Dix} = \frac{f_{Dix}}{f_{Dix} + W_{Dix}}$ and p = 0.55.

RESULTS

EPG fitting of MSME data in the thighs

Figure 2a shows a typical image of the first MSME echo acquired in the thighs of a 25-year-old healthy volunteer. B₁ inhomogeneities are clearly visible within the FOV, and lead to different NMR signal decay patterns. For illustration, two different ROIs of 16 voxels were selected in the right and left RF (white and black squares, respectively). When fitted with simple exponential models (Fig. 2b), the first experimental points yielded poor results, with residuals higher than 30% in the case of large stimulated echo effects. This resulted in artificial differences for the T_2 relaxation times on both sides of the thighs: in this particular case, T_2 of the right RF was almost twice as high as T_2 of the left RF. When the first echo was discarded from the exponential analysis, data fitting was improved in terms of residuals (Fig. 2c), but there was still a 35% difference in the T_2 values between the two regions. In contrast, the EPG-based approach offered an accurate fitting of the experimental data points with residuals of less than 4% in both cases (Fig. 2d). T_2 values extracted on the left and right RF showed a difference of less than 3%.

 T_2 and corresponding 95% confidence interval (CI) maps were reconstructed for this healthy volunteer using the three different approaches (Fig. 3). The T_2 values were only displayed in pixels with FF_{EPG} < 0.9 in order to remove SC fat and bone marrow regions from the maps. In regions with large B_1 inhomogeneities, T_2 was strongly increased when processed by the monoexponential fitting, with correspondingly poor CI on the estimated value. Discarding the first data point of the MSME sequence partially improved both T_2 and CI, but they were still



Figure 2. (a) First echo of multi-slice multi-echo (MSME) sequence acquired on a healthy volunteer. B_1 inhomogeneities (gray arrows) lead to different NMR signal decay patterns in two different regions of interest (white and black squares). Experimental points were adjusted using a mono-exponential model (b), a mono-exponential model whilst discarding the first data point (c) or the presented extended phase graph (EPG) approach (d). Output parameters are indicated for each fitting procedure. For exponential models, M_0 depicts the *y*-axis crossing. For each method, residuals are plotted as black broken lines.

significantly larger than the values obtained using the EPG fitting approach.

Effects of input values on the precision of estimated water T_2 and FF

Figure 4 represents the influence of the input parameters (T_{1H_2O} , T_{1fat} and T_{2fat}) on the accuracy of the T_{2H_2O} and FF estimations

using the proposed EPG fitting approach. As depicted in Fig. 4a, the T_{1H_2O} estimation errors did not affect the accuracy of T_{2H_2O} or FF quantification: for a 10% error in T_{1H_2O} , discrepancies were less than 0.01% compared with the true values. The same observation was made for T_{1fat} : for an error of 10% in T_{1fat} , less than 0.4% differences between the estimated and true T_{2H_2O} and FF values were observed (Fig. 4b). In contrast, Fig. 4c shows that a poor estimation of T_{2fat} could lead to larger discrepancies



Figure 3. (a) T_2 maps derived from the multi-slice multi-echo (MSME) sequence using an exponential fitting model, an exponential model whilst discarding the first echo and the extended phase graph (EPG) fitting model. (b) Corresponding 95% confidence interval (CI) maps on the T_2 values.



Figure 4. Influence of input parameters T_{1H_2O} (a), T_{1fat} (b) and T_{2fat} (c) on the precision of T_{2H_2O} and fat fraction (FF) estimated using the proposed extended phase graph (EPG) fitting approach. Signal decays were generated using the EPG algorithm and standard *in vivo* parameters: T_{1H_2O} = 1400 ms; T_{2H_2O} = 32.0 ms; T_{1fat} = 365 ms; T_{2fat} = 126.5 ms; echo train length (ETL) = 17; echo spacing (ES) = 9.5 ms; FF = 10–60%. Each dataset was then processed by the EPG model using modified values for T_{2fat} , T_{1H_2O} and T_{1fat} : from –10% to +10% differences from the nominal values. Differences between estimated and true values of T_{2H_2O} and FF were calculated for each dataset.

between the estimated and true values. Errors made on the T_{2H_2O} and FF estimations could reach more than 10% when T_{2fat} was modified by 6% compared with the nominal value.

SC T_{2fat}

 $T_{2\text{fat}}$ was estimated for each subject in the SC fat using a singlecomponent EPG model. To ensure sufficient robustness in the quantification of this parameter, only regions in which B_1^+ values estimated by the EPG algorithm were higher than 0.7 were retained for analysis. Across the 31 subjects, the mean $T_{2\text{fat}}$ value obtained was 137.3 ± 11.0 ms.

MT effects

To quantitatively compare the mono- and multi-slice MSME sequences, the multi-slice acquisitions were only analyzed in the central slice. The ratio of water signals in mono- and multi-slice conditions was assessed for each ROI. The mean value of this ratio over the 82 ROIs assessed in the four subjects was 1.70 ± 0.15 . For fat, the mean ratio measured in SC fat was 0.99 ± 0.01 (four ROIs in SC fat, four subjects), confirming that there were no MT effects experienced by the fat protons with the multi-slice sequence. FF extracted from the MSME acquisitions was therefore corrected as follows to take into account MT effects:



$$\mathsf{FF}_{\mathsf{EPG-corr}} = \frac{f}{f+1.7 \times w}$$
[6]

Simultaneous T_2 mapping and fat-water separation on muscle tissue

Figure 5a,b presents the 'global' T_2 map estimated via a monocomponent EPG analysis and the T_{2H_2O} map estimated via the proposed two-component EPG analysis on a 61-year-old patient displaying severe fat infiltration in muscle tissue. Unlike the 'global' T_2 , T_{2H_2O} estimated with the two-component model did not show large regions with T_2 values higher than 30–35 ms. This indicates that the 'global' T_2 largely reflects the presence of fat and does not allow an accurate monitoring of phenomena affecting only the water protons. As depicted by Fig. 5c,d, showing water and fat signal images of this patient, respectively, calculated from the MSME sequence, the increase in fat content was directly correlated with the increase in the 'global' T_2 values derived from the mono-component analysis. Transverse relaxation times were quantitatively analyzed in ROIs in which 95% CIs on T_2 values were less than 8 ms. There was a strong linear correlation between T_2 extracted from the mono-component EPG analysis and FF_{EPG} in all patients ($R^2 = 0.96$, 415 ROIs): $T_2 = 1.22 \times FF_{EPG}$ + 33.2 ms. Conversely, no correlation was observed between T_{2H_2O} derived from the bi-component analysis and FF_{EPG}: T_{2H_2O} = -0.03 × FF_{EPG} + 32.8 ms ($R^2 = 0.02$, 415 ROIs) (Fig. 5).

Figure 6a,b presents the T_{2H_2O} and B_1 maps calculated via EPG analysis on a 27-year-old healthy subject. Despite large B_1 inhomogeneities giving rise to stimulated echo effects, the T_{2H_2O} map was relatively flat, as demonstrated by the profiles extracted across the thighs (Fig. 6c). As illustrated in Fig. 6d, there was no correlation between B_1 and T_{2H_2O} across the entire subject cohort ($R^2 = 0.11$, 415 ROIs).

T_2 mapping of inflamed tissues

To evaluate the sensitivity of the EPG fitting approach, T_{2H_2O} values were analyzed in the four cases of juvenile DM before



Figure 5. Global T_2 map derived by a single-component extended phase graph (EPG) fitting approach of the multi-slice multi-echo (MSME) signal (a), water T_2 map (b), water signal (c) and fat signal (d) derived from the bi-component EPG analysis of the MSME signal. (e) Correlation between fat fraction (FF) and T_2 values extracted with single-component (dark gray) and bi-component (light gray) EPG models on the entire cohort of subjects.



Figure 6. B_1 (a) and T_{2H_2O} (b) maps calculated via the two-component extended phase graph (EPG) analysis of the multi-slice multi-echo (MSME) signal in a 27-year-old healthy volunteer. (c) Profiles of T_{2H_2O} and B_1 values across the left thigh. (d) Correlation between B_1 and T_{2H_2O} values measured in the regions of interest in the entire cohort of subjects.

(DM group) and following 3 months of steroid treatment (DM-ster group), and compared with the control values assessed in healthy volunteers (Vol). Figure 7 presents the T_{2H_2O} maps obtained in the left thigh of a 12-year-old boy under both conditions. Before treatment, high T_{2H2O} values were clearly visible across the thigh of the patient, particularly in the quadriceps muscles. An almost complete recovery to normal T_{2H_2O} values was achieved 3 months following steroid treatment. Eighty ROIs were assessed for each of the four DM patients before and after treatment. As illustrated in Fig. 8, mean T_{2H_2O} values were equal to 37.2 ± 3.8 ms for the DM group before treatment, and showed a significant reduction $(33.1 \pm 2.2 \text{ ms})$ 3 months after treatment (Student's paired *t*-test, p < 0.01). Compared with healthy volunteers, where mean T_{2H_2O} values were equal to 31.5 ± 1.4 ms, both DM and DM-ster groups showed statistically higher values (Student's unpaired *t*-test, p < 0.01).

Acceleration of EPG post-processing

MSME data of the entire cohort of subjects were post-processed by both the non-linear optimization of the EPG problem, as described in ref. (21), and the dictionary-based approach introduced in this work. The same input values of the model (T_{2fat} , $T_{1\text{fat}}$ and $T_{1\text{H}_2\text{O}}$) were used for an accurate comparison of both fitting strategies. Figure 9 shows typical T_{2H_2O} and FF maps calculated in a 61-year-old patient with severe fat infiltration, obtained by both EPG post-processing approaches. Results obtained with the two methods on the same data were compared pixel-wise in the different ROIs drawn inside the muscles. Differences in T_{2H_2O} and FF computed on all subjects showed significant (p < 0.05), but limited biases (<0.1 ms for T_{2H_2O} and <1.5% differences for FF). Differences in processing times between the two methods indicated a gain of almost 20 using the dictionary-based method. The non-linear optimization took approximately 1.5 h to process the 11 slices of one dataset, whereas the dictionary approach required less than 5 min to extract both T_{2H_2O} and FF maps.

FF estimated from MSME versus standard Dixon

FF maps were generated for each subject using both the EPG approach and the standard three-point Dixon technique. Figure 10a,b depicts both maps obtained in a fat-infiltrated patient. Both FF_{EPG-corr} and FF_{Dix-corr} maps displayed the same fat infiltration patterns in VL, VI and VM of both thighs. FF values extracted with both methods were compared in the different ROIs



Figure 8. Water T_2 values measured in the regions of interest drawn on healthy volunteers (Vol group, n = 5) and patients with dermatomyositis before (DM, n = 4) and 3 months after (DM-ster, n = 4) steroid treatment. *Student's unpaired *t*-test, p < 0.01. §Student's paired *t*-test, p < 0.01).

assessed in this patient (Fig. 10c). The EPG approach seems to systematically overestimate the fat content compared with the Dixon method. FF values obtained by both methods were then compared for all ROIs in all patients. As depicted in the Bland–Altman graph in Fig. 11a, FFs derived from the EPG fitting approach were in good agreement with the FFs derived from the standard threepoint Dixon method. There was a small, but significant, bias of about 1.5% in FF measurement between the two methods (Student's paired *t*-test, *p* < 0.01). The Pearson correlation factor was $R^2 = 0.84$ and FF_{Dixon-corr} = $0.85 \times FF_{EPG-corr} + 1.0$ (Fig. 11b).



Figure 7. Water T_2 maps (calculated at six slice levels) of a 12-year-old patient with diagnosed juvenile dermatomyositis acquired before (DM) and 3 months after (DM-ster) steroid treatment.

NMR IN BIOMEDICINE



Figure 9. Water *T*₂ and fat fraction (FF) maps obtained from the iterative non-negative least-squares (NNLS) fitting or the dictionary-based fitting of the multi-slice multi-echo (MSME) data.



Figure 10. Fat fraction (FF) map derived from multi-slice multi-echo (MSME) sequence and extended phase graph (EPG) fitting (a), and corresponding FF map derived from the standard three-point Dixon method (b). (c) FFs derived with both methods in the different regions of interest of the right (R) and left (L) thighs. AM, adductor magnus; BF, biceps femoris; GR, gracilis; RF, rectus femoris; SA, sartorius; SM, semimembranosus; ST, semitendinosus; VI, vastus intermedius; VL, vastus lateralis.

DISCUSSION

In this study, we demonstrated that EPG fitting was able to simultaneously estimate muscle $T_{\rm 2H_2O}$ and FF from the entire

volume of standard MSME acquisitions. Detection of muscle T_2 variations was possible despite the bias generated by concurrent fat infiltration. Gold standard methods for the estimation of T_2 (in particular, mono-exponential fitting of an MSME signal)



Figure 11. (a) Bland–Altman plot comparing fat fractions (FFs) derived from multi-slice multi-echo (MSME) sequence with extended phase graph (EPG) fitting and with three-point Dixon method on the entire cohort. There was a small, but significant, mean bias of about 1.5% (black line) in FF measurement between the two methods (Student's paired *t*-test, p < 0.01). Gray dotted lines correspond to the 95% limits of agreement. (b) Correlation between FF derived using both methods ($R^2 = 0.84$, FF_{Dix-corr} = $0.85 \times FF_{EPG-Corr} + 1$, black line).

generally lead to abnormally high values in patients suffering from various neuromuscular diseases. For example, high T_2 values were estimated on non-fat-saturated images acquired on young patients with DMD (5,28). As already pointed out, because of the long T_{2fat} relative to T_{2H_2O} , these T_2 changes essentially reflect the degree of fat infiltration within the muscle tissues. This information is almost redundant if obtained alongside Dixon-like sequences, and will not reveal the T_2 abnormalities of the muscle water component, which relates to disease activity, membrane leakiness, necrosis or inflammation, as demonstrated in animal models immune to fat infiltration (39–41).

In order to specifically assess T_{2H_2O} , selective water excitation or fat suppression has been used in some studies. Such fatsuppression schemes - based on chemical shift methods such as CHEmical Shift Selective (CHESS) (42) or inversion methods such as short tau inversion recovery (STIR) (43) - have worked successfully on volumes with limited B₀ and B₁ inhomogeneities. In the field of neuromuscular disorders, however, these methods are not suitable because large FOVs are generally required. Promising approaches based on multi-exponential decomposition of MSME signal decays have been introduced recently, modeling the muscle signal as a combination of pure fat and water signals. Bi-exponential models were used in the work of Kan et al. (31) and Yao and Gai (32), whereas a tri-exponential model was introduced in the work of Azzabou et al. (22). In the latter, authors also proposed a method based on voxel sorting to generate T_{2H_2O} maps only in voxels experiencing appropriate B_1^+ excitation. This resulted in a significant decrease in T_{2H_2O} standard deviation relative to other studies. Nevertheless, this approach required the extra acquisition of a B_1^+ map in order to select the voxels to retain in the analysis and, above all, resulted in several regions with large stimulated echo effects being discarded from the analysis.

The approach proposed in this study combines the advantages of methods based on multi-exponential analysis of the MSME sequence to extract both T_{2H_2O} and FF maps, and of EPG fitting analysis to extract these parameters in regions in which excitation and refocusing flip angles are not ideal. This allowed the accurate determination of T_{2H_2O} in regions prone to high stimulated echo effects. Similar approaches, based on a direct resolution of the Bloch equations, have been proposed recently to process MSME data and handle stimulated echo effects in the human brain (44). The EPG formalism provides the same analysis, only more efficiently in terms of computing time, thus computing FF and T_{2H_2O} maps through non-linear optimization in reasonable times. However, EPG fitting methods are still less time efficient than simple multi-exponential models. Iterative NNLS fitting is computationally expensive because of the repeated evaluations of the EPG model function with different parameter sets (T_{2H_2O} , f_i , w and B_1). Huang et al. (37) have proposed a pattern recognition approach to accelerate MSME processing using a mono-component EPG fitting model in the human brain. In our work, a similar method was adapted to a bi-component EPG model and showed a 20-fold decrease in processing time relative to the iterative non-linear optimization version, leading to processing times acceptable for clinical research (e.g. less than 5 min to reconstruct a volume of 11 slices). As demonstrated here, the accuracy of T_{2H_2O} values estimated by the bicomponent EPG fitting procedure largely depends on T_{2fat} estimation, which is an input parameter of the adjustment. T_{2fat} was measured in SC fat for each subject and this value was then used as a fixed input parameter of the EPG model for the entire study. The mean T_{2fat} value measured in our study corresponds to that measured in the study of Kan et al. (31) $(154 \pm 7 \text{ ms})$ in SC fat. However, it is significantly higher than the T_{2fat} values measured by MRS. For instance, T_2 of the methylene peak $(CH_2)_n$ was estimated to be 58.5 ± 3.8 ms by Peterson and Månsson (45). This discrepancy is probably a result of the impact of the multi-echo refocusing train of the MSME sequence, causing T_{2fat} decay to artificially slow down through different mechanisms, explained by Henkelman et al. (46) in 1992.

In this study, the sensitivity of T_{2H_2O} measurement was evaluated by comparing the values obtained in four young patients diagnosed with juvenile DM before and 3 months after the administration of steroid treatment. Both pre- and post-treatment T_{2H_2O} values were significantly higher than the mean T_{2H_2O} values found in the five control healthy volunteers. There was, however, a significant decrease of 4.09 ± 3.7 ms following steroid treatment, which confirmed the reduction in inflammation processes within muscle tissues.

Mean T_{2H_2O} values estimated in healthy volunteers in our study (31.5±1.4ms) are in good agreement with reference values at 3 T. For example, Forbes *et al.* (47) found mean values of 28.1±0.8 ms in the soleus of healthy controls. This study was performed with MRS, which is not prone to artifacts caused by fat infiltration, as the calculation of T_{2H_2O} is based directly on the water resonance. In healthy volunteers, our method achieved significantly lower standard deviations on T_{2H_2O} values (1.4 ms) than those based on multi-exponential



Figure 12. (a) Evolution of the water (black line) and fat (gray line) longitudinal magnetization during the multi-slice multi-echo (MSME) acquisition caused by T_1 weighting of the sequence. (b) Resulting fat fraction error.

models [i.e. 2.5 ms in the work of Azzabou *et al.* (22) and 7.2 ms in the study of Yao and Gai (32)].

In addition to T_{2H_2O} relaxation times, the EPG fitting approach allows the determination of FF in muscle tissue. It has been demonstrated that MT effects represent a confounding factor for FF quantification. As only water protons are affected by MT, it results in an underestimation of the water signal and, consequently, an overestimation of fat quantification in muscle tissues using the EPG approach. In our study, we propose the application of a correction factor to the water proton density in order to take this effect into account. This is a first-order and practical approach to tackle the MT problem, but it should be mentioned that the correction factor is sequence dependent and must be calibrated for each specific sequence implementation. For example, it is probably reduced when the number of acquired slices is reduced or the slice gap is increased.

In 22 patients, FF determined by the EPG method (corrected for MT effects) was compared with the standard fat ratio estimated using a standard three-point Dixon imaging technique. The two methods showed very good agreement, with a mean bias around 1.5%. This potentially arises from the T_1 weighting of the MSME sequence which was not taken into account by this processing approach. The TR of the sequence was 3000 ms, whereas T_{1H_2O} and T_{1fat} were about 1400 and 300 ms, respectively. Bloch simulations were performed using the mean relaxivity parameters for water and fat protons and the MSME sequence parameters (TR = 3000 ms). With this current sequence implementation, the fat signal was not affected by T_1 weighting, whereas the water signal was slightly reduced (Fig. 12). The steady state for water protons was reached after five to six excitations and was about 0.9 of the initial signal. This resulted in a significant underestimation of the water signal and, consequently, in FF overestimation (between 0% and 3%) using this processing method (Fig. 12).

Nevertheless, when both T_{2H_2O} and FF quantifications are needed, our post-processing of the MSME sequence is an appealing option to decrease patient acquisition time. In 2011, a method combining the IDEAL method with a Carr–Purcell–Meiboom–Gill imaging sequence (IDEAL-CPMG) was introduced, which also derives T_{2H_2O} and FF from a single NMR experiment (48). Our approach has major advantages compared with the IDEAL-CPMG method. First, the design of this pulse sequence imposes the use of a higher readout bandwidth and, consequently, lowers the image signal-to-noise

ratio. Second, unlike IDEAL-CPMG, the MSME sequence is easily available on clinical scanners delivered by the main manufacturers, and would consequently be more suitable for multi-center trials to accurately monitor neuromuscular diseases and responses to treatments. However, implementation of the post-processing presented in this study requires an extensive knowledge of the acquired MSME sequence. Although timing information, such as TE, TR or ES, is generally accessible to the user, this is not usually the case for excitation/refocusing pulses and gradient amplitude parameters. To evaluate the impact of the slice profile correction on the estimation of T_{2H_2O} and FF, we performed the same analysis on the whole batch of subjects assuming a constant B_1 value over the slice. Results showed an overall overestimation of 0.37 ms for T_2 quantification and an overestimation of 0.14% for FF guantification when slice profiles were not taken into account. For the excitation and refocusing pulses used in the standard MSME sequence, the effect of the slice profile only represents a minor confounding factor. This correction could then be skipped in multi-center studies, when information on radiofrequency pulses is unknown.

In conclusion, it was shown that MSME acquisitions can be post-processed using a two-component EPG fitting approach to accurately estimate T_{2H_2O} and FF in pathological muscle tissues. This method shows excellent sensitivity, even in the presence of large B_1^+ inhomogeneities. The proposed approach allows a saving of approximately 50% of the patient scanning time when compared with classical T_2 mapping and water–fat imaging schemes, whilst still entirely relying on a standard imaging sequence. These characteristics make the method an attractive practical option for the quantitative monitoring of skeletal muscle in multi-center studies, particularly those involving the pediatric population.

Acknowledgements

This project received funding from the European Union's Seventh Framework Programme for research, technological development and demonstration under grant agreement n°602485. This publication is supported by the MYO-MRI COST action.

REFERENCES

 Arpan I, Forbes SC, Lott DJ, Senesac CR, Daniels MJ, Triplett WT, Deol JK, Sweeney HL, Walter GA, Vandenborne K. T2 mapping provides multiple approaches for the characterization of muscle involvement in neuromuscular diseases: a cross-sectional study of lower leg muscles in 5–15-year-old boys with Duchenne muscular dystrophy. NMR Biomed. 2013; 26: 320–328.

