

THESE DE L'UNIVERSITE DE LYON

Délivrée par

L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1
École Doctorale : Électronique, Électrotechnique, Automatique

DIPLÔME DE DOCTORAT

(arrêté du 7 août 2006)

Soutenue publiquement le 11 juillet 2012 par

Tangi ROUSSEL

**Développements de méthodes de
traitement et d'acquisition du signal
pour la Spectroscopie de Résonance
Magnétique 2D *in vivo***

JURY

Rapporteurs : **Olivier LAFON** *Professeur des Universités, Université de Lille I*
Lotfi SENHADJI *Professeur des Universités, Université de Rennes I*

Examineurs : **Serge AKOKA** *Professeur des Universités, Université de Nantes*
Thomas LANGE *PhD, University Medical Center Freiburg, Allemagne*

Directeur de thèse : **Sophie CAVASSILA** *Professeur des Universités, Université de Lyon I*
Co-directeur de thèse : **Hélène RATINEY** *Chargée de recherches, Université de Lyon I*

RÉSUMÉ EN FRANÇAIS

La Spectroscopie de Résonance Magnétique (SRM) constitue un outil non-invasif unique pour l'exploration biochimique du métabolisme des organismes vivants. Cependant, en raison des champs magnétiques couramment utilisés chez l'homme et le petit animal, la SRM *in vivo* du proton ne permet pas de quantifier précisément la concentration de tous les métabolites présents dans le cerveau. La SRM à deux dimensions spectrales (SRM 2D), technique utilisée en routine en chimie, permet de séparer efficacement les signatures spectrales des métabolites facilitant ainsi leur identification et leur quantification en termes de concentrations. Les travaux réalisés dans le cadre de cette thèse concernent le développement de méthodes d'acquisition et de quantification de spectres RMN 2D J-résolus *in vivo* et sont présentés suivant deux axes majeurs. Le premier axe concerne les travaux relatifs à la SRM 2D J-résolue conventionnelle qui ont fait l'objet du développement d'une séquence J-PRESS sur un imageur 7 T pour l'acquisition de spectres 2D sur le cerveau de rat. Les données acquises sont traitées avec une méthode d'analyse spectrale développée et optimisée spécifiquement pour la quantification de données SRM 2D J-résolues, reposant sur une connaissance a priori et un ajustement numérique dans le domaine temporel. Le second axe concerne les travaux relatifs à la réduction de la durée d'acquisition en SRM 2D avec le développement de techniques basées sur le concept récent de RMN ultrarapide. Une nouvelle séquence de SRM 2D J-résolue ultrarapide a été développée et validée sur un imageur 7 T et a permis l'acquisition de spectres 2D complets avec une durée d'acquisition de l'ordre de la seconde.

TITRE EN ANGLAIS

Development of new acquisition strategies and quantification methods for *in vivo* 2D Magnetic Resonance Spectroscopy

RÉSUMÉ EN ANGLAIS

In vivo proton Magnetic Resonance Spectroscopy (MRS) is a powerful tool for metabolic profiling because this technique is non-invasive and quantitative. However, conventional localized spectroscopy presents important *in vivo* metabolic information through overlapped spectral signatures greatly affecting the quantification accuracy. Two-dimensional (2D) MRS, originally developed for analytical chemistry, has great potential to unambiguously distinguish metabolites. Therefore, metabolite quantification is improved allowing accurate estimation of their concentrations. In this thesis, the research findings are presented under two main headings. The first line of research focuses on conventional 2D MRS J-resolved. A J-PRESS sequence was developed allowing the acquisition of *in vivo* 2D MRS spectra, which were processed by a dedicated quantification method. Experiments were performed on the rat brain using a 7 T imaging system and different sampling strategies were evaluated. The quantification method, specifically developed to handle 2D J-resolved MRS data quantification in time domain, is based on a strong prior-knowledge. However, 2D MRS suffers from long acquisition times due to the collection of numerous increments in the indirect dimension. Therefore, the second line of research focuses on the reduction of acquisition time using recently developed methods based on the ultrafast NMR concept. A new pulse sequence was designed, allowing 3D localized ultrafast 2D J-resolved spectroscopic acquisition on a 7T small animal imaging sys-

tem. This breakthrough allows the acquisition of a complete 2D spectrum in a single scan, resulting in acquisition times of a few seconds.

DISCIPLINE

Traitement du signal, Application au génie biologique et médical

MOTS-CLÉS

Spectroscopie de Résonance Magnétique 2D, Algorithme de quantification, Séquences IRM, Expérimentation animale, RMN ultrarapide

INTITULÉ & ADRESSE DU LABORATOIRE

CREATIS, UMR CNRS 5220, INSERM U1044
Université Claude Bernard Lyon1, INSA Lyon
Domaine Scientifique de la Doua, CPE
3, rue Victor Grignard
69616 Villeurbanne, FRANCE

Table des matières

Introduction	1
I La spectroscopie RMN 2D <i>in vivo</i>	7
1 La RMN 2D quantitative	9
1.1 Introduction	9
1.2 Le phénomène de résonance magnétique nucléaire	10
1.2.1 Définition	10
1.2.2 Historique	11
1.2.3 Caractéristiques du spin nucléaire	12
1.2.4 Principe du phénomène de RMN	13
1.2.5 La séquence d'écho de spin	18
1.3 La spectroscopie RMN <i>in vivo</i> quantitative	19
1.3.1 Intérêts	19
1.3.2 La spectroscopie mono-voxel	21
1.3.3 Description du signal	24
1.3.4 Quantification des signaux RMN <i>in vivo</i>	26
1.4 La spectroscopie RMN 2D <i>in vivo</i>	29
1.4.1 Intérêts	29
1.4.2 Corrélations homonucléaires	30
1.4.3 Intérêts et limitations pour l'application <i>in vivo</i>	34
1.4.4 Approches pour la quantification du signal	35
1.4.5 Spectroscopie RMN 2D <i>in vivo</i> quantitative : état de l'art	41
1.5 Conclusion	46

2	Développements méthodologiques pour la quantification de signaux spectroscopiques RMN 2D <i>in vivo</i>	47
2.1	Introduction	47
2.2	2D J-PRESS WISH : séquence de de spectroscopie RMN 2D J-résolue localisée	49
2.2.1	Développement de la séquence	49
2.2.2	Reconstruction des signaux	52
2.3	NEMESIS : procédure de quantification des signaux de SRM 2D J-résolue	56
2.3.1	Principe	57
2.3.2	Modélisation paramétrique	58
2.3.3	Connaissance <i>a priori</i>	59
2.3.4	Ajustement numérique & implémentation informatique	59
2.3.5	Prise en compte de la ligne de base	62
2.3.6	Stratégie de quantification	66
2.4	Validation théorique de la SRM 2D J-résolue <i>in vivo</i> quantitative	69
2.4.1	Principe de l'étude	70
2.4.2	Méthode	71
2.4.3	Résultats & discussion	72
2.5	Validation de NEMESIS sur signaux simulés : études Monte Carlo	74
2.5.1	Principe	74
2.5.2	Validation de la stratégie de quantification	75
2.5.3	Influence du nombre d'incrémentes N_1 acquis sur la quantification de signaux de SRM 2D J-résolue	77
2.6	Stratégies d'échantillonnage irrégulier	80
2.6.1	Principe	81
2.6.2	CRISO : algorithme pour l'optimisation de l'échantillonnage de la dimension t_1	81
2.6.3	Validation sur signaux simulés : étude Monte Carlo	84
2.6.4	Validation expérimentale	85
2.7	Validation expérimentale de NEMESIS : quantification de signaux de SRM 2D J-résolue acquis <i>in vivo</i>	87
2.7.1	Méthode	87
2.7.2	Résultats & discussion	89
2.8	Perspectives et conclusions	91

II La spectroscopie RMN 2D ultrarapide 103

1 La RMN 2D ultrarapide 105

1.1 Introduction 105

1.2 Principe général 107

1.3 Excitation ultrarapide 107

1.3.1 Excitation sélective et encodage spatial discret 107

1.3.2 Excitation continue 109

1.3.3 Compensation des termes non quadratiques 115

1.3.4 Comparaison des schémas d'excitation 116

1.4 Détection des signaux spectroscopiques ultrarapides 119

1.4.1 La technique d'imagerie Echo Planar 119

1.4.2 Détection de type EPI modifié : schéma de P. Giraudeau . . . 125

1.5 Reconstruction du spectre RMN 2D J-résolu 126

1.5.1 Signaux pairs et impairs 126

1.5.2 Séparation des données 127

1.5.3 Forme de raie et apodisation spatiale 127

1.5.4 Obtention du spectre 2D final 129

1.6 Conclusions 130

2 La spectroscopie RMN 2D J-résolue ultrarapide localisée *in vivo* 131

2.1 Introduction 131

2.2 ufJPRESSadj : séquence de calibration localisée des impulsions adiabatiques 132

2.2.1 Principe 133

2.2.2 Impulsion à balayage en fréquence : forme et caractéristiques . 134

2.2.3 Développement de la séquence 136

2.2.4 Reconstruction et interprétation du profil d'excitation 138

2.2.5 Démarche expérimentale pour la calibration des impulsions Smoothed Chirp 180° 139

2.2.6 Résultats expérimentaux & discussion 141

2.3 ufJPRESS : séquence de spectroscopie RMN 2D J-résolue ultrarapide localisée 142

2.3.1 Principe 143

2.3.2	Développement de la séquence	143
2.3.3	Fonctionnalités spéciales	146
2.3.4	Limitations	149
2.3.5	Démarche expérimentale	150
2.4	Optimisation & discussion	151
2.4.1	Préparation : bandes de saturation	151
2.4.2	Motifs d'excitation	154
2.4.3	Excitation	155
2.4.4	Détection : forme de l'impulsion de refocalisation	161
2.4.5	Accumulation des signaux	163
2.5	Reconstruction des signaux	164
2.5.1	Procédure de reconstruction	165
2.5.2	Suppression des artefacts de « bords »	166
2.5.3	Recalage automatique par inter-corrélation	166
2.5.4	Approche pour la correction de phase	167
2.5.5	Apodisation spatiale optimisée des signaux	169
2.5.6	Transformée de Fourier suivant la dimension conventionnelle	170
2.6	Validation expérimentale	170
2.7	Perspectives et conclusions	177
Références bibliographiques relative à la SRM 2D ultrarapide		179
Conclusion et perspectives		183
Annexes		191
A Conditions expérimentales		191
A.1	Caractéristiques techniques des systèmes IRM	191
A.2	Elaboration des solutions pour les études <i>in vitro</i>	192
A.2.1	Tubes de solution de métabolites	192
A.2.2	Tubes de solution d'éthanol	192
A.2.3	Fantôme GABA/éthanol	193

B	Code source des scripts MATLAB et des séquences IRM	195
B.1	2D J-PRESS WISH : séquence de SRM 2D J-résolue localisée	195
B.2	NEMESIS : fonction modèle de la procédure de quantification	197
B.3	ufPRESSadj : séquence de calibration localisée des impulsions adiabatiques	201
B.4	ufJPRESS : séquence de SRM 2D J-résolue ultrarapide localisée . . .	203

Introduction

La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) est une technique extrêmement puissante pour l'analyse chimique et biochimique. Développée initialement dans les années 50 pour des applications dans le domaine de la chimie, cette technique est progressivement devenue incontournable dans le milieu médical. Les années 70 ont été marquées par les débuts d'une nouvelle modalité d'imagerie médicale : l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM). Cette technique, aujourd'hui employée en routine clinique, permet d'accéder à une information anatomique précieuse pour le diagnostic de certaines maladies chez l'homme. Afin de compléter le diagnostic, il est intéressant d'y apporter des informations biochimiques avec l'aide de la Spectroscopie de Résonance Magnétique (SRM).

