



Applications précliniques de l'IRM à bas champ et sa place dans un contexte multimodal μ SPECT et μ TDM

Élodie BRETON

Université Louis Pasteur - HUS Hautepierre
Service de biophysique et médecine
nucléaire

Université Louis Pasteur - CNRS - INSERM
Institut de génétique et de biologie
moléculaire et cellulaire
UMR7104 CNRS - U596 INSERM

Université Louis Pasteur - CNRS
Institut de mécanique des fluides et des solides
UMR7507

■ Thèse présentée pour obtenir le grade de
■ Docteur de l'Université Louis Pasteur
■ Strasbourg I

■ Ecole doctorale Vie et Santé ■

Elodie Breton

Applications précliniques de l'IRM à bas champ
et sa place dans un contexte multimodal
micro TEMP et micro TDM

Soutenue publiquement le 28 novembre 2007 ■

Membres du jury ■

Directeur de thèse :	Professeur Johan AUWERX
Co-Directeur de thèse :	Professeur André CONSTANTINESCO
Rapporteur interne :	Docteur Olivier LEFEBVRE
Rapporteur externe :	Professeur Pierre-Yves MARIE
Rapporteur externe :	Docteur Éric THIAUDIÈRE

Résumé

L'imagerie préclinique *in vivo* des petits animaux offre une approche unique d'étude des phénomènes physiopathologiques. Ce travail de thèse étudie le rôle que pourrait jouer l'IRM à bas champ 0,1T en imagerie préclinique compte tenu de ses caractéristiques économiques et techniques. Après avoir présenté les spécificités de l'imagerie préclinique, les choix techniques mis en oeuvre afin de réaliser de l'IRM à 0,1T *in vivo* du petit animal sont détaillés. Ces développements ont permis l'obtention de données quantitatives à 0,1T dans des applications variées d'IRM : anatomique (suivi longitudinal d'une croissance tumorale), fonctionnelle (dynamique cardiaque synchronisée) et avec gradients de sensibilisation au mouvement (ERM). Dans un contexte multimodal, la complémentarité des techniques d'imagerie est abordée à travers d'une part la conception simple et originale d'une modalité duale TEMP/IRM à bas champ, et d'autre part l'utilisation du μ CT pour mener certaines études de tissus mous.

Abstract

In vivo preclinical imaging in small animals offers a unique insight in physiopathological processes. This PhD thesis is a study of the role that 0.1T low field MRI could play in preclinical imaging considering its economical and technical characteristics. The specificities of preclinical imaging are first presented, then the technical adaptations developed for *in vivo* small animal imaging using 0.1T MRI are detailed. These technical choices allow to obtain quantitative results using 0.1T MRI in various *in vivo* imaging studies : anatomical (longitudinal follow-up of tumor growth), functional (triggered cardiac dynamic) and motion-sensitizing gradients (MRE). In a multimodal context, the complementarity of imaging techniques is shown through the simple and original conception of a dual SPECT/low field MRI modality, and the use of μ CT in some specific soft tissues studies.

A ma famille

A Jonathan

En souvenir de mon arrière-grand-mère Madeleine

En souvenir de mon camarade Stanislas Franquet

Remerciements

Ce travail de thèse a pu être mené à bien grâce aux soutiens financiers à parts égales de GENERAL ELECTRIC HEALTHCARE et de la région ALSACE.

Je remercie le Pr. Johan AUWERX qui a accepté de diriger ce travail de thèse et qui s'est toujours montré disponible lorsque cela était nécessaire.

Je remercie le Pr. André CONSTANTINESCO qui m'a fait l'honneur de m'accueillir au sein de son laboratoire. Je tiens à vous exprimer ma profonde reconnaissance pour vos encouragements et votre encadrement constant tout au long de ce travail et de la rédaction de cette thèse.

J'adresse mes sincères remerciements au Pr. Pierre-Yves MARIE, au Dr. Olivier LEFEBVRE, ainsi qu'au Dr. Éric THIAUDIÈRE pour avoir accepté d'être les rapporteurs de cette thèse. Je vous remercie d'avoir accepté de consacrer du temps à la rédaction du rapport de ce travail et de me faire l'honneur de participer au jury de cette thèse.

Je souhaite souligner le rôle joué par le Dr. Philippe CHOQUET dans l'orientation de ce travail de thèse à travers son apport scientifique mais aussi son enthousiasme débordant. Je vous remercie chaleureusement de m'avoir accompagnée dans ma découverte du *big science system* et de m'avoir rendue plus à même de l'intégrer.

Je tiens à remercier le Pr. Michel FISCHBACH pour la confiance dont vous m'avez témoigné, ainsi que pour vos encouragements.

Remerciements

Un grand merci au Dr. Christian GOETZ pour sa disponibilité et son aide, dont j'espère avoir profité, plus dans le bon que dans le mauvais sens du terme. Merci également pour les moments de détente partagés.

Je souhaite remercier tous ceux qui m'ont permis de partager leurs travaux lors de nos collaborations : N. Accart, P. Erbs, J. Kintz, P. Slos et R. Rooke de la société Transgène, A. Calon, C. Domon-Dell et J.N. Freund de l'unité INSERM U682, Dr. L. Monassier de l'Institut Clinique de la Souris et de l'unité INSERM U715 et R. Willinger de l'Institut de Mécanique des Fluides et des Solides. J'adresse un merci tout particulier à J. Kintz pour son aide et ses conseils : je suis certaine que si le Dieu aux grandes moustaches et aux grandes oreilles existe, il reconnaît ceux et celles qui restent conscients et respectueux des vies placées entre leurs mains.

Je remercie MM. S. et V. Sannie de la Société vétérinaire Minerve pour leur aide technique qui a été fondamentale dans la réussite de ce travail.

Je tiens également à remercier M. D. Vetter pour sa grande disponibilité, ainsi que M. G. Vetter qui a réalisé de magnifiques photographies.

Je remercie les membres du service de Biophysique et de Médecine Nucléaire avec lesquels j'ai eu la chance d'être en contact et qui ont eu la gentillesse de trouver le temps de partager quelques discussions scientifiques ou pratiques, mais aussi parfois personnelles.

Je salue et je formule mes vœux de réussite aux étudiants de tous horizons avec lesquels j'ai partagé quelques semaines de vie dans le laboratoire.

Merci à ma famille pour son soutien constant malgré la distance et les trop nombreux « j'ai beaucoup de travail en ce moment » que j'ai prononcés.

Je remercie mes amis pour tous ces moments précieux partagés au cours de ces trois années. Merci à ceux avec qui j'ai partagé mon vécu de thèse et les épreuves qui l'accompagnent. Merci et pardon aussi à ceux qui, de plain-pied dans la « vraie vie », ont néanmoins du/su nous supporter.

Merci à Jonathan de m'avoir accompagnée dans tout cela et surtout le reste.

Merci

Table des matières

Remerciements	i
Glossaire	xvii
Introduction	1
1 Spécificités de l'imagerie <i>in vivo</i> du petit animal	5
1.1 Motivations de l'imagerie pré-clinique du petit animal	5
1.2 Contraintes liées à l'imagerie du petit animal <i>in vivo</i>	6
1.2.1 Autorisation d'expérimentation animale	6
1.2.2 Particularités de l'anatomie et de la physiologie du petit animal	6
1.2.3 Éléments d'anesthésie	7
1.2.4 Surveillance des paramètres physiologiques	9
1.3 Modalités d'imagerie utilisées	11
1.3.1 Généralités sur les imageurs dédiés	11
1.3.2 IRM dédiée à bas champ 0,1T	12

1.3.3	μ CT (μ -tomodensimètre ou μ TDM, ou μ -scanner X) .	20
1.3.4	μ -gamma caméra (μ SPECT ou μ TEMP)	22
1.3.5	Différentes modalités pour différentes problématiques	24
1.4	Imagerie multimodalité	25
2	Suivi longitudinal par IRM d'un gliome intra-cérébral orthotopique implanté chez la souris pour le contrôle d'une stratégie thérapeutique	27
2.1	Étude préliminaire μ SPECT et IRM	27
2.1.1	Introduction	27
2.1.2	Matériel et méthodes	28
2.1.3	Résultats	30
2.1.4	Discussion	32
2.1.5	Perspectives	33
2.2	Suivi longitudinal par IRM à 0,1T pour l'évaluation de l'action d'une stratégie de thérapie génique	34
2.2.1	Introduction	34
2.2.2	Matériel et méthode	35
2.2.3	Résultats	37
2.2.4	Discussion	41
2.2.5	Conclusion	44
2.3	Perspectives	45
3	Imagerie cardiaque 4D synchronisée chez le rat sain et infarci par IRM	47
3.1	Introduction	47
3.2	Matériel et méthodes	48
3.2.1	Préparation des animaux	48
3.2.2	Rats infarcis	48

3.2.3	Schéma d'acquisition IRM 4D synchronisée	49
3.2.4	Réorientation des données	50
3.2.5	Mesure des volumes ventriculaires	50
3.2.6	Calcul des images paramétriques	52
3.2.7	Perfusion cardio-myocytaire par SPECT	53
3.3	Résultats	53
3.3.1	Rat sain	53
3.3.2	Rat infarci	54
3.4	Discussion	58
3.5	Conclusion	62
3.6	Perspectives	62
4	Élastographie par résonance magnétique du tissu cérébral chez le rat	63
4.1	Introduction	63
4.1.1	Biomécanique de la matière cérébrale	63
4.1.2	Élastographie par résonance magnétique	64
4.2	Matériel et méthode	65
4.2.1	Principe de l'ERM	65
4.2.2	Mise en oeuvre à 0,1T	67
4.2.3	ERM du tissu cérébral <i>in vivo</i> et <i>ex vivo</i> chez le rat .	72
4.3	Résultats	76
4.3.1	Erreur globale	76
4.3.2	Expériences <i>in vivo</i>	76
4.3.3	Évolution des paramètres mécaniques <i>in vivo</i> et <i>ex vivo</i>	77
4.4	Discussion	77
4.5	Conclusion	81
4.6	Perspectives	82

5	Imagerie duale SPECT/IRM	83
5.1	Introduction	83
5.2	Matériel et méthode	84
5.2.1	Prise en charge des animaux	84
5.2.2	Imagerie SPECT et reconstruction des images	85
5.2.3	Imagerie IRM et antennes RF	86
5.2.4	Modalité d'imagerie combinée séquentielle SPECT/IRM	87
5.2.5	Fantôme de test	87
5.3	Résultats	89
5.3.1	Fantôme de test	89
5.3.2	Imagerie SPECT/IRM chez la souris	89
5.4	Discussion	92
5.4.1	Résolutions spatiales obtenues en SPECT et en IRM	92
5.4.2	Durées totales d'acquisition	94
5.4.3	Utilisation de la CTI pour l'imagerie séquentielle et la surveillance de l'animal	95
5.4.4	Imagerie SPECT/IRM séquentielle ou simultanée . .	96
5.5	Conclusion	96
5.6	Perspectives	97
6	Applications d'imagerie des tissus mous par μCT	99
6.1	Visualisation de malformations et de tumeurs de l'intestin chez la souris par μ CT	99
6.1.1	Introduction	100
6.1.2	Matériel et méthode	100
6.1.3	Résultats	101
6.1.4	Discussion	106
6.1.5	Conclusion et perspectives	107

Table des matières

6.2	Mesure par μ CT de la surface péritonéale recrutée pendant la dialyse péritonéale chez le rat	108
6.2.1	Introduction	108
6.2.2	Matériel et méthode	109
6.2.3	Résultats	113
6.2.4	Discussion	116
6.2.5	Conclusion et perspectives	121
6.3	Utilisation du μ CT pour l'imagerie des tissus mous	122
	Conclusion générale	123
	A La cellule technique pour l'imagerie (CTI)	127
	B Principe de l'IRM	131
B.1	Résonance magnétique nucléaire	131
B.2	Codage de l'espace dans le plan de Fourier	132
B.3	Pondération du signal	133
B.4	Gammes de champ magnétique	134
B.5	Rapport signal-à-bruit et durée de l'acquisition IRM en mode 3D	136
	C Implémentation des séquences rapides d'écho de gradient	139
C.1	Fantôme de test	139
C.2	Séquence FLASH : Fast Low Angle Shot	141
C.3	Séquence FAST : Fast Acquisition in STeady state	145
C.4	Séquence CEFAST : Contrast Enhanced FAST	147
	D Liste des travaux auxquels ce travail de thèse a donné lieu	151
	Bibliographie	155

Table des figures

1.1	Aimants résistifs à 0,1T horizontal et vertical	14
1.2	Coupe axiale d'une queue de souris acquise <i>in vivo</i> à 0,1T et coupe histologique correspondante	19
1.3	Coupes sagittales, coronales et axiales pondérées T_1 et T_2 du genou droit d'un rat	20
1.4	Imageur dédié : μ CT eXploreLocus	21
1.5	Imageur dédié : μ SPECT Gaede	23
2.1	Injection stéréotaxique des cellules tumorales	28
2.2	Coupes axiales, coronales et sagittales extraites du volume des données fusionnées SPECT/IRM	31
2.3	Évolution des volumes tumoraux mesurés par IRM en pondération T_1 et T_2	31
2.4	Coupes axiales, frontales et sagittales d'une souris du groupe TpSO8/5-FC à J21 en pondérations T_1 T_2	38
2.5	Croissances tumorales moyennes des 4 groupes d'animaux mesurées dans des données pondérées T_1 et T_2 (mm^3)	39

2.6	Coupes axiales, frontales et sagittales homologues pondérées T1 chez une souris témoin et une souris traitée à J28	40
2.7	Croissances tumorales individuelles des trois individus traités mesurées dans des données pondérées T ₁ et T ₂ (mm ³)	42
2.8	Évolution du gliome pendant les 9 semaines de suivi de la souris S41 appartenant au groupe traité	43
3.1	Chronogramme des acquisitions IRM synchronisées au rythme cardiaque chez le rat	50
3.2	Acquisition cardiaque IRM synchronisée réorientée selon les 3 axes cardiaques chez le rat adulte normal	51
3.3	Contours ventriculaires moyens obtenus par seuillage chez le rat adulte normal	52
3.4	Évolution des volumes ventriculaires gauche et droit mesurés chez le rat sain	54
3.5	Images paramétriques d'amplitude et de phase obtenues à partir des données IRM 4D réorientées chez le rat sain	55
3.6	Histogrammes de phase obtenus à partir de l'image de phase IRM 4D chez le rat normal	55
3.7	Acquisition cardiaque IRM synchronisée réorientée selon les 3 axes cardiaques chez un rat infarci	56
3.8	Images paramétriques d'amplitude et de phase calculées à partir des données IRM 4D chez un rat infarci	57
3.9	Histogramme de phase gauche obtenu à partir de l'image de phase IRM 4D chez un rat infarci	58
3.10	Perfusion cardiomyocytaire non synchronisée chez un rat infarci	58
4.1	Vue d'ensemble du dispositif mis en place pour l'ERM <i>in vivo</i> du cerveau de rat	68
4.2	Séquence écho de spin 2D avec un gradient de sensibilité aux mouvements inclus dans la direction de codage de phase	69

Table des figures

4.3	Dispositif ERM pour la détermination des propriétés mécaniques d'un gel d'échographie	70
4.4	Images ERM d'un gel homogène des 8 déphasages utilisés par l'algorithme d'inversion d'onde	71
4.5	Détail de la transmission de l'onde mécanique au crâne de rat <i>in vivo</i>	74
4.6	Région d'intérêt tracée sur le cerveau pour le calcul des modules de cisaillement moyens	75
4.7	Modules de stockage G' et de perte G'' en fonction de la fréquence <i>in vivo</i>	76
4.8	Moyennes des modules de stockage G' et de perte G'' mesurés à 180Hz <i>in vivo</i> , <i>post mortem</i> H0 et H24	77
4.9	Comparaison des modules de stockage mesurés <i>in vivo</i> chez le rat avec les valeurs de la littérature	80
4.10	Comparaison des modules de perte mesurés <i>in vivo</i> chez le rat avec les valeurs de la littérature	81
5.1	Détail de la mise en place de l'animal dans la CTI pour l'application SPECT/IRM	86
5.2	Vue d'ensemble de l'installation SPECT/IRM comprenant sur un même axe la caméra μ SPECT, adjacente à l'IRM bas champ, et à l'ensemble d'anesthésie gazeuse	88
5.3	Fantôme de test SPECT/IRM et effet de l'antenne IRM et de la CTI sur le spectre d'énergie SPECT	90
5.4	Coupes frontales et sagittales du corps entier de souris nude obtenues par IRM avec une antenne développée pour l'application SPECT/IRM	91
5.5	Coupes orthogonales recalées SPECT/IRM avec un radiopharmaceutique de la perfusion pulmonaire chez une souris nude normale	91

5.6	Coupes orthogonales recalées SPECT/IRM avec un radio-pharmaceutique de la fonction rénale chez la souris nude normale	92
5.7	Coupes orthogonales recalées SPECT/IRM avec un radio-pharmaceutique de la perfusion cérébrale chez la souris nude normale	93
6.1	Protocole d'imagerie μ CT multi-contraste chez la souris . . .	102
6.2	Visualisation des hétéroplasies non cancéreuses dans le caecum d'une souris $Cdx2+/-$	103
6.3	Détection par μ CT des malformations osseuses des souris $Cdx2+/-$	104
6.4	Visualisation des tumeurs du colon induites chez deux souris traitées AOM	106
6.5	Préparation des rats	111
6.6	Étapes de détermination de la surface péritonéale recrutée .	112
6.7	Fantômes de test. Surface du prolongateur et coupe axiale du tube	114
6.8	Erreur de calcul de la surface du fantôme tube en fonction de la concentration en Visipaque	115
6.9	Coupes coronales au niveau du thorax et de l'abdomen chez trois rats différents en fonction du volume de solution de dialyse péritonéale infusé	116
6.10	Surface péritonéale recrutée rapportée au poids de l'animal en fonction du volume de remplissage	117
A.1	Vue d'ensemble de la CTI rat sans le tube externe, détail du masque d'anesthésie et vue d'ensemble de la CTI souris . . .	128
C.1	Fantôme de test constitué de 5 tubes contenant des solutions d'eau déminéralisée avec une dilution de $CuSO_4^{2-}$	140

Table des figures

C.2	Chronogramme de la séquence FLASH	141
C.3	Effet des spoilers, séquence FLASH avec un TR court (TE=9ms, TR=23ms, $\alpha=90^\circ$)	143
C.4	Effet de l'angle de bascule α avec un TR court. Séquence FLASH avec spoiler RF 117° : TE/TR 9/23ms	144
C.5	Effet de l'angle de bascule α avec un TR long. Séquence FLASH avec spoiler RF 117° : TE/TR 9/200ms	145
C.6	Chronogramme de la séquence FAST	146
C.7	Séquence FAST : TE/TR 9/23ms	147
C.8	Chronogramme de la séquence CE-FAST	148
C.9	Effet des spoilers, séquence CEFAST (TE/TR 9/23ms, $\alpha = 90^\circ$)	149
C.10	Pondération TE/TR, séquence CEFAST ($\alpha = 90^\circ$, gradient spoiler constant)	149
C.11	Effet de l'angle de bascule α , séquence CEFAST (TE/TR 20/33ms, gradient spoiler constant)	150

Liste des tableaux

1.1	Données anatomiques et physiologiques du rat et de la souris adultes comparées à l'homme	7
1.2	Caractéristiques des antennes RF conçues et utilisées dans ce travail	17
2.1	Répartition des animaux dans les 4 groupes	36
2.2	Permutation circulaire de l'ordre d'injection des animaux selon le jour	36
3.1	Volumes ventriculaires et débits moyens chez le rat sain . . .	54
3.2	Volume ventriculaire et débit moyen chez un rat 3 semaines après infarctus chirurgical	56
3.3	Acquisitions cardiaques synchronisées chez le rat	59

Glossaire

α : angle de bascule en IRM

μ CT : *micro computerized tomography* ou tomodensitomètre dédié à l'imagerie du petit animal (μ TDM), encore appelé μ scanner X. Nous choisissons l'appellation anglo-saxonne μ CT qui est la plus utilisée

μ SPECT : *single photon emission computed tomography* ou tomographie d'émission mono photonique dédiée à l'imagerie du petit animal (μ TEMP). Nous choisissons l'appellation anglo-saxonne μ SPECT qui est la plus utilisée

Axiale : les coupes axiales sont définies comme étant parallèles au plus grand axe

Bas champ : désigne les aimants IRM fonctionnant à un champ inférieur ou égal à 0,5T

bpm : battements par minute

cpm : coups par minute

CT : *computerized tomography* ou tomodensitomètre (TDM), encore appelé scanner X

ECG : électrocardiogramme

ERM : élastographie par résonance magnétique

FOV : *field of view* ou champ de vue

Haut champ : désigne les aimants IRM fonctionnant à un champ supérieur ou égal à 1,5T

IP : intra-péritonéale

IRM : imagerie par résonance magnétique nucléaire

IV : intra-veineuse

Nex : nombre d'excitations ou de répétitions

PET : *positon emission tomography* ou TEP

Pixel : élément 2D élémentaire d'image

Rapport C/B : rapport contraste à bruit

Rapport S/B : rapport signal à bruit

RF : radio-fréquence

RMN : résonance magnétique nucléaire

SPECT : *single photon emission computed tomography* ou TEMP

SPR : surface péritonéale recrutée

ST : *slice thickness* ou épaisseur de coupe

T₁ : constante de relaxation longitudinale ou *spin-réseau*

T₂ : constante de relaxation transversale ou *spin-spin*

T₂^{*} : constante de relaxation transversale apparente

TA : temps d'acquisition ou durée totale d'acquisition

TE : temps d'écho

TEMP : tomographie d'émission mono photonique (voir *SPECT*)

TEP : tomographie par émission de positons (voir *PET*)

TR : temps de répétition

TTL : niveau logique transistor - transistor

Voxel : élément 3D de volume élémentaire

Introduction

L'adaptation des méthodes d'imagerie aux spécificités du petit animal *in vivo*, appelée **imagerie préclinique**, constitue une avancée technologique récente pour la recherche biologique tant du point de vue de l'approche non-invasive *in vivo* de processus physico-pathologiques, que du point de vue de l'éthique, car elle propose une alternative aux méthodes de suivi qui imposent le sacrifice à intervalles réguliers de groupes d'animaux. En effet, l'imagerie *in vivo* des petits animaux offre la possibilité de suivre dans le temps des individus identifiés, et permet ainsi de réduire le nombre d'animaux utilisés tout en améliorant la puissance statistique des résultats obtenus.

Nous disposons au sein du laboratoire (Service de biophysique et médecine nucléaire, CHU Hautepierre) d'un plateau technique d'imagerie préclinique multimodal constitué de deux IRM (imagerie par résonance magnétique) à 0,1T, d'un μ CT (tomodensitométrie ou scanner X) et d'une μ -gamma caméra (tomographie par émission monophotonique ou μ SPECT), nous permettant de choisir le protocole d'imagerie le plus approprié pour chaque problématique biologique mettant en oeuvre une, ou si nécessaire plusieurs modalités d'imagerie. Cet ensemble d'instruments jouxte ceux destinés à l'homme dans la partie clinique du service (deux gamma caméras, un TEP/CT) ce qui permet un partage d'expérience et de connaissances fructueux.

Actuellement, les expériences d'IRM préclinique sont menées majoritairement dans des aimants dédiés fonctionnant à haut champ (compris

actuellement entre 2T et 17T) mais ces équipements extrêmement coûteux restent confinés dans des centres de recherche en imagerie préclinique, et leur usage est le plus souvent restreint aux développements de protocoles qui ne seront ensuite pas suivis par une utilisation de routine dans le cadre d'une étude biologique à long terme. Pour contourner la problématique du coût tant d'installation que de fonctionnement des IRM à haut champ, certaines équipes se tournent vers l'utilisation des IRM cliniques fonctionnant à des champs intermédiaires (généralement 1,5T ou 3T). Ces appareils sont très répandus, mais du fait de leur affectation clinique, leur utilisation est restreinte dans le temps et n'est pas optimisée pour l'imagerie du petit animal. Dans ce cadre, nous pensons que l'IRM dédiée à bas champ (inférieur à 0,5T) constitue une troisième voie délaissée mais non moins valable pour l'imagerie *in vivo* du petit animal. En effet ces appareils présentent des caractéristiques économiques et techniques qui permettent une utilisation pour l'imagerie préclinique de routine *in vivo* comme nous le montrons aux travers d'applications variées telles que le suivi longitudinal d'une croissance tumorale, l'étude de la fonction cardiaque ou la détermination des propriétés mécaniques de la matière cérébrale.

Malgré le large panel d'applications de l'IRM préclinique, il est évident que cette méthode ne constitue pas l'outil d'imagerie universel, et la complémentarité des méthodes d'imagerie joue un rôle majeur dans l'obtention de résultats optimaux pour chaque problématique, comme le montre le développement des plateaux techniques d'imagerie et l'attractivité des modalités d'imagerie duale médecine nucléaire/imagerie anatomique.

Le **premier chapitre** de ce travail traite des spécificités de l'imagerie *in vivo* du petit animal en général et des adaptations nécessaires concernant les techniques d'imageries mais aussi la prise en charge de l'animal. La description des imageurs IRM à 0,1T utilisés et les développements effectués pour leur utilisation *in vivo* chez le petit animal sont approfondis. Les quatre chapitres suivants traitent de problématiques démonstratives s'appuyant sur l'usage de l'IRM à 0,1T.

Ainsi, la **seconde partie** présente les résultats obtenus concernant le suivi longitudinal quantitatif de la croissance de glioblastomes induits chez la souris afin d'évaluer l'action d'une stratégie de thérapie génique.

Le développement d'un protocole d'imagerie fonctionnelle cardiaque synchronisée par IRM à 0,1T chez le rat fait l'objet du **chapitre trois** ainsi que les résultats obtenus chez le rat sain et infarci et leur exploitation.

La **quatrième partie** décrit l'utilisation de l'IRM à 0,1T pour effectuer des expériences d'élastographie par résonance magnétique (ERM) afin de déterminer les propriétés visco-élastiques du tissu cérébral *in vivo* chez le rat, et de suivre leur évolution *post mortem*.

Dans une **cinquième partie**, nous proposons une solution technique utilisant un imageur IRM à bas champ en ligne avec une caméra μ SPECT pour la conception d'une modalité duale SPECT/IRM d'imagerie du petit animal que nous illustrons par plusieurs applications.

Dans un contexte multimodal, la **sixième partie** souligne l'importance du choix de la modalité d'imagerie appropriée à chaque application à travers la description de deux applications pour lesquelles le μ CT avec produits de contraste est plus approprié que l'IRM pour l'imagerie des tissus mous.

Nous montrons ainsi que l'IRM à bas champ, loin d'être une curiosité de laboratoire peut trouver sa place au sein des structures d'imagerie multimodalité qui se multiplient actuellement dans le monde et en France. Le cœur du problème est d'être à même de fournir une réponse aux problèmes biologiques posés qui ne requièrent pas tous ni une résolution spatiale élevée, ni des mesures spectroscopiques mais qui pourraient bénéficier de l'apport de l'IRM à bas champ.

Chapitre 1

Spécificités de l'imagerie *in vivo* du petit animal

1.1 Motivations de l'imagerie pré-clinique du petit animal

Les modèles animaux des pathologies humaines constituent l'étape nécessaire entre l'expérimentation *in vitro* et la compréhension de la physiopathologie chez l'homme et/ou les premiers tests cliniques. Les méthodes classiques de suivi longitudinal *ex vivo* nécessitent le sacrifice régulier de groupes d'animaux. En comparaison, les méthodes d'imagerie pré-clinique pour la plupart issues des méthodes d'imagerie clinique et appliquées aux modèles petits animaux améliorent considérablement le suivi temporel de la pathologie et la connaissance de l'action des thérapeutiques grâce à un suivi longitudinal *in vivo* d'individus identifiés. La puissance statistique de l'étude est ainsi renforcée et le nombre d'animaux nécessaire peut être réduit.

On considère qu'entre 50 et 100 millions d'animaux [124] sont utilisés chaque année dans le monde pour l'expérimentation animale, dont les souris et les rats représentent la grande majorité. Ces petits mammifères offrent de nombreux avantages tels que un cycle de vie court, un élevage simple et de faible coût, une faible taille et une natalité importante auxquels s'ajoutent une moindre compassion à leur égard dans l'opinion publique que pour d'autres mammifères. La maîtrise des modifications génétiques (transgène) chez la souris en fait l'animal de laboratoire le plus répandu. Le rat

offre quant à lui une taille plus favorable aux gestes chirurgicaux et a priori à l'imagerie *in vivo*.

1.2 Contraintes liées à l'imagerie du petit animal *in vivo*

1.2.1 Autorisation d'expérimentation animale

Comme énoncé précédemment, l'imagerie du petit animal propose un suivi d'individus identifiés qui participe à la réduction du nombre d'animaux utilisés en recherche préclinique, un des trois « R » (*Reduction, Replacement, Refinement* [124]) des principes directeurs communément adoptés pour l'expérimentation animale à travers le monde. Toutes les expériences d'imagerie *in vivo* du petit animal ont été menées dans le respect de la réglementation française sous la direction du Dr. Philippe Choquet au sein de laboratoire du service de biophysique et médecine nucléaire (autorisations A67-104 et A67-484-20). Un grand soin a été apporté à la limitation (*Refinement*) des effets nocifs éventuels liés au protocole d'imagerie (cf §1.2.3) et des souffrances engendrées par les pathologies (cf §2.1.2). Le nombre d'animaux utilisés a été réduit au minimum nécessaire dans l'ensemble des manipulations présentées dans ce mémoire. A l'issue des expérimentations, les animaux ont été euthanasiés sous anesthésie gazeuse à l'isoflurane par une injection intracardiaque d'une dose létale de penthotal.

1.2.2 Particularités de l'anatomie et de la physiologie du petit animal

Le tableau 1.1 présente un comparatif de données anatomiques et physiologiques de la souris, du rat et de l'homme adulte. Les poids moyens des souris et des rats de laboratoire sont respectivement 2800 et 230 fois plus faibles que celui d'un homme de 70kg. Du point de vue de la taille (plus grande dimension), les rapports pour la souris et le rat sont respectivement

Espèce	Souris	Rat	Homme
Poids	25g	300g	70kg
Taille	8cm	18cm	1m70
Température interne	37°C	37,3°C	37,5°C
Rythme cardiaque	520bpm	350bpm	60bpm
Fréquence respiratoire	100cpm	60cpm	12cpm

TAB. 1.1 – *Données anatomiques et physiologiques moyennes du rat et de la souris adultes comparées à l'homme. La taille correspond à la plus grande dimension, sans la queue chez les rongeurs. Les fréquences cardiaques et respiratoires sont données sous anesthésie à l'isoflurane pour la souris et le rat [22, 34, 85, 105, 152]. bpm : battements par minute, cpm : cycles par minute*

de 21 et 10, et cet ordre de grandeur s'applique aux dimensions de l'ensemble des tissus à imager. Les processus physiologiques cycliques comme la respiration et l'activité cardiaque sont beaucoup plus rapides chez la souris (8 et 9 fois plus rapides) et le rat (5 et 7 fois plus rapides) que chez l'homme. Les phénomènes métaboliques comme le métabolisme hépatobiliaire [55] sont également plus rapides chez le rongeur que chez l'humain. Ainsi pour l'imagerie pré-clinique chez la souris et le rat, les résolutions spatiales et temporelles, doivent être nécessairement beaucoup plus élevées que celles nécessaires en imagerie clinique humaine afin d'obtenir une information pertinente.

1.2.3 Éléments d'anesthésie

Lors d'expériences d'imagerie *in vivo*, les animaux doivent être anesthésiés (à l'exception de l'échographie pour laquelle des images peuvent être acquises sur des animaux vigiles). Le mode d'anesthésie doit supprimer les mouvements volontaires ainsi que la perception de la douleur sans mettre en péril la vie de l'animal. La technique d'anesthésie choisie doit avoir une incidence limitée sur les paramètres physiologiques de manière à les maintenir proches de leurs valeurs chez l'animal vigile. Elle doit également permettre un réveil et une récupération rapides, ainsi qu'un usage répété sans toxicité

[174]. Nous avons choisi d'utiliser une anesthésie gazeuse à l'isoflurane (1% à 2,5%) poussé par de l'air.

L'induction de l'anesthésie gazeuse dans une chambre d'induction limite le stress initial car elle est indolore (pas d'injection) et rapide (1 à 2min). Durant l'expérimentation, l'anesthésie gazeuse permet de contrôler la dose délivrée en continu et d'adapter la durée de l'anesthésie en « temps réel » aux conditions de l'expérience. Ce dernier point est important en imagerie préclinique car il est fréquent de souhaiter poursuivre une acquisition au delà du temps prévu initialement lors de la mise en place des protocoles.

De plus les effets hémodynamiques de l'isoflurane sont moindres que ceux des anesthésiques non volatiles (uréthane, pentobarbital, kétamine-xylazine, tribromoéthanol) [78]. La dose d'isoflurane doit néanmoins être limitée car un excès provoque des effets cardio-dépresseurs [34]. Il a été montré qu'une dose de 1,25%, respectivement 1,5%, d'isoflurane exerce un impact mineur sur les paramètres physiologiques chez la souris [75, 85], respectivement le rat [152]. Néanmoins comme tout anesthésique son utilisation modifie certains paramètres physiologiques en l'occurrence par exemple la glycémie [140].

Lors des expériences d'imagerie présentées dans ce mémoire, le protocole d'anesthésie gazeuse appliqué est le suivant :

1. Induction de l'anesthésie à concentration élevée (5% d'isoflurane) dans une chambre à induction pendant une à deux minutes
2. Maintien à une dose élevée de 2% (respectivement 3% chez le rat) pendant la mise en place dans la cellule technique pour l'imagerie (cf §A) et dans l'imageur (dizaine de minutes)
3. Une fois l'animal mis en place dans l'imageur, la dose d'isoflurane délivrée est de 1,5% (2,5% chez le rat), et est baissée régulièrement afin de maintenir un rythme respiratoire proche des valeurs moyennes chez l'animal vigile au repos
4. Les doses minimales atteintes permettant de maintenir l'anesthésie sont de 0,8% chez la souris et 1,5% chez le rat

L'hypothermie est la cause majeure de décès des petits animaux anesthésiés lors des expériences d'imagerie. En effet, leur rapport surface corporelle sur volume corporel est important, et favorise les échanges thermiques avec l'environnement dans lequel se trouve l'animal. La température de l'animal anesthésié soumis à la température de la pièce (21°C) chute très rapidement dans l'heure suivant l'induction de l'anesthésie. Une hypothermie devient dangereuse à partir de 33°C, c'est pourquoi des systèmes de chauffage favorisant le maintien de l'homéostasie sont recherchés. Dans notre pratique, l'animal anesthésié est mis en place dans une cellule technique pour l'imagerie (CTI, Minerve, France ; cf §A) qui dispose d'un masque d'anesthésie gazeuse et d'un système de chauffage de l'environnement par flux d'air chauffé. Ce système est décrit en détail dans l'annexe A.

1.2.4 Surveillance des paramètres physiologiques

Les produits anesthésiques perturbent le système cardio-respiratoire et la thermo-régulation des animaux. Ces effets dépendent de l'anesthésique choisi mais sont également variables en fonction de l'espèce, de la souche et de l'individu. Des outils de surveillance des paramètres physiologiques sont nécessaires afin de contrôler la profondeur de l'anesthésie et d'éviter le décès de l'animal anesthésié. Ils permettent d'adapter la dose d'anesthésique délivrée à l'état physiologique de l'animal à chaque instant. De plus, un système de monitoring permet de synchroniser les acquisitions aux rythmes cardiaque et/ou respiratoire (cf. §3). Enfin, un enregistrement permet de vérifier a posteriori que l'animal est resté dans un état d'homéostasie pendant toute la durée de l'acquisition.

En collaboration avec la société vétérinaire Minerve, nous avons développé au sein du laboratoire de biomécanique un système de surveillance des paramètres physiologiques de l'animal utilisant un boîtier USB de conversion analogique-numérique des signaux mesurés et une programmation sous le logiciel Labview (National Instrument).

La température interne est mesurée à l'aide d'une sonde rectale (thermocouple de type K) branchée sur la face avant du module de régulation de température Minerve (cf. §A). La respiration est captée par l'intermédiaire d'un coussin (*baby respiration sensor*, Graseby) déposé sous le thorax ou l'abdomen de l'animal. Les différences de pression au cours du cycle respiratoire sont converties en signal analogique par un capteur de pression (boîtier développé par Minerve, pression différentielle de destruction 2mbar). Le signal ECG est prélevé par des électrodes, reliées à un électrocardiographe clinique (Physiogard RSM784, Bruker/ODAM, Wissembourg, France) qui dispose d'une sortie analogique du signal ECG filtré et amplifié. Nous souhaitons éviter les électrodes sous cutanées traumatiques pour l'animal et qui ne permettent pas d'examen répétés. Des électrodes constituées de portefeuilles en carbone et reliées à un câble BNC très fin (diamètre 300 μ m) à glisser sur les pattes de l'animal sont actuellement testées. L'électrocardiographe pré-filtre le signal analogique recueilli.

Les signaux analogiques obtenus sont échantillonnés en signaux numériques par un boîtier USB (NI-USB6009, 16 voies, fréquence d'échantillonnage max 1MHz, National Instrument), puis traités dans un programme développé avec le logiciel Labview (travaux du Dr. C. Goetz). L'interface développée affiche les différents paramètres physiologiques en temps réel. Elle permet de les enregistrer au cours de l'acquisition, et donne en continue des indications sur l'état physiologique de l'animal.

Trois contraintes majeures influencent le choix des électrodes :

- leur gamme de sensibilité doit couvrir les manifestations du paramètre physiologique à mesurer chez le petit animal
- elles ne doivent pas perturber les acquisitions d'imagerie (artefact métallique, forte atténuation des rayons X à l'origine d'artefact de durcissement du faisceau...)
- leur mise en place doit être simple et rapide afin d'envisager une utilisation systématique
- elles doivent rester en place et permettre une mesure sur une durée de plusieurs heures.

En pratique, seul le capteur de respiration ne perturbe pas les acquisitions IRM, CT et de médecine nucléaire. Les thermocouples et les électrodes ECG sont radio-opaques et engendrent des artefacts métalliques en IRM. Nous disposons d'un thermocouple compatible IRM, mais il demeure radio-opaque. Les électrodes ECG portefeuille en carbone présentent l'avantage de ne pas être fortement radio-opaques, le carbone possédant des propriétés d'atténuation des rayons X équivalentes à celles des tissus mous. De plus, ces électrodes ECG sont déportées sur les pattes et ne produisent pas d'artefact au niveau du thorax.

1.3 Modalités d'imagerie utilisées

1.3.1 Généralités sur les imageurs dédiés

Pour toutes les modalités d'imagerie préclinique, les conditions d'acquisition doivent être optimisées afin d'offrir une résolution diagnostique à l'échelle de l'animal, tout en permettant le maintien de l'animal dans des conditions d'homéostasie pendant la durée de l'examen. La résolution spatiale doit être adaptée aux dimensions des organes des petits animaux (cf. 1.1), c'est-à-dire que la résolution atteinte doit être millimétrique ou sub-millimétrique afin d'obtenir une information diagnostique. La difficulté technique consiste en la réduction du rapport signal à bruit (S/B) avec la taille des voxels, qui s'applique pour toutes les méthodes d'imagerie et impose une limite inférieure à la dimension des voxels.

Une seconde limite inférieure à la dimension des voxels *in vivo* provient des mouvements physiologiques cardiaque et respiratoire, des flux et du péristaltisme intestinal, c'est-à-dire des mouvements naturels des organes et des tissus, car lorsque la résolution de l'acquisition est inférieure à l'étendue du mouvement, un flou apparaît dans l'image. Par exemple, un déplacement du diaphragme de l'ordre de 2mm a été mesuré chez le rat entre l'inspiration et l'expiration [97]. Malgré une synchronisation cardiaque et respiratoire, les organes du thorax ne reviennent pas exactement dans la même position

entre deux mouvements respiratoires, et occupent à chaque instant du cycle une position moyenne avec un écart type de l'ordre de 100 μ m [97]. Une résolution inférieure à 100 μ m est donc inutile sur le thorax, même lors d'une acquisition synchronisée aux rythmes cardiaque et respiratoire. Il est certain que de telles limites existent quelle que soit la zone de l'animal à examiner *in vivo*.

Le laboratoire de biomécanique dispose de deux IRM dédiés à 0,1T (fig. 1.1, cf. §1.3.2), d'un μ CT (tomodensitométrie X, fig. 1.3.3, cf. §1.3.3) et d'une caméra SPECT simple pinhole (tomographie d'émission monophotonique, fig. 1.3.4, cf. §1.3.4). Ces trois modalités complémentaires permettent de couvrir une large gamme d'applications précliniques.

1.3.2 IRM dédiée à bas champ 0,1T

Après un bref rappel concernant la place de l'IRM bas champ dans l'imagerie du petit animal, ce chapitre s'attache à décrire l'équipement d'imagerie par résonance magnétique (IRM) à 0,1T utilisé dans ce travail et les développements nécessaires à son utilisation en imagerie préclinique.

Spécificité de l'instrumentation à bas champ

Les premières IRM chez le petit animal ont été effectuées dans les années 1980 en utilisant les premiers aimants cliniques fonctionnant à des champs inférieurs à 0,5T [46, 66, 67]. Les champs magnétiques utilisés pour l'imagerie du petit animal ont augmenté avec ceux des aimants cliniques jusqu'à atteindre la norme de 1,5T [7, 150] dans les années 1990. Les premiers aimants à haut champ dédiés à l'imagerie du petit animal sont apparus à la fin des années 1980 [136, 155] et ont rapidement atteint des champs tels que 7T. Tandis que les champs magnétiques principaux ont et continuent d'augmenter, leur homogénéité ainsi que la qualité des antennes RF, de l'électronique d'acquisition et des séquences IRM s'améliorent et participent à l'augmentation du rapport S/B obtenu dans des temps d'acquisition (TA) toujours

plus courts. Ces avancées techniques profitent à tous les imageurs IRM, indépendamment de leur champ magnétique.

L'augmentation du champ magnétique permet d'accroître le rapport S/B intrinsèque ce qui autorise à diminuer le TA (cf §B.5). Cette propriété explique l'orientation technique générale de constante augmentation des champs magnétiques principaux dans les imageurs IRM (cf §B.4). Cette tendance est d'autant plus forte pour l'imagerie du petit animal qu'elle nécessite d'atteindre des résolutions beaucoup plus fines qu'en utilisation clinique, c'est pourquoi l'utilisation d'imageur fonctionnant à un champ inférieur à 1,5T est actuellement extrêmement rare en imagerie du petit animal. L'imagerie préclinique prend majoritairement place dans des imageurs dédiés à haut champ (hfMRI, *high field MRI*) ou dans une moindre mesure dans des aimants cliniques (cMRI, *clinical MRI*) à 1,5T ou 3T rendus disponibles à cet usage.

A contre courant de la pratique actuelle, nous pensons que l'IRM à bas champ offre des spécificités économiques et techniques qui justifieraient une plus grande place à son utilisation.

Description des appareils IRM à 0,1T

Le laboratoire dispose de deux aimants résistifs (Bouhnik SAS, Vélizy-Villacoublay, France) qui produisent un champ magnétique principal de 0,1T. Ces aimants à bas champ ont été initialement conçus pour l'imagerie des extrémités (main, doigt, poignet) [5, 58].

Le premier aimant mesure 70cm × 70cm au sol pour 105cm de hauteur, et pèse 700kg (fig. 1.1(a)). Les deux bobines résistives produisent un champ magnétique vertical. Elles sont alimentées par une alimentation hautement stabilisée en courant. L'aimant est ouvert sur trois côtés et offre une grande accessibilité dans l'entrefer qui mesure 18cm de hauteur. La zone homogène à ± 10 ppm est ellipsoïdale, large de 10cm et haute de 6cm (données constructeur). La ligne des 5Gauss se situe à 15cm en dehors de l'entrefer. Le champ de fuite à un mètre de l'aimant est de l'ordre du Gauss et ne

perturbe pas les dispositifs électroniques placés à proximité. Les trois gradients de champ ont une amplitude maximale de $20\text{mT}\cdot\text{m}^{-1}$ et un temps de montée minimal de $0,4\text{s}$. L'aimant et l'alimentation sont refroidis par un circuit d'eau avec un débit moyen de $3\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. La consommation électrique est de 3230W pour l'ensemble (triphase 380V ; $7,5\text{A}$ pour l'aimant - 1A pour les gradients). Deux potentiomètres permettent de régler le champ principal de l'aimant entre 925G et 1050G . L'homogénéité du champ est améliorée à $\pm 5\text{ppm}$ à l'aide de 12 gradients de correction. Ces corrections sont accessibles sur l'alimentation pour un réglage manuel de l'homogénéité du champ.

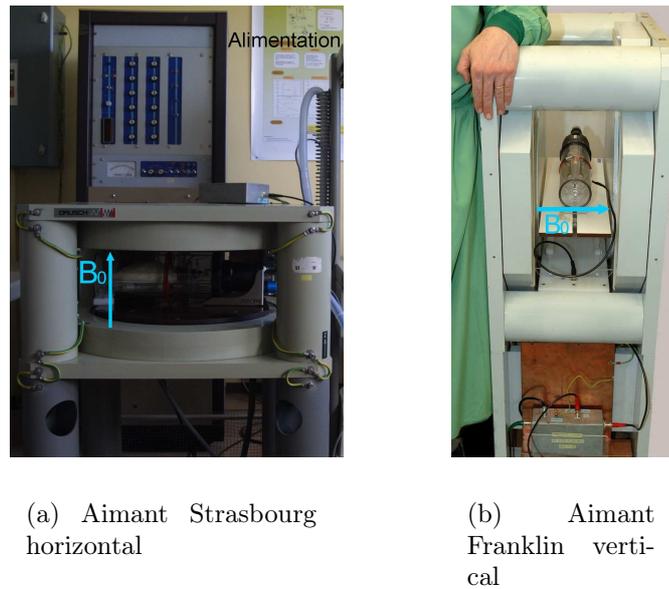


FIG. 1.1 – Aimants résistifs à $0,1\text{T}$ horizontal et vertical. La direction du champ principal est indiquée par la flèche.