- Friedman SD, Poliachik SL, Carter GT, Budech CB, Bird TD, Shaw DWW. The magnetic resonance imaging spectrum of facioscapulohumeral muscular dystrophy. Muscle Nerve 2012; 45: 500–506.
- Maillard SM, Jones R, Owens C, Pilkington C, Woo P, Wedderburn LR, Murray KJ. Quantitative assessment of MRI T2 relaxation time of thigh muscles in juvenile dermatomyositis. Rheumatology 2004; 43: 603–608.
- 4. Willis TA, Hollingsworth KG, Coombs A, Sveen ML, Andersen S, Stojkovic T, Eagle M, Mayhew A, de Sousa PL, Dewar L, Morrow JM, Sinclair CD, Thornton JS, Bushby K, Lochmüller H, Hanna MG, Hogrel JY, Carlier PG, Vissing J, Straub V. Quantitative muscle MRI as an assessment tool for monitoring disease progression in LGMD2I: a multicentre longitudinal study. PLoS One 2013; 8: e70993.
- Kim HK, Laor T, Horn PS, Racadio JM, Wong B, Dardzinski BJ. T2 mapping in Duchenne muscular dystrophy: distribution of disease activity and correlation with clinical assessments. Radiology 2010; 255: 899–908.
- Mercuri E, Pichiecchio A, Allsop J, Messina S, Pane M, Muntoni F. Muscle MRI in inherited neuromuscular disorders: past, present, and future. J. Magn. Reson. Imaging 2007; 25: 433–40.
- Mercuri E, Cini C, Pichiecchio A, Allsop J, Counsell S, Zolkipli Z, Messina S, Kinali M, Brown SC, Jimenez C, Brockington M, Yuva Y, Sewry CA, Muntoni F. Muscle magnetic resonance imaging in patients with congenital muscular dystrophy and Ullrich phenotype. Neuromusc. Disord. 2003; 13: 554–558.
- Fischmann A, Hafner P, Gloor M, Schmid M, Klein A, Pohlman U, Waltz T, Gonzalez R, Haas T, Bieri O, Fischer D. Quantitative MRI and loss of free ambulation in Duchenne muscular dystrophy. J. Neurol. 2013; 260: 969–974.
- Fischmann A, Gloor M, Fasler S, Haas T, Rodoni Wetzel R, Bieri O, Wetzel S, Heinimann K, Scheffler K, Fischer D. Muscular involvement assessed by MRI correlates to motor function measurement values in oculopharyngeal muscular dystrophy. J. Neurol. 2011; 258: 1333–1340.
- Carlier PG, Azzabou N, Loureiro de Sousa P, Hicks A, Boisserie J-M, Amadon A, Carlier R-Y, Wary C, Orlikowski D, Laforêt P. Skeletal muscle quantitative nuclear magnetic resonance imaging follow-up of adult Pompe patients. J. Inherit. Metab. Dis. 2015; 38: 565–572.
- Hollingsworth KG, de Sousa PL, Straub V, Carlier PG. Towards harmonization of protocols for MRI outcome measures in skeletal muscle studies: consensus recommendations from two TREAT-NMD NMR workshops, 2 May 2010, Stockholm, Sweden, 1–2 October 2009, Paris, France. Neuromusc. Disord. 2012; 22(Suppl 2): S54–S67.
- 12. Poon CS, Henkelman RM. Practical T2 quantitation for clinical applications. J. Magn. Reson. Imaging 1992; 2: 541–553.
- Glover GH. Multipoint Dixon technique for water and fat proton and susceptibility imaging. J. Magn. Reson. Imaging 1991; 1: 521–530.
- Reeder SB, Pineda AR, Wen Z, Shimakawa A, Yu H, Brittain JH, Gold GE, Beaulieu CH, Pelc NJ. Iterative decomposition of water and fat with echo asymmetry and least-squares estimation (IDEAL): application with fast spin-echo imaging. Magn. Res. Med. 2005; 54: 636–644.
- Glover GH, Schneider E. Three-point Dixon technique for true water/fat decomposition with B0 inhomogeneity correction. Magn. Res. Med. 1991; 18: 371–383.
- Oh J, Han ET, Pelletier D, Nelson SJ. Measurement of in vivo multicomponent T2 relaxation times for brain tissue using multi-slice T2 prep at 1.5 and 3 T. Magn. Reson Imaging 2006; 24: 33–43.
- 17. Poon CS, Henkelman RM. Practical T2 quantitation for clinical applications. J. Magn. Reson. Imaging 1992; 2: 541–553.
- Crawley AP, Henkelman RM. Errors in T2 estimation using multislice multiple-echo imaging. Magn. Reson. Med. 1987; 4: 34–47.
- Majumdar S, Orphanoudakis SC, Gmitro A, O'Donnell M, Gore JC. Errors in the measurements of T2 using multiple-echo MRI techniques. II. Effects of static field inhomogeneity. Magn. Res. Med. 1986; 3: 562–574.
- Majumdar S, Orphanoudakis SC, Gmitro A, O'Donnell M, Gore JC. Errors in the measurements of T2 using multiple-echo MRI techniques. I. Effects of radiofrequency pulse imperfections. Magn. Res. Med. 1986; 3: 397–417.
- 21. Lebel RM, Wilman AH. Transverse relaxometry with stimulated echo compensation. Magn. Res. Med. 2010; 64: 1005–1014.

- 22. Azzabou N, Loureiro de Sousa P, Caldas E, Carlier PG. Validation of a generic approach to muscle water T2 determination at 3T in fat-infiltrated skeletal muscle. J. Magn. Reson. Imaging 2015; 41: 645–653.
- Mercuri E, Clements E, Offiah A, Pichiecchio A, Vasco G, Bianco F, Berardinelli A, Manzur A, Pane M, Messina S, Gualandi F, Ricci E, Rutherford M, Muntoni F. Muscle magnetic resonance imaging involvement in muscular dystrophies with rigidity of the spine. Ann. Neurol. 2010; 67: 201–208.
- De Sousa PL, Vignaud A, Caldas de Almeida Araújo E, Carlier PG. Factors controlling T2 mapping from partially spoiled SSFP sequence: optimization for skeletal muscle characterization. Magn. Reson. Med. 2012; 67: 1379–1390.
- Bieri O, Scheffler K, Welsch GH, Trattnig S, Mamisch TC, Ganter C. Quantitative mapping of T2 using partial spoiling. Magn. Reson. Med. 2011; 66: 410–418.
- 26. Rooney WD, Pollaro JR, Forbes SC, Wang DJ, Vandenborne K, Walter GA. Application of the extended phase graph technique to improve T2 quantitation across sites. *Proceedings of the 19th Annual Meeting ISMRM*, Montreal, QC, Canada, 2011; 138.
- Han E, Gold G, Stainsby J, Wright G, Beaulieu C, Brittain J. In-vivo T1 and T2 measurements of muskuloskeletal tissue at 3T and 1.5T. *Proceedings of the 11th Annual Meeting ISMRM*, Toronto, ON, Canada, 2003; 450.
- Garrood P, Hollingsworth KG, Eagle M, Aribisala BS, Birchall D, Bushby K, Straub V. MR imaging in Duchenne muscular dystrophy: quantification of T1-weighted signal, contrast uptake, and the effects of exercise. J. Magn. Reson. Imaging 2009; 30: 1130–1138.
- Phoenix J, Betal D, Roberts N, Helliwell TR, Edwards RH. Objective quantification of muscle and fat in human dystrophic muscle by magnetic resonance image analysis. Muscle Nerve 1996; 19: 302– 310.
- Huang Y, Majumdar S, Genant HK, Chan WP, Sharma KR, Yu P, Mynhier M, Miller RG. Quantitative MR relaxometry study of muscle composition and function in Duchenne muscular dystrophy. J. Magn. Reson. Imaging, 1994; 4: 59–64.
- Kan HE, Scheenen TWJ, Wohlgemuth M, Klomp DWJ, van Loosbroek-Wagenmans I, Padberg GW, Heerschap A. Quantitative MR imaging of individual muscle involvement in facioscapulohumeral muscular dystrophy. Neuromusc. Disord. 2009; 19: 357–362.
- Yao L, Gai N. Fat-corrected T2 measurement as a marker of active muscle disease in inflammatory myopathy. Am. J. Roentgenol. 2012; 198: W475–W481.
- Prasloski T, M\u00e4dler B, Xiang Q-S, MacKay A, Jones C. Applications of stimulated echo correction to multicomponent T2 analysis. Magn. Res. Med. 2012; 67: 1803–1814.
- Melbourne A, Eaton-Rosen Z, Bainbridge A, Kendall G, Cardoso M, Robertson NJ, Marlow N, Ourselin S. Measurement of myelin in the preterm brain: multi-compartment diffusion imaging and multicomponent T2 relaxometry. In *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention – MICCAI*, Vol. 8150. Heidelberg: Berlin, 2013, pp. 336–344.
- 35. Hennig J. Multiecho imaging sequences with low refocusing flip angles. J. Magn. Reson. 1988; 78: 397–407.
- 36. Weigel M. Extended phase graphs: dephasing, RF pulses, and echoes pure and simple. J. Magn. Reson. Imaging 2015; 41: 266–295.
- Huang C, Altbach MI, El Fakhri G. Pattern recognition for rapid T2 mapping with stimulated echo compensation. Magn. Reson. Imaging 2014; 32: 969–974.
- Reeder SB, Robson PM, Yu H, Shimakawa A, Hines CDG, McKenzie CA, Brittain JH. Quantification of hepatic steatosis with MRI: the effects of accurate fat spectral modeling. J. Magn. Reson. Imaging 2009; 29: 1332–1339.
- Yokota T, Lu Q-L, Partridge T, Kobayashi M, Nakamura A, Takeda S, Hoffman E. Efficacy of systemic morpholino exon-skipping in Duchenne dystrophy dogs. Ann. Neurol. 2009; 65: 667–676.
- Thibaud J-L, Monnet A, Bertoldi D, Barthélémy I, Blot S, Carlier PG. Characterization of dystrophic muscle in golden retriever muscular dystrophy dogs by nuclear magnetic resonance imaging. Neuromusc. Disord. 2007; 17: 575–584.
- 41. Forbes SC, Willcocks RJ, Triplett WT, Rooney WD, Lott DJ, Wang DJ, Pollaro J, Senesac CR, Daniels MJ, Finkel RS, Russman BS, Byrne BJ, Finanger EL, Tennekoon GI, Walter GA, Sweeney HL, Vandenborne K. Muscular transverse relaxation time measurement by magnetic resonance imaging at 4 Tesla in normal and dystrophic dy/dy and dy(2j)/dy(2j) mice. Neuromusc. Disord. 2000; 10: 507–513.

- Haase A, Frahm J, Hanicke W, Matthaei D. ¹H NMR chemical shift selective (CHESS) imaging. Phys. Med. Biol. 1985; 30: 341–344.
- Bydder GM, Pennock JM, Steiner RE, Khenia S, Payne JA, Young IR. The short TI inversion recovery sequence—an approach to MR imaging of the abdomen. Magn. Reson. Imaging 1985; 3: 251–254.
- Ben-Eliezer N, Sodickson DK, Block KT. Rapid and accurate T2 mapping from multi-spin-echo data using Bloch-simulation-based reconstruction. Magn. Reson. Med. 2015; 73: 809–817.
- Peterson P, Månsson S. Simultaneous quantification of fat content and fatty acid composition using MR imaging. Magn. Reson. Med. 2013; 69: 688–697.
- Henkelman RM, Hardy PA, Bishop JE, Poon CS, Plewes DB. Why fat is bright in RARE and fast spin-echo imaging. J. Magn. Reson. Imaging 1992; 2: 533–540.
- 47. Forbes SC, Willcocks RJ, Triplett WT *et al.* Magnetic resonance imaging and spectroscopy assessment of lower extremity skeletal muscles in boys with Duchenne muscular dystrophy: a multicenter cross sectional study. PLoS One 2014; 9: e106435.
- Janiczek RL, Gambarota G, Sinclair CDJ, Yousry TA, Thornton JS, Golay X, Newbould RD. Simultaneous T₂ and lipid quantitation using IDEAL-CPMG. Magn. Reson. Med. 2011; 66: 1293–1302.

Factors Controlling T_2 Mapping From Partially Spoiled SSFP Sequence: Optimization for Skeletal Muscle Characterization

Paulo Loureiro de Sousa,¹⁻³* Alexandre Vignaud,⁴ Ericky Caldas de Almeida Araújo,¹⁻³ and Pierre G. Carlier¹⁻³

A fast and robust methodology for in vivo T_2 mapping is presented. The approach is based on the partially spoiled steady state free precession technique recently proposed by Bieri et al. (Magn Reson Med 2011). The accuracy of this method was demonstrated in simulations and phantom experiments. Variations in skeletal muscle T₂ relaxation time have been correlated with cell damage and inflammatory response. Nonetheless, the lack of easily implementable, fast, accurate and reproducible methods has hampered the adoption of T₂ measurement as a noninvasive tool for skeletal muscle characterization. The applicability of the partially spoiled steady state free precession method for tissue characterization in muscle disease is illustrated in this work by several examples. Quantitative MRI, in particular T2 mapping based on partially spoiled steady state free precession acquisitions, might provide objective markers of muscle damage and degenerative changes, and an alternative to serial muscle biopsies. Magn Reson Med 67:1379–1390, 2012. © 2011 Wiley Periodicals, Inc. Key words: T₂ mapping; SSFP; rapid imaging; radiofrequency spoiling; muscle imaging; inflammation

There is a strong need for noninvasive outcome measures for monitoring the natural progression of muscle disorders, particularly at the early stages of involvement. In this context, medical imaging, and particularly NMR imaging, might provide quantitative markers of muscle damage and degenerative changes, and an alternative to serial muscle biopsies. The identification of such biomarkers would be of utmost importance for assessing the efficacy of treatments. Although the diagnostic role of MRI has been recognized, in particular for muscular dystrophies and congenital myopathies (1), the capacity of NMR to offer such objective (quantitative) biomarkers still needs to be further investigated and validated. To be widely applicable in muscle studies, quantitative MRI (qMRI) must be able to characterize the main pathological features of a diseased muscle, such as necrosis, inflammation, regeneration, fibrosis, fatty infiltration and

replacement. In practice, muscle qMRI protocols are currently available only for the determination of fatty degenerative changes (2–4), while the quantitative assessment of fibrosis and inflammation still remains an unsolved issue.

Many qualitative or semiquantitative data from human studies have pointed to increased transverse relaxation time (T_2) in inflammatory myopathies (5–7). Animal data have demonstrated the value of T_2 measurement to monitor cell damage and its prevention by gene therapy in muscular dystrophy models (8–10). Nonetheless, the lack of easily implementable, fast, accurate and reproducible methods has hampered the adoption of T_2 measurement as a noninvasive tool for the characterization of muscle inflammatory and dystrophic damage in clinical research protocols.

 T_2 measurements based on a standard multi spinecho sequence are strongly sensitive to instrumental imperfections such as nonideal slice pulse profiles, radiofrequency (RF) (B_1+) and static (B_0) field inhomogeneities and inefficient crushing schemes (11-16). Some solutions to these problems have been proposed, but these require several changes in the sequence codes, often limiting acquisition to a single slice (14,17), or still involve complex postprocessing corrections (16,17). Although single spin-echo (SE) sequence is less sensitive to B_0 and B_1 + errors, its use is prohibitive in a clinically feasible examination time, if many echotimes are required for an accurate T_2 estimation. Another important limitation of 2D multi spin-echo T_2 mapping is the large interslice gap required to avoid cross-talking. Specific absorption rate (SAR) concerns can limit the number of echoes and/or the number of slices, particularly at 3T and/or if body coil is used as transmitter coil. This is an important drawback for studies requiring multiple slices and large volume coverage. Furthermore, incomplete fat suppression due to B_0 inhomogeneities has also been an important source of T_2 errors when experiments are carried out in fatinfiltrated muscles.

Alternative methods, based on different variants of the Steady State Free Precession (SSFP) sequence, have allowed 3D high-resolution T_2 -mapping of the brain in a clinically acceptable time (18–20). However, these methods suffer from high sensitivity to B_0 inhomogeneities and may require acquisition of multiple phase-cycled data to avoid artifacts in T_2 maps (21). They have also been shown to be prone to magnetization transfer effects and sensitive to RF pulse duration, although this can be compensated for by appropriate postprocessing (22,23).

¹Institute of Myology, NMR Laboratory, Paris, France.

²CEA, I²BM, MIRCen, IdM NMR Laboratory, Paris, France.

³UPMC University Paris 06, Paris, France.

⁴SIEMENS Healthcare, Saint Denis, France.

^{*}Correspondence to: Paulo Loureiro de Sousa, MD, Faculté de Médecine, Institut de Physique Biologique, 4 rue Kirschléger, 67085 Strasbourg Cedex, France. E-mail: ploureiro@unistra.fr

Received 24 February 2011; revised 7 July 2011; accepted 11 July 2011. DOI 10.1002/mrm.23131

Published online 16 August 2011 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary. com).

^{© 2011} Wiley Periodicals, Inc.

Recently, a new SSFP-based method was proposed (T_2 pSSFP, acronym for partially spoiled SSFP) which is insensitive to B_0 inhomogeneities, diffusion and magnetization transfer effects (24). Additionally, this method is compatible with water-selective excitation pulses for fat suppression.

Some limitations of this method have been discussed in (25,26). These authors pointed out that the original T_2 -pSSFP method yields accurate results only for large RF flip angles (FA) ($\alpha \ge 70^\circ$) and for tissues exhibiting considerable differences in T_1 and T_2 (e.g., skeletal muscle), otherwise T_2 is underestimated. These conditions can be expressed by the relation $(T_1/T_2)/\eta \gg 1$, where η = $0.5 \cdot (1 + \cos \alpha)/(1 - \cos \alpha)$ (24). In a recent publication Bieri et al. have shown that, as long as one knows the tissues' T_1/T_2 ratio it is possible to correct underestimated T_2 values, allowing a higher flexibility on the choice of FA (27). In this work we presented a simpler alternative method to correct T_2 values obtained from pSSFP experiments, when the $(T_1/T_2)/\eta \gg 1$ condition is not reached. The feasibility and accuracy of this novel approach are demonstrated in phantom studies.

Since the T_2 -pSSFP method relies on an accurate knowledge of FA, transmit field (B_1 +) inhomogeneities, such as those observed in high field NMR imaging, will lead to systematic errors in T_2 estimation. In the second part of this work, we investigate the impact of inhomogeneous B_1 + on T_2 measurements based on the T_2 -pSSFP method. A simple method for correction of FA errors in T_2 -pSSFP measurements is experimentally demonstrated.

Finally, to illustrate the potential clinical utility of this method, T_2 -pSSFP experiments were carried out to map the T_2 changes in the quadriceps (i) serially after intense eccentric exercise, and (ii) in a myopathic patient.

THEORY

Conventional RF spoiling is usually based on a quadratic variation of RF (and receiver) phase values $\varphi_n = \phi \cdot n$ (n+1)/2, where ϕ is a constant phase increment and ϕ_n is the absolute RF phase value at the *n*th RF pulse (28). The degree of spoiling and consequently the image contrast depend strongly on the choice of ϕ . Absence of RF spoiling ($\phi = 0^{\circ}$) will produce FISP (fast imaging with steady-state free precession) images, whereas completely spoiled FLASH (fast low angle shot) images can be obtained using large ϕ values (e.g., 117, 123, and 150°) (28). In his seminal paper, Ganter presented an analytical solution for the signal dependency upon small ϕ values, for which the RF spoiling is not completely effective, producing partially spoiled SSFP (pSSFP) images (29). Ganter stated that the measured pSSFP signal intensity (S_{ϕ}) is a function of the experimental parameters α , ϕ and TR and the tissue relaxation times T_1 and T_2 :

$$S_{\phi} \approx S_{\rm eq} \frac{\Gamma \delta}{\xi} \frac{\sqrt{\lambda^2 + \phi^2}}{\kappa \lambda^2 + \phi^2}$$
 [1]

 $S_{\rm eq}$ is the equilibrium magnetization; $\Gamma = \sin \alpha/(1-\cos \alpha)$; ξ must be determined numerically via a continued fraction expansion (29). Typical values for ξ (α) are given

in Table 1, Ref. 29; $\delta = \text{TR}/T_1$, $\lambda = (1 + \kappa)\text{TR}/(\xi \cdot T_2)$ with $\kappa = (1 + 2\eta T_2/T_1)^{1/2}$ and $\eta = 0.5 \cdot (1 + \cos \alpha)/(1 - \cos \alpha)$. A detailed deduction of Eq. 1 is presented in Appendix A.

If $(T_1/T_2)/\eta \gg 1$, then $\kappa \to 1$, $\lambda \to 2 \cdot TR/(\xi \cdot T_2)$ and Eq. 1 can be reduced to

$$S_{\phi} \approx S_{
m eq} rac{\Gamma \delta}{\xi} rac{1}{\sqrt{\lambda^2 + \phi^2}}$$
 [2]

In this case, an accurate T_2 estimation can be obtained from two pSSFP acquisitions with different phase increments ϕ_1 and ϕ_2 (24) as:

$$T_2^{\text{estim}} = \frac{2\text{TR}}{\xi} \sqrt{\frac{S_{\phi 1}^2 - S_{\phi 2}^2}{S_{\phi 2}^2 \phi_2^2 - S_{\phi 1}^2 \phi_1^2}}$$
[3]

If the condition $(T_1/T_2)/\eta \gg 1$ is not reached, the dependence on T_1 of the parameter κ in Eq. 1 will result in a biased estimation of $T_2(26)$:

$$T_2 = T_2^{\text{estim}}(1+x) \tag{4}$$

where $x = 3/2(\chi) - 1/4(\chi^2) + O(\chi^3)$ and $\chi = \eta(T_2/T_1)$. Eq. 4 can be derived via a Taylor expansion of κ in terms of $\eta(T_2/T_1)$ in Eqs. 1 and 3 (See Appendix B). For most tissues of clinical interest, χ is smaller than unity if α is constrained to flip angles >20°. In this case, Eq. 4 can be expanded up to the linear order of χ :

$$T_2 \approx T_2^{\text{estim}} (1 + \beta \eta)$$
 [5]

where $\beta = 3/2 \cdot (T_2/T_1)$. An important consequence of this simplification is that if T_1 is known, T_2 can be accurately estimated even when the $(T_1/T_2)/\eta \gg 1$ condition is not respected:

$$T_2 = \frac{T_2^{\text{estim}}}{1 - 3/2 \cdot \eta \cdot T_2^{\text{estim}}/T_1}$$
[6]

Miscalibration of RF pulse and/or B_1 + inhomogeneity may lead to inaccurate determination of T_2 using the T_2 pSSFP method. In vivo MRI at high field (\geq 3T) suffers from intrinsic inhomogeneity of the active B_1 field (B_1 +) as the RF wavelength approaches the typical dimensions of the human body (30,31). Large deviation from the nominal FA due to B_1 + inhomogeneity has been reported in human lower limb imaging at 3T (32) and has been related to inaccurate estimation of NMR parameters in muscular qMRI (33). Thus a correction of the T_2 -pSSFP equations should be considered to obtain unbiased T_2 estimates. This can be done by introducing the actual FA measured at each voxel position into Eq. 3 and following.

An alternative approach to dealing with the T_1 -contribution in T_2 -pSSFP measurements has been recently proposed by Bieri et al. (27): Starting from Eq. 1 and writing the expression for the quotient of two acquisitions with different partial RF spoiling increments (ϕ_1 , ϕ_2) as

$$S_{12} \equiv \left(\frac{S_{\phi 1}}{S_{\phi 2}}\right)^2 = \frac{\lambda^2 + \phi_1^2}{\lambda^2 + \phi_2^2} \left(\frac{\kappa \lambda^2 + \phi_2^2}{\kappa \lambda^2 + \phi_1^2}\right)^2$$
[7]

we can rewrite Eq. 7 as a cubic equation of form

$$a_3 z^3 + a_2 z^2 + a_1 z^1 + a_0 = 0$$
[8]

where $z \equiv \lambda^2 = (1+k)^2 T R^2 / (\xi \cdot T_2)^2$ and

$$a_3 = k^2 (S_{12} - 1)$$
 [9a

$$a_2 = S_{12}(2k\phi_1^2 + \phi_2^2\kappa^2) - (2k\phi_2^2 + \phi_1^2\kappa^2)$$
 [9b]

$$a_1 = S_{12}(\phi_1^4 + 2k\phi_1^2\phi_2^2) - (\phi_2^4 + 2k\phi_1^2\phi_2^2)$$
 [9c]

$$a_0 = S_{12}(\phi_2^2 \phi_1^4) - (\phi_1^2 \phi_2^4)$$
 [9d]

Assuming that the T_1/T_2 ratio (and therefore κ) is known, Bieri et al. argued that by finding the roots of this polynomial (using Cardano's method or numerical algorithms), T_2 can be derived as:

$$T_2 = (1+k)\frac{\text{TR}}{\xi}\frac{1}{\sqrt{z_1}}$$
 [10]

where z_1 is the real positive root. It should be mentioned that Bieri's approach yields an exact result for Eq. 8 provided that the T_1/T_2 ratio is known. For practical purposes, however, only T_1 is usually assessed. In this case, this method requires an approximate starting value for T_2 , which should be improved by iterative computation of the polynomial roots. In contrast to the Bieri method, our approach avoids time-consuming iterations and potential convergence failure or inaccurate T_2 estimation arising from a bad T_2 starting value. Although it is only an approximation, the novel approach outlined here allows the impact of each experimental and tissue parameter on T_2 estimation to be appreciated in a simple way, facilitating sequence optimization for a chosen application. And most importantly, for practical in vivo applications, such as quantitative muscle imaging, this approach yields accurate T_2 results, as will be demonstrated below.