La SRM du proton constitue l'une des rares techniques non invasives pour l'investigation du métabolisme. En évitant les gestes chirurgicaux lourds tels que la biopsie, cette technique donne l'accès à une information relative aux molécules présentes dans un tissu ou un organe du corps humain. Lorsque ces molécules participent au métabolisme, elles sont appelées métabolites et leurs concentrations constituent une information de grande valeur pour identifier une pathologie et établir le profil métabolique. A l'heure actuelle, la majorité des applications *in vivo* dans le cadre de la recherche clinique chez l'homme et la recherche sur le petit animal concerne l'étude des fonctions et des pathologies cérébrales. Ainsi, les principales études portent sur le cerveau traitent du dépistage tumorale [Zeng *et al.*, 2011, Opstad *et al.*, 2010, Seeger *et al.*, 2003, Ziegler *et al.*, 2001], du suivi thérapeutique, de la maladie d'Alzheimer [MacKay *et al.*, 1996], de l'épilepsie [Antel *et al.*, 2002] ou encore du profil métabolique lié au virus VIH¹ [Banakar *et al.*, 2008]. Ces études reposent sur la mesure quantitative des molécules participant au métabolisme cérébral. Les principaux métabolites détectables dans le cerveau par SRM du proton sont le N-acétylaspartate qui est un marqueur de l'intégrité du fonctionnement neuronal, la Choline qui est un marqueur de l'activité membranaire et de l'inflammation, la créatine qui est im-

¹Virus de l'Immunodéficience Humaine

pliquée dans le métabolisme énergétique, le myo-inositol qui est un marqueur de la souffrance gliale ou encore le lactate qui traduit tout processus pathologique ou tout dysfonctionnement. Dans le domaine des neurosciences, une attention particulière est portée sur certains métabolites tels que les neurotransmetteurs comprenant l'acide γ -aminobutyrique, le glutatamate ou la taurine. Toutefois, avec les champs magnétiques utilisés à l'heure actuelle chez l'homme (1,5 et 3 T) et le petit animal (4,7 et 7 T), ces métabolites font l'objet de mesures quantitatives imprécises.

L'intensité des champs magnétiques utilisés pour l'étude du petit animal n'a cessé d'augmenter et a quasiment doublé depuis dix ans (jusqu'à 16,4 T à ce jour). Cette montée en champ magnétique a largement bénéficié à la SRM quantitative du petit animal en offrant une meilleure résolution et de nouvelles possibilités en termes de quantification des concentrations métaboliques [Hong *et al.*, 2011]. Néanmoins, de telles avancées technologiques demeurent plus délicates à mettre en œuvre en recherche clinique chez l'homme, ce qui ouvre la voie pour d'autres approches méthodologiques en particulier pour la SRM *in vivo*.

La spectroscopie RMN bi-dimensionnelle (2D), technique utilisée en routine depuis la fin des années 70 dans le domaine de la chimie, offre depuis les années 90 de nouvelles perspectives dans le cadre d'études *in vivo* pour l'identification et la quantification des métabolites. Malgré une durée d'acquisition relativement importante, cette technique permet l'ajout d'une seconde dimension au signal RMN accordant la collecte d'informations supplémentaires dans le but de séparer et quantifier plus efficacement la contribution de chaque signal métabolique. A l'heure actuelle, la SRM 2D est principalement utilisée dans le cadre d'études du cerveau chez l'homme et le petit animal mais peu d'approches existent pour la quantification des signaux 2D et l'estimation des concentrations métaboliques.

Objectifs de la thèse

L'objet de cette thèse est de proposer des méthodes d'acquisition et de traitement du signal pour la SRM 2D *in vivo* quantitative dans le cadre de l'étude du petit animal avec un champ magnétique de 7 T. Les développements méthodologiques ont concerné à la fois l'acquisition spectroscopique avec la mise au point de deux séquences de SRM 2D et le traitement des signaux RMN 2D acquis avec l'élaboration d'une procédure de quantification automatique permettant d'estimer les concentrations des métabolites. La thèse est présentée en deux parties composées chacune de deux chapitres.

La première partie de la thèse concerne la SRM 2D conventionnelle. Le premier chapitre porte sur les notions essentielles de la RMN dans le cadre de la spectroscopie. La SRM *in vivo* mono-voxel y est abordée avec les différentes techniques qui en découlent. L'aspect quantitatif de la SRM *in vivo* est présenté en évoquant les limitations rencontrées à l'heure actuelle. La SRM 2D est proposée et décrite pour la spectroscopie haute-résolution puis dans le cadre de la spectroscopie *in vivo*. A l'heure actuelle, très peu d'approches existent pour la quantification des signaux RMN 2D. La méthode de quantification *ProFit*, développée par R. F. Schulte en 2006 [Schulte and Boesiger, 2006], est expliquée en détail. Ce chapitre s'achève en récapitulant les principales publications dans le domaine de la SRM 2D *in vivo*.

Le second chapitre présente les travaux réalisés dans le cadre de cette thèse concernant le développement de méthodes d'acquisition et de quantification des signaux de SRM 2D J-résolue acquis sur le petit animal avec un IRM 7 T. Une nouvelle séquence spectroscopique permettant l'acquisition de spectres RMN 2D J-résolus *in vivo* a été développée. Basée sur les travaux de L. N. Ryner [Ryner *et al.*, 1995], elle regroupe de nombreuses fonctionnalités originales telles que l'échantillonnage irrégulier suivant la dimension indirecte. Une procédure de quantification permettant l'estimation des concentrations des métabolites a également été développée. Dédiée à la quantification des données de SRM 2D J-résolue acquises sur le cerveau du petit animal, cette procédure est basée sur un fort *a priori*, une modélisation dans le domaine temporel et une stratégie de quantification permettant la réduction des erreurs d'estimation. Une étude théorique suivie d'une étude Monte Carlo mettent en évidence l'intérêt de la SRM 2D J-résolue pour l'estimation des concentrations métaboliques en comparaison avec la SRM 1D traditionnelle. Enfin, une approche originale relative à l'optimisation de l'échantillonnage suivant la dimension t_1 est présentée. La séquence et la procédure de quantification ont fait l'objet d'une validation expérimentale avec l'acquisition et la quantification de signaux de SRM 2D J-résolue *in vivo*.

Néanmoins, une limitation importante de la SRM 2D *in vivo* réside dans sa sensibilité et par conséquent sa durée d'acquisition. En 2002, l'équipe du Pr. L. Frydman met au point une technique permettant l'acquisition d'un spectre RMN 2D complet sur un spectromètre haute-résolution en une fraction de seconde [Frydman *et al.*, 2002]. Ces travaux ont été suivis par de nombreux développements de séquence d'impulsions et de motifs d'excitation ultrarapide tels que celui développé par P. Giraudeau [Giraudeau and Akoka, 2007] ouvrant de nouvelles perspectives en SRM 2D J-résolue ultrarapide. La seconde partie du manuscrit porte sur la technique de « RMN ultrarapide ». Le premier chapitre présente le principe de la SRM ultra-

rapide sous la forme d'une étude bibliographique dans le cadre de la spectroscopie haute-résolution. Les différents motifs d'excitation proposés dans la littérature sont présentés et leurs performances sont évaluées théoriquement.

Dans le dernier chapitre, une nouvelle séquence de spectroscopie RMN 2D J-résolue ultrarapide est proposée et développée avec succès sur un système IRM petit animal. Cette séquence permet l'acquisition spatialement localisée de spectres RMN 2D J-résolus complets en un temps record de l'ordre de la seconde. Les étapes de développement et d'optimisation de la séquence sont présentées en détail. Enfin, une étude finale, qui a fait l'objet d'une publication [Roussel *et al.*, 2012], a permis d'évaluer les performances de la SRM 2D ultrarapide localisée en termes de Rapport Signal Sur Bruit (RSB), de résolution spectrale et de localisation spatiale du signal sur un fantôme *in vitro* contenant un métabolite cérébral. Les résultats obtenus sont comparés à ceux obtenus en SRM 2D conventionnelle et sont discutés.

Références bibliographiques introductives

- [Antel *et al.*, 2002] Antel, S. B., Li, L. M., Cendes, F., Collins, D. L., Kearney, R. E., Shinghal, R., and Arnold, D. L. (2002). Predicting surgical outcome in temporal lobe epilepsy patients using MRI and MRSI. *Neurology*, 58(10) :1505–1512.
- [Banakar *et al.*, 2008] Banakar, S., Thomas, M. A., Deveikis, A., Watzl, J. Q. Y., Hayes, J., and Keller, M. A. (2008). Two-dimensional 1H MR spectroscopy of the brain in human immunodeficiency virus (HIV)-infected children. *J Magn Reson Imaging*, 27(4) :710–717.
- [Frydman *et al.*, 2002] Frydman, L., Scherf, T., and Lupulescu, A. (2002). The acquisition of multidimensional NMR spectra within a single scan. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 99(25) :15858–15862.
- [Giraudeau and Akoka, 2007] Giraudeau, P. and Akoka, S. (2007). A new detection scheme for ultrafast 2D J-resolved spectroscopy. *J. Magn. Reson.*, 186(2) :352–357.
- [Hong *et al.*, 2011] Hong, S.-T., Balla, D. Z., Shajan, G., Choi, C., Uğurbil, K., and Pohmann, R. (2011). Enhanced neurochemical profile of the rat brain using in vivo 1H NMR spectroscopy at 16.4 T. *Magn Reson Med*, 65(1) :28–34.
- [MacKay *et al.*, 1996] MacKay, S., Ezekiel, F., Di Sclafani, V., Meyerhoff, D. J., Gerson, J., Norman, D., Fein, G., and Weiner, M. W. (1996). Alzheimer disease and subcortical ischemic vascular dementia : evaluation by combining MR imaging segmentation and 1H MR spectroscopic imaging. *Radiology*, 198(2) :537–545.
- [Opstad *et al.*, 2010] Opstad, K. S., Wright, A. J., Bell, B. A., Griffiths, J. R., and Howe, F. A. (2010). Correlations between in vivo 1H MRS and ex vivo 1H HR-MAS metabolite measurements in adult human gliomas. *J Magn Reson Imaging*, 31(2) :289–297.

- [Roussel *et al.*, 2012] Roussel, T., Giraudeau, P., Ratiney, H., Akoka, S., and Cavassila, S. (2012). 3D localized 2D ultrafast J-resolved magnetic resonance spectroscopy : in vitro study on a 7T imaging system. *J. Magn. Reson.*, 215 :50–55.
- [Ryner *et al.*, 1995] Ryner, L. N., Sorenson, J. A., and Thomas, M. A. (1995). Localized 2D J-resolved 1H MR spectroscopy : strong coupling effects in vitro and in vivo. *Magn Reson Imaging*, 13(6) :853–869.
- [Schulte and Boesiger, 2006] Schulte, R. F. and Boesiger, P. (2006). ProFit : two-dimensional prior-knowledge fitting of J-resolved spectra. *NMR Biomed*, 19(2) :255–263.
- [Seeger *et al.*, 2003] Seeger, U., Klose, U., Mader, I., Grodd, W., and Nägele, T. (2003). Parameterized evaluation of macromolecules and lipids in proton MR spectroscopy of brain diseases. *Magn Reson Med*, 49(1) :19–28.
- [Zeng *et al.*, 2011] Zeng, Q., Liu, H., Zhang, K., Li, C., and Zhou, G. (2011). Noninvasive evaluation of cerebral glioma grade by using multivoxel 3D proton MR spectroscopy. *Magn Reson Imaging*, 29(1) :25–31.
- [Ziegler *et al.*, 2001] Ziegler, A., von Kienlin, M., Décorps, M., and Rémy, C. (2001). High glycolytic activity in rat glioma demonstrated in vivo by correlation peak 1H magnetic resonance imaging. *Cancer Res.*, 61(14) :5595–5600.

I La spectroscopie RMN 2D *in vivo*

Chapitre 1

La RMN 2D quantitative

1.1 Introduction

Avant de faire son apparition dans le domaine médical, la SRM est avant tout un outil puissant très utilisé dans le domaine de la chimie. Son principe repose sur le phénomène de RMN qui permet d'observer les modifications d'aimantation des noyaux d'une substance sous l'action d'un champ magnétique. La SRM constitue également un outil non-invasif unique pour l'exploration biochimique du métabolisme dans les organismes vivants. Ainsi, la SRM 1D *in vivo* du proton constitue la technique la plus répandue en SRM *in vivo*. Cependant, dans le cas des champs couramment utilisés chez l'homme (1,5 et 3 T) et chez le petit animal (7 et 9.4 T), les signaux RMN acquis à temps d'écho court (Cf. §1.3.2.1) sont caractérisés par un important enchevêtrement spectral des contributions des métabolites (molécules de petite taille) et des macromolécules (protéines, polypeptides et lipides) noyées dans le bruit de mesure. Malgré la grande richesse d'information biochimique contenue dans le spectre RMN *in vivo* acquis à temps d'écho court, la quantification des signaux et l'estimation fiable des concentrations métaboliques demeurent difficiles. Ainsi, seules les concentrations de quatre à cinq métabolites sont estimées de façon fiable alors que plus de trente bio-marqueurs dont d'importants neurotransmetteurs peuvent s'exprimer dans le spectre RMN proton. Parmi les techniques existantes

pour réduire l'enchevêtrement spectral complexe entre les signaux métaboliques, les techniques d'édition, « J-difference editing » en anglais, permettent d'obtenir d'excellents résultats en termes de quantification de certains métabolites couplés [Henry *et al.*, 2011]. Néanmoins, l'édition est spécifique à un métabolite donné ce qui limite grandement l'intérêt de la technique.