Le second aimant est du même type mais délivre un champ magnétique horizontal (fig. 1.1(b)). Il mesure $40\text{cm} \times 70\text{cm}$ au sol pour 120cm de hauteur et pèse 850kg . Il dispose de 9 gradients de correction de l'homogénéité du champ magnétique. Les gradients ont une amplitude maximale de $16\text{mT}\cdot\text{m}^{-1}$ dans les trois directions.

Nous disposons d'un spectromètre de recherche SMIS (Guilford, Grande Bretagne) équipé de cartes MR3031 (synthèse du pulse RF) et MR3040 (contrôle des gradients). Cette console synthétise des fréquences de 1MHz à 300MHz (PTS300). L'ensemble est piloté par l'intermédiaire d'un PC industriel. La console contrôle la fréquence d'émission, l'amplitude et la forme de l'impulsion RF, les gradients de codage d'espace ainsi que la démodulation et l'amplification du signal de réception. Une amplification supplémentaire de l'impulsion RF est apportée par un amplificateur en courant (Kalmus). Au niveau de l'antenne, la boucle d'accord est reliée à un pont de diodes équipé d'une lame quart d'onde qui protège l'étage de réception lors de l'émission du signal RF. Lors de la réception du signal, celui-ci est pré-amplifié par un amplificateur 21dB (Janel). Le logiciel fourni avec la console permet la programmation des séquences RF, le réglage des paramètres des acquisitions par l'utilisateur, la reconstruction et la visualisation des images.

IRM à 0,1T in vivo du petit animal

En dehors de la spectroscopie, la seule limitation en imagerie d'un système IRM fonctionnant à bas champ est son rapport S/B défavorable en comparaison avec les imageurs fonctionnant à plus haut champ magnétique (cf. §B.5). Plusieurs adaptations permettent cependant *in vivo* l'IRM du petit animal en maximisant le rapport S/B obtenu avec notre appareil fonctionnant à 0,1T.

Antennes RF Des antennes solénoïdales émettrice/réceptrice sont conçues pour chaque application afin de maximiser le coefficient de remplissage. Elles résonnent à une fréquence proche de 4,26MHz correspondant à la fréquence de Larmor de l'hydrogène à 0,1T. Des capacités amagnétiques de valeur fixe permettent de régler la fréquence de résonance des antennes RF (circuits RLC) dans la gamme autorisée par les aimants. Le champ de l'aimant est ensuite ajusté pour que la fréquence de Larmor des protons corresponde à la fréquence de résonance de l'antenne. Un potentiomètre permet de régler grossièrement le champ magnétique, le second permet d'affiner le ré-

glage. Cette souplesse dans la fréquence de résonance simplifie la conception des antennes radio-fréquence (RF). Les antennes RF sont couplées au pré-amplificateur par induction avec une boucle d'accord.

L'antenne RF d'émission doit produire une excitation homogène sur l'ensemble du champ de vue. En réception, la sensibilité de l'antenne au signal RMN est primordiale et favorisée par le facteur de remplissage de l'antenne par l'échantillon.

Ainsi des antennes solénoïdales sont-elles développées pour l'imagerie du petit animal car elles fournissent une impulsion RF homogène, et parce que la géométrie du champ magnétique des deux IRM à 0,1T le permet (champs vertical et horizontal perpendiculaires à l'axe crânio-caudal des animaux). Les antennes solénoïdales sont adaptées à l'imagerie *in vivo* du petit animal, car la position de l'animal et de ses membres imagés demeure conforme à sa posture naturelle pendant les expériences d'imagerie.

Ces antennes solénoïdales émettrice/réceptrice sont conçues spécifiquement pour chaque application afin de maximiser le coefficient de remplissage de l'antenne par l'échantillon, et ainsi sa sensibilité en réception (cf tableau 1.2). Dans le tableau 1.2 le facteur de remplissage est calculé comme le volume de la zone de l'échantillon apparaissant dans les images (calculé à partir des images IRM) divisé par deux fois le volume interne de l'antenne [70].

Les antennes résonnent à une fréquence proche de 4,26MHz correspondant à la fréquence de Larmor de l'hydrogène à 0,1T. Elles sont couplées au pré-amplificateur par induction avec une boucle d'accord glissée directement sur la cellule technique d'imagerie. Ce système de couplage inductif facilite la mise en place de l'antenne qui n'est pas directement reliée à un câble, et réalise de manière intrinsèque l'équilibre électrique de l'antenne [129].

Paramètres d'acquisition En comparaison avec un imageur fonctionnant à haut champ, l'augmentation du Nex en IRM à 0,1T permet de compenser l'infériorité du rapport S/B intrinsèque lié à la valeur du champ

Antenne	Diamètre	Longueur	Diamètre du fil	Nombre de tours	Q	η (%)
Souris						
Queue	4mm	8mm	1mm	7	40	75
Tête	21mm	13mm	2mm	5	200	58
SPECT/IRM						
Cerveau	21mm	13mm	1mm	11	180	53
Corps entier	29mm	68mm	0,7mm	76	280	29
Rat						
Genou	25mm	26mm	2mm	5	260	61
Tête	36mm	41mm	5mm	6	430	48
Thorax	60mm	34mm	5mm	4	550	80

TAB. 1.2 – *Caractéristiques des antennes RF conçues et utilisées dans ce travail. Q facteur de qualité; η facteur de remplissage (%)*

magnétique principal (cf §B.5). Les durées d'acquisition sont donc nécessairement plus longues dans un imageur à bas champ que dans un imageur à haut champ.

Des séquences d'imagerie rapide écho de gradient permettent d'obtenir des données 3D. Le rapport S/B des coupes obtenues avec des séquences 3D est supérieur à celui de coupes 2D, au dépend d'un TA plus long [44]. De plus, le volume 3D est intégralement acquis et reconstruit avec des coupes consécutives sans espace inter-coupes, et sans incertitude de sélection de tranche (liée à l'impulsion RF). Une épaisseur de coupe proche ou égale aux dimensions du voxel dans le plan est privilégiée dès que possible afin de limiter les effets de volume partiel et de permettre la réorientation dans le cas des volumes isotropes.

La résolution et le rapport S/B sont choisis afin de permettre d'obtenir l'information diagnostique. Le volume du voxel est choisi le plus large possible en fonction de la problématique afin de favoriser la quantité de signal disponible, et le rapport S/B. L'annexe B.5 fournit plus de détails concernant le rapport S/B et son évolution en fonction des paramètres de l'acquisition.

Dans les images IRM reconstruites, le rapport S/B d'une région d'intérêt est calculé comme [65, 172] :

$$S/B = \frac{\text{moyenne ROI}}{\text{ecart type fond}} \quad (1.1)$$

Le rapport contraste à bruit (C/B) est calculé comme :

$$C/B = \frac{(\text{moyenne ROI}) - (\text{moyenne objet autour ROI})}{\text{ecart type fond}} \quad (1.2)$$

Utilisation de la CTI La CTI (cf. §A) est un élément capital de réussite des expériences d'imagerie IRM *in vivo* chez le petit animal. Tout d'abord elle favorise la stabilisation de l'état physiologique de l'animal, et autorise des anesthésies longues compatibles avec les TA longs, compris entre 1h et 8h, utilisés dans ce travail. Un autre avantage inattendu est la simplification du placement de la boucle d'accord. La bulle extérieure de la CTI constitue un support naturel pour la boucle d'accord, et permet un réglage du couplage inductif tandis que l'animal est en place dans la CTI. L'utilisation de petites boucles d'accord mieux adaptées au couplage avec des antennes de faibles diamètres (antenne queue ou genoux de souris par exemple) est possible grâce au canal technique.

IRM haute résolution à 0,1T

Afin d'illustrer l'effet des différentes adaptations proposées sur les images IRM acquises à 0,1T, nous montrons deux résultats obtenus à 0,1T *in vivo* chez la souris et le rat pour lesquels, compte tenu de la résolution demandée, l'IRM à bas champ semble a priori inadaptée.

La figure 1.2 montre une coupe axiale d'une queue de souris acquise *in vivo* à 0,1T (antenne solénoïdale diamètre 5mm, 6 tours). Cette coupe est extraite d'un volume 3D de 32 coupes acquis en 1h30 avec les paramètres suivants : séquence FAST, TE/TR = 16/100ms, $\alpha=80^\circ$, Nex 26, matrice d'acquisition 64×64 , 32 coupes, FOV $6,4\text{mm} \times 6,4\text{mm}$, voxel reconstruit $100\mu\text{m} \times 100\mu\text{m}$, épaisseur de coupe $750\mu\text{m}$, TA 1h30. On retrouve dans

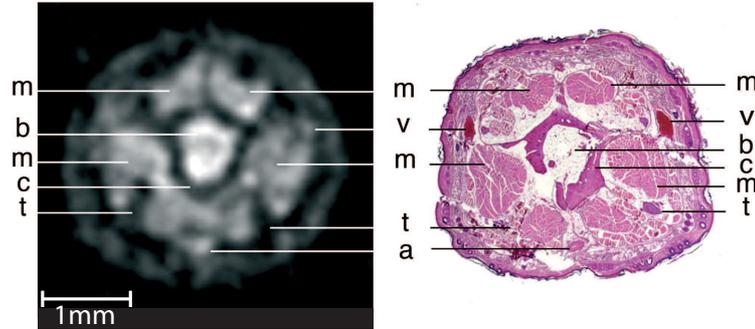


FIG. 1.2 – Coupe axiale d'une queue de souris acquise *in vivo* à 0,1T (gauche) et coupe histologique correspondante (droite). Artère (a), moelle osseuse (b), muscle cortical (c), muscle (m), tendon (t), veine (v)

cette image les structures identifiées sur la coupe histologique correspondante (fig. 1.2).

La figure 1.3 montre des coupes réorientées pondérées T_1 de l'articulation du genou droit d'un rat, issues d'une acquisition 3D isotrope $375\mu\text{m}$ acquise en 1h02 (séquence FLASH, $TE/TR = 8/100\text{ms}$, $\alpha=80^\circ$, Nex 4, matrice d'acquisition 128×96 , 96 coupes, FOV $48\text{mm} \times 48\text{mm}$, voxel reconstruit $375\mu\text{m}$ isotrope, TA 1h02). Cette acquisition est complétée par une acquisition 3D isotrope $422\mu\text{m}$ pondérée T_2 (CEFAST, $TE/TR = 22/31\text{ms}$, $\alpha=80^\circ$, Nex 24, matrice d'acquisition 128×96 , 96 coupes, FOV $54\text{mm} \times 54\text{mm}$, voxel reconstruit $422\mu\text{m}$ isotrope, TA 1h55). L'antenne utilisée est une antenne solénoïdale de diamètre 25mm, 5 tours.

Ces volumes 3D isotropes peuvent être réorientés selon n'importe quel plan de coupe afin d'étudier l'anatomie du genou *in vivo* chez le rat a posteriori. Il n'est alors pas nécessaire de définir précisément les plans de coupe lors de l'acquisition et le temps de positionnement de l'animal est réduit. Le rapport S/B obtenu (muscle) est d'environ 18.

Ces deux applications prouvent que les conditions d'acquisition que nous avons mises en place pour l'acquisition de données IRM à 0,1T *in vivo* permettent d'obtenir des données à haute résolution isotropes ou, en privilégiant la résolution dans le plan, atteignant jusqu'à $100\mu\text{m}$ dans le plan.

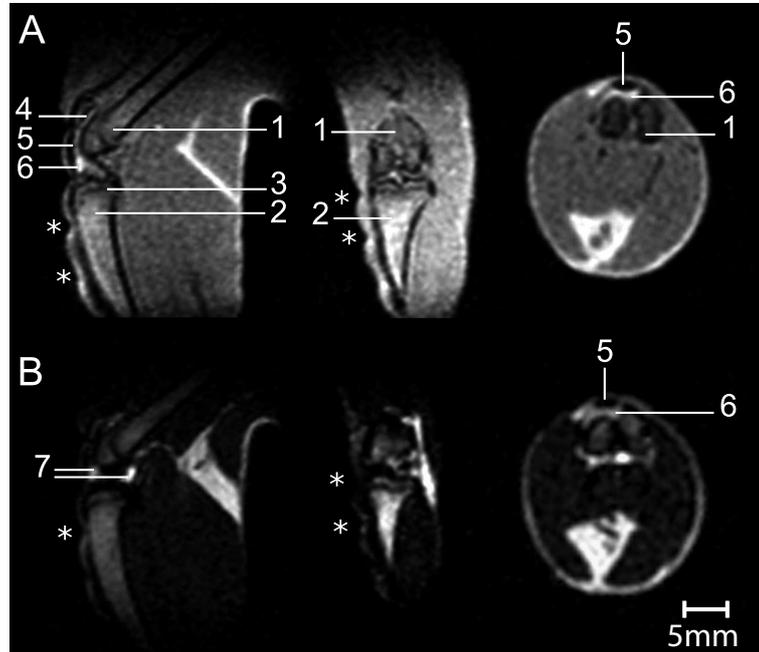


FIG. 1.3 – Coupes sagittales, coronales et axiales pondérées T_1 et T_2 du genou droit d'un rat extraites de données 3D isotropes ($375\mu\text{m}$ et $422\mu\text{m}$ respectivement) acquises *in vivo*. Épiphyse du fémur (1) et du tibia (2), plaques de croissances (3), rotule (4), ligaments (5), ligament adipeux (6), synovie (7). Le symbole \star indique des déformations de la peau et de la graisse sous cutanée produites par la mise en place de l'antenne RF

1.3.3 μCT (μ -tomodensimètre ou μTDM , ou μ -scanner X)

Un μCT (micro tomodensitomètre ou μTDM , ou μ -scanner X) acquiert des données 2D reflétant l'atténuation moyenne des rayons X lorsque ceux-ci traversent les tissus. La source et le détecteur de rayons X tournent autour de l'échantillon afin d'obtenir un ensemble de projections planes. Les coefficients d'atténuation des rayons X de chaque organe sont ensuite évalués à la reconstruction des données volumiques par rétroprojection.

La technologie scanner X appliquée au petit animal bénéficie de détecteurs de rayons X plans pixellisés fournissant une géométrie d'acquisition *cone beam*. Le μCT dont nous disposons (fig. 1.3.3, eXplore RS Locus, GE

Healthcare, London, Canada) comprend un détecteur de rayons X composé d'une matrice de 3500×1750 détecteurs CCD carrés de $10\mu\text{m}$ de côté et d'une source constituée d'une anode fixe et d'une cible en tungstène fonctionnant dans une gamme d'énergie de 35-80kVp et de 0-500 μA . Il permet d'acquérir des données avec des voxels isotropes reconstruits mesurant $93\mu\text{m}$, $47\mu\text{m}$ ou $21\mu\text{m}$ de côté en fonction du facteur de zoom et du *rebinning* (combinaison des éléments du détecteur). La combinaison de plusieurs éléments du détecteur lors de l'acquisition augmente le rapport S/B des données acquises et permet de diminuer l'énergie nécessaire à l'obtention de données utiles. Ainsi, la dose reçue lors de l'acquisition augmente-t-elle lorsque la dimension des voxels diminue, c'est pourquoi il convient d'adapter la résolution recherchée aux dimensions de la problématique, mais aussi à la fréquence des examens envisagés.



FIG. 1.4 – Imageur dédié : μCT eXploreLocus

Le champ de vue de l'appareil mesure jusqu'à 80mm de large (en fonction des dimensions des voxels ; 45mm pour des voxels isotropes de $27\mu\text{m}$ de côté) et 45mm de long. Afin d'acquérir des données sur un champ de vue plus long, l'appareil propose un mode *stitch* qui correspond à la juxtaposition de plusieurs acquisitions successives. Le logiciel MicroView (GE Healthcare, London, Canada) permet d'exploiter les données reconstruites.

La dose d'irradiation reçue lors d'une étude *in vivo* par μ CT pourrait influencer le résultat de l'étude longitudinale en terme de lésions tumorales et de longévité des animaux. Tandis qu'une dose locale supérieure à 1Gy affecte les tumeurs dont le développement est étudié ou au contraire peut entraîner des lésions tumorales [28] sur des modèles animaux, une dose corps entier de 6Gy est considérée comme létale chez les petits rongeurs [132]. Un article récent [28] compare à ce sujet les doses mesurées ou calculées par simulation chez la souris en fonction des protocoles d'acquisition choisis. La dose moyenne corps entier reçue est de l'ordre de 0,1Gy pour des protocoles utilisés proches des nôtres (cf §6) en terme d'exposition [20, 28, 30, 156, 121, 171]. Une telle dose ne semble pas provoquer d'effets néfastes. Néanmoins, Carlson et al. rappellent logiquement que la dose administrée doit être réduite au minimum permettant d'obtenir l'information biologique recherchée, dans le but de supprimer le questionnement concernant les effets nocifs des radiations [28]. Le développement actuel de l'utilisation de μ CT *in vivo* rend le problème de l'irradiation d'actualité, et son étude est essentielle.

1.3.4 μ -gamma caméra (μ SPECT ou μ TEMP)

Le SPECT (ou TEMP, tomographie d'émission monophotonique) est une méthode d'imagerie fonctionnelle qui consiste à injecter un radiopharmaceutique source de rayonnements gamma monophotoniques, puis à acquérir un ensemble de projections 2D afin de reconstruire des données volumiques. Le μ SPECT bénéficie d'un collimateur *pinhole* en amont du détecteur qui améliore la résolution des données acquises au dépend de la sensibilité (nombre de coups mesurés). La résolution spatiale dépend du diamètre du *pinhole*, de la distance focale et du rayon de rotation de la caméra. Nous utilisons une gamma caméra simple *pinhole* (fig. 1.3.4, Gaede GmbH, Freiburg, Allemagne) dotée d'un cristal de iodure de sodium (NaI) dopé au thallium de 6,5mm d'épaisseur et de 25 photo-multiplicateurs donnant un champ de vue de 17cm \times 17cm sur une distance focale de 12cm avec des pinholes en tungstène de différents diamètres.

FIG. 1.5 – Imageur dédié : μ SPECT Gaede

Les images sont reconstruites avec une méthode de reconstruction algébrique *cone-beam* (méthode dite EAR) développée au laboratoire [76]. Cette reconstruction prend en compte les défauts du centre de rotation de la caméra et atteint une résolution isotrope de $1 \times 1 \times 1 \text{ mm}^3$, pour des voxels reconstruits de $0,47 \times 0,47 \times 0,47 \text{ mm}^3$ avec un pinhole en tungstène de 1,5mm de diamètre [77].

Les doses de radiations reçues par l'animal lors de l'examen doivent être envisagées, notamment pour les études longitudinales lors desquelles l'examen SPECT est répété. Chez l'homme, la radiation reçue lors d'un examen de médecine nucléaire est de l'ordre de grandeur de la radioactivité naturelle annuelle [24]. L'organisme et les organes des petits rongeurs sont beaucoup plus petits et leur imagerie nécessite d'obtenir une résolution spatiale pour laquelle la dose injectée ne peut pas être simplement déduite en fonction de celle injectée en pratique clinique (cf §5). De plus, les distances faibles entre les organes des petits animaux modifient l'approche de l'évaluation de la dose reçue par les organes dans le modèle des facteurs S (dose absorbée par un organe par désintégration dans la source) [68, 86, 151]. L'évolution technologique rapide dans ce domaine conduit à l'utilisation de plusieurs *pinholes*, propres à améliorer les performances spatiales et temporelles des μ gamma caméras récentes [37]. Cette amélioration de la sensibilité permet de réduire la dose injectée tout en obtenant la même information. Les doses

injectées tendent donc à diminuer considérablement grâce aux progrès effectués dans la conception des caméras.

1.3.5 Différentes modalités pour différentes problématiques

Chaque modalité d'imagerie à notre disposition présente des spécificités qui lui sont propres et qui la rendent plus ou moins adaptée à certaines problématiques :

- L'IRM permet d'acquérir des données 3D, isotropes ou non, avec une résolution fine (voxels dans le plan compris entre 1mm et 100 μ m). C'est une méthode d'imagerie non-ionisante utilisant les propriétés des noyaux d'hydrogène (présents en grande quantité dans les organismes vivants) dans un champ magnétique. Les différentes séquences permettent d'adapter la pondération des données à l'information recherchée et fournissent des contrastes naturels entre les tissus mous (cf. §1.3.2), mais des produits de contraste peuvent également être utilisés dans certaines problématiques (exemple §2)
- Le μ CT permet une imagerie 3D isotrope rapide, avec une résolution très fine (voxels isotropes acquis mesurant moins de 100 μ m de côté). Le μ CT permet de distinguer 4 types de contrastes : l'air, l'os, la graisse et les tissus mous (coefficient d'atténuation des rayons X proche de celui de l'eau). Afin de différencier les tissus mous les uns des autres, il faut avoir recours à des produits de contraste radio-opaques (cf. §6).
- L'imagerie nucléaire SPECT apporte une information fonctionnelle dépendant du radio-pharmaceutique choisi (cf. §5). Cette méthode est très sensible et donne la possibilité d'étudier *in vivo* la bio-distribution de concentrations jusqu'à 10⁻⁹ molaire d'une large variété de molécules marquées. La résolution 3D isotrope atteinte en SPECT dédié est de l'ordre de 0,5mm avec les dernières générations d'appareils, mais reste inférieure à celles de l'IRM et du μ CT. La répartition tissulaire spéci-

fique à chaque traceur ne permet pas toujours un repérage anatomique simple.

Ainsi, les différentes modalités d'imagerie apportent-elles des réponses complémentaires. L'imagerie anatomique vise à décrire les dimensions d'un organe, les rapports avec les autres organes et/ou les dimensions d'une zone anormale présentant un contraste, tandis que l'imagerie fonctionnelle permet d'étudier un phénomène par le biais de son métabolisme. Cependant l'imagerie fonctionnelle manque souvent de repères anatomiques et la résolution spatiale atteinte est généralement plus faible que pour les acquisitions anatomiques. C'est pourquoi la combinaison des informations anatomique et fonctionnelle, appelée imagerie multimodalité (cf. §1.4), permet d'améliorer la connaissance des processus biologiques normaux et pathologiques.

1.4 Imagerie multimodalité

L'imagerie multimodalité consiste à combiner des informations complémentaires, anatomique et fonctionnelle, provenant de deux modalités d'imagerie. Les données anatomique et fonctionnelle doivent ensuite être recalées (superposées) dans l'espace et fusionnées afin d'être exploitées conjointement. En règle générale, l'information anatomique est représentée sur une échelle de noir et blanc, tandis que la dynamique fonctionnelle apparaît en échelle de couleur. Le recalage des deux types d'information est fondamental afin de localiser correctement l'information fonctionnelle.

Le plus souvent la résolution du jeu de données anatomique est plus élevée que celle des données fonctionnelles. Les données reconstruites doivent être interpolées pour permettre le recalage des deux jeux de données. La résolution réelle de la combinaison des données anatomique et fonctionnelle est fixée par les données de plus faible résolution spatiale.

Si les acquisitions sont effectuées dans deux imageurs différents, et que l'animal doit être déplacé d'un support dans un autre, sa position anatomique est modifiée. Des repères anatomiques communs aux deux modalités sont alors utilisés pour recalibrer les deux jeux d'images. Des logiciels spécia-

lisés permettent de tenir compte des différences de positionnement et de compenser les déformations anatomiques occasionnées. La conception d'un support commun aux différents imageurs permettant de transporter l'animal sous anesthésie sans modifier sa position résout ce problème (cf. §A) de déformation de la posture. Cependant, cette solution n'est envisageable que lorsque les deux imageurs sont peu éloignés l'un de l'autre. Le recalage est alors effectué par de simples translations en utilisant soit des repères anatomiques communs, soit des marqueurs fiduciaires visibles dans les deux types d'imagerie.

Idéalement, les deux imageurs utilisés sont associés en une même machine afin de minimiser tout déplacement de l'animal. Une seule translation suffit à déplacer l'animal d'un imageur à l'autre et le recalage est alors facilement calibré et automatisé. Des appareils alliant médecine nucléaire et μ CT sont disponibles depuis peu sur le marché pour l'imagerie du petit animal. La combinaison de l'IRM avec les autres types de modalité d'imagerie est techniquement plus difficile à cause du champ magnétique principal nécessaire à l'IRM. Le chapitre 5 développe une conception originale pour un appareil d'imagerie combinée SPECT/IRM du petit animal s'appuyant sur l'utilisation d'une IRM à bas champ côte-à-côte avec une caméra SPECT, et de la cellule technique pour l'imagerie.

Chapitre 2

Suivi longitudinal par IRM d'un gliome intra-cérébral orthotopique implanté chez la souris pour le contrôle d'une stratégie de thérapie génique

Ce travail est effectué en collaboration avec Mmes. J. Kintz et N. Accart et MM. P. Erbs et R. Rooke de la société Transgène (Strasbourg, France). L'objectif est d'effectuer par IRM le suivi longitudinal d'un glioblastome implanté chez la souris afin d'évaluer l'efficacité d'une stratégie de thérapie génique.

2.1 Étude préliminaire μ SPECT et IRM

2.1.1 Introduction

Nous avons mené une étude préliminaire sur des animaux porteurs de glioblastome induit afin de définir le protocole d'imagerie le plus adapté au suivi longitudinal de la croissance tumorale. Cette étude préliminaire consiste en une expérience d'imagerie SPECT (^{99m}Tc -Sestamibi) complétée par deux acquisitions IRM pondérées T_1 et T_2 avec injection de gadolinium [23]. Elle vise à déterminer si les protocoles d'imagerie SPECT, IRM T_1 et T_2 sont appropriés à la problématique et si comme supposé les réponses apportées sont complémentaires.

2.1.2 Matériel et méthodes

Préparation des animaux

Le protocole expérimental a été approuvé par le comité d'éthique de la société Transgène. Il a été décidé que les animaux seraient euthanasiés (injection d'une dose létale de penthotal sous anesthésie à l'isoflurane) après une perte de poids corporel de 20%, si leur comportement est modifié et/ou si ils sont incapables de se nourrir.

Le gliome est induit chez des souris femelles de souche Swiss nude (nu/nu) âgées de 6 semaines et pesant entre 23g et 26g. Des cellules gliales humaines de type U87MG (5×10^5 cellules U87MG dans 5 μ L PBS) sont inoculées par injection stéréotaxique à *J0* (jour d'inoculation). Le scalp des souris anesthésiées est découpé, et l'aiguille d'injection est introduite à travers la boîte crânienne dans le striatum de l'hémisphère droit (1,8mm latéral et 0,1mm antérieur au bregma, 3mm de profondeur depuis la surface du crâne ; fig. 2.1).



FIG. 2.1 – *Injection stéréotaxique des cellules tumorales*

L'inoculation est lente (10min) afin d'éviter un reflux des cellules gliales le long du trajet d'injection, puis l'aiguille est retirée lentement de la boîte crânienne dans le but d'éviter de répandre des cellules sur son trajet de retrait. La boîte crânienne est ensuite nettoyée pour retirer les cellules qui auraient suivi l'aiguille lors de son retrait, et qui peuvent être à l'origine du développement d'une tumeur sous-cutanée.

Lors des acquisitions, les animaux sont anesthésiés à l'isoflurane et placés dans la CTI, chauffée à 35°C. Les expériences d'imagerie ont lieu à *J9-10*,

J17-18 et J24-25 post inoculation des cellules gliales. Les animaux ont été euthanasiés à l'issue des dernières expériences d'imagerie.

Imagerie μ SPECT

Le μ SPECT (cf. §1.3.4) est utilisé avec un collimateur pinhole en tungstène de 1,5mm de diamètre. L'acquisition tomographique consiste en 48 projections de 1min au format 64×64 , avec un rayon de rotation de 6,5cm. Les voxels reconstruits mesurent $1 \times 1 \times 1 \text{ mm}^3$.

Une dose de 700MBq dans un volume de 0,2mL de ^{99m}Tc -Sestamibi (BMS, Rueil-Malmaison, France) est injectée dans la veine de la queue 10min avant l'examen SPECT. Ce radio-pharmaceutique est choisi car il est utilisé en pratique clinique comme marqueur non-spécifique de la prolifération tumorale [112].

IRM à 0,1T

Une dizaine de minute avant le début des expériences IRM, 1mL d'une dilution au quart de Dotarem (acide gadotérique 0,5mmol/mL soit 5-6mmol/kg poids corporel, Guerbet, France) dans du sérum physiologique est injecté par voie intra-péritonéale. Une antenne RF solénoïdale est positionnée autour de la tête de l'animal et couplée au pré-amplificateur par l'intermédiaire d'une boucle d'accord glissée sur la cellule.

Deux séries d'images sont acquises avec deux séquences écho de gradient 3D pondérées T_1 (FLASH, TE/TR 7/100ms, matrice d'acquisition $64 \times 64 \times 64$, FOV $32 \times 32 \text{ mm}^2$, voxel reconstruit $500\mu\text{m}$ isotrope, Nex 8, TA 56min) et T_2 (CE-FAST, 14/21ms, matrice $64 \times 48 \times 32$, FOV $32 \times 32 \text{ mm}^2$, voxel reconstruit $500\mu\text{m} \times 500\mu\text{m}$, épaisseur de coupe 1mm, Nex 60, TA 34min).

Recalage des données SPECT/IRM

Les données SPECT et IRM sont recalées avec le logiciel MicroView (GE Healthcare, London, Canada) à partir de repères anatomiques communs.

Détermination du volume tumoral par IRM à 0,1T

Dans les données IRM, les volumes d'intérêt apparaissent en hypersignal dans les deux pondérations T_1 et T_2 et sont ainsi sélectionnés par application d'un seuillage aux données. Le seuillage est déterminé manuellement sur les images, avec l'aide de l'histogramme des niveaux de gris (ImageJ [1]). Les éléments sélectionnés ne provenant pas du développement de la tumeur sont ensuite effacés manuellement. Le volume est calculé comme le nombre de voxels sélectionnés, multiplié par le volume d'un voxel ($V_{\text{voxel}}=125.10^{-3} \text{ mm}^3$).

2.1.3 Résultats

La figure 2.2 montre un exemple de fusion des données SPECT et IRM pondérée T_1 (fig. 2.2(a)) et T_2 (fig. 2.2(b)).

La présence de la tumeur est avérée par la prise de contraste liée au gadolinium dans les images pondérées T_1 , tandis que les images pondérées T_2 révèlent l'oedème lié au développement de cette tumeur (fig. 2.2). Cependant, comme sur la figure 2.2, aucune captation tumorale du $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Sestamibi n'est observée, chez aucune souris de cette série aux différents stades de développement de la tumeur.

Le rapport C/B de la tumeur par rapport au reste du tissu cérébral est de 20 dans les images pondérées T_1 et est compris entre 12 et 30 dans les images pondérées T_2 .

Les volumes mesurés à partir des données pondérées T_1 et T_2 permettent de tracer deux courbes de croissance tumorale (fig. 2.3).

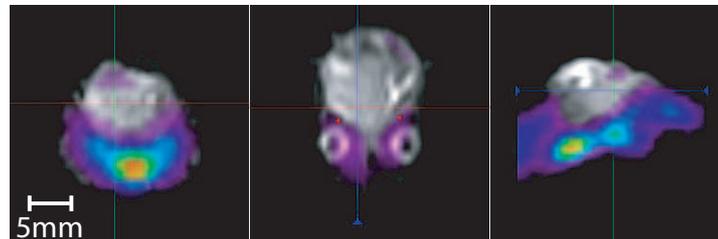
(a) SPECT/IRM pondération T_1 (b) SPECT/IRM pondération T_2

FIG. 2.2 – Coupes axiales, coronales et sagittales extraites du volume des données fusionnées SPECT/IRM, montrant la tumeur (IRM) et une captation du Sestamibi uniquement par les glandes salivaires (SPECT)

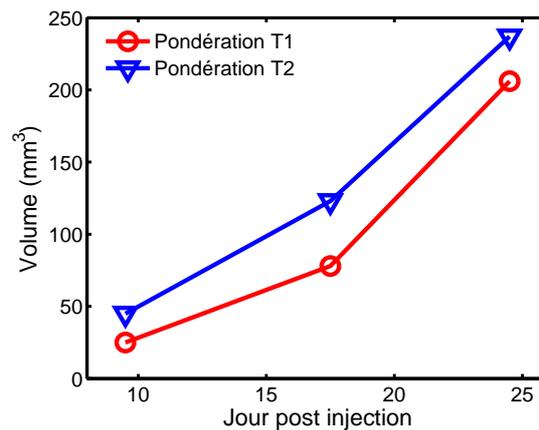


FIG. 2.3 – Évolution des volumes tumoraux mesurés par IRM en pondération T_1 et T_2

2.1.4 Discussion

L'intérêt du couplage SPECT/IRM réside dans la possibilité d'analyser simultanément la localisation de la tumeur et de l'oedème ainsi que les volumes correspondants calculés en IRM, mais aussi de localiser et de quantifier la prolifération tumorale par SPECT Sestamibi.

Cependant, contrairement à la pratique clinique, nous n'observons pas de captation du Sestamibi par la tumeur. Cette particularité n'avait jamais encore été publiée à notre connaissance sur des tumeurs orthotopiques U-87-MG induites *in vivo* chez la souris. Nous avons trouvé dans la littérature deux résultats *in vitro* qui constituent des explications potentielles. D'une part, la captation du Sestamibi est un témoin de l'expression de la protéine MRP1, principale responsable de la résistance pharmacologique des cellules gliales [91, 126]. Plus la souche est résistante, plus elle exprime MRP1 et plus la captation du Sestamibi par les cellules U-87-MG est réduite [91, 126]. D'autre part, une concentration élevée en ions Ca^{2+} diminue significativement la captation du Sestamibi par les cellules U-87-MG, tandis que l'adjonction de modulateurs des canaux ioniques Ca^{2+} augmente cette captation [4]. La captation cellulaire du Sestamibi par les cellules U-87-MG semble donc dépendre des canaux Ca^{2+} sensibles aux modulateurs testés (verapamil, flunarizine, 3,4-dichlorobenzamil). Des concentrations particulières d'ions extra-cellulaires et/ou de modulateurs des canaux Ca^{2+} chez la souris constituent une explication possible à l'absence de captation du Sestamibi malgré la rupture avérée de la barrière hémato-encéphalique.

Ce résultat inattendu justifie la nécessité de disposer de plusieurs techniques d'imagerie et/ou de rechercher celle qui est la plus sensible pour la question biologique posée.

Les données acquises par IRM nous permettent quant à elles de suivre la croissance tumorale chez les animaux étudiés. Le rapport C/B permet une sélection des volumes d'intérêt par seuillage dans les volumes de données. La prise de contraste liée au Gd-DOTA dans l'ensemble des acquisitions pondérées T_1 prouve que le gadolinium traverse la barrière hémato-encé-

phalique. Les images pondérées T_2 mettent en lumière l'œdème péri- et intra-tumoral (fig.2.2) et confirment la croissance tumorale.

L'injection du produit de contraste Gd-DOTA par la voie IP est simple et rapide. Elle ne réclame pas la pose d'un cathéter mais si une double acquisition T_1 sans et avec Gd-DOTA est nécessaire, l'animal doit être déplacé entre les acquisitions pour l'injection. La dose que nous injectons par voie IP (6mmol/kg) représente la moitié de la dose létale 50 (c'est-à-dire entraînant le décès de 50% des animaux injectés dans la semaine suivant l'injection) déterminée pour une administration par la voie IV pour le Dotarem (10,6mmol/kg Gd-DOTA méglumine [2]). Cependant, nous ne déplorons aucune mortalité après les injections. L'index thérapeutique du Dotarem est faible puisqu'une dose de 8,6mmol/kg injectée par voie IV n'entraîne aucun décès, tandis qu'une dose de 11,7mmol/kg produit une mortalité de 100% [2]. Ainsi, la dose que nous injectons, même si elle représente la moitié de la dose létale 50 IV, est inférieure à la dose de 8,6mmol/kg qui injectée par voie IV ne montre pas de toxicité aigue. De plus, la distribution pharmacocinétique est plus lente par voie IP que par voie IV et diminue le risque de toxicité aigue par concentration sanguine élevée du produit.

Lors de tests, nous avons observé qu'une dose de 1mL (24mmol/kg) de Dotarem injectée par voie IP est létale chez les souris nude et C57Bl6, tandis que des doses de 0,25mL (6mmol/kg) et de 0,5mL (12mmol/kg) diluées à 1mL n'induisaient pas de mortalité et permettaient d'obtenir le contraste recherché lors de l'acquisition T_1 . La dose testée la plus faible de 6mmol/kg a donc été conservée lors des expériences.

2.1.5 Perspectives

Cette expérience préliminaire indique une différence importante entre ce modèle de glioblastome induit chez la souris et la pratique clinique chez l'homme. Il convient de compléter les manipulations par des tests de captation *in vitro* du Sestamibi par les mêmes cellules U-87-MG, complétés par des expériences avec des tumeurs induites en sous cutanée afin de vérifier

si l'absence de captation du Sestamibi est liée à une différence d'environnement cellulaire au niveau du cerveau chez la souris ou à la souche cellulaire utilisée.

Le protocole IRM est donc le seul retenu pour permettre un suivi quantitatif de l'évolution tumorale lors de l'étude de l'action de la stratégie de thérapie génique.

2.2 Suivi longitudinal par IRM à 0,1T pour l'évaluation de l'action d'une stratégie de thérapie génique

2.2.1 Introduction

Le transfert dans les tumeurs d'un gène dit « suicide » potentiellement toxique constitue une orientation thérapeutique pour l'élimination sélective des cellules cancéreuses. Dans la plupart des cas, ce gène suicide encode une enzyme capable de convertir des agents inertes d'un point de vue toxicologique et pharmacodynamique en métabolites extrêmement toxiques [35, 36, 108]. En plus de son action cytotoxique locale directe, l'intérêt pour ce type de stratégie thérapeutique a été renforcé par la démonstration que la destruction des cellules tumorales contribue à l'augmentation de la réponse immunitaire anti-tumorale de l'hôte [52, 109, 110].

Une stratégie thérapeutique a été développée au sein de la société Transgène et a montré une action thérapeutique lors d'études *in vitro* et *in vivo* (développement des tumeurs en sous cutanée, étude de survie, histologie). Ce travail a pour but de confirmer et de renforcer ces résultats par un suivi longitudinal de l'action thérapeutique chez des animaux porteurs de glioblastomes orthotopiques.

2.2.2 Matériel et méthode

Stratégie de thérapie génique

La stratégie de thérapie génique testée consiste en l'utilisation d'un virus exprimant un gène suicide, dont l'activité enzymatique catalyse la conversion de la 5-fluorocytosine (5-FC), composé inactif, en métabolites cytotoxiques 5-fluorouracile (5-FU) et 5-fluorouridine-5'-monophosphate (5-FUMP) [42]. Après injection du virus dans la tumeur et administration *per os* de la prodrogue 5-FC, l'expression du gène suicide conduit à la formation des composés cytotoxiques au sein de la tumeur induisant un effet anti-tumoral. L'action thérapeutique est ainsi restreinte au site d'injection, c'est-à-dire à la zone tumorale, et n'exerce pas d'effet nocif sur l'ensemble de l'organisme au contraire d'une chimiothérapie classique. De plus, son action est entièrement contrôlée par l'administration de prodrogue 5-FC lors des périodes de traitement. Une étude préclinique prouvant l'action de la thérapeutique a été menée au sein de la société Transgène (tumeur hétérotopique implantée en sous cutanée, étude de la survie et coupes histologiques pour les tumeurs orthotopiques). Cependant, les méthodes utilisées ne permettent pas le suivi longitudinal quantitatif d'individus identifiés avec un gliome orthotopique induit.

Préparation des animaux

Seize souris sont implantées avec le glioblastome à *J0*, puis sont réparties en 4 groupes de 4 individus. A *J5*, les 16 animaux subissent une injection intra-tumorale (selon les coordonnées stéréotaxiques d'injection de la tumeur) de 5 μ L du virus (2 groupes) ou de TpSO8 (2 groupes). Deux des groupes (un groupe avec injection du TpSO8 et un groupe avec injection du virus) reçoivent le 5-FC de *J6* soir à *J21* matin. Durant cette période de deux semaines, le 5-FC est administré *per os* par gavage 2 fois par jour, matin et soir (0,5mL d'une solution d'eau distillée titrée à 0,5% de 5-FC soit 100mg/kg poids corporel). Au final trois groupes *contrôle* et un groupe *thérapie* sont formés (tableau 2.1) : contrôle non traité avec injection de

Groupe	Effectif imagerie	Injection J5	J6 à J21
1	n=4	TpSO8	/
2	n=4	TpSO8	5-FC
3	n=3	Virus	/
4	n=3	Virus	5-FC

TAB. 2.1 – Répartition des animaux dans les 4 groupes

J0	Souris 1	Souris 2	Souris 3	Souris 4
Lundi	groupe 1	groupe 2	groupe 3	groupe 4
Mardi	groupe 2	groupe 3	groupe 4	groupe 1
Mercredi	groupe 3	groupe 4	groupe 1	groupe 2
Jeudi	groupe 4	groupe 1	groupe 2	groupe 3

TAB. 2.2 – Permutation circulaire de l'ordre d'injection des animaux selon le jour

TpSO8, contrôle avec gavage au 5-FC seul et injection de TpSO8, contrôle avec injection du virus uniquement, et groupe thérapeutique avec injection du virus et gavage au 5-FC.

Compte tenu de la durée des expériences d'imagerie (1h45), 4 animaux peuvent être imagés par jour lors de ce suivi longitudinal. Quatre groupes d'injection des cellules tumorales sont ainsi formés sur 4 jours consécutifs comprenant une souris de chacun des groupes contrôle et thérapie (tableau 2.2). De plus, les cellules U-87-MG injectées chaque jour proviennent de cultures cellulaires différentes, c'est pourquoi l'ordre d'injection des cellules entre les 4 animaux (groupes contrôle et thérapie) est modifié chaque jour par permutation circulaire.

Deux souris sont mortes pendant la procédure, respectivement des suites de l'injection intra-crâniale (une souris du groupe contrôle traité avec le virus seul) ou du gavage (1 souris du groupe thérapeutique), réduisant l'effectif de leurs groupes respectifs à 3 individus. Aucun animal n'a par la suite été perdu durant les acquisitions IRM. Les animaux qui ont fait l'objet du suivi sont soit décédés naturellement, soit ont été euthanasiés lorsqu'ils ne

s'alimentaient plus (perte de poids corporel supérieure à 20%) ou avait un comportement anormal, sous l'effet de l'évolution du gliome.

Suivi longitudinal de la croissance tumorale par IRM à 0,1T

Le suivi de l'évolution tumorale est réalisé une fois par semaine de $J7$ au décès par IRM à 0,1T selon le protocole décrit précédemment (cf. §2.1.2).

Analyse des résultats

Les différences entre les volumes moyens des groupes sont jugées significatives avec un test non paramétrique de Mann-Whitney au seuil de 5%.

2.2.3 Résultats

L'ensemble des animaux a développé une tumeur intra-cérébrale. Un total de 68 examens a été mené au total dans cette étude. L'examen IRM complet d'un animal — préparation de l'animal et positionnement dans l'IRM, acquisitions T_1 et T_2 — dure en moyenne 1h45 du début de l'induction de l'anesthésie au réveil. Aucune souris n'est décédée pendant ou dans les heures suivant l'anesthésie nécessaire aux examens IRM.

Les souris des trois groupes contrôle ont survécu 4 semaines tandis que les souris du groupe thérapie ont survécu entre 6 et 9 semaines. Durant les deux semaines de traitement au 5-FC, les souris gavées ont perdu du poids.

Les résultats obtenus confirment les résultats préliminaires. Dès $J7$ et dans l'ensemble des acquisitions T_1 , le gadolinium traverse la barrière hémato-encéphalique comme le montre la modification du contraste de la tumeur (fig. 2.4), tandis que les images pondérées T_2 révèlent l'oedème péri- et intra-tumoral (fig.2.4).