MATERIALS AND METHODS

Volunteer and patient examinations were conducted in accordance with institutional guidelines. Experimental data were acquired on a 3T whole-body scanner (Tim Trio, Siemens Healthcare, Erlangen, Germany). A commercial FLASH sequence was modified to allow flexible control of the linear phase increment ϕ by the user (ϕ resolution = 1°). Tunable dummy scans were added for pSSFP stabilization purposes.

Reference values for phantom T_1 and T_2 were obtained using gold-standard sequences: T_1 was measured using an inversion recovery (IR) method which consisted of a nonselective adiabatic inversion pulse followed by acquisition of a single-slice, centric k-space ordering FLASH image, at the inversion time TI. Twenty-one different TI were used, between 110 and 8000 ms. A delay of 20 s was inserted before each inversion pulse to allow for full magnetization recovery. Average signal as a function of TI was measured in a region of interest (ROI) placed at the most central portion of the phantom. T_1 was calculated by a two-parameter least-squares fitting of the experimental dataset. T_2 was measured using a home-made phase-cycled CPMG sequence, which consisted of nonselective hard pulses (a $90^{\circ}_{x,-x}$ excitation pulse followed by a train of four hundred 180°_{y} refocusing pulses, with a interecho spacing of 5 ms). A signal

decay curve was obtained from even-numbered echoes. T_2 was calculated using a two-parameter least-squares fit.

Data analysis, visualization and numerical simulation were done in Matlab 7.1 (The MathWorks, Natick, MA).

Phantom MRI: S_{ϕ} vs. α and ϕ

Equation 1 and the following were deduced assuming small $\xi \phi$ values (29). Therefore, the maximal ϕ value for which Eq. 1 is still applicable depends on α via ξ . To determine the regime of validity of this model for different α , T_2 -pSSFP 3D experiments were acquired in a 0.1 mM 50 mL MnCl₂ phantom ($T_1/T_2 = 886/86$ ms), with a sagittal orientation on a 192 \times 66 \times 64 matrix yielding 1.2 mm isotropic resolution. Relevant sequence parameters were TR = 5 ms, TE = 3 ms, bandwidth = 550 Hz/ pixel, NA = 4. A nonselective square pulse of 300 μ s length was used for excitation. $\alpha = (20, 40, \text{ and } 90^{\circ}), \phi$ = $(1, 5, 10, 15, 20, \text{ and } 30^\circ)$. Experimental results were compared with those of numerical computation: S_{ϕ} was either calculated using Eq. 1 or numerically simulated using Bloch matrix formulation, as described in (34). Common parameters for both computations were TR = 5ms, TE = 3 ms, α = (20, 40, and 90°), φ = 1–50°, in 0.5° steps, $T_1/T_2 = 886/86 \approx 10$.

Phantom MRI: T_2^{estim} vs. α and φ

In the original T_2 -pSSFP approach (Eq. 3) it has been argued that this method yields accurate T_2 estimation only for $(T_1/T_2)/\eta \gg 1$ (24). The primary purpose of this experiment was to investigate how T_2 obtained from Eq. 3 (T_2^{estim}) depends on $(T_1/T_2)/\eta$. T_2 -pSSFP 3D experiments were acquired in a 50 mL MnCl₂ phantom, with a sagittal orientation on a $192 \times 66 \times 64$ matrix yielding 1.2 mm isotropic resolution. Relevant sequence parameters were TR = 5 ms, TE = 3 ms, bandwidth = 550 Hz/pixel, NA = 4. A nonselective square pulse of 300 μ s length was used for excitation. $\alpha = (20, 40, 60, 80, and$ 90°), $\phi_1 = 1^\circ$, $\phi_2 = 10^\circ$. T_2^{estim} was computed introducing experimental $S_{\phi 1}$ and $S_{\phi 2}$ values into Eq. 3 and then T_2^{estim}/T_2 was computed using the result of Eq. 3 divided by reference T_2 (=86 ms). Finally $(T_1/T_2)/\eta$ was computed using reference T_1 and T_2 values for each different nominal RF flip-angle α .

Since the derivation of Eq. 3 and following relies on the validity of Eq. 1, it is expected that in the low flip angle regime, for which Eq. 1 should not be valid (29), discrepancies between experimental and theoretical T_2^{estim} may occur. To investigate the regime of validity of Eq. 3 as a function of α , experimental results were compared with those from numerical simulation of the pSSFP signal: $S_{\phi 1}$ and $S_{\phi 2}$ were calculated for each different α using Eq. 1 and then T_2^{estim}/T_2 was computed using the result of Eq. 3 divided by reference T_2 . Computational parameters were $T_1 = 886$ ms, $T_2 = 86$ ms, TR = 5 ms, $\alpha = 5-90^{\circ}$, in 5° steps, $\phi_1 = 1^{\circ}$, $\phi_2 = 10^{\circ}$. To validate the first-order model described by Eq. 5, experimental and simulated data were superimposed on the analytical curve $T_2^{\text{estim}}/T_2 = x/(3/2 + x)$ where $x = (T_1/T_2)/\eta$. For this calculation only the $(T_1/T_2)/\eta$ range was relevant: $0 < (T_1/T_2)/\eta = 40$.

Numerical Simulation: Effect of T_1 Error on T_2 Measurements

It is expected from Eq. 6 that errors in T_1 determination may lead to a bias in the calculated T_2 values. Simulations were performed to investigate the effect of T_1 error on T_2 accuracy for two different tissue models $(T_1/T_2 =$ 886/86 ~ 10 and $T_1/T_2 = 1400/35 = 40$). Main computational parameters were: TR = 5 ms, $\alpha = 60^\circ$, $\phi_1 = 1^\circ$, $\phi_2 = 15^\circ$. S_{ϕ_1} and S_{ϕ_2} were computed using Bloch simulation for both tissue models and then used to calculate T_2^{estim} (Eq. 3). Next, biased $T_1(=\hat{T}_1)$ ranging between -50% to +50% of the true T_1 was introduced into Eq. 6 to calculate biased $T_2(=\hat{T}_2)$. Results were compared with the analytical equation derived in Appendix C.

Numerical Simulation: Effect of B_1 + Inhomogeneity on T_2 Measurements

It has been argued in the Theory section that B_1 + inhomogeneity may lead to inaccurate determination of T_2 using the pSSFP method. Numerical simulations were performed to investigate the impact of B_1 + inhomogeneity on T_2 accuracy for two different tissue models $(T_1/T_2 = 10)$ and $T_1/T_2 = 40$. $S_{\phi 1}$ and $S_{\phi 2}$ were computed using Bloch simulation for FAs varying between 36 and 72° in 1° steps. This range corresponds to a deviation in the nominal FA of between -40% and +20% (= 60°). Next, T_2 was calculated using Eqs. 3 and 6, assuming either nominal or actual FA. Other computational parameters were: $T_1 =$ 886 ms, $T_2 = 86$ ms, TR = 5 ms, $\phi_1 = 1^{\circ}$, $\phi_2 = 10^{\circ}$.

Phantom: Effect of B_1 + Inhomogeneity on T_2 Measurements

To study the influence of B_1 + inhomogeneity on T_2 mapping, T_2 -pSSFP experiments were carried out on a cylindrical phantom (4 cm diameter × 20 cm length) filled with 1 L of 0.1 mmol MnCl₂ solution. Images were acquired using the following experimental parameters: TR = 5 ms, TE = 3 ms, $\alpha = 60^{\circ}$, $\phi_1 = 1^{\circ}$, $\phi_2 = 10^{\circ}$. B_1 + mapping procedure was carried out using the AFI technique (35) as described below. T_2^{estim} and T_2 maps were generated using Eqs. 3 and 6 respectively, with or without FA correction. T_1 -correction was applied assuming $T_1 = 886$ ms.

For comparison, T_2 pSSFP maps were also obtained from the same dataset using the iterative method described in the Theory section (Eqs. 7–10) (27). The starting value for the T_1/T_2 ratio was 886/80. Computation stopped when the relative difference between two successive estimations of T_2 was ≤ 0.05 or after 100 iterations.

B_1 + Mapping (Phantom and In Vivo)

The spatial distribution of the B_1 transmit field (B_1+) was evaluated using an optimized version of the actual flip angle imaging (AFI) method (35,36). This method determines a calibration factor, calculated as the ratio of

the true FA to the prescribed FA. This calibration factor was subsequently used to correct the parameter α in pSSFP experiment calculations.

AFI was performed using two nominal excitation pulses of 60° (300 µs length hard pulses) followed by delays TR₁ and TR₂, respectively, with TR₂ = 5TR₁ and TR₁ + TR₂ = 100 ms. TE = 2.75 ms, bandwidth = 550 Hz/pixel. Optimal spoiling of transverse relaxation was ensured by using an improved RF and gradient spoiling scheme as described in (36), assuming an isotropic scalar water diffusion coefficient $D = 0.75 \ \mu m^2/ms$. Relevant parameters for spoiling were: diffusion damping = 0.100, RF spoil phase increment = 129.3°.

Numerical Simulation: Influence of SNR and ϕ

 T_2 determination using the pSSFP approach requires two consecutive measurements $(S_{\phi 1} \text{ and } S_{\phi 2})$ carried out with two different phase increments $\phi_1 < \phi_2$. Roughly speaking, the best precision for T_2 measurements can be achieved by increasing the gap between the two ϕ values. Setting $\phi_1 = 0^\circ$ corresponds to performing an SSFP-FID (FISP) acquisition, which is highly flow-sensitive, resulting in undesirable flow artifacts. So the best choice would be setting $\phi_1 > 0^\circ$ and setting ϕ_2 to the highest value theoretically possible (i.e., the largest ϕ_2 for which Eq. 1 is still applicable = ϕ_{max}). In this study, the dependence of T_2 measurements upon the signal-to-noise ratio (SNR) and ϕ_2 was also investigated. Bloch simulation was used to calculate $S_{\phi 1}$ and $S_{\phi 2}$ with $T_1 = 1400$ ms, $T_2 = 35$ ms, TR= 6.3 ms, TE = 2.8 ms, $\alpha = 60^{\circ}$, $\phi_1 = 1^{\circ}$, $\phi_2 = (5, 10, and$ 15°). T_1 and T_2 values were chosen to approximately match skeletal muscle relaxation times at 3T (37,38), allowing further comparison between simulated and in vivo experimental results. A dataset was generated consisting of 10^6 repetitions of $S_{\phi 1}$ and $S_{\phi 2}$. Complex-valued random noise, gaussian-distributed (zero mean, standard deviation σ), was then added to $S_{\phi 1}$ and $S_{\phi 2}$. By changing the noise level, the signal-to-noise ratio of $S_{\phi 1}$ (SNR₁), defined as $\langle S_{\phi 1} \rangle / \sigma$ was set to 25, 50, and 100, which correspond to realistic values obtained for in vivo pSSFP SNR. T_2 values were calculated using Eq. 6 assuming ideal FA.

Eccentric Exercise Protocol

To demonstrate the potential of the T_2 -pSSFP method for applications in muscle studies, an exercise protocol was chosen to produce a long-term and selective pattern of T_2 changes in muscle. These changes were induced by eccentric exercise of the right vastus medialis muscle using an isokinetic dynamometer (Biodex Multi-Joint System 3, Biodex Medical Systems, New York, NY). Basically, eccentric exercise involves developing active tension in a muscle as it opposes a stronger force, which causes the muscle to lengthen as it contracts (39). Throughout exercise, the volunteer stayed seated, with the backrest reclined 5° from vertical and straps fixing the trunk, waist and distal thigh. The dynamometer pad was fastened around the leg 5 cm proximally to the medial malleolus. Just before the exercise, the volunteer performed a series of three submaximal contractions for familiarization. Next, the subject performed 6 series of 12 consecutive maximal eccentric isokinetic contractions; the knee was moved by the dynamometer through the range of motion from 165° to 90° of knee flexion at an angular velocity of 30° /s. Each series was preceded by 2 mins of resting, and there were no pauses between the 12 contractions.

The quadriceps femoral muscles were evaluated by qMRI before exercise and during the 10-day recovery period. The subject was positioned in the scanner feet-first and supine, and thigh was centered inside of a circularly polarized transmit/receive knee coil (inner diameter = 154 mm, length = 265 mm). Three-dimensional pSSFP images were acquired with a sagittal orientation on a 256 \times 152 \times 160 matrix yielding 1.1 mm isotropic resolution. Sequence parameters were TR = 6.6 ms, TE = 2.8 ms, α = 60°, $\phi_1 = 1^\circ$, $\phi_2 = 15^\circ$, bandwidth = 550 Hz/pixel. A nonselective water-excitation pulse (1-2-1 binomial 300 μ s length hard pulses) was used for fat suppression. An average of two acquisitions was used to improve SNR. The overall T_2 -pSSFP acquisition time was ~10 min.

 T_2 maps were calculated pixelwise using Eq. 6 assuming muscle $T_1 = 1400$ ms (37). FA correction was applied in Eqs. 3 and 6, using the correction factor determined from the B_1 + mapping experiment. Regions of interest (ROIs) were drawn on 3D FLASH T_1 -weighted anatomic images, excluding all the visible vessels, and then transposed to the T_2 -pSSFP images and T_2 maps.

For comparison, T_2 maps were also obtained in the same subject/days using standard fat-suppressed MSME acquisitions, with the following parameters: TR = 3 s, 17 echo times (TE) range = 8.1 to 137.7 ms, in-plane resolution = $1.4 \times 1.4 \text{ mm}^2$, 11 slices, slice thickness = 8 mm, slice gap = 20 mm, acquisition time ~5 min.

Bland-Altman analysis was used to quantify the limit of agreement between T_2 assessed by pSSFP and MSME sequences (40). Bias is the mean difference between the two methods of measurement and represents systematic error. A 95% confidence interval range expected to include 95% of the differences between measurements is set at ~2 SD of the mean.

T₂ Mapping in a Myopathic Patient

To demonstrate the potential of the T_2 -pSSFP method for the quantitative assessment of muscular disease, T_2 maps were acquired in a myositis patient, as a complement to an ongoing clinical study, which included whole-body T_1 - and fat-suppressed T_2 -weighted imaging, 3pt-Dixon imaging and dynamic Gd-DOTA contrast enhanced imaging. Because of the long duration of the clinical MRI protocol it was not possible to include reference T_2 measurements using the MSME method. For comparison, T_2 -pSSFP experiments were also carried out in a healthy volunteer using the same experimental setup.

Subjects were positioned in the scanner feet-first and supine, and a set of phased-array "body-flex" and "spine" surface receiver coils covered the volume of interest. T_2 -pSSFP images were acquired with an axial orientation on a 320 × 160 × 64 matrix yielding 1.4 × 1.4 × 5.0 mm³ resolution. Sequence parameters were TR =

6.6 ms, TE = 2.8 ms, $\alpha = 60^{\circ}$, $\phi_1 = 1^{\circ}$, $\phi_2 = 15^{\circ}$, bandwidth = 550 Hz/pixel. A nonselective water-excitation pulse was used for fat suppression. Overall T_2 -pSSFP acquisition time was ~ 3 min.

Fat-suppressed T_2 weighted (T_2 w) images were carried out using standard turbo spin-echo acquisition with an optimized inversion-recovery fat suppression technique, for spectral adiabatic inversion recovery. Relevant experimental parameters were: TR = 3 s, TE = 45 ms, Turbofactor = 6, in-plane resolution = 1 × 1 mm², 39 slices, slice thickness = 6 mm, acquisition time ~5 min.

RESULTS

Reference Phantom Relaxation Times

Phantom relaxation times obtained from independent IR and CPMG experiments were (best-fit value $\pm 95\%$ confidence interval) $T_1 = 886$ ms ± 5 ms and $T_2 = 85.5$ ms ± 0.1 ms, respectively.

In Vitro Validation: S_{ϕ} vs. α and ϕ

The experimental pSSFP signals (S_{ϕ}) of the MnCl₂ phantom, which were measured at three different α values (90°, 40°, and 20°), are given as a function of ϕ in Fig. 1a. Numerical estimations for S_{ϕ} using either Eq. 1 or Bloch simulation were superimposed on the experimental data. In Fig. 1b the relative differences between S_{ϕ} derived from Eq. 1 and S_{ϕ} from numerical Bloch simulation are plotted against $\xi \phi$ for the same previous α and ϕ values.

The Bloch simulation and experimental results demonstrate that Eq. 1 correctly describes the transition from unspoiled ($\phi = 0^{\circ}$) to completely spoiled transverse magnetization (represented by the dotted line) for all α values considered. Figure 1a also shows that the largest ϕ (= ϕ_{max}) for which Eq. 1 is still applicable depends on α . It can be seen from Fig. 1b that Eq. 1 is only valid (S_{ϕ} deviation $\leq 5\%$) for $\xi\phi \leq 1$. Similar numerical results were obtained for different T_1/T_2 ratios (data not shown) and allowed the limits of validity of Eq. 1 to be determined as a function of ϕ and α for in vivo experiments. As example, for quantitative mapping of muscle T_2 at 3T ($T_1/T_2 \sim 40$) if $\alpha = 40^{\circ}$ then Eq. 1 is only valid for $\phi \leq$ 16° ($1/\xi = 16.4^{\circ}$).

In Vitro Validation: S_{ϕ} vs. $(T_1/T_2)/\eta$

Experimental results (Fig. 2a, closed circles) confirm that accuracy in T_2 determination using Eq. 3 increases with increasing $(T_1/T_2)/\eta$. For $(T_1/T_2)/\eta \sim 21$, which corresponds to $\alpha = 90^{\circ}$ for this phantom, the T_2^{estim}/T_2 ratio was ~0.94. Figure 2a also shows that the approximated first-order model (solid line) described by Eq. 5 agrees very well with the numerical simulation of Eq. 3 (open squares) and experimental data (closed circles) for $(T_1/T_2)/\eta = 4$.

A significant discrepancy is observed between experimental and simulated results for $\alpha = 20^{\circ}$. For this α value $\phi_{max} = 1/\xi(20^{\circ}) = 6.25^{\circ}$. Since experimental data were obtained using $\phi_2=10^{\circ}$, it is clear from Fig. 1b that Eq. 1 and following are only valid for $1/\xi \geq 10^{\circ}$ which corresponds to $\alpha \geq 28^{\circ}$. For lower α values T_2



FIG. 1. **a:** SSFP signal as a function of α and ϕ calculated with Bloch simulation (thin line) or using an approximate analytical model (Eq. 1) (thick line). Experimental data (closed circles) acquired in a 0.1 mM MnCl₂ phantom were superimposed on simulated curves. The constant value (dotted line) represents the ideal RF spoiled signal: $S_{spoil} = S_{eq} \cdot (1-E_1) \cdot sin(\alpha)/(1-E_1 \cdot cos(\alpha))$, where $E_1 = \exp(-\text{TR}/T_1)$. Arrows indicate the largest ϕ (= ϕ_{max} = $1/\xi$) for which Eq. 1 is still applicable. In (b) the calculated S_{φ} deviation (i.e., the relative difference between $S_{\rm \varphi}$ derived from Eq. 1 and S_{ϕ} from Bloch simulation) is plotted against $\xi \phi$ for the same α and φ values, as in (a). Relevant experimental parameters were TR = 5 ms, TE = 3 ms, α = (20°, 40° and 90°), φ = $(1^{\circ}, 5^{\circ}, 10^{\circ}, 15^{\circ}, 20^{\circ}, and 30^{\circ})$. Common parameters for both computations in Fig. 1 (Bloch simulation and Eq. 1) were TR = 5ms, $\alpha = (20^{\circ}, 40^{\circ}, \text{ and } 90^{\circ}), \phi = 1^{\circ}$ to 50°, in 0.5° steps, $T_1/T_2 =$ 886/86 \approx 10. [Color figure can be viewed in the online issue, which is available at wileyonlinelibrary.com.]

measurements derived from Eqs. 3 and 5 will therefore be inaccurate.

Note that while numerical simulation of Eq. 3 assumes $T_1/T_2 = 886/86$, the solid line (Eq. 5) was calculated for an arbitrary T_1/T_2 ratio. These findings validate the use of Eqs. 5 and 6 for the accurate determination of T_2 based on pSSFP experiments, provided that $\phi = \phi_{max}$.

Effect of T_1 Error on T_2 Measurements

The impact of T_1 inaccuracy $(=\Delta T_1)$ on T_2 computation using Eq. 6 is shown in Fig. 3 for two different tissue models $(T_1/T_2 = 10 \text{ and } T_1/T_2 = 40)$ and two different FA (80° and 60°). Numerical simulations corroborated the analytical solution obtained in Appendix C: the sensitivity of T_2 to T_1 errors becomes more important with decreasing FA or T_1/T_2 ratio. As seen in Fig. 3, for tissues with $T_1/T_2 = 40$ (e.g., skeletal muscle at 3T), T_2 quantification using the pSSFP method (Eq. 6) is practically insensitive to T_1 errors for FA $\geq 60^\circ$.

Effect of B_1 + Inhomogeneity on T_2 Measurements

The results of numerical simulation (Fig. 4) show that inaccuracy in FA is an important source of error in T_2 estimation based on the pSSFP method (Eq. 6). Interestingly, the sensitivity of T_2 estimation to FA errors increases with (T_1/T_2) ratio. For $T_1/T_2 = 10$ the relative T_2 error is practically equal to the relative FA error. It is also shown in Fig. 4 that correction for FA errors allows accurate T_2 quantification using pSSFP for a large range of FA.

Figure 5 illustrates the effectiveness of the pSSFP method for quantitative T_2 imaging in the presence of



FIG. 2. **a**: T_2^{estim}/T_2 ratio as a function of $(T_1/T_2)/\eta$ calculated using either numerical simulation of Eq. 3 (open squares) or the analytical function derived from Eq. 5: $T_2^{\text{estim}}/T_2 = x/(3/2 + x)$ where $x = (T_1/T_2)/\eta$ (solid line). To gain insight on the flip angle dependence of T_2 estimation, T_2^{estim}/T_2 ratio was also plotted as function of α in (**b**). Experimental data (closed circles) acquired in a 0.1 mM MnCl₂ phantom were superimposed on the simulated curves. The constant value (dotted line) represents $T_2^{\text{estim}}/T_2 = 0.95$. Relevant experimental parameters were TR = 5 ms, $\alpha = (20^\circ, 40^\circ, 60^\circ, 80^\circ$ and 90°), $\phi_1 = 1^\circ$, $\phi_2 = 10^\circ$. Computational parameters were $T_1 =$ 886 ms, $T_2 = 86$ ms, TR = 5 ms, $\alpha = 5^\circ$ to 90° , in 5° steps, $\phi_1 =$ $1^\circ, \phi_2 = 10^\circ$.



FIG. 3. Impact of inaccuracy of T_1 on T_2 computation using Eq. 6: Numerical simulations (symbols) and analytical solution (lines) show that the sensitivity of T_2 to T_1 errors becomes more important with decreasing FA or T_1/T_2 ratio. Relevant computational parameters were: TR = 5 ms, $\alpha = 60^\circ$ or 80° , $\phi_1 = 1^\circ$, $\phi_2 = 15^\circ$.

inhomogeneous B_1+ . Figure 5a–d show a coronal slice of the 3D T_2^{estim} and T_2 maps and respective histograms obtained using Eq. 3 and 6, with and without FA correction. Close to coil extremities, T_2 was overestimated due to reduction in the FA, confirming the predictions of numerical simulation (Fig. 4). Respective T_2^{estim} and T_2 measurements for Fig. 5a–d, expressed as median (range P25–P75), were: (a) 75 (71–84) ms, (b) 66 (61–69) ms, (c) 93 (86–106) ms, and (d) 85 (83–87) ms. Note that T_1 and FA corrections were indispensable for accurate and homogeneous T_2 mapping.