La spectroscopie RMN 2D, technique dérivant de la SRM traditionnelle, est utilisée en routine depuis la fin des années 70 dans le domaine de la chimie, en spectroscopie haute-résolution. La SRM 2D se décline principalement en deux variantes, la SRM J-résolue et la SRM de corrélation, exploitant les différentes corrélations existant entre les noyaux d'une molécule. Les années 90 marquent le début des premières acquisitions de SRM 2D *in vivo* sur l'homme [Ryner *et al.*, 1995b] à bas champ. Appliquée *in vivo*, cette technique permet de séparer efficacement les signatures spectrales des métabolites facilitant ainsi leur identification.

Ce chapitre présente le phénomène de RMN à travers différentes notions essentielles telles que le spin, l'excitation et les relaxations T_1 et T_2 . La séquence d'écho de spin, mise au point par E. L. Hahn en 1950 [Hahn, 1950], y est détaillée. A la fin des années 80, l'arrivée de la SRM *in vivo* mono-voxel suscite un grand intérêt. L'apport de cette technique est évoqué et le principe des séquences de SRM est détaillé. L'aspect quantitatif de la SRM est introduit dans le cadre de l'estimation des concentrations métaboliques. Les limitations actuelles de la SRM *in vivo* (1D) pour la quantification sont ensuite évoquées et la spectroscopie RMN 2D est introduite. Par la suite, les différents types de SRM 2D sont brièvement détaillés et leur intérêt pour l'étude *in vivo* est évalué. A l'heure actuelle, très peu d'approches existent pour la quantification des signaux RMN 2D. La méthode de quantification *ProFit*, développée par R. F. Schulte en 2006 [Schulte and Boesiger, 2006] et unique en son genre lors du début du travail de thèse, est expliquée en détail. Ce chapitre s'achève par un tableau synthétique des publications dans le domaine de la SRM 2D *in vivo*.

1.2 Le phénomène de résonance magnétique nucléaire

1.2.1 Définition

Le phénomène de RMN consiste à étudier les modifications d'aimantation des noyaux d'une substance sous l'action conjointe de deux champs : un champ magné-

tique statique constant et intense, noté \vec{B}_0 , et un champ électromagnétique faible \vec{B}_1 induit par une onde radio-fréquence (RF).

Un noyau est observable par RMN si son spin nucléaire est non nul. Ainsi, les noyaux les plus étudiés en RMN sont le proton 1H , le phosphore ^{13}P , le carbone ^{13}C , le sodium ^{23}Na et le fluor ^{19}F . Dans le cadre de l'imagerie IRM, le noyau d'hydrogène est le plus étudié en raison de sa grande présence dans les organismes vivants. Tous les travaux relatifs à la RMN présentés par la suite sont appliqués au noyau d'hydrogène 1H appelé proton.

1.2.2 Historique

Le phénomène de RMN a été découvert en 1938 par I. Rab et décrit en 1946 par E. Purcell. La même année, Martin Packard, avec l'aide de F. Block et W. W. Hansen, mesure les premiers signaux RMN issus d'un échantillon d'eau avec un champ magnétique d'environ 0.2 T [Bloch *et al.*, 1946] (Fig. 1.1).



FIG. 1.1: Premiers signaux RMN expérimentaux acquis en 1946 sur un échantillon d'eau avec un champ de 0.2 T.

En 1951, J. Arnold, avec l'aide de Martin Packard, mesure le premier spectre RMN de l'éthanol [Arnold *et al.*, 1951]. Les déplacements chimiques sont détectés avec une faible résolution (Fig 1.2). Avec l'avènement de bobines capables de générer des champs magnétiques intenses et homogènes, la résolution spectrale franchit un pas en 1956 et les journaux évoquent la RMN « super haute-résolution ». Le spectre RMN de l'éthanol est redécouvert avec l'apparition de multiplets induits par les couplages (Fig 1.3).



FIG. 1.2: Premier spectre RMN acquis sur un échantillon d'éthanol en 1951.



FIG. 1.3: Extrait d'un article présentant un spectre RMN « super haute-résolution » acquis en 1956 sur un échantillon d'éthanol.

1.2.3 Caractéristiques du spin nucléaire

Un noyau est observable par RMN s'il possède des propriétés magnétiques caractérisées par son spin nucléaire. Le spin nucléaire décrit le moment magnétique d'un noyau. Le spin est couramment représenté par un vecteur en rotation sur lui-même. A l'état de repos, l'orientation du spin est aléatoire. Sous l'action du champ magnétique intense \vec{B}_0 , le spin précesse autour de l'axe du champ (Fig. 1.4) avec la pulsation de Larmor w_0 exprimée à l'équation (1.1). Le rapport gyromagnétique γ est le rapport entre le moment magnétique et le moment cinétique du noyau observé et vaut 42,576 MHz/T dans le cas du proton.

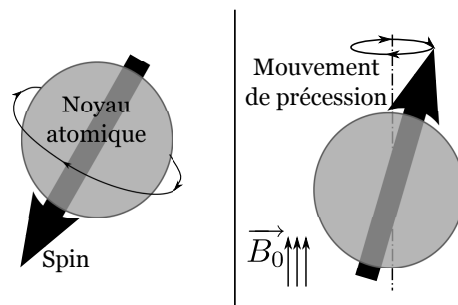


FIG. 1.4: Le spin nucléaire et son mouvement de précession sous l'action d'un champ magnétique \vec{B}_0 .

$$w_0 = \gamma \cdot B_0 \quad (1.1)$$

Une expérience de RMN consiste à exploiter le moment magnétique résultant d'un ensemble de protons, appelé aimantation macroscopique et noté \vec{M} . Le vecteur \vec{M} se décompose dans le repère $R(O; \vec{x}; \vec{y}; \vec{z})$ en deux composantes : l'aimantation longitudinale notée \vec{M}_z qui est parallèle à \vec{B}_0 , et l'aimantation transversale $\vec{M}_{x,y}$ qui est perpendiculaire à \vec{B}_0 (Fig. 1.5).

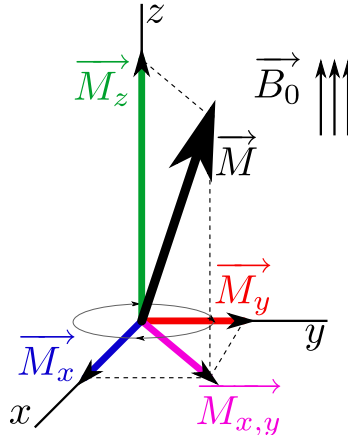


FIG. 1.5: Décomposition de l'aimantation macroscopique \vec{M} en une aimantation longitudinale \vec{M}_z et une aimantation transversale $\vec{M}_{x,y}$.

1.2.4 Principe du phénomène de RMN

Plusieurs approches sont possibles pour décrire le phénomène de RMN. Il est décrit ici principalement avec des outils de la mécanique classique en quatre étapes brièvement détaillées dans les quatre paragraphes suivants. On pourra se reporter à l'ouvrage de B. Kastler intitulé « Comprendre l'IRM » [Kastler, 2006] pour intégrer les bases de l'IRM.

1.2.4.1 Etat de repos

Soit un ensemble de protons. A l'état de repos, les spins sont orientés aléatoirement, la résultante magnétique \vec{M} de l'ensemble des protons est nulle, les aimantations longitudinale et transversale sont donc également nulles. Placés dans le champ magnétique \vec{B}_0 , tous les spins nucléaires vont s'orienter suivant la direction du champ \vec{B}_0 en se divisant en deux populations : l'une orientée dans le sens de \vec{B}_0 (sens parallèle) et l'autre orientée dans le sens inverse (antiparallèle). D'après la loi de Boltzmann, les protons orientés dans le sens parallèle sont toujours plus nombreux, formant une aimantation macroscopique $\vec{M} = \vec{M}_0$ dans la même direction et

le même sens que \vec{B}_0 . Les mouvements de précession des spins n'étant pas en phase, l'aimantation transversale résultante $\vec{M}_{x,y}$ est nulle (Fig. 1.6).

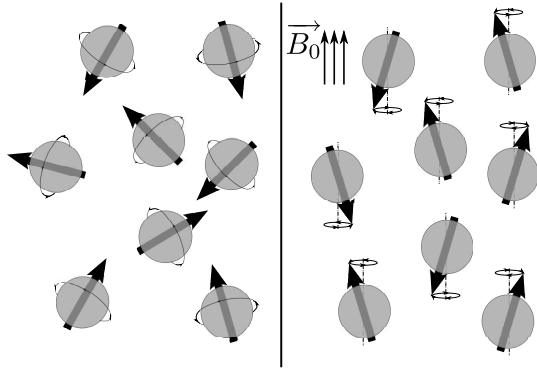


FIG. 1.6: Ensemble de spins sous l'action d'un champ magnétique \vec{B}_0 : l'aimantation longitudinale résultante \vec{M}_z s'aligne avec le champ alors que l'aimantation transversale $\vec{M}_{x,y}$ s'annule.

1.2.4.2 Excitation

Le phénomène de résonance concerne certains systèmes physiques sensibles à une fréquence propre ω_0 . Dans le cas d'un système constitué d'un ensemble de spins, cette fréquence propre est la fréquence de Larmor. Un apport d'énergie à cette fréquence aura pour conséquence la perturbation de l'état d'équilibre évoqué précédemment et la mise en résonance du système.

En pratique, cette étape, dite d'excitation, consiste à générer une impulsion électromagnétique RF de fréquence égale à la fréquence de Larmor ω_0 . Cette impulsion va induire la formation d'un champ magnétique \vec{B}_1 de faible intensité appliqué dans le plan xOy . Le vecteur d'aimantation macroscopique \vec{M} , précessant autour de \vec{B}_0 (Oz), va commencer un mouvement de précession autour de \vec{B}_1 (xOy). L'aimantation est basculée autour d'un axe différent de l'axe longitudinale Oz , typiquement Ox ou Oy (basculement de 90°).

En fin d'excitation et dans le cas d'une impulsion dite de 90° , l'aimantation est basculée dans le plan xOy induisant l'apparition d'une composante transversale $\vec{M}_{x,y}$ et la disparition de la composante longitudinale \vec{M}_z .

1.2.4.3 Relaxations longitudinale et transversale

Lors de l'excitation, l'état d'équilibre des spins a été perturbé. Le retour à cet état d'équilibre se traduit par l'émission d'énergie sous la forme d'une onde RF

et par la relaxation des aimantations longitudinale et transversale. L'évolution de l'aimantation macroscopique \vec{M} durant la phase de relaxation se traduit par :

- une repousse exponentielle de la composante longitudinale M_z ou relaxation longitudinale, caractérisée par la constante de temps T_1 (Fig. 1.7). Cette croissance de M_z est provoquée par les interactions spin-réseau c'est-à-dire par le retour au niveau de basse énergie (parallèle au champ \vec{B}_0) des spins excités.
- une diminution exponentielle de la composante transversale $\vec{M}_{x,y}$ ou relaxation transversale, caractérisée par la constante de temps T_2 (Fig. 1.7). Cette chute de $\vec{M}_{x,y}$ est due aux interactions spins-spins qui créent des hétérogénéités de champ, et donc de fréquence de précession. Les spins n'ayant plus la même fréquence, ils se déphasent rapidement.