Les volumes tumoraux moyens mesurés et les écarts types correspondants en pondération T_1 et T_2 pour les 4 groupes sont montrés fig. 2.5. Les croissances tumorales mesurées dans les données pondérées T_1 (fig. 2.5(a)) et T_2 (fig. 2.5(b)) évoluent exponentiellement de façon similaire. Les courbes

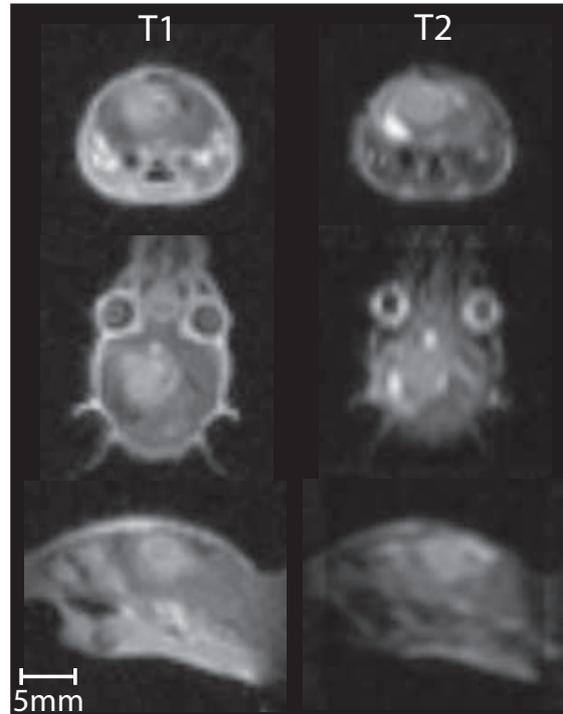
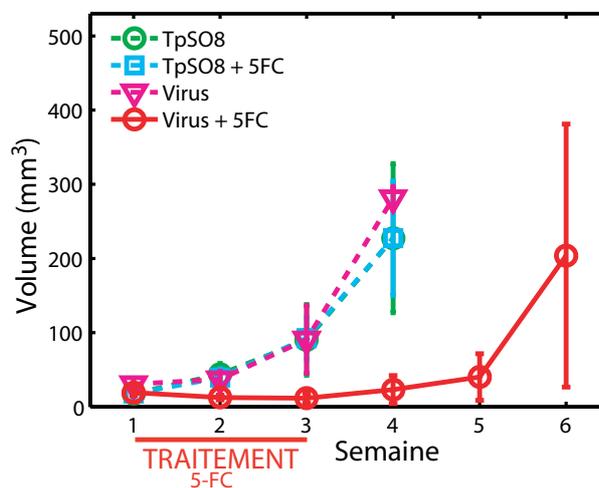


FIG. 2.4 – Coupes axiale, frontale et sagittale choisies au centre de la tumeur en pondération T_1 (colonne de droite) d'une souris du groupe $TpSO8/5-FC$ à J21, et coupes correspondantes en pondération T_2 (colonne de gauche)

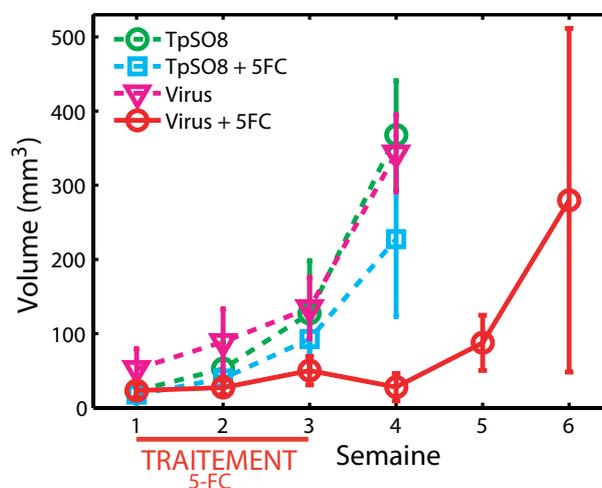
de croissance tumorale des trois groupes contrôle sont en accord avec celles obtenues dans l'étude préliminaire en pondération T_1 et T_2 .

En pondération T_1 , les courbes d'évolution du volume tumoral sont très similaires pour les trois groupes contrôle, prouvant la reproductibilité de la méthode. Les données T_2 suivent également une évolution similaire entre les trois groupes contrôle, mais montrent une plus grande hétérogénéité entre ces groupes s'expliquant d'une part par une plus grande épaisseur de coupe responsable d'effets de volume partiel, et d'autre part par un rapport S/B inférieur.

Les volumes mesurés dans les données pondérées T_2 sont supérieurs à ceux en pondération T_1 car ils prennent en compte l'oedème intra et péri tumoral (fig. 2.4). L'oedème péri-tumoral, et des zones à distance de la



(a) Pondération T₁



(b) Pondération T₂

FIG. 2.5 – Croissances tumorales moyennes des 4 groupes d'animaux mesurées dans des données pondérées T₁ et T₂ (mm³)

tumeur, est probablement du à la compression mécanique liée au développement tumoral.

La croissance tumorale du groupe thérapie est retardée d'environ deux semaines, correspondant aux deux semaines de traitement avec administration du 5-FC, par rapport aux groupes contrôle. La différence entre les groupes contrôle et le groupe thérapeutique est significative à partir de $J14$ (Mann-Whitney $P < 0,05$) dans nos données et se poursuit jusqu'à $J28$ et le décès des souris contrôle. A l'arrêt de l'administration du 5-FC, la croissance tumorale reprend chez les souris traitées. La figure 2.6 montre la différence d'évolution dans les données pondérées T_1 entre une souris contrôle et une souris traitée à $J28$, soit une semaine après l'arrêt de l'administration du 5-FC aux animaux traités.

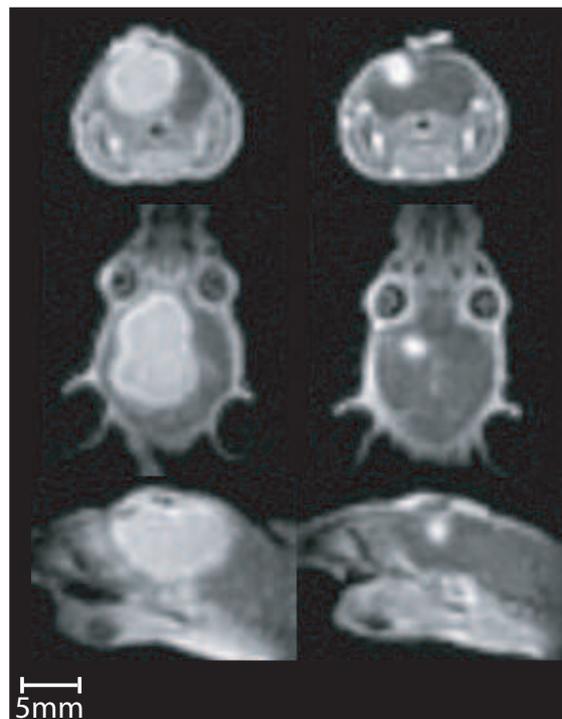


FIG. 2.6 – *Coupes axiales, frontales et sagittales homologues pondérées T_1 chez une souris témoin (gauche) et une souris traitée (droite) à $J28$*

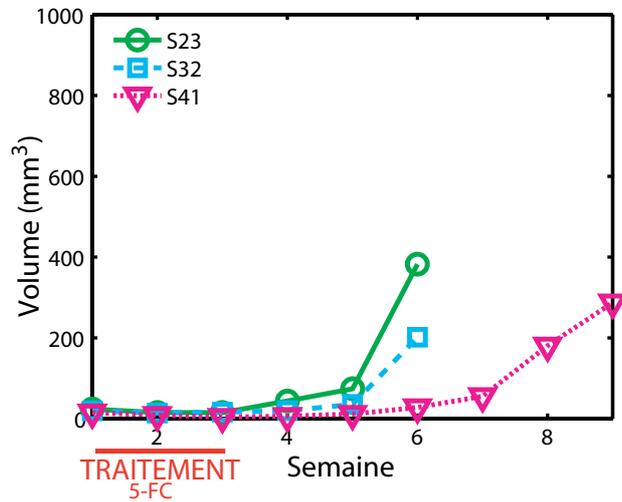
L'écart type des volumes tumoraux mesurés pour les trois individus traités devient très important à partir de la semaine 6 (fig. 2.5), mais le suivi individuel de l'évolution tumorale chez ces trois individus permet de l'expliquer. Les courbes d'évolution individuelles des trois souris du groupe théra-

peutique sont données fig. 2.7. Deux souris traitées présentent une évolution similaire avec un décès et une croissance tumorale retardés de deux semaines par rapport aux souris contrôle. Cependant chez la troisième souris, le volume tumoral demeure très faible pendant 6 semaines, puis on assiste à la reprise de sa croissance.

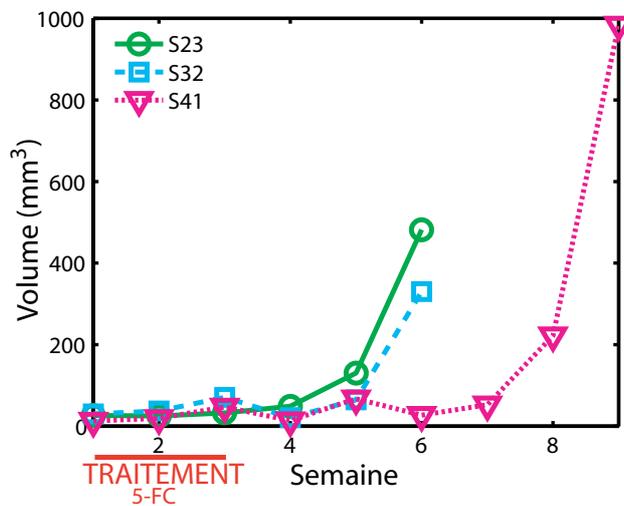
La fig. 2.8 montre des coupes axiales en pondération T_1 chez cette souris dont la survie est nettement prolongée. La présence de cellules tumorales à $J7$ est confirmée par la prise de contraste. Durant les deux semaines d'administration du 5-FC, la tumeur régresse. Puis à partir de la semaine 4, un foyer de développement, distinct du site d'injection, apparaît sur le chemin de retrait de l'aiguille d'injection des cellules tumorales. La tumeur correspondante s'est ensuite développée en sous cutané puis en intra-cérébral entraînant le décès de l'animal au bout de 9 semaines.

2.2.4 Discussion

Dans la littérature, la majorité des études faisant appel à l'IRM pour le suivi de la croissance tumorale de gliomes intra-cérébraux se contente d'une description qualitative ou de mesurer les plus grands rayons. Moins d'une dizaine de publications calculent des volumes à partir de données volumiques pondérées T_2 ou T_1 post contraste gadolinium [6, 25, 72, 81, 84, 104, 118]. Ces études menées à des champs compris entre 1,5T (IRM clinique [25]) et 11,7T [106] (médiane 4,7T) utilisent des voxels anisotropes de volumes compris entre 6.10^{-3} mm^3 [104, 106] et 40.10^{-3} mm^3 [118] (lorsque V_{voxel} est donné ou calculable avec les données communiquées dans l'article). Les voxels reconstruits sont systématiquement anisotropes et la résolution dans le plan est privilégiée avec une épaisseur de coupe 4 à 10 fois supérieure. Seules 5 de ces études effectuent un suivi avec plusieurs mesures du volume tumoral (2 mesures [104, 118], 4 mesures [6], 5 mesures [72], entre 4 et 9 mesures [81]). D'ailleurs l'une de ces études montre l'importance d'effectuer un suivi longitudinal afin d'étudier une éventuelle modification de l'action de la stratégie thérapeutique au cours du temps [104].



(a) Pondération T_1



(b) Pondération T_2

FIG. 2.7 – Croissances tumorales individuelles des trois individus traités mesurées dans des données pondérées T_1 et T_2 (mm^3)

Nous avons fait le choix de voxels isotropes de 0,5mm de côté afin de ne privilégier aucune dimension dans la description du volume tumoral. Avec

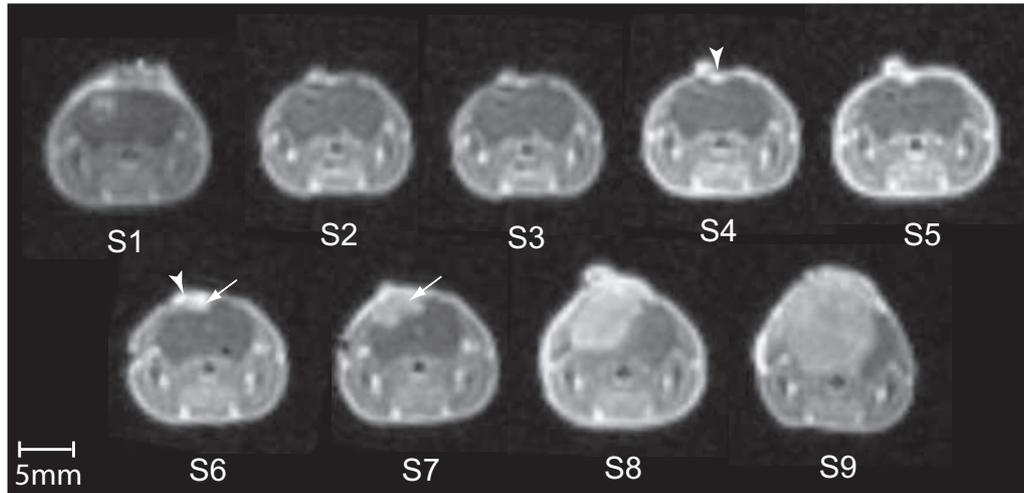


FIG. 2.8 – Évolution du gliome pendant les 9 semaines de suivi de la souris S41 appartenant au groupe traité. Coupes axiales en pondération T_1 au niveau du centre de la tumeur. Développement sous cutané (pointe de flèche) et intra-cérébral (flèche)

des voxels mesurant 125.10^{-3} mm^3 en volume, la tumeur a été détectée chez tous les animaux dès le premier examen à J7 post injection des cellules tumorales. Les 4 à 9 examens par animal permettent de décrire l'évolution du volume tumoral et de mettre en évidence la différence significative de croissance tumorale entre les groupes contrôle et thérapie.

Cette étude est la première à proposer le calcul du volume tumoral dans les données pondérées T_1 mais aussi T_2 . Bien que les données T_2 soient moins précises, elles servent de contrôle et corroborent la différence significative de croissance tumorale. Les volumes mesurés en T_2 sont plus importants que ceux mesurés en T_1 car ils prennent en compte l'oedème intra- et péri-tumoral, tandis que le gadolinium ne pénètre que dans la tumeur là où il y a rupture de la barrière hémato-encéphalique.

La durée de survie des animaux suivis dans cette étude est similaire à celles observées dans l'étude de survie menée au sein de Transgène pour les animaux contrôle et traités. Ceci, ajouté au fait que nous n'avons pas observé de décès pendant ou dans les heures suivant les expérience d'image-

rie, prouve l'efficacité de notre protocole d'anesthésie gazeuse dans la CTI chauffée.

L'étude de survie menée au sein de la société Transgène a mis en évidence un allongement significatif de la survie pour les animaux traités en comparaison avec les animaux contrôle. Cependant, on observe une grande hétérogénéité entre les individus traités, certains animaux traités survivant à long voire même à très long terme. Le suivi individuel longitudinal effectué dans ce travail permet d'expliquer la différence observée en terme de survie entre les trois animaux traités. Nous observons un effet significatif du traitement après une semaine d'activation du virus par le 5-FC. Les volumes mesurés après la deuxième semaine d'administration du 5-FC et une semaine après l'arrêt confirment l'action thérapeutique. La différence significative dans la croissance tumorale démontre que l'injection intra-tumorale du virus en combinaison avec le traitement au 5-FC neutralise l'évolution de la tumeur chez les individus traités pendant les deux semaines de traitement.

2.2.5 Conclusion

L'IRM à 0,1T est adaptée à la mesure quantitative du volume tumoral en pondération T_1 et T_2 dans un modèle de glioblastome humain implanté en intra-cérébral chez la souris. Un total de 68 examens a été mené, dont 4 examens par jour pendant les 4 semaines de survie de l'ensemble des animaux prouvant que la procédure développée utilisant un IRM à 0,1T, la CTI et une injection IP de Gd-DOTA est adaptée à un suivi répété chez un groupe d'animaux porteurs de tumeurs intra-craniales. Ce suivi longitudinal par IRM a permis de mettre en évidence l'efficacité d'un traitement par thérapie génique chez des animaux porteurs d'un glioblastome orthotopique.

2.3 Perspectives

Ce travail devrait être complété prochainement par une étude histologique, qui permettra une comparaison des données obtenues par IRM et des coupes histologiques chez de mêmes animaux.

La durée totale d'acquisition en IRM pourrait être diminuée par l'utilisation d'une séquence double écho composée d'un écho précoce pondéré T_1 et d'un écho tardif pondéré T_2^* . Une telle séquence offrirait les deux jeux de données en une seule acquisition d'environ 1h, et conduirait ainsi à un temps total d'examen de 1h15 environ permettant d'effectuer le suivi de 6 animaux par jour.

Chapitre 3

Imagerie cardiaque 4D synchronisée chez le rat sain et infarci par IRM à 0,1T

Ce chapitre présente une méthode s'appuyant sur un schéma d'acquisition original nous permettant d'acquérir des données 4D [45] (volumiques isotropes pour 16 phases par cycle cardiaque) chez le rat en utilisant l'IRM à 0,1T. La méthode est développée chez le rat sain, puis utilisée pour l'évaluation de la fonction cardiaque chez des rats infarcis.

3.1 Introduction

L'étude de la dynamique cardiaque chez le rat demeure difficile pour l'IRM [161]. En effet, le rythme cardiaque moyen du rat sain anesthésié sous isoflurane est d'environ 350bpm [75, 117, 152] et le muscle cardiaque mesure en moyenne 15mm de diamètre [22]. En comparaison avec l'IRM cardiaque humaine, les résolutions temporelles et spatiales doivent donc être augmentées conjointement, ce qui pénalise le rapport S/B [22].

3.2 Matériel et méthodes

3.2.1 Préparation des animaux

Un rat de souche Wistar est anesthésié à 1,5-2% d'isoflurane et placé dans la CTI rat. Deux électrodes sous cutanées sont placées au niveau du thorax du rat. L'antenne RF coeur de rat (diamètre 60mm, 4 tours) est placée autour du thorax de l'animal, puis la boucle d'accord est glissée sur l'enceinte de la CTI (grand modèle) chauffée à 35°C.

Afin d'augmenter le contraste du muscle cardiaque, une dose de $200\mu\text{mol.kg}^{-1}$ MnCl_2 (solution diluée à 114mM dans du sérum physiologique, soit 0,8mL pour un rat de 450g) est injectée par voie intra-péritonéale une heure avant le début des acquisitions IRM.

La toxicité cellulaire du MnCl_2 [26, 39, 146, 173] nécessite de limiter la dose injectée au minimum permettant d'obtenir le contraste recherché. La dose de manganèse que nous avons choisie ($380\mu\text{mol.kg}^{-1}$) est dans la gamme de celles rapportées pour l'usage chez le rat allant de $25\mu\text{mol.kg}^{-1}$ [87] à $884\mu\text{mol.kg}^{-1}$ [3]. A l'image des références bibliographiques citées, nous n'avons pas observé de trouble dans le rythme cardiaque des animaux après injection du manganèse.

Après avoir été mis en place chez le rat sain, notre protocole d'analyse de la fonction cardiaque par IRM synchronisée 4D est appliqué chez le rat infarci.

3.2.2 Rats infarcis

Un infarctus chirurgical est provoqué par ligature coronaire chez 4 rats de souche Wistar et de poids moyen 450g. Ces modèles animaux d'infarctus du myocarde sont soumis aux protocoles d'IRM cardiaque synchronisée et d'imagerie SPECT entre 3 et 6 semaines post infarctus.

3.2.3 Schéma d'acquisition IRM 4D synchronisée

Des volumes de données isotropes $1 \times 1 \times 1 \text{ mm}^3$ sont acquis avec la séquence écho de gradient 3D FLASH pondérée T_1 et synchronisée au rythme cardiaque. Le cycle cardiaque est divisé en 16 phases distinctes pour lesquelles un volume de données est acquis. Les paramètres d'acquisition sont les suivants : TE/TR 8/18ms, $\alpha=60^\circ$, matrice d'acquisition 128×48 , 64 coupes acquises, Nex 8, FOV $128 \times 64 \text{ mm}^2$, épaisseur totale 64mm.

Les acquisitions IRM sont synchronisées au complexe QRS sur la sortie TTL d'un électrocardiographe (Physiogard RSM784, Bruker/ODAM, Wissembourg, France). Avec un rythme cardiaque moyen mesuré à 370bpm, le cycle cardiaque dure environ 160ms. Afin de tenir compte des variations de la durée du cycle cardiaque, une marge d'environ 10ms est conservée vierge d'acquisition en fin de cycle cardiaque. Le cycle cardiaque restant est divisé en 16 segments équidistants de 9ms. Les 16 phases ne peuvent pas être acquises simultanément pendant un cycle cardiaque car le délai entre les phases est trop court par rapport au TR minimum de notre séquence. Les 16 segments sont obtenus en deux séries d'acquisitions entrelacées de 8 segments (Acq1 et Acq2, schéma fig. 3.1). Pour chacune, le TR de la séquence FLASH correspond à 18ms, soit l'écart entre deux phases du cycle cardiaque dans les données finales. La première impulsion RF de la première série d'acquisitions (Acq1) débute directement après la synchronisation et permet d'obtenir les segments pairs du cycle cardiaque. Puis, la seconde série d'acquisitions (Acq2) débute 9ms (TR/2) après la synchronisation suivante pour acquérir les segments impairs.

Ce schéma est répété pour chaque ligne de l'espace de Fourier. La durée d'application du gradient de lecture (temps d'observation TO) est de 8ms, le cycle est donc échantillonné en 16 phases distinctes dans le temps. Ce mode de synchronisation en prospective fournit directement un jeu de données correspondant aux segments déterminés du cycle cardiaque. Le temps total d'acquisition des données 4D correspondant à 16 phases cardiaques chez le rat est compris entre 2h et 3h (en fonction du rythme cardiaque du rat).

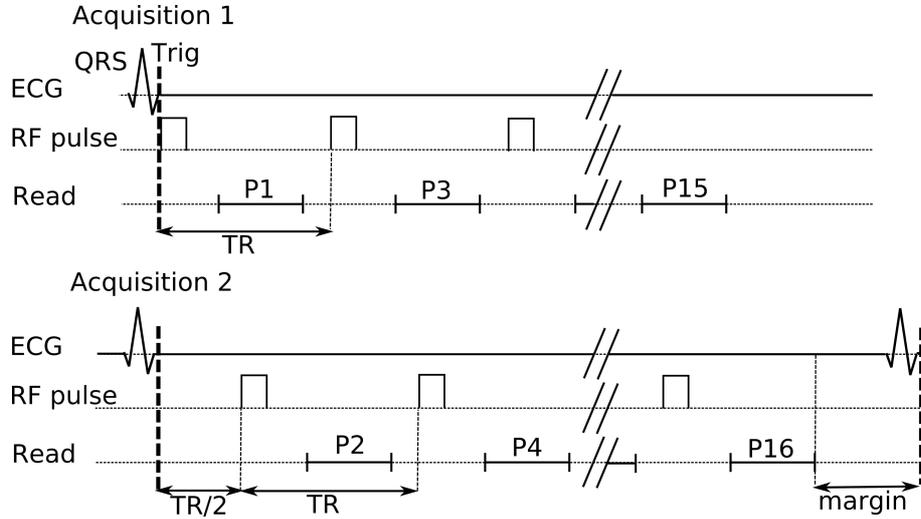


FIG. 3.1 – *Chronogramme des acquisitions IRM synchronisées au rythme cardiaque chez le rat. Les 16 phases sont acquises en deux temps successifs, deux acquisitions entrelacées de 8 phases décalées de $TR/2=9ms$ (Acq1 et Acq2). Une marge de 10ms est conservée en fin de cycle afin de tenir compte des variations du rythme cardiaque*

3.2.4 Réorientation des données

Les données 4D sont reconstruites puis réorientées manuellement (ImageJ [1]) selon les trois axes anatomiques cardiaques : petit axe (SAX), grand axe horizontal (HLA) et grand axe vertical (VLA).

3.2.5 Mesure des volumes ventriculaires

Les plans de coupe traversant l'ensemble du muscle cardiaque sont présentés sur des planches selon les trois axes anatomiques de coeur. Afin de mesurer les volumes ventriculaires gauche et droit, l'hyper-signal du muscle cardiaque (après administration de manganèse) permet une sélection par seuillage supérieur à 50% du maximum. Le plan des valves est ensuite tracé manuellement pour refermer le contour des ventricules, selon les trois axes. Pour chaque ventricule, la surface comprise dans le contour est ensuite mesurée coupe par coupe, selon les trois axes anatomiques cardiaques. La surface totale obtenue correspond donc à la moyenne des surfaces mesurées

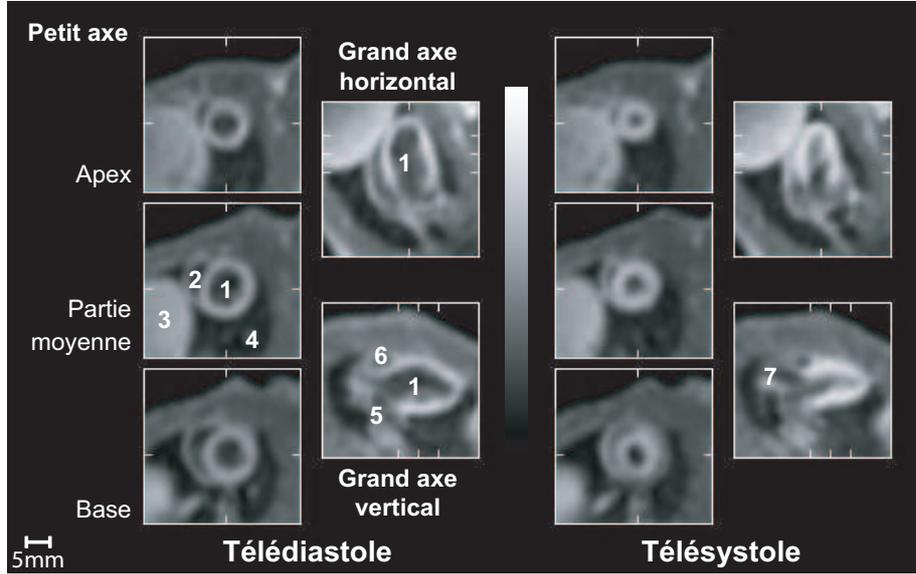


FIG. 3.2 – Acquisition cardiaque IRM synchronisée réorientée selon les 3 axes cardiaques chez le rat adulte normal. Coupes petit axe, grand axe horizontal et vertical; Images télédiastoliques (phase 14/16) et télésystoliques (phase 7/16), 1. ventricule gauche, 2. ventricule droit, 3. foie, 4. poumon gauche, 5. oreillette gauche, 6. oreillette droite, 7. aorte ascendante

conjointement pour les trois axes anatomiques [56]. Elle est multipliée par l'épaisseur de coupe afin de calculer le volume ventriculaire.

À partir des volumes mesurés, la fraction d'éjection (Left/Right VEJ) est calculée comme la différence entre les volumes télédiastolique (EDV) et télésystolique (ESV), divisée par le volume télédiastolique. Elle est exprimée en pourcentage :

$$(L/R)VEJ = \frac{EDV - ESV}{ESV} \times 100 \quad (3.1)$$

Le débit cardiaque est calculé comme le volume éjectionnel (différence des volumes ventriculaires télédiastolique et télésystolique) multiplié par la fréquence cardiaque (HR) :

$$(L/R)debit = (EDV - ESV) \times HR \quad (3.2)$$

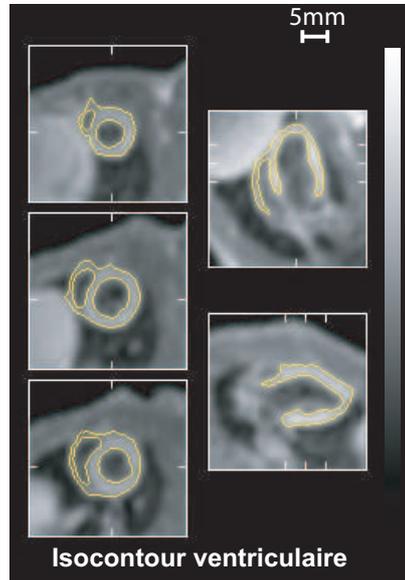


FIG. 3.3 – *Contours ventriculaires moyens obtenus par seuillage chez le rat adulte normal. Représentation selon les 3 axes anatomiques cardiaques de l'image de somme des 16 phases*

3.2.6 Calcul des images paramétriques

Les contours ventriculaires moyens sont obtenus sur l'image de somme des 16 phases par la même méthode semi-automatique (seuillage) que pour l'analyse individuelle de chaque phase (fig. 3.3).

Les données 4D sont soumises à une analyse en première harmonique de Fourier [14, 53] qui fournit des données volumiques isotropes d'amplitude et de phase. Les images d'amplitude constituent une cartographie des déplacements totaux lors du cycle cardiaque et reflètent la mobilité locale du ventricule. L'histogramme des phases est tracé à partir des données présentes dans le masque du contour ventriculaire moyen et il décrit la cinétique de la contraction ventriculaire.

3.2.7 Perfusion cardio-myocytaire par SPECT

L'acquisition IRM synchronisée est complétée chez les rats infarcis par une acquisition cardiaque SPECT de perfusion cardio-myocytaire non synchronisée. Une dose de 400MBq de ^{99m}Tc -tétrafosmine (Myoview, GE Healthcare SA, France) est injectée dans la veine de la queue 1h avant l'acquisition. L'acquisition consiste en 48 projections de 1min (arc ventral de 180° , l'animal est positionné en décubitus dorsal) d'une matrice 128×128 représentant une durée d'acquisition de 48min avec une collimation sténopée de diamètre 3mm (caméra Argus, ADAC Laboratories, Philips Medical Systems, Best, Pays-Bas).

Les données sont reconstruites, réorientées et représentées selon les trois plans cardiaques (fig. 3.10). Ces données sont présentées selon une représentation polaire de la perfusion du ventricule gauche, qui consiste à représenter en 2D les segments cardiaques [127].

3.3 Résultats

3.3.1 Rat sain

Le rapport C/B entre le muscle cardiaque et l'intérieur du ventricule gauche est d'environ 15 dans les données IRM acquises. L'évolution des volumes cardiaques ventriculaires mesurés lors des 16 segments acquis chez le rat sain est représentée fig. 3.4.

Les paramètres dynamiques calculés à partir des volumes ventriculaires mesurés sont présentés dans le tableau 3.1.

Le calcul des images paramétriques permet d'observer que l'image d'amplitude (fig. 3.5) est homogène sur le muscle cardiaque du rat normal, ce qui reflète une mobilité normale du muscle et confirme de manière quantitative l'impression donnée lors de l'observation des images des 16 phases.

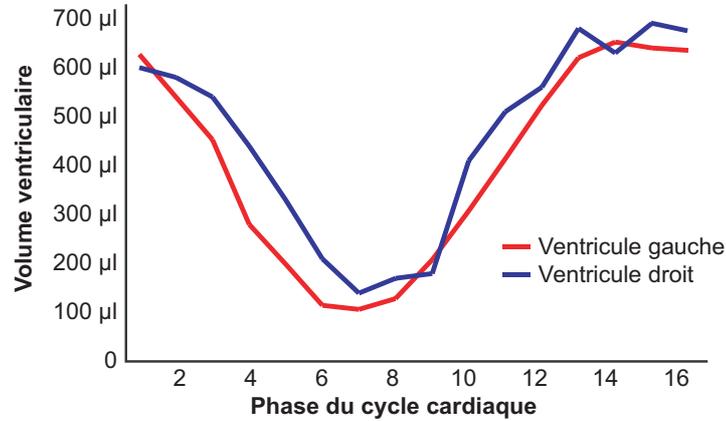


FIG. 3.4 – *Évolution des volumes ventriculaires gauche et droit mesurés chez le rat sain*

	Ventricule gauche	Ventricule droit
Télédiastole	660µL	700µL
Téléstole	120µL	150µL
Éjection	540µL	550µL
Fraction d'éjection	82%	79%
Débit moyen	205mL/min	209mL/min

TAB. 3.1 – *Volumes ventriculaires et débits moyens chez le rat sain. Rythme cardiaque moyen 380bpm*

Les histogrammes des phases présentent un pic ventriculaire unique et peu étendu reflétant une contraction ventriculaire homogène, c'est-à-dire un mouvement d'ensemble synchronisé.

Après avoir été mis en place chez le rat sain, notre protocole d'analyse de la fonction cardiaque par IRM synchronisée 4D est appliqué chez le rat infarcté et complété par une acquisition SPECT.

3.3.2 Rat infarcté

Analyse de la dynamique cardiaque par IRM 4D

Les images IRM permettent de visualiser la topographie et l'étendue du remodelage ventriculaire. La figure 3.7 montre une zone infarctée (symbole

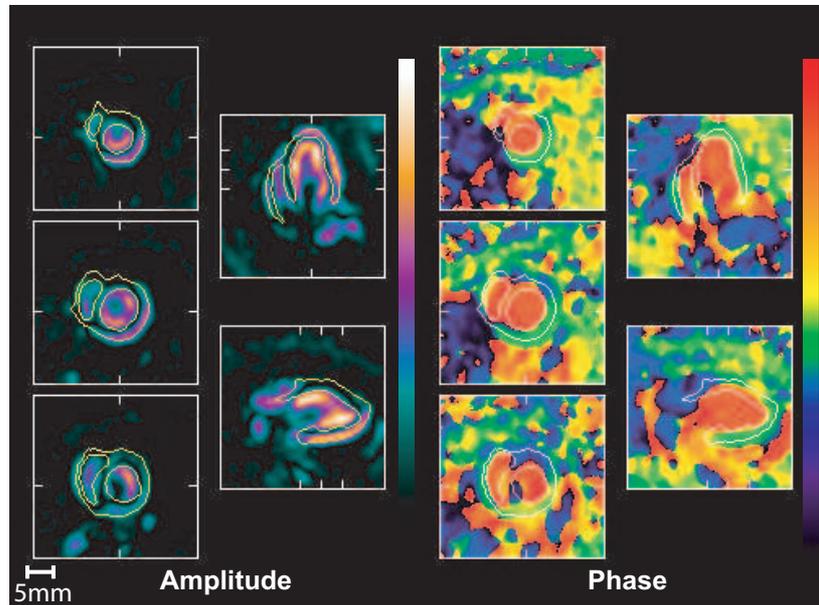


FIG. 3.5 – Images paramétriques d’amplitude et de phase à partir des données IRM 4D réorientées chez le rat sain. Représentation selon les 3 axes anatomiques cardiaques avec superposition du masque des contours ventriculaires moyens. L’image d’amplitude permet d’observer de façon quantitative la mobilité locale du muscle cardiaque

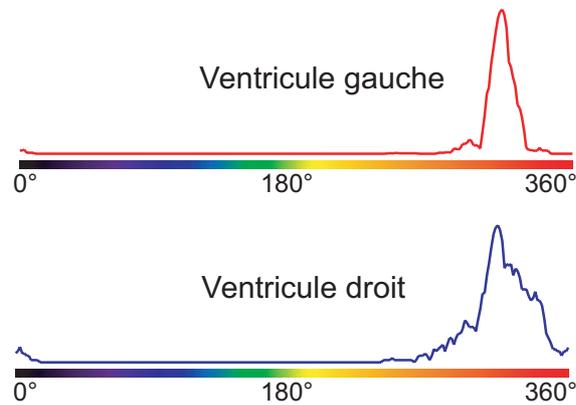


FIG. 3.6 – Représentation des histogrammes de phase obtenus à partir des volumes ventriculaires paramétriques calculés. Histogrammes ventriculaires normaux

★) présentant une nécrose pariétale au stade cicatriciel (paroi fibreuse fine), peu mobile lors du déroulement des 16 phases.

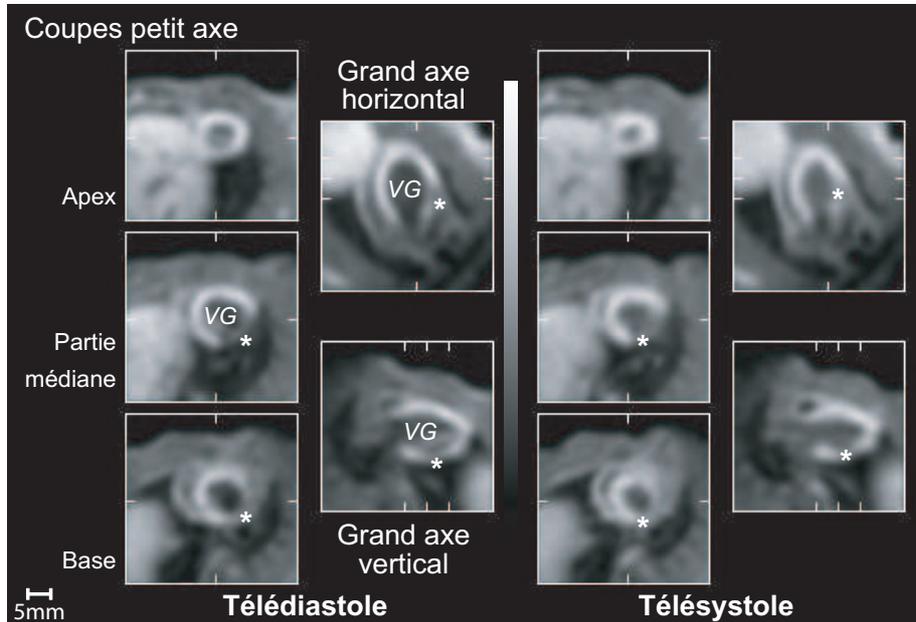


FIG. 3.7 – *Acquisition cardiaque IRM synchronisée réorientée selon les 3 axes cardiaques chez un rat adulte infarcté. Coupes petit axe, grand axe horizontal et vertical ; Images télédiastoliques et téléstoliques. Mise en évidence par IRM d'un infarctus (*)*

	Ventricule gauche
Télédiastole	720 μ L
Téléstole	390 μ L
Éjection	330 μ L
Fraction d'éjection	46%
Débit moyen	129mL/min

TAB. 3.2 – *Volume ventriculaire et débit moyen chez un rat Wistar adulte 3 semaines après infarctus chirurgical. Rythme cardiaque moyen 390bpm*

Seuls les volumes ventriculaires gauche sont mesurés chez les animaux infarctés car le ventricule droit présente un contour lacunaire pour certaines phases après application de la méthode de seuillage, et nécessiterait un tracé manuel. Avec un rythme cardiaque moyen à 390bpm, le rat pris en exemple présente 3 semaines après l'infarctus chirurgical une fraction d'éjection ventriculaire gauche de 46% et un débit cardiaque moyen gauche de 129mL/min (tableau 3.2).

L'analyse paramétrique des données 4D (fig. 3.8) montre un aspect lacunaire des images d'amplitude en regard des territoires infarctés (★) témoignant du caractère peu mobile de la paroi, confirmant l'impression sur les données brutes. Les images de phases sont hétérogènes, témoignant d'une altération de la cinétique ventriculaire confirmée par l'élargissement de l'histogramme de phase gauche (fig. 3.9).

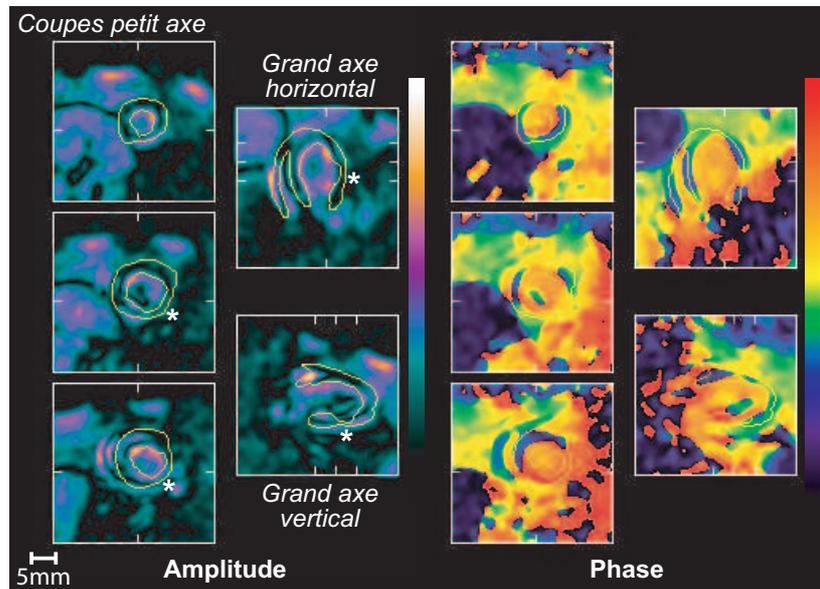


FIG. 3.8 – Images paramétriques d'amplitude et de phase calculées à partir des données IRM 4D réorientées chez un rat infarcté. Représentation selon les 3 axes anatomiques cardiaques. Le symbole ★ désigne la zone de faible mobilité observée sur les images IRM 4D

L'histogramme de phase de la cavité gauche montre un second pic ventriculaire correspondant à une zone dyskinétique en regard des plages infarctées (fig. 3.9).

Perfusion cardio-myocytaire par SPECT

La représentation polaire de la perfusion gauche est en concordance avec les données IRM. Nous confirmons chez le même animal la présence de l'infarctus estimé à 30% de la masse myocardique gauche (fig. 3.10, symbole ★).

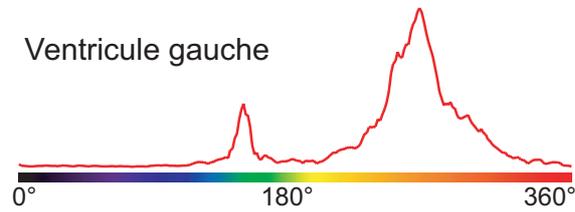


FIG. 3.9 – *Représentation de l'histogramme de phase obtenu à partir du volume ventriculaire paramétrique gauche calculé chez un rat infarci. On observe un déphasage correspondant à une zone dyskinétique*

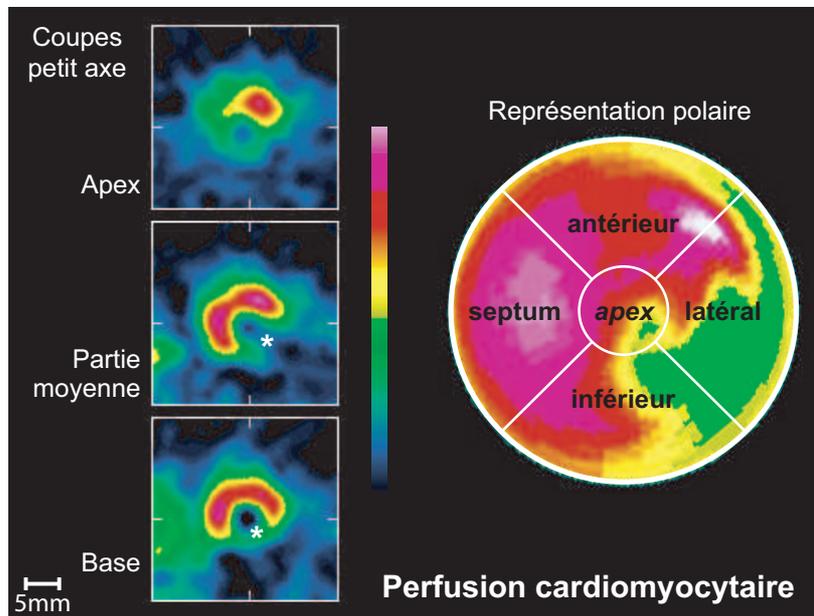


FIG. 3.10 – *Perfusion cardiomyocytaire non synchronisée chez un rat infarci. Mise en évidence d'un infarctus inféro-latéral (*) estimé à 30% de la masse myocardique gauche*

3.4 Discussion

L'utilisation du manganèse comme produit de contraste augmente le contraste T_1 du muscle cardiaque et facilite la sélection des ventricules pour le calcul de leurs volumes. Nous obtenons une fraction d'éjection ventriculaire gauche de 80% qui est dans la gamme des valeurs calculées

Champ B ₀	Pixel (µm ²)	Épaisseur de coupe (mm)	Volume voxel (mm ³)	TA (min)	Phases par cycle	2D ou 3D
9,4T [95]	234 x 234	2	0,110	0,5	10	2D 6 coupes
7,05T [113]-[117]	de 230 x 230 à 390 x 390	1	0,0529 à 0,152	de 15 à 20	12	3D
4,7T [75]	234 x 234 (SAX) 314 x 314 (v/hLA)	3	0,164 0,296	2	26	2D 3 coupes
4T [123]	650 x 625 ”	2 ”	0,812 ”	1 0,5	20-30 2	2D 12 coupes
2T [22]	195 x 195	2	0,0760	5	16	2D
2T [168]	195 x 195	2	0,0760	3	2	2D multicoupe
1,5T [107]	560 x 560 reconstruit 310 x 310	2	0,627	2	14	2D 3 coupes
0,1T	1000 x 1000	1	1	130	16	3D

TAB. 3.3 – *Acquisitions cardiaques synchronisées chez le rat. Le temps d'acquisition (TA) indiqué pour les acquisitions 2D multicoupes correspond à l'acquisition d'une coupe*

dans la littérature en IRM cardiaque synchronisée du rat normal anesthésié [107, 115, 117, 158].

Dans la littérature, la dynamique cardiaque est majoritairement étudiée à partir d'acquisitions 2D décrivant entre 10 et 26 phases par cycle cardiaque chez le rat. Plusieurs coupes sont acquises afin d'évaluer les volumes ventriculaires, avec un temps d'acquisition (TA) moyen de 2min par coupe. Le tableau 3.3 propose une revue non-exhaustive, mais représentative des paramètres d'acquisition choisis pour la description de la dynamique cardiaque chez le rat dans des articles récents, à différentes valeurs de champ magnétique.

La difficulté d'allier haute résolution spatiale et échantillonnage temporel en IRM cardiaque synchronisée du rat est traduite dans les choix effectués par les auteurs : 26 phases/cycle avec une épaisseur de coupe de 3mm [117] contre 12 phases/cycle avec une épaisseur de coupe de 1mm [75]. Les IRM cliniques à 1,5T peuvent être adaptées à la réalisation d'acqui-

tions cardiaques synchronisées 2D chez le rat [107] et offrent des résultats comparables à ceux obtenus dans les appareils dédiés à haut champ.

Trois auteurs effectuent des acquisitions volumiques avec des coupes jointives ([113, 114, 115, 116, 117] et [168]; [123] volume calculé mais non fourni) qui leur permettent de mesurer le volume cardiaque sans extrapolation géométrique. L'une de ces équipes acquiert seulement deux phases supposées être la télédiastole (juste après la synchronisation) et la télésystole (supposée se produire à 45% de l'intervalle RR) afin de calculer la fraction d'éjection et le débit cardiaque moyen. Parzy et al. [123] effectuent pour chaque rat une série initiale d'une vingtaine d'acquisitions d'un même plan à différents instants du cycle, échantillonné toutes les 10ms. Une fois les instants correspondants à la télédiastole et à la télésystole déterminés pour l'individu, les données volumiques sont acquises uniquement en télédiastole et en télésystole.

Le choix d'acquisitions 3D, bien que plus coûteux en terme de temps d'acquisition, permet d'acquérir l'ensemble du volume cardiaque, et de mesurer les volumes ventriculaires directement plutôt que d'utiliser une évaluation fondée sur la modélisation géométrique du ventricule à partir des paramètres mesurés en 2D.