For comparison, T_2 pSSFP maps were also calculated using the iterative approach outlined in the Theory section. T_2 measurements for Fig. 5e–f were: (e) 92 (85–104) ms and (f) 84 (81–86) ms.

Numerical Simulation: Influence of SNR and $\boldsymbol{\varphi}$

Impact of SNR on T_2 precision was evaluated through numerical simulation for a set of three SNR₁ levels. For realistic SNR₁ (\geq 50), precise and accurate T_2 measurements were obtained from muscle-like tissues at 3T ($T_1/T_2 = 40$) by setting $\phi_1 = 1^\circ$ and $\phi_2 = 15^\circ$. For simulated SNR₁ = 25, 50 and 100, T_2 was (mean \pm standard deviation) 36 ms \pm 1 ms, 36 ms \pm 2 ms and 36 ms \pm 5 ms, respectively. Keeping SNR₁ = 50 and decreasing ϕ_2 to 10° or 5° changed T_2 estimations to 36 ms \pm 3 ms and 39 ms \pm 6 ms, respectively.

In Vivo Validation: Human Thigh T_2 Mapping Following an Eccentric Exercise Session

Figure 6 displays T_2 maps (axial and sagittal views) acquired in the quadriceps muscles of a healthy volunteer, immediately before and on the 1st, 2nd, 3rd, and 10th day following an eccentric exercise session. Axial views correspond to representative medial and distal sections of the quadriceps muscles and their relative positions are indicated in the anatomical T_1 weighted images (solid lines). SNR₁ measured on pSSFP images

was higher than 50 for all analyzed muscles. Representative FA deviation maps derived from B_1 + measurements in the volunteer are also show in Fig. 6.

Before exercise, average quadriceps muscle T_2 was 34 (32–37) ms, which is in good agreement with the literature (37,38). Parametric maps detected large areas of T_2 increases at 2 days postexercise, revealing excessive muscle exposure to strain. T_2 changes were predominantly located in the distal portion of the vastus medialis (VM) muscle and close to the muscle–tendon junction, suggesting selective topography of strain distribution. In the distal portion of VM, T_2 reached its maximal value = 45 (42–47) ms at 2 days postexercise and progressively returned to baseline, reaching 37 (33–40) ms on the tenth day postexercise. No significant T_2 modifications were observed in VM on the contralateral side during the same time period.

A comparison between MSME and pSSFP T_2 estimations is displayed in Fig. 7. In Fig. 7a, T_2 measurements for both methods carried out in all quadriceps muscles and on all days were plotted against FA deviation. Error bars were omitted for the sake of clarity. On average, the standard deviation for both methods was \sim 3 ms. Figure 7a shows that agreement between both methods decreases for large FA deviation. This can be explained by the fact that FA errors were compensated in the T_2 -pSSFP method but not in MSME. Therefore, to limit the impact of B_1 + inhomogeneity in Bland-Altman analysis, only five slices localized at the center of the transmitter coil were considered. The good agreement between T_2 assessed by both methods is illustrated in Fig. 7b. The Bland-Altman analysis showed that \sim 95% of values (118 of 125) are within the limits of agreement (-8.2 to -0.7 ms), suggesting a normal distribution of differences. A systematic difference between the both methods was found (bias = -4.4 ms).



FIG. 4. Flip angle sensitivity in T_2 -pSSFP mapping: Percent change in T_2 derived values as determined by Bloch simulation for two tissue models ($T_1/T_2 = 10$ and $T_1/T_2 = 40$) as a function of FA deviation. In the presence of inaccurate FA, T_2 measurement presents a significant bias which becomes more important with increasing T_1/T_2 ratio (solid lines). Accurate T_2 quantification is achieved if actual FA is used in Eqs. 3 and 6 (dotted lines). Relevant computational parameters were: TR = 5 ms, $\phi_1 = 1^\circ$, $\phi_2 = 10^\circ$.



FIG. 5. T_2 mapping of a liquid phantom at 3T (reference $T_2 = 86$ ms): T_2 maps and respective histograms derived from Eq. 3 (**a**,**b**), Eqs. 3 and 6 (direct approach) (**c**,**d**) assuming $T_1 = 886$ ms and from Eqs. 8 to 10 (iterative approach) (**e**,**f**) assuming $T_1 = 886$ ms and starting $T_2 = 80$ ms. Accurate and precise T_2 mapping was only possible after concomitant T_1 and FA corrections for both approaches (**d**, **f**). Relevant experimental parameters were: TR = 5 ms, TE = 3 ms, $\alpha = 60^{\circ}$, $\phi_1 = 1^{\circ}$, $\phi_2 = 10^{\circ}$.



FIG. 6. In vivo skeletal muscle T_2 mapping at 3T: T_2 maps (axial and sagittal views) derived from 3D pSSFP scans. Images were acquired in quadriceps muscles of a volunteer, immediately before and on the 1st, 2nd, 3rd, and 10th day following an eccentric exercise session. FA deviation maps are also shown to illustrate the B_1 + inhomogeneity in the knee coil. Axial views correspond to representative medial and distal sections of the quadriceps muscles and its relative positions are indicated in the anatomical T_1 weighted images (black lines). Parametric maps present large areas of T_2 increases at two days postexercise, corresponding probably to muscle injury. T_2 changes were predominantly located in the distal portion of the vastus medialis (VM) muscle and close to the muscle-tendon junction (arrow). Experimental parameters for T_2 -pSSFP imaging were $\alpha = 60^\circ$, $\phi = 1^\circ$ and 15° , TR/TE = 6.3/2.8 ms, NEX = 2. All T_2 maps were corrected for B_1 + inhomogeneity and T_1 . Overall T_2 -pSSFP acquisition time was ~ 10 min. [Color figure can be viewed in the online issue, which is available at wileyonlinelibrary.com.]



FIG. 7. Comparison of T_2 in quadriceps muscles of a volunteer as measured by MSME and T_2 -pSSFP methods: (a) Overall T_2 measurements (all days, all slices, all ROIs) as a function of FA deviation (symbols). Error bars were omitted for the sake of clarity. On average, standard deviation for both methods was \sim 3 ms. Dashed lines are just guidelines. b: Bland-Altman plots showing the limits of agreement between T_2 as determined by pSSFP (Eq. 6) and standard MSME method. The center line represents the mean differences between the two methods, and the other two lines represent ± 1.96 SD from the mean. To limit the impact of B_1 + inhomogeneity in Bland-Altman analysis only five slices localized at the center of the transmitter coil were considered. Relevant experimental parameters for MSME scans were: TR = 3 s, 17 echo times (TE) range = 8.1 to 137.7 ms, in-plane resolution = $1.4 \times 1.4 \text{ mm}^2$, 11 slices, slice thickness = 8 mm, slice gap = 20 mm, acquisition time \sim 5 min. [Color figure can be viewed in the online issue, which is available at wileyonlinelibrary.com.]

In Vivo: T₂ Mapping in a Myopathic Patient

The potential of T_2 -pSSFP for quantitative assessment of muscular disease is illustrated in Fig. 8. The T_2 map obtained in a healthy volunteer with this sequence showed a homogeneous distribution of T_2 values (Fig. 8a), centered on 37 ms (Fig. 8e). The FA deviation map is also shown to illustrate the effectiveness of the pSSFP method for quantitative lower limb T_2 imaging in the presence of inhomogeneous B_1 +. Using the same pSSFP sequence and parameters, T_2 distribution was widely spread in the myopathic patient (Fig. 8c) and its median value was shifted to 44 ms (Fig. 8e). Regions of highly elevated T_2 (up to 180 ms) were visible in the patient T_2 map, reflecting a massive tissue edema. These same regions were observed as hypersignal in a fat suppressed T_2 w image (Fig. 8d), confirming the T_2 -pSSFP findings. In addition, all apparently normal heads of patient quadriceps (i.e., excluding edematous tissues) were abnormal with a median T_2 values >40 ms (P50/P25/P75 = 43/39/47 ms), a fact that was totally overlooked by visual inspection of T_2 w images.

DISCUSSION

The aim of this study was to investigate all experimental $(\alpha, \phi, \text{SNR})$ and tissue (T_1, T_2) parameters affecting the accuracy and precision of T_2 mapping with the T_2 -pSSFP technique. Analysis of the pSSFP equation allowed us to introduce a novel approach that takes into account the $(T_1/T_2)/\eta$ dependence of the T_2 -pSSFP measurements. In contrast to the original approach (24), which imposes the use of large FA as a prerequisite to eliminate T_1 dependence in Eq. 3, the herein presented method extends the application of the T_2 -pSSFP technique to lower FA. This is of importance because SAR concerns may put some constraints on the choice of large FA on clinical scanners, particularly at high field strengths. Moreover, SNR is reduced when large FAs are used, affecting T_2 accuracy.

Compared to the iterative algorithm recently introduced by Biery et al. (27) our method is computationally advantageous because T_2 estimation is directly performed using Eq. 6, without needed of a starting value for T_2 and most important, without time-consuming iterations.

Bloch simulations made possible an accurate prediction of pSSFP signal and derived T_2 measurements. They also helped to establish the limits in the approximate pSSFP model, particularly dependencies on α and ϕ .

Simulations and experiments both show that for tissues with $T_1/T_2 = 10$, Eq. 6 yields an accurate result for T_2 provided that T_1 is known. These results were obtained assuming perfect FA. For in vivo experiments at 3T, FA deviations up to 40% were observed in phantom and in human thigh. Experimental and numerical simulations indicated that without FA correction, relative T_2 error can reach 40% or more in the regions where B_1 + is very inhomogeneous. In this study, taking into account the measured FA distribution across the volume of interest resulted in an important improvement in T_2 accuracy and precision.

A potential objection to or limitation of the novel T_2 -pSSFP approach is the requirement for T_1 to be known. For homogeneous tissues, if a single T_1 is expected, an average T_1 value can be applied in Eq. 6. For heterogeneous tissues, rapid 3D mapping of T_1 can be carried out using the variable flip angle method (VFA) (19). It has been demonstrated that B_1 + inhomogeneity, inefficient RF spoiling and low SNR may reduce the accuracy and precision of T_1 measurements derived from VFA experiments (34,41,42). To take into account any potential discrepancy between true and apparent T_1 , the impact of T_1 error on T_2 measurements was analyzed. Figure 3 shows that sensitivity to T_1 is a function of (T_1/T_2) and α . For tissues with T_1/T_2 ratio ~ 10 (e.g., white and gray matter at 1.5T), sensitivity to T_1 is low for large FA. As example, setting $\alpha = 60^{\circ}$, a precision of 5% in T_2 can be obtained for these tissues if uncertainty (or systematic error) in T_1 is lower than 20%. For tissues with T_1/T_2 ratio $\gg 1$ (e.g., muscle at 3T) T_2 measurement is practically insensitive to T_1 errors for $\alpha \ge 60^\circ$.
A practical demonstration of our technique was given in human skeletal muscle imaging at 3T. In healthy muscles, T_2 measurements obtained from pSSFP experiments agreed well with literature values. B_1 + correction and relatively high SNR resulted in low scatter on T_2 values.

In vivo experiments demonstrated that T_2 -pSSFP was sensitive enough to detect the long-term and selective pattern of T_2 changes in muscle following eccentric exercise. Although we can only speculate about the mechanism behind the T_2 changes, since no blood analysis or muscle biopsies were carried out, other studies have identified delayed T_2 increase as a indicator of systemic inflammatory response (43,44). It is well documented that eccentric contractions are related to muscle damage and delayed muscle soreness (45). In our study, muscle soreness peaked between



2 and 4 days postexercise and gradually disappeared afterwards, suggesting a reduction in inflammatory activity. Finally, it has been suggested that much of the inflammation and damage is located at the muscle-tendon junction (MTJ), the interface between the connective tissue and myofibers (46). Our results seem to support this contention, at least with the eccentric exercise protocol tested here.

 T_2 -pSSFP was also used to assess muscle damage in a severe form of necrotizing myopathy. Severely edematous tissues, which were well detected by fat-suppressed T_2 w imaging, were confirmed by T_2 -pSSFP mapping. However, other areas in which T_2 -pSSFP pointed to a significant T_2 increase just appeared normal on T_2 w images, because simple visual analyses cannot properly assess the subtle changes in contrast between normal muscle and moderately inflamed muscle, relative to overtly "inflamed", necrotic or edematous muscle. This is a typical example of the many situations where quantitative evaluation of T_2 will provide greater sensitivity in the detection of muscle damage and characterization of complex changes than the subjective evaluation of T_2 w image contrast. The same will hold true for segments with uniform inflammation, which would go unnoticed on T_2 w images but which are easily be picked up with T_2 -pSSFP.

CONCLUSION

In summary, we have performed a comprehensive analysis of the T_2 -pSSFP method. The impact of each experimental and tissue parameter on T_2 estimation was identified, allowing for practical sequence optimization for in vivo applications. T_2 -pSSFP demonstrated robustness to B_0 inhomogeneities and efficient correction to FA errors, two essential characteristics for quantitative imaging at high field strength.

High resolution 3D T_2 maps of human skeletal muscle were obtained in a clinically acceptable examination time (<10 min for 1.2 mm isotropic acquisition). Because T_2 pSSFP is compatible with larger geometry, parallel MRI acceleration and fat-suppression techniques (including the 3pt-Dixon approach), it is expected that this method can improve the use of quantitative imaging in the studies of muscular dystrophies and inflammatory myopathies.

FIG. 8. Axial T_2 maps obtained from T_2 -pSSFP experiments carried out in a myopathic patient (a) and in a healthy volunteer (c). For comparison, a fat-suppressed T_2 weighted image from the same patient is displayed in (b). An FA deviation map measured in the volunteer is also shown to illustrate the asymmetric B_{1+} inhomogeneity in the thighs (d). Histograms extracted from T_2 maps are shown in (e). A homogeneous distribution of T_2 values, centered on 37 ms, is observed for the healthy volunteer (thin line), whereas for the patient (thick line), median T_2 is shifted to 44 ms. Note regions of increased T_2 (up to 180 ms) in the patient, reflecting muscle edema. Experimental pSSFP parameters were: inplane resolution = $1.4 \times 1.4 \text{ mm}^2$, slice thickness = 5 mm, 64 slices, $\alpha = 60^{\circ}$, $\varphi = 1^{\circ}$ and 15° , TR/TE = 6.3/2.8 ms, NEX =1. Total T_2 -pSSFP acquisition time was ~3 min. T_2 maps were corrected for B_1 + inhomogeneities and T_1 . SNR₁ was higher than 50 for all analysed muscles. Relevant experimental parameters for T2w imaging were: TR = 3 s, TE = 45 ms, Turbo-factor = 6, in-plane resolution = 1 \times 1 mm², 27 slices, slice thickness = 5 mm, slice gap = 5 mm, acquisition time \sim 5 min. [Color figure can be viewed in the online issue, which is available at wileyonlinelibrary.com.]

Finally, the conclusions outlined in this work are not only applicable to skeletal muscle imaging. Studies in human and animal brain, spinal cord and articular cartilage should also benefit from this novel technique.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank O. Bieri and C. Ganter for the useful comments and stimulating discussions, also A. Amadon and N. Boulant for providing AFI sequence, N. Decortes and J. Y. Hogrel for assistance in conducting the exercise protocol, and N. Azzabou for support in image processing.

APPENDIX A

Derivation of Eq. 1.

For small $\xi \phi$ and TR/ T_1 values, it is found (see Ref. 29, Eq. 35) that the complex pSSFP signal is approximately

$$S_{\phi}/S_{\rm eq} \approx i\Gamma\delta \cdot \frac{\sigma\delta - i\xi\phi}{[\sigma^2 - 2\eta\sigma]\cdot\delta^2 + \xi^2\phi^2}$$
 [A1]

where α is the RF flip angle, ϕ is the RF phase difference increment, Γ and ξ depend only on α (see Theory section), $\delta \equiv \text{TR}/T_1$, $\sigma \equiv -T_1/T_2(1 + \sqrt{1 + 2\eta T_2/T_1})$ and $\eta \equiv 0.5 \cdot (1 + \cos \alpha)/(1 - \cos \alpha)$.

Since $\ensuremath{\mathsf{pSSFP}}$ MRI signal is usually computed as the magnitude value, then

$$|S_{\phi}|/|S_{\rm eq}| \approx \Gamma \delta \frac{\sqrt{\sigma^2 \delta^2 + \xi^2 \phi^2}}{\sigma^2 \delta^2 + \xi^2 \phi^2 - 2\delta^2 \eta \sigma}$$
 [A2]

Defining $\lambda \equiv \delta \sigma / \xi$, then $\sigma^2 \delta^2 = \xi^2 \lambda^2$ and $\delta^2 \sigma = \xi^2 \lambda^2 / \sigma$

$$|S_{\phi}|/|S_{eq}| = \frac{\Gamma\delta}{\xi} \frac{\sqrt{\lambda^2 + \phi^2}}{\lambda^2 (1 - 2\eta/\sigma) + \phi^2} = \frac{\Gamma\delta}{\xi} \frac{\sqrt{\lambda^2 + \phi^2}}{k\lambda^2 + \phi^2} \qquad [A3]$$

Finally, the term $k \equiv 1 - 2\eta/\sigma$ can be evaluated

$$\begin{split} k &= 1 - 2\eta/\sigma = 1 - 2\eta \frac{1}{-\frac{T_1}{T_2} \left(1 + \sqrt{1 + 2\eta \frac{T_2}{T_1}}\right)} \\ &= \frac{\left(1 + 2\eta \frac{T_2}{T_1}\right) + \sqrt{1 + 2\eta \frac{T_2}{T_1}}}{\left(1 + \sqrt{1 + 2\eta \frac{T_2}{T_1}}\right)} = \sqrt{1 + 2\eta \frac{T_2}{T_1}} \end{split}$$
 [A4]

and

$$\lambda = \delta\sigma/\xi = -\frac{\mathrm{TR}}{T_1}\frac{T_1}{T_2}\left(1 + \sqrt{1 + 2\eta\frac{T_2}{T_1}}\right)\frac{1}{\xi} = -\frac{\mathrm{TR}}{T_2}\frac{(1+\kappa)}{\xi} \quad [\mathrm{A5}]$$

This completes the proof of Eq. 1.

APPENDIX B

Derivation of the Eq. 5 (extended T_2 -pSSFP model).

Starting from Eq. 3 and assuming that T_2 and T_2^{estim} are related by the following equation

$$T_2 = T_2^{\text{estim}}(1+x), \qquad [B1]$$

then

$$\left(\frac{1}{1+x}\right)^2 = \left(\frac{2 \cdot \text{TR}}{\xi \cdot T2}\right)^2 \left(\frac{S_{\phi 1}^2 - S_{\phi 2}^2}{S_{\phi 2}^2 + S_{\phi 1}^2 \phi_1^2}\right)$$
[B2]

Defining $\lambda' \equiv \frac{2 \cdot \text{TR}}{\xi \cdot T^2} (1 + x)$, we can rewrite Eq. B2 as

$$\frac{S_{\phi_1}^2}{S_{\phi_2}^2} = \frac{(\lambda')^2 + \phi_2^2}{(\lambda')^2 + \phi_1^2}$$
[B3]

Equation B3 is true for any small ϕ values (assuming that TR $\ll T_2$), then:

$$S_{\varphi}^2 \propto rac{1}{\left(\lambda'
ight)^2 + \varphi^2}$$
 [B4]

By comparing Eqs. 1 and B4 and setting $\phi = 0$ it is easy to demonstrate that $\lambda' = \kappa \lambda$. From the definition of $\lambda = (1 + \kappa)TR/(\xi \cdot T_2)$, it can be inferred that

$$\kappa(1+\kappa) = 2(1+x).$$
 [B5]

The term $\kappa(1+\kappa)$ can be expanded in a polynomial series in the $\eta(T_2/T_1)$ variable:

$$\kappa(1+\kappa) = 2 + 3\eta T_2/T_1 - (1/2)(\eta T_2/T_1)^2 + \dots$$
 [B6]

Then

$$x \approx (3/2)\eta T_2/T_1 - (1/2)(\eta T_2/T_1)^2$$
 [B7]

For $\eta(T_2/T_1) < 1$, Eq. B7 can be approximated in linear order yielding

$$x = (3/2)\eta T_2/T_1$$
 [B8]

This completes the proof of Eq. 5.

APPENDIX C

Starting from Eq. 6 we can write the error in T_2 estimation $(\Delta T_2 = \hat{T}_2 - T_2)$ corresponding to the error in T_1 estimation (ΔT_1) as

$$\Delta T_2 = \frac{a \cdot \hat{T}_1}{\hat{T}_1 - a \cdot b} - \frac{a \cdot T_1}{T_1 - a \cdot b}$$
[C1]

where \hat{T}_i corresponds to the biased estimation of the relaxation time T_i , $a = T_2^{\text{estim}}$ and $b = (3/2)\eta$. Then

$$\begin{split} \frac{\Delta T_2}{T_2} &= \left(\frac{a \cdot \hat{T}_1}{\hat{T}_1 - a \cdot b} - \frac{a \cdot T_1}{T_1 - a \cdot b}\right) / \frac{a \cdot T_1}{T_1 - a \cdot b} \\ &= \frac{a \cdot b \cdot T_1 - a \cdot b \cdot \hat{T}_1}{(\hat{T}_1 - a \cdot b) \cdot T_1} \\ &= -b \cdot \left(\frac{\hat{T}_1 - T_1}{\hat{T}_1}\right) \cdot \frac{\hat{T}_2}{T_1} \\ &= -b \cdot \left(\frac{\hat{T}_2}{\hat{T}_1}\right) \cdot \frac{\Delta T_1}{T_1} \end{split}$$
[C2]

The fractional uncertainty in ${\cal T}_2$ can therefore be written as

$$\frac{\Delta T_2}{T_2} = -(3/2)\eta \left(\frac{\hat{T}_2}{\hat{T}_1}\right) \cdot \frac{\Delta T_1}{T_1}$$
 [C3]

REFERENCES

- Mercuri E, Pichiecchio A, Allsop J, Messina S, Pane M, Muntoni F. Muscle MRI in inherited neuromuscular disorders: past, present, and future. J Magn Reson Imaging 2007;25:433–440.
- Wren TA, Bluml S, Tseng-Ong L, Gilsanz V. Three-point technique of fat quantification of muscle tissue as a marker of disease progression in Duchenne muscular dystrophy: preliminary study. AJR Am J Roentgenol 2008;190:W8–W12.
- Kan HE, Scheenen TW, Wohlgemuth M, Klomp DW, van Loosbroek-Wagenmans I, Padberg GW, Heerschap A. Quantitative MR imaging of individual muscle involvement in facioscapulohumeral muscular dystrophy. Neuromuscul Disord 2009;19:357–362.
- Gloor M, Fasler S, Fischmann A, Haas T, Bieri O, Heinimann K, Wetzel SG, Scheffler K, Fischer D. Quantification of fat infiltration in oculopharyngeal muscular dystrophy: comparison of three MR imaging methods. J Magn Reson Imaging 2011;33:203–210.
- Park JH, Vansant JP, Kumar NG, Gibbs SJ, Curvin MS, Price RR, Partain CL, James AE, Jr. Dermatomyositis: correlative MR imaging and P-31 MR spectroscopy for quantitative characterization of inflammatory disease. Radiology 1990;177:473–479.
- Maillard SM, Jones R, Owens C, Pilkington C, Woo P, Wedderburn LR, Murray KJ. Quantitative assessment of MRI T2 relaxation time of thigh muscles in juvenile dermatomyositis. Rheumatology (Oxford) 2004;43:603–608.
- Qi J, Olsen NJ, Price RR, Winston JA, Park JH. Diffusion-weighted imaging of inflammatory myopathies: polymyositis and dermatomyositis. J Magn Reson Imaging 2008;27:212–217.
- Walter G, Cordier L, Bloy D, Sweeney HL. Noninvasive monitoring of gene correction in dystrophic muscle. Magn Reson Med 2005;54: 1369–1376.
- Frimel TN, Walter GA, Gibbs JD, Gaidosh GS, Vandenborne K. Noninvasive monitoring of muscle damage during reloading following limb disuse. Muscle Nerve 2005;32:605–612.
- Pacak CA, Walter GA, Gaidosh G, Bryant N, Lewis MA, Germain S, Mah CS, Campbell KP, Byrne BJ. Long-term skeletal muscle protection after gene transfer in a mouse model of LGMD-2D. Mol Ther 2007;15:1775–1781.
- Majumdar S, Orphanoudakis SC, Gmitro A, O'Donnell M, Gore JC. Errors in the measurements of T2 using multiple-echo MRI techniques. I. Effects of radiofrequency pulse imperfections. Magn Reson Med 1986;3:397–417.
- Majumdar S, Orphanoudakis SC, Gmitro A, O'Donnell M, Gore JC. Errors in the measurements of T2 using multiple-echo MRI techniques. II. Effects of static field inhomogeneity. Magn Reson Med 1986; 3:562–574.
- Crawley AP, Henkelman RM. Errors in T2 estimation using multislice multiple-echo imaging. Magn Reson Med 1987;4:34–47.
- Poon CS, Henkelman RM. Practical T2 quantitation for clinical applications. J Magn Reson Imaging 1992;2:541–553.
- Oh J, Han ET, Pelletier D, Nelson SJ. Measurement of in vivo multicomponent T2 relaxation times for brain tissue using multi-slice T2 prep at 1.5 and 3 T. Magn Reson Imaging 2006;24:33–43.
- Lebel RM, Wilman AH. Transverse relaxometry with stimulated echo compensation. Magn Reson Med 2010;64:1005–1014.
- Sled JG, Pike GB. Correction for B(1) and B(0) variations in quantitative T(2) measurements using MRI. Magn Reson Med 2000;43: 589–593.
- Schmitt P, Griswold MA, Jakob PM, Kotas M, Gulani V, Flentje M, Haase A. Inversion recovery TrueFISP: quantification of T(1), T(2), and spin density. Magn Reson Med 2004;51:661–667.
- Deoni SC, Rutt BK, Peters TM. Rapid combined T1 and T2 mapping using gradient recalled acquisition in the steady state. Magn Reson Med 2003;49:515–526.
- Newbould RD, Skare ST, Alley MT, Gold GE, Bammer R. Threedimensional T(1), T(2) and proton density mapping with inversion recovery balanced SSFP. Magn Reson Imaging 2010;28:1374–1382.
- 21. Deoni SC. Transverse relaxation time (T2) mapping in the brain with off-resonance correction using phase-cycled steady-state free precession imaging. J Magn Reson Imaging 2009;30:411–417.
- Crooijmans HJ, Gloor M, Bieri O, Scheffler K. Influence of MT effects on T(2) quantification with 3D balanced steady-state free precession imaging. Magn Reson Med 2010;65:195–201.