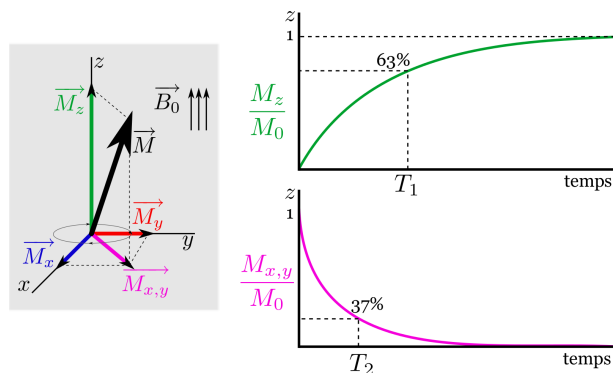


FIG. 1.7: Relaxations longitudinale et transversale respectivement caractérisées par les constantes de temps T_1 et T_2 .

Les constantes de temps T_1 et T_2 dépendent de l'état et de la nature de la molécule observée. De plus, le temps de relaxation transversale T_2 est toujours plus court ou égal à T_1 .

1.2.4.4 Le signal de précession libre

La relaxation s'accompagne d'une émission d'énergie sous la forme d'ondes RF induite par le mouvement de précession de l'aimantation transversale $\vec{M}_{x,y}$. En plaçant une bobine RF de réception dans le plan xOy , un signal d'intérêt appelé signal de précession libre ou FID¹ peut être mesuré et correspond à la décroissance de l'aimantation transversale $\vec{M}_{x,y}$.

Le signal de précession libre est un signal complexe sinusoïdal dont les fréquences qui le composent sont égales ou proches de la fréquence de Larmor, dépendant des

¹Free Induction Delay

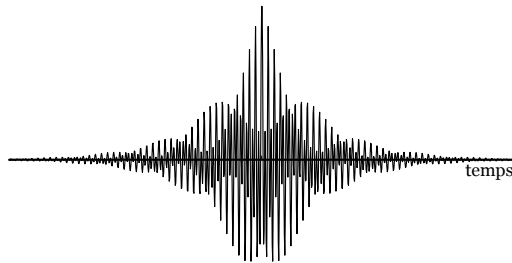


FIG. 1.8: Exemple de signal simulé d'écho de spin.

déplacements chimiques de la molécule observée (Cf. §1.2.4.5). En pratique, ce signal est exponentiellement amorti avec une constante de temps T_2^* . Cette constante de temps T_2^* dépend principalement des inhomogénéités des champs d'origine moléculaire responsables de la relaxation transversale en T_2 mais également des inhomogénéités de champ \vec{B}_0 à l'échelle microscopique qui engendrent des inhomogénéités en fréquence. Le déphasage des spins s'opère alors plus rapidement entraînant une perte de signal plus rapide que dans le cas idéal où le champ \vec{B}_0 est parfaitement homogène.

1.2.4.5 Déplacements chimiques et couplages scalaires

Déplacements chimiques

Le signal de précession libre est périodique avec une fréquence égale ou proche de la fréquence de Larmor. En réalité, l'onde RF émise par un proton lors de sa relaxation n'oscille pas exactement à la fréquence de Larmor mais dépend du facteur d'écran σ du proton. Dans une molécule, l'environnement électronique d'un proton va modifier le champ magnétique \vec{B}_0 vu par chaque groupement chimique en un champ local et, par conséquent, en modifier la fréquence de résonance correspondante. Ainsi, certains protons ne sont plus soumis au champ \vec{B}_0 mais à un champ local \vec{B}_0^{local} légèrement atténué qui a pour expression l'équation (1.2).

$$\vec{B}_0^{local} = \sigma \cdot \vec{B}_0 \quad (1.2)$$

Le facteur d'écran d'un proton k dans un ensemble de N_k protons est noté σ_k . De l'équation (1.1) est déduite l'expression de la fréquence de résonance du proton k (1.3) et l'expression analytique du signal de précession libre $\hat{x}(t)$ issu d'un ensemble

de protons (1.4), avec T_{2k}^* correspondant à la constante de temps T_2^* du proton k .

$$f_k = \frac{\gamma}{2 \cdot \pi} (B_0 - \sigma_k \cdot B_0) \quad (1.3)$$

$$\hat{x}(t) = \sum_{k=1}^{N_k} \exp\left(\frac{-t}{T_{2k}^*}\right) \cdot \exp[j(2 \cdot \pi \cdot f_k \cdot t)] \quad (1.4)$$

Les différentes fréquences de résonance f_k constituent une information précieuse pour l'identification des molécules. En spectroscopie, une analyse fréquentielle du signal FID est réalisée afin de mettre en évidence la présence de ces différentes fréquences de résonance. Il est commode d'exprimer ces fréquences sous forme de rapport avec une fréquence de référence afin d'obtenir une valeur indépendante du champ \vec{B}_0 . Cette valeur se nomme « déplacement chimique », a pour unité le ppm² et se calcule avec l'expression (1.5) où δ_k est le déplacement chimique et f_{ref} est une fréquence de référence (souvent égale à fréquence de Larmor).

$$\delta_k = \frac{f_k - f_{ref}}{f_{ref}} \quad (1.5)$$

Constantes de couplage J

Le déplacement chimique a pour origine les interactions entre un proton et le nuage électronique moléculaire environnant. En plus de ce phénomène, il existe parfois des interactions magnétiques entre des protons appartenant à des groupements chimiques voisins et transmises par les électrons à travers les liaisons chimiques : c'est le couplage spin-spin ou couplage scalaire. Ce dernier entraîne une décomposition en fréquence de chaque raie en un groupement complexe de raies : doublet, triplet, multiplet, etc. L'espacement entre ces raies a une valeur en fréquence (Hz) fixe, appelée constante de couplage J, indépendante de \vec{B}_0 .

Spectre RMN

Le spectre RMN est obtenu par transformée de Fourier du signal complexe détecté lors de l'expérience RMN. Le passage du domaine temporel au domaine fréquentiel permet de visualiser les pics fréquentiels correspondant aux déplacements chimiques et aux constantes de couplage J de la molécule observée (Fig. 1.9).

²Parties Par Million

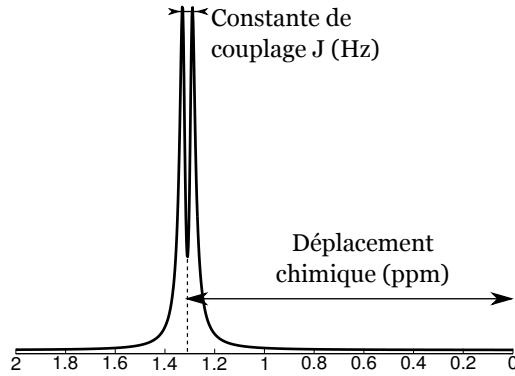


FIG. 1.9: Représentation fréquentielle et partielle d'un signal simulé de lactate (doublet à 1,3 ppm) pour $B_0=4,7$ T : présence d'un doublet à 1,31 ppm avec une constante de couplage J de 6,9 Hz.

1.2.5 La séquence d'écho de spin

Le signal de précession issu d'une excitation avec une impulsion 90° décroît en T_2^* , constante de temps dépendant du T_2 des molécules et des inhomogénéités du champ magnétique principal \vec{B}_0 . Or, la mesure de la constante de temps T_2 est particulièrement intéressante et est d'ailleurs à l'origine des séquences d'imagerie pondérée en T_2 largement employées en imagerie médicale. En 1950, E. L. Hahn met au point une séquence d'impulsions, dite d'écho de spin, dans le but de mesurer la constante de temps T_2 [Hahn, 1950]. Le principe de cette séquence consiste à faire renaître une aimantation transversale après l'impulsion 90° en appliquant une seconde impulsion dite de 180° , puis à détecter l'écho de spin qui se forme pour $t = TE$, TE étant le Temps d'Echo.

L'impulsion 90° , appliquée pour un temps $t=0$, induit un basculement de l'aimantation dans le plan xOy . L'impulsion 180° , qui a un produit (*puissance · durée*) double de celui d'une impulsion 90° , est appliquée à un temps $t = TE/2$. Cette impulsion permet, en basculant les spins de 180° , d'inverser l'aimantation transversale $\vec{M}_{x,y}$ et de refocaliser les aimantations déphasées par les inhomogénéités du champ \vec{B}_0 . Lors de la phase de relaxation, un écho de spin est détecté et atteint son maximum pour $t = TE$. Pour des raisons techniques, seule la seconde partie de l'écho est généralement acquise et correspond au signal de précession libre. La durée totale de la séquence est notée TR pour Temps de Répétition.

En pratique, cette séquence offre l'avantage d'acquérir un signal RMN en s'affranchissant des inhomogénéités du champ magnétique principal \vec{B}_0 . Ainsi, l'intensité du signal RMN acquis n'est plus pondérée en T_2^* comme dans le cas d'une excitation simple par impulsion RF mais en T_2 . En jouant sur le délai s'écoulant entre l'exci-

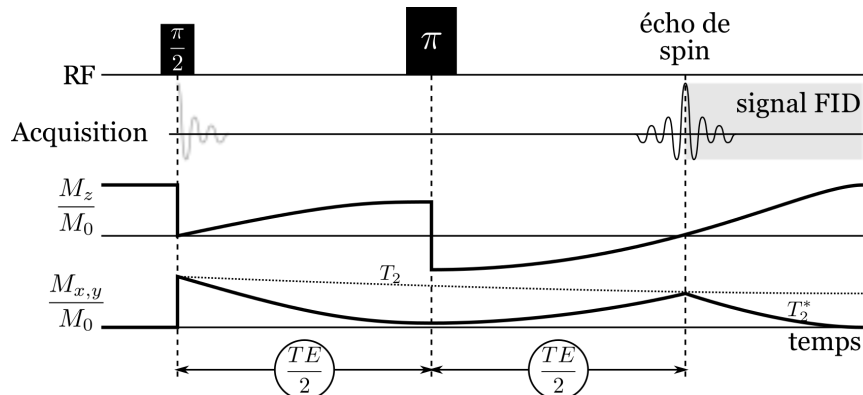


FIG. 1.10: Séquence d'impulsions de type écho de spin : la première impulsion 90° excite les spins et bascule l'aimantation, la seconde impulsion 180° permet une refocalisation des spins pour $t = TE$.

tation et la détection, soit le TE , il est possible d'estimer la constante de temps T_2 mais également de pondérer l'intensité du signal. Cette séquence est par conséquent à l'origine d'un très grand nombre de séquences d'imagerie, dites « pondérées en T_2 » où le contraste de l'image peut être ajustée par la valeur du paramètre TE .

1.3 La spectroscopie RMN *in vivo* quantitative

1.3.1 Intérêts

La SRM permet d'obtenir des informations précieuses telles que les déplacements chimiques et les constantes de couplage J permettant par la suite d'identifier les molécules présentes dans une solution. L'application *in vivo* de la SRM du proton rend possible la détection d'un certain nombre de molécules contribuant au métabolisme, appelés métabolites. Les principaux métabolites observables dans le cerveau sain sont décrits dans le tableau 1.1.

Dans le cadre de la chimie, la spectroscopie RMN haute-résolution permet l'identification des molécules présentes dans une solution et rend par exemple possible la mise en évidence de la présence de certaines molécules intervenant dans la synthèse d'un composé chimique. Dans le cadre de l'étude *in vivo*, les molécules présentes dans le métabolisme sont connues.