Nous avons fait le choix d'acquérir des données synchronisées volumiques isotropes. Ce type d'acquisition cardiaque 4D (synchronisée et 3D isotrope) [45] permet le calcul des volumes comme toute acquisition 3D jointive, mais les données isotropes présentent l'avantage supplémentaire de pouvoir être réorientées rétrospectivement selon n'importe quel plan. Dans ce cas il n'est pas nécessaire de multiplier les séquences de positionnement afin de choisir une orientation particulière des plans de coupe lors de l'acquisition des données [45]. Pour les mêmes raisons, une étude cardiaque 4D a été récemment présentée chez la souris [45] avec l'acquisition de données 3D isotropes de 0,2mm de côté pour 12 phases/cycle cardiaque. Les auteurs soulignent que la segmentation manuelle des ventricules est facilitée par la possibilité de varier les plans de coupe. La manipulation de données 3D « vraies » leur a

également permis de mettre en évidence une anomalie du muscle papillaire qui n'avait encore jamais été observée ni par échographie ni par IRM [45].

Malgré l'absence de synchronisation respiratoire, le flou de respiration n'est pas apparent dans nos données. D'une part, il semble que le double codage de phase des acquisitions 3D provoque un moyennage de la phase qui atténue fortement le flou par rapport aux acquisitions 2D [17, 45, 137]. D'autre part, le protocole d'anesthésie gazeuse dans le CTI chauffée participe à la stabilité des paramètres physiologiques dont la respiration stable et régulière dans le temps témoigne. La synchronisation à la respiration n'est alors pas indispensable ce qui simplifie l'ensemble de la manipulation et réduit la durée d'acquisition.

L'analyse en première harmonique de Fourier fournit à partir d'un jeu de données temporelles deux images paramétriques, une image d'amplitude et une image de phase. Ces images fonctionnelles sont obtenues par le calcul de la première harmonique de la décomposition d'un signal périodique. L'image d'amplitude reflète l'amplitude de cette sinusoïde et la phase correspond au déphasage de la sinusoïde. L'analyse en première harmonique de Fourier de la dynamique cardiaque est pratiquée en routine clinique en médecine nucléaire planaire depuis le début des années 1980 [125]. Depuis la généralisation des acquisitions tomographiques, elle est utilisée avec des données volumiques en 3D afin de définir des masques permettant de séparer les ventricules du massif auriculaire lors de l'analyse de la dynamique cardiaque. Cependant l'exploitation quantitative des données 3D paramétriques demeure rare [57, 164].

Nous proposons d'utiliser l'analyse en première harmonique de Fourier, courante en médecine nucléaire planaire, sur nos données 4D IRM, analyse jamais effectuée à notre connaissance. L'acquisition 3D de 16 phases par cycle cardiaque permet le calcul des images volumiques d'amplitude et de phase. L'image de phase et l'histogramme de phase font apparaître et permettent d'évaluer les déphasages ou dyskinésie (retard ou contraction paradoxale du muscle cardiaque) ou un étalement des phases correspondant

à une akinésie. L'image d'amplitude permettrait en complément de l'image de phase d'observer les éventuelles hypokinésies.

3.5 Conclusion

Nous avons montré la faisabilité des explorations IRM cardiaques 4D à 0,1T chez le rat sain et infarci. L'analyse paramétrique en première harmonique de Fourier des données obtenues permet une appréciation de l'étendue et des répercussions fonctionnelles d'un infarctus chirurgical constitué chez le petit animal.

3.6 Perspectives

Le protocole IRM/SPECT va entrer dans une étude comparative des données IRM, SPECT et échographique en collaboration avec le Dr. L Monassier. Cette étude permettra une comparaison des données obtenues par ces trois méthodes d'imagerie sur des animaux sains et infarcis.

Chapitre 4

Élastographie par résonance magnétique (ERM) du tissu cérébral chez le rat

Ce travail a été réalisé en collaboration avec MM. R. Willinger et J. Vappou de l'Institut de Mécanique des Fluides et des Solides (IMFS, Strasbourg, France). Le lecteur désireux d'obtenir plus de détails sur la théorie de l'ERM et la méthode développée pourra consulter la thèse de doctorat de J. Vappou [162].

4.1 Introduction

4.1.1 Biomécanique de la matière cérébrale

La biomécanique concerne l'étude des propriétés mécaniques des tissus biologiques. La détermination de ces propriétés a pour but de concevoir par exemple des prothèses ou des dispositifs de protection corporelle, ou encore de comprendre la survenue ou d'améliorer la détection ou la prise en charge de certaines pathologies. Dans ce domaine, l'étude de la matière cérébrale est relativement récente [119]. En effet, les propriétés mécaniques de la matière cérébrale sont difficiles à étudier *in vivo* car le cerveau est physiquement inaccessible dans la boîte crânienne. Les propriétés mécaniques du cerveau sont donc uniquement décrites par des mesures *ex vivo* effectuées sur des échantillons de matière cérébrale en rhéométrie. Ces mesures *in vitro* sont réalisées sur des échantillons de cerveau prélevés c'est-à-dire hors de leur environnement naturel (absence de perfusion cérébrale et de pression intra-

crânienne). Le délai et le mode de conservation entre le décès/prélèvement et les mesures posent également le problème de l'évolution des propriétés mécaniques *post mortem*.

Hors les propriétés mécaniques du tissu cérébral déterminées expérimentalement sont intégrées dans les modèles éléments finis (FEM) de la tête. Les résultats des études par modélisation par éléments finis de la tête sont utilisés dans la conception notamment de nouveaux équipements améliorant la sécurité routière. L'établissement des propriétés mécaniques du cerveau *in vivo* permettrait donc d'augmenter la qualité de ces modélisations et des choix techniques qui en découlent.

Le protocole de mesure par élastographie par résonance magnétique (ERM) que nous avons développé vise à apporter de premières réponses à ces questionnements par des mesures *in vivo* chez le rat, similaires à l'étude récemment parue réalisée chez des sujets humains [138]. Ces résultats sont complétés dans notre étude par un premier suivi de l'évolution des propriétés visco-élastiques du tissu cérébral *post mortem* chez le rat.

4.1.2 Élastographie par résonance magnétique

L'ERM est une méthode de détermination des propriétés mécaniques utilisant un codage de phase en IRM. Pour cela, une onde mécanique de cisaillement est générée en faibles déformations au sein de l'échantillon, tandis qu'un gradient de codage de phase synchronisé à l'onde mécanique marque les déplacements. Les déplacements engendrés par la propagation de l'onde mécanique dans le matériau sont rendus visibles dans l'image de phase par l'application de ce gradient de sensibilité. A partir de plusieurs images de phase, il est possible de déterminer point par point les propriétés visco-élastiques du tissu étudié à l'aide d'un algorithme d'inversion d'équation d'onde.

Le principe de la détection de déplacements périodiques par RMN a été proposé par Lewa [92]. Lewa et al. ont également présenté la modulation de la fréquence de Larmor du signal RMN liée à la variation de position du

noyau entre un échantillon au repos et le même échantillon subissant une propagation d'onde élastique [92, 93]. La première application IRM de ce principe a été proposée par Muthupillai et al. [111] qui ont déterminé le module de cisaillement à partir de la propagation de l'onde de cisaillement.

Depuis ces travaux fondateurs, l'ERM sous l'hypothèse d'élasticité Hookeenne a été validée par comparaison avec des méthodes mécaniques de références sur des gels homogènes [61, 111, 131] et est utilisée comme un outil de diagnostic pour l'évaluation de la rigidité globale du tissu [8, 15, 41, 62, 64, 79, 98, 102, 101, 130, 133, 139, 160, 176]. Plus récemment, des algorithmes d'inversion d'onde ont été développés pour la détermination des propriétés visco-élastiques des organes complexes [122, 138, 147], mais aucune validation n'avait été proposée par comparaison avec une méthode de références de mesure des propriétés mécaniques jusqu'à nos travaux [163].

L'ERM nécessite la mise en place d'un système d'excitation mécanique, permettant de générer et de transmettre l'onde de cisaillement. La conception de tels systèmes dans des aimants à haut champ est difficile du fait des interactions éventuelles avec le champ magnétique de l'aimant et de l'accessibilité limitée. Nous proposons un dispositif simple d'application de l'ERM, bénéficiant du faible champ de fuite des petits aimants à 0,1T que nous employons.

4.2 Matériel et méthode

4.2.1 Principe de l'ERM

Codage des déplacements en phase en IRM

Le principe de codage des déplacements en phase est le même pour toutes les applications de visualisation de mouvements (diffusion, flux, déformations). La position $\vec{r}(t)$ d'un spin peut être décrite comme :

$$\vec{r}(t) = \vec{r}_0 + \vec{\xi}(t) \quad (4.1)$$

avec \vec{r}_0 la position initiale au repos et $\vec{\xi}(t)$ son déplacement. L'application d'un gradient additionnel $\vec{G}_m(t)$ modifie la relation de Larmor :

$$\omega = \gamma(B_0 + \vec{G}_m(t) \cdot \vec{r}(t)) \quad (4.2)$$

Ainsi, le déplacement $\vec{\xi}$ induit une variation de la fréquence de précession par rapport à la fréquence au repos :

$$\Delta\omega = \gamma(\vec{G}_m(t) \cdot \vec{\xi}(t)) \quad (4.3)$$

Cette variation résulte après intégration sur une période de temps T en un déphasage ϕ :

$$\phi = \gamma \int_T \vec{G}_m(t) \cdot \vec{\xi}(t) dt \quad (4.4)$$

Un choix approprié de la forme temporelle du gradient de sensibilité $\vec{G}_m(t)$ pour la résolution de l'équation permet de déterminer $\vec{\xi}(t)$ à partir de la mesure du déphasage induit ϕ .

Élastographie par résonance magnétique

Le codage des déplacements en ERM provient de l'incorporation dans la séquence IRM de gradients de sensibilité synchronisés au mouvement. Ces gradients bipolaires permettent d'obtenir une image de la propagation de l'onde mécanique harmonique à laquelle l'échantillon est soumis. Supposons que l'échantillon soit soumis à un déplacement périodique d'amplitude ξ_0 avec une fréquence $f = 1/T = \frac{\omega}{2\pi}$:

$$\vec{\xi}(t) = \xi_0 \sin(\omega t - \vec{k} \cdot \vec{r}) \quad (4.5)$$

Avec k le nombre d'onde, \vec{r} le vecteur position. Si un gradient de sensibilité au mouvement de durée T défini par :

$$\left| \vec{G}_m(t) \right| = \begin{cases} +\|G\|, & t \in (nT, (2n+1)T/2) \\ -\|G\|, & t \in ((2n+1)T/2, (n+1)T) \end{cases} \quad (4.6)$$

fait partie de la séquence IRM, l'équation 4.4 fournit alors :

$$\phi(\vec{r}, \theta) = \frac{2\gamma NT(\vec{G} \cdot \vec{\xi}_0)}{\pi} \sin(\vec{k} \cdot \vec{r} + \theta) \quad (4.7)$$

avec γ le rapport gyromagnétique, N le nombre de périodes d'applications des gradients bipolaires, \vec{G} le gradient de sensibilité au mouvement, $\vec{\xi}_0$ le vecteur de déplacement, \vec{k} le nombre d'onde, \vec{r} le vecteur position et θ le décalage de phase entre l'excitation mécanique et les gradients de sensibilité au mouvement.

L'image 2D des déphasages $\phi(\vec{r}, \theta)$ obtenue fournit le profil de déplacements le long de la direction d'application du gradient de sensibilité au mouvement. Le choix de la direction d'application de ce gradient autorise à visualiser l'un ou l'autre des composantes du déplacement total le long des trois directions principales de l'espace choisies.

4.2.2 Mise en oeuvre à 0,1T

Dispositif de génération d'ondes mécaniques

Les ondes de cisaillement sont générées par un exciteur modal EX12 (Prodera, France) commandé par un générateur de fonctions. L'excitation est transmise via une tige en laiton supportée par une structure mécanique compatible avec le champ magnétique de l'IRM (fig. 4.1 et 4.3). Dans ce dispositif, la distance entre le pot vibrant et le centre de l'aimant peut être ajustée entre 85cm et 115cm environ. L'ensemble d'excitation peut être installé sur les deux aimants à 0,1T, vertical et horizontal. L'amplitude du signal harmonique de commande du pot vibrant est calibrée pour fournir un déplacement équivalent quelle que soit la fréquence de travail (comprise ici entre 150Hz et 210Hz).

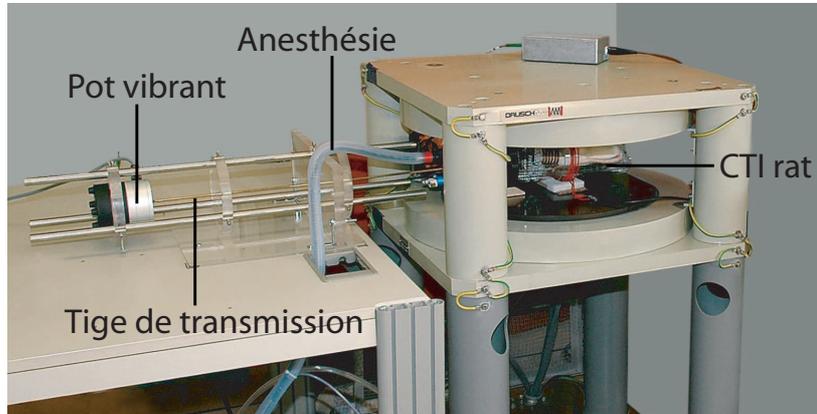


FIG. 4.1 – Vue d'ensemble du dispositif mis en place pour l'ERM *in vivo* du cerveau de rat

Séquence ERM utilisée

Une séquence écho de spin 2D avec gradient de sensibilité aux déplacements a été développée (fig. 4.2). Les gradients de sensibilité au mouvement sont synchronisés à la sortie TTL du générateur de fonctions qui fournit le signal harmonique commandant le pot vibrant.

Le choix du nombre de gradients de sensibilité (de période T) est laissé à l'utilisateur. L'augmentation de la fréquence d'étude correspond à une diminution de la durée d'application des gradients, ce qui entraîne une diminution du déphasage induit (équ. 4.7). Afin de compenser cette perte de codage de phase, le nombre d'applications du gradient de codage en phase du mouvement peut être augmenté (équ. 4.7). Cependant, l'augmentation du nombre d'applications entraîne un allongement du TE, qui résulte en une diminution du signal RMN disponible et du rapport S/B. Le choix du nombre d'applications des gradients de codage en phase du mouvement doit être effectué afin d'obtenir un bon compromis entre l'amplitude du déphasage induit et la valeur du TE.

La valeur du déphasage entre l'onde mécanique et le début du gradient de sensibilité est également choisie par l'utilisateur. Ce déphasage correspond au paramètre θ dans l'équation 4.7. Plusieurs images acquises avec le

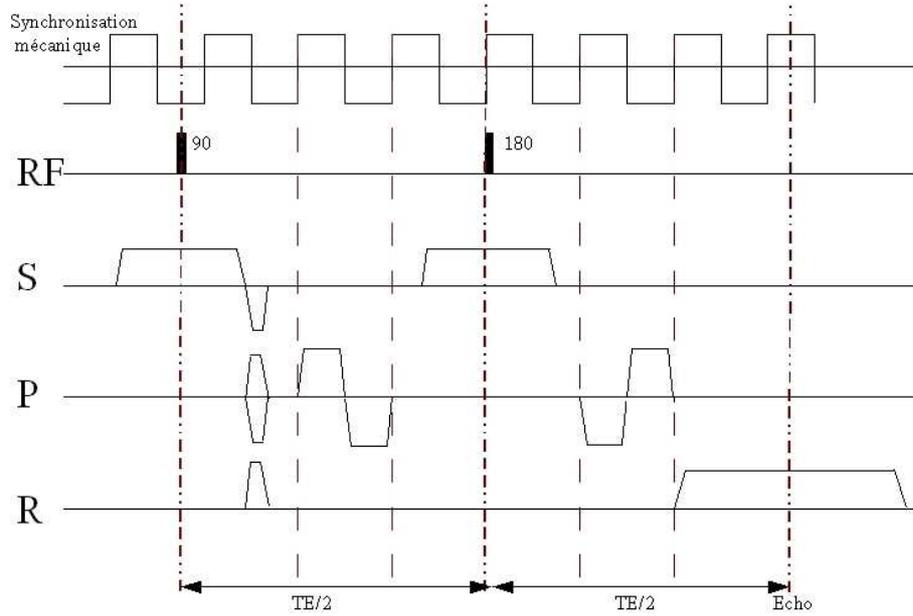


FIG. 4.2 – Séquence écho de spin 2D avec un gradient de sensibilité aux mouvements inclus dans la direction de codage de phase

paramètre θ variant entre 0 et 2π sont nécessaires à la résolution de l'algorithme d'inversion d'onde.

Algorithme d'inversion d'onde

L'algorithme d'inversion d'onde permet de déterminer les paramètres visco-élastiques locaux à partir d'un ensemble d'images de phases obtenues avec différents déphasages entre l'onde mécanique et le gradient de sensibilité au mouvement.

Description de l'algorithme L'algorithme d'inversion d'onde utilisé dans ce travail a été utilisé dans plusieurs études [138, 148] et est expliqué en détail dans [122]. Son point de départ est l'équation de Helmholtz :

$$\Delta \vec{u} - \frac{1}{C^2} \frac{\partial^2 \vec{u}}{\partial t^2} = 0 \quad (4.8)$$

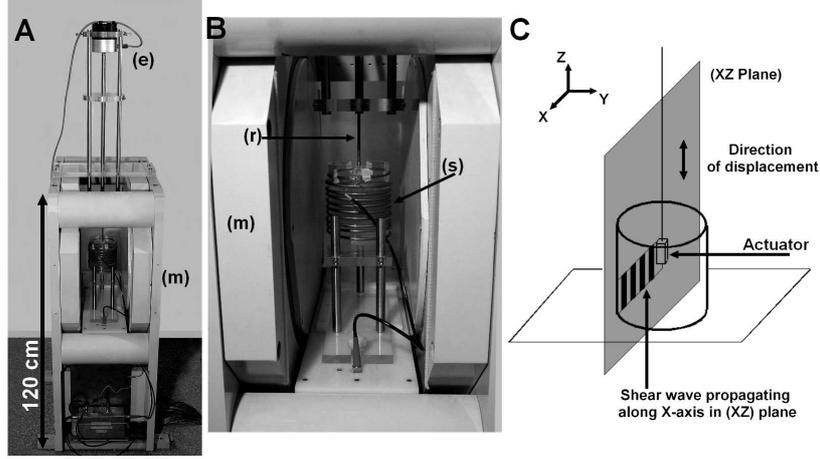


FIG. 4.3 – Dispositif ERM pour la détermination des propriétés mécaniques d'un gel d'échographie

Avec \vec{u} vecteur de déplacement et C vitesse de propagation de l'onde. L'équation peut être écrite :

$$\Delta \vec{u} + k^2 \vec{u} = 0 \quad (4.9)$$

Avec $k = \frac{\omega}{C}$ le nombre d'onde. La transformée de Fourier temporelle appliquée à une composante u_z du vecteur \vec{u} donne :

$$\Delta FT_t(u_z) + k^2 FT_t(u_z) = 0 \quad (4.10)$$

Avec FT_t transformée de Fourier temporelle. L'équation 4.10 donne alors :

$$k = \sqrt{-\frac{\Delta FT_t(u_z)}{FT_t(u_z)}} \quad (4.11)$$

La résolution complexe de l'équation 4.11 permet de déterminer les parties réelle (k') et imaginaire (k'') de k . La résolution complexe de l'équation $G = \rho \frac{\omega^2}{k^2}$ donne finalement les modules de cisaillement G' et G'' , définis par $G = G' + iG''$. Le module de stockage G' traduit l'élasticité du matériau, tandis que le module de perte G'' correspond à sa viscosité.

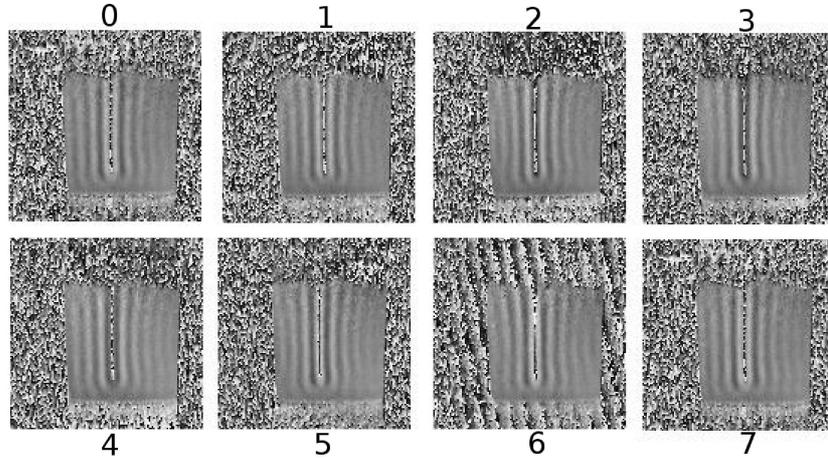


FIG. 4.4 – Images ERM d'un gel homogène (gel d'échographie) obtenues avec les 8 déphasages compris entre 0 et 2π utilisés par l'algorithme d'inversion d'onde. Les ondes de cisaillement horizontales sont générées par une plaque de plexiglas verticale plongée dans le gel et reliée au pot vibrant (fig. 4.3)

Implémentation de l'algorithme L'algorithme d'inversion a été développé avec le logiciel Matlab (Mathworks) par J. Vappou [162]. Il consiste à inverser l'équation de Helmholtz après l'application d'une transformée de Fourier temporelle aux données. Les données temporelles nécessaires à la transformée de Fourier temporelle sont obtenues via le déphasage entre l'onde mécanique et le gradient de sensibilité au mouvement. Huit valeurs de déphasage entre l'excitation mécanique et les gradients de marquage sont utilisées ($\phi = 0 + n\frac{\pi}{4}$, $n=0..7$) pour le calcul de la transformée de Fourier à chaque fréquence de travail. La figure 4.4 illustre l'effet du déphasage sur l'image de propagation de l'onde. Les images présentées correspondent aux 8 images de phase obtenues sur un gel homogène avec les 8 valeurs de déphasage. L'excitation mécanique est transmise par une plaque de plexiglas verticale plongée sur 5cm dans le gel et qui permet aux ondes de cisaillement de se propager horizontalement (fig. 4.3). Le décalage temporel correspond au déphasage entre deux images consécutives.

La composante de l'onde utilisée pour la reconstruction est la direction parallèle au mouvement de la tige de transmission. Les images de phase

sont soumises à un filtrage passe bas par un filtre Gaussien 2D (matrice de convolution 5×5 , écart type de 2 pixels). Le tissu cérébral est considéré incompressible, ce qui correspond à négliger la contribution des ondes de compression avec une masse volumique choisie à $\rho=1000\text{kg.m}^{-3}$ soit celle de l'eau.

L'ensemble de la méthode a été validée sur des échantillons de gel mou homogène (gel d'échographie) par une comparaison des résultats avec ceux obtenus en rhéométrie rotationnelle [162, 163]. La capacité de la méthode à déterminer les paramètres visco-élastiques linéaires d'un organe complexe hétérogène grâce à l'algorithme d'inversion a été testée sur des cerveaux de porc *ex vivo* [162]. Les résultats obtenus sont également en accord avec les mesures de référence effectuées en rhéométrie rotationnelle. Nous décrivons plus précisément dans ce mémoire son application *in vivo* et *ex vivo* chez le rat, afin d'étudier les propriétés mécaniques du tissu cérébral.

4.2.3 ERM du tissu cérébral *in vivo* et *ex vivo* chez le rat

Animaux

Les expériences sont menées sur 7 rats mâles de souche Sprague-Dawley, âgés de 8 à 9 semaines (poids compris entre 300g et 350g). Les rats sont placés dans la cellule technique pour l'imagerie du petit animal (modèle rat). Le protocole expérimental consiste en trois parties :

- Expérience *in vivo* : Les rats sont anesthésiés à 2% d'isoflurane et les gaz anesthésiques sont chauffés. Les mesures ERM sont effectuées à 150Hz, 180Hz et 210Hz afin d'étudier le comportement dynamique du tissu cérébral dans cette gamme de fréquences ;
- Expérience *ex vivo*, environ 30min *post-mortem* (H0) : Après induction de l'anesthésie à l'isoflurane, les rats subissent une injection létale de Penthotal (250mg dilués dans 1,5mL environ). Les mesures ERM sont effectuées à 180Hz ;

- Expérience *ex vivo*, environ 24h *post-mortem* (H24) : Les dépouilles des rats sont conservées au réfrigérateur (5°C) pendant 24h. Environ 1h30 avant les mesures, le cadavre est sorti du réfrigérateur et mis en place dans l'aimant afin que sa température se stabilise à température ambiante (environ 27°C). Les mesures ERM sont également effectuées à 180Hz.

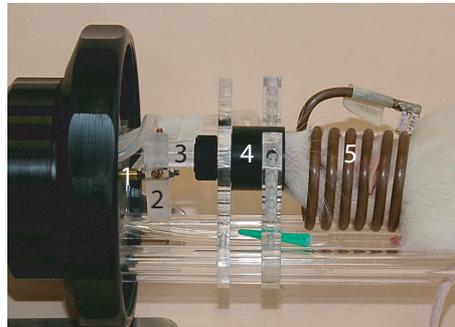
Un individu est utilisé comme contrôle afin d'estimer l'erreur intra-individuelle de mesure. La mesure ERM est répétée 5 fois *in vivo* à 180Hz sur 4 jours différents. La première mesure est répétée 2 fois de suite, puis le délai entre deux mesures est de 24h. Le but de ces mesures est d'estimer l'erreur globale de la méthode due :

- aux différences de positionnement du rat
- aux variations possibles des propriétés mécaniques du tissu cérébral d'un jour à l'autre
- à l'erreur liée aux variations du rapport S/B qui influencent le résultat de l'algorithme d'inversion
- à l'erreur liée à l'algorithme d'inversion.

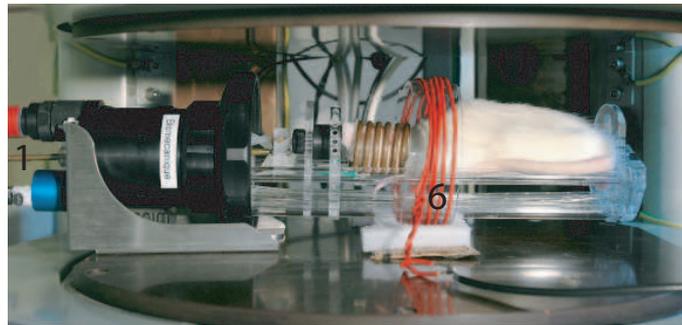
Dispositif expérimental

Les expériences sont menées sur l'aimant horizontal (B_0 vertical, fig. 1.1(a)). L'excitation mécanique est transmise horizontalement (fig. 4.5). La tige de transmission de l'excitation passe par le canal technique de la CTI, et est couplée à la barre de dent du masque d'anesthésie (fig. 4.5). Une antenne RF solénoïdale (tête de rat 6 tours) est couplée à une boucle d'accord placée sur un support circulaire glissé autour de l'antenne RF et du lit. La CTI n'est pas refermée afin d'avoir accès en permanence au rat et de pouvoir vérifier que l'onde mécanique est effectivement transmise. L'ensemble du dispositif expérimental comprenant l'ensemble d'anesthésie, l'aimant IRM à 0,1T et le dispositif de génération et de transmission de l'onde mécanique est présenté fig. 4.1.

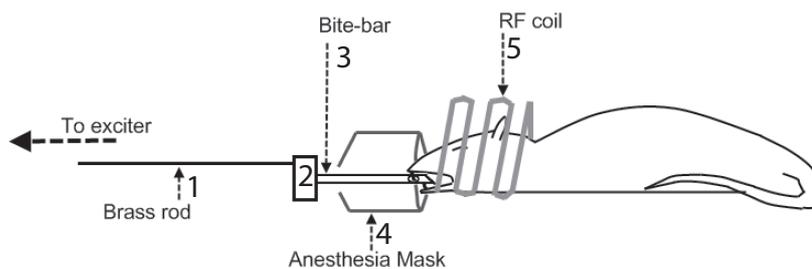
Les images sont acquises dans la zone médiane du cerveau selon le plan sagittal. Le positionnement du rat est vérifié avec une séquence écho de



(a) Détails de la mise en place du rat



(b) Vue d'ensemble dans l'aimant



(c) Schéma de transmission de l'onde mécanique

FIG. 4.5 – *Détail de la transmission de l'onde mécanique au crâne de rat in vivo (a et b) : tige en laiton (1) et barre de dent (3) reliées par le dispositif de fixation (2), masque d'anesthésie (4), antenne solénoïdale (5), boucle d'accord sur son support (6). Représentation schématique (c)*

gradient rapide FAST 3D. Les paramètres d'acquisition utilisés avec la séquence écho de spin 2D ERM sont les suivants : TE/TR 60/900ms, FOV

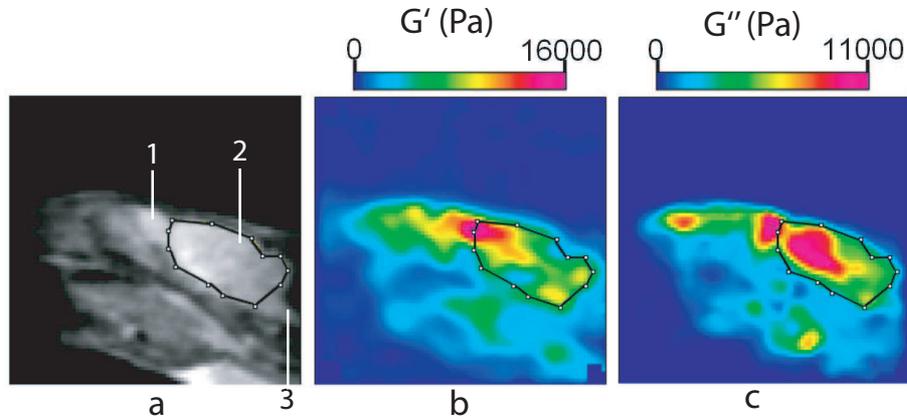


FIG. 4.6 – *Tracé manuel de la région d'intérêt sur l'ensemble du cerveau (2) en dehors des bulbes olfactifs (1) et du tronc cérébral (3) dans l'image IRM (a) et application aux cartographies de G' (b) et G'' (c) pour le calcul des moyennes des modules de cisaillement locaux*

70mm \times 70mm, épaisseur de coupe 7mm, matrice d'acquisition 128 \times 128, NEX 4, TA 5min par coupe. Chaque coupe est acquise à 8 déphasages différents permettant la résolution de l'algorithme d'inversion et menant à un TA global de 40min par fréquence.

Calcul des valeurs moyennes de G' et G''

Les valeurs des modules de stockage (G') et de perte (G'') sont calculées comme la moyenne des valeurs locales dans une région d'intérêt. La région d'intérêt est dessinée manuellement sur l'image d'amplitude afin de sélectionner l'intégralité du cerveau exceptés le tronc cérébral et les bulbes olfactifs (fig. 4.6a). Cette sélection est enregistrée et appliquée sur les images de G' et G'' (fig. 4.6b et c).

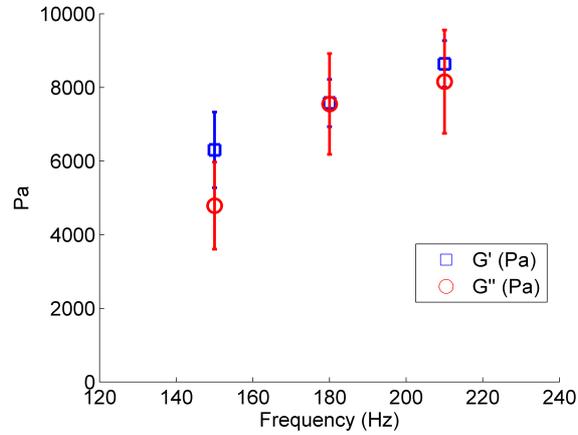


FIG. 4.7 – Modules de stockage G' et de perte G'' en fonction de la fréquence *in vivo*

4.3 Résultats

4.3.1 Erreur globale

Les valeurs moyennes et les écarts types des modules de cisaillement G' et G'' mesurés à la fréquence de 180Hz chez le rat contrôle sont respectivement de $G' = 8450 \pm 410Pa$ et $G'' = 7140 \pm 610Pa$. Les coefficients de variation correspondants sont respectivement de 5% et 9%, et confirment la reproductibilité de la méthode de mesure des G' et G'' moyens du cerveau *in vivo* avec une variation intra-individuelle inférieure à 10%.

4.3.2 Expériences *in vivo*

Une légère augmentation des composantes du module de cisaillement est trouvée chez le rat *in vivo* avec la fréquence de l'excitation mécanique (fig. 4.7) entre 150Hz et 210Hz.

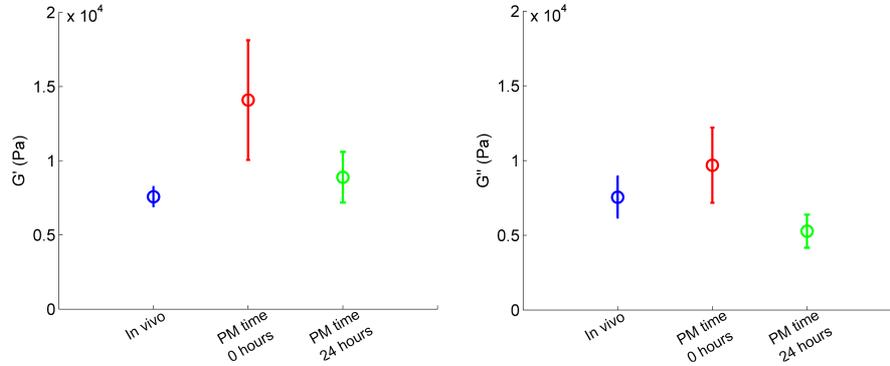


FIG. 4.8 – Moyennes des modules de stockage G' et de perte G'' mesurés à 180Hz *in vivo*, *post mortem* H0 et H24

4.3.3 Évolution des paramètres mécaniques *in vivo* et *ex vivo*

Les valeurs moyennes et les écart types des composantes du module de cisaillement mesurées à 180Hz *in vivo*, à H0 immédiatement *post mortem* et à H24 *post mortem* sont représentées fig. 4.8.

On observe une augmentation nette du module de stockage G' à H0 *post mortem*. Cette augmentation est statistiquement significative (test-t Student $p < 0,01$) par rapport aux valeurs mesurées *in vivo* et H24 *post mortem*. De même, il y a une diminution du paramètre G'' à H24 *post mortem*, qui est statistiquement significative (test-t Student $p < 0,02$) par rapport aux mesures *in vivo* et juste après la mort.

4.4 Discussion

Cette étude est une des premières tentatives visant à déterminer *in vivo* les propriétés visco-élastiques du tissu cérébral. Les premiers résultats publiés à ce sujet l'ont été très récemment sur des sujets humains [138]. L'avantage majeur de l'expérimentation humaine est la taille du cerveau qui permet une meilleure observation de la propagation d'onde. Cependant, notre

étude apporte un premier suivi de l'évolution de la visco-élasticité du cerveau après la mort. Nous obtenons deux résultats importants concernant l'évolution des propriétés mécaniques *post mortem*.

Le premier est que le module de stockage augmente très significativement, d'environ 100%, juste après la mort. Ce résultat est très surprenant car la valeur de G' se rapproche ensuite à H24 *post mortem* de la mesure *in vivo*. De plus, l'écart type plus important pour cette mesure que pour les mesures *in vivo* et *post mortem* H24 semble indiquer une évolution temporelle dans les heures suivant le décès. Cette augmentation forte et temporaire est peut être liée au mode d'euthanasie aux barbituriques. Notre hypothèse est que ce mode d'euthanasie induit un arrêt de la circulation veineuse tandis que la circulation artérielle tente de palier le manque d'oxygène au niveau cérébral. Un oedème se formerait alors et serait responsable de l'augmentation du module de perte. La diminution globale des résistances vasculaires serait ensuite responsable du retour vers un équilibre de l'ensemble dans les heures suivant l'euthanasie. Finalement, il n'est pas possible à ce stade de l'étude de déterminer si cette augmentation est intrinsèque au cerveau dans la boîte crânienne ou liée au mode d'euthanasie. Des investigations supplémentaires doivent être menées pour tester l'influence du mode d'euthanasie.

Le second résultat important est la décroissance du module de perte à H24 *post mortem*. Cependant la comparaison directe des mesures est difficile compte tenu des différences entre les mesures effectuées *in vivo* et *ex vivo*. La température des échantillons lors des mesures à H24 *post mortem* n'a pas été contrôlée et peut seulement être estimée proche de la température ambiante dans la pièce. La température du cerveau peut non seulement varier pendant les mesures, mais est aussi inférieure à la température *in vivo*. Néanmoins, les résultats d'expériences menées *in vitro* sur des échantillons de cerveau de porc semblent indiquer que la température n'a pas une influence significative sur les propriétés visco-élastiques dans le domaine compris entre 22°C et 37°C [162]. Bien que ces mesures aient été effectuées *ex vivo* sur du tissu cérébral prélevé, le rôle de la température peut être considéré comme négligeable dans nos mesures.

Néanmoins les conditions de conservation (réfrigération) pendant les H24 *post mortem* ont probablement une influence sur les propriétés visco-élastiques mesurées. Cette hypothèse, tout comme celle de l'euthanasie, doit être approfondie par de nouvelles mesures effectuées après différents protocoles de conservation.

Concernant les erreurs et hypothèses simplificatrices, l'erreur liée au tracé de la région d'intérêt est limitée car la moyenne est calculée sur l'ensemble du cerveau. Négliger les ondes mécaniques autres que les ondes de cisaillement (telles que les ondes de compression) ainsi que les interférences avec des ondes réfléchies constituent les principales hypothèses simplificatrices de cette étude. Leur influence peut s'avérer non-négligeable compte tenu du faible volume que représente le cerveau de rat, et d'autres études devront être menées afin d'évaluer l'erreur commise. Cependant les mesures *in vivo* et *ex vivo* ont été effectuées en suivant le même protocole, et on peut considérer en première approximation que l'erreur provenant de ces simplifications est systématique et n'influence pas les conclusions principales en terme de comparaison des mesures *in vivo* et *post mortem* H0 et H24.

Les résultats obtenus constituent de nouvelles données sur les propriétés visco-élastiques du tissu cérébral dans son environnement naturel non altéré. Les figures 4.9 et 4.10 comparent les résultats obtenus avec les mesures des propriétés visco-élastiques dynamiques de la littérature [16, 21, 71, 120, 145, 157], dont les mesures ERM chez l'homme [138]. Des mesures effectuées par ERM et rhéométrie *in vitro* sur des cerveaux de porcs (protocole non décrit ici mais détaillé dans la thèse de doctorat de J. Vappou [162]) figurent également dans ces figures.

Les résultats obtenus *in vivo* chez le rat sont de l'ordre de grandeur des valeurs les plus élevées dont il est fait état dans la littérature [120, 145]. L'ensemble des valeurs ne peuvent pas être directement comparées car elles ont été obtenues chez des mammifères d'espèces différentes (homme [120, 145], porc [21, 71, 120, 157], bovin [16], rat) avec des protocoles de mesure et de conservation différents. Une différence importante existe entre les propriétés visco-élastiques mesurées par J. Vappou sur des échantillons

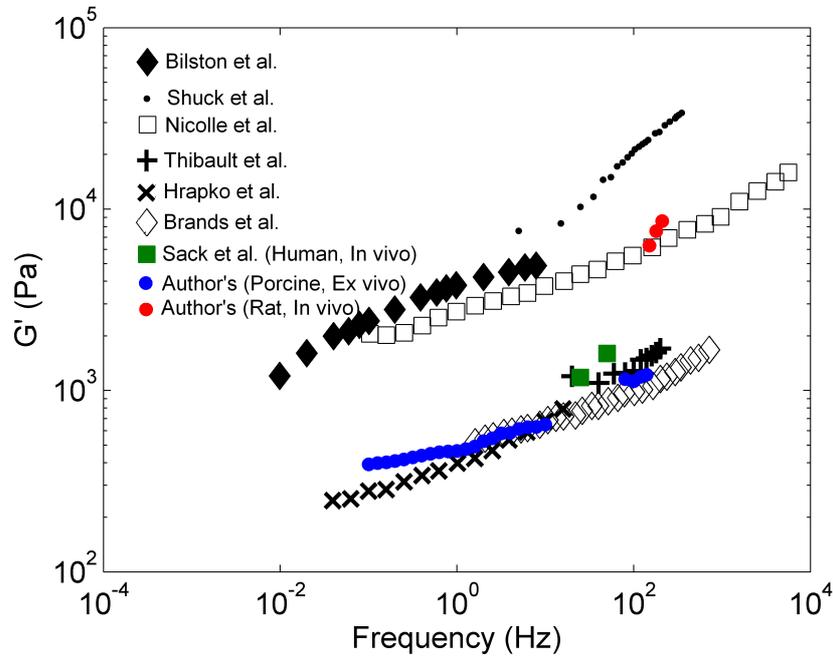


FIG. 4.9 – Comparaison des modules de stockage de la matière cérébrale mesurés par ERM *in vivo* chez le rat et *in vitro* chez le porc avec les résultats de la littérature obtenus en rhéométrie (homme [120, 145], porc [21, 71, 120, 157], bovin [16]), et les résultats ERM *in vivo* chez l’homme [138]

ex vivo de cerveau de porc et les valeurs obtenues *ex vivo* chez le rat alors que le même protocole ERM a été utilisé dans les deux cas.

Ceci peut s’expliquer par une différence de propriétés visco-élastiques du cerveau entre espèces. Cependant, la différence entre les valeurs que nous obtenons *ex vivo* chez le porc et *in vivo* chez le rat est considérable de l’ordre de 500% pour G' et G'' et une telle différence entre mammifères semble improbable compte tenu de la proximité des structures tissulaires.

Une autre explication aux différences de module observées peut provenir de l’environnement de la matière cérébrale lors des mesures. Les mesures chez le rat sont effectuées alors que le cerveau se trouve dans la boîte crânienne intacte tandis que les cerveaux de porc ont été extraits de leur environnement. La différence de mode d’euthanasie et de conservation doit également participer à la différence (anesthésie avant euthanasie chimique,

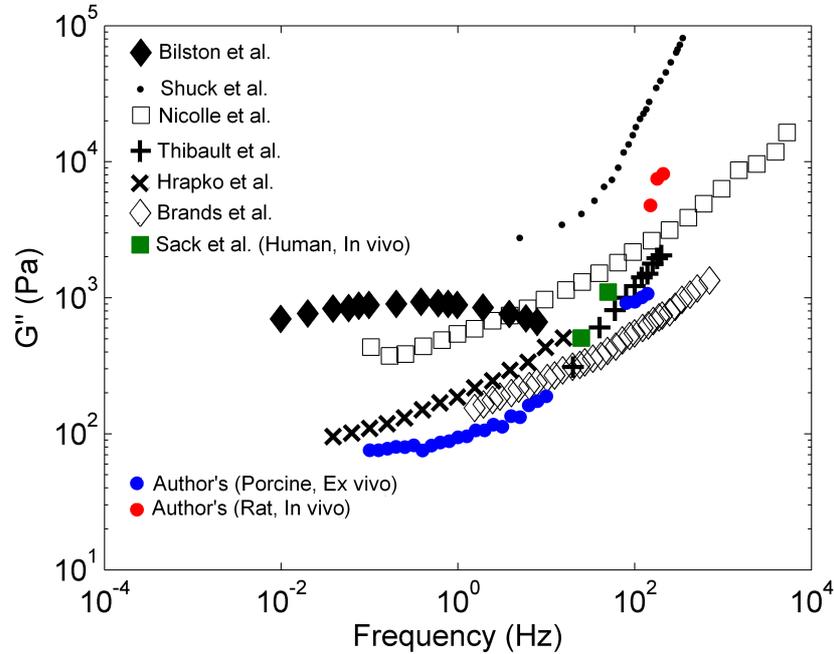


FIG. 4.10 – Comparaison des modules de perte de la matière cérébrale mesurés par ERM *in vivo* chez le rat et *in vitro* chez le porc avec les résultats de la littérature obtenus en rhéométrie (homme [120, 145], porc [21, 71, 120, 157], bovin [16]), et les résultats ERM *in vivo* chez l'homme [138]

réfrigération sans extraction chez le rat ; étourdissement avant saignée, extraction puis réfrigération chez le porc). De plus, les différences significatives trouvées entre les mesures des modules de cisaillement *in vivo* et H0 *post mortem* (G') ou H24 *post mortem* (G'') peuvent participer à cette différence. L'influence du mode d'euthanasie et des conditions de conservation *post mortem*) doit être évaluée lors de futures expérimentations.

4.5 Conclusion

Le protocole développé sur nos aimants IRM à 0,1T permet l'utilisation d'un dispositif simple de transmission de l'excitation mécanique. L'algorithme d'inversion d'onde permet l'obtention d'une cartographie des propriétés visco-élastiques des échantillons complexes. L'ensemble du protocole

développé a été validé par des mesures sur des gels homogènes et des échantillons de cerveau de porc *in vitro* et leur comparaison avec des mesures par rhéométrie rotationnelle. De plus, nous avons effectué une première étude comparant les propriétés mécaniques de la matière cérébrale *in vivo* et leur évolution *post mortem* chez le rat.

4.6 Perspectives

Les résultats obtenus demandent à être étayés par d'autres expériences afin d'étudier l'influence du mode d'euthanasie et de conservation *post mortem* sur l'évolution des modules de cisaillement.

Les modèles à éléments finis de la tête (utilisés pour l'amélioration de la sécurité des automobiles ou encore des casques) reposent actuellement sur les résultats d'expérimentations *ex vivo*. La caractérisation *in vivo* des propriétés de la matière cérébrale permettra d'implémenter des lois de comportement plus réalistes que celles élaborées à partir des expérimentation *ex vivo*.