- Crooijmans HJ, Scheffler K, Bieri O. Finite RF pulse correction on DESPOT2. Magn Reson Med 2011;65:858–862.
- Bieri O, Scheffler K, Ganter C. Fast T2 Mapping Using Partially Spoiled Steady State Free Precession (T2-pSSFP). In: Proceedings of the 17th Annual Meeting of ISMRM, Honolulu, Hawaii, USA, 2009. p2634.
- Bieri O, Scheffler K, Ganter C. T1 Corrected Fast T2 Mapping Using Partially Spoiled SSFP. In: Proceedings of the Annual Meeting of ISMRM-ESMRMB, Stockholm, Sweden, 2010. p3715.
- Loureiro de Sousa P, Vignaud A, Cabrol L, Carlier PG. Simultaneous T1 and T2 mappings using partially Spoiled Steady State Free Precession (pSSFP). In: Proceedings of the Annual Meeting of ISMRM-ESMRMB, Stockholm, Sweden, 2010. p2968.
- Bieri O, Scheffler K, Welsch GH, Trattnig S, Mamisch TC, Ganter C. Quantitative mapping of T2 using partial spoiling, Magn Reson Med 2011;66:410–418.
- Bernstein M, King K, Zhou X.Handbook of MRI pulse sequences. Academic Press, Boston, MA, 2004.
- Ganter C. Steady state of gradient echo sequences with radiofrequency phase cycling: analytical solution, contrast enhancement with partial spoiling. Magn Reson Med 2006;55:98–107.
- Schick F. Whole-body MRI at high field: technical limits and clinical potential. Eur Radiol 2005;15:946–959.
- Dietrich O, Reiser MF, Schoenberg SO. Artifacts in 3-T MRI: physical background and reduction strategies. Eur J Radiol 2008;65:29–35.
- 32. Storey P, Lee V, Sodickson D, Santoro D, Zhang B, Lim R, Atanasova I, Stoffel D, Chen Q, Wiggins G. B1 Inhomogeneity in the Thigh at 3T and Implications for Peripheral Vascular Imaging. In: Proceedings of the 17th Annual Meeting of ISMRM, Honolulu, Hawaii, USA, 2009. p425.
- Sinclair CD, Samson RS, Thomas DL, Weiskopf N, Lutti A, Thornton JS, Golay X. Quantitative magnetization transfer in in vivo healthy human skeletal muscle at 3 T. Magn Reson Med 2010;64: 1739–1748.
- Preibisch C, Deichmann R. Influence of RF spoiling on the stability and accuracy of T1 mapping based on spoiled FLASH with varying flip angles. Magn Reson Med 2009;61:125–135.
- 35. Yarnykh VL. Actual flip-angle imaging in the pulsed steady state: a method for rapid three-dimensional mapping of the transmitted radiofrequency field. Magn Reson Med 2007;57:192–200.
- Nehrke K. On the steady-state properties of actual flip angle imaging (AFI). Magn Reson Med 2009;61:84–92.
- Gold GE, Han E, Stainsby J, Wright G, Brittain J, Beaulieu C. Musculoskeletal MRI at 3.0 T: relaxation times and image contrast. AJR Am J Roentgenol 2004;183:343–351.
- Pai A, Li X, Majumdar S. A comparative study at 3 T of sequence dependence of T2 quantitation in the knee. Magn Reson Imaging 2008; 26:1215–1220.
- Kellis E, Baltzopoulos V. Isokinetic eccentric exercise. Sports Med 1995;19:202–222.
- Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. Lancet 1986;1: 307-310.
- 41. Cheng HL, Wright GA. Rapid high-resolution T(1) mapping by variable flip angles: accurate and precise measurements in the presence of radiofrequency field inhomogeneity. Magn Reson Med 2006;55: 566-574.
- Schabel MC, Morrell GR. Uncertainty in T(1) mapping using the variable flip angle method with two flip angles. Phys Med Biol 2009;54: N1–N8.
- Foley JM, Jayaraman RC, Prior BM, Pivarnik JM, Meyer RA. MR measurements of muscle damage and adaptation after eccentric exercise. J Appl Physiol 1999;87:2311–2318.
- 44. Marqueste T, Giannesini B, Fur YL, Cozzone PJ, Bendahan D. Comparative MRI analysis of T2 changes associated with single and repeated bouts of downhill running leading to eccentric-induced muscle damage. J Appl Physiol 2008;105:299–307.
- Proske U, Morgan DL. Muscle damage from eccentric exercise: mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications. J Physiol 2001;537(pt 2):333–345.
- Järvinen TA, Järvinen TL, Kääriäinen M, Kalimo H, Järvinen M. Muscle injuries: biology and treatment. Am J Sports Med 2005;33:745–764.



Available online at www.sciencedirect.com

SciVerse ScienceDirect

Neuromuscular Disorders 22 (2012) S54-S67

www.elsevier.com/locate/nmd

Workshop report

Towards harmonization of protocols for MRI outcome measures in skeletal muscle studies: Consensus recommendations from two TREAT-NMD NMR workshops, 2 May 2010, Stockholm, Sweden, 1–2 October 2009, Paris, France

Kieren G. Hollingsworth^a, Paulo L. de Sousa^{b,c,d}, Volker Straub^{e,*}, Pierre G. Carlier^{b,c,d}

^a Newcastle Magnetic Resonance Centre, Institute of Cellular Medicine, Newcastle University, Newcastle upon Tyne, UK ^b Institute of Myology, Paris, France ^c CEA, I²BM, MIRCen, IdM NMR Laboratory, Paris, France ^d UPMC University Paris 06, Paris, France ^e Institute of Genetic Medicine, Newcastle University, Newcastle upon Tyne, UK

1. Introduction

A TREAT-NMD workshop on "Skeletal Muscle NMR Imaging: Advanced Quantitative Imaging, Image Registration and Segmentation, Texture Analysis, Pattern Recognition, Imaging Registries", organized by Pierre G. Carlier and Volker Straub, was held in Paris. France on 1-2 October 2009 and assembled a group of 35 experts in muscular MRI and in medical imaging processing (for list of participants see Section 8) from seven countries (Belarus, France, Italy, UK, United States, Switzerland and The Netherlands). A second workshop was held in Stockholm, Sweden on 2 May 2010 with some common participants. Over the course of these two meetings the participants discussed the advantages and drawbacks of various MRI methods to provide non-invasive outcome measures for neuromuscular diseases (NMD). During the Paris workshop, the need for harmonization of MRI protocols was agreed. Three protocols were priority selected: (I) Wholebody T_1 -weighted (T_1w) imaging, for the screening of disease extension; (II) Proton-density weighted (PDw) imaging with water-fat separation, for the quantitation of fatty infiltration; and (III) Parametric T₂ imaging, for the quantitation of inflammation.

 T_1 w images were considered by participants to be most appropriate for anatomical mapping and for determining muscle cross-sectional area or volume. Three-point Dixon (3pt-Dixon) PDw MRI was considered preferable to T_1 w imaging for lipid quantification. 3pt-Dixon MRI is a relatively fast technique, and it could be used to monitor changes in muscle fat over weeks or months, which may be a good predictor of disease progression. T_2 measurement was recommended as an approach to quantify muscle oedema, necrosis or inflammation within specific muscles or muscle groups.

This report serves to summarize the consensus recommendations for these three protocols.

2. Objective

The objective of this guideline is to propose and discuss a valid methodology to be used in NMD patients:

- To assess qualitative involvement of muscle and topography of neuromuscular lesions using T₁w imaging;
- To quantify fatty infiltration using PDw imaging with water-fat separation;
- (3) To assess and quantify muscle oedema, necrosis or inflammation in neuromuscular diseases, using T₂ measurements.

Fat infiltration of muscles is a marker of disease progression in many neuromuscular diseases, in particular the muscular dystrophies. The topographic distribution of

^{*} Corresponding author. Address: Institute of Human Genetics, University of Newcastle upon Tyne, International Centre for Life, Central Parkway, Newcastle upon Tyne NE1 3BZ, UK. Tel.: +44 0 1912418655/ 8762; fax: +44 0 1912418770.

E-mail address: volker.straub@ncl.ac.uk (V. Straub).

^{0960-8966/\$ -} see front matter © 2012 Published by Elsevier B.V. http://dx.doi.org/10.1016/j.nmd.2012.06.005

fatty degenerative changes across different muscle groups can be indicative of the underlying genetic defect and assist in the selection of more appropriate diagnostic tests [1].

Routine T_1 w imaging is available on all MRI scanner platforms and can give an indication of the presence or absence of muscular fat infiltration. Typically it has been used to provide qualitative assessment of fat infiltration according to pre-agreed criteria.

Although routine T_1w imaging can give an indication of the presence or absence of muscular fat infiltration, it is difficult to extract quantitative data from these images, due to the variable background signal of normal and diseased muscles, as well as B_1 inhomogeneities. Detailed comparison of such images acquired among different centres is difficult because of the variety of sequences and configurations used. The semi-quantitative staging based on T_1w images lacks the sensitivity required to detect small muscle composition changes in longitudinal studies.

Proton density weighted imaging (PDw) with water–fat separation is a quantitative alternative to T_1 w imaging. It aims to monitor minor changes in muscle fat content over weeks or months, which may be a good predictor of disease progression.

Spectrally Selective Excitation (SSE) of water or fat resonances can also very simply be carried out in association with PDw in standard spin-echo (SE) or gradient-echo (GE) sequences. By combining the result of the water only images (W) and fat only images (F), fat infiltration can potentially be quantified. When B_0 (the main magnetic field) and B_1 are sufficiently homogeneous, which is an absolute prerequisite, SSE is the easier way to perform PDw for fat quantification in muscles. SSE requires neither complex acquisitions nor complicated post-processing to generate F and W images. However, SSE is much less robust than 3pt-Dixon vis-à-vis B_0 and B_1 . In challenging anatomical areas, such as the neck, extremities, off-isocentre imaging, large field-of-view (FOV) imaging and around metal implants, the SSE technique will probably fail due to the B_0 and B_1 inhomogeneities. Three-point Dixon methods circumvent some of these problems by acquiring three echoes at different echo times, permitting variations in B_0 across the image to be taken into account. The chemical shift between water and fat is exploited to generate separate fat and water images.

While 3pt-Dixon PDw can be performed in a single acquisition, two acquisitions are needed to perform SSE PDw, increasing the total acquisition time. Additionally, since three echoes are combined in the 3pt-Dixon PDw, the resultant images can have up to \sim 2.5-fold better SNR (signal to noise ratio) than SSE PDw images.

The visual assessment of oedema or inflammation from T_2 -weighted (T_2w) images is based on the subjective estimation of contrast existing between "healthy" muscle signal and hyperintense "inflamed", necrotic or oedematous muscle. Diffuse muscle inflammation, necrosis or oedema may therefore be difficult to detect. Non-uniformity on T_2w images due to inhomogeneous transmitter and/or

receiver coil profiles may preclude correct description of lesion extent by visual analysis.

The measurement of T_2 is the solution to these issues. The quantitative evaluation of T_2 , instead of T_2 contrast, should be able to detect changes in the muscle with higher sensitivity, precision and reproducibility. Also, if properly measured, T_2 determination is platform-independent, which is a decisive advantage in multi-centre studies.

3. Scope and applicability

These guidelines are intended to provide practical advice and recommendations which should be achievable for the majority of clinical MRI scanners with field strengths at 1.5 T and 3.0 T. They are primarily addressed to all people with some MRI background and involved in protocol preparation (radiologists, physicists, engineers, clinical scientists, etc.).

Although this guideline may also be useful for animal applications and human applications at fields beyond 3 T, the proposed parameters have not been optimized for the higher field strengths encountered in such studies: other considerations and optimizations may apply.

4. Safety guidelines

MRI cannot be used in certain individuals – those with cardiac pacemakers, aneurysm clips, or who are severely claustrophobic.

Specific Absorption Rate (SAR) concerns may be an important limitation for T_2 measurements, particularly at 3 T and/or if the body coil is used as transmitter coil. Whenever possible, use a dedicated volume transmitter/ receiver coils to reduce SAR.

5. Protocols

Subject positioning: It is desirable to standardize the positioning of the imaging slices as much as possible, particularly where a longitudinal or multi-centre study is being performed. A local study decision will need to be taken about the anatomical coverage of the acquisition.

5.1. T_1w imaging

5.1.1. Setting up the protocol

The best type of MR imaging for the application will be a fast spin echo sequence (typically called TSE on the Philips and Siemens platforms, and FSE on the GE platform). A relatively short TR is used to create a weighting where fat structures (subcutaneous fat, bone marrow, infiltrated fat) are bright and healthy muscle is relatively dark.

Usually images will be acquired as multiple axial or coronal 2D slices to cover the whole-body anatomy, though 3D spin echo applications are now available on a small number of scanners and can be made to have equivalent contrast.

Table 1
Recommended T ₁ w acquisition parameters for 1.5 T and 3 T.

Parameter	1.5 T scanner	3 T scanner
(a) Lower limb studies – axial sections		
TR (repetition time) ^a	500	670
TE (echo time) ^b	10	10
Fast echo factor ^c	3	3
Slice thickness (mm)	5	5
Interslice gap (mm) ^d	10	10
Bandwidth/water-fat shift ^e	Maximum/minimum	Maximum/minimum
Acquisition Matrix size	256×192	256×192
Reconstruction Matrix size	512×384	512×384
Field of view (mm, $RL \times AP$)		
Child	380 x 285	380 x 285
Adult (non-obese)	410 x 307.5	410 x 307.5
Number of averages ^{f,g}	2	2
Refocussing angle ^j	As set by manufacturer (110–150°)	As set by manufacturer (110–150°)
(b) Whole-body studies – axial sections ^h		
TR (repetition time) ^a	631	480
TE (echo time) ^b	16	10
Fast echo factor ^c	4	10
Slice thickness (mm)	6	8
Interslice gap (mm) ^d	1	1.6
Bandwidth/water-fat shift ^e	Maximum/minimum	Maximum/minimum
Acquisition Matrix size	512×384	512×213
Reconstruction Matrix size	512×384	512×213
Field of view (mm, $RL \times AP$)		
Head	400 imes 280	300×240
Calves and feet	420 imes 420	500 imes 300
Thighs	450 imes 450	
Abdomen	500×500	
Number of averages ^{f,g}	3	2
Refocussing angle ^j	As set by manufacturer (110–150°)	As set by manufacturer (110–150°)
(c) Whole-body studies – coronal sections ^{h,i}		
TR (repetition time) ^a	573	600
TE (echo time) ^b	18	9
Fast echo factor ^c	4	10
Slice thickness (mm)	6	5
Interslice gap (mm) ^d	1	3
Bandwidth/water-fat shift ^e	Maximum/minimum	Maximum/minimum
Acquisition Matrix size	512×336	384×307
Reconstruction Matrix size	512 × 336	384×307
Field of view (mm, $RL \times AP$)	530×371	500×500
Number of averages ^{f,g}	1	1

^a The T₁ of muscle and fat increases with field strength. These values keep an equivalent contrast.

^b Available echo times will vary with manufacturer, image resolution and bandwidth used; TE should be minimised to avoid T₂ weighting.

^c Known as TSE factor, (Philips and Siemens) or as FSE factor (GE).

^d The definition of the gap varies between manufacturers. Here the centre to centre distance between adjacent images is 10 + 5 = 15 mm.

^e Failure to minimise the water-fat shift will lead to overlapping of muscle with subcutaneous fat.

^f The rf coil used for acquisition will vary between centres. It is optimal if closely fitting surface coils can be used as these will give maximum SNR. On some platforms (Siemens) it is possible to combine coils to provide large coverage in one acquisition. Sometimes using a greater number of averages on the in-built body coil will be acceptable and preferable for patients with limited mobility.

 g The acquisition time of such imaging would typically be ~3.5 min per 16 slices acquired. On a 3 T scanner it may not be possible to acquire more than 16 slices without multi-station imaging to preserve image homogeneity. On a 1.5 T scanner more slices may be available. An acquisition from ankle to iliac crest with these parameters would take ~14 min.

 $^{\rm h}$ A breath-hold technique must be used for imaging the thorax, typically with 5–7 slices acquired for each breath-hold, allowing anteroposterior coverage in the axial or coronal plane in six breath holds.

ⁱ On some platforms (Siemens) it is possible to generate seamless whole-body coronal image by aligning and registering of individual images.

^j Refocussing angles within these sequences are reduced from 180° to reduce overall SAR. Contrast is unlikely to be greatly affected by the precise angle, but equivalence of images should be checked at the stage of quality control.



Fig. 1a. Examples of whole-body axial T₁w images in a Pompe disease patient, using acquisition parameters such as described in the Section 5.1. (Table 1b).



Fig. 1b. Examples of whole-body coronal T₁w images in a Pompe disease patient, using acquisition parameters such as described in the Section 5.1. (Table 1c).

Suggested T_1w acquisition parameters for 1.5 T and 3 T scanners and examples of whole body T_1w images are presented (Table 1a–c, Fig. 1a and Fig. 1b):

5.2. PDw imaging with water-fat separation

5.2.1. Using Spectrally Selective Excitation (SSE)

The prerequisite is a homogenous B_0 field. B_0 drift, expressed in Hz, across the volume of interest must be well below the bandwidth of the RF selective excitation scheme. Typical parameters for lower limb 2D and 3D SSE PDw acquisitions would be as follows (Table 2a and b):

An example of 3D SSE PDw imaging is displayed in Fig. 2.

5.2.2. Using 3pt-Dixon technique

For the purposes of these guidelines it is assumed that a gradient echo sequence is to be used (Philips: FFE, Siemens: FLASH, GE: SPGR).

The 3pt-Dixon technique requires three gradient echo images at three different echo times to be acquired, with the echo times determined by the field strength of the magnet. Usually, one proceeds with two acquisitions where the water and fat contributions are in phase (i.e. water and fat signal add up in the amplitude image) and one acquisition where the water and fat contributions are out of phase (i.e. the water and fat signal intensities subtract) (Fig. 3). It is also possible to perform 3pt-Dixon acquiring two outof-phase and one in-phase images.

Table 2

Recommended SSE PDw acquisition parameters for 1.5 T and 3 T (see Table 3 for footnotes).

Parameter	1.5 T scanner	3 T scanner
(a) Typical parameters for lower limb 2D		
TR (repetition time), ms ^a	100 (minimum)	100 (minimum)
TE (echo times), ms ^b	4.4	4.6
	=water-fat "in phase" condition	=water-fat "in phase" condition
Slice thickness (mm)	10	10
Interslice gap ^c (mm)	5	5
FA (flip angle), degrees	10 (maximum)	10 (maximum)
Bandwidth/water-fat shift ^d	Maximum/minimum	Maximum/minimum
FOV (mm)		
Single leg (calf, thigh)	200×200	200 imes 200
Number of averages	Preferably 4 or above	Preferably 4 or above
(b) Typical parameters for lower limb 3D		
TR (repetition time), ms ^a	10 (minimum)	10 (minimum)
TE (echo times), ms ^b	4.4	4.6
	=water-fat "in phase" condition	=water-fat "in phase" condition
Spatial resolution (mm ³)		
Single leg (calf, thigh)	$1.125 \times 1.125 \times 1.125$	$1.125 \times 1.125 \times 1.125$
FA (flip angle), degrees ^a	3 (maximum)	3 (maximum)
Bandwidth/water-fat shift ^d	Maximum/minimum	Maximum/minimum
FOV (mm ³)		
Single leg (calf, thigh)	$288 \times 171 \times 180.8$	$288 \times 171 \times 180.8$
Both legs	$448 \times 224 \times 320$	$448 \times 224 \times 320$
Number of averages	1	1



Fig. 2. Example of Spectrally Selective Excitation PDw acquisition on a healthy thigh: 3D isotropic (1.2 mm) PDw images from a thigh at 2.89 T (3 T Siemens Magnetom Trio Tim) using spectrally selective pulses. Images were acquired using a standard gradient echo sequence (TR = 10 ms, FA = 3°) and a CP-Extremity as transmitter and receiver coil. (Left) F image, (middle) W image and (right) %F image = F/(F + W)*100.



Fig. 3. Example of 3-point Dixon PDw acquisition on a healthy thigh: 3pt-Dixon PDw images from a thigh at 2.89 T (3 T Siemens Magnetom Trio Tim). 3D isotropic (1.2 mm) proton density weighted images (TR = 10 ms, FA = 3°) were acquired using a standard gradient echo sequence and a CP-Extremity as transmitter/receiver coil. (a–c): Magnitude images corresponding to the "in-out-in" scheme; (d–f) respective phase images; (g and h) calculated F and W images; (i) %F image = F/(F + W)*100. In (b) muscle boundaries are enhanced because equal amounts of lipid and water in these regions will cause mutual signal cancellation.

The three echoes can either be collected in separate acquisitions, in two acquisitions or much better in a single acquisition. In case of separate acquisitions, it is essential that the patient does not move at all during the series of images, otherwise phase-shift artefacts will occur. It is desirable to acquire the three echoes as temporally closely to each other as possible to avoid patient movement effects.