L'intérêt majeur de la spectroscopie RMN *in vivo* appliquée dans le domaine médical est son aspect quantitatif. En effet, un métabolite s'exprime sur le spectre RMN sous la forme d'une signature spectrale dont l'aire est proportionnelle à la concentration de la molécule. En théorie, la concentration de chacune des molécules

Abréviation	Signification	Rôle
Ala	Alanine	Parfois présent dans certains ménin- giomes.
Asp	Aspartate	Aminoacide excitateur présent dans le cerveau.
Cho & PCho	Choline et phosphocholine	Indicateur de l'activité membranaire dont la concentration augmente lorsque la densité cellulaire s'accroît.
Cre & PCre	Créatine et phosphocréatine	Marqueur de la densité cellulaire. Ces composés sont impliqués dans le méta- bolisme énergétique.
GABA	Acide γ -aminobutyrique	Neurotransmetteur inhibiteur des structures neuronales encéphaliques. Il est impliqué dans les troubles cérébraux.
Glc	Glucose	Essentiel dans le cerveau comme source d'énergie.
Gln	Glutamine	Aminoacide précurseur du glutamate, il participe au métabolisme glial et li- pidique.
Glu	Glutamate	Neurotransmetteur excitateur le plus abondant dans le cerveau humain.
Gly	Glycine	Neurotransmetteur inhibiteur et anti- oxydant.
GPC	Glycerylphosphorylcholine	Dérivé de la choline.
GSH	Glutathion	Anti-oxydant majeur.
Lac	Lactate	Marqueur d'invasion macrophag- ique ou d'anoxie. C'est un témoin de tout processus pathologique ou tout dysfonctionnement.
Lip	Lipides	Marqueur de déstructurations membra- naires aiguës. Il est présent dans les tu- meurs cérébrales.
mIns	Myo-inositol	Marqueur de la souffrance gliale, tissus de soutien du système nerveux central.
NAA & NAAG	N-acétylaspartate et N- acétylaspartylglutamique	En concentration importante, c'est un témoin de l'intégrité du fonctionnement neuronal.
PE	Phosphorylethanolamine	Acide aminé.
Tau	Taurine	Neurotransmetteur inhibiteur, il inter- vient également dans les fonctions car- diaques et musculaires.

TAB. 1.1: Tableau descriptif des métabolites étudiés en SRM *in vivo* du proton.

du métabolisme peut ainsi être estimée afin d'établir le profil métabolique dans un tissu du patient. Ce type de données sur le patient constitue un puissant outil pour le diagnostic.

1.3.2 La spectroscopie mono-voxel

Les techniques de spectroscopie RMN *in vivo* se démarquent des techniques employées en RMN haute-résolution du fait de la nécessité de localiser spatialement le signal. Alors que les échantillons étudiés en spectroscopie RMN haute-résolution sont généralement homogènes, ce n'est pas le cas d'un organisme vivant. Ainsi, il est intéressant de réaliser une mesure de spectroscopie RMN seulement sur un organe ou un tissu spécifique. Pour ces raisons, des techniques de spectroscopie RMN dite mono-voxel ont été développées pour réaliser l'étape d'excitation uniquement sur un volume d'intérêt dont la taille et la position dans l'espace sont définies. Ce volume d'intérêt a une forme parallélépipédique et porte le nom de voxel par analogie au pixel³.

Les années 1980 ont été marquées par l'avènement d'éminents groupes de rock tels que Sonic Youth, My Bloody Valentine, Yo La Tengo, Pixies, Sebadoh ou encore Nirvana, mais également par l'apparition des premières techniques de spectroscopie mono-voxel. Ainsi, P.A. Bottomley développe la séquence PRESS⁴ [Bottomley, 1987] en 1987 au même moment que J. Frahm développe la séquence STEAM⁵ [Frahm *et al.*, 1987]. La séquence ISIS⁶ [Ordidge *et al.*, 1986], moins commune en SRM *in vivo* a été mise au point une année plus tôt, en 1986, par R. Ordidge. Le principe des séquences PRESS et STEAM est détaillé dans les paragraphes suivants. La séquence ISIS, principalement employée en spectroscopie du phosphore, ne sera pas détaillée ici.

1.3.2.1 Principe

Le développement des techniques de spectroscopie mono-voxel citées précédemment n'a été possible qu'avec l'arrivée des gradients de champ magnétique sur les IRM. Les gradients sont induits par des bobines, dites bobines de gradients, et vont se superposer au champ magnétique \vec{B}_0 . Le champ magnétique principal est ainsi

³PixEl provient de la locution anglaise « Picture Element » qui signifie « élément d'image »

⁴Point REsolved SpectroScopy

⁵STimulated Echo Acquisition Mode

⁶Selected In Vivo Spectroscopy

modulé en intensité de façon linéaire suivant la direction où est appliqué le gradient. Contrairement aux spectromètres utilisés pour la spectroscopie RMN haute-résolution, les systèmes d'imagerie IRM sont toujours équipés de trois bobines de gradients permettant une modulation du champ magnétique dans les trois directions de l'espace.

Les techniques de spectroscopie mono-voxel permettent une localisation du signal RMN. La sélection du volume d'intérêt est réalisée par l'intersection de trois plans orthogonaux dans l'espace. La sélection de chacun de ces plans est réalisée par l'émission d'une impulsion RF sélective en présence d'un gradient de champ magnétique successivement appliqué dans les trois directions de l'espace. Ces techniques induisent des durées d'excitation plus importantes dues à l'ajout d'une impulsion et à l'application de gradients de champ magnétique. Les progrès réalisés dans le domaine des bobines de gradients et des antennes d'émission ont permis de réduire ces durées de d'excitation et de gagner en RSB avec la possibilité d'acquérir des signaux de SRM *in vivo* à temps d'écho court ou même ultra-court [Tkáč *et al.*, 1999].

1.3.2.2 La séquence PRESS

La séquence PRESS [Bottomley, 1987] est basée sur la séquence d'écho de spin de Hahn (Cf. §1.2.5) et consiste en un motif à trois impulsions ($90^\circ - 180^\circ - 180^\circ$). Les deux premières impulsions sélectives 90° et 180° appliquées respectivement en présence des gradients G_1 et G_2 , permettent de produire un écho de spin et de réaliser la sélection spatiale dans les deux premières dimensions de l'espace (x et z dans le cas de la Fig. 1.11). Le temps d'écho de ce premier écho de spin, qui n'est pas acquis, est noté TE_1 . La troisième impulsion, émise en présence du gradient G_3 , permet un nouveau basculement des aimantations de 180° et la sélection spatiale suivant la dernière dimension de l'espace (y dans le cas de la Fig. 1.11). Un second écho de spin, dont le signal provient uniquement du voxel d'intérêt, est acquis pour $t = TE$ avec $TE = TE_1 + TE_2$. Les durées TE_1 et TE_2 ne sont pas nécessairement égales.

Pour accroître la qualité de la sélection spatiale, les impulsions sélectives 90° et 180° ont une forme non plus rectangulaire mais de type *hermite*. En plus des gradients de sélection, de courts gradients de rephasage ou « spoilers » sont intégrés dans la séquence pour compenser les déphasages introduits par G_1 , G_2 et G_3 .

Enfin, une étape dite de préparation intervient avant l'excitation. Elle permet de réaliser deux tâches distinctes :

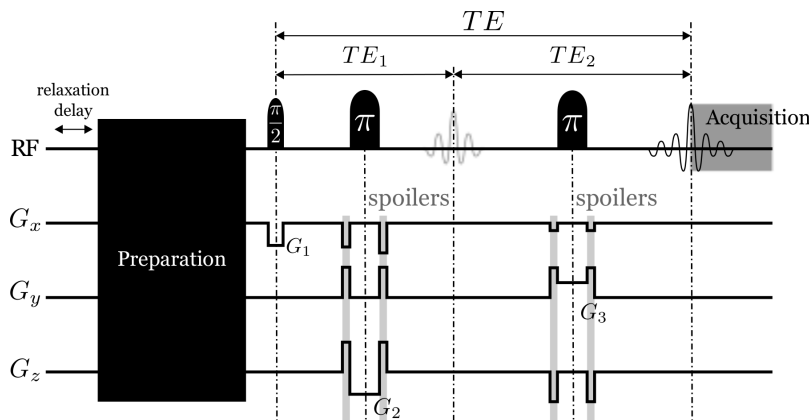


FIG. 1.11: Chronogramme de la séquence de SRM mono-voxel PRESS telle qu'implémentée sur la console *Paravision*. Après l'étape de préparation, trois impulsions ($90^\circ - 180^\circ - 180^\circ$) de forme *hermite* réalisent successivement trois sélections spatiales à l'aide des gradients G_1 , G_2 et G_3 . L'écho de spin est acquis pour $t = TE$.

- la suppression du signal RMN correspondant la molécule d'eau avec les techniques VAPOR⁷ [Tkáč *et al.*, 1999] ou CHESS⁸ [Frahm *et al.*, 1989]. En pratique, ces techniques permettent une très forte atténuation du pic d'eau sur le spectre RMN acquis.
- l'atténuation des signaux provenant de l'extérieur du volume d'intérêt afin d'accroître la sélectivité spatiale. Pour cela, la technique des bandes de saturation est employée sous le nom *OVS*⁹. Cette technique consiste à appliquer plusieurs bandes de saturation autour du volume d'intérêt. Lors de l'excitation, les aimantations présentes dans les zones autour du voxel ne généreront aucune cohérence et donc aucun signal. Cette technique, très employée lors des expériences de spectroscopie RMN *in vivo*, permet une meilleure localisation en éliminant les signaux provenant de l'extérieur du volume d'intérêt.

1.3.2.3 La séquence STEAM

La séquence STEAM [Frahm *et al.*, 1987] est basée sur le principe de l'écho stimulé. En pratique, l'émission successive de plusieurs impulsions 90° induit la formation d'échos stimulés. La séquence STEAM exploite ce phénomène et se compose ainsi d'une succession de trois impulsions RF ($90^\circ - 90^\circ - 90^\circ$) responsables de la formation de l'écho stimulé qui sera acquis.

⁷Variable Power RF pulses with Optimized Relaxation delays

⁸Chemical Shift Selective Suppression

⁹Outer Volume Suppression

Cette séquence rend possible l'acquisition de signaux FID pour de faibles valeurs de TE . En général, les temps de montée et descente en intensité des gradients et la sensibilité des antennes constituent la limitation majeure pour la réduction des durées d'excitation dans les séquences IRM. Les récents progrès dans ces domaines ont permis d'atteindre des TE extrêmement courts de l'ordre de 1 ms [Tkáč *et al.*, 1999] permettant ainsi la détection de métabolites à T_2 courts. Néanmoins, comparé à la séquence PRESS, l'intensité des signaux acquis n'est pas optimale car seule la moitié de l'aimantation se manifeste lors d'échos stimulés, réduisant considérablement le rapport signal sur bruit (RSB).

1.3.3 Description du signal

Le signal FID acquis avec la séquence PRESS, noté $x(t)$, est décrit par la combinaison linéaire de plusieurs termes (1.6). Les termes correspondant au signal d'intérêt noté $x_{metabolites}(t)$, au résidu du signal de l'eau noté $x_{water}(t)$, à la ligne de base notée $x_{baseline}(t)$ et au bruit noté σ_{noise} sont décrits ci-dessous. Afin d'illustrer les notions de signal d'intérêt, de ligne de base (ou « baseline ») et de bruit, un exemple de spectre RMN acquis *in vivo* est représenté à la Fig. 1.12.

$$x(t) = \hat{x}_{metabolites}(t) + x_{water}(t) + x_{baseline}(t) + \sigma_{noise} \quad (1.6)$$

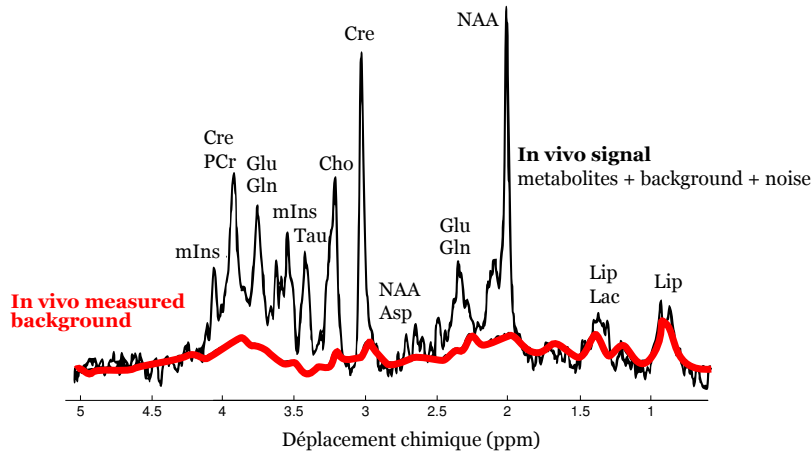


FIG. 1.12: Spectre RMN *in vivo* acquis avec la séquence PRESS sur le cerveau de rat avec un champ $B_0=7$ T avec les paramètres suivants : $TE=20$ ms, $TR=5$ s, $NA=128$ avec un voxel de dimension 3,5 mm x 3,5 mm x 3,5 mm.