Chapitre 5

Imagerie duale SPECT/IRM

5.1 Introduction

L'imagerie SPECT (cf. §1.3) offre la possibilité unique de suivre et de mesurer la bio-distribution de traceurs avec des concentrations de l'ordre de 10^{-9} molaire *in vivo* chez le petit animal [103]. L'absence de repères anatomiques de référence due à la distribution tissulaire spécifique des radio-pharmaceutiques constitue une limitation de l'imagerie SPECT. Le repérage anatomique des régions concentrant le radio-pharmaceutique est grandement facilitée par le recalage des données SPECT sur des données anatomiques CT ou IRM.

Ces dernières années, des modalités d'imagerie duales SPECT/CT ont été proposées par les industriels à la suite du succès des machines combinant TEP et CT. Cependant l'IRM présente des avantages certains en comparaison de l'imagerie CT, principalement l'absence de rayonnement ionisant et un contraste naturel des tissus mous.

Néanmoins, le champ magnétique principal nécessaire à l'IRM entre en interaction avec l'instrumentation nucléaire. Ces interactions physiques entre les deux modalités sont d'autant plus fortes que le champ magnétique est important. Or depuis les premières images réalisées chez le petit animal en utilisant un champ magnétique de 0,35T [46, 66, 67], le champ magnétique des IRM dédiées à l'imagerie du petit animal est en constante progression vers les hauts et très hauts champs magnétiques, afin d'obtenir

une haute résolution anatomique grâce à un rapport S/B intrinsèque plus élevé (cf. §B.4).

La plupart des rares expériences d'imagerie SPECT/IRM chez le petit animal ont été réalisées à des fins de démonstration par le recalage de données obtenues dans des appareils distincts, situés dans des pièces différentes [19, 141, 142, 144]. Cependant, le déplacement d'une machine à l'autre de l'animal anesthésié dans un support multimodalité équipé de marqueurs fiduciaires est une tâche longue et compliquée (cf. §1.4).

Des progrès significatifs ont cependant été réalisés pour le couplage de données de médecine nucléaire et d'IRM avec le développement coûteux d'inserts TEP compatibles IRM, placés dans l'aimant IRM de prototypes fonctionnant à 4,7T et à 7T [29, 99]. Une telle modalité d'imagerie duale SPECT/IRM pourrait être développée dans un futur proche sur le même principe, mais le coût de développement de ces inserts constituera un frein important à leur diffusion.

Afin de surmonter ces difficultés liées au haut champ magnétique de l'IRM, nous proposons une modalité duale d'imagerie SPECT/IRM séquentielle fondée sur l'utilisation d'un aimant IRM à bas champ magnétique. Le bas champ magnétique de l'IRM présente l'avantage d'éviter les interactions avec l'instrumentation SPECT, mais aussi les artefacts de susceptibilité en imagerie, tout en fournissant une résolution suffisante pour le recalage anatomique des données SPECT chez le petit animal. Ce chapitre décrit et discute notre expérience d'imagerie duale SPECT/IRM chez la souris avec une caméra SPECT simple pinhole située à côté et sur un même axe avec un aimant d'IRM dédiée à 0,1T.

5.2 Matériel et méthode

5.2.1 Prise en charge des animaux

Deux souris nude Swiss nu/nu pesant 25g sont anesthésiées à l'isoflurane (1-1,5% poussé par de l'air) dans la CTI souris (cf. §A) chauffée à 35°C.

L'utilisation de la CTI équipée de l'antenne RF émettrice/réceptrice permet un transfert immédiat de l'animal d'une modalité d'imagerie à l'autre. L'animal demeure dans la même position lors des deux acquisitions, ce qui permet d'éviter l'utilisation de marqueurs fiduciaires pour le recalage des données.

Une injection IP de 1mL à 0,1mmol d'acide gadotérique (Dotarem[®], Guerbet, France ; dilution 1:4 vol.) est effectuée pour obtenir un contraste IRM 5min avant l'injection IV du radio-pharmaceutique. L'acquisition SPECT a lieu directement après l'acquisition IRM.

Différents radio-pharmaceutiques sont utilisés afin de marquer différents organes et tissus des animaux. Les produits radio-pharmaceutiques sont injectés dans la veine de la queue avec des volumes de 0,2mL, 10min avant le début de l'acquisition IRM (soit environ 1h avant l'acquisition SPECT) avec des activités respectives de :

- 108MBq de ^{99m}Tc-albumine (Vasculocis[®], Cis-Bio International, IBA-IRE, France) pour la perfusion pulmonaire
- 98MBq de ^{99m}Tc-DMSA (Renosis[®], Cis-Bio International) pour la fonction tubulaire rénale
- 120MBq ^{99m}Tc-HMPAO (Ceretec[®], GE Healthcare, Little Chalfond, Royaume Unis) pour la perfusion cérébrale.

5.2.2 Imagerie SPECT et reconstruction des images

L'imagerie SPECT est effectuée en utilisant la gamma caméra dédiée simple pinhole (cf. §1.3, Gaede, Fribourg, Allemagne). Le diamètre du pinhole en tungstène choisi est de 1,5mm pour une distance focale de 12cm. Une fenêtre de 20% centrée sur le pic photo-électrique du ^{99m}Tc à 140keV est utilisée. Soixante projections de 1min, au format 128 × 128 et couvrant un arc de 180° sont obtenues avec un rayon de rotation de 4cm autour de la CTI. Les images sont reconstruites avec la méthode de reconstruction algébrique *cone-beam* (méthode dite EAR) développée au laboratoire [76]. Cette reconstruction prend en compte le rayon de rotation de la caméra et

permet d'atteindre une résolution isotrope de $1 \times 1 \times 1 \text{ mm}^3$ [77]. Le voxel reconstruit mesure $0,47 \times 0,47 \times 0,47 \text{ mm}^3$.

5.2.3 Imagerie IRM et antennes RF

L'IRM est obtenue dans l'aimant résistif à 0,1T (cf. §1.3.2). Le positionnement de l'animal entre les deux modalités d'imagerie ne doit pas être modifié, nous donc avons choisi de limiter au maximum les manipulations entre les deux modalités. L'animal est placé une fois pour toute dans l'antenne RF et y demeure lors des acquisitions dans les deux modalités (fig. 5.1). Or, le fil de cuivre constituant les antennes RF atténue et diffuse les rayons gamma lors de l'acquisition SPECT. L'antenne RF doit être conçue afin de créer une perturbation limitée mais surtout homogène sur la zone imagée. L'antenne RF émettrice/réceptrice solénoïdale est constituée d'un fil de cuivre fin de 0,7mm de diamètre enroulé en boucles adjacentes autour d'un tube en plastique fin (0,2mm d'épaisseur). Les capacités de ce circuit résonnant sont déportées à un centimètre en arrière du solénoïde afin de ne pas apparaître dans le champ de vue de l'acquisition SPECT. L'antenne est couplée au pré-amplificateur via une boucle d'accord glissée sur la bulle extérieure de la cellule (fig. 5.1).

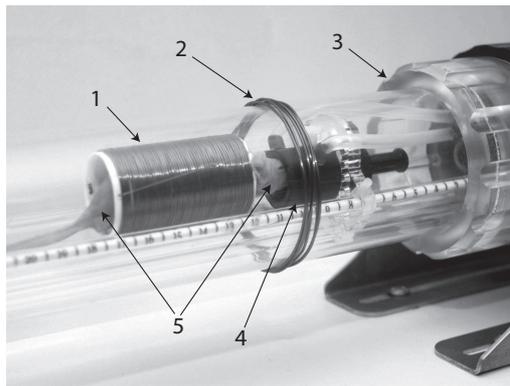


FIG. 5.1 – *Détail de la mise en place de l'animal dans la CTI : antenne RF émettrice/réceptrice (1), boucle d'accord (2) glissée sur la bulle d'isolation en perspex de la CTI (3), masque d'anesthésie (4), animal (5)*

Une séquence d'écho de gradient FAST (cf. §C) est utilisée pour obtenir des données reconstruites isotropes $0,5 \times 0,5 \times 0,5 \text{ mm}^3$ pondérées T1 en 42min : TE/TR 7/23ms, $\alpha=60^\circ$, matrice d'acquisition 128×64 ou 256×64 , 48 coupes acquises, Nex 36, FOV $64 \times 32 \text{ mm}^2$ ou $128 \times 32 \text{ mm}^2$, épaisseur totale 32mm.

5.2.4 Modalité d'imagerie combinée séquentielle SPECT/IRM

Les dimensions des deux imageurs (SPECT : 103cm de long, 80cm de large pour 140cm de hauteur ; IRM bas champ 72cm en longueur et en largeur pour 118cm de hauteur) permettent de les placer dans une même pièce. De plus la ligne des 5Gauss étant située à 15cm en dehors de l'IRM bas champ, la caméra SPECT est placée juste à côté de l'aimant sur un même axe, ainsi que l'ensemble d'anesthésie gazeuse, sans qu'aucune interaction ne soit observée entre eux (fig. 5.2). A la fin de l'acquisition IRM, la boucle d'accord est retirée et la CTI contenant l'animal et l'antenne RF est translaturée manuellement sur l'axe commun du centre de l'IRM à la caméra SPECT et fixée en moins d'une minute. Les images SPECT et IRM sont recalées avec le logiciel libre Amide [94] selon la correction de centrage établie sur un fantôme (voir §5.2.5). Le temps total d'acquisition SPECT/IRM, y compris la préparation de l'animal, sa mise en place et son transfert entre les deux imageurs, est de moins de 1h45 pour chacune des trois applications testées.

5.2.5 Fantôme de test

L'atténuation et la diffusion des rayons gamma provoquées par l'antenne RF et les parois du tube en plexiglas de la CTI sont mesurées pour deux isotopes sur les projections SPECT d'un tube rempli avec 37MBq d'une solution de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ et de ^{201}Tl respectivement. Des fenêtres de 20% centrée respectivement sur 140keV pour le $^{99\text{m}}\text{Tc}$, et 71keV et 167keV pour le ^{201}Tl sont utilisées.

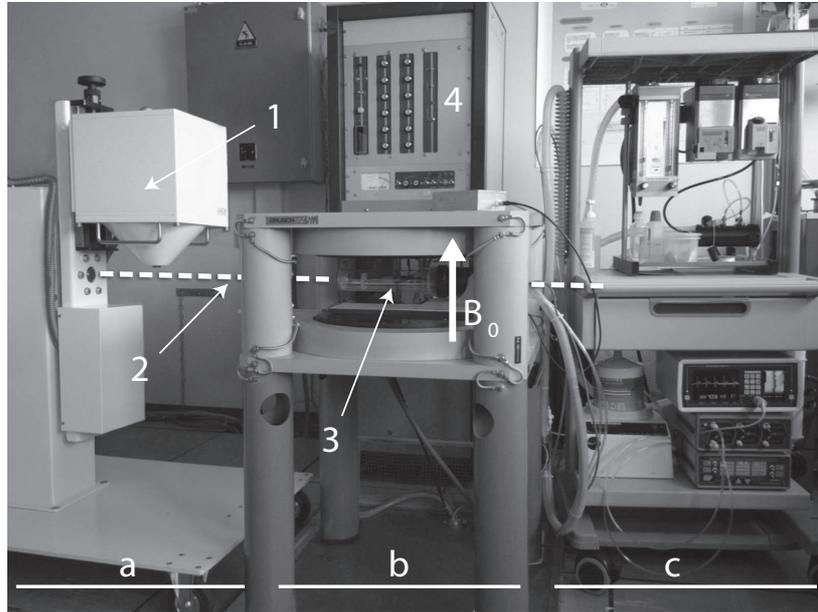


FIG. 5.2 – Vue d'ensemble de l'installation SPECT/IRM comprenant sur un même axe (2) la caméra μ SPECT (a), adjacente à l'IRM bas champ (b), et à l'ensemble d'anesthésie gazeuse (c). La CTI et l'animal (3) sont translatés de la caméra μ SPECT (1) à l'IRM. Au fond, alimentation de l'aimant IRM et des gradients (4)

Un second fantôme constitué de trois tubes de diamètres différents (décrit fig. 5.3(A)) permet de corriger l'erreur de centrage dans le recalage entre les données acquises selon les deux modalités SPECT et IRM. Le tube b est rempli avec 37MBq de $^{99m}\text{TcO}_4^{2-}$ (dilué dans du sérum physiologique) pour le SPECT, tandis que les deux autres tubes sont remplis d'eau (tube a) et d'eau dopée au CuSO_4^{2-} ($2\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, tube c) pour l'IRM. La séquence FAST est utilisée avec les paramètres suivants : TE/TR 8/100ms, $\alpha=80^\circ$, matrice 128×96 , 32 coupes, Nex 8, FOV $48 \times 48 \text{ mm}^2$, épaisseur 40mm, voxel reconstruit $0,375 \times 0,375 \times 1,25 \text{ mm}^3$, TA 41min. En SPECT, 32 projections de 1min, matrice 128×128 , sont acquises sur un arc de 180° avec un rayon de rotation de 4cm et le pinhole de diamètre 1,5mm.

Le recalage des données SPECT et IRM est effectué avec le logiciel Amide par des translations le long des axes x , y et z après identification d'éléments communs dans les deux jeux d'images. Les paramètres de cor-

rection des erreurs de centrage ainsi obtenus sont appliqués par la suite aux données acquises lors des expériences *in vivo*.

5.3 Résultats

5.3.1 Fantôme de test

La comparaison du nombre total de coups sur les projections SPECT sans et avec l'antenne RF et le tube de la CTI montre une atténuation relative de 9,7% pour le ^{99m}Tc et de 10,5% pour le ^{201}Tl (fig. 5.3(C)). Les 2mm d'épaisseur de l'enceinte de la CTI contribuent à hauteur de 5% à l'atténuation totale pour les deux isotopes. De plus, une diminution légère de l'effet Compton est observée sur les deux spectres, du ^{99m}Tc et du ^{201}Tl , par l'effet de l'antenne RF et de l'enceinte de la CTI (fig. 5.3(B)), mais sans incidence sur les fenêtres de comptage. Le recalage des images IRM et SPECT du fantôme constitué de trois tubes est illustré fig. 5.3(A).

5.3.2 Imagerie SPECT/IRM chez la souris

La figure 5.4 montre une sélection de coupes IRM pondérées T_1 de corps entier de souris qui permettent d'observer les structures anatomiques telles que les cavités cardiaques, la rate ou les vertèbres. Les rapport S/B mesurés dans les données corps entier (muscle) et tête (cerveau) sont respectivement de 22 et 25.

Les corrections déterminées sur les données acquises du fantôme contenant les 3 tubes sont appliquées aux images anatomiques SPECT/IRM de souris. Des repères anatomiques communs sont ensuite choisis pour chacune des acquisitions *in vivo* et une erreur de recalage moyenne de 0,9mm est mesurée à l'aide du logiciel Amide.

Les figures 5.5, 5.6 et 5.7 illustrent le recalage SPECT/IRM dans trois plans orthogonaux pour les différents radio-pharmaceutiques employés. La concordance des poumons, des reins et du cerveau obtenus en SPECT avec

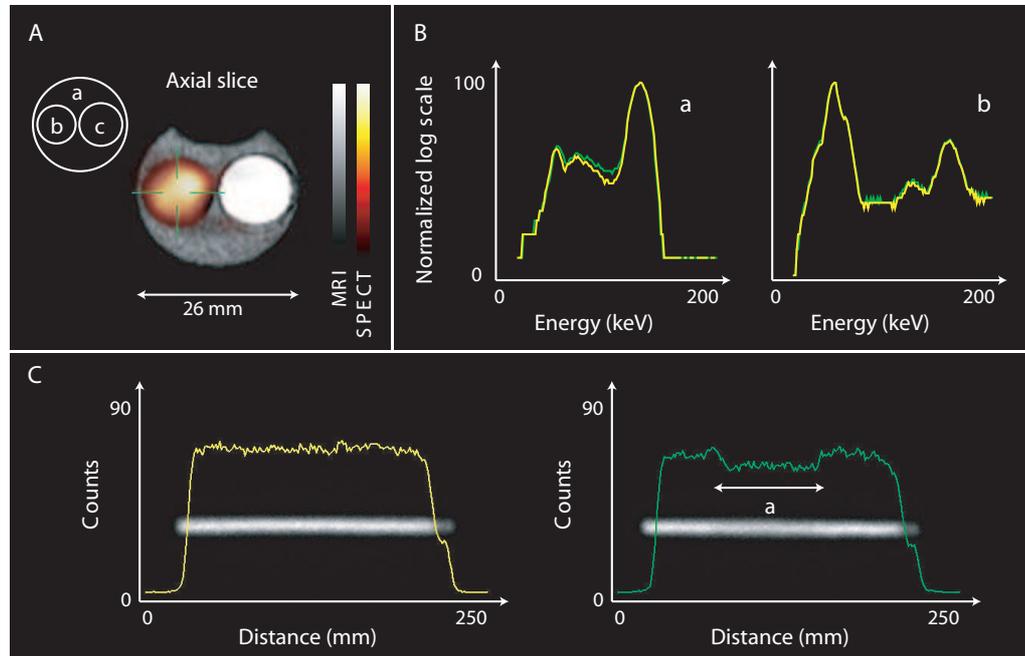


FIG. 5.3 – (A) Schéma représentant le fantôme constitué de trois tubes (a, b, c) remplis d'eau / Image recalée SPECT/IRM correspondante. Le tube (b) contient du $^{99m}\text{TcO}_4^{2-}$ dilué dans du sérum physiologique et le tube (c) est dopé au CuSO_4^{2-} . (B) Comparaison des spectres respectivement du ^{99m}Tc (a) et du ^{201}Tl (b) sans (courbe jaune) et avec (courbe verte) l'antenne RF et l'enceinte de la CTI. (C) Profil d'activité du tube rempli de $^{99m}\text{TcO}_4^{2-}$ seul (gauche) et placé dans l'antenne RF à l'intérieur de la CTI (droite). L'atténuation de 10% des rayons gamma due à l'antenne RF et à la CTI est clairement visible sur la zone (a)

les images anatomiques IRM de référence démontre la fonctionnalité de la modalité d'imagerie duale proposée.

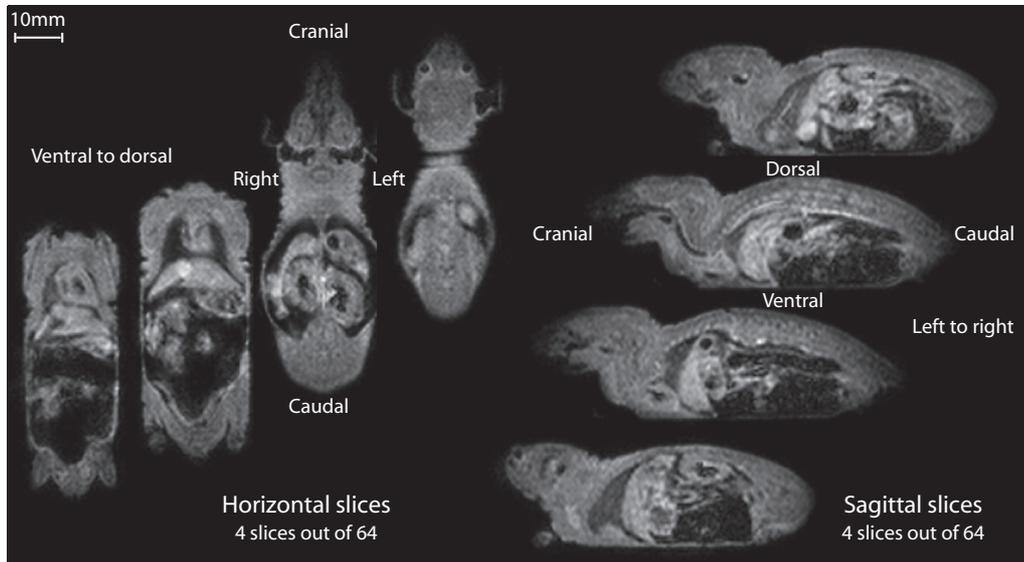


FIG. 5.4 – Coupes frontales et sagittales du corps entier de souris nude obtenues par IRM avec une antenne développée pour l'application SPECT/IRM

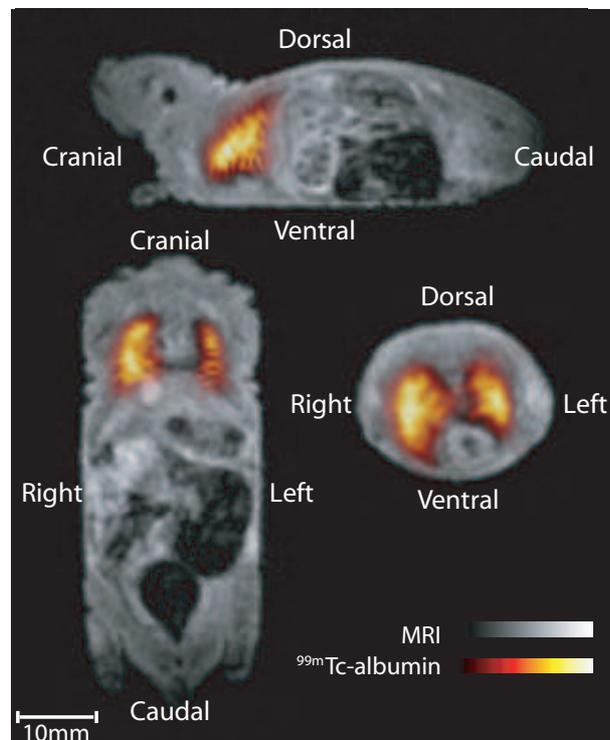


FIG. 5.5 – Coupes orthogonales recalées SPECT/IRM avec un radiopharmaceutique de la perfusion pulmonaire chez une souris nude normale

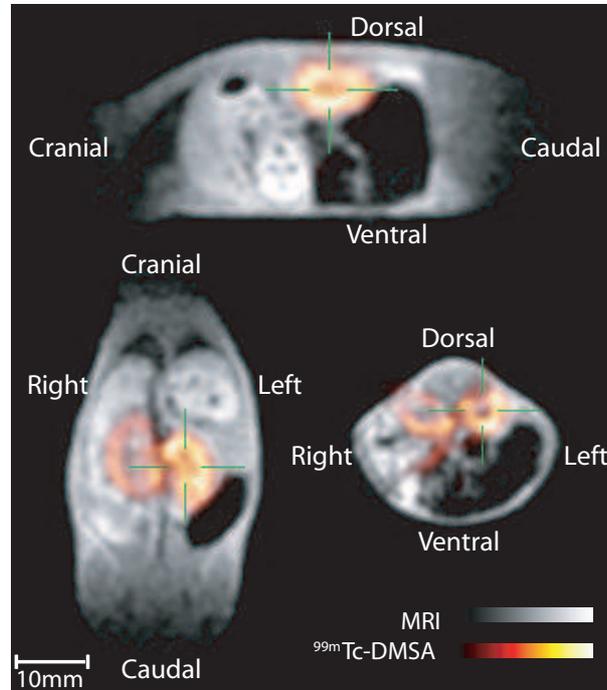


FIG. 5.6 – Coupes orthogonales recalées SPECT/IRM avec un radiopharmaceutique de la fonction rénale chez la souris nude normale

5.4 Discussion

5.4.1 Résolutions spatiales obtenues en SPECT et en IRM

L'imagerie pinhole SPECT est intrinsèquement une méthode d'imagerie 3D avec une résolution spatiale isotrope de l'ordre du millimètre chez les petits animaux actuellement [103]. Nous atteignons une résolution spatiale de 1mm avec une caméra SPECT simple pinhole et un voxel reconstruit mesurant $0,47 \times 0,47 \times 0,47 \text{ mm}^3$ [77]. Pour un recalage 3D optimal, il est donc recommandé d'utiliser des données IRM isotropes. Nous obtenons des voxels isotropes de 0,5mm de côté en IRM 0,1T. A titre de comparaison, une seule autre étude SPECT/IRM [144] a proposé un recalage avec des voxels isotropes chez la souris avec des machines différentes pour les deux modalités, les voxels mesurant 0,3mm de côté mais aucune information n'est

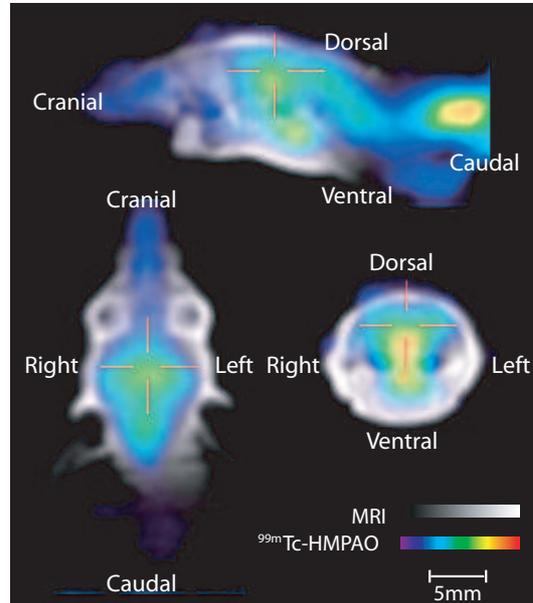


FIG. 5.7 – Coupes orthogonales recalées SPECT/IRM avec un radiopharmaceutique de la perfusion cérébrale chez la souris nude normale

donnée sur le champ de l'aimant d'IRM. Dans une autre étude utilisant le recalage d'informations TEP et IRM cette fois, des voxels isotropes de 0,8mm de côté couvrant le corps entier de souris ont été acquis à un champ magnétique de 4,7T [134] et recalés avec des données TEP acquises dans une machine indépendante.

Cependant la stratégie majoritaire en IRM consiste à effectuer des acquisitions 2D multi-coupes, plutôt que des séquences 3D isotropes dont les temps d'acquisition sont plus longs. Des résolutions dans le plan comprises entre 0,15mm et 0,25mm et une épaisseur de coupe comprise entre 0,7mm et 2mm sont obtenues en utilisant un aimant clinique à 1,5T pour la fusion d'informations SPECT/IRM de cerveau de rat (transporteurs dopaminergiques) [19, 141, 142]. Ces études s'appuyant sur des données non isotropes dans les deux modalités manquent de précision pour le recalage et la fusion des images. Les voxels IRM doivent être redimensionnés à la dimension isotrope des voxels SPECT. Même si la résolution dans le plan est améliorée, l'épaisseur de coupe des données IRM, plus élevée que la résolution dans le

plan, limite l'exploitation des données SPECT dans l'espace. Nos résultats montrent que la résolution isotrope obtenue en IRM à 0,1T est adaptée au recalage des données fonctionnelles SPECT avec les données IRM de référence.

Les mouvements physiologiques ne pouvant pas être systématiquement contrôlés (cf. §1.3), l'obtention en IRM d'une résolution dans le plan inférieure à 0,1mm semble irréaliste [97]. Les volumes des voxels acquis en SPECT, de l'ordre de 1 mm^3 à l'heure actuelle, rendent discutables le recalage et la fusion avec des données IRM dont le volume serait de l'ordre de $0,001\text{ mm}^3$. Le désavantage majeur de l'utilisation pour l'imagerie d'un aimant IRM à bas champ comparé à un aimant à haut champ est la réduction du rapport S/B, qui allonge la durée d'acquisition IRM. L'utilisation de gradients plus rapides et d'amplitude plus importante permettrait de diminuer la dimension des voxels mais aussi d'améliorer le rapport S/B en réduisant le TE. Les antennes RF supraconductrices ou refroidies permettraient elles aussi d'améliorer le rapport S/B mais leur utilisation *in vivo* est technologiquement difficile à développer.

5.4.2 Durées totales d'acquisition

La durée totale de notre protocole SPECT/IRM est inférieure à 1h45. L'utilisation de la CTI dans les deux modalités permet un transfert manuel entre les deux machines en environ 1min. La proximité directe des deux modalités sur un même axe rend une translation automatisée possible.

La durée de l'acquisition SPECT peut être optimisée grâce aux innovations technologiques actuelles, telles que les détecteurs multi-tête à cristaux NaI, les systèmes multi-pinhole ou les détecteurs à semi-conducteurs multiples, capables d'augmenter la sensibilité de la détection des rayons gamma [13, 83, 88, 143, 166].

La durée de nos acquisition IRM est similaire aux 43min réalisées pour la fusion d'images TEP/IRM corps entier de souris, avec des voxels isotropes à 4,7T [134]. Les acquisitions 2D multi-coupes sont évidemment plus rapides

(environ 15min à 1,5T par exemple [141, 142]), mais comme nous l'avons déjà développé, elles ne sont pas optimales pour la fusion avec les données SPECT à cause de leur anisotropie. De plus, les séquences IRM 3D ont un meilleur rapport S/B que les séquences 2D multi-coupes, et améliorent le rapport S/B des volumes de données acquises à 0,1T au prix d'un TA plus long [80].

5.4.3 Utilisation de la CTI pour l'imagerie séquentielle et la surveillance de l'animal

Le maintien de la position de l'animal pour les deux modalités d'imagerie est rendu possible par l'utilisation de la CTI, qui permet également un transport simple et rapide de l'animal anesthésié d'un imageur à l'autre. Le délais entre les deux acquisitions est ainsi minimisé. L'animal demeurant sous anesthésie et dans la même position du début à la fin de la procédure, l'absence de marqueurs fiduciaires n'est pas apparue critique pour le recalage des données SPECT/IRM. L'erreur moyenne de recalage calculée est de l'ordre de grandeur de la résolution spatiale de nos données SPECT, modalité la moins résolue. Cette erreur pourrait être diminuée par l'utilisation d'une matrice spatiale de transformation non-rigide utilisant des fantômes de grille et des marqueurs fiduciaires installés dans la CTI comme proposé par Chow et al. [33].

De plus, la CTI permet de recalibrer des données acquises lors de la même anesthésie, ce qui évite d'obtenir des réponses biologiques éventuellement différentes dues à une modification biologique ou à un changement de mode d'anesthésie entre deux acquisitions totalement indépendantes [165].

Un autre avantage spécifique de la combinaison SPECT pinhole et imageur IRM 0,1T ouvert est l'accessibilité qui facilite les manipulations dans les deux modalités, et rend possible le contrôle visuel permanent de l'animal lors de l'ensemble de la procédure d'imagerie.

5.4.4 Imagerie SPECT/IRM séquentielle ou simultanée

La fusion de données fonctionnelles nucléaires avec des données anatomiques IRM est souhaitée en imagerie moléculaire. L'utilisation d'imageur IRM à haut champ pour la conception d'un système dual simultané SPECT/IRM comporte de nombreuses contraintes techniques et économiques [165] en comparaison avec la configuration utilisée ici. L'emploi d'un aimant à bas champ magnétique et de la CTI que nous proposons présente l'avantage d'être adapté à l'intégration dans une modalité duale utilisant par exemple un rail co-axial intégré ou une approche modulaire avec fixation manuelle sur chaque imageur pour la combinaison séquentielle SPECT/IRM chez le petit animal [12]. Ainsi, le coût de revient total de ce dispositif techniquement simple à mettre en oeuvre est-il de l'ordre de 300k€ HT (somme des prix d'achat individuels de la caméra μ SPECT, du système IRM à 0,1T et de la CTI).

Des résultats récents montrent que des détecteurs à semi-conducteurs (CZT) qui peuvent être utilisés pour l'imagerie SPECT du petit animal, sont insensibles aux champs magnétique inférieurs ou égaux à 0,01T. Ces détecteurs ouvrent la voie à la conception d'un système dual simultané SPECT/IRM [165]. Cependant, l'imagerie simultanée n'est pas nécessaire pour la majorité des applications SPECT/IRM possibles.

5.5 Conclusion

Nous avons montré qu'un appareil dual hybride SPECT/IRM associant sur le même axe une gamma caméra pinhole SPECT et un petit imageur IRM à bas champ constitue une solution potentielle pour l'imagerie séquentielle SPECT/IRM chez le petit animal.

5.6 Perspectives

Cette modalité SPECT/IRM bas champ peut être utile en imagerie moléculaire préclinique en permettant de combiner des images fonctionnelles et anatomiques à un faible coût de développement, principalement lié à la plus grande souplesse d'utilisation d'un imageur à bas champ par rapport à un aimant à haut champ magnétique, mais aussi par l'absence de nécessité d'atteindre des résolutions spatiales très élevées en IRM du fait de celle de la caméra μ SPECT.

Chapitre 6

Applications d'imagerie des tissus mous par μ CT

Malgré les avantages indéniables de l'IRM dont l'absence de rayonnements ionisants et l'obtention de contrastes riches et naturels, l'IRM ne constitue pas l'outil unique de diagnostic par imagerie des tissus mous. L'imagerie par rayons X conserve notamment sa place en imagerie clinique. Ce chapitre montre qu'il en est de même chez le petit animal au travers de deux applications d'imagerie des tissus mous pour lesquelles le μ CT (cf. §1.3.3) avec produits de contraste est plus approprié que l'IRM. Le premier exemple consiste en la détection de malformations et de tumeurs de l'intestin chez la souris, tandis que la seconde problématique concerne la mesure de la surface péritonéale en contact avec la solution de dialyse lors de la dialyse péritonéale chez le rat.

6.1 Visualisation de malformations et de tumeurs de l'intestin chez la souris par μ CT

Ce travail est le fruit d'une collaboration avec une équipe de l'unité INSERM U682 constituée de MM. Freund et Calon et de Mme Domon-Dell.

6.1.1 Introduction

Ce travail vise à développer une méthode simple et sensible de détection *in vivo* des tumeurs colorectales induites chez la souris, dans le but de pouvoir effectuer un suivi de la croissance tumorale chez ses modèles de cancers. Étant donné qu'un certain nombre d'études consacrées aux cancers colorectaux sont focalisées sur le rôle de l'alimentation, le protocole d'imagerie doit éviter toute restriction, et dans la mesure du possible toute modification, du régime alimentaire.

Le protocole est mis au point sur des animaux présentant des malformations de l'intestin, puis appliqué à des animaux présentant des tumeurs colorectales induites.

6.1.2 Matériel et méthode

Animaux

Neuf souris Cdx2^{+/-} hétérozygotes sont utilisées pour la mise au point du protocole d'imagerie. Ces souris présentent d'une part des malformations de croissance du squelette et d'autre part des hétéropies non cancéreuses constituées de muqueuse gastrique situées dans le caecum [9]. Ces hétéropies non cancéreuses, ressemblant à des polypes cancéreux, sont utilisées pour la mise au point de la méthode de détection des cancers colorectaux par μ CT.

Le protocole développé est ensuite appliqué à 6 souris Cdx2 sauvages soumises à une injection intra-péritonéale de 10mg/kg d'azoxyméthane (AOM, Sigma, St Louis, Missouri, USA) une fois par semaine pendant 5 semaines. Ce traitement provoque le développement d'adénocarcinomes coliques [18].

Protocole d'imagerie μ CT

Les souris sont anesthésiées à l'isoflurane et de la morphine (1mg/kg) est injectée par voie sous-cutanée afin d'inhiber la mobilité intestinale [154].

Elles sont ensuite placées sur la plaque chauffante (37°C) de préparation des animaux afin de leur administrer deux produits de contraste :

- 1,5mL dilué à 1:5 de Iomeron 400 (Bracco, Milan, Italie) par voie intra-péritonéale
- Télébrix (Guerbet, Roissy CdG, France) dilué à 1:10 par voie rectale avec une canule (jusqu'au reflux par l'anus)

Pendant les 24h précédant l'examen, les granulés standards et l'eau sont retirés des cages des souris traitées AOM, qui sont alors nourries exclusivement et *ad libitum* avec un mélange de granulés standards et de poudre de BaSO₄ (Micropaque, Guerbet, Roissy CdG, France) diluée à 1:10 dans de l'eau afin de contraster les matières fécales.

Les dilutions des produits de contraste sont choisies afin de produire des atténuations différentes entre produit de contraste dans la cavité abdominale et dans les intestins.

Les souris sont ensuite placées dans la CTI chauffée et une acquisition μ CT (cf. §1.3.3, eXplore Locus, GE Healthcare, London, Canada) est effectuée avec les paramètres suivants : 400 projections avec des pixels acquis de 93 μ m \times 93 μ m, 360°, temps d'exposition 100ms, Nex 3, 80kVp, 450 μ A, TA 10min pour l'abdomen et 35min environ avec 3 positions de lit pour le corps entier (fig. 6.1A). Les voxels isotropes 93 μ m \times 93 μ m \times 93 μ m sont reconstruits et exploités avec le logiciel MicroView (GE Healthcare, London, Canada).

6.1.3 Résultats

Visualisation des malformations de l'intestin et du squelette de la souris Cdx2+/-

Les souris Cdx2+/- permettent la mise au point du protocole d'imagerie des tumeurs intestinales. La figure 6.1 montre l'effet de l'utilisation des produits de contraste. Utiliser sans produit de contraste, le μ CT permet de différencier seulement 4 types de structures : air, os, graisse et tissus mous (fig. 6.1B.a) ; ce n'est donc pas une méthode appropriée naturellement pour

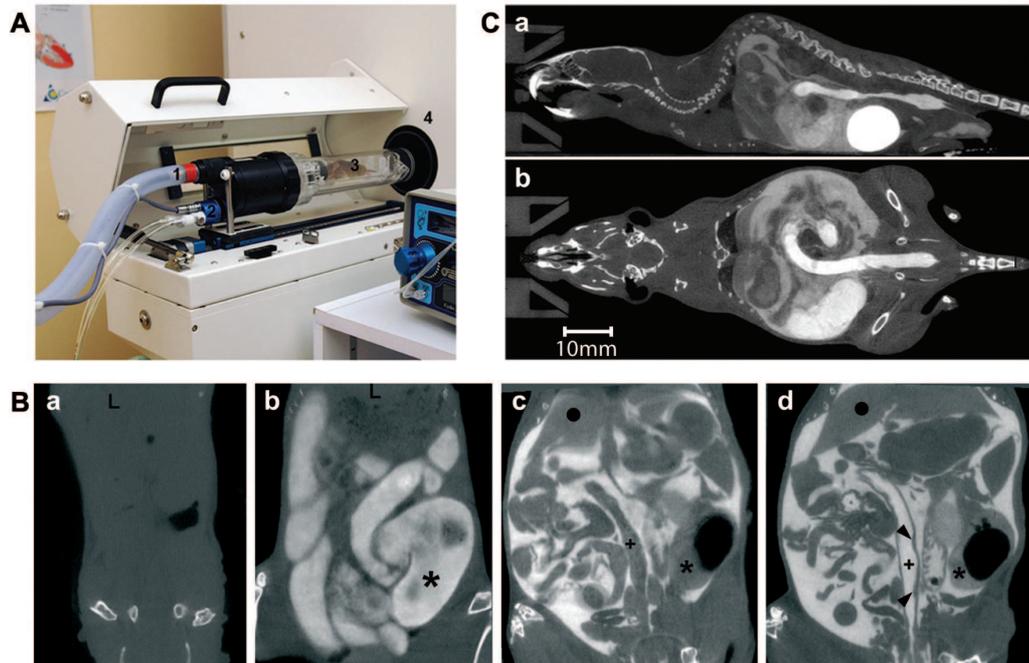


FIG. 6.1 – A. Mise en place dans le μ CT. B. Visualisation de la paroi intestinale grâce à l'utilisation des produits de contraste, coupes coronales obtenues : sans produit de contraste (a), avec administration de Tëlëbrix par voie intra-rectale (b), avec injection intra-péritonéale de Ioméron 400 (c), et avec la combinaison des deux produits de contraste (d). Lumières du colon (+) et du caecum (*). C. Coupes sagittale et coronale corps entier après administration des deux produits de contraste Tëlëbrix intra-rectal et Ioméron 400 intra-péritonéal

l'imagerie des tissus mous. L'ajout des produits de contraste intra-rectal (fig. 6.1B.b) et intra-péritonéal (fig. 6.1B.c) permet de visualiser la paroi intestinale du colon (ligne sombre) mais aussi des structures de petite tailles comme les plaques de Peyer (pointe de flèches) en négatif (fig. 6.1B.d).

L'épaisseur moyenne de la paroi intestinale comprise entre les produits de contraste dans la cavité péritonéale et dans le colon est mesurée à environ 200 μ m (fig. 6.2). Cette mesure est cohérente avec une estimation précédente par IRM (voxels 0,1mm \times 0,1mm \times 0,2mm) à environ 0,3mm [90]. Les plaques de Payer sont de petits épaissements locaux de la paroi intestinale, situés typiquement près de l'extrémité du caecum et dans le colon

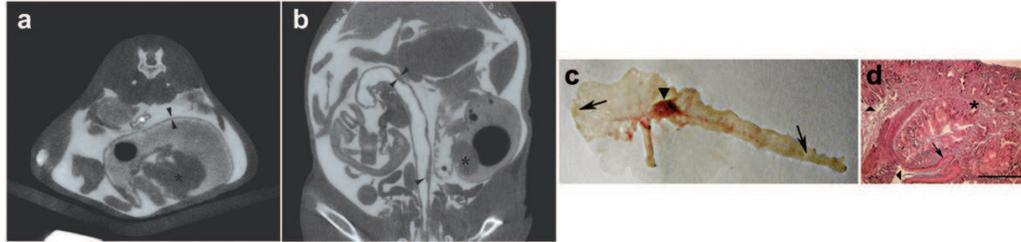


FIG. 6.2 – Visualisation des hétéroplasies non cancéreuses dans le caecum d'une souris $Cdx2+/-$ après injection intra-péritonéale de Ioméron 400 et administration intra-rectale de Télébrix (a et b). Paroi intestinale (flèches noires, épaisseur $200\mu\text{m}$), hétéroplasie dans le caecum (☆) et plaques de Payer (flèches). (c) Vue macroscopique du caecum et du colon : hétéroplasie (pointe de flèche) et plaques de Payer (flèches). (d) Coupe histologique de l'hétéroplasie colorée à l'hématoxyline-éosine : tissu gastrique (☆), épithélium squameux stratifié (flèche) et épithélium caecal normal adjacent à l'hétéroplasie (pointe de flèche)

distal. En μ CT elles apparaissent comme de petites élévations planes comparées à la paroi intestinale adjacente et montrent que des épaisissements aussi faibles que $400\mu\text{m}$ peuvent être détectés avec la méthode présentée (fig. 6.2). L'hétéroplasie de tissu gastrique est visible comme une protubérance dans le caecum (fig. 6.2).

De plus, les données corps entier acquises (fig. 6.1C) après l'administration des produits de contraste permettent l'étude des hétérotopies intestinales, mais aussi de la structure du squelette des animaux. Le scanner X est la méthode par excellence d'imagerie des structures osseuses car l'os présente un coefficient d'atténuation des rayons X important. Les données acquises pour la descriptions des hétérotopies intestinale peuvent donc être également utilisées pour visualiser facilement les malformations osseuses des animaux $Cdx2+/-$ (décrites en détail sur la fig. 6.3).

Sans imagerie par rayons X, l'analyse de ces malformations demande le sacrifice des animaux et une longue préparation des squelettes [9]. Toutes les anomalies décrites dans l'article de phénotypage de la souris $Cdx2+/-$ [9] sont identifiées facilement en μ CT. De plus, l'imagerie *in vivo* par μ CT permet d'effectuer un suivi de l'évolution de ces malformations. L'utilisation

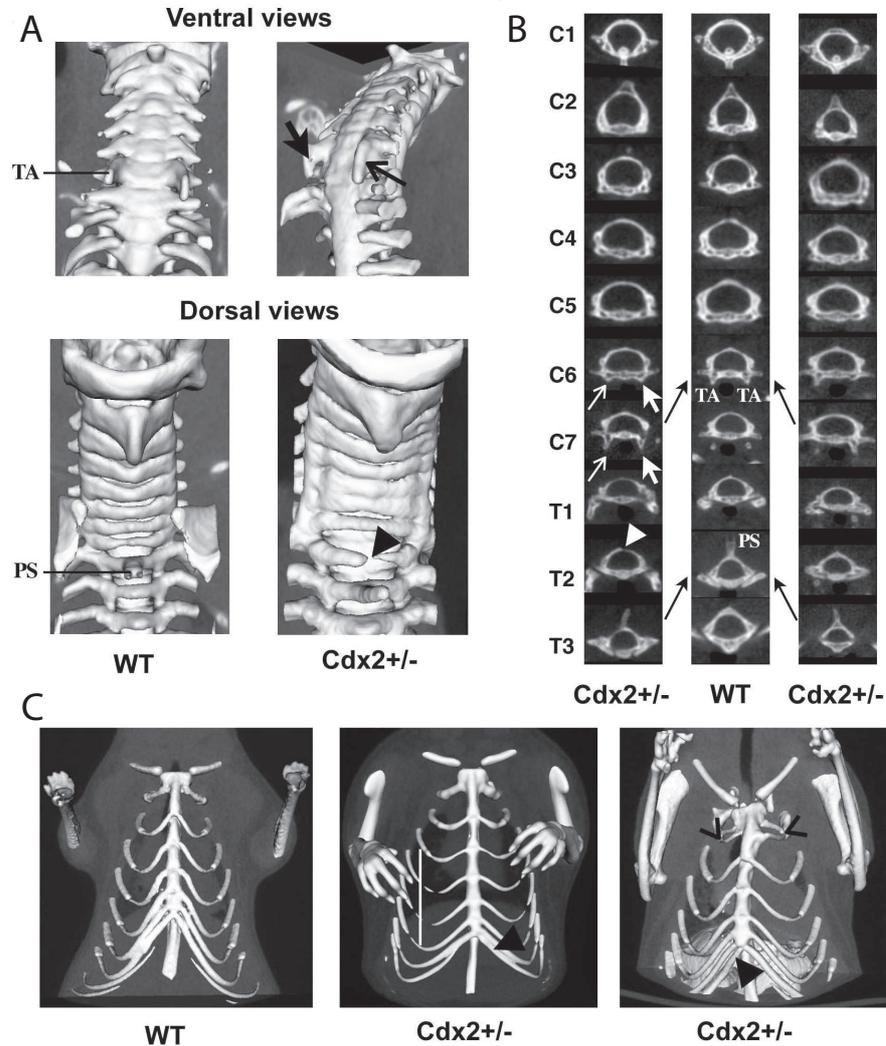


FIG. 6.3 – Détection par μ CT des malformations osseuses des souris $Cdx2+/-$. A. Reconstruction 3D de la partie supérieure de la colonne vertébrale; vue ventrale : tubercules antérieurs (TA) présents dans la vertèbre cervicale C6 chez la souris sauvage et leur extension à C7 chez la $Cdx2+/-$; vue dorsale : processus épineux (PS) de la vertèbre thoracique T2 chez la souris sauvage, absente chez la $Cdx2+/-$ et parfois associée à une fusion incomplète de l'arc dorsal. B. Sections virtuelles des vertèbres C1 à T3 (deux souris $Cdx2+/-$ et une sauvage) : décalage homéotique antérieur (flèche noire) et présence du TA sur C6 et C7 chez les $Cdx2+/-$. C. Reconstruction 3D de la cage thoracique : côte surnuméraire (flèche noire) et/ou fusion de la première paire de côtes (pointe de flèche ouverte) chez les $Cdx2+/-$.

du μ CT offre ainsi la possibilité d'effectuer un phénotypage chez certains modèles animaux par une analyse des structures osseuses et de certaines structures molles en combinant une acquisition corps entier avec l'utilisation de produits de contraste.