Less commonly a spin echo sequence can be used where the position of the refocusing pulse is changed to achieve the same in-phase and out-of-phase effects. Typically this option requires pulse programming skills, is not provided by vendors, and further details of this approach can be found in Ref. [2]. On some SIEMENS platforms a 2pt-Dixon method is available as a standard application. It is based on a VIBE (Volumetric Interpolated Breath-hold Examination) GE sequence. The major drawback of this 2pt method is that fat-water separation cannot be solved unambiguously when fat/water content is ~1 (this is the case for muscle stage classified as "moderate involvement" in Mercuri's classification) (Fig. 4). With 3pt-Dixon, this problem does not exist because two in-phase images are combined to estimate B_0 [3]. If an "out-in-out" 3pt-Dixon approach is used, fat-water separation may fail when fat/water content is ~1, because out-of-phase images have a very low SNR and the B_0 map might not be correctly determined.



Fig. 4. Example of failure in fat-water separation (arrows) using 2pt-Dixon method, when fat/water content is ~1.

These sequences can be run as either 2D or 3D acquisitions. In either case the quality assurance (QA) procedure outlined below (Section 7.2) can be performed.

Typical parameters for lower limb 2D and 3D 3pt-Dixon PDw acquisitions would be as follows (Table 3a and b):

Example of lower limb 3D 3pt-Dixon PDw imaging is displayed in Fig. 5.

5.3. T_2 measurements

5.3.1. Repetitions of single SE images or Multiple SE acquisition

The simplest way to evaluate T_2 using standard MRI sequences is to use a single spin-echo (SE) sequence and to acquire a set of images with different echo time (TE) values. Acquisition time can be reduced using a multi-spin echo (MSE) sequence (Fig. 6a–c). In this sequence an echo train (with 4, 8, 16 or more echoes) is acquired following each 90° excitation pulse, and each echo is used to generate an image. This is a more efficient way to measure T_2 using clinical scanners and standard sequences.

5.3.2. Number of echoes and TE values

Theoretically, a minimum of two echoes is required, if mono-exponential decay can be assumed; however, in practice this results in the worst possible resolution of T_2 and amplitude. Using more echoes increases the accuracy by decreasing the scatter of solutions due to noise. Long T_2 components are better characterised using long TEs.

In a study carried out at 1.89T, it has been shown that T_2 relaxation of resting human muscle comprises at least five components [4]: The shortest ($T_2 < 5$ ms) components are attributed to water bound or in strong interaction with macromolecules. The longest components ($T_2 \approx 100$ and 300 ms) correspond to the "free" water in the interstitial

and vascular compartments, respectively. The intermediate T_2 components ($T_2 \approx 20$ and 40 ms) arise from intracellular water, the shorter T_2 being supposedly from water interacting with glycogen. For this study, multi-component T_2 was measured using a mono-voxel CPMG sequence with 2000 echoes and TE values ranged from 1.2 to 12,000 ms). In the same study, using a standard spin-echo sequence (six echo times, ranged from 18 to 108 ms), a single T_2 value of ≈ 30 ms was found. It is important to realize that the T_2 obtained with standard sequences is an apparent T_2 (T_2^{app}), which represents a weighted average of the five T_2 components.

For practical reasons, mono-exponential T_2 decay is usually assumed when standard imaging sequences are used to measure T_2 . As T_2^{app} depends on the experimental setup (inter-echo time, number of echoes, etc.), then, T_2 measurements assuming mono-exponential decay can be compared between different centres only if the same experimental parameters are applied.

Interleaved acquisition during the recovery time (TR) can be used for multi-slice T_2 measurements (Fig. 6b). Increasing the number of slices may increase TR, if a long echo train is used. As a consequence, the price paid for acquiring so many TE values is a lack of volume coverage.

For studies requiring multiple slices and large volume coverage, a smaller number of TE values may have to be acquired to produce a reasonable acquisition time: these TE values should contain the expected T_2 value [5]. For clinical and pre-clinical studies, multi-slice MSE acquisition can be performed using 8–16 echo times ranging from 8 to 130 ms.

Molecular diffusion during the inter-echo time may cause additional damping of the NMR signal and as a consequence, reduction in the apparent T_2 [6]. In order to minimise diffusion weighting in T_2 measurements using MSE, inter-echo time should be kept as short as possible.

Table 3

Recommended 3	3pt-Dixon PDw	acquisition	parameters i	for 1	.5 T and 3	Т.
---------------	---------------	-------------	--------------	-------	------------	----

Parameter	1.5 T scanner	3 T scanner
(a) Typical parameters for lower limb 21)	
TR (repetition time), ms ^a	100 (minimum)	100 (minimum)
TE (echo times), ms ^b	2.3, 4.6, 6.9	3.45, 4.6, 5.75
	=out-of-phase, in phase, out-of-phase	=out-of-phase, in phase, out-of-phase
Slice thickness (mm)	10	10
Interslice gap ^c (mm)	5	5
FA (flip angle), degrees	10 (maximum)	10 (maximum)
Bandwidth/water-fat shift ^d	Maximum/minimum	Maximum/minimum
FOV (mm)		
Single leg (calf, thigh)	200 imes 200	200 imes 200
Both legs	410×307.5	410×307.5
Body (non-obese)	410×307.5	410×307.5
Number of averages	2 minimum, preferably 4 or above	2 minimum, preferably 4 or above
(b) Typical parameters for lower limb 31	D	
TR (repetition time), ms ^a	10 (minimum)	10 (minimum)
TE (echo times), ms ^b	2.3, 4.6, 6.9	2.75, 3.95, 5.15
	=out-of-phase, in phase, out-of-phase	=in-phase, out-phase, in-phase
Spatial resolution (mm ³)		
Single leg (calf, thigh)	$1.125 \times 1.125 \times 1.125$	$1.125 \times 1.125 \times 1.125$
Both legs	$1 \times 1 \times 5$	$1 \times 1 \times 5$
FA (flip angle), degrees ^a	3 (maximum)	3 (maximum)
Bandwidth/water-fat shift ^d	Maximum/minimum	Maximum/minimum
FOV (mm ³)		
Single leg (calf, thigh)	288 imes 171 imes 180.8	$288 \times 171 \times 180.8$
Both legs	$448 \times 224 \times 320$	$448 \times 224 \times 320$
Number of averages	1	1

Use of TR ≤ 100 ms when FA = 10° or TR ≤ 10 ms when FA = 3° will cause T₁ weighting to increase in the final images and will prevent accurate quantification [19]. Hint: Optimization can be performed by acquiring PD images at different TRs for a given FA («90°). Measure signal intensity S in a healthy muscle ROI for each TR. Find the minimal TR for which there is not difference between S(TR min) and S measured at long TR (>muscle T₁). Some centres have chosen to use even longer TRs (such as 300 ms) to further reduce T₁ effects at the cost of signal-to-noise and time: conversely some units have used shorter TRs, assumed the T₁ values of the fat and water involved, and corrected for these post-acquisition. The proposed parameters occupy a middle ground, with minimal distortion and a short acquisition time.

^b Optimal in-phase and out-of-phase echo times must be found for each system, taking in account the true magnetic field strength B_0 and the multicomponent fat spectrum [19]. For instance, the parameters displayed in the Table 3a and b were optimized for a Philips Intera Achieva 3 T. Hint: Optimization can be performed by acquiring PDw magnitude and phase images at different TEs. Look at phase images and find echo times where there is no phase discontinuity between subcutaneous fat and muscle ("in-phase" condition) or where phase discontinuity is maximal ("out-of-phase" condition). Alternatively, it may be done by acquiring a proton spectrum, measuring the frequency shift between water and CH₂ and taking the reciprocal of this to find the time corresponding to a cycle. For example, 435 Hz corresponds to 2.3 ms for a full cycle at 3.0T, which means out-in-out is 1.15, 2.3, 3.45. Similarly, 218 Hz at 1.5 T leads to 4.6 ms for a full cycle therefore 2.3, 4.6, 6.9 as out-in-out. Finally, the proton resonance frequency supplied by the manufacturer can be used to calculate the field strength (assuming a constant fat-water chemical shift difference = 3.4 ppm) and hence the required TEs. ^c The definition of the gap varies between manufacturers. Here the centre-to-centre distance between adjacent images is 10 + 5 = 15 mm.

^d Two strategies are possible. The water-fat shift should be minimised to avoid overlap between muscle structures and the subcutaneous fat in the image, at the cost of SNR. Alternatively, water-fat shift can be maximised, with subsequent image realignment of the separated fat and water images, prior to calculation.

5.3.3. SAR (Specific Absorption Rate)

SAR concerns can limit the number of echoes and/or the number of slices, particularly at 3 T and/or if body coil is used as transmitter coil. The use of a rapid succession of 180-degree pulses can also lead to increased SAR, leading many manufacturers to specify lower angle refocusing pulses by default.

5.3.4. Main sources of errors in T_2 determination

There are several factors that can affect muscle T₂ quantification: Non-ideal slice pulse profiles, RF (B_1) and static (B_0) field inhomogeneities and incomplete fat suppression.

5.3.4.1. Non ideal slice profiles. Problem: Non-uniformities in the refocusing flip angle across the slice, especially at the slice edges, may reduce the refocusing efficiency and generate stimulated echoes. Stimulated echoes disrupt the T₂ decay of the spin-echoes and the T₂ curve will decay more slowly (estimated $T_2 > true T_2$) (Fig. 7).

Solution: This error can be partially alleviated using nonselective refocusing pulses [7] or increasing the refocusing slice thickness (reduce the slice gradient and broaden the bandwidth of the refocusing pulse). Set the 180 slice thickness to be more than 3 times the slice thickness of the 90-degree pulse [8]. Beware of slice cross-talk. Set the slice gap ≥ 180 slice thickness for multislice acquisition.



Fig. 5. Example of 3D - 3-point Dixon acquisition on human lower limb 3pt-Dixon images from lower limb in a LGMD2I patient were acquired at 2.89 T (3 T Siemens Magnetom Trio Tim). 3D (axial $1 \times 1 \times 5$ mm³) PDw images (TR = 10 ms, FA = 3°) using a standard gradient echo sequence with built-in body coil as transmitter and body-flex surface coils as receivers.

Maximise the interleaving of slice acquisition and choose long TR (Ideally, TR must be $\ge 3 \times T_1$).

5.3.4.2. *RF miscalibration and inhomogeneities. Problem*: Miscalibration or inhomogeneity of the radio frequency field (the B_1 field) may also generate stimulated echoes.

Solution 1: Use strong crusher gradients, placed around each refocusing pulse, to suppress stimulated echoes. In standard sequences, crusher gradients usually are of constant intensity. A most efficient scheme for crushing is to alternate gradient polarity and to reduce the gradient strength along the echo train [7,9].

In the presence of B_1 and B_0 inhomogeneities, the refocusing efficiency of each 180 pulse (the refocusing pulse) is

diminished. As a consequence, if crushing is used to eliminate the stimulated echoes, signal may be lost and the T_2 curve decays more quickly (estimated $T_2 < \text{true } T_2$) (Fig. 7). RF phase cycling schemes are ineffective in compensating the B_1 inhomogeneities when crusher gradients are used [9].

Use composite pulses to compensate for B_1 and B_0 inhomogeneities [10]. *Drawbacks*: higher-order composite pulses tend to be long, increasing both echo time and power deposition; usually composite pulses are non-slice-selective, precluding multi-slice acquisition.

Solution 2: If local B_1 and B_0 are known, the fractional refocusing efficiency can be evaluated pixel-by-pixel [10] to correct the T_2 estimation, with those voxels whose



Fig. 6. (a) Example source images for T_2 mapping on a DMD boy. Multislice MSE images with fat suppression (SPAIR) acquired in a 3 T Siemens Magnetom Trio Tim using a dedicated transmitter/receiver volume coil: TE increases from top-left (16.2 ms) to bottom-right (137.7 ms). (b) The same MSE acquisition as in (a), showing six slices at TE = 48.6 ms. (c) Computed T_2 map obtained from images shown in (a).

excitation pulse falls outside the range 90 ± 5 degrees rejected. *Drawbacks*: Supplementary acquisitions are needed to measure B_1 and B_0 . *Hint*: Fast sequences such as MAFI [11] can simultaneously measure B_1 and B_0 .



Fig. 7. Illustration of T_2 signal decay for imperfect refocusing pulses, with and without gradient crushers.

5.3.4.3. Fat signal contamination. Warning: Fat infiltration in muscle will increase T_2^{app} (Fat T_2^{app} is 165 ± 6 ms at 1.5 T and 133 ± 5 ms at 3.0T [12].

Solution 1: Perform fat suppression using spectrally selective methods. Drawback 1: Lipid suppression is very dependent on B_0 and B_1 homogeneities. Mispositioned fat saturation is not only inefficient, but can cause inadvertent saturation of the water signal. Drawback 2: Simple fat-sat scheme will not "hold" during a multi echo train. Drawback 3: Spectrally selective pulses can produce undesirable and uncontrolled magnetization transfer (MT) contrast in the muscle particularly when multi-slice scheme is used. MT does not affect the T₂ decays but it will reduce sensitivity in the T₂ determination by reducing SNR (signal to noise ratio). This problem has been observed using Spectral Selection Attenuated Inversion Recovery (SPAIR, SIEMENS) method. Users must check if fat-sat method generates MT effect by performing two MSE acquisitions, with and without fat suppression, in a healthy volunteer. Ideally, image intensity in both images must be identical in a non-fatty infiltrated muscle. In practice, MT effects can reduce image intensity more than 20% in the healthy muscle, when fat suppression is switched on.

Solution 2: Measure T_2^{app} in the subcutaneous fat, assuming mono-exponential signal decay. Estimate muscle T_2^{app} in a fatty infiltrated muscle region, assuming a bi-exponential signal decay (S = $A * \exp(-\text{TE}/\text{TE}_{muscle}^{app} + B * \exp(-\text{TE}/\text{TE}_{fat}^{app}))$), imposing the fat T_{2fat}^{app} value, estimated on the subcutaneous fat region (Fig. 8). A and B are floating parameters, which depend on the relative proton density, TR, T₁, and the coil receiver homogeneity. Note: Accuracy in T₂ estimation can be improved by using bi- and tri-exponential models for subcutaneous fat and fatty infiltrated muscle signal decay, respectively. Drawback: For accurate measurement of fat T₂, echo train must be extended to echo times =3 × fat T₂ (~500 ms at 1.5 T or ~400 ms at 3 T).

Solution 3: Perform MSE acquisition using chemical shift imaging for water-fat separation, such as 3pt-Dixon

Table 4



Fig. 8. Example of T_2 measurement in a polymyositis patient, using a tri-exponential model for the T_2 signal decay, as explained in Section 5.3.4. Multislice MSE images without fat suppression were acquired in a 3 T Siemens Magnetom Trio Tim using a set of phased-array surface coils as receiver coils.

Recommended acquisition parameters for T₂ measurements at 1.5 T and 3 T: Parameters must be adjusted to maximise the SNR.

arameter 1.5 T scanner		3 T scanner	
TR (repetition time) ^a , ms	2500 (minimum)	3000 (minimum)	
TE (echo times), ms	8–130 ms	8–130 ms	
Slice thickness (mm)	6–10	6–10	
Interslice gap ^b (mm)	$=1.5 \times$ slice thickness (minimum)	$=1.5 \times$ slice thickness (minimum)	
Number of echoes	16	16	
Bandwidth	Minimum	Minimum	
FOV (mm ²), Matrix size ^d			
Single leg (calf)	$135 \times 180, 208 \times 256$	$135 \times 180, 208 \times 256$	
Single leg (thigh)	$180 \times 180, 128 \times 128$	$180 \times 180, 128 \times 128$	
Number of averages ^c	Preferably 4 or above	Preferably 4 or above	
	(it depends on the SNR at the longest echo-time)	(it depends on the SNR at the longest echo-time)	

^a Short TR will reduce SNR, due to the T_1 -weighting in the muscles. These values keep an equivalent T_1 contrast.

^b The definition of the gap varies between manufacturers. Here the centre-to-centre distance between adjacent images is 10 + 15 = 25 mm, if slice thickness = 10 mm.

^c For single calf/thigh acquisition, typically at least 12 slices can be achieved within 5 min.

 d SNR can be increased by setting FOV to 200 \times 200 mm^2 for calf and thigh.

or IDEAL methods [13]. *Drawback 1*: This is a non-standard sequence. *Drawback 2*: Since many echoes (three or more) must be acquired between two refocusing pulses, there is less time available to perform interleaved multislice acquisition.

Solution 4: Perform multi-echo proton spectroscopy to distinguish fat and water contributions. *Drawback 1*: This either requires a voxel within a single muscle group to be picked, or a time-consuming CSI experiment to assess voxels within many muscle groups.

5.3.5. Setting up the MRI protocol

Accurate T_2 determination is strongly dependent on the image SNR. Use sensitive coil configurations such as surface coils for reception or dedicated volume transmitter/receiver volume coils to enhance SNR. For the purposes

of these guidelines it is assumed that an interleaved multi-slice 2D multi-spin echo sequence is to be used (Philips: TSE, Siemens: se_mc).

To prevent contamination by stimulated echoes, optimal crusher schemes are to be implemented [9]. These optimized crushers are not available by default in the standard sequences provided by vendors and require advanced sequence programming.

Typical acquisition parameters are given in Table 4.

6. Evaluation and interpretation of results

6.1. T_1w Imaging

Many different viewers can be used to perform the qualitative assessment of the images, including those supplied by the machine vendors. Independent and freely distributed software which is capable of displaying images for analysis such as ImageJ (http://rsbweb.nih.gov/ij/) or MRIcro (http://www.sph.sc.edu/comd/rorden/mricro.html) are ideal for multi-centre studies.

The image viewer must be capable of moving between the image sections as muscles must be assessed as a whole, and it must be possible to change the window and level of the images to an equivalent level. It is important that images are not viewed at widely differing window/level settings.

The viewer systematically views each entire muscle in turn and assesses it according to the following scale [14] modified from Refs. [15,16] (Table 5):

6.2. PDw imaging with water-fat separation

With the usual acquisition parameters, water and fat fractions per voxel, ROI or muscle are, strictly speaking, not obtainable. The three-point Dixon method will only give the percentage of water and fat signals in the image. There is a fraction of water bound or interacting with macromolecules that has very short T_2 and T_2^* and is therefore NMR invisible with conventional sequences. This fraction relates to the interstitial matrix and may expand in cases of interstitial fibrosis. In perfectly homogenous RF transmit and receive fields, local signal losses in PDw images would quantify this fibrotic fraction and would allow the quantitation of the real water and fat fractions as well as the fibrosis in muscles. Highly homogenous RF fields are rarely obtained, particularly with modern imagers. RF transmit and receive field corrections must be introduced before these estimations of muscle, fat and fibrosis fractions can be performed. These procedures are non standardized, are sub-optimal at the moment and are not widely available. This is why the percentage of water and fat signals in the image is currently used to quantify fatty infiltration in diseased muscles. For the reasons explained above, a 50% fat signal may not correspond to a fat fraction of 50% depending on the presence and extent of interstitial fibrosis in the same area.

Some MRI manufacturers are supplying processing routines for 3pt-Dixon in post-2009 software releases. If planning to use such routines, the quality assurance tests listed below must still be performed and satisfied. It is important to realize that some protocols supplied by vendors are designed for fat suppression rather than quantification.

If the manufacturer does not supply algorithms for turning the three images acquired into a final image with intensities given as "% fat in the MR signal", then it will be necessary to extract from the scanner the data with their real and imaginary components (i.e. not just the usual magnitude-corrected imaging data) and process them with the algorithm given in the Refs. [2,3,17]. If B_0 is very inhomogeneous in the volume of interest, phase unwrapping will be needed [3,17]. For fast and robust two- or three-dimensional phase unwrapping, we suggest the algorithm developed by Abdul-Rahman et al. [18]. This algorithm has been programmed in the C computer language. The source code is available free of charge (http://www.ljmu.ac.uk/ GERI/90208.htm).

If pure proton density weighting is achieved T_1 relaxation may be neglected and actual fat to water ratios are immediately available. If not, T_1 effects must be compensated for before presenting fat-to-water ratios. Studies using the 3pt-Dixon method usually assume that TE is very short compared to tissue T_2^* and signal decay is neglected. This is a reasonable assumption for skeletal muscle [3,19].

Program and code sharing between NMR centres is encouraged. A MATLAB script for 3pt-Dixon processing based on Ref. [3] has been developed by the NMR team at the Institute of Myology in Paris and may be freely available on request. Please contact P. Carlier (p.carlier@institut-myologie.org) for further information.

The units in which fat content is quoted should be uniform between centres in a study. The "% fat in the MR signal" is preferred, but it is important to recognize that species ratio is not equal to volume ratio. Methods for converting to other bases are outlined in [20].

Parallel imaging might be used to speed up acquisition in some protocols but this will require quality assurance to make sure that it does not introduce spatial heterogeneity. There are few published studies combining Dixon imaging with parallel imaging.

$6.3. T_2$ measurements

If SNR is sufficiently high (SNR > 10) for all echo times, T₂ can be estimated on a "pixel-by-pixel" basis and T₂ maps can be generated. Otherwise, a "representative"

 Table 5

 Description of the qualitative muscle grading scale

· · · · I ·	1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1
Grade	Description
0	Normal appearance
1	Early moth-eaten appearance with scattered small areas of increased signal
2a	Late moth-eaten appearance with numerous discrete areas of increased signal with beginning confluence, comprising less than 30% of the volume of the individual muscle
2b	Late moth-eaten appearance with numerous discrete areas of increased signal with beginning confluence, comprising 30–60% of the volume of the individual muscle
3	Washed-out appearance, fuzzy appearance due to confluent areas of increased signal
4	End stage appearance, muscle replaced by increased density of connective tissue and fat, with only a rim of fascia and neurovascular tissue distinguishable.

MSE signal decay curve can be generated by averaging signal intensities on a ROI (region of interest) in each MSE image. In both cases, T_2 can be estimated from a monoexponential fit to the signal decay curve using non-linear least-squares (NLLS) methods, as the Levenberg–Marquardt method. Confidence intervals for the T_2 estimation must be calculated. Software for the definition of regions of interest and to perform NLLS fitting is available. ImageJ would be particularly recommended as it is free of charge and universally available for most platforms, allows flexible drawing, analysis and transfer of ROIs between images (http://rsbweb.nih.gov/ij/). In addition, an ImageJ plugin (MRI Analysis Calculator) performs pixelwise T_2 calculations on NMR Image data (http://rsbweb.nih.gov/ij/ plugins/mri-analysis.html).

6.3.1. Influence of noise on estimation of T_2

Ideally, the mean signal intensity in a "pure noise" region must be zero, if noise has a Gaussian distribution. In practice, magnitude images and not complex images are used to perform T₂ calculations. Then, in a background region (the "noise" region) the mean signal intensity will be >0. If a long echo train is used and if the SNR is very low for the last echoes, the decay curve will become distorted (the image signal (S) will have an intensity comparable to the background noise signal (S_{noise}), which is biased), resulting in erroneous T₂ values. For S much greater than S_{noise} ($S \ge 5 \times S_{noise}$), the decay curve can be considered unbiased.

7. Quality assurance procedure

7.1. T_1w Imaging

Quality assurance for this qualitative measurement requires the agreement of several independent individuals or research centres who will read the images.

Images should be acquired on a healthy volunteer according to the above protocol and distributed to the readers. The readers will need to agree that the contrast between muscle and fat structures, the anatomical coverage and the resolution of the images match sufficiently to be able to perform a common analysis.

Where large anatomical areas are imaged, it is essential to make sure that image quality is preserved throughout.

7.2. PDw imaging with water-fat separation

Quality assurance for 3pt-Dixon and SSE methods can be provided by performing a phantom test (Fig. 9). Using a sample bottle (of at least 150 ml capacity), carefully introduce two layers of fluid, water and oil, to form two immiscible layers, with no emulsified droplets at the boundary. Allow to settle overnight if necessary. Introduce this to the same rf coil as used for the patients.