Le terme $x_{metabolites}(t)$ correspond au signal de précession libre issu des métabolites et constitue ainsi un signal d'intérêt. Il est décrit par l'expression analytique

simplifiée (1.4), soit par la combinaison linéaire dans le domaine temporel de N_k signaux de fréquences f_k et de T_{2k}^* différents.

La molécule d'eau est très présente dans les organismes vivants avec, par exemple, une concentration d'environ 50 mmol/L dans le cerveau humain. Les métabolites sont présents à des concentrations beaucoup plus faibles, de l'ordre de la millimole par litre. Pour ces raisons, les techniques de suppression d'eau à l'acquisition évoquées dans la partie précédente sont d'un grand intérêt mais ne permettent généralement pas d'atteindre la suppression parfaite du signal de l'eau. Ainsi, il reste parfois un résidu du signal de l'eau dans le signal RMN acquis. Dans le domaine fréquentiel, le résidu d'eau se traduit par une raie située à 4,7 ppm avec une largeur spectrale importante, recouvrant parfois une partie du spectre d'intérêt. Cette contribution au signal est notée $x_{water}(t)$ dans l'expression (1.6).

Le terme dit de ligne de base et noté $x_{baseline}(t)$ correspond au signal de précession libre issu de certaines molécules qui ne sont pas considérées comme des métabolites : macromolécules, lipides et plus rarement métabolites non répertoriés. Les macromolécules, qui sont en fait des protéines [Behar *et al.*, 1994], et les lipides contribuent au signal RMN sous forme de pics très larges en fréquence, formant une ligne de base s'étalant sur tout le spectre. A l'heure actuelle, la ligne de base $x_{baseline}(t)$ est un signal de nuisance qui perturbe les procédures d'identification et de quantification spectrale.

Enfin, le signal acquis $x(t)$ est noyé dans du bruit, noté σ_{noise} , principalement électronique d'origine thermique. Il s'agit d'un bruit blanc avec une densité spectrale de puissance constante sur toute la bande spectrale BW . L'expression de son écart-type est donnée à l'équation (1.7), où k est la constante de Boltzmann, T est la température et BW la bande passante du récepteur. R est une résistance équivalente qui inclut la résistance de l'antenne et la résistance de l'échantillon.

$$\sigma_{bruit} = \sqrt{4 \cdot R \cdot k \cdot T \cdot BW} \quad (1.7)$$

En théorie, les signaux RMN sont noyés dans un bruit de distribution gaussienne centrée en zéro. En pratique, il est commun d'accumuler plusieurs signaux acquis dans les mêmes conditions avec les mêmes paramètres de séquence afin d'accroître le RSB. En effet, l'accumulation de NA signaux a pour conséquences une forte augmentation de l'intensité du signal S d'un facteur NA et une faible augmentation du niveau de bruit B d'un facteur \sqrt{NA} . Par conséquent, le rapport $\frac{S}{B}$ est multiplié par \sqrt{NA} .

1.3.4 Quantification des signaux RMN *in vivo*

1.3.4.1 Approches existantes

La quantification des signaux RMN acquis *in vivo* est une approche pour l'estimation des concentrations des métabolites. De nombreuses techniques ont été développées dans ce but et certaines d'entre elles sont évoquées par la suite. Il y a près d'un demi-siècle, lorsque la chromatographie est apparue, des chercheurs mirent au point une technique pour l'estimation de l'aire des pics présents sur un chromatogramme. Cette technique consiste à découper minutieusement le papier le long des contours des pics puis à en faire la pesée, la masse étant proportionnelle à l'aire du pic. Aujourd'hui, nous vivons dans une époque moderne et de nombreuses approches informatiques ont vu le jour. Ainsi, l'intégration numérique des pics a été mise au point et est encore très employée pour la quantification de spectre RMN haute-résolution. En pratique, l'intégration numérique est une procédure manuelle ou semi-automatique dans le domaine fréquentiel qui ne permet de quantifier de manière fiable que certains pics nettement identifiables tels que des singulets. Dans le cas de la SRM *in vivo*, le spectre RMN peut présenter une faible résolution spectrale, un enchevêtrement des raies ou une ligne de base importante, ce qui rend cette technique peu fiable.

Depuis les années 70, les progrès importants dans les domaines de l'électronique et de l'informatique ont permis une amélioration progressive des séquences d'impulsions, des chaînes d'acquisition et par conséquent des signaux acquis. Avec l'augmentation des capacités en mémoire équipant les consoles, les limitations relatives au nombre d'échantillons ont disparu. Les bobines de gradient étant de plus en plus perfectionnées, les motifs d'excitation des séquences ont pu être réduits avec par conséquent la réduction du TE permettant un gain en RSB et la détection de métabolites à T_2 courts. Ainsi, les méthodes de quantification de signaux de SRM *in vivo* se sont multipliées et se divisent globalement en deux types d'approche : les approches dites interactives basées sur l'optimisation numérique d'une fonction modèle avec l'intégration d'une connaissance *a priori* et les approches dites non-interactives qui consistent généralement à décomposer le spectre RMN en plusieurs « sous-spectres ».

La méthode de décomposition en valeurs singulières HLSVD¹⁰ [de Beer *et al.*, 1995] est un bon exemple de méthode non-interactive. Elle est basée sur la théorie des modèles d'espace d'état utilisée en contrôle et identification automatique. Son

¹⁰Hankel Lanczos Singular Value Decomposition

principe repose sur des propriétés d’algèbre linéaire. Cette méthode ne nécessite aucune valeurs initiales ou intervention de l’utilisateur. Le résultat obtenu est un ensemble de pôles décrivant le signal par des fréquences f_k et des facteurs d’amortissement α_k . Les approches non-interactives ont l’avantage d’être non-itératives et complètement automatiques. Toutefois, la décomposition mathématique est réalisée « à l’aveugle » sans prendre en compte de modèle « physique » du signal, induisant des résultats visuellement satisfaisants mais avec des estimations quantitatives peu exploitables car sans réalité physique.

VARPRO [Golub and Pereyra, 1973, van der Veen *et al.*, 1988] et AMARES [Vanhamme *et al.*, 1999] sont les premières méthodes interactives proposées pour la quantification des signaux de SRM *in vivo* dans le domaine temporel. Ces méthodes s’appliquent plus particulièrement aux problèmes où la fonction modèle est une combinaison linéaire de fonctions non-linéaires. Dans le cas de VARPRO, les variables linéaires sont éliminées afin d’obtenir une nouvelle fonction à minimiser où n’interviennent que les paramètres non-linéaires. Ces méthodes ont l’avantage de permettre l’introduction de connaissances *a priori*. En 1982, S. W. Provencher met au point la méthode intitulée *LCModel*¹¹ [Provencher, 1993a]. Cette technique considère le spectre RMN *in vivo* comme étant une combinaison linéaire de plusieurs spectres de solutions de métabolites acquis *in vitro*. L’estimation ne porte alors plus sur les paramètres d’un ensemble de pics individuels mais sur ceux d’un ensemble de spectres et la connaissance *a priori*, i.e. les spectres des métabolites connus, joue un rôle essentiel. *LCModel* gère également la ligne de base par une modélisation fondée sur des fonctions B-splines¹². En 1998, J. Slotboom développe la procédure de quantification TDFD¹³ opérant à la fois dans le domaine temporel pour calculer le modèle mathématique du signal et réalisant l’optimisation dans le domaine fréquentiel [Slotboom *et al.*, 1998]. Cette technique dédiée aux signaux acquis à 1,5 T, qui permet l’intégration de connaissances *a priori*, a l’avantage de contraindre l’optimisation des paramètres à estimer par des termes de régularisation, selon la stratégie définie par l’utilisateur.

En 2005, H. Ratiney met au point la méthode QUEST [Ratiney *et al.*, 2005] qui a pour objectif de quantifier les signaux de SRM *in vivo* en exploitant les propriétés physiques du signal. Son principe est basé sur une approche semi-paramétrique. L’estimation des signaux métaboliques repose sur un modèle dans le domaine temporel dont les paramètres sont optimisés par minimisation des moindres carrés. Le

¹¹Linear Combination of Model

¹²Fonctions définies par morceaux par des polynômes

¹³Time Domain Frequency Domain

modèle est basé sur une base de connaissances *a priori* importante permettant d'intégrer directement les contraintes sur les amplitudes et les fréquences relatives des raies et des groupements de raies. L'estimation de la ligne de base fait l'objet d'une approche non-paramétrique exploitant l'amortissement rapide du signal de ligne de base dans le domaine temporel. Ainsi, en tronquant un certain nombre de points au début du signal temporel, la contribution du signal de ligne de base est fortement réduite. La caractérisation du signal de ligne de base repose sur une modélisation par la décomposition en valeurs singulières qui peut être soit intégrée à la base de connaissances utilisée lors de l'estimation paramétrique des métabolites, soit directement soustrait au signal RMN *in vivo*. Pour résumer, les méthodes interactives tentent de faire converger, par optimisation numérique, un modèle physique vers le signal RMN acquis.

1.3.4.2 Limitations

Les méthodes de quantification des signaux de SRM *in vivo* évoquées précédemment, et plus particulièrement les méthodes interactives, donnent d'excellents résultats en termes d'estimation de la concentration de la majorité des métabolites, en particulier dans le cas de champs magnétiques élevés [Hong *et al.*, 2011, Mlynárik *et al.*, 2008]. Ces derniers permettent en effet une dispersion en fréquence plus importante qui se traduit par une résolution spectrale accrue et la séparation des signatures métaboliques observables sur le spectre RMN *in vivo*.

Toutefois, ce n'est pas le cas à des champs magnétiques plus faibles comme ceux couramment employés en routine clinique ou pour l'étude du petit animal (4,7 ou 7 T). Pour certains métabolites, l'estimation des concentrations demeure délicate et le résultat est entaché d'une incertitude élevée. C'est le cas par exemple des métabolites tels que le glutamate, la glutamine, l'aspartate ou l'alanine qui, à partir de signaux acquis sur le cerveau de l'homme à 3 T et quantifiés avec *Profit*, présentent des erreurs d'estimation importantes [Schulte and Boesiger, 2006]. Ces métabolites sont souvent présents à de plus faibles concentrations que les métabolites facilement identifiables tels que le NAA, la créatine ou la choline, et ont des signatures spectrales complexes qui se chevauchent sur les mêmes bandes de fréquences, en particulier pour des *TE* courts (Fig. 1.13). De plus, la présence d'une ligne de base induite par les macromolécules perturbe fortement le processus de quantification par le manque d'information pour modéliser avec précision ce signal de nuisance.

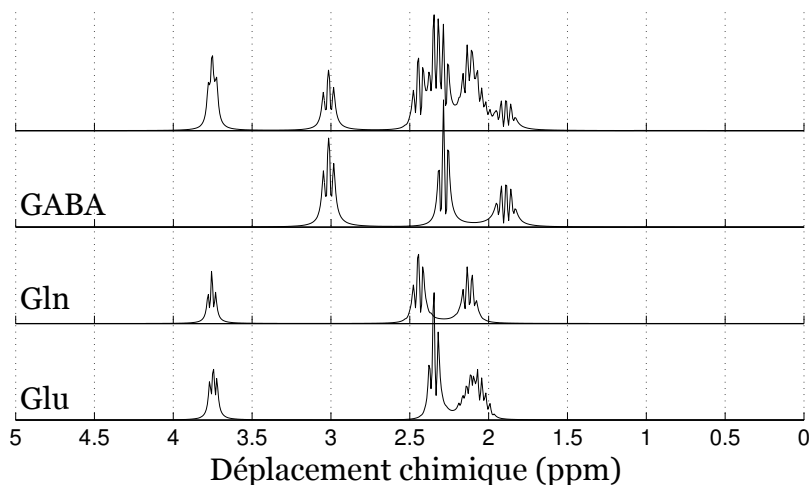


FIG. 1.13: Spectre RMN simulé avec un champ $B_0=7$ T d'un mélange des métabolites GABA, Gln et Glu (haut) accompagné des signatures spectrales de chacun des trois métabolites (bas). La séparation des signaux métaboliques issus de ces trois métabolites est particulièrement délicate en spectroscopie RMN.