Détection de tumeurs intestinales chez la souris

L'utilisation du μ CT avec plusieurs produits de contraste étant adaptée à la visualisation de malformations ressemblant à des polypes, nous l'utilisons chez les animaux traités AOM.

Afin d'éviter toute restriction alimentaire, les souris sont nourries avec un mélange de granulés et de BaSO_4 pour contraster les matières fécales. Ainsi, les selles apparaissent contrastées et ne peuvent pas être confondues avec les polypes qui forment des structures sombres connectées à la paroi intestinale (fig. 6.4a et b). Au total, 11 tumeurs sont détectées par μ CT chez les 6 souris analysées avec la confirmation par examen macroscopique *post mortem* qu'aucune tumeur induite n'a échappé à l'examen μ CT. L'analyse histologique a également confirmé la présence et la nature cancéreuse des polypes (fig. 6.4c et d).

Le développement de tumeurs chez la souris est un processus long pendant lequel cette méthode peut être utilisée pour le contrôle de la croissance tumorale. Grâce à l'utilisation d'anesthésie gazeuse en dose limitée et de la CTI chauffée, nous avons effectué jusqu'à 5 examens chez le même individu prouvant que celui-ci peut être répété de façon régulière. Dans ce cas, la dose ionisante reçue devra être considérée mais le protocole mis en place est assez ressemblant à un protocole décrit dans la littérature [121] pour lequel une irradiation faible a été mesurée.

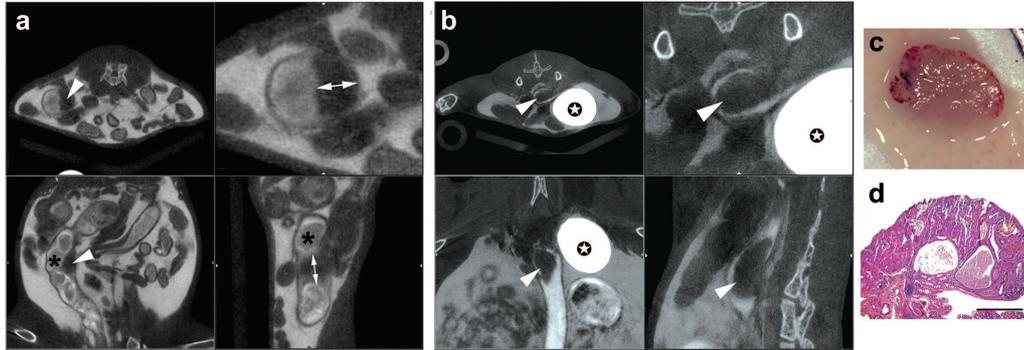


FIG. 6.4 – Visualisation des tumeurs du colon induites chez deux souris traitées AOM après injection intra-péritonéale de Ioméron 400, administration intra-rectale de Télébrix et consommation de granulés contenant du BaSO_4 (a et b); ligne supérieure : coupes axiales (image zoomée à droite); ligne inférieure : coupes coronales et sagittales. Polypes présents dans la lumière (pointe de flèche blanche) clairement distincts des selles (*). Produits de contraste accumulés dans la vessie (étoile). Vue macroscopique (c) et coupe histologique (d) d'un polype du colon détecté sur les coupes de (b)

6.1.4 Discussion

Visualisation des malformations de l'intestin et du squelette de la souris $\text{Cdx2}^{+/-}$

Détection de tumeurs intestinales chez la souris

L'imagerie de tumeurs intestinales par IRM à 7T a été rapportée avec des voxels de $100\mu\text{m} \times 133\mu\text{m} \times 133\mu\text{m}$ mais ne fournit pas une visualisation satisfaisante de la paroi intestinale malgré la résolution atteinte. Cette méthode nécessite l'introduction d'un tube fin (diamètre externe de 0,6mm) dans le colon. Plusieurs lavements sont effectués sur 3h à 4h d'anesthésie afin d'éliminer les selles et de pouvoir insérer le tube dans l'ensemble du colon (5 à 6cm). Le tube est ensuite rempli du solution de Gd-DTPA et sert de marqueur du colon pour le positionnement des plans de coupes. Une injection intra-musculaire de Gd-DTPA est également effectuée. Cette méthode est très invasive et l'insertion du tube de marquage du colon constitue un risque de lésion mécanique de la paroi intestinale.

La coloscopie par fibre optique présente le même risque de lésion de la paroi intestinale et l'exploration est de plus limitée au colon [10, 11].

Une méthode utilisant le μ CT et une modification de l'alimentation vers un régime basse énergie pendant 2 jours ainsi qu'un lavement à l'huile de maïs a été proposée, mais la modification de l'alimentation pendant plusieurs jours est discutable lors d'études nutritionnelles liées aux cancers colorectaux [128]. De plus l'absence de produit de contraste dans la cavité péritonéale ne permet pas la visualisation de la paroi intestinale et peut contribuer à confondre une tumeur avec une structure normale de la paroi intestinale. Enfin, les images obtenues ne sont pas démonstratives car présentant un flou et une absence de contraste clair des tumeurs.

La méthode proposée dans ce travail ne nécessite pas de modification drastique du régime alimentaire, et le BaSO_4 peut faire partie de l'alimentation administrées tout au long de l'expérience. Il est pour cela possible de faire appel à une société fabriquant des granulés de composition définie à la demande (Research Diets, New Brunswick, NJ, USA).

6.1.5 Conclusion et perspectives

Cette méthodologie s'appuyant sur l'utilisation du μ CT et de plusieurs produits de contraste est simple, sensible et non-invasive. Elle fournit une démarcation claire des tumeurs *in vivo* et peut être répétée pour un suivi longitudinal de cancers colorectaux.

De plus, l'utilisation du μ CT avec produits de contraste permet d'étudier à partir d'un jeu de données unique les malformations osseuses et certaines structures molles. Une seule acquisition, donc une seule anesthésie, est alors nécessaire ce qui est favorable lors d'une étude longitudinale qui sera répétée régulièrement.

6.2 Mesure par μ CT de la surface péritonéale recrutée pendant la dialyse péritonéale chez le rat

Ce travail résulte d'une collaboration avec Mlle Bergua et M. le Pr. Fischbach, chef du service de pédiatrie I, néphrologie, hôpital de Hautepierre, Strasbourg, avec la participation de Mme Barthelmebs et M. Helwig, INSERM EMI-U0015.

6.2.1 Introduction

La dialyse péritonéale est utilisée chez les patients insuffisants rénaux afin de pallier la déficience définitive ou transitoire de la fonction rénale. Elle consiste à infuser environ 2L d'une solution de dialyse péritonéale (appelée dialysat) dans le péritoine afin de profiter des échanges avec le sang qui sont très importants au niveau de la membrane péritonéale. Le dialysat est laissé en place entre 3h et 4h avant d'être purgé, et la dialyse est répétée plusieurs fois par semaine. En pratique clinique, le volume infusé est choisi comme étant le volume maximal bien toléré par le patient (entre 1,5L et 3L).

De nombreux phénomènes biologiques restent inaccessibles à une mesure de référence, un *gold standard*, parce qu'ils ne sont observables qu'*in vivo* (mesures de la perfusion cérébrale ou cardiaque par exemple). Il est commun cependant de penser que les mesures d'organes ou de tissus (longueurs, volumes, surfaces) sont facilement effectuées *in vivo*. La question à laquelle nous avons été confrontés est la mesure de la surface du péritoine en contact avec la solution de dialyse lors de la dialyse péritonéale. La surface recrutée de ce tissu extensible est importante à connaître pour comprendre les échanges qui ont lieu lors de la dialyse péritonéale, car l'efficacité de celle-ci y est directement liée. A notre connaissance, aucune méthode reproductible n'a été décrite tant chez l'homme que chez l'animal qui permette de mesurer cette surface et non de la calculer à partir de mesures partielles *in vivo* ou *ex vivo*. La référence jusqu'alors communément admise pour la surface périto-

néale totale, repose sur une mesure *ex vivo*, contestable car il est bien connu que les dimensions d'un tissu *ex vivo* et *in vivo* sont différentes, et parce qu'il est impossible de prendre en compte les variations de cette surface lors du remplissage de l'abdomen par la solution de dialyse. Le développement d'une méthode de mesure *in vivo* chez l'animal rend donc possible l'objectivation des modifications de la surface péritonéale recrutée (SPR) en fonction du volume ou de la composition du dialysat par exemple, et vise à rendre l'opération plus efficace et par suite plus supportable notamment chez les jeunes enfants chez lesquels elle est pratiquée.

Cette mesure doit être rapide car le volume de dialysat évolue au cours de la dialyse péritonéale, et la résolution atteinte doit permettre une description précise de la surface péritonéale. Nous développons une méthode d'imagerie *in vivo* de la SPR chez le rat en utilisant l'imagerie par μ CT. Avec cette méthode, nous étudions l'influence du volume infusé sur la SPR.

6.2.2 Matériel et méthode

Imagerie μ CT

Les images rayons X 3D sont acquises avec le μ CT (cf. §1.3.3, eXplore Locus, GE Healthcare, London, Canada). Le protocole d'imagerie est le plus rapide disponible avec cet appareil : 200 projections avec des pixels acquis de $93\mu\text{m} \times 93\mu\text{m}$, 200° , temps d'exposition 90ms, Nex 1, 80kVp, 450 μ A, 4 positions de lit pour couvrir la totalité de l'abdomen, TA 13min. Les volumes 3D sont reconstruits avec une taille de voxel de $186\mu\text{m} \times 186\mu\text{m} \times 186\mu\text{m}$, c'est-à-dire en dégradant la résolution effectivement acquise, afin que la taille du fichier reconstruit permette son exploitation informatique, ce qui a également pour effet d'améliorer le rapport S/B. Le volume du voxel reconstruit représente moins de 7.10^{-3}mm^3 .

Fantôme de test

La méthode est validée par l'estimation de la surface externe d'une tubulure en plastique (fantôme CT-1, longueur 150cm et diamètre externe 4,1mm conduisant à une surface externe de 193,5cm²). La tubulure est enroulée en forme de « 8 » (fig. 6.7) afin d'évaluer la performance intrinsèque de la méthode de détermination de surface d'un objet complexe. Un second fantôme vise à étudier l'influence du contraste sur la mesure de la surface du volume d'intérêt. Le tube en plastique (fantôme CT-2, longueur 5,75cm et diamètre interne 2,25cm conduisant à une surface interne de 48,7cm²) est rempli d'une dilution (de 0 à 1:4 en volume) d'un agent de contraste iodé (Visipaque, 320mg I/mL, GE Healthcare, Carrigtohill, Irlande) dans de l'eau. La densité X du tube en plastique est proche de celle de l'eau et la concentration de l'agent de contraste va influencer la qualité de la mesure de la surface interne du tube en contact avec la solution.

Animaux

Vingt six rats normaux de souche Wistar ayant des poids de 235g à 470g sont utilisés. Les rats sont anesthésiés à 2% d'isoflurane poussé par de l'air afin de subir une infusion intra-péritonéale de solution de dialyse péritonéale (CAPD, lactate, 1,36% glucose, Fresenius Medical Care, Bad Homburg, Allemagne). Le volume infusé dépend linéairement du poids des rats : 5mL/100g (8 rats, groupe 1), 10mL/100g (8 rats, groupe 2), 15mL/100g (10 rat, groupe 3). Un agent de contraste iodé non ionique (Visipaque, 320mg I/mL, GE Healthcare, Carrigtohill, Irlande) est ajouté à 10% en volume dans le dialysat afin de créer un contraste entre les tissus mous et la solution. La SPR est assimilée à la surface externe du dialysat qui est mesurée. La solution est chauffée à 37°C juste avant l'infusion intra-péritonéale. L'abdomen du rat est rasé et un cathéter introduit dans le péritoine (fig. 6.5). L'infusion intra-péritonéale dure moins de 5min et utilise la gravité. Les rats anesthésiés sont placés dans la CTI (modèle rat) juste après l'infusion et installés dans le μ CT.



(a) Infusion intra-péritonéale via un cathéter



(b) Mise en place dans le μ CT

FIG. 6.5 – Préparation des rats

Contrôle du volume de dialysat intra-péritonéal

Chez 5 rats, une concentration initiale de $3\mu\text{g.mL}^{-1}$ d'albumine isocyanate fluorescente (FITC-albumin, Sigma, St Louis, Missouri, USA) est ajoutée au dialysat comme marqueur du volume intra-péritonéal. Un échantillon de 1mL est prélevé directement après l'acquisition et congelé. La fluorescence est mesurée avec un fluorimètre Perkin-Elmer 1420 afin de contrôler l'évolution du volume de dialysat pendant la procédure.

Détermination de la surface péritonéale recrutée

Les volumes 3D reconstruits (fig. 6.6(1)) sont analysés avec le logiciel eXplore MicroView (GE Healthcare, London, Canada). Pour les expériences de validation, le volume d'intérêt radio-opaque (fantôme CT-1 ou contenu du fantôme CT-2) est sélectionné par application d'un seuillage aux données CT. La condition de seuillage est déterminée afin que la sélection réalisée ait le même volume que l'objet d'intérêt. Pour le fantôme CT-1, la sélection est immédiate puisque la tubulure est l'unique objet. Pour la solution à l'intérieur du fantôme CT-2, l'agent de contraste iodé atténue les rayons X et crée un contraste entre le tube et la solution qui permet la sélection du volume de solution ($22,9\text{cm}^3$). La surface du volume d'intérêt est générée

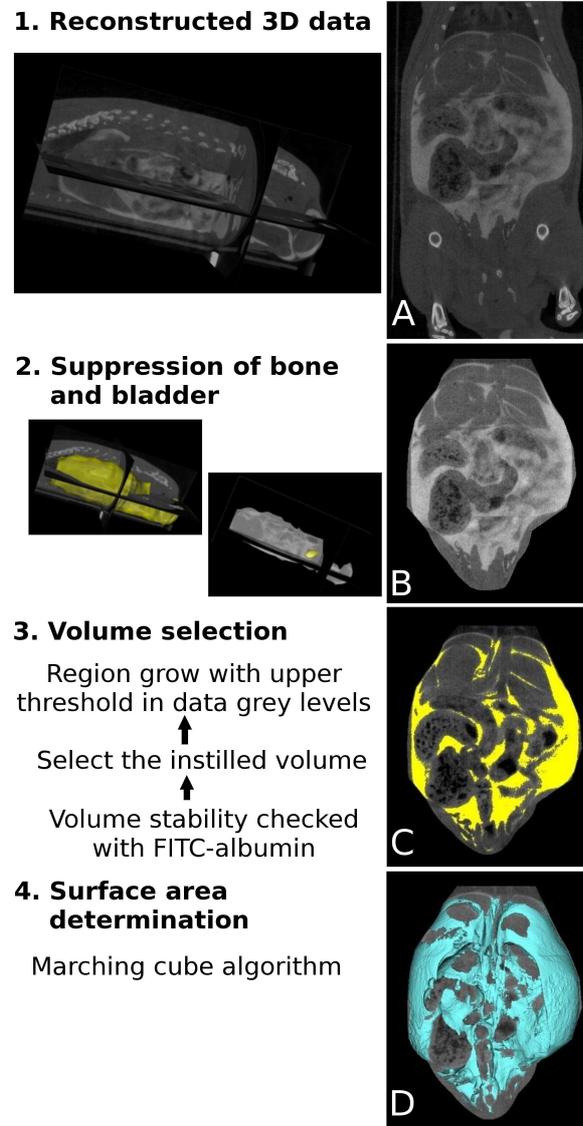


FIG. 6.6 – Étapes de détermination de la surface péritonéale recrutée. 1. Volume 3D reconstruit, 2. Élimination des os et de la vessie; 3. Sélection du volume de dialysat; 4. Détermination de la SPR

avec un algorithme dit du *marching cube* [96] qui calcule une estimation de la surface.

Pour les expériences *in vivo*, l'os est naturellement radio-opaque en μ CT, de la même façon que le dialysat contenant l'agent de contraste iodé. Lorsque

l'os est situé près de la cavité péritonéale, comme les côtes, il peut être pris en compte dans le volume d'intérêt sélectionné. Afin de supprimer les os, la cavité péritonéale est sélectionnée. Le contour est tracé manuellement sur environ 15 coupes régulièrement espacées le long du volume avec comme seule contrainte d'exclure les os de la sélection. Les sélections sont extrapolées à l'ensemble du volume et les données extérieures sont supprimées (fig. 6.6(2)). La vessie contient du produit de contraste absorbé qui a été éliminé par voie rénale, elle doit donc être supprimée de la même façon. Comme décrit au paragraphe précédent, un seuillage permet la sélection du volume intra-péritonéal (fig. 6.6(3)). Le volume de dialysat est utilisé comme référence pour cette sélection, en formulant l'hypothèse (à vérifier avec la FITC-albumine) que le volume infusé demeure constant entre son infusion et la fin de l'acquisition. La surface du dialysat est générée, produisant une mesure de la surface péritonéale en contact avec la solution de dialyse (fig. 6.6(4)).

Analyse des résultats

Le rapport SPR sur poids permet de comparer les résultats des trois groupes. Le test-t de Student est utilisé pour juger des différences significatives.

6.2.3 Résultats

Surfaces des fantômes

La surface du fantôme CT-1 générée après sélection est présentée fig. 6.7(A). La surface mesurée est de $203,8\text{cm}^2$, soit une différence de 5% avec la surface calculée connaissant la géométrie de l'objet de $193,5\text{cm}^2$. La coupe axiale du fantôme CT-2 (fig. 6.7(B)) montre le contraste entre le tube en plastique et une solution contenant 10% en volume d'agent de contraste.

La surface mesurée pour la solution est représentée en fonction de la dilution d'agent de contraste (fig. 6.8). Comme attendu, le contraste entre

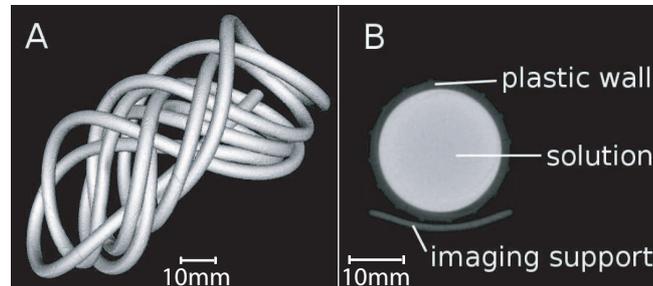


FIG. 6.7 – *Fantômes de test. (A) Surface du prolongateur et (B) coupe axiale du tube*

la solution et le tube en plastique augmente avec la concentration en agent de contraste. Sans agent de contraste, l'eau et le tube ont des coefficients d'atténuation des rayons X proches. Dans ce cas, la sélection est difficile et la surface du volume sélectionné est accidentée. Le relief résultant du manque de contraste produit une sur-évaluation importante. Cette sur-évaluation diminue lorsque la concentration en agent de contraste augmente. Même avec un contraste fort, la surface calculée demeure supérieure à la surface déterminée connaissant la géométrie macroscopique du tube. La surface moyenne mesurée est de $52,01 \pm 0,25 \text{ cm}^2$ sur le plateau final (8 valeurs de dilutions vol. de 1:12 à 1:4), soit 7% supérieure à la surface géométriquement déterminée de $48,6 \text{ cm}^2$. Étant donné qu'une dilution à 10% vol. permet de sélectionner aisément le volume d'intérêt, cette dilution est choisie pour les expériences *in vivo*.

Évaluation *in vivo* de la surface péritonéale recrutée chez le rat

Conformément à l'expérience menée sur la fantôme CT-1, une dilution de l'agent de contraste à 10% vol. produit un contraste CT suffisant pour distinguer le dialysat des tissus mous situés dans la cavité intra-péritonéale (fig. 6.6(A)).

Chez le rat normal, il n'y a pas de différence significative ($p > 0,1$) entre le volume infusé initialement et le volume déterminé avec la FITC-albumine dans le dialysat prélevé après l'acquisition μ CT. Pendant les 30min de pro-

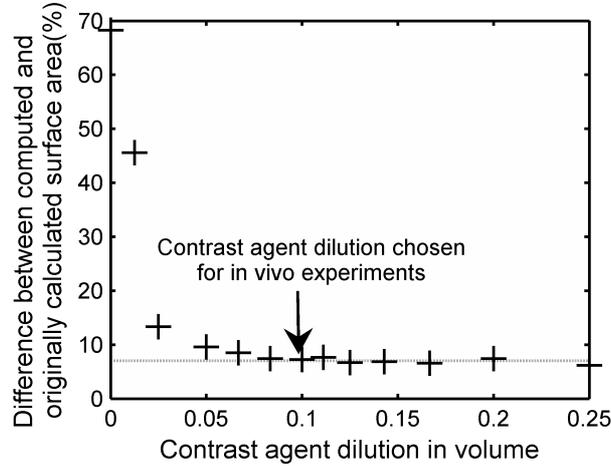


FIG. 6.8 – Erreur de calcul de la surface du fantôme tube en fonction de la concentration en Visipaque

cédure qui suivent l’infusion, le volume de dialysat demeure constant chez le rat normal.

Sur les données acquises au μ CT, l’évolution de la surface recrutée en fonction du volume infusé est visible (fig. 6.9). A volume infusé constant (5mL/100g, 10mL/100g ou 15mL/100g), nous trouvons une relation linéaire entre la surface recrutée et le poids de l’animal, c’est pourquoi nous rapportons la SPR au poids pour obtenir un coefficient invariant. Les boîtes à moustaches représentant la SPR rapportée au poids en fonction du volume infusé sont représentées fig. 6.10.

Dans deux groupes de trois animaux pesant respectivement 246 ± 12 g et 354 ± 10 g avec un volume infusé de 10mL/100g, nous observons une variabilité inter-individuelle de 8% dans la SPR mesurée avec notre méthode *in vivo* (respectivement 433 ± 31 cm² et 622 ± 48 cm²).

Les boîtes à moustaches représentant la SPR rapportée au poids du rat en fonction du volume infusé (fig. 6.10) ne présentent pas de valeur aberrante, la moyenne et la médiane sont proches et centrées dans la boîte ce qui confirme le caractère gaussien des distributions. Nous observons un recrutement de surface péritonéale croissant avec l’augmentation du volume de remplissage. Le ratio SPR/poids augmente de 55% entre 5mL/100g et

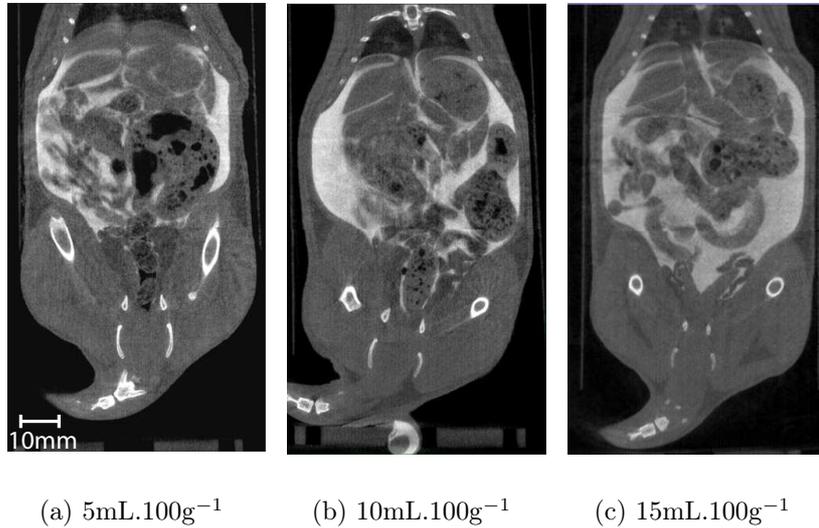


FIG. 6.9 – Coupes coronales au niveau du thorax et de l'abdomen acquises *in vivo* chez trois rats différents en fonction du volume de solution de dialyse péritonéale infusé

10mL/100g (différence significative, $p < 0,0005$). Ce même ratio augmente de façon significative ($p < 0,0005$) de 25% entre 10mL/100g et 15mL/100g, ce qui représente une agmentation totale de 90% entre 5mL/100g et 15mL/100g. L'augmentation de la SPR/poids en fonction du volume infusé suit un courbe logarithmique ($R^2=0,94$) dans la gamme de poids allant de 235g à 470g chez le rat.

6.2.4 Discussion

Fantômes de validation

Les surfaces des deux fantômes sont déterminées avec 5% et 7% de différence par rapport aux surfaces calculées géométriquement. Ce test prouve la capacité de la méthode d'imagerie et de traitement des données à déterminer la surface d'objet même à géométrie complexe.

Le fantôme CT-2 permet plus spécifiquement d'étudier l'influence du contraste sur la qualité de la sélection du volume d'intérêt. Le contraste

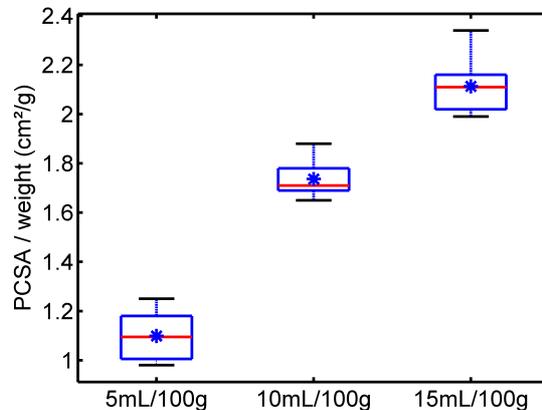


FIG. 6.10 – Boîtes à moustaches représentant la surface péritonéale recrutée (PCSA) rapportée au poids de l'animal en fonction du volume de remplissage

dirige la sélection du volume par seuillage des densités CT, exprimées en unité Hounsfield (HU). La qualité de la surface sélectionnée dépend de ce seuillage et affecte l'évaluation de la surface réelle. Le tube en plastique présente un coefficient d'atténuation proche de celui de l'eau. Sans agent de contraste, le faible contraste rayon X entre l'eau et le plastique rend la sélection du volume d'intérêt très imprécise. L'influence sur la détermination de surface est très importante car chaque aspérité augmente la surface calculée. L'augmentation de la concentration en agent de contraste améliore la qualité de la sélection du volume d'intérêt et de la surface mesurée. Sur le plateau final (8 valeurs de dilution de 1:12 à 1:4 vol.), la surface mesurée présente un coefficient de variation inférieur à 0,5% ($51,98 \pm 0,25 \text{cm}^2$) prouvant la reproductibilité de la méthode.

La surévaluation observée pour les fantômes est en accord avec la sur-estimation rapportée pour l'algorithme *marching cube* [49]. Flin et al. [49] obtiennent une sur-estimation comprise entre 5% et 15% pour différentes géométrie d'objets test 3D. L'algorithme *marching cube* prend en compte toutes les données disponibles pour décrire la surface. Il produit donc une bonne évaluation des surfaces complexes, mais est en retour sensible aux effets d'échantillonnage qui augmentent la surface estimée. Le but de cette étude étant de déterminer le recrutement des structures fines de la mem-

brane péritonéale, cet algorithme qui utilise l'ensemble des données 3D disponibles est préféré à la méthode stéréologique qui adoucit les contours [74].

Comparaison de la surface péritonéale recrutée mesurée *in vivo* par μ CT et de la surface péritonéale totale mesurée *ex vivo* par planimétrie

La surface péritonéale totale a été mesurée *ex vivo* avec des méthodes planimétriques chez l'homme [43, 135, 169] et le rat [89]. La planimétrie 2D bien qu'étant la seule méthode permettant d'évaluer la surface péritonéale totale, est très contestable d'un point de vue méthodologique car fortement opérateur dépendante.

En utilisant le μ CT, nous obtenons avec un volume infusé de 5mL/100g une SPR représentant 62% de la surface péritonéale anatomique totale mesurée *ex vivo* par Kuzlan et al ($SPR = 19,304 \times Poids^{0,5837}$ [89]). Cependant, l'augmentation du volume infusé à 10mL/100g permet de recruter une surface péritonéale équivalente à la surface péritonéale anatomique totale mesurée *ex vivo*. Avec un volume infusé de 15mL/100g, la SPR mesurée *in vivo* dépasse la surface péritonéale anatomique totale mesurée *ex vivo* de 25%. En apparence, ces résultats inattendus sont très surprenants.

Cependant, la méthode proposée ici utilisant une méthodologie μ CT 3D prend en compte l'évolution *in vivo* de la surface de la membrane péritonéale en fonction du volume infusé dans la cavité péritonéale. Le péritoine est un tissu mou élastique qui se trouve, comme tous les autres tissus, soumis *in vivo* à d'importantes contraintes longitudinales (provenant de la pression sanguine dans les vaisseaux, de la pression intra-abdominale, de la charge interne des organes voisins, des déplacements de fluides, du péristaltisme...). En conséquence, les tissus mous peuvent raccourcir jusqu'à 50% (la peau par exemple [38]) dans une dimension lorsqu'ils sont extraits de l'organisme [51]. Ainsi les mesures de la surface péritonéale effectuées *ex vivo* en l'absence de ces contraintes biologiques sont fortement différentes des mesures effectuées *in vivo* et ne peuvent donner qu'un ordre de grandeur de cette surface.

Comparaison de la méthode aux précédentes études menées *in vivo*

Une première méthode d'évaluation *in vivo* de la surface péritonéale recrutée pendant la dialyse péritonéale a été développée chez l'homme [31, 32]. Chagnac et al. [31, 32] ont acquis en 40 min par scanner X des coupes 2D de 2,7mm à 3,2mm (taille du voxel dans le plan non communiquée) adaptées à l'échelle humaine. La surface péritonéale de contact a été mesurée à partir des coupes 2D par une méthode stéréologique et fournit une estimation de la SPR macroscopique. Avec cette méthode utilisant le scanner X, seule une fraction limitée de la surface péritonéale totale mesurée *ex vivo* semble recrutée.

Fischbach et al. [47] ont suggéré l'utilisation chez le rat de l'IRM 2D plutôt que du scanner X 2D afin d'éviter l'irradiation X et l'usage de produit de contraste iodé. Cependant le contraste naturel T_2 du dialysat est proche de celui des tissus graisseux et compromet la sélection de la solution de dialyse. L'épaisseur de coupe de cette étude par IRM à 1,5T était de 3mm (taille du voxel dans le plan non communiquée) chez le rat pour un TA de 30min à 1h. La SPR évaluée par cette méthode représente également une fraction de la surface péritonéale totale mesurée *ex vivo*.

Ces deux méthodes délaissent une grande partie des détails anatomiques et nécessitent des TA longs par rapport à la durée de la dialyse. Avec un outil dédié comme le μ CT chez le petit animal, les voxels reconstruits mesurent $186\mu\text{m} \times 186\mu\text{m} \times 186\mu\text{m}$ sur l'ensemble de l'abdomen avec un TA court de 13min. L'isotropie du volume 3D évite l'apparition d'effets de volume partiel qui apparaissent lorsque une dimension, généralement l'épaisseur de coupe, est plus large que les autres.

Les études d'imagerie *in vivo* précédentes nécessitaient une sélection manuelle du volume d'intérêt dans les données acquises. Ces méthodes requièrent du temps et sont opérateur-dépendantes. Tandis qu'en IRM la graisse et le dialysat sont difficiles à distinguer, en scanner X le contraste entre les tissus et l'agent de contraste dilué dans le dialysat permet une

sélection du volume de dialysat en appliquant un seuillage aux données. Le traitement des données reconstruites demandent environ 15min, amenant l'ensemble de la procédure à 1h environ par animal.

La FITC-albumine est utilisée afin de mesurer la variation du volume de dialysat au cours de la procédure. Cette méthode présente l'avantage majeur de ne pas recourir à la radio-activité. Elle a révélé qu'il n'y avait pas de changement significatif dans le volume de dialysat au cours de l'acquisition. C'est pourquoi dans notre méthode, le volume de dialysat administré sert de contrôle qui standardise la procédure. Cette valeur dicte le choix du seuil pour la sélection du volume de dialysat, ce qui rend la méthode indépendante de l'opérateur.

Influence du volume infusé sur la surface péritonéale recrutée pendant le dialyse péritonéale

Chez l'homme la mesure *in vivo* par scanner X a évalué que des volumes infusés de 2L et 3L recrutent des surfaces équivalentes à 30% et 60% respectivement de la surface péritonéale totale mesurée *ex vivo* [31].

Les mesures par IRM effectuées *in vivo* chez le rat avec un volume infusé de 10mL/100g, ont montré un recrutement représentant 35% de la surface péritonéale totale mesurée *ex vivo* [47].

Flessner et al. [48] ont estimé *ex vivo* par autoradiographie quantitative la surface péritonéale totale et la SPR sur des coupes anatomiques de souris. Ils obtiennent un recrutement de 47% de la surface péritonéale totale avec un volume équivalent à 21mL/100g pour un rat de 350g [40].

Ainsi ces études semblent montrer que seule une fraction de la surface péritonéale totale mesurée *ex vivo* est recrutée par la solution de dialyse intra-péritonéale. Dans ce cas, une réserve de surface anatomique semble demeurer disponible et son recrutement permettrait d'augmenter les échanges pendant la dialyse péritonéale.

Cependant, les résultats précédemment obtenus avec la planimétrie ou les coupes histologiques *ex vivo*, ou l'imagerie millimétrique *in vivo* consi-

dèrent la surface péritonéale selon une échelle macroscopique, comme une surface plane et régulière, alors qu'il s'agit d'une surface complexe avec de nombreux détails anatomiques, tels que les microvillosités visualisées à une échelle micrométrique. Le large espacement des coupes en histologie (10 coupes séparées de 2mm [48]) ou en imagerie *in vivo* par scanner X ou IRM (épaisseur de coupe d'environ 3mm [31, 32, 47]) induit des effets de volume partiels. Avec une résolution 3D isotrope de $186\mu\text{m} \times 186\mu\text{m} \times 186\mu\text{m}$ obtenue *in vivo* en utilisant notre méthode μ CT, nous intégrons des détails anatomiques non accessibles aux méthodes précédemment citées et s'appuyant sur le 2D [149, 159].

Cette différence d'échelle dans la mesure de la surface, combinée à la différence de surface entre les tissus *in vivo* et *ex vivo* (cf. plus haut) participe à la mesure *in vivo* par μ CT d'une surface péritonéale impliquée dans l'échange d'eau et de solutés, supérieure à la surface péritonéale totale mesurée *ex vivo*. Si la surface que nous mesurons ne constitue pas plus une référence que la surface totale mesurée *ex vivo*, puisque la surface mesurée dépend de l'échelle à laquelle la surface réelle est décrite, elle permet une mesure *in vivo* rapide et reproductible mettant en évidence l'évolution de la surface péritonéale recrutée en fonction du volume infusé chez le rat.

6.2.5 Conclusion et perspectives

Cette méthode utilisant le μ CT allie la rapidité de l'examen à une grande reproductibilité. La résolution 3D isotrope atteinte permet de décrire les détails de la membrane péritonéale recrutée *in vivo* chez le rat. Le volume infusé influe directement sur la SPR, la SPR augmentant exponentiellement avec le volume de dialysat. Cette étude doit être poursuivie afin d'évaluer chez le rat insuffisant rénal l'influence du type de la composition de la solution de dialyse sur la SPR ou encore l'effet de l'adjonction de surfactant sur ce recrutement.

6.3 Utilisation du μ CT pour l'imagerie des tissus mous

Sans adjonction de produits de contraste, l'indication majeure du μ CT concerne l'étude des structures osseuses et des poumons. Les contrastes naturels permettent également la mesure des volumes graisseux. L'étude des tissus mous est moins évidente en μ CT car elle réclame l'utilisation de produits de contraste radio-opaques et parce que l'utilisation de l'IRM, qui est une méthode d'imagerie non-ionisante offrant des contrastes naturels entre les tissus mous, paraît plus évidente. Cependant, le μ CT peut être plus approprié que l'IRM pour l'imagerie des tissus mous lorsque les applications nécessitent une haute résolution spatiale isotrope et/ou un TA court et/ou une grande spécificité de contraste.

Dans un contexte multimodal, les deux exemples présentés dans ce chapitre mettent en évidence l'importance du choix de la modalité d'imagerie pour la réussite de l'expérience et l'obtention des informations recherchées, les critères déterminant ce choix étant multiples.

Conclusion générale

Ce travail de thèse a abordé trois modalités majeures d'imagerie *in vivo* du petit animal, IRM, μ CT et μ SPECT, accessibles sur un même plateau technique (Biophysique et médecine nucléaire, CHU Hautepierre) permettant leur utilisation seule ou combinée en fonction de la problématique posée.

Dans ce contexte d'imagerie multimodale, nous avons démontré que moyennant certaines adaptations, l'IRM à 0,1T a la capacité de répondre à un large panel de problématiques biologiques de routine illustrées par les questions biologiques qui nous ont été posées. Ainsi, nous avons effectué le suivi individuel longitudinal quantitatif de la croissance d'une tumeur intra-cérébrale chez la souris afin de confirmer l'action d'une stratégie thérapeutique. Nous avons développé un protocole d'évaluation de la fonction cardiaque par IRM synchronisée fournissant 16 phases par cycle cardiaque chez le rat, et nous l'avons appliqué à des rats infarctés. Nous avons également mis en place un protocole d'élastographie par résonance magnétique *in vivo* chez le rat, que nous avons étendu par une étude *post mortem* afin de déterminer les propriétés mécaniques de la matière cérébrale *in vivo* et leur évolution *post mortem*. Toutes ces applications sont largement documentées dans la littérature avec des résultats obtenus à des champs magnétiques beaucoup plus élevés, mais les développements récents à bas champ sont extrêmement rares.

Cependant, en dehors de la spectroscopie les aimants à bas champ offrent une solution pour l'imagerie préclinique quotidienne à un coût nettement

plus faible, tant à l'achat qu'en fonctionnement, que les systèmes dédiés à haut champ actuellement commercialisés. Cet aspect économique n'est pas à négliger car il conditionne la répartition et la disponibilité des techniques d'imagerie, et l'IRM préclinique n'est actuellement pas suffisamment répandue dans les laboratoires dans lesquels se trouvent les éventuels utilisateurs.

La contrepartie majeure de l'usage du bas champ est l'augmentation du temps d'acquisition, indispensable pour compenser la diminution du rapport S/B, mais celle-ci n'est pas dans une proportion directe avec le rapport des champs magnétiques, et de plus, la plus grande facilité de manipulation dans un aimant ouvert à bas champ que dans un aimant clinique ou dédié à haut champ réduit la durée totale d'expérimentation, prenant en compte l'ensemble de la manipulation de l'induction de l'anesthésie au réveil de l'animal. Au final, c'est cette durée d'expérimentation, trop souvent absente des publications, qui fixe le nombre maximum d'expérimentations réalisables quotidiennement avec un protocole, et celles que nous obtenons permettent de réaliser 4 examens quotidiens en routine.

Par ailleurs, le voisinage techniquement simple de ces IRM à 0,1T avec d'autres appareils offre une grande souplesse d'utilisation et de mise en place des protocoles *in vivo* ainsi que nous le montrons pour l'élastographie par résonance magnétique. Profitant de cet aspect, ce type de système IRM à bas champ peut facilement entrer dans la conception de nouvelles modalités d'imagerie duale combinant IRM et médecine nucléaire, dont nous avons effectué une démonstration pratique.

Enfin, les systèmes IRM à bas champ s'intègrent simplement dans un plateau technique d'imagerie pensé pour l'imagerie *in vivo* longitudinale du petit animal et implanté pour ce faire au sein d'une animalerie. La disponibilité de plusieurs modalités d'imagerie permet d'adapter le protocole d'imagerie à la problématique en tirant le meilleur parti de chaque modalité. Dans notre expérience, il apparaît que plus encore que les performances technologiques, la compréhension de la question biologique posée associée à celle des phénomènes physiques utilisés dans les différentes modalités est essentielle pour un usage optimal des méthodes d'imagerie préclinique. Nous

avons montré que malgré ses prédispositions pour l'imagerie des tissus mous, l'IRM n'est pas la seule modalité à considérer et que le μ CT apporte pour certaines de ces problématique une réponse plus adaptée.

A l'image des plateaux techniques hospitaliers, il semble que l'imagerie préclinique ne se concevra plus dans un futur proche que dans des plateaux d'imagerie multimodale, disposant des moyens humains nécessaires à la définition du protocole le plus adapté à chaque problématique de suivi longitudinal *in vivo*.

Au delà des performances des machines, nous avons pu montrer que la prise en compte des conditions d'anesthésie de l'animal, au delà de la simple considération de la survie à l'expérimentation, améliore la qualité des acquisitions en réduisant le flou lié à la respiration mais aussi en permettant à l'imagerie de rendre compte de la physiologie non-altérée de l'animal. Tout comme en clinique, le « patient » est au coeur du problème et ne doit pas être occulté par la technique.

Annexe A

La cellule technique pour l'imagerie (CTI)

Le laboratoire a participé au développement par la société vétérinaire Minerve (Esternay, France) d'une cellule technique pour l'imagerie (CTI) multimodalité du petit animal (fig. A.1). La CTI supprime les manipulations directes de l'animal pendant les transports et standardise la mise en place des animaux dans l'imageur. Elle évite de contaminer un imageur clinique lors de son utilisation. La CTI comprend un masque d'anesthésie gazeuse avec barre de dents, et des barres d'oreilles peuvent être utilisées. La position du lit en hauteur et en profondeur est réglable. Un support a été installé sur chacun de nos imageurs pour l'utilisation de la CTI.

La CTI est dépourvue de composant ferro-magnétique propre à interagir avec le champ principal d'un imageur IRM et est donc compatible pour l'imagerie IRM. L'atténuation des rayonnements gamma par le cylindre extérieur de la CTI est inférieure à 5% [54] et permet l'utilisation en SPECT (cf. §5). L'animal mis en place dans la CTI peut être déplacé sous anesthésie d'un imageur à un autre, son positionnement demeurant inchangé. La CTI facilite ainsi l'obtention de données multimodalités, acquises dans différents imageurs, sans modification de la position de l'animal.

L'hypothermie constitue le facteur majeur de décès du petit animal anesthésié et reste un problème particulièrement important chez la souris. Elle doit être limitée par l'utilisation d'un système de chauffage qui concoure au maintien de l'homéostasie de l'animal anesthésié. En IRM, il n'est pas possible d'utiliser directement un chauffage avec une résistance électrique

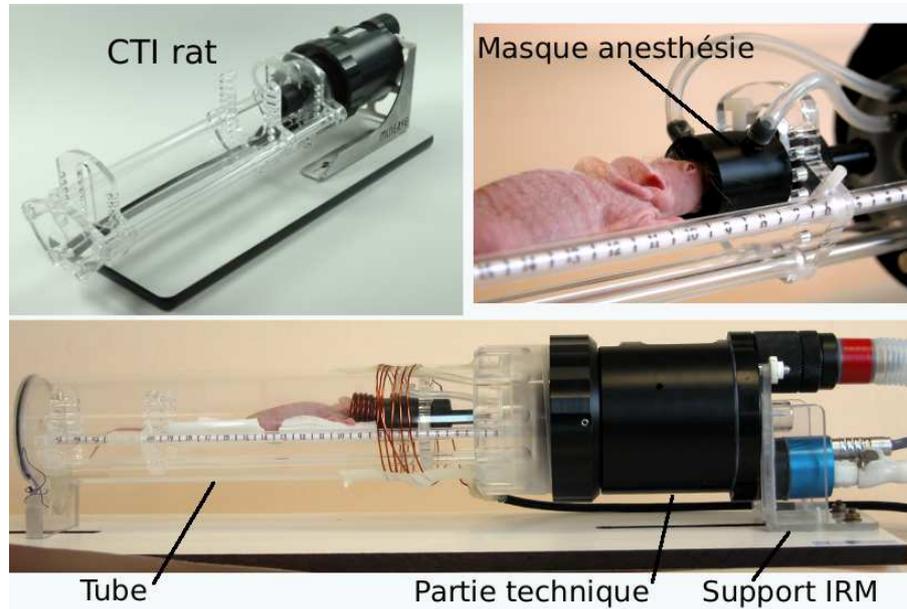


FIG. A.1 – Vue d'ensemble de la CTI rat sans le tube externe, détail du masque d'anesthésie et vue d'ensemble de la CTI souris

dans l'aimant. Le chauffage est donc généralement déporté et transmis par des systèmes à circulation d'eau ou d'air afin de maintenir la température de l'animal. Lorsque la CTI est refermée par sa bulle, sa température interne est augmentée par une circulation d'air chaud en circuit fermé. La valeur de consigne de la température dans la cellule, fixée par l'utilisateur, est contrôlée et asservie grâce à un capteur de température. Le chauffage et le contrôle de la température prennent place dans la partie technique de la CTI afin d'être indépendants de la longueur du circuit de circulation d'air et de la température de la pièce.