(i) For 2D acquisitions: using one of the MRI protocols detailed above, but with a slice thickness of 1–2 cm, acquire



Fig. 9. Example of QA procedure using silicone oil: (Top) QA phantom of oil layered on top of water. Taking a 20 mm slice and systematically advancing through the interface between the two materials gives a full range of different compositions which can be analysed and plotted against the expected composition (Bottom). The measurement can be confirmed by proton spectroscopy on the same slices, if desired.

images such that the slice thickness progressively moves through the water/fat interface, by an increment of 0.5– 1 mm each time. For SSE, repeat this procedure for each different spectral selection (water excitation and fat excitation). This will build up a series of images where the composition of the slice changes from 0% fat to 100% in known increments. Analysis of these images will yield a reference curve similar to the one seen (Fig. 9). (ii) For high resolution 3D acquisitions (e.g. 1.125 mm iso), repeat the procedure above but change the slice increment by 0.1 mm each time.

Further reassurance can be gained by performing the same acquisition volumes with ¹H spectroscopy and plotting these also (optional). Following these tests, the protocol should be run on a healthy volunteer to check for satisfactory definition of fat and water structures.

7.3. T_2 measurements

Stable and calibrated T_2 phantoms, with different T_1 and T_2 values representing a wide range of tissue-compatible values, must be used for checking stability of T_2 measurements over time. A set of 18 doped Gd gel phantoms is commercially available for about ϵ 2600 (http://www. diagnosticsonar.com). Recipes to produce phantoms with specified T_1 and T_2 values can be found in the Ref. [21]. Attention must be paid to the phantom temperature. Unless special precautions are taken, the measures made on T_2 phantoms are subject to uncertainty in temperature of about 2 °C, which corresponds to errors of about 5% in the T_2 estimation [21]. Finally, calibrated phantoms could be shared between centres to verify reproducibility in the measurements across centres.

8. List of participants

8.1. Paris workshop

Noura Azzabou, Pierre-Yves Baudin, Sabine Bensamoun, Pierre Carlier, Robert Carlier, Kristl Claeys, Jacques De Certaines, Alexander Dmitruk, Dirk Fischer, Benjamin Gilles, Monika Gloor, Anneriet Heemskerk, Jean-Yves Hogrel, Kieren Hollingsworth, Heinz Jungbluth, Hermien Kan, Oleg Konovalov, Vassili Kovalev, Paulo Loureiro De Sousa, Grégoire Malandain, Glenn Morrell, Vladimir Obraztsov, Nikos Paragios, Guy Poloni, Aliaksander Prus, Ihar Safonau, Chris Sinclair, Eduard Snezhko, Volker Straub, Jean-Laurent Thibaud, John Thornton, Alexander Tuzikov, Krista Vandenborne, Arkhipau Viachaslau, Glenn Walter.

8.2. Stockholm workshop

Pierre Carlier, Sean Forbes, Kieren Hollingsworth, Hermien Kan, Dimitrios Karampinos, Paulo Loureiro De Sousa, Glenn Morrell, Chris Sinclair, John Thornton, Glenn Walter.

9. Conflict of interest

None.

Acknowledgment

These workshops were sponsored by TREAT-NMD (http://www.treat-nmd.eu), an EU-funded FP6 Network of Excellence (EC Contract No. 036825).

References

 Mercuri E, Pichiecchio A, Allsop J, Messina S, Pane M, Muntoni F. Muscle MRI in inherited neuromuscular disorders: past, present, and future. J Magn Reson Imaging 2007;25(2):433–40.

- [2] Glover GH, Schneider E. Three-point Dixon technique for true water/fat decomposition with B0 inhomogeneity correction. Magn Reson Med 1991;18(2):371–83.
- [3] Bernstein MA, King KF, Zhou XJ, et al. Advanced pulse sequence techniques. In: Handbook of MRI pulse sequences. Burlington: Academic Press; 2004. p. 802–954.
- [4] Saab G, Thompson RT, Marsh GD. Multicomponent T2 relaxation of in vivo skeletal muscle. Magn Reson Med 1999;42(1):150–7.
- [5] Woermann FG, Barker GJ, Birnie KD, Meencke HJ, Duncan JS. Regional changes in hippocampal T2 relaxation and volume: a quantitative magnetic resonance imaging study of hippocampal sclerosis. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1998;65(5):656–64.
- [6] Frimel TN, Walter GA, Gibbs JD, Gaidosh GS, Vandenborne K. Noninvasive monitoring of muscle damage during reloading following limb disuse. Muscle Nerve 2005;32(5):605–12.
- [7] Hardy PA, Yue G. Measurement of magnetic resonance T2 for physiological experiments. J Appl Physiol 1997;83(3):904–11.
- [8] Pell GS, Briellmann RS, Waites AB, Abbott DF, Lewis DP, Jackson GD. Optimized clinical T2 relaxometry with a standard CPMG sequence. J Magn Reson Imaging 2006;23(2):248–52.
- [9] Poon CS, Henkelman RM. Practical T2 quantitation for clinical applications. J Magn Reson Imaging 1992;2(5):541–53.
- [10] Sled JG, Pike GB. Correction for B(1) and B(0) variations in quantitative T(2) measurements using MRI. Magn Reson Med 2000;43(4):589–93.
- [11] Amadon A, Boulant N. Simultaneous measurement of B0- and B1maps with modified Actual Flip Angle Imaging sequence. In: Intl Soc Mag Reson Med ISMRM, Toronto, 2008. p. 1248.
- [12] Gold GE, Han E, Stainsby J, Wright G, Brittain J, Beaulieu C. At 3.0 T: relaxation times and image contrast. AJR Am J Roentgenol 2004;183(2):343–51.
- [13] Li Z, Graff C, Gmitro AF, et al. Rapid water and lipid imaging with T2 mapping using a radial IDEAL-GRASE technique. Magn Reson Med 2009;61(6):1415–24.
- [14] Garrood P, Hollingsworth KG, Eagle M, et al. MR imaging in Duchenne muscular dystrophy: quantification of T1-weighted signal, contrast uptake, and the effects of exercise. J Magn Reson Imaging 2009;30(5):1130–8.
- [15] Lamminen AE. Magnetic resonance imaging of primary skeletal muscle diseases: patterns of distribution and severity of involvement. Br J Radiol 1990;63(756):946–50.
- [16] Mercuri E, Pichiecchio A, Counsell S, et al. A short protocol for muscle MRI in children with muscular dystrophies. Eur J Paediatr Neurol 2002;6(6):305–7.
- [17] Ma J. Dixon techniques for water and fat imaging. J Magn Reson Imaging 2008;28(3):543–58.
- [18] Abdul-Rahman HS, Gdeisat MA, Burton DR, Lalor MJ, Lilley F, Moore CJ. Fast and robust three-dimensional best path phase unwrapping algorithm. Appl Opt 2007;46(26):6623–35.
- [19] Bydder M, Yokoo T, Hamilton G, et al. Relaxation effects in the quantification of fat using gradient echo imaging. Magn Reson Imaging 2008;26(3):347–59.
- [20] Longo R, Pollesello P, Ricci C, et al. Proton MR spectroscopy in quantitative in vivo determination of fat content in human liver steatosis. J Magn Reson Imaging 1995;5(3):281–5.
- [21] Tofts P. Quantitative MRI of the brain: measuring changes caused by disease. Chichester, West Sussex; Hoboken, NJ: Wiley; 2003.

Fast Monitoring of T_1 , T_2 , and Relative Proton Density (M_0) Changes in Skeletal Muscles Using an IR-TrueFISP Sequence

Paulo Loureiro de Sousa, PhD, $^{1-3*}$ Alexandre Vignaud, PhD, 4 Servanne Fleury, BS, $^{1-3}$ and Pierre G. Carlier, MD, PhD $^{1-3}$

Purpose: To investigate the feasibility of fast and simultaneous assessment of T_1 , T_2 , and M_0 (relative proton density) changes in skeletal muscle studies using an inversion recovery true fast imaging with steady-state precession (TrueFISP) sequence.

Materials and Methods: NMR signal dynamics in calf muscles were analyzed under four different conditions: intravenous injection of a low-molecular weight Gd contrast agent (CA), postarterial occlusion reactive hyperemia, local cooling, and an exercise bout. Experiments were conducted on a clinical 3T whole-body scanner.

Results: At rest, average muscle T_1 and T_2 values obtained from the IR-TrueFISP experiments were 1.34 \pm 0.13 seconds and 45 \pm 5 msec, respectively (median \pm standard deviation). 1) Noticeable T_1 decreases (ΔT_1 max \approx -30%) were measured in the calf muscles after CA injection, while no significant changes were observed for T₂ and M_0 . 2) T_2 increased rapidly during reactive hyperemia and reached a peak value (+6%) at about 1 minute postischemia. During ischemia, a significant decrease was observed only in the soleus muscle. No significant paradigm-related changes in M₀ and T₁ were noted in all muscle groups, except in the m. soleus ($\Delta T_1 \approx +1\%$ during reactive hyperemia). 3) Opposite variations in muscle T_1 (ΔT_1 max $\approx \! -30\%$) and M_0 (ΔM_0 max $\approx \! +25\%$) associated with local cooling were detected. 4) Concomitant changes in T_1 (ΔT_1 max $\approx \!\!+15\%$), T_2 (ΔT_2 max $\approx \!\!+35\%$), and M_0 ($\Delta M_0 \mbox{ max} \approx \!\! +16\%$) were observed in the activated muscles following the exercise bout.

Conclusion: IR-TrueFISP was sufficiently fast and sensitive to detect small and transient T_1 , T_2 , and M_0 changes in the calf muscles under different experimental conditions. The sequence offers a time-resolution adequate to track rapid physiological adaptations in skeletal muscle.

³UPMC University Paris 06, Paris, France.

⁴SIEMENS Healthcare, Saint Denis, France.

View this article online at wileyonlinelibrary.com.

Key Words: SSFP; IR-TrueFISP; quantitative MRI; skeletal muscle

J. Magn. Reson. Imaging 2011;33:921–930. © 2011 Wiley-Liss, Inc.

NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE (NMR) has the capability to monitor a range of physiological and biochemical variables during muscle activation or confrontation with challenges. Combined with spectroscopy, functional imaging has been proposed as an optimal tool for dynamic studies of muscle perfusion, oxygenation, and energetics (1). For physiological applications as well as for muscle composition studies, quantitative imaging exploits the dependency of NMR variables $(T_1, T_2, T_2^*, relative spin density [M_0],$ magnetic susceptibility $[\chi]$, etc) on tissue characteristics. For example, muscle perfusion and capillary oxygenation changes can be monitored, quantitatively for the former, semiquantitatively for the latter, using sequences specifically sensitized to T_1 and T_2^* , respectively (2–6).

However, typically, quantitative NMR imaging (qMRI) addresses only a single NMR variable at a time. For the sake of simplicity, or even more for intractable methodological constraints, qMRI may assume the invariance of the other physical parameters. As an example, the standard arterial spin labeling (ASL) model used for tissue perfusion calculation presupposes that blood and muscle T_1 remain constant during muscle activation (6,7). However, it has been shown that muscle T_1 can vary during exercise as a consequence of temperature increase or of water shift between intra- and extracellular compartments (8–10).

Therefore, since muscle physiological adaptations during stress or activation can simultaneously impact several NMR physical variables, monoparametric NMR imaging quantification may not be able to account for the complexity of muscle physiology. Some attempts have been made to perform a multiparametric NMR monitoring of skeletal muscle (8–12). Interleaved acquisition of standard spin-warp sequences with variable repetition time, inversion time, or echo times

¹Institute of Myology, Paris, France.

²CEA, I²BM, MIRCen, IdM NMR Laboratory, Paris, France.

^{*}Address reprint requests to: P.L.d.S., NMR Laboratory AIM-CEA, Institut de Myologie, Bat Babinski, G.H. Pitié-Salpêtrière, 75651 Paris Cedex 13, France. E-mail: p.loureiro@institut-myologie.org Received August 2, 2010; Accepted January 7, 2011. DOI 10.1002/jmri.22511

have been proposed for these multiparametric measurements. The main drawback of using interleaved sequences and variable delay times is a low temporal resolution compared to the physiological time scales.

In the present work we investigated the feasibility of fast and simultaneous measurement of T_1 , T_2 , and M_0 using an inversion recovery true fast imaging with steady-state precession (IR-TrueFISP) sequence (13). The main advantage of this method is the possibility of performing dynamic multiparametric measurements in a single acquisition protocol, with relatively high temporal resolution. The feasibility and accuracy of this technique for static T_1 , T_2 , and M_0 measurements has previously been demonstrated in phantoms and in human brains (13).

Our aim was to demonstrate the potential of this method specifically for dynamic skeletal muscle applications. Four in vivo experiments purposely designed to cause variation of single or multiple parameters were carried out.

Theory

The use of TrueFISP imaging for continuous sampling of magnetization recovery after spin inversion was originally proposed for fast T_1 measurements (14) and subsequently extended for simultaneous T_1 , T_2 , and M_0 measurements (13). A complete description of the method was previously given by Schmitt et al (13).

In an IR-TrueFISP experiment, equal and coherent radiofrequency (RF) pulses of alternating flip angle (FA) $\pm \theta$ are periodically applied to the spin system after an inversion pulse. These pulses drive the magnetization to a final dynamic equilibrium state, the so-called steady-state free precession (SSFP) (15). It has been theoretically and experimentally demonstrated that the steady state builds up exponentially with a time constant T_1^* ($T_1^* \leq T_1$, T_2) dependent on T_1 and T_2 (16):

$$\mathbf{S}(t) = \mathbf{S}_{\mathsf{stst}}(1 - \mathsf{INV} \cdot \exp(-t/\mathsf{T}_1^*))$$
[1]

where S_{stst} is the steady state transverse magnetization and the parameter INV is related to the equilibrium magnetization M_0 through INV = $1 + S_0/S_{stst}$ with $S_0 = M_0 \cdot \sin(\theta/2)$. For on-resonance spins, maximal S_{stst} signal can be attained if an optimal FA θ_{opt} (=acos((T_1/T_2-1)/(T_1/T_2 +1))) is used. In this case, $S_{stst} = \frac{1}{2}M_0 \sqrt{(T_2/T_1)}$ and $T_1^* = \frac{1}{2}(T_1 + T_2)$. For $\theta \neq \theta_{opt}$, S_{stst} is a complex function of T_1 , T_2 , and M_0 and θ (16).

By a three-parameter fitting of an experimental IR-TrueFISP data set, T_1 , T_2 , and M_0 can be simultaneously calculated using the following three equations (13):

$$T_1 = T_1^* \cdot (INV - 1) \cdot \cos(\theta/2)$$
[2]

$$T_2 = T_1^* \cdot (1 - \cos(\theta/2) / (INV - 1))^{-1} \cdot \sin(\theta/2)$$
 [3]

$$M_0 = S_{stst} \cdot (INV - 1) / sin(\theta/2)$$
[4]

Note that M_0 , as estimated by Eq. [4], reflects the proton spin density (quantity of proton spins by unity

of volume), as well as the net magnetization (spin excess or bulk spin polarization), according to the Boltzmann distribution. But, M_0 here also reflects the receiver coil sensitivity: Objects very far from a receiver surface coil will yield M_0 less important than identical objects close from the same coil. Then, in the context of an IR-TrueFISP experiment, the use of the term "relative proton density" for M_0 is somewhat confusing. This is the reason why in this work only relative changes in M_0 will be considered.

MATERIALS AND METHODS

NMR Examination

This study was authorized by the local Ethics Committee and informed written consent was obtained from each volunteer. Experiments were performed on a 3T whole-body Tim TRIO scanner (Siemens Healthcare, Erlangen, Germany) equipped with a high-performance gradient system capable of a maximum amplitude of 45 mT/m at a slew rate of 200 T/m/s. Ten healthy subjects volunteered and were positioned feet-first in supine position, with the right calf centered in the magnet. The quadrature bird-cage body coil was used for transmission and a set of two phased-array "small-flex" and "spine" surface receiver coils covered the region of interest of the right calf of volunteers.

Experimental Protocol

To illustrate the potential of IR-TrueFISP sequence for applications in dynamic muscle studies, four different protocols were chosen (Fig. 1): (I) an intravenous injection of a low-molecular weight Gd contrast agent (CA); (II) ischemia and post occlusive reactive hyperemia; (III) local cooling; and (IV) an exercise bout. These protocols were selected because they generate transient T_1 , T_2 , and M_0 variations that we may evaluate.

Protocol I: Gd-DOTA Contrast Agent Intravenous Injection

Dynamic IR-TrueFISP multiparameter measurements were performed in one healthy volunteer who received an intravenous bolus injection of Gd-DOTA (DOT-AREM, Guerbet, France), 0.1 mmol/kg body weight, administered intravenously. After a 3-minute baseline acquisition period, CA enhancement kinetics was followed during 27 minutes (Fig. 1).

Protocol II: Ischemia and Postocclusive Reactive Hyperemia

To determine the time-course of T_1 , T_2 , and M_0 changes occurring during transitory ischemia and reperfusion, dynamic multiparameter measurements were performed in seven healthy volunteers who underwent a three-phase protocol: After a 5-minute baseline period, ischemia was induced by the inflation (220 mmHg) of the thigh cuff for 10 minutes. After

1. Experimental



cuff deflation, reactive hyperemia was followed using IR-TrueFISP for 15 minutes (Fig. 1).

Protocol III: Local Cooling

description of the protocol).

Figure

In order to decrease muscle temperature, a frozen gel pack (Rapid Relief, Rapid Aid, Mississauga, Ontario, Canada) was placed around the mid-calf (contact surface = 20×25 cm²) for 30 minutes. IR-TrueFISP images were acquired before and after muscle cooling (Fig. 1) while skin temperature was monitored during MRI acquisition using a fiberoptic device (Luxtron ONE, Luxtron, Santa Clara, CA).

Protocol IV: Exercise

This protocol consisted of successive submaximal plantar flexions performed at regular intervals (4 sec) for ≈ 11 minutes by an untrained volunteer in supine position. The subject was asked to perform this exercise until exhaustion. IR-TrueFISP acquisition was carried out at rest, and was resumed immediately after exercise (Fig. 1). For assessment of activated muscles, fast multiple gradient-echo experiments (TR = 100 msec, 12 echoes, first TE = 1.86 msec, inter-echo = 2.51 msec, $FA = 25^{\circ}$, acquisition bandwidth = 1400 Hz/pixel, inplane resolution = $1.25 \times 1.25 \text{ mm}^2$, acquisition time = 9 sec) were performed before and immediately after the exercise and T_2^* maps were generated.

IR-TrueFISP Setup

TrueFISP signal is dependent on T1, T2, and M0 as well as on several experimental parameters, which were optimized in order to improve sensitivity and accuracy. The time between two successive θ pulses (TR) was minimized to 3.4 msec to reduce off-resonance effects. Only one slice was selected at the largest section of the right calf. Spatial resolution in the read direction (2.5 mm) was determined by the maximal available acquisition bandwidth (1560 Hz/pixel) and the minimum TR. Identical resolution was set up in the phase direction to ensure a high sampling of signal recovery (142.8 msec/image, 28 images per recovery). High temporal sampling is necessary if rapid changes in the relaxation times or in the spin density are to be detected. Each image comprised 42 phaseencoding steps using partial phase Fourier encoding (6/8), acquired in linear order encoding. Slice thickness was 8 mm. To reduce Gibbs ringing, a Hamming k-space filter was applied before reconstruction. After adiabatic nonselective inversion and spoiling of the residual transverse magnetization, a train of 28 images was acquired. A nonselective inversion pulse was used in order to measure actual tissue T_1 and not an apparent T_1 affected by inflow effects.

For excitation, a slice selective pulse (a Hanning-filtered sinc-shaped pulse, 1280 µs, 128 pts, timebandwidth product = 4, FA = 20°) was used. A $\theta/2$ prepulse was applied at a time TR/2 before the SSFP sequence to reduce the oscillatory response during the transition to driven equilibrium (17). Spectral fat saturation was applied just before the $\theta/2$ prepulse to minimize the off-resonance artifacts in the transient response (18). This inversion-recovery motive was repeated throughout the protocol. A delay of ≈ 8 seconds was introduced between the end of the 28th image acquisition time and the next inversion pulse to allow for complete relaxation of the longitudinal magnetization. The total acquisition time for each set of 28 IR-TrueFISP images was ≈ 12 seconds.

B_1 + Mapping

A B₁+ mapping was carried out just before IR-TrueFISP experiments to correct the FA error in derived IR-True-FISP parameter estimation. For B_1 + mapping, an "equal tip angle stimulated echo" method provided by Siemens Healthcare (B1-mapping work-in-progress package 297) was used. This method is based on a stimulated echo sequence with three identical excitation pulses $(\alpha - \alpha - \alpha)$. The actual FA distribution is calculated from the ratio of the stimulated (STE) and the primary (SE) spin echoes as: $\alpha = a\cos(\text{STE} \cdot \exp(\tau/T_1)/\text{SE} - 1)$, where τ is the time duration between the second and third pulses. B_1 + can



Figure 2. a: Typical image series obtained from an IR-TrueFISP experiment in human calf. The total acquisition time for this series was 4 seconds. **b**: IR-TrueFISP recovery signal obtained from an ROI traced in the gastrocnemius medialis muscle.

be computed as the ratio between the actual FA and the nominal FA. By selecting the smallest possible TE, the effect of T_1 relaxation on the FA evaluation can be minimized. Relevant sequence parameters were TR = 1000 msec, $\tau = 14$ msec, $\alpha = 90^{\circ}$, in-plane resolution = (3.9 mm)², slice thickness = 8 mm.

GRE Setup

Anatomical images were generated for reference using a standard GRE sequence. Relevant sequence parameters were TR/TE = 100/1.86 msec, acquisition bandwidth = 1400 Hz/pixel, FA = 25° , in-plane resolution = $(1.25 \text{ mm})^2$.

Data Processing

Regions of interest (ROIs) were first drawn on the high-resolution GRE anatomic images, excluding all the visible vessels. ROIs were then transposed to the IR-TrueFISP images.

For dynamic studies, the mean signal was extracted from ROIs on the time series of reconstructed IR-TrueFISP images. Motion correction for dynamic data was performed by applying a rigid transform (rotation + translation) to the images. SNR (signal to noise ratio) was evaluated in each ROI during the steady-state period (28th image). Time curves of mean IR-TrueFISP signal were fit to a three-parameter (T_1^*, T_1) INV, and S_{stst}) expression (Eq. [1]) using a leastsquare fitting routine written in MatLab (MathWorks, Natick, MA) and the toolbox EzyFit (a free curve fitting toolbox for MatLab, by F. Moisy [2008], available at URL: www.fast.u-psud.fr/ezyfit). Fitting was considered successful for a coefficient of determination $R^2 >$ 0.999. From the resulting fit, T₁, T₂, and M₀ were calculated, after pixelwise correction for FA, using Eqs. [2-4].

Fast Monitoring of T₁, T₂, and M₀ Changes

A bootstrap error analysis was performed to estimate the precision of the multiparametric determination. To generate bootstrap resamples, 10 IR-True-FISP datasets were acquired at rest, for 2 minutes, in one volunteer using an identical setup (sequence parameters and coils) as the one used for the four experimental protocols. Time curves of mean IR-TrueFISP recovery signal were extracted from an ROI traced in the gastrocnemius medialis muscle. From these 10 datasets, 10,000 bootstrapped resamples were generated by randomly selecting measurements with replacement, as described (19). Then Eq. [1] was fitted in each of these datasets and 10,000 T_1 , T_2 , and M_0 values were determined. The mean value and the confidence interval of the distribution of the derived parameters were calculated using these datasets.

Signal dependence on experimental setup parameters and B_1 and B_0 inhomogeneities were also investigated by using the analytical expressions for SSFP and TrueFISP inversion-recovery signal (13,20).

RESULTS

IR-TrueFISP Acquisition

Figure 2a shows a typical example of the 28 acquired IR-TrueFISP images used for multiparameter quantification in the calf muscle at rest. The total acquisition time for this series was 4 seconds. No spatial distortion or off-resonance artifacts were observed in the IR-TrueFISP images. Optimization of sequence parameters made possible acquisition of images with relatively high SNR. At rest, average SNR measured in muscle ROIs of 10 volunteers was ≈ 100 (max. = 151, min. = 88, median = 100, standard deviation [SD] = 24). Scatter in SNR values was mainly due to the inhomogeneous reception profile of surface coils.