1.4 La spectroscopie RMN 2D *in vivo*

1.4.1 Intérêts

En 1971, une ville yougoslave répondant au doux nom de Baško Polje accueille une école d'été lors de laquelle J. Jeener propose une nouvelle technique de spectroscopie intitulée COSY¹⁴. Cinq ans s'écoulent et son idée semble être passée inaperçue. En 1976, l'équipe de R. R. Ernst pose les bases de la spectroscopie RMN 2D et réalise les premières expériences [Aue *et al.*, 1976a]. Quelques mois plus tard, W. P. Aue met au point une nouvelle technique de spectroscopie dite J-résolue [Aue *et al.*, 1976b]. Dès lors, la spectroscopie RMN 2D haute-résolution, largement employée en chimie, est devenue un puissant outil pour l'identification et la caractérisation des structures moléculaires complexes.

Très répandue en RMN haute-résolution, cette technique est moins reconnue dans le domaine de la RMN *in vivo*. En 1990, B. Barrere fait partie des premières équipes de recherche à appliquer avec succès les techniques de spectroscopie RMN 2D sur l'animal [Barrère *et al.*, 1990]. L'apport d'une nouvelle dimension spectrale pour l'identification des métabolites et plus rarement la quantification de leur concentration, a ensuite fait l'objet de nombreux travaux, particulièrement à la fin des années 90. Ainsi, L. N. Ryner met au point la technique de SRM 2D J-résolue et l'applique *in vivo* sur le cerveau humain en 1995 [Ryner *et al.*, 1995b]. L'intérêt porté

¹⁴Correlation Spectroscopy

à la SRM 2D *in vivo* grandit rapidement et les travaux publiés fleurissent avec des études principalement portées sur le cerveau humain [Thomas *et al.*, 1996, Lymer *et al.*, 2007, Jensen *et al.*, 2009, Prescott *et al.*, 2009] ou la prostate [Yue *et al.*, 2002, Thomas *et al.*, 2008, Lange *et al.*, 2008, Nagarajan *et al.*, 2010]. De nombreux travaux portent également sur l'application de la SRM 2D sur le cerveau de la souris [Dreher and Leibfritz, 1995, Braakman *et al.*, 2008] ou du rat [Ziegler *et al.*, 2001, Adalsteinsson *et al.*, 2004]. Néanmoins, il faut attendre attendre 2006 pour espérer estimer les concentrations des métabolites détectés avec la SRM 2D J-résolue avec l'arrivée de la procédure de quantification intitulée *ProFit* [Schulte and Boesiger, 2006].

1.4.2 Corrélations homonucléaires

Les expériences de corrélations homonucléaires, qui constituent la base de la spectroscopie RMN 2D, permettent de corréler les paramètres (déplacements chimiques, couplages) d'un même noyau. Les paragraphes suivants portent sur le principe général de la spectroscopie RMN 2D et abordent en détail deux techniques courantes en SRM 2D : la spectroscopie J-résolue et la spectroscopie de corrélation.

1.4.2.1 Principe

Les séquences de RMN 2D sont habituellement décrites en quatre étapes : préparation, évolution, mélange et détection (Fig. 1.14). La période de préparation consiste, dans sa forme la plus simple, en un délai de relaxation suivi d'une impulsion 90° permettant de basculer les aimantations dans le plan transversal. Le système évolue ensuite pendant une durée t_1 qui constitue la première dimension du signal RMN 2D. Cette évolution peut avoir lieu sous l'effet du déplacement chimique et/ou des couplages selon la séquence. La période de mélange permet éventuellement un transfert d'aimantation ou de cohérence vers le proton que l'on souhaite observer dans la dimension 2. Enfin, l'aimantation évolue librement et le signal FID est détecté pendant la durée t_2 .

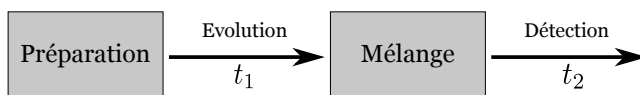


FIG. 1.14: Représentation schématique d'une expérience RMN 2D comprenant les deux temps d'évolution caractéristiques t_1 et t_2 .

Afin de constituer le signal RMN 2D, ces quatre étapes sont répétées plusieurs fois en incrémentant régulièrement le temps d'évolution t_1 .

1.4.2.2 Spectroscopie J-résolue

La séquence de spectroscopie RMN 2D J-résolue a été proposée par W. P. Aue en 1976 [Aue *et al.*, 1976b]. Elle consiste en une séquence d'écho de spin (Cf. §1.2.5) répétée N_1 fois en incrémentant le délai TE qui correspond ici à la période d'évolution t_1 . La séquence débute par une impulsion 90° permettant de basculer les spins dans le plan transversal suivie d'une période d'évolution t_1 comprenant une impulsion 180° permettant de refocaliser l'effet des déplacements chimiques (Fig. 1.15). Enfin, durant la période de détection t_2 , les spins évoluent librement sous l'effet des couplages et des déplacements chimiques. La durée totale d'acquisition est de $TR \cdot N_1 \cdot NA$.

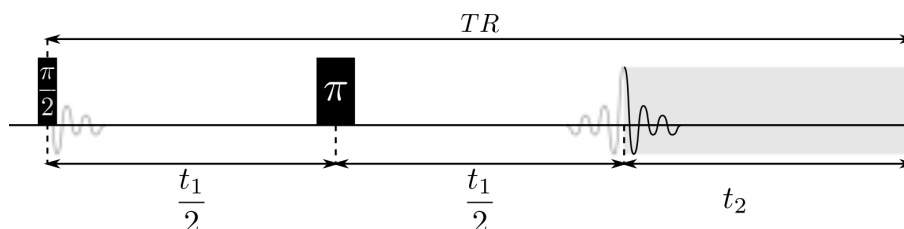


FIG. 1.15: Chronogramme de la séquence d'impulsions de SRM 2D J-résolue, basée sur la séquence d'écho de spin dont la période d'évolution t_1 est incrémentée et le signal est acquis durant la période de détection t_2 .

Un signal est acquis suivant la dimension t_2 à chaque répétition de la séquence. En incrémentant la période d'évolution t_1 , le signal RMN 2D se constitue progressivement (Fig. 1.16). Le signal n'évoluant pas sous l'effet du déplacement chimique pendant la période t_1 , une transformée de Fourier 2D permet d'obtenir le spectre RMN 2D caractérisé par :

- l'expression des déplacements chimiques et des couplages suivant la dimension F_2 (ppm)
- l'expression des constantes de couplages J suivant la dimension F_1 (Hz)

La molécule d'éthanol $CH_3 - CH_2 - OH$ s'exprime sur un spectre RMN traditionnel (1D) sous la forme de deux multiplets : un triplet à 1,19 ppm correspondant au groupement chimique CH_3 et un quadruplet à 3,67 ppm correspondant au groupement chimique CH_2 . Ces deux multiplets sont caractérisés par une constante de couplage J de 7,1 Hz (Cf. §A.2.2). Pour illustrer l'intérêt de la SRM 2D J-résolue,

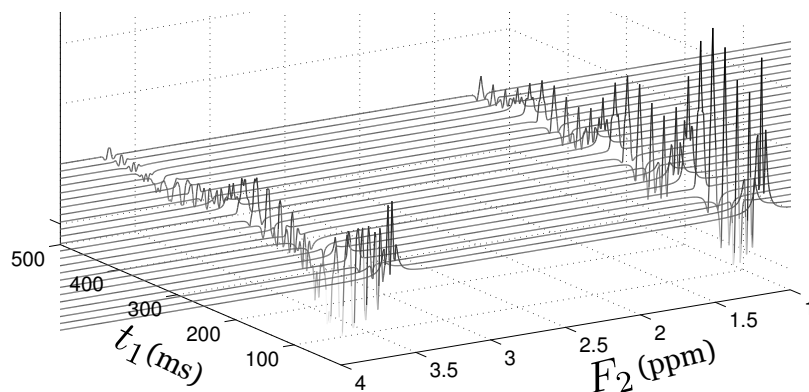


FIG. 1.16: Représentation temps-fréquence d'un signal RMN 2D J-résolu simulé de l'éthanol pour un champ $B_0=7$ T avec les paramètres suivants : $t_1=[20,500]$ ms et $N_1=24$. Les raies caractéristiques de l'éthanol suivant la dimension F_2 sont modulées en amplitude et en phase suivant la dimension t_1 et leur intensité décroît en T_2 .

un spectre RMN 2D J-résolu de l'éthanol est représenté à la Fig. 1.17. En pratique, le spectre RMN 2D est affecté par une distorsion de phase ou « phase-twist ». Ce phénomène induit une inclinaison des multiplets de 45° par rapport à l'horizontale $F_1=0$ Hz (Fig. 1.17). Une procédure de traitement du signal, appelée « tilt », permet la correction des données afin de réaliser la lecture des multiplets parallèlement à l'axe F_1 [Freeman, 1998]. Un exemple de spectre RMN 2D J-résolu « tilté » de l'éthanol est présenté en annexe §A.2.2.

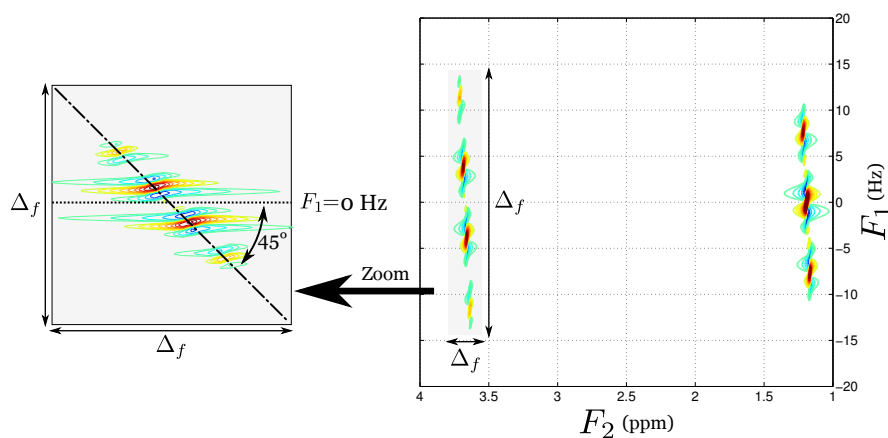


FIG. 1.17: Représentation d'un spectre RMN 2D J-résolu simulé de l'éthanol (non-tilté) pour un champ $B_0=7$ T avec les paramètres suivants : $t_1=[20,500]$ ms et $N_1=64$. Le « phase twist » et l'inclinaison de 45° du quadruplet de l'éthanol est nettement observable lorsque le spectre est représenté avec des largeurs spectrales équivalentes en F_2 et en F_1 .

En 1995, L. N. Ryner propose une séquence de spectroscopie RMN 2D J-résolu avec localisation spatiale du signal et présente les premiers spectres 2D acquis *in vivo* [Ryner et al., 1995b]. La séquence, baptisée 2D J-PRESS, est en réalité une

séquence PRESS (détaillée au paragraphe 1.3.2.2) répétée N_1 fois dont la durée TE et le temps d'acquisition jouent respectivement les rôles des périodes d'évolution t_1 et t_2 . Les séquences de SRM J-résolue détaillées dans la littérature présentent peu de différences avec celle proposée par L. N. Ryner. En s'inspirant de travaux réalisés en 1983 sur la caractérisation des macromolécules par SRM 2D J-résolue [Macura and Brown, 1983], R. F. Schulte propose l'acquisition, non plus du signal FID, mais de l'écho de spin entier (ou presque), afin d'accroître le RSB [Schulte *et al.*, 2006]. En pratique, le gain en RSB est considérable comparativement à la séquence J-PRESS originale dans le cas d'acquisition à TE long, ce qui limite le nombre de métabolites détectables.

1.4.2.3 Spectroscopie de corrélations

La spectroscopie de corrélation est à l'origine d'un grand nombre de séquences d'impulsions. La première d'entre elles, la séquence COSY, a été proposée par J. Jeener puis expérimentée par W. P. Aue en 1976 [Aue *et al.*, 1976a]. L'étape de préparation de la séquence COSY est une simple impulsion 90° permettant de basculer l'aimantation dans le plan transversal (Fig. 1.18). Durant la période d'évolution t_1 et contrairement à la séquence de SRM 2D J-résolue, l'aimantation évolue librement sous l'effet des déplacements chimiques et des couplages. La période de mélange consiste en une seconde impulsion 90° permettant le transfert d'aimantation entre spins. Le signal FID est acquis durant la période de détection t_2 . La durée totale d'acquisition est de $TR \cdot N_1 \cdot NA$.