La CTI est disponible en trois tailles de lit et de cellule : souris, « grosse » souris, rat. Les diamètres extérieurs des cellules sont respectivement de 6cm, 8cm et 12cm. Un canal technique large de 1cm de diamètre permet de passer des instruments de surveillance des paramètres physiologiques (sonde thermique, câbles ECG, capteur de respiration...) dans la cellule. La partie technique de circulation de l'anesthésie et de thermorégulation ainsi que le système de fixation sur l'imageur sont indépendants du modèle de CTI.

L'utilisation d'anesthésie gazeuse et d'un système de chauffage permettent de maintenir la stabilité des paramètres physiologiques des animaux pendant des durées compatibles avec des durées totales d'acquisition de quelques heures en routine. La CTI a donc été utilisée pour l'ensemble des expérimentations d'imagerie *in vivo* présentées dans cette thèse. Lorsque pour des raisons techniques la CTI n'a pu être refermée pendant l'acquisition, les gaz d'anesthésie ont été chauffés (environ 37°C) et l'animal a été recouvert de papier bulle afin de ralentir la baisse de sa température interne.

L'utilisation systématique de la CTI fournit une amélioration de la stabilité des paramètres physiologiques des animaux qui a considérablement réduit la mortalité lors des expériences d'imagerie présentées dans ce travail, mais a également amélioré la qualité des images en réduisant considérablement le flou dû à une respiration ample et irrégulière.

Le principe de l'IRM est largement décrit dans la littérature [27, 82, 170]. Le lecteur trouvera dans cette annexe un bref rappel concernant ce phénomène, servant à introduire la notion de pondération, la présentation de classifications de gammes de champ magnétique des appareils IRM et les facteurs influençant le rapport S/B .

B.1 Résonance magnétique nucléaire

Le principe de l'IRM repose sur la relation de Larmor qui relie la fréquence de précession des spins ν à l'intensité du champ magnétique auquel ils sont soumis :

$$\nu = \gamma \times B \tag{B.1}$$

avec γ le rapport gyromagnétique du noyau considéré ($\gamma = 42,58 \text{MHz} \cdot \text{T}^{-1}$ pour l'hydrogène).

Les éléments fondamentaux de la résonance magnétique nucléaire (RMN) sont :

- l'échantillon
- un aimant qui génère le champ principal B_0
- l'antenne radio-fréquence (RF) qui résonne à la fréquence de Larmor
- une console de contrôle de l'impulsion RF émise, et de démodulation et d'amplification du signal reçu.

Les spins de l'échantillon placé dans le champ principal précessent à la fréquence de Larmor. Le signal RMN provient alors de la différence de

population entre les deux états des spins, *up* et *down*, à l'équilibre thermique (relation de Boltzmann). L'impulsion RF générée via l'antenne excitatrice est un champ magnétique transitoire, oscillant à la fréquence de Larmor, qui entraîne une bascule de l'aimantation dans le plan transverse. Cette aimantation transversale évolue en fonction du type de séquence et des propriétés RMN de l'échantillon, puis le signal est recueilli via l'antenne réceptrice. Le signal amplifié est enfin démodulé afin d'obtenir le signal RMN, le *Free Induction Decay* (FID) ou un écho (généralisé par combinaison d'impulsions RF et/ou par application de gradients bipolaires).

La RMN est une méthode peu sensible (équilibre thermique avec une faible différence de population à température ambiante), c'est pourquoi un grand nombre de spins doit être mis en jeu pour créer un signal détectable. Ainsi l'IRM utilise en routine le signal des noyaux d'hydrogène (également assimilés à leur unique proton) présents en grande quantité dans les organismes vivants afin d'obtenir des images anatomiques.

B.2 Codage de l'espace dans le plan de Fourier

En IRM, les signaux RMN recueillis permettent de remplir le plan de Fourier, codé en fréquence et en phase. Le codage de l'espace utilise des gradients de champ. Le long de la direction d'application du gradient x , les noyaux sont soumis à un champ de composante G_x :

$$G_x = \frac{\delta B}{\delta x} \quad (\text{B.2})$$

Le gradient génère une variation spatiale de la fréquence de résonance des protons :

$$\nu(x, t) = \gamma(B_0 + xG_x) \quad (\text{B.3})$$

avec B_0 le champ principal de l'aimant.

Le codage en fréquence consiste en l'application d'un gradient pendant l'acquisition du signal RMN. En fonction de leur position le long du gra-

dient de champ, les protons résonnent à une fréquence différente. Le signal temporel échantillonné permet de remplir directement une ligne du plan de Fourier.

Le codage en phase consiste à appliquer un gradient pendant une durée Δt afin de déphaser les spins dans cette direction de codage. A l'arrêt du gradient, les spins sont marqués par un déphasage propre à leur position le long du gradient. La valeur du gradient est incrémentée à chaque acquisition afin de remplir les lignes successives du plan de Fourier.

En IRM 2D, le plan de coupe est sélectionné avec un gradient de sélection de tranche et la matrice du plan de Fourier 2D est remplie. Le signal est acquis après l'application du gradient de codage de phase et pendant l'application du gradient de codage en fréquence. L'application d'une transformée de Fourier 2D aux données du plan de Fourier permet de reconstruire l'image. En 3D, la profondeur est codée avec un second gradient de codage de phase et une transformée de Fourier 3D permet de reconstruire le volume.

B.3 Pondération du signal

Un ensemble de paramètres comme la densité de protons, le temps de relaxation longitudinal T_1 , le temps de relaxation transversal T_2 mais aussi les phénomènes de flux et de diffusion ou la température influencent l'amplitude du signal RMN recueilli et la pondération des images IRM reconstruites. Les séquences IRM utilisent ces paramètres afin d'obtenir des contrastes selon différentes pondérations, susceptibles d'apporter une réponse à une problématique donnée.

La densité de protons, les temps de relaxation T_1 et T_2 sont propres à chaque élément de l'échantillon et dépendent de son environnement moléculaire et du champ magnétique utilisé. La densité de proton ρ de l'échantillon fixe l'aimantation longitudinale disponible initialement, c'est-à-dire la quantité de signal maximale disponible. Cette quantité de signal disponible initialement est pondérée en fonction des cinétiques T_1 et T_2 par la séquence d'acquisition. Le temps de relaxation longitudinal T_1 , dit temps

de relaxation spin-réseau, correspond à la durée de retour selon la direction longitudinale de l'aimantation basculée dans le plan transversal ou inversée. Ce temps décrit la cinétique du retour des spins à l'équilibre thermique après la bascule RF. Le temps de relaxation transversal T_2 , dit temps de relaxation spin-spin, correspond quant à lui à la durée de disparition de l'aimantation basculée dans le plan transverse. Le T_2 reflète la disparition de la cohérence entre les phases des spins. Le T_2^* décrit la cinétique du déphasage lorsque l'effet des hétérogénéités du champ magnétique et les différences de susceptibilité des tissus s'ajoutent aux interactions spin-spin et diminuent le T_2 ($T_2^* < T_2$).

Le contraste de l'image IRM anatomique est lié à ρ , T_1 ou T_2 en fonction de la séquence IRM choisie, de l'angle de bascule α , du temps d'excitation (TE) et du temps de répétition (TR). La pondération modifie le contraste entre les tissus et permet de décrire spécifiquement certaines structures ou pathologies. Les pondérations ρ et T_1 permettent généralement une description anatomique complète, tandis que la pondération T_2 met en évidence les structures liquidiennes ou grasses.

B.4 Gammes de champ magnétique

Les appareils d'IRM sont classés en fonction de leur champ principal. La classification est fluctuante et dépend de l'utilisation (clinique ou préclinique) des appareils, ainsi que des auteurs [63, 73, 100]. Nous proposons ici une classification.

Les expériences d'IRM menées à des champs inférieurs à 0,1T sont dites à très bas champ. Elles concernent des applications très particulières (IRM en champ terrestre notamment) qui ne seront pas abordées dans ce mémoire.

Les appareils cliniques à bas champ couvrent la gamme de 0,1T à 0,5T. Ces appareils sont de type résistifs ou permanents. Ils sont destinés à l'imagerie des extrémités ou à l'IRM interventionnelle.

Les appareils cliniques à haut champ ont des champs compris entre 0,5T et 3T. Les appareils corps entier les plus couramment utilisés chez l'homme fonctionnent à des champs de 1,5T, mais la norme tend actuellement vers 3T. Le champ de ces appareils est généré par supraconduction.

Au delà de 3T, les IRM cliniques sont dits à très haut champ. Quelques IRM cliniques à 4,7T et 7T sont en fonction à travers le monde, mais cette technologie est principalement utilisée pour l'imagerie préclinique. En effet plus le champ principal est élevé, plus l'homogénéité est difficile à maintenir sur une large zone, donc plus il est difficile d'obtenir une zone homogène compatible avec l'imagerie humaine [73]. Afin d'assurer l'homogénéité du champ, la longueur de l'aimant, son poids et sa consommation d'hélium augmentent avec la valeur du champ principal. Les coûts de construction, d'installation et de fonctionnement augmentent eux aussi avec les contraintes liées au champ magnétique principal.

En IRM préclinique, la majorité des appareils dédiés commercialisés actuellement fonctionnent à un champ de 7T. La tendance est de qualifier de bas champ tous les appareils fonctionnant à un champ inférieur à 4,7T. A notre connaissance, les appareils dédiés précliniques présentant le champ principal le plus élevé actuellement officient à 17,6T [153], soit 176 fois plus que le champ de nos appareils IRM à 0,1T. Les dimensions plus restreintes de la zone homogène nécessaire à l'imagerie du petit animal rendent possible la conception de ces appareils. Cependant, l'accessibilité à la zone d'imagerie est réduite, même pour des applications petit animal.

La recherche d'un champ principal toujours plus élevé est liée à son influence sur le rapport signal à bruit (S/B) du signal RMN.

B.5 Rapport signal-à-bruit et durée de l'acquisition IRM en mode 3D

Le rapport S/B d'un voxel en IRM 3D dépend d'un grand nombre de facteurs :

$$S/B \propto B_0 \cdot \frac{\delta x \cdot \delta y \cdot \delta z \sqrt{Nex} \sqrt{N_x \cdot N_y \cdot N_z}}{\sqrt{SW}} \quad (\text{B.4})$$

avec δx (δy ou δz) dimension du voxel dans la direction x (y ou z), N_x (N_y ou N_z) taille de la matrice dans la direction x (y ou z), Nex nombre d'excitations et SW fréquence d'échantillonnage. La dépendance du rapport S/B en fonction du champ est globalement considérée comme linéaire en pratique [70, 69, 73]. Plus le champ magnétique est élevé, plus le rapport S/B intrinsèque, c'est-à-dire indépendant des paramètres d'acquisition, est élevé.

Le rapport S/B est proportionnel au volume des voxels imagés. Plus le voxel est grand, plus la quantité de protons mis en jeu est importante et meilleur est le rapport S/B. Or la recherche d'une information diagnostique est liée à la dimension des voxels : tandis que le volume des voxels en IRM humaine est de l'ordre du mm^3 , en imagerie du petit animal les voxels atteignent des dimensions sub-millimétriques et un volume de l'ordre de 10^{-2}mm^3 .

D'autre part, la durée d'acquisition ou temps d'acquisition (TA) est égale au produit du TR, des nombres de pas de phase acquis N_y et N_z , et du nombre de répétitions Nex :

$$TA = TR \cdot N_y \cdot N_z \cdot Nex \quad (\text{B.5})$$

La durée d'acquisition est donc directement liée à certains des paramètres du rapport S/B. Le Nex permet d'améliorer le rapport S/B en moyennant les signaux acquis lors des répétitions. Cependant, tandis que le rapport S/B augmente proportionnellement à \sqrt{Nex} , le TA augmente

linéairement avec le Nex. Le gain en terme de rapport S/B est donc très rapidement limité par l'augmentation consécutive du TA.

L'augmentation de la taille de la matrice d'acquisition augmente elle aussi le rapport S/B, au détriment de l'allongement du TA. L'augmentation de la taille de la matrice est généralement liée au besoin d'améliorer la résolution de l'acquisition. A champ de vue (FOV) constant, le doublement de la taille de la matrice dans les trois directions de codage entraîne une diminution d'un facteur 8 (2^3) du volume du voxel. L'effet sur le rapport S/B est de le diviser par $\sqrt{8}$. Le TA augmente quant à lui 4 fois sous l'effet de l'augmentation du nombre de pas de codage de phase dans le plan (N_y) et en profondeur (N_z).

Afin de réduire l'effet sur la durée de l'acquisition du nombre de pas de phase, il faut privilégier les matrices asymétriques lorsque cela est possible. En effet, le TA d'une matrice rectangulaire 256×128 (lecture \times phase) est le même que celui d'une matrice 128×128 à TR constant car le nombre de pas de codage en lecture (N_x) ne participe pas directement à l'augmentation du TA. Cependant le TE dépend de la durée d'application du gradient de lecture appelée temps d'observation (TO) :

$$TO = \frac{N_x}{SW} \quad (\text{B.6})$$

Ainsi si le nombre de pas de codage en lecture double et que la fréquence d'échantillonnage reste constante, le TO double, le TE est augmenté ainsi que le TR le plus court utilisable. Le TA peut donc être modifié si la fréquence d'échantillonnage est conservée. Cependant, l'augmentation du TO améliore également le rapport S/B. Le choix du TO doit donc résulter d'un compromis entre la pondération recherchée (TE) et le rapport S/B (TO, mais aussi TE pour la quantité de signal disponible au moment de l'écho).

Une autre technique de limitation du TA consiste à n'acquérir qu'une partie des données du plan de Fourier dans les directions de codage de phase. La technique du *zéro filling* consiste à n'acquérir que les données centrales du plan de Fourier, tandis que les données périphériques sont complétées

par des zéros. Le contraste de l'image qui est lié aux données centrales n'est pas modifié, mais la résolution effective est diminuée, car les données des bords du plan de Fourier sont liées à la résolution de l'image. Cependant ces données correspondant aux hautes fréquences spatiales sont également celles qui sont affectées par le bruit. Ne pas les acquérir présente donc aussi un aspect positif en limitant le bruit capté, et peut permettre de diminuer le N_{ex} .

Annexe C

Implémentation des séquences rapides d'écho de gradient

Afin de pouvoir effectuer de l'IRM sur le petit animal, il convient de développer des séquences d'imagerie rapide adaptées. Des séquences écho de gradient 3D ont été implémentées avec la console SMIS.

Les séquences écho de gradient sont des séquences d'imagerie rapide car elles permettent d'utiliser des TR nettement plus courts que les séquences écho de spin. Elles s'appuient sur des angles de bascule inférieurs à 90° afin d'utiliser des TR inférieurs au T_1 des tissus étudiés. Après quelques bascules, un état d'équilibre dynamique est obtenu (SSFP : *Steady State Free Precession*) qui dépend de l'angle de bascule α , du TE et du TR. Pour tout échantillon, il existe à TR fixé un angle de bascule optimal produisant un signal maximal, appelé angle de Ernst. Plus le TR est court, plus l'angle de Ernst est faible.

Des séquences écho de gradient FLASH, FAST et CEFAST ont été implémentées qui permettent de tirer le meilleur profit de l'IRM à 0,1T pour l'imagerie du petit animal. L'effet des paramètres des séquences est décrit à travers des images d'un fantôme constitué de tubes remplis de solutions à différentes concentrations de sulfate de cuivre (CuSO_4^{2-}).

C.1 Fantôme de test

Le fantôme de test (schéma fig. C.1) est constitué de 5 tubes remplis de solutions à différentes dilutions de CuSO_4^{2-} dans de l'eau déminérali-

sée : eau déminéralisée, $2\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $5\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, $10\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ et $20\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Le diamètre des tubes est de 3cm. Les solutions présentent des temps de relaxation T_1 et T_2 qui varient en fonction des concentrations en CuSO_4^{2-} . L'eau déminéralisée présente les temps de relaxation T_1 et T_2 les plus longs. Pour les autres solutions, les temps de relaxation diminuent avec une concentration croissante en CuSO_4^{2-} . Ce fantôme permet de décrire les caractéristiques des différentes séquences programmées.

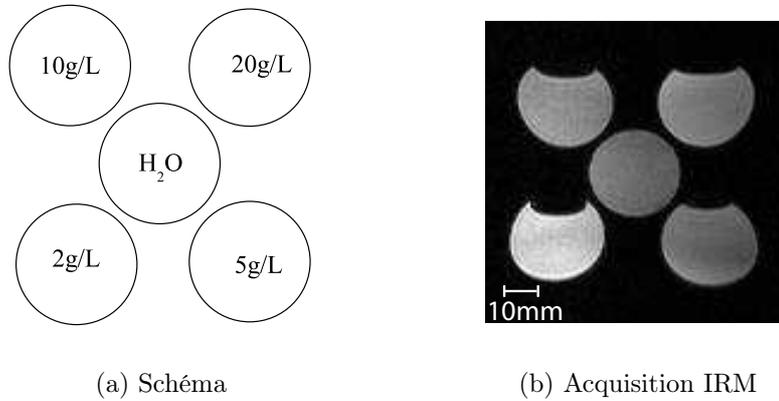


FIG. C.1 – *Fantôme de test constitué de 5 tubes contenant des solutions d'eau déminéralisée avec une dilution de CuSO_4^{2-}*

Les acquisitions sont effectuées avec les mêmes paramètres pour toutes les séquences : FOV 90mm, épaisseur 100mm, matrice d'acquisition 128×96 , 8 coupes acquises, Nex 4, voxel reconstruit 0,7mm, épaisseur 6,25mm. Un exemple d'acquisition IRM (séquence FAST, TE/TR 9/23ms, $\alpha = 90^\circ$) est présenté fig C.1(b). Les bulles d'air présentes dans les tubes permettent de s'assurer de l'orientation verticale de l'image. Il est à remarquer que les bords des tubes extérieurs sont déformés dans l'image IRM. En effet, le fantôme présente des dimensions supérieures à celles de la zone homogène de l'aimant et de linéarité des gradients de champ, et les déformations visibles dans les images mettent en évidence les limites spatiales de la zone homogène d'acquisition.

Le spoiler peut consister en l'ajout d'un gradient d'amplitude importante constante ou variable [50, 167, 175]. Appliqué après la lecture du signal (gradient hachuré sur la chronogramme fig. C.2), il déphase l'aimantation transverse résiduelle provenant de la bascule précédente.

Le second type de spoiler appelé *spoiler RF* consiste en une modification de la phase de l'impulsion RF. La phase de l'impulsion RF est incrémentée d'un certain angle à chaque impulsion. Il a été montré par simulation numérique que dans le cadre d'un incrément constant, un pas de 117° est optimal [177]. En séquence d'imagerie rapide, le spoiler RF présente de plus l'avantage de ne pas ajouter de durée d'application de gradient qui allongerait le TR. Dans la séquence programmée, l'utilisateur peut choisir d'utiliser le spoiler RF 117° et/ou un gradient spoiler d'amplitude fixe à déterminer.

La figure C.3 montre l'effet des spoilers gradient constant et RF 117° avec un TR court et un angle de 90° . Sans spoiler, on observe un artefact de bande centrale dans la direction de codage de la phase qui est typique de la séquence FLASH [50]. Cet artefact provient du fait que les gradients de codage de phase successifs sont presque égaux. L'aimantation transverse résiduelle provenant de la bascule n subit un écho de spin stimulé lors de l'impulsion $n + 1$. Or le déphasage induit au codage n est compensé par le codage de phase $n + 1$ et l'écho stimulé fournit donc un signal avec une phase nulle [50]. Les deux types de spoilers détruisent cet artefact. L'eau déminéralisée a un T_2 long, avec un TR court elle présente une aimantation transversale résiduelle importante (fig. C.3(a)). Le tube d'eau déminéralisée est donc un bon témoin de l'efficacité des spoilers. Le gradient spoiler détruit en partie l'aimantation résiduelle (fig. C.3(b)), mais l'effet du spoiler RF est plus important puisque le tube d'eau déminéralisée n'apparaît plus dans l'image (fig. C.3(c)). Ce tube est dit « saturé », c'est-à-dire que son aimantation transverse relaxant très lentement, l'aimantation longitudinale disponible est très faible lors de la bascule RF et le signal transverse mesuré est quasi nul.

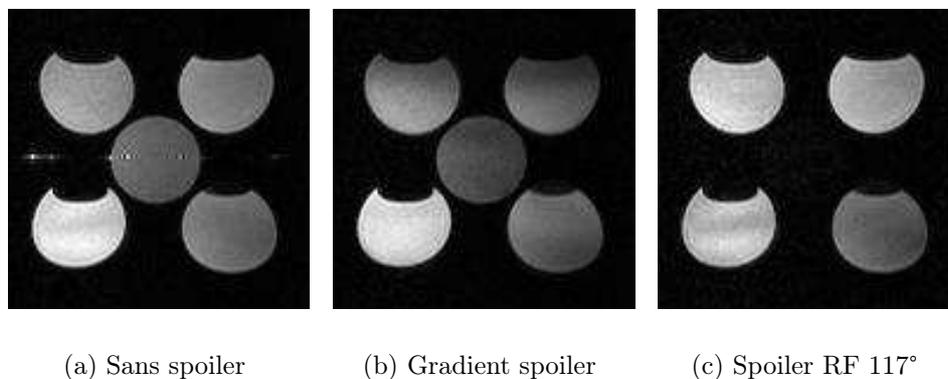


FIG. C.3 – Effet des spoilers, séquence FLASH avec un TR court ($TE=9ms$, $TR=23ms$, $\alpha=90^\circ$)

Dans la suite de ce travail, un spoiler RF est systématiquement appliqué pour détruire l'aimantation résiduelle de la séquence FLASH. La séquence FLASH est pondérée en fonction de TE, TR et de l'angle de bascule α . Afin d'obtenir une image pondérée T_1 , le TE doit être maintenu le plus court possible. A TE et TR fixés, l'angle de bascule détermine la quantité de signal disponible provenant de l'aimantation longitudinale qui n'a pas été basculée et de celle qui a relaxé. On appelle courbe de Ernst la représentation de la quantité de signal RMN disponible en fonction de l'angle de bascule pour TE/TR donnés.

Avec un TR court, l'aimantation longitudinale n'a que très peu de temps pour relaxer d'une bascule à l'autre. Il n'y a de signal que des tubes dont le T_1 est suffisamment court pour que leur aimantation ne soit pas saturée (fig. C.4). Le tube qui contient $2g.L^{-1}$ de $CuSO_4^{2-}$ (en bas à gauche) présente peu de signal avec $\alpha = 90^\circ$ car son T_1 est plus long que celui des autres tubes, dont la concentration en $CuSO_4^{2-}$ est supérieure. Son signal est maximum avec $\alpha = 60^\circ$, il s'agit de son angle de Ernst. Le tube d'eau déminéralisée au T_1 très long n'apparaît qu'avec un angle de bascule très faible ($\alpha = 30^\circ$), pour lequel l'aimantation longitudinale disponible à l'équilibre dynamique est suffisante pour fournir une aimantation transverse détectée.

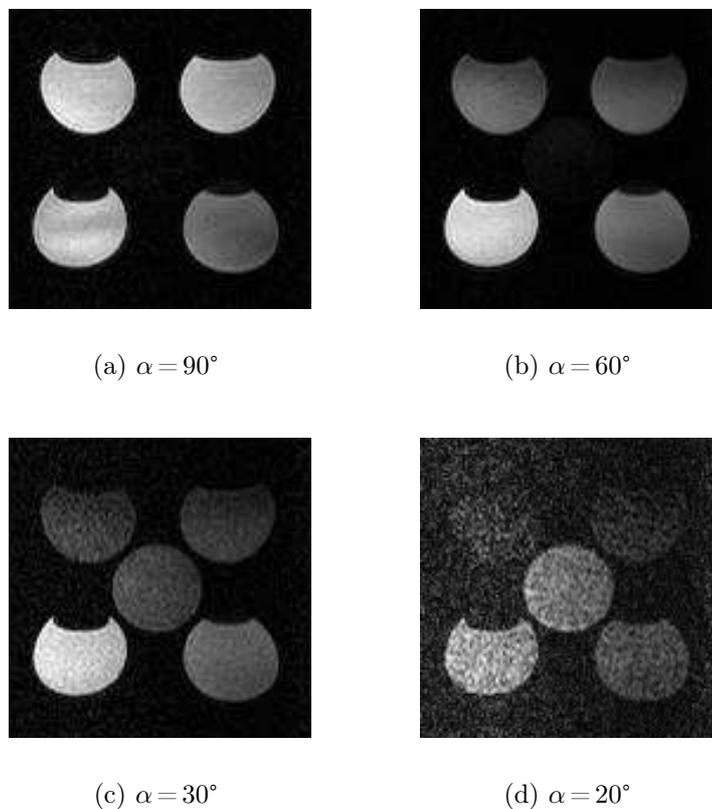


FIG. C.4 – Effet de l'angle de bascule α avec un TR court. Séquence FLASH avec spoiler RF 117° : TE/TR 9/23ms

Un TR long allonge sensiblement la durée de l'acquisition, c'est pourquoi seules deux accumulations (Nex 2) ont été réalisées pour ces acquisitions. Lorsque le TR est long (fig. C.5), les aimantations longitudinales ont le temps de relaxer, l'aimantation longitudinale disponible pour chaque bascule est donc plus importante. Plus le TR est long, plus l'aimantation longitudinale a une valeur proche de l'aimantation initiale avant les bascules. Dans le même temps, l'aimantation transverse résiduelle, demeurant malgré le spoiler, a totalement disparu et ne participe plus au signal recueilli. Le tube d'eau déminéralisée apparaît dès $\alpha = 60^\circ$. Avec un angle de bascule $\alpha = 30^\circ$, l'ensemble des tubes sont visibles et les contrastes sont moins importants qu'avec un TR court.

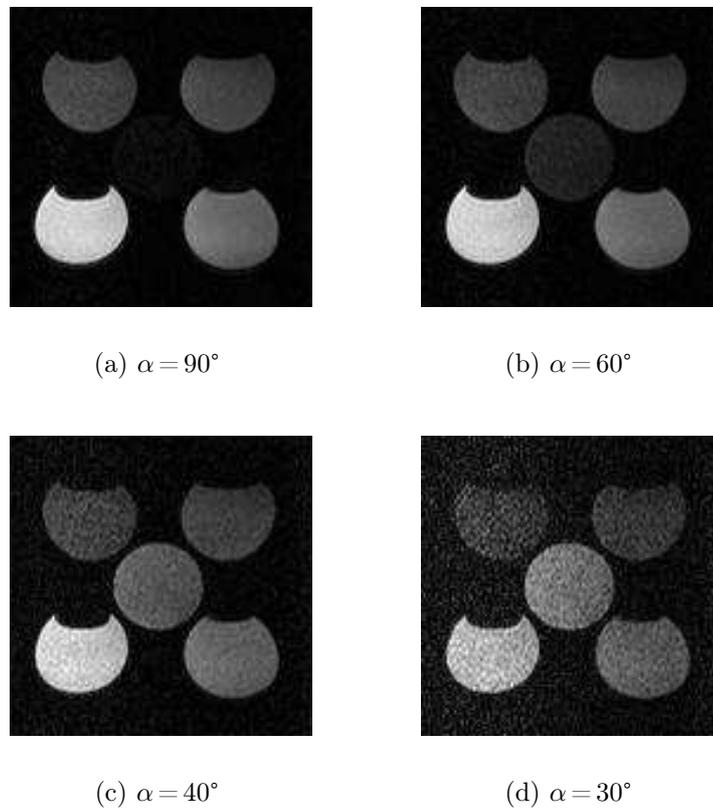


FIG. C.5 – Effet de l'angle de bascule α avec un TR long. Séquence FLASH avec spoiler RF 117° : TE/TR 9/200ms

C.3 Séquence FAST : Fast Acquisition in STeady state

Dans la séquence FAST [59], le déphasage induit par les gradients de codage de l'espace en phase est compensé avant la bascule suivante. Des gradients d'amplitudes inverses à ceux des gradients de codage de phase sont pour cela appliqués après le gradient de lecture dans les directions de codage de phase (fig. C.6). Ainsi les spins sont-ils rephasés avant l'impulsion RF suivante et l'aimantation résiduelle est maximisée. Le signal recueilli une fois l'équilibre dynamique établi est donc pondéré T_1 et T_2 . Cette séquence utilise tout le signal RMN disponible et est idéale pour les séquences de

positionnement (« scout ») qui doivent fournir un signal maximum dans un TR court (fig. C.7(a) et (b)).

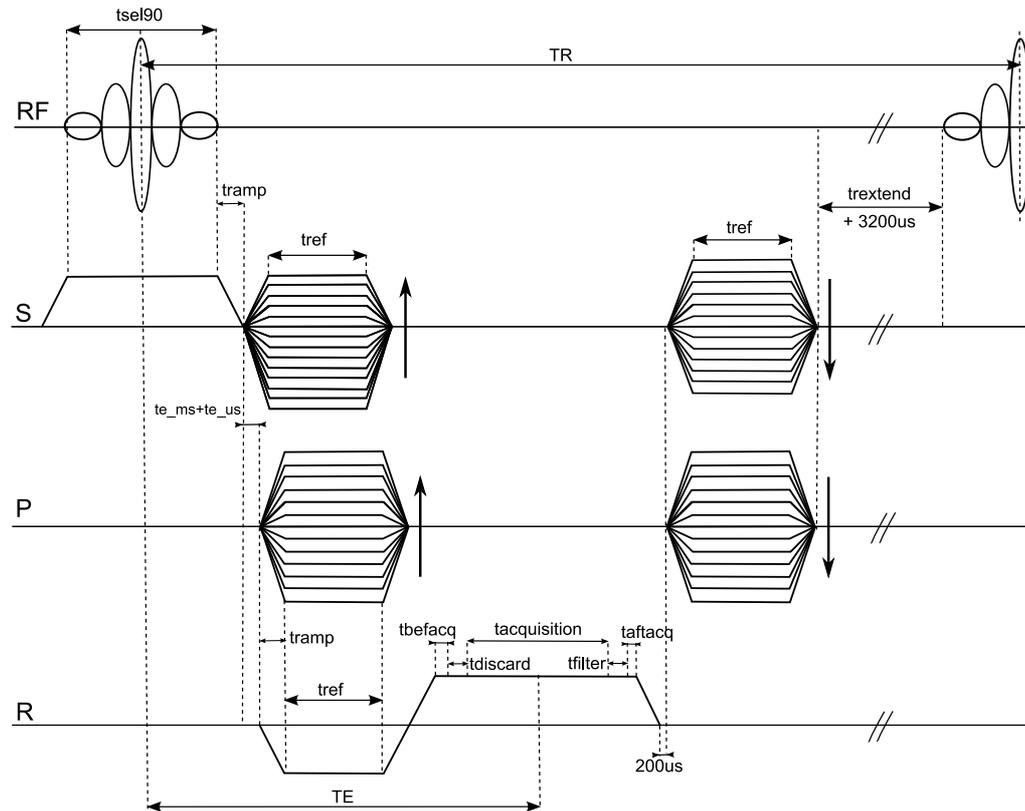
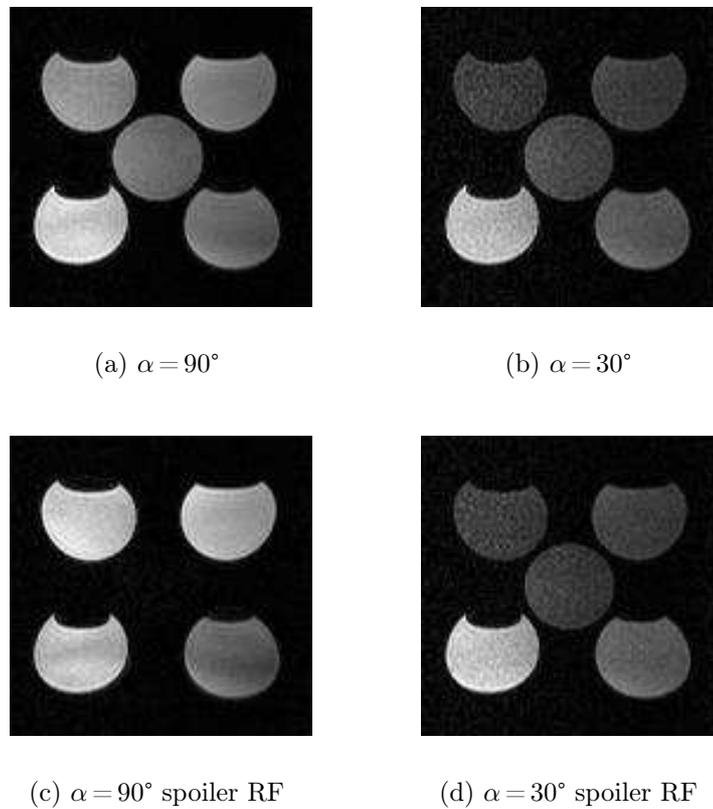


FIG. C.6 – Chronogramme de la séquence FAST

Le TR minimal de cette séquence est plus long que pour une séquence FLASH car elle comporte les gradients de rephasage en plus. Les gradients de rephasage suppriment l'artefact de bande centrale présent avec la séquence FLASH (fig. C.7(a)). Lorsqu'un spoiler est appliqué, ou que le TR est long, cette séquence est équivalente à la séquence FLASH en terme de pondération (fig. C.7(c) et (d) équivalentes à C.4(a) et (c)).

FIG. C.7 – Séquence FAST : TE/TR 9/23ms

C.4 Séquence CEFAST : Contrast Enhanced FAST

La séquence CEFAST [59] (fig. C.8) comprend elle aussi des gradients de rephasage dans les directions de codage de phase. Cette séquence utilise l'écho de spin stimulé produit par des impulsions RF répétées. Le gradient de préparation à la lecture se trouve après le gradient de lecture n afin que l'écho n stimulé par l'impulsion RF $n + 1$ prenne place juste avant la bascule $n + 2$. Le signal recueilli est pondéré T_2 avec un TE effectif de pondération correspond à la somme $TE+TR$. La séquence CEFAST permet d'obtenir une image ne comportant que les tissus avec un T_2 très long.

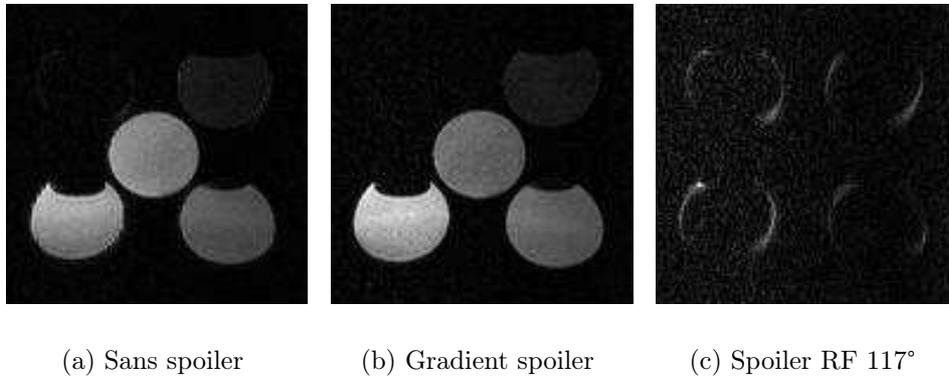


FIG. C.9 – *Effet des spoilers, séquence CEFAST (TE/TR 9/23ms, $\alpha = 90^\circ$)*

transversale a le temps de relaxer avant la lecture. Les différences en terme de T_2 ont donc le temps de s'exprimer et l'image est pondérée T_2 . Les tubes dont le T_2 est trop court (10g.L^{-1} et 20g.L^{-1} de CuSO_4^{2-}) ne conservent plus suffisamment d'aimantation transversale pour être détectés à $TE+TR$ (fig. C.10). Avec une forte pondération (TE/TR 30/43ms), seul le tube d'eau déminéralisée apparaît.

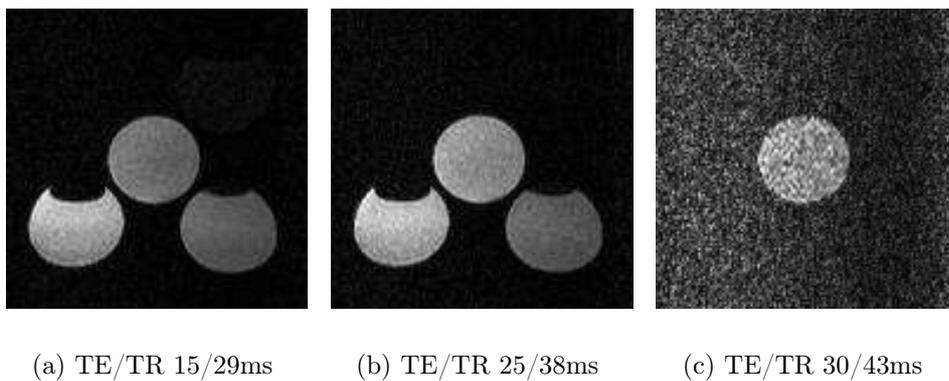


FIG. C.10 – *Pondération TE/TR, séquence CEFAST ($\alpha = 90^\circ$, gradient spoiler constant)*

De la même façon, l'angle de bascule influence l'amplitude de l'aimantation transversale initialement disponible et qui va décroître pendant $TE+TR$ (fig. C.11). Le tube d'eau déminéralisée a un T_1 et un T_2 longs : avec un

angle de bascule important, l'aimantation longitudinale disponible à l'équilibre dynamique est faible, mais l'aimantation transversale perdue longtemps et apparaît probablement dans plusieurs échos stimulés consécutifs, c'est pourquoi ce tube apparaît avec $\alpha=90^\circ$ malgré un T_1 long.

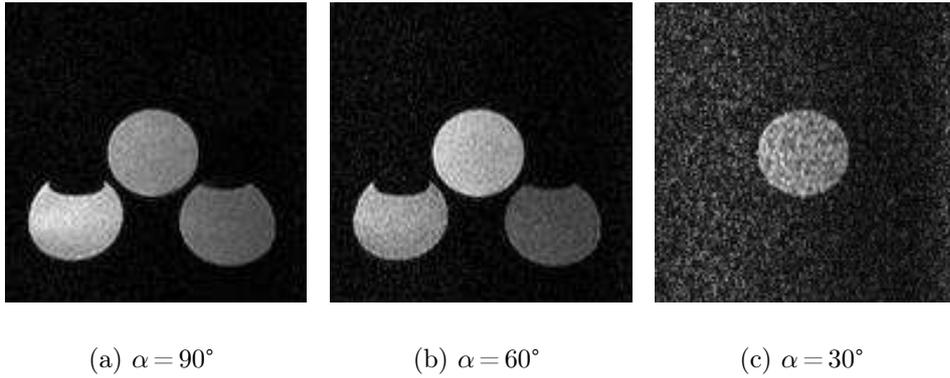


FIG. C.11 – *Effet de l'angle de bascule α , séquence CEFAST (TE/TR 20/33ms, gradient spoiler constant)*

Annexe D

Liste des travaux auxquels ce travail de thèse a donné lieu

Publications

E. Breton, P. Choquet, L. Bergua, M. Barthelmebs, B. Haraldson, J.J. Helwig, A. Constantinesco, M. Fischbach. In vivo micro computerized tomography (μ CT) measurement of the recruited surface area in rat during peritoneal dialysis. *Peritoneal Dialysis International*, 28 : sous presse, 2008.

C. Goetz, E. Breton, P. Choquet, V. Israel-Jost, A. Constantinesco. SPECT-low field MRI system for small animal imaging. *Journal of Nuclear Medicine*, 49 : 88-93, 2008.

J. Vappou, E. Breton, C. Goetz, P. Choquet, R. Willinger, A. Constantinesco. Magnetic resonance elastography compared with rotational rheometry for in vitro brain tissue viscoelasticity measurement. *MAGMA - Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine*, 20 : 273-8, 2007.

P. Choquet, A. Calon, E. Breton, F. Beck, C. Domon-Dell, J.N. Freund, A. Constantinesco. Multiple-contrast X-ray micro-CT visualization of colon malformations and tumors in situ in living mice. *Comptes Rendus Biologies*, 330 : 821-7, 2007.

E. Breton E, P. Choquet, C. Goetz, J. Kintz, R. Rooke, A. Constantinesco. Dual SPECT/MR imaging in small animal. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, 571 : 446-8, 2007.

C. Goetz, P. Choquet, L. Monassier, E. Breton, L. El Fertak, A. Constantinesco. Micro-imagerie anatomo-fonctionnelle hépatobiliaire de la souris normale par tomographie X et scintigraphie planaire sténopée. *ITBM-RBM*, 27 : 194-202, 2006.

J. Vappou, R. Willinger, E. Breton, C. Goetz, P. Choquet, A. Constantinesco. Dynamic viscoelastic shear properties of soft matter by magnetic resonance elastography using a low-field dedicated system. *Journal of Rheology*, 50 : 531-41, 2006.

Communications par affiche

E. Breton, C. Goetz, P. Choquet, L. Monassier, D. Ben Sellem, S. Cimarelli, J. Detour, A. Constantinesco. IRM cardiaque du rat à 0,1 tesla. 45ème colloque de médecine nucléaire de langue française, Bordeaux, France, 2007.

C. Goetz, E. Breton, P. Choquet, V. Israël-Jost, L. Monassier, A. Constantinesco. Étude de la fonction ventriculaire globale de la souris par TEMP synchronisée des cavités cardiaques. 1ère journées de recherche en imagerie médicale (JRIM), Dijon, France, 2007.

E. Breton, L. Bergua, P. Choquet, M. Fischbach, M. Barthelmebs, C. Loichot, J.J. Helwig, A. Constantinesco. In vivo evaluation of the peritoneal surface area in rat with X-ray micro computerized tomography (μ CT). 39th annual meeting of the American Society of Nephrology, San Diego CA, USA, 2006.

L. Bergua, E. Breton, M. Fischbach, P. Choquet, A. Constantinesco, C. Loichot, M. Barthelmebs, J.J. Helwig. Peritoneal membrane recruitment could be assessed in rats with micro computerized tomography (μ CT). 39th annual meeting of the American Society of Nephrology, San Diego CA, USA, 2006.

C. Goetz, P. Choquet, L. Monassier, E. Breton, L. Elfertak, J. Auwerx, A. Constantinesco. Influence of a cholic acid diet on the hepatobiliary

function in mice using pinhole single photon scintigraphy. 1st meeting of the European Society of Molecular Imaging, Paris, France, 2006.

E. Breton, P. Choquet, C. Goetz, J. Kintz, P. Erbs, R. Rooke, A. Constantinesco. Dual SPECT/MR imaging in small animal. 1st European Conference on Molecular Imaging Technology (Euromedim), Marseille, France, 2006.

J. Vappou, E. Breton, P. Choquet, A. Constantinesco, R. Willinger. Characterization of dynamic viscoelastic properties of soft tissues by magnetic resonance elastography. 3rd Annual European Rheology Conference, Heraklion, Greece, 2006.

E. Breton, C. Goetz, P. Choquet, A. Constantinesco. Low field MRI in mouse. 4th annual meeting of The Society for Molecular Imaging, Cologne, Germany, 2005.

P. Choquet, A. Calon, E. Breton, C. Goetz, C. Domon, J.N. Freund, A. Constantinesco. Mouse phenotyping using μ CT : an example. 4th annual meeting of The Society for Molecular Imaging, Cologne, Germany, 2005.

Communications orales

C. Goetz, E. Breton, J. Detour, P. Choquet, D. Ben Sellem, S. Cimarelli, A. Constantinesco. Imagerie multimodale du petit animal : validation d'un dispositif TEMP-IRM. 45ème colloque de médecine nucléaire de langue française, Bordeaux, France, 2007.

E. Breton, C. Goetz, J. Kintz, P. Choquet, N. Accart, P. Erbs, R. Rooke, A. Constantinesco. IRM à 0,1T d'un modèle murin de gliome intra-cérébral pour le contrôle longitudinal d'une stratégie de thérapie génique. 3èmes journées de recherche en imagerie médicale (JRIM), Dijon, France, 2007.

E. Breton. Evaluation of peritoneal surface recruitment with μ CT. Séminaire invité, Service de pédiatrie générale / Néphrologie, Heidelberg, Allemagne, 2006.