Figure 2b shows the signal recovery to the driven equilibrium, obtained from an ROI traced in the gastrocnemius medialis muscle. For this representative ROI (35 pixels) SNR measured on the 28th image was 90. In homogeneous muscle regions, the signal time-courses were well characterized by the monoexponential threeparameter fit function according to Eq. [1]. High determination coefficients ($\mathbb{R}^2 > 0.999$) were obtained for all IR-TrueFISP signal recovery fitting in muscle regions.

Optimal flip angle, which maximized the signal during the steady-state period, was found to be 20°. This result was in accordance with the theoretical prevision. Using muscle T_1 and T_2 values found in the literature ($T_1 = 1412$ msec, $T_2 = 50$ msec at 3.0 T) (21), the theoretical θ_{opt} , as defined in the Theory section, ought to be about 21°. The apparent relaxation time T_1^* for this θ_{opt} was 750 msec (see Theory section). This meant that the steady state was achieved in less than 4 seconds (= T_1^* times) after the inversion pulse.

T_1 , T_2 , and M_0 at Rest

After motion correction of the IR-TrueFISP images, the multiple parameters were extracted from ROIs drawn in gastrocnemius medialis. At rest, average muscle T_1 and T_2 values (1.34 ± 0.13 sec and 45 ± 5 msec,



Figure 3. Protocol I: Individual time course of T_1 , T_2 , and M_0 changes following the Gd-DOTA injection measured in SL (square), GM (circle), and GL (triangle).

respectively, median \pm SD, N = 10) was obtained from the IR-TrueFISP experiments, corresponding well to the range of literature values (21). Note that since M₀ value scales with the coil sensitivity and the receiver gain, which are subject, protocol, and scanner-dependent, it cannot be expressed in absolute units.

The half-width of the 95% confidence interval for individual T_1 , T_2 , and M_0 measurements at rest, as calculated using the bootstrap method, were ≈ 2 msec (=0.1% of the mean T_1), 0.3 msec (=0.5% of the mean T_2), and 0.2% of the mean M_0 , respectively. Confidence intervals were estimated for SNR level = 105, which is representative of most of studied muscle ROIs in this work.

Protocol I: Gd-DOTA Contrast Agent Intravenous Injection

The time course of T_1 , T_2 , and M_0 changes after Gd-DOTA IV injection is shown in Fig. 3 for three muscle groups: soleus (SL), gastrocnemius medialis (GM), and lateralis (GL). After CA injection, T_1 reduced gradually and reached its minimal value (about -30%) at about 15 minutes postinjection. No significant paradigm-related changes in T_2 and M_0 were observed. Average SNR for these three muscles was 115 ± 20 (median \pm SD).

Protocol II: Ischemia and Postocclusive Reactive Hyperemia

Figure 4 shows the time course of T_1 , T_2 , and M_0 changes for two muscle groups: SL and GM over the



Figure 4. Protocol II: Time course of T_1 , T_2 , and M_0 changes during rest, ischemia, and reactive hyperemia protocol measured in GM (left) and SL (right). The horizontal bar indicates the occlusion period. For each timepoint, results are given as the mean \pm SD of the measurements on the seven volunteers.

entire protocol. After deflation of the compression cuff, T₂ increased rapidly and reached its peak value at ≈ 1 minute after release. T₂ progressively returned to its baseline value ≈ 3 minutes after cuff release for all studied muscle groups. During ischemia, a significantly decrease of T₂ was observed only in SL.

Significant changes in T_1 were only observed during reactive hyperemia ($\Delta T_1 \approx +1\%$) in SL. No significant paradigm-related changes in M_0 were observed. Average SNR for overall studied muscle ROIs was 111 ± 22 (median ± SD).

Protocol III: Local Cooling

The time course of T_1, T_2 , and M_0 changes are shown in Fig. 5. The T_1 and M_0 measured in the muscles SL, GM, and GL were significantly different from the baseline after 30-minute cooling ($\Delta T_1 \max \approx -30\%, \Delta M_0 \max \approx +25\%$). Neither T_1 nor M_0 fully returned to baseline values during the 30-minute recovery period. No significant paradigm-related change in T_2 was observed. At rest, average SNR for these three muscles was 101 \pm 16 (median \pm SD).

A linear dependence between muscle T_1 and skin temperature was noted and is illustrated in Fig. 6 for the muscle GL.

Protocol IV: Exercise Bout

Figure 7 shows the T_2^* maps obtained from GRE acquisitions at rest and the end of the 11-minute exercise bout. A T_2^* increase was observed in the



Figure 5. Protocol III: Individual time course of T_1 , T_2 , and M_0 changes following local cooling. Multiparametric values were estimated for SL (square), GM (circle), and GL (triangle).



Figure 6. Protocol III: T_1 measured in GL as function of the skin temperature. The measured T_1 values (triangle) and the best linear fit to the data (solid line) are shown. A good correlation between T_1 and skin temperature was found (r > 0.99).

muscles tibialis anterior (TA), peroneus (PE), and GL only, reflecting activation of these muscles selectively.

The results of the multiparametric IR-TrueFISP measurements (Fig. 8) in the same subject indicated concomitant changes in T_1 , T_2 , and M_0 for TA, PE, and GL and no significant paradigm-related changes for the muscles SL and GM. At rest, average SNR for examined muscle ROIs was 105 ± 25 (median ± SD).

DISCUSSION

We investigated the possibility of fast monitoring T_1 , T_2 , and M_0 changes using an IR-TrueFISP sequence during various stresses and conditions commonly applied to skeletal muscle. The results of this feasibility study demonstrated that IR-TrueFISP was fast and sensitive enough to characterize different patterns of responses and to detect small and transient changes such as a decrease in muscle T_1 after intravenous injection of a low-molecular weight Gd CA, an



Figure 7. Protocol IV: T_2^* maps obtained from GRE acquisitions at rest and at the end of the 11-minute exercise. An increase in T_2^* following exercise can be observed in TA, PE, and GL, indicating activation of these muscles.



Figure 8. Protocol IV: Individual time course of T_1 , T_2 , and M_0 changes following exercise. Concomitant changes in T_1 , T_2 , and M_0 were measured in TA (star) and PE (diamond) and GL (triangle). No significant paradigm-related changes were observed in SL (square) and GM (circle).

increase in muscle T_2 during postischemic reactive hyperemia, opposite variations in muscle T_1 and M_0 associated with local cooling, and simultaneous increases in muscle T_1 , T_2 , and M_0 following plantar flexion exercise.

The robustness of the IR-TrueFISP sequence for T_1 , T_2 , and M_0 measurements and its dependence on B_0 and B_1 + inhomogeneities has been investigated by other authors (18,22). It has been recognized that the B₀ inhomogeneities can introduce errors in the calculation of absolute T₁, T₂, and M₀ values estimated using the IR-TrueFISP sequence, especially for tissues with smaller T_2/T_1 ratios. In this work, field homogeneity using automatic shimming was ≈ 50 Hz FWMH (full width value at middle height) for the calf. Numerical simulations of the IR-TrueFISP signal time course, using matrix Bloch formulation, showed that relative changes of the derived parameters (ΔT_1 , ΔT_2 , ΔM_0) are virtually insensitive to B_0 inhomogeneities for an offset frequency distribution with an FWMH = 50 Hz, within of the range of ΔT_1 , ΔT_2 , and ΔM_0 found in this study (data not shown).

For on-resonance spins, signal will smoothly move toward the steady state if a $\theta/2$ pulse is applied at a time TR/2 before the SSFP sequence. Off-resonance spins, such as lipid protons, may produce strong signal fluctuations during the transient period and generate image artifacts (ghosting), despite the use of a preparatory $\theta/2$ pulse. In this work, such artifacts were avoided by using a spectrally selective fat saturation pulse just before the $\theta/2$ prepulse. Note that this fat saturation pulse is not able to completely suppress the lipid signal over the whole time course of magnetization. As a consequence, T₁ and T₂ measurements obtained from the IR-TrueFISP experiments in fat infiltrated muscles may be inaccurate.

Simulations and derived expressions show that T₂ and M₀ estimated from IR-TrueFISP experiments are critically dependent on the effective FA, while the estimated T_1 is relatively insensitive (22). The achieved FA is a function of both the B_1 + field homogeneity as well as the excitation slice profile. In this study the body coil was used as a transmit coil in order to improve B_1 + homogeneity. However, at high field strength, such as 3T and above, dielectric effects can lead to an intrinsically nonuniform B_1 + field (23). As a consequence, the actual FA can be substantially reduced or increased in certain regions of the acquired volume. In our study, B_1 + inhomogeneity produced FA that varied spatially by $\approx 8\%$ over the slice volume, in all volunteers. Postprocessing was used to take into account these FA deviations, assuming a linear dependence between FA and B_1+ . Nonuniform excitation across the slice profile may also result in incorrect predictions of the derived parameters. Tailored RF pulses, such as those designed using the Shinnar–Le Roux (SLR) algorithm (24), have been proposed to overcome this problem in 3D multiparametric mapping (25). However, slice selection in 2D acquisitions requires longer pulses, which could lengthen the TR, enhancing off-resonance effects. Alternatively, the FA distribution along the slice profile could be calculated from the shape of the RF pulse. Then this information could be subsequently introduced in the IR-TrueFISP model to correct the parameter estimation. Coolen et al (26) compared different approaches to calculate the signal intensities in 2D TrueFISP imaging, taking in account the FA and phase distributions within the slice excitation profile. They observed that using a sinc-shaped RF pulse a correction for slice excitation profile was not necessary to predict the 2D TrueFISP signal, when FA was below or near θ_{opt} . For this reason, we think that performing such corrections would not significantly modify our results and conclusions.

Protocol I: Gd-DOTA CA IV Injection

Following Gd CA injection, skeletal muscle T_1 dropped to about -30% without any parallel change in muscle T_2 . Knowing that Gd-DOTA relaxivities measured in plasma at 37°C and at 3T are very close: $r_1 = 3.5$ L/ mmol/s and $r_2 = 4.9$ L/mmol/s (27), some variation in muscle T_2 might at first glance have been expected following the CA injection. Assuming also almost identical r_1 and r_2 relaxivities of Gd-DOTA CA in skeletal muscle, as was demonstrated at 1T in rabbit muscles (28), the estimated change in T_2 in our experimental setting was calculated to be only of 0.5 msec. The small amplitude of this effect is easily explained by the already fast intrinsic T_2 relaxation of skeletal muscle. The bootstrap estimate of the half-width of the 95% confidence interval for T_2 measurements obtained from the IR-TrueFISP experiments was 0.3 msec. This means that T_2 changes induced by the CA injection are probably too small to be detected in our experiment.

Protocol II: Ischemia and Postocclusive Reactive Hyperemia

In our experiments T_2 significantly increased (between 3% and 6%) during ischemia reperfusion for all observed muscles. These findings are consistent with results obtained with standard MSE (multispin-echoes) (11) and SE-EPI (spin-echo echo planar imaging) sequences (12,29).

During the ischemia period, a significant T_2 change was observed only for SL (ΔT_2 about -4%). This result can be compared with those obtained for other researchers, who used T₂* measurements to assess oxygenation changes in the muscle (2,29) at 3T. In those studies, ΔT_2^* was about -10% for a 5–7-minute ischemia period. The main mechanism behind T_2^* changes during ischemia is a local variation in the static field due to the changes in deoxyhemoglobin content. T₂ measurement, based on spin-echo or multispin echo sequences, may be used to detect deoxyhemoglobin changes (29), if TE is sufficiently long to allow water diffusion in the microscopic inhomogeneous gradient field, resulting in an irreversible dephasing of the transverse magnetization. Like a spin-echo sequence, a TrueFISP sequence completely refocuses transverse magnetization at the echo time TE (30). In our experiment TE = TR/2 = 1.7 msec. Using such a short TE time, the effect of spin diffusion is minimized and this sequence becomes weakly sensitive to changes in the muscle oxygenation.

Alterations in muscle T₁ during ischemia and postocclusive reactive hyperemia have been related to changes in blood flow, muscle water content, and local temperature (12). In our study on seven volunteers, T₁ changes were only observed during the reactive hyperemia period. A nonselective inversion pulse was used in order to avoid the in-flow of noninversed spins that disturbs the magnetization recovery. Inflow of inversed spins, which were not excited by previous RF pulses, could also disturb the magnetization recovery to the steady state. But this effect can be neglected, since it depends on the fraction of the imaging volume replaced by the in-flow of nonexcited spins per TR (31), which is very low for normal values of perfusion, including during the hyperemia peak. Alterations in muscle water content could explain the small T_1 increasing. It has been noticed that a 1.5% volume change in the leg, during reperfusion, would increase T_1 by 4 msec at 1.5 T ($\Delta T_1 \approx 0.5\%$) (12). Warm blood in-flow during reperfusion would also increase T_1 , because muscle T_1 has a positive dependence on temperature ($\approx 1.5\%/^{\circ}$ C) (32).

Protocol III: Local Cooling

Yanagisawa et al (33) investigated the effects of cooling on the skin and skeletal muscle temperature. After the application of cooling pads set to 0°C, they showed that skin and superficial muscle temperatures decreased rapidly and almost in parallel during a 30minute cooling period. Skin stayed 2-3°C warmer than superficial muscles during cooling and the recovery period. In our experiment, skin temperature decreased from 30.3°C to 19.0°C during the 30-minute cooling period and increased to 24.2°C after 30minute recovery period. Within a small temperature range, T_1 depends linearly on local temperature (34). T_1 temperature dependence in the muscle has been noticed to be about 1.4%/°C (35) for bovine muscle at 1.5T and 1.50 \pm 0.87%/°C (32) for human muscle at 0.15T. Assuming muscle temperature approximately equal to skin temperature and a T_1 temperature dependence of $1.5\%/^{\circ}C$, then T₁ was expected to decrease by about 17% after a 30-minute cooling period and to rise by about 8% after a 30-minute recovery period. We observed a reduction of 20%–30% in T_1 values after cooling and an increase of 5%-10% during the recovery period, which is in good agreement with previously reported behavior (33).

In our experiment a 15%-25% increase in M_0 was measured just after a 30-minute cooling. This corresponds to the temperature sensitivity between -1 to $-2\%/^{\circ}$ C, which is far from Chen et al's results (36). They estimated that M₀ temperature sensitivity in bovine muscle samples is $0.30 \pm 0.01\%/^{\circ}C$ at 0.5 T. Note that for the range of considered tissue temperatures, M₀ alterations observed in muscle samples are mainly a consequence of changes in the equilibrium magnetization, according to the Boltzmann distribution and not a modification in the proton spin density. For "in vivo" experiments, other mechanisms, such as perfusion effects, water shift, and muscular volume changes might be hypothesized to have contributed to our results. However, modifications in the experimental conditions cannot be ruled out as a cause for the changes in M₀. As discussed in the Theory section, the M₀ value also depends on the receiver coil sensitivity. Since coils were repositioned around the calf after cooling and this repositioning could be not identical for both conditions, changes in coil sensitivity could also impact M₀.

Protocol IV: Exercise Bout

In this study T_1 , T_2 , and M_0 all significantly increased in the activated muscles (TA, PE, and GL) following the exercise bout. Because T_2 is sensitive to several metabolic and hemodynamic processes that accompany muscle contractions, T_2 contrast has been exploited for mapping muscle activation (37). The exact mechanism for the change in T_2 is not fully understood, but it has been accepted that the T_2 increase is related to osmotically driven shifts of fluid between intra- and extracellular compartments (37– 39). Besides water shifts, intracellular acidification, altered perfusion (transient ischemia/hyperemia), and altered oxygenation (variation in muscle hemoglobin saturation) may also contribute to T_2 changes (37). All these mechanisms might also modify T_1 and/or M_0 . Warm blood in-flow during reperfusion would also increase T_1 but would reduce M_0 .

In conclusion, the feasibility of dynamic multiparametric estimation in human skeletal muscle using IR-TrueFISP has been demonstrated. This sequence offers a time resolution adequate to track rapid physiological adaptations in skeletal muscle. It might conveniently be interleaved with other NMR techniques such as ¹H- and ³¹P-NMRS, arterial spin labeled perfusion imaging, etc, and contribute to a more comprehensive understanding of muscle responses to various physiological stresses as well as to diseases.

ACKNOWLEDGMENT

The authors thank N. Azzabou for assistance with the image registration program and critical reading of the article.

REFERENCES

- Carlier PG, Brillault-Salvat C, Giacomini E, Wary C, Bloch G. How to investigate oxygen supply, uptake, and utilization simultaneously by interleaved NMR imaging and spectroscopy of the skeletal muscle. Magn Reson Med 2005;54:1010–1013.
- Lebon V, Carlier PG, Brillault-Salvat C, Leroy-Willig A. Simultaneous measurement of perfusion and oxygenation changes using a multiple gradient-echo sequence: application to human muscle study. Magn Reson Imaging 1998;16:721–729.
- Raynaud JS, Duteil S, Vaughan JT, et al. Determination of skeletal muscle perfusion using arterial spin labeling NMRI: validation by comparison with venous occlusion plethysmography. Magn Reson Med 2001;46:305–311.
- Wu WC, Wang J, Detre JA, et al. Hyperemic flow heterogeneity within the calf, foot, and forearm measured with continuous arterial spin labeling MRI. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2008;294: H2129–2136.
- Boss A, Martirosian P, Claussen CD, Schick F. Quantitative ASL muscle perfusion imaging using a FAIR-TrueFISP technique at 3.0 T. NMR Biomed 2006;19:125–132.
- Frank LR, Wong EC, Haseler LJ, Buxton RB. Dynamic imaging of perfusion in human skeletal muscle during exercise with arterial spin labeling. Magn Reson Med 1999;42:258–267.
- Wu WC, Wang J, Detre JA, Ratcliffe SJ, Floyd TF. Transit delay and flow quantification in muscle with continuous arterial spin labeling perfusion-MRI. J Magn Reson Imaging 2008;28: 445–452.
- Fleckenstein JL, Canby RC, Parkey RW, Peshock RM. Acute effects of exercise on MR imaging of skeletal muscle in normal volunteers. AJR Am J Roentgenol 1988;151:231–237.
- Le Rumeur E, Carre F, Bernard AM, Bansard JY, Rochcongar P, De Certaines JD. Multiparametric classification of muscle T1 and T2 relaxation times determined by magnetic resonance imaging. The effects of dynamic exercise in trained and untrained subjects. Br J Radiol 1994;67:150–156.
- Archer BT, Fleckenstein JL, Bertocci LA, et al. Effect of perfusion on exercised muscle: MR imaging evaluation. J Magn Reson Imaging 1992;2:407–413.
- Klarhofer M, Madorin P, Bilecen D, Scheffler K. Assessment of muscle oxygenation with balanced SSFP: a quantitative signal analysis. J Magn Reson Imaging 2008;27:1169–1174.
- Toussaint JF, Kwong KK, Mkparu FO, Weisskoff RM, LaRaia PJ, Kantor HL. Perfusion changes in human skeletal muscle during reactive hyperemia measured by echo-planar imaging. Magn Reson Med 1996;35:62–69.
- Schmitt P, Griswold MA, Jakob PM, et al. Inversion recovery TrueFISP: quantification of T(1), T(2), and spin density. Magn Reson Med 2004;51:661–667.

- Scheffler K, Hennig J. T(1) quantification with inversion recovery TrueFISP. Magn Reson Med 2001;45:720–723.
- Carr HY. Steady-state free precession in nuclear magnetic resonance. Phys Rev 1958;112:1693–1701.
- Kronenbitter J, Schwenk A. New technique for measuring relaxation-times T1 and T2 and equilibrium magnetization Mo of slowly relaxing systems with weak NMR signals. J Magn Reson 1977;25: 147–165.
- Deimling M, Heid O. High resolution SSFP diffusion imaging. In: Proc 2nd Annual Meeting ISMRM, San Francisco; 1994. p 495.
- Ganter C. Off-resonance effects in the transient response of SSFP sequences. Magn Reson Med 2004;52:368–375.
- Huang R. Determining uncertainty in estimates of relaxation time (T2) and proton density (S0) derived from T2-weighted MRI using bootstrap method. In: Proc 16th Annual Meeting ISMRM, Toronto; 2008. p 1525.
- Schmitt P, Griswold MA, Gulani V, Haase A, Flentje M, Jakob PM. A simple geometrical description of the TrueFISP ideal transient and steady-state signal. Magn Reson Med 2006;55:177–186.
- Stanisz GJ, Odrobina EE, Pun J, et al. T1, T2 relaxation and magnetization transfer in tissue at 3T. Magn Reson Med 2005;54: 507–512.
- Newbould R, Bammer R. Flip angle sensitivity in IR-trueFISP T1 and T2 mapping. In: Proc 13th Annual Meeting ISMRM, Miami; 2005. p 2191.
- Schick F. Whole-body MRI at high field: technical limits and clinical potential. Eur Radiol 2005;15:946–959.
- Pauly J, Le Roux P, Nishimura D, Macovski A. Parameter relations for the Shinnar-Le Roux selective excitation pulse design algorithm [NMR imaging]. IEEE Trans Med Imaging 1991;10: 53–65.
- Newbould R, Alley MT, Bammer R. Implementation of a 3D IRtrueFISP tissue relaxation mapping sequence. In: Proc 13th Annual Meeting ISMRM, Miami; 2005. p 99.
- Coolen BF, Heijman E, Nicolay K, Strijkers GJ. On the use of steady-state signal equations for 2D TrueFISP imaging. Magn Reson Imaging 2009;27:815–822.

- Rohrer M, Bauer H, Mintorovitch J, Requardt M, Weinmann HJ. Comparison of magnetic properties of MRI contrast media solutions at different magnetic field strengths. Invest Radiol 2005;40: 715–724.
- Dedieu V, Fau P, Otal P, et al. Rapid relaxation times measurements by MRI: an in vivo application to contrast agent modeling for muscle fiber types characterization. Magn Reson Imaging 2000;18:1221–1233.
- Donahue KM, Van Kylen J, Guven S, et al. Simultaneous gradient-echo/spin-echo EPI of graded ischemia in human skeletal muscle. J Magn Reson Imaging 1998;8:1106–1113.
- Scheffler K, Hennig J. Is TrueFISP a gradient-echo or a spin-echo sequence? Magn Reson Med 2003;49:395–397.
- Markl M, Alley MT, Elkins CJ, Pelc NJ. Flow effects in balanced steady state free precession imaging. Magn Reson Med 2003;50: 892–903.
- Young IR, Hand JW, Oatridge A, Prior MV, Forse GR. Further observations on the measurement of tissue T-1 to monitor temperature in-vivo by MRI. Magn Reson Med 1994;31:342–345.
- Yanagisawa O, Homma T, Okuwaki T, Shimao D, Takahashi H. Effects of cooling on human skin and skeletal muscle. Eur J Appl Physiol 2007;100:737–745.
- Rieke V, Butts Pauly K. MR thermometry. J Magn Reson Imaging 2008;27:376–390.
- Cline HE, Hynynen K, Hardy CJ, Watkins RD, Schenck JF, Jolesz FA. MR temperature mapping of focused ultrasound surgery. Magn Reson Med 1994;31:628–636.
- Chen J, Daniel BL, Pauly KB. Investigation of proton density for measuring tissue temperature. J Magn Reson Imaging 2006;23: 430–434.
- Patten C, Meyer RA, Fleckenstein JL. T2 mapping of muscle. Semin Musculoskelet Radiol 2003;7:297–305.
- Meyer RA, Prior BM. Functional magnetic resonance imaging of muscle. Exerc Sport Sci Rev 2000;28:89–92.
- Gambarota G, Cairns BE, Berde CB, Mulkern RV. Osmotic effects on the T2 relaxation decay of in vivo muscle. Magn Reson Med 2001;46:592–599.