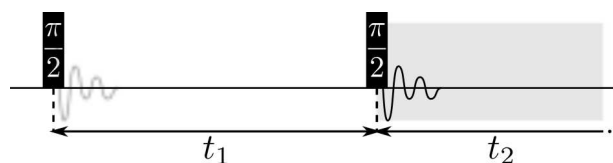


FIG. 1.18: Chronogramme de la séquence d'impulsions de SRM 2D COSY dont la période d'évolution t_1 est incrémentée et le signal est acquis durant la période de détection t_2 .

Le signal évoluant sous l'effet du déplacement chimique et des couplages pendant la période t_1 , une transformée de Fourier 2D permet d'obtenir un spectre RMN 2D caractérisé par l'expression des déplacements chimiques et des couplages suivant les deux dimensions F_1 et F_2 , toutes deux exprimées en ppm. Les raies situées en dehors de la diagonale indiquent les noyaux couplés entre eux et permettent de distinguer rapidement les relations de couplage scalaire [Bax and Freeman, 1981]. Pour illustrer

l'intérêt de la séquence COSY, un spectre RMN 2D de l'éthanol est représenté à la Fig. 1.19.

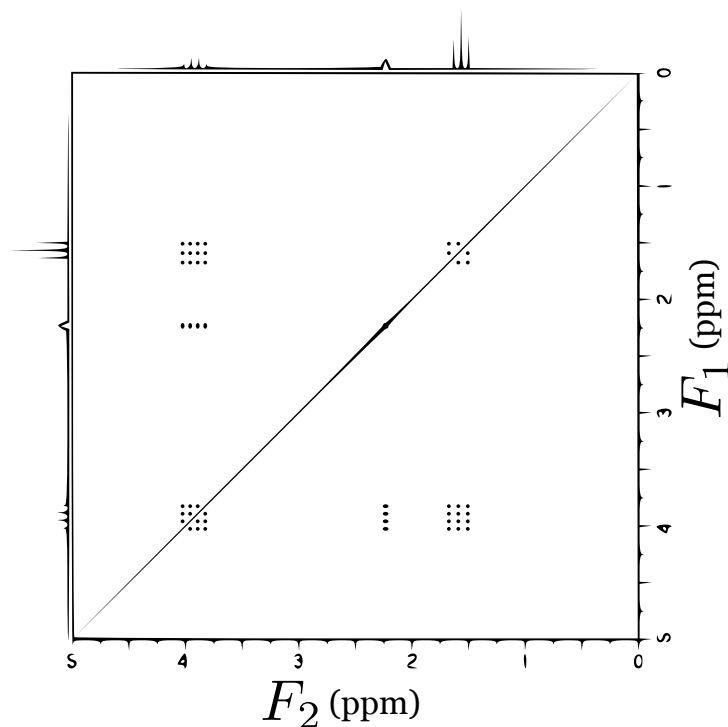


FIG. 1.19: Représentation schématique d'un spectre RMN 2D de corrélation de l'éthanol acquis avec la séquence COSY. Les déplacements chimiques sont observables suivant les deux dimensions F_1 et F_2 induisant des pics diagonaux permettant d'identifier les déplacements chimiques et les couplages en jeu.

Les premiers développements de séquences spectroscopiques de corrélation avec localisation dans l'espace ont débuté à la fin des années 80 [McKinnon and Bosiger, 1988]. En 1994, I. M. Brereton réalise les premières acquisitions de SRM 2D de corrélation avec localisation spatiale du signal provenant du cerveau de l'homme [Brereton *et al.*, 1994], suivi de L. N. Ryner [Ryner *et al.*, 1995a] et R. Kreis [Kreis and Boesch, 1996]. La séquence L-COSY¹⁵, développée par M. A. Thomas en 2001 [Thomas *et al.*, 2001b], est aujourd'hui la plus utilisée dans le cadre de la spectroscopie de corrélation appliquée *in vivo*.

1.4.3 Intérêts et limitations pour l'application *in vivo*

Comparée à la spectroscopie RMN traditionnelle (1D), la spectroscopie RMN 2D permet une meilleure séparation des signaux métaboliques. En 2003, M. A.

¹⁵Localized Correlation SpectroscopY

Thomas réalise une étude comparative entre les séquences J-PRESS et L-COSY et démontre l'intérêt de la SRM J-résolue, en particulier pour sa faible durée d'acquisition [Thomas *et al.*, 2003]. Lors d'une acquisition *in vivo*, la durée d'expérience est critique et doit être la plus faible possible. Or, la largeur spectrale suivant la dimension F_1 est beaucoup plus importante (de l'ordre du kilohertz) en spectroscopie de corrélation qu'en spectroscopie J-résolue, nécessitant l'acquisition d'un nombre important d'échantillons suivant t_1 . En effet, les constantes de couplages J des métabolites ne dépassant rarement 15 Hz, la largeur spectrale suivant la dimension F_1 est plus faible en SRM J-résolue en comparaison avec la SRM de corrélation où la largeur spectrale est de l'ordre d'un ou plusieurs kilohertz selon le champ B_0 . Chaque échantillon acquis suivant la dimension t_1 se traduit par une répétition de la séquence, entraînant une forte augmentation de la durée d'expérience. Un autre inconvénient de la spectroscopie COSY est la présence de larges pics diagonaux d'intensité élevée sur le spectre 2D, recouvrant parfois les pics d'intérêt. Bien qu'une variante de la séquence COSY, intitulée COSY-DQF¹⁶ [Rance *et al.*, 1983] ait été proposée pour s'affranchir de ces pics diagonaux, cette dernière souffre d'une perte de sensibilité importante.

Enfin, en pratique, les séquences de SRM 2D ne sont pas disponibles sur les consoles équipant les systèmes IRM. Toutefois, la séquence PRESS (Cf. §1.3.2.2), qui a l'avantage d'être disponible sur la majorité des consoles, présente une forte similarité en termes de séquence d'impulsions avec la séquence J-PRESS (Fig. 1.15), et constitue un bon point de départ pour le développement d'une séquence de spectroscopie RMN 2D J-résolue localisée (Cf. chapitre 2).

1.4.4 Approches pour la quantification du signal

A l'heure actuelle, peu d'approches existent pour la quantification des signaux RMN 2D. Dans le cadre de la spectroscopie RMN 2D haute-résolution, et par analogie à la SRM 1D traditionnelle, l'intégration du volume des pics remporte un grand succès. Toutefois, pour les mêmes raisons évoquées au paragraphe 1.3.4.1, cette technique présente des limitations importantes dans le cadre de la SRM 2D *in vivo*. En effet, la spectroscopie RMN 2D permet une meilleure séparation des signaux métaboliques en réduisant le recouvrement spectral mais la quantification de la contribution de certains signaux métaboliques demeure délicate avec l'emploi de cette technique. En 1992, R. de Beer réalise de premiers essais de quantification avec la technique de

¹⁶COSY with Double Quantum Filter

décomposition en valeurs singulières intitulée Hankel SVD¹⁷ [de Beer *et al.*, 1992]. Les projections du signal RMN 2D suivant les dimensions F_1 et F_2 sont décomposées dans le domaine temporel en valeurs singulières permettant l'estimation des différentes fréquences et des largeurs de raie pour chacune des résonances. L'optimisation numérique employée est linéaire et aucune connaissance *a priori* ne peut être intégrée à l'algorithme, réduisant la précision des estimations obtenues particulièrement dans le cas de signaux de SRM J-résolue où une part importante du signal d'intérêt est présente pour $F_1=0$ Hz. En 1999, J. Slotboom tente de généraliser sa technique TDFD, développée un an auparavant, à la quantification de signaux RMN 2D mais n'obtient pas de résultats probants. De tels développements ont également eu lieu avec moins d'ampleur dans le domaine de la spectroscopie haute-résolution.

1.4.4.1 *ProFit* : Prior-Knowledge Fitting

R. F. Schulte et P. Boesiger mettent au point en 2006 une procédure de quantification baptisée *ProFit*¹⁸ [Schulte and Boesiger, 2006]. Son principe repose sur la combinaison astucieuse de deux techniques développées pour la quantification des signaux de SRM 1D : *LCModel* [Provencher, 1993a] et VARPRO [Golub and Perreya, 1973, van der Veen *et al.*, 1988], deux méthodes de quantification évoquées précédemment au paragraphe 1.3.4.1. *LCModel* permet la quantification dans le domaine temporel sur la base d'une connaissance *a priori* alors que l'implémentation algorithmique de VARPRO permet de diviser le problème de l'optimisation numérique en une combinaison de deux problèmes respectivement linéaire et non-linéaire (Fig. 1.20).

ProFit étant largement basé sur la procédure proposée par S. W. Provencher, cette méthode considère le signal RMN 2D comme une combinaison linéaire de signaux métaboliques. Ainsi, la connaissance *a priori* consiste en une base de signatures spectrales calculées numériquement pour chacun des métabolites à l'aide de la librairie GAMMA [Smith *et al.*, 1994]. Cette librairie permet la simulation de signaux RMN connaissant le champ B_0 et les caractéristiques de la molécule en termes de déplacements chimiques, constantes de couplages J et nombre de protons. Chaque métabolite m est caractérisé par les paramètres suivants :

- un terme c_m proportionnel à la concentration du métabolite m . L'estimation des paramètres c_m constitue le principal objectif de la procédure de quantification.

¹⁷Singular Value Decomposition

¹⁸Prior-knowledge Fitting

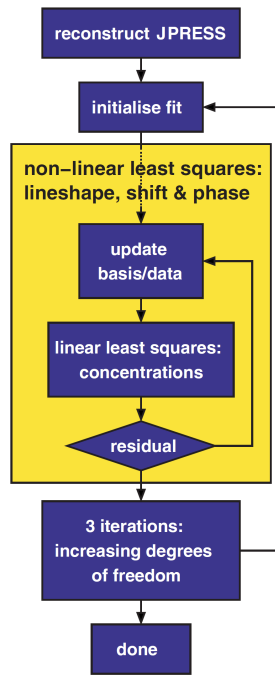


FIG. 1.20: *ProFit* repose sur une procédure d'optimisation non-linéaire (représentée en jaune) et sur l'accroissement progressif des degrés de liberté de l'ajustement numérique. Figure extraite de [Schulte and Boesiger, 2006].

- un facteur d'amortissement de type gaussien σ_g appliqué suivant la dimension F_2 permettant de modéliser la forme de raie gaussienne des pics en SRM *in vivo*
- un facteur d'amortissement de type exponentiel $\sigma_{e,m}$ appliqué suivant les dimensions F_2 et F_1 caractérisant la forme de raie lorentzienne
- un décalage en fréquence Δ_1 suivant la dimension F_1 (dont le rôle demeure incertain)
- un décalage en fréquence $\Delta_{2,m}$ suivant la dimension F_2 permettant de compenser les légers décalages en fréquences induits par les inhomogénéités de champ magnétique
- une phase d'ordre 0 φ_0 permettant d'ajuster la phase des signaux simulés formant la connaissance *a priori* de l'algorithme

Les deux paramètres φ_0 et Δ_1 sont fixés de manière globale pour tous les métabolites à l'aide d'un algorithme de correction de phase et de recalage en fréquence. Le paramètre σ_g est estimé de manière globale pour tous les métabolites durant les différentes étapes de quantification.

Le signal RMN 2D acquis expérimentalement et qu'on souhaite quantifier est

noté $x(t_2, t_1)$. La quantification du signal consiste à ajuster numériquement un modèle mathématique de ce signal, noté $\hat{x}(t_2, t_1)$ et dont l'expression est donnée à l'équation (1.8). Le terme $\hat{x}(t_2, t_1)_m$ correspond au signal simulé correspondant au métabolite m présent dans la base de connaissances *a priori* qui regroupe au total M signaux métaboliques.

$$\hat{x}(t_2, t_1) = \sum_{m=1}^M \hat{x}_m(t_2, t_1) \cdot \exp \left(i \cdot \Delta_{2,m} \cdot t_2 - \pi \cdot \sigma_{e,m} \cdot |t_1 + t_2| - \frac{(\sigma_g \cdot