Bibliographie

- [1] M.D. Abramoff, P.J. Magalhaes, and S.J. Ram. Image processing with ImageJ. *Biophotonics Int*, 11(7) :36–41, 2004.
- [2] M. Allard, D. Doucet, P. Kien, B. Bonnemain, and J.M. Caille. Experimental study of DOTA-gadolinium : Pharmacokinetics and pharmacologic properties. *Invest Radiol*, 23(SUPPL. 1) :S271–S274, 1988.
- [3] I. Aoki, S. Naruse, and C. Tanaka. Manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI) of brain activity and applications to early detection of brain ischemia. *NMR Biomed*, 17(8) :569–580, 2004.
- [4] A.S. Arbab, J. Ueki, K. Koizumi, and T. Araki. Effects of extracellularNa⁺ and Ca²⁺ ions and Ca²⁺ channel modulators on the cell-associated activity of 99mTc-MIBI and 99mTc-tetrofosmin in tumour cells. *Nucl Med Commun*, 24(2) :155–166, 2003.
- [5] S. Arbogast-Ravier, F. Xu, P. Choquet, and A. Constantinesco. Dedicated low field MRI : a promising low-cost technique. *Med Biol Eng Comput*, 33(5) :735–739, 1995.
- [6] A. Arcella, G. Carpinelli, G. Battaglia, M. D’Onofrio, F. Santoro, R.T. Ngomba, V. Bruno, P. Casolini, F. Giangaspero, and F. Nicoletti. Phar-

- macological blockade of group II metabotropic glutamate receptors reduces the growth of glioma cells in vivo. *Neuro Oncol*, 7(3) :236–245, 2005.
- [7] D. Ballon, M.C. Graham, S. Miodownik, and J.A. Koutcher. Doubly tuned solenoidal resonators for small animal imaging and spectroscopy at 1.5 Tesla. *Magn Reson Imaging*, 7(2) :155–162, 1989.
- [8] J.R. Basford, T.R. Jenkyn, K.-N. An, R.L. Ehman, G. Heers, and K.R. Kaufman. Evaluation of healthy and diseased muscle with magnetic resonance elastography. *Arch Phys Med Rehabil*, 83(11) :1530–1536, 2002.
- [9] F. Beck, K. Chawengsaksophak, P. Waring, R.J. Playford, and J.B. Furness. Reprogramming of intestinal differentiation and intercalary regeneration in Cdx2 mutant mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(13) :7318–7323, 1999.
- [10] C. Becker, M.C. Fantini, C. Schramm, H.A. Lehr, S. Wirtz, A. Nikolaev, J. Burg, S. Strand, R. Kiesslich, S. Huber, H. Ito, N. Nishimoto, K. Yoshizaki, T. Kishimoto, P.R. Galle, M. Blessing, S. Rose-John, and M.F. Neurath. Tgf- β suppresses tumor progression in colon cancer by inhibition of IL-6 trans-signaling. *Immunity*, 21(4) :491–501, 2004.
- [11] C. Becker, M.C. Fantini, S. Wirtz, A. Nikolaev, R. Kiesslich, H.A. Lehr, P.R. Galle, and M.F. Neurath. In vivo imaging of colitis and colon cancer development in mice using high resolution chromoendoscopy. *Gut*, 54(7) :950–954, 2005.
- [12] F. Beekman and B.F. Hutton. Multi-modality imaging on track. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 34(9) :1410–1414, 2007.
- [13] F.J. Beekman, F. Van Der Have, B. Vastenhouw, A.J.A. Van Der Linden, P.P. Van Rijk, J.P.H. Burbach, and M.P. Smidt. U-SPECT-I : a novel system for submillimeter-resolution tomography with radiolabeled molecules in mice. *J Nucl Med*, 46(7) :1194–1200, 2005.
- [14] R. Bekereditjian, T. Hilbel, A. Filusch, A. Hansen, A. Benz, J. Zehelein, and H.F. Kuecherer. Fourier phase and amplitude analysis for automated objective evaluation of myocardial contrast echocardiograms : Phase imaging in contrast echocardiography. *Int J Cardiovasc Imaging*, 19(2) :117–128, 2003.

- [15] S.F. Bensamoun, S.I. Ringleb, L. Littrell, Q. Chen, M. Brennan, R.L. Ehma, and K.-N. An. Determination of thigh muscle stiffness using magnetic resonance elastography. *J Magn Reson Imaging*, 23(2) :242–247, 2006.
- [16] L.E. Bilston, Z. Liu, and N. Phan-Thien. Large strain behaviour of brain tissue in shear : Some experimental data and differential constitutive model. *Biorheology*, 38(4) :335–345, 2001.
- [17] J. Bishop, A. Feintuch, N.A. Bock, B. Nieman, J. Dazai, L. Davidson, and R.M. Henkelman. Retrospective gating for mouse cardiac MRI. *Magn Reson Med*, 55(3) :472–477, 2006.
- [18] C. Bonhomme, I. Duluc, E. Martin, K. Chawengsaksophak, M.-P. Chenard, M. Kedinger, F. Beck, J.-N. Freund, and C. Domon-Dell. The Cdx2 homeobox gene has a tumour suppressor function in the distal colon in addition to a homeotic role during gut development. *Gut*, 52(10) :1465–1471, 2003.
- [19] J. Booij, K. De Bruin, M.M.L. De Win, C. Lavini, G.J. Den Heeten, and J.B.A. Habraken. Imaging of striatal dopamine transporters in rat brain with single pinhole SPECT and co-aligned MRI is highly reproducible. *Nucl Med Biol*, 30(6) :643–649, 2003.
- [20] J.M. Boone, O. Velazquez, and S.R. Cherry. Small-animal X-ray dose from micro-CT. *Mol Imaging*, 3(3) :149–158, 2004.
- [21] Dave W.A. Brands, Peter H.M. Bovendeerd, Gerrit W.M. Peters, Jac S.H.M. Wismans, Michel H.J.W. Paas, and Jan L.M.J. van Bree. Comparison of the dynamic behaviour of brain tissue and two model materials. In *Stapp Car Crash Conference Proceedings*, volume P-350, pages 313–320, 1999.
- [22] A.C.S. Brau, L.W. Hedlund, and G.A. Johnson. Cine magnetic resonance microscopy of the rat heart using cardiorespiratory-synchronous projection reconstruction. *J Magn Reson Imaging*, 20(1) :31–38, 2004.
- [23] E. Breton, P. Choquet, C. Goetz, J. Kintz, P. Erbs, R. Rooke, and A. Constantinesco. Dual SPECT/MR imaging in small animal. *Nucl Instrum Methods Phys Res A*, 571(1-2 SPEC. ISS.) :446–448, 2007.

- [24] K. E. Britton. Nuclear medicine, state of the art and science. *Radiography*, 1(1) :13–27, June 1995.
- [25] M.-A. Brockmann, S. Ulmer, J. Leppert, R. Nadrowitz, R. Wuestenberg, I. Nolte, D. Petersen, C. Groden, A. Giese, and S. Gottschalk. Analysis of mouse brain using a clinical 1.5 T scanner and a standard small loop surface coil. *Brain Res*, 1068(1) :138–142, 2006.
- [26] H. Brurok, J. Schjøtt, K. Berg, J.O.G. Karlsson, and P. Jynge. Manganese and the heart : Acute cardiodepression and myocardial accumulation of manganese. *Acta Physiol Scand*, 159(1) :33–40, 1997.
- [27] P. T. Callaghan. *Principles of Nuclear Magnetic Resonance Microscopy*. Oxford University Press, New York, 1994.
- [28] S.K. Carlson, K.L. Classic, C.E. Bender, and S.J. Russell. Small animal absorbed radiation dose from serial micro-computed tomography imaging. *Mol Imaging Biol*, 9(2) :78–82, 2007.
- [29] C. Catana, Y. Wu, Qi J. Pichler B. Judenhofer, M., and S. Cherry. Simultaneous PET and NMR. *J Nucl Med*, 47 :1968–1976, 2006.
- [30] D. Cavanaugh, E. Johnson, R.E. Price, J. Kurie, E.L. Travis, and D.D. Cody. In vivo respiratory-gated micro-CT imaging in small-animal oncology models. *Mol Imaging*, 3(1) :55–62, 2004.
- [31] A. Chagnac, P. Herskovitz, Y. Ori, T. Weinstein, J. Hirsh, M. Katz, and U. Gafer. Effect of increased dialysate volume on peritoneal surface area among peritoneal dialysis patients. *J Am Soc Nephrol*, 13(10) :2554–2559, 2002.
- [32] A. Chagnac, P. Herskovitz, T. Weinstein, S. Elyashiv, J. Hirsh, I. Hammel, and U. Gafer. The peritoneal membrane in peritoneal dialysis patients : Estimation of its functional surface area by applying stereologic methods to computerized tomography scans. *J Am Soc Nephrol*, 10(2) :342–346, 1999.
- [33] P.L. Chow, D.B. Stout, E. Komisopoulou, and A.F. Chatziioannou. A method of image registration for small animal, multi-modality imaging. *Phys Med Biol*, 51(2) :379–390, 2006.

- [34] D.K. Chu, M.C. Jordan, J.K. Kim, M.A. Couto, and K.P. Roos. Comparing isoflurane with tribromoethanol anesthesia for echocardiographic phenotyping of transgenic mice. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 45(4) :8–13, 2006.
- [35] T.A. Connors. The choice of prodrugs for gene directed enzyme prodrug therapy of cancer. *Gene Ther*, 2(10) :702–709, 1995.
- [36] T.A. Connors and R.J. Knox. Prodrugs in cancer chemotherapy. *Stem Cells*, 13(5) :501–511, 1995.
- [37] A. Constantinesco, C. Goetz, V. Israel-Jost, and P. Choquet. What does the future hold for small animal SPECT imaging?/Quel avenir pour l'imagerie TEMP du petit animal? *Médecine Nucléaire*, 31(4 SPEC. ISS.) :183–192, 2007.
- [38] J.D.C. Crisp. *Y.C. Fung, N. Perrone, M. Anliker. Biomechanics : its foundations and objectives*, chapter Properties of tendon and skin, pages 141–179. Prentice-Hall :Englewood Cliffs, 1972.
- [39] J. Crossgrove and W. Zheng. Manganese toxicity upon overexposure. *NMR Biomed*, 17(8) :544–553, 2004.
- [40] R.L. Dedrick. Interspecies scaling of regional drug delivery. *J Pharm Sci*, 75(11) :1047–1052, 1986.
- [41] M.A. Dresner, G.H. Rose, P.J. Rossman, R. Muthupillai, A. Manduca, and R.L. Ehman. Magnetic resonance elastography of skeletal muscle. *J Magn Reson Imaging*, 13(2) :269–276, 2001.
- [42] P. Erbs, E. Regulier, J. Kintz, P. Leroy, Y. Poitevin, F. Exinger, R. Jund, and M. Mehtali. In vivo cancer gene therapy by adenovirus-mediated transfer of a bifunctional yeast cytosine deaminase/uracil phosphoribosyltransferase fusion gene. *Cancer Res*, 60(14) :3813–3822, 2000.
- [43] M.J. Esperanca and D.L. Collins. Peritoneal dialysis efficiency in relation to body weight. *J Pediat Surg*, 1 :162–169, 1966.
- [44] P. Faure, B.-T. Doan, and J.-C. Beloeil. In vivo-high resolution three-dimensional MRI studies of rat joints at 7 T. *NMR Biomed*, 16(8) :484–493, 2003.

- [45] A. Feintuch, Y. Zhu, J. Bishop, L. Davidson, J. Dazai, B.G. Bruneau, and R.M. Henkelman. 4D cardiac MRI in the mouse. *NMR Biomed*, 20(3) :360–365, 2007.
- [46] R.J. Fiel, J.J. Alletto, C.M. Severin, P.A. Nickerson, M.A. Acara, and R.J. Pentney. MR imaging of normal rat brain at 0.35 T and correlated histology. *J Magn Reson Imaging*, 1(6) :651–656, 1991.
- [47] M. Fischbach, A.C. Michallat, G. Zollner, C. Dheu, M. Barthelmebs, J.J. Helwig, C. Loichot, B. Escande, K.P. Schmitt, F. Schaefer, B. Haraldsson, and C. Jacques. Measurement by magnetic resonance imaging of the peritoneal membrane in contact with dialysate in rats. *Adv Perit Dial*, 21 :17–20, 2005.
- [48] M.F. Flessner, J. Lofthouse, and A. Williams. Increasing peritoneal contact area during dialysis improves mass transfer. *J Am Soc Nephrol*, 12(10) :2139–2145, 2001.
- [49] F. Flin, J.-B. Brzoska, D. Coeurjolly, R.A. Pieritz, B. Lesaffre, C. Coléou, P. Lamboley, O. Teytaud, G.L. Vignoles, and J.-F. Delesse. Adaptive estimation of normals and surface area for discrete 3-D objects : Application to snow binary data from X-ray tomography. *IEEE Trans Image Process*, 14(5) :585–596, 2005.
- [50] J. Frahm, W. Hänicke, and K.D. Merboldt. Transverse coherence in rapid FLASH NMR imaging. *J Magn Reson Imaging*, 72 :307–314, 1987.
- [51] Y.C. Fung. *Biomechanics : motion, flow, stress and growth*. Springer Verlag, New York, 1990.
- [52] S. Gagandeep, R. Brew, B. Green, S. E. Christmas, D. Klatzmann, G. J. Poston, and A. R. Kinsella. Prodrug-activated gene therapy : Involvement of an immunological component in the "bystander effect". *Cancer Gene Ther*, 3(2) :83–88, 1996.
- [53] E.V. Garcia, T.L. Faber, C.D. Cooke, R.D. Folks, J. Chen, and C. Santana. The increasing role of quantification in clinical nuclear cardiology : The emory approach. *J Nucl Cardiol*, 14(4 SPEC. ISS.) :420–432, 2007.

- [54] C. Goetz, E. Breton, P. Choquet, V. Israel-Jost, and A. Constantinesco. SPECT/MRI dual modality system for small animal imaging. *J Nucl Med*, In press, 2007.
- [55] C. Goetz, P. Choquet, L. Monassier, E. Breton, L. Elfertak, and A. Constantinesco. Micro-imagerie anatomofonctionnelle hépatobiliaire de la souris normale par tomodensitométrie X et scintigraphie planaire sténopée / hepatobiliary morphology and function in normal mice using micro-CT and planar pinhole scintigraphy. *ITBM-RBM*, 27(4) :194–202, 2006.
- [56] R.H. Goldbrunner, M. Bendszus, M. Sasaki, T. Kraemer, K.H. Plate, K. Roosen, and J.-C. Tonn. Vascular endothelial growth factor-driven glioma growth and vascularization in an orthotopic rat model monitored by magnetic resonance imaging. *Neurosurgery*, 47(4) :921–930, 2000.
- [57] G. Graf, J. Mester, M. Clausen, E. Henze, F. Bitter, P. Heidenreich, and W.-E. Adam. Reconstruction of Fourier coefficients : A fast method to get polar amplitude and phase images of gated SPECT. *J Nucl Med*, 31(11) :1856–1861, 1990.
- [58] P. Gries, A. Constantinesco, B. Brunot, and A. Facello. MR Imaging of hand and wrist with a dedicated 0.1 T low field imaging system. *Magn Reson Imaging*, 9(6) :949–953, 1991.
- [59] M.L. Gyngell. The application of steady-state free precession in rapid 2DFT NMR imaging : FAST and CE-FAST sequences. *Magn Reson Imaging*, 6(4) :415–419, 1988.
- [60] A. Haase, J. Frahm, D. Matthaei, W. Hänicke, and K.-D. Merboldt. FLASH imaging. Rapid NMR imaging using low flip-angle pulses. *J Magn Reson Imaging*, 67 :258–266, 1986.
- [61] U. Hamhaber, F.A. Grieshaber, J.H. Nagel, and U. Klose. Comparison of quantitative shear wave MR-elastography with mechanical compression tests. *Magn Reson Med*, 49(1) :71–77, 2003.
- [62] U. Hamhaber, I. Sack, S. Papazoglou, J. Rump, D. Klatt, and J. Braun. Three-dimensional analysis of shear wave propagation observed by in vivo

- magnetic resonance elastography of the brain. *Acta Biomater*, 3(1) :127–137, 2007.
- [63] N. Hayashi, Y. Watanabe, T. Masumoto, H. Mori, S. Aoki, K. Ohtomo, O. Okitsu, and T. Takahashi. Utilization of low-field MR scanners. *Magn Reson Med Sci*, 3(1) :27–38, 2004.
- [64] G. Heers, T. Jenkyn, M. Alex Dresner, M.-O. Klein, J.R. Basford, K.R. Kaufman, R.L. Ehman, and K.-N. An. Measurement of muscle activity with magnetic resonance elastography. *Clin Biomech*, 18(6) :537–542, 2003.
- [65] E. Heijman, W. de Graaf, P. Niessen, A. Nauerth, G. van Eys, L. de Graaf, K. Nicolay, and G.J. Strijkers. Comparison between prospective and retrospective triggering for mouse cardiac MRI. *NMR Biomed*, 20(4) :439–447, 2007.
- [66] R.J. Herfkens, P. Davis, L. Crooks, L. Kaufman, D. Price, and T. Miller. Nuclear magnetic resonance imaging of the abnormal live rat and correlations with tissue characteristics. *Radiology*, 141 :211–218, 1981.
- [67] R.J. Herfkens, R. Sievers, L. Kaufman, P.E. Sheldon, D.A. Ortendahl, and M.J. Lipton. Nuclear magnetic resonance imaging of the infarcted muscle : a rat model. *Radiology*, 147 :761–764, 1983.
- [68] C. Hindorf, M. Ljungberg, and S.E. Strand. Evaluation of parameters influencing S values in mouse dosimetry. *J Nucl Med*, 45(11) :1960–1965, 2004.
- [69] D. I. Hoult and P. C. Lauterbur. The sensitivity of the zeugmatographic experiment involving human samples. *J Magn Reson Imaging*, 34 :425–433, 1979.
- [70] D. I. Hoult and R. E. Richards. The signal-to-noise in the nuclear magnetic resonance experiment. *J Magn Reson Imaging*, 24 :71–85, 1976.
- [71] M. Hrapko, J.A.W. Van Dommelen, G.W.M. Peters, and J.S.H.M. Wismans. The mechanical behaviour of brain tissue : Large strain response and constitutive modelling. *Biorheology*, 43(5) :623–636, 2006.

- [72] A.R. Hsu, L.C. Hou, A. Veeravagu, J.M. Greve, H. Vogel, V. Tse, and X. Chen. In vivo near-infrared fluorescence imaging of integrin $\alpha_V\beta_3$ in an orthotopic glioblastoma model. *Mol Imaging Biol*, 8(6) :315–323, 2006.
- [73] X. Hu and D.G. Norris. Advances in high-field magnetic resonance imaging. *Annu Rev Biomed Eng*, 6 :157–184, 2004.
- [74] Y.M. Huang and R. Klette. A comparison of property estimators in stereo-logy and digital geometry. In *Combinatorial Image Analysis*, volume 3322, pages 421–431, 2004.
- [75] I. Iltis, F. Kober, C. Dalmaso, C. Lan, P.J. Cozzone, and M. Bernard. In vivo assessment of myocardial blood flow in rat heart using magnetic resonance imaging : Effect of anesthesia. *J Magn Reson Imaging*, 22(2) :242–247, 2005.
- [76] V. Israël-Jost. *Optimisation de la reconstruction en tomographie d'émission monophotonique avec collimateur sténopé*. Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg, France, 2006.
- [77] V. Israël-Jost, P. Choquet, S. Salmon, C. Blondet, E. Sonnendrücker, and A. Constantinesco. Pinhole SPECT imaging : Compact projection/backprojection operator for efficient algebraic reconstruction. *IEEE Trans Med Imaging*, 25(2) :158–167, 2006.
- [78] B.J.A. Janssen, T. De Celle, J.J.M. Debets, A.E. Brouns, M.F. Callahan, and T.L. Smith. Effects of anesthetics on systemic hemodynamics in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 287(4 56-4) :H1618–H1624, 2004.
- [79] T.R. Jenkyn, R.L. Ehman, and K.-N. An. Noninvasive muscle tension measurement using the novel technique of magnetic resonance elastography (mre). *J Biomech*, 36(12) :1917–1921, 2003.
- [80] G. A. Johnson, M. B. Thompson, and B. P. Drayer. Tree-dimensional MRI microscopy of the rat brain. *Magn Reson Med*, 4(4) :351–365, 1987.
- [81] S.C. Jost, J.E. Wanebo, S.-K. Song, M.R. Chicoine, K.M. Rich, T.A. Woolsey, J.S. Lewis, R.H. Mach, J. Xu, and J.R. Garbow. In vivo imaging in a murine model of glioblastoma. *Neurosurgery*, 60(2) :360–370, 2007.

- [82] B. Kastler, D. Vetter, Z. Patay, and P. Germain. *Comprendre l'IRM*. Masson, 2003.
- [83] H. Kim, L.R. Furenlid, M.J. Crawford, D.W. Wilson, H.B. Barber, T.E. Peterson, W.C.J. Hunter, Z. Liu, J.M. Woolfenden, and H.H. Barrett. SemiSPECT : A small-animal single-photon emission computed tomography (SPECT) imager based on eight cadmium zinc telluride (CZT) detector arrays. *Med Phys*, 33(2) :465–474, 2006.
- [84] S.-K. Kim, T.G. Cargioli, M. Machluf, W. Yang, Y. Sun, R. Al-Hashem, S.U. Kim, P.M. Black, and R.S. Carroll. PEX-producing human neural stem cells inhibit tumor growth in a mouse glioma model. *Clin Cancer Res*, 11(16) :5965–5970, 2005.
- [85] F. Kober, I. Iltis, P.J. Cozzzone, and M. Bernard. Myocardial blood flow mapping in mice using high-resolution spin labeling magnetic resonance imaging : Influence of ketamine/xylazine and isoflurane anesthesia. *Magn Reson Med*, 53(3) :601–606, 2005.
- [86] K.S. Kolbert, T. Watson, C. Matei, S. Xu, J.A. Koutcher, and G. Sgouros. Murine S factors for liver, spleen, and kidney. *J Nucl Med*, 44(5) :784–791, 2003.
- [87] G.A. Krombach, M. Saeed, C.B. Higgins, V. Novikov, and M.F. Wendland. Contrast-enhanced MR delineation of stunned myocardium with administration of MnCl₂ in rats. *Radiology*, 230(1) :183–190, 2004.
- [88] N. Kubo, S. Zhao, Y. Fujiki, A. Kinda, N. Motomura, C. Katoh, T. Shiga, H. Kawashima, Y. Kuge, and N. Tamaki. Evaluating performance of a pixel array semiconductor spect system for small animal imaging. *Ann Nucl Med*, 19(7) :633–639, 2005.
- [89] M. Kuzlan, K. Pawlaczyk, K. Wieczorowska-Tobis, K. Korybalska, A. Breborowicz, and D.G. Oreopoulos. Peritoneal surface area and its permeability in rats. *Perit Dial Int*, 17(3) :295–300, 1997.
- [90] A.E. Larsson, S. Melgar, E. Rehnstrom, E. Michaelsson, L. Svensson, P. Hockings, and L.E. Olsson. Magnetic resonance imaging of experimental mouse

- colitis and association with inflammatory activity. *Inflamm Bowel Dis*, 12(6) :478–485, 2006.
- [91] N. Le Jeune, N. Perek, D. Denoyer, and F. Dubois. Influence of glutathione depletion on plasma membrane cholesterol esterification and on Tc-99m-sestamibi and Tc-99m-tetrofosmin uptakes : A comparative study in sensitive U-87-MG and multidrug-resistant MRP1 human glioma cells. *Cancer Biother Radiopharm*, 19(4) :411–421, 2004.
- [92] C.J. Lewa. Magnetic resonance imaging in the presence of mechanical waves. *Spectrosc lett*, 24 :55–67, 1991.
- [93] C.J. Lewa. Elastic properties imaging by periodical displacement NMR measurements (EPMRI). In *Proceedings of the IEEE Ultrasonics Symposium*, volume 2, pages 691–694, 1994.
- [94] A.M. Loening and S.S. Gambhir. AMIDE : a free software tool for multimodality medical image analysis. *Mol Imaging*, 2(3) :131–137, 2003.
- [95] R. Loganathan, M. Bilgen, B. Al-Hafez, S.V. Zhero, M.D. Alenezy, and I.V. Smirnova. Exercise training improves cardiac performance in diabetes : In vivo demonstration with quantitative cine-MRI analyses. *J Appl Physiol*, 102(2) :665–672, 2007.
- [96] W. E. Lorensen and H. E. Cline. Marching cubes : a high resolution 3D surface construction algorithm. *Comput Graph (ACM)*, 21(4) :163–169, 1987.
- [97] W. Mai, C.T. Badea, C.T. Wheeler, L.W. Hedlund, and G.A. Johnson. Effects of breathing and cardiac motion on spatial resolution in the microscopic imaging of rodents. *Magn Reson Med*, 53(4) :858–865, 2005.
- [98] A. Manduca, T.E. Oliphant, M.A. Dresner, J.L. Mahowald, S.A. Kruse, E. Amromin, J.P. Felmlee, J.F. Greenleaf, and R.L. Ehman. Magnetic resonance elastography : Non-invasive mapping of tissue elasticity. *Med Image Anal*, 5(4) :237–254, 2001.
- [99] P.K. Marsden, D. Strul, S.F. Keevil, S.C.R. Williams, and D. Cash. Simultaneous PET and NMR. *Br J Radiol*, 75(SPEC. ISS.) :S53–59, 2002.

- [100] L. Martí-Bonmatí and M. Kormano. MR equipment acquisition strategies : Low-field or high-field scanners. *Eur Radiol*, 7(SUPPL. 5) :S263–S268, 1997.
- [101] P.J. McCracken, A. Manduca, J. Felmlee, and R.L. Ehman. Mechanical transient-based magnetic resonance elastography. *Magn Reson Med*, 53(3) :628–639, 2005.
- [102] A.L. McKnight, J.L. Kugel, P.J. Rossman, A. Manduca, L.C. Hartmann, and R.L. Ehman. MR elastography of breast cancer : Preliminary results. *Am J Roentgenol*, 178(6) :1411–1417, 2002.
- [103] S. R. Meikle, P. Kench, M. Kassiou, and R. B. Banati. Small animal SPECT and its place in the matrix of molecular imaging technologies. *Phys Med Biol*, 50 :R45–R61, 2005.
- [104] S. Miraux, S. Lemièrre, R. Pineau, M. Pluderi, P. Canioni, J.-M. Francioni, E. Thiaudière, L. Bello, A. Bikfalvi, and P. Auguste. Inhibition of FGF receptor activity in glioma implanted into the mouse brain using the tetracyclin-regulated expression system. *Angiogenesis*, 7(2) :105–113, 2004.
- [105] S.M. Mirsattari, F. Bihari, L.S. Leung, R.S. Menon, Z. Wang, J.R. Ives, and R. Bartha. Physiological monitoring of small animals during magnetic resonance imaging. *J Neurosci Methods*, 144(2) :207–213, 2005.
- [106] R.A. Moats, S. Velan-Mullan, R. Jacobs, I. Gonzalez-Gomez, D.J. Dubowitz, T. Taga, V. Khankaldyyan, L. Schultz, S. Fraser, M.D. Nelson, and W.E. Laug. Micro-MRI at 11.7 T of a murine brain tumor model using delayed contrast enhancement. *Mol Imaging*, 2(3) :150–158, 2003.
- [107] K. Montet-Abou, J.L. Daire, M.K. Ivancevic, J.N. Hyacinthe, D. Nguyen, M. Jorge-Costa, D.R. Morel, and J.P. Vallée. Optimization of cardiac cine in the rat on a clinical 1.5-T MR system. *MAGMA*, 19(3) :144–151, 2006.
- [108] F.L. Moolten. Drug sensitivity ("suicide") genes for selective cancer chemotherapy. *Cancer Gene Ther*, 1(4) :279–287, 1994.
- [109] C.A. Mullen, L. Anderson, K. Woods, M. Nishino, and D. Petropoulos. Ganciclovir chemoablation of herpes thymidine kinase suicide gene-modified

- tumors produces tumor necrosis and induces systemic immune responses. *Hum Gene Ther*, 9(14) :2019–2030, 1998.
- [110] C.A. Mullen, M.M. Coale, R. Lowe, and R.M. Blaese. Tumors expressing the cytosine deaminase suicide gene can be eliminated in vivo with 5-fluorocytosine and induce protective immunity to wild type tumor. *Cancer Res*, 54(6) :1503–1506, 1994.
- [111] R. Muthupillai, D.J. Lomas, P.J. Rossman, J.F. Greenleaf, A. Manduca, and R.L. Ehman. Magnetic resonance elastography by direct visualization of propagating acoustic strain waves. *Science*, 269(5232) :1854–1857, 1995.
- [112] S. Nagamachi, S. Jinnouchi, K. Nabeshima, R. Nishii, L. Flores II, T. Kodama, K. Kawai, S. Tamura, K. Yokogami, T. Samejima, and S. Wakisaka. The correlation between 99mTc-MIBI uptake and MIB-1 as a nuclear proliferation marker in glioma - A comparative study with 201TI. *Neuroradiology*, 43(12) :1023–1030, 2001.
- [113] M. Nahrendorf, K.-H. Hiller, K. Hu, G. Ertl, A. Haase, and W.R. Bauer. Cardiac magnetic resonance imaging in small animal models of human heart failure. *Med Image Anal*, 7(3) :369–375, 2003.
- [114] M. Nahrendorf, K.-H. Hiller, D. Theisen, K. Hu, C. Waller, R. Kaiser, A. Haase, G. Ertl, R. Brinkmann, and W.R. Bauer. Effect of transmural laser revascularization on myocardial perfusion and left ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. *Radiology*, 225(2) :487–493, 2002.
- [115] M. Nahrendorf, K. Hu, D. Fraccarollo, K.-H. Hiller, A. Haase, W.R. Bauer, and G. Ertl. Time course of right ventricular remodeling in rats with experimental myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 284(1 53-1) :-, 2003.
- [116] M. Nahrendorf, K. Hu, K.-H. Hiller, P. Galuppo, D. Fraccarollo, G. Schweizer, A. Haase, G. Ertl, W.R. Bauer, and J. Bauersachs. Impact of hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase inhibition on left ventricular remodeling after myocardial infarction : An experimental serial cardiac magnetic resonance imaging study. *J Am Coll Cardiol*, 40(9) :1695–1700, 2002.

- [117] M. Nahrendorf, F. Wiesmann, K. Hiller, K. Hu, C. Waller, J. Ruff, T.E. Lanz, S. Neubauer, A. Haase, G. Ertl, and W.R. Bauer. Serial cine-magnetic resonance imaging of left ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. *J Magn Reson Imaging*, 14(5) :547–555, 2001.
- [118] A.L. Nelson, S.A. Algon, J. Munasinghe, O. Graves, L. Goumnerova, D. Burstein, S.L. Pomeroy, and J.Y.H. Kim. Magnetic resonance imaging of patched heterozygous and xenografted mouse brain tumors. *J Neurooncol*, 62(3) :259–267, 2003.
- [119] S. Nicolle. *Identification et Modélisation du comportement viscoélastique linéaire et non linéaire du tissu cérébral en situation d'impacts*. PhD thesis, Université Louis Pasteur, Strasbourg, 2003.
- [120] S. Nicolle, M. Lounis, R. Willinger, and J.-F. Palierne. Shear linear behavior of brain tissue over a large frequency range. *Biorheology*, 42(3) :209–223, 2005.
- [121] A. Obenaus and A. Smith. Radiation dose in rodent tissues during micro-CT imaging. *J Xray Sci Technol*, 12(4) :241–249, 2004.
- [122] T.E. Oliphant, A. Manduca, R.L. Ehman, and J.F. Greenleaf. Complex-valued stiffness reconstruction for magnetic resonance elastography by algebraic inversion of the differential equation. *Magn Reson Med*, 45(2) :299–310, 2001.
- [123] E. Parzy, Y. Fromes, C. Wary, O. Vignaux, E. Giacomini, A. Leroy-Willig, and P.G. Carlier. Ultrafast multiplanar determination of left ventricular hypertrophy in spontaneously hypertensive rats with single-shot spin-echo nuclear magnetic resonance imaging. *J Hypertens*, 21(2) :429–436, 2003.
- [124] Eléonore Pauwels. *Ethics for researchers. Facilitating research excellence in FP7*. European Commission, 2007.
- [125] D.G. Pavel and P.A. Briandet. Quo vadis phase analysis. *Clin Nucl Med*, 8(11) :564–575, 1983.
- [126] N. Perek, N. Le Jeune, D. Denoyer, and F. Dubois. MRP-1 protein expression and glutathione content of in vitro tumor cell lines derived from human

- glioma carcinoma U-87-MG do not interact with ^{99m}Tc -glucarate uptake. *Cancer Biother Radiopharm*, 20(4) :391–400, 2005.
- [127] O. Pereztol-Valdés, J. Candell-Riera, C. Santana-Boado, J. Angel, S. Aguadé-Bruix, J. Castell-Conesa, E.V. Garcia, and J. Soler-Soler. Correspondence between left ventricular 17 myocardial segments and coronary arteries. *Eur Heart J*, 26(24) :2637–2643, 2005.
- [128] P.J. Pickhardt, R.B. Halberg, A.J. Taylor, B.Y. Durkee, J. Fine, F.T. Lee Jr., and J.P. Weichert. Microcomputed tomography colonography for polyp detection in an in vivo mouse tumor model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(9) :3419–3422, 2005.
- [129] A. Raad. *Nouvelles techniques de couplage d’antennes en IRM*. Thèse de doctorat, Université de Paris-Sud, centre d’Orsay, 1991.
- [130] S.I. Ringleb, S.F. Bensamoun, Q. Chen, A. Manduca, K.-N. An, and R.L. Ehman. Applications of magnetic resonance elastography to healthy and pathologic skeletal muscle. *J Magn Reson Imaging*, 25(2) :301–309, 2007.
- [131] S.I. Ringleb, Q. Chen, D.S. Lake, A. Manduca, R.L. Ehman, and K.-N. An. Quantitative shear wave magnetic resonance elastography : Comparison to a dynamic shear material test. *Magn Reson Med*, 53(5) :1197–1201, 2005.
- [132] E.L. Ritman. Micro-computed tomography - current status and developments. *Annu Rev Biomed Eng*, 6 :185–208, 2004.
- [133] O. Rouviere, M. Yin, M.A. Dresner, P.J. Rossman, L.J. Burgart, J.L. Fidler, and R.L. Ehman. MR elastography of the liver : Preliminary results. *Radiology*, 240(2) :440–448, 2006.
- [134] D. J. Rowland, J. R. Garbow, R. Laforest, and A. Z. Snyder. Registration of ^{18}F FDG microPET and small-animal MRI. *Nucl Med Biol*, 32 :567–572, 2005.
- [135] J. Rubin, M. Clawson, A. Planch, and Q. Jones. Measurements of peritoneal surface area in man and rat. *Am J Med Sci*, 295(5) :453–458, 1988.

- [136] M. Rudin. MR microscopy on rats in vivo at 4.7 T using surface coils. *Magn Reson Med*, 5(5) :443–448, 1987.
- [137] J. Ruff, F. Wiesmann, T. Lanz, and A. Haase. Magnetic resonance imaging of coronary arteries and heart valves in a living mouse : Techniques and preliminary results. *J Magn Reson Imaging*, 146(2) :290–296, 2000.
- [138] I. Sack, B. Beierbach, U. Hamhaber, D. Klatt, and J. Braun. Non-invasive measurement of brain viscoelasticity using magnetic resonance elastography. *NMR Biomed*, In press, 2007.
- [139] I. Sack, J. Bernarding, and J. Braun. Analysis of wave patterns in MR elastography of skeletal muscle using coupled harmonic oscillator simulations. *Magn Reson Imaging*, 20(1) :95–104, 2002.
- [140] J.K. Saha, J. Xia, J.M. Grondin, S.K. Engle, and J.A. Jakubowski. Acute hyperglycemia induced by ketamine/xylazine anesthesia in rats : Mechanisms and implications for preclinical models. *Exp Biol Med*, 230(10) :777–784, 2005.
- [141] C. Scherfler, E. Donnemiller, M. Schocke, K. Dierkes, C. Decristoforo, M. Oberladstätter, C. Kolbitsch, F. Zschiegner, G. Riccabona, W. Poewe, and G. Wenning. Evaluation of striatal dopamine transporter function in rats by in vivo beta- ^{123}I CIT pinhole SPECT. *NeuroImage*, 17(1) :128–141, 2002.
- [142] C. Scherfler, S.W. Scholz, E. Donnemiller, C. Decristoforo, M. Oberladstätter, N. Stefanova, E. Diederer, I. Virgolini, W. Poewe, and G.K. Wenning. Evaluation of ^{123}I IBZM pinhole SPECT for the detection of striatal dopamine D2 receptor availability in rats. *NeuroImage*, 24(3) :822–831, 2005.
- [143] N.U. Schramm, G. Ebel, U. Engeland, T. Schurrat, M. Behe, and T.M. Behr. High-resolution SPECT using multipinhole collimation. *IEEE Trans Nucl Sci*, 50 III(2) :315–320, 2003.
- [144] T. Schurrat, H. Alfke, M. Béhé, T. Maina, B. Nock, H. Mäcke, J. T. Heverhagen, K. J. Klose, H. Halling, T. M. Behr, and N. Schramm. Molecular

- gastrin receptor localisation in mice using high-resolution SPET-MRI image fusion. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 30(5) :800, 2003.
- [145] L.Z. Shuck and S.H. Advani. Rheological response of human brain tissue in shear. *J Basic Eng Trans ASME*, 94 Ser D(4) :905–911, 1972.
- [146] A. C. Silva, J. H. Lee, I. Aoki, and A. P. Koretsky. Manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI) : methodological and practical considerations. *NMR Biomed*, 17(8) :532–543, 2004.
- [147] R. Sinkus, M. Tanter, S. Catheline, J. Lorenzen, C. Kuhl, E. Sondermann, and M. Fink. Imaging anisotropic and viscous properties of breast tissue by magnetic resonance-elastography. *Magn Reson Med*, 53(2) :372–387, 2005.
- [148] R. Sinkus, M. Tanter, T. Xydeas, S. Catheline, J. Bercoff, and M. Fink. Viscoelastic shear properties of in vivo breast lesions measured by MR elastography. *Magn Reson Imaging*, 23(2 SPEC. ISS.) :159–165, 2005.
- [149] N. Sladoje, I. Nystrom, and P.K. Saha. Measurements of digitized objects with fuzzy borders in 2D and 3D. *Image Vision Comput*, 23(2) :123–132, 2005.
- [150] D.A. Smith, L.P. Clarke, J.A. Fiedler, F.R. Murtagh, E.A. Bonaroti, G.J. Sengstock, and G.W. Arendash. Use of a clinical MR scanner for imaging the rat brain. *Brain Res Bull*, 31(1-2) :115–120, 1993.
- [151] M.G. Stabin, T.E. Peterson, G.E. Holburn, and M.A. Emmons. Voxel-based mouse and rat models for internal dose calculations. *J Nucl Med*, 47(4) :655–659, 2006.
- [152] A.B. Stein, S. Tiwari, P. Thomas, G. Hunt, C. Levent, M.F. Stoddard, X.-L. Tang, R. Bolli, and B. Dawn. Effects of anesthesia on echocardiographic assessment of left ventricular structure and function in rats. *Basic Res Cardiol*, 102(1) :28–41, 2007.
- [153] A. Stroh, C. Faber, T. Neuberger, P. Lorenz, K. Sieland, P.M. Jakob, A. Webb, H. Pilgrimm, R. Schober, E.E. Pohl, and C. Zimmer. In vivo detection limits of magnetically labeled embryonic stem cells in the rat

- brain using high-field (17.6 T) magnetic resonance imaging. *NeuroImage*, 24(3) :635–645, 2005.
- [154] A.D. Suchitra, S.A. Dkhar, D.G. Shewade, and C.H. Shashindran. Relative efficacy of some prokinetic drugs in morphine-induced gastrointestinal transit delay in mice. *World J Gastroenterol*, 9(4) :779–783, 2003.
- [155] S.A. Suddarth and G.A. Johnson. Three-dimensional MR microscopy with large arrays. *Magn Reson Med*, 18(1) :132–141, 1991.
- [156] R. Taschereau, P.L. Chow, and A.F. Chatziioannou. Monte carlo simulations of dose from microCT imaging procedures in a realistic mouse phantom. *Med Phys*, 33(1) :216–224, 2006.
- [157] K.L. Thibault and S.S. Margulies. Age-dependent material properties of the porcine cerebrum : Effect on pediatric inertial head injury criteria. *J Biomech*, 31(12) :1119–1126, 1998.
- [158] D. Thomas, V.A. Ferrari, M. Janik, D.H. Kim, S. Pickup, J.D. Glickson, and R. Zhou. Quantitative assessment of regional myocardial function in a rat model of myocardial infarction using tagged MRI. *MAGMA*, 17(3-6) :179–187, 2004.
- [159] G. Thürmer and C.A. Wüthrich. Varying neighborhood parameters for the computation of normals on surfaces in discrete space. In FE Wolter and M Patrikalakis Eds, editors, *Conf Computer Graphics International*, pages 616–625, 1998.
- [160] K. Uffmann, S. Maderwald, W. Ajaj, C.G. Galban, S. Mateiescu, H.H. Quick, and M.E. Ladd. In vivo elasticity measurements of extremity skeletal muscle with mr elastography. *NMR Biomed*, 17(4) :181–190, 2004.
- [161] J.-P. Vallée, M.K. Ivancevic, D. Nguyen, D.R. Morel, and M. Jaconi. Current status of cardiac MRI in small animals. *MAGMA*, 17(3-6) :149–156, 2004.
- [162] J. Vappou. *Biomechanical study of brain tissue : An in vivo approach using magnetic resonance elastography and large strain modeling*. Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg, 2007.

- [163] J. Vappou, R. Willinger, E. Breton, P. Choquet, C. Goetz, and A. Constantinesco. Dynamic viscoelastic shear properties of soft matter by magnetic resonance elastography using a low-field dedicated system. *J Rheol*, 50(4) :531–541, 2006.
- [164] D. Vilain, D. Daou, D. Casset-Senon, M. Faraggi, and D. Le Guludec. Optimal 3-dimensional method for right and left ventricular Fourier phase analysis in electrocardiography-gated blood-pool SPECT. *J Nucl Cardiol*, 8(3) :371–378, 2001.
- [165] D.J. Wagenaar, M. Kapusta, J. Li, and B.E. Patt. Rationale for the combination of nuclear medicine with magnetic resonance for pre-clinical imaging. *Technol Cancer Res Treat*, 5(4) :343–350, 2006.
- [166] S. Walrand, F. Jamar, M. De Jong, and S. Pauwels. Evaluation of novel whole-body high-resolution rodent SPECT (Linoview) based on direct acquisition of linogram projections. *J Nucl Med*, 46(11) :1872–1880, 2005.
- [167] H.Z. Wang and S.J. Riederer. A spoiling sequence for suppression of residual transverse magnetization. *Magn Reson Med*, 15(2) :175–191, 1990.
- [168] N. Watzinger, G.K. Lund, C.B. Higgins, M.F. Wendland, H.-J. Weinmann, and M. Saeed. The potential of contrast-enhanced magnetic resonance imaging for predicting left ventricular remodeling. *J Magn Reson Imaging*, 16(6) :633–640, 2002.
- [169] G. Wegner. Chirurgische bemerkungen uber die peritonealhole, mit besonderer berucksichtigung der ovariectomie. *Arch Klin Chir*, 20 :51–147, 1877.
- [170] D. Weishaupt, V. Koechli, B. Marincek, K. Pruessmann, and J. Froelich. *How does MRI work? An Introduction to the Physics and Function of Magnetic Resonance Imaging*. Springer, New York, 2006.
- [171] C.T. Winkelmann, S.D. Figueroa, T.L. Rold, W.A. Volkert, and T.J. Hoffman. Microimaging characterization of a B16-F10 melanoma metastasis mouse model. *Mol Imaging*, 5(2) :105–114, 2006.
- [172] B.J. Wintersperger, V.M. Runge, J. Biswas, M.F. Reiser, and S.O. Schönberg. Brain tumor enhancement in MR imaging at 3 Tesla : Comparison

- of SNR and CNR gain using TSE and GRE techniques. *Invest Radiol*, 42(8) :558–563, 2007.
- [173] G.L. Wolf and L. Baum. Cardiovascular toxicity and tissue proton T1 response to manganese injection in the dog and rabbit. *Am J Roentgenol*, 141 :193–197, 1983.
- [174] A.K.W. Wood, A.M. Klide, S. Pickup, and H.L. Kundel. Prolonged general anesthesia in MR studies of rats. *Acad Radiol*, 8(11) :1136–1140, 2001.
- [175] M.L. Wood, M. Silver, and V.M. Runge. Optimization of spoiler gradients in FLASH MRI. *Magn Reson Imaging*, 5(6) :455–463, 1987.
- [176] D.A. Woodrum, A.J. Romano, A. Lerman, U.H. Pandya, D. Brosh, P.J. Rossman, L.O. Lerman, and R.L. Ehman. Vascular wall elasticity measurement by magnetic resonance imaging. *Magn Reson Med*, 56(3) :593–600, 2006.
- [177] Y. Zur, M.L. Wood, and L.J. Neuringer. Spoiling of transverse magnetization in steady-state sequences. *Magn Reson Med*, 21(2) :251–263, 1991.

Applications précliniques de l'IRM à bas champ et sa place dans un contexte multimodal microTEMP et microTDM

Résumé

L'imagerie préclinique in vivo des petits animaux offre une approche unique d'étude des phénomènes physiopathologiques. Ce travail de thèse étudie le rôle que pourrait jouer l'IRM à bas champ 0,1T en imagerie préclinique compte tenu de ses caractéristiques économiques et techniques. Après avoir présenté les spécificités de l'imagerie préclinique, les choix techniques mis en oeuvre afin de réaliser de l'IRM à 0,1T in vivo du petit animal sont détaillés. Ces développements ont permis l'obtention de données quantitatives à 0,1T dans des applications variées d'IRM : anatomique (suivi longitudinal d'une croissance tumorale), fonctionnelle (dynamique cardiaque synchronisée) et avec gradients de sensibilisation au mouvement (ERM). Dans un contexte multimodal, la complémentarité des techniques d'imagerie est abordée à travers d'une part la conception simple et originale d'une modalité duale TEMP/IRM à bas champ, et d'autre part l'utilisation du CT pour mener certaines études de tissus mous.

Mots clés : résonance magnétique nucléaire, imagerie préclinique, IRM bas champ, μ CT, μ SPECT, multimodalité, petit animal

Preclinical use of low field MRI and its possible role in a multimodal microSPECT and microCT context

Abstract

In vivo preclinical imaging in small animals offers a unique insight in physiopathological processes. This PhD thesis is a study of the role that 0.1T low field MRI could play in preclinical imaging considering its economical and technical characteristics. The specificities of preclinical imaging are first presented, then the technical adaptations developed for in vivo small animal imaging using 0.1T MRI are detailed. These technical choices allow to obtain quantitative results using 0.1T MRI in various in vivo imaging studies: anatomical (longitudinal follow-up of tumor growth), functional (triggered cardiac dynamic) and motion-sensitizing gradients (MRE). In a multimodal context, the complementarity of imaging techniques is shown through the simple and original conception of a dual SPECT/low field MRI modality, and the use of microCT in some specific soft tissues studies.

Key-words: nuclear magnetic resonance, preclinical imaging, low field MRI, μ CT, μ SPECT, multimodality, small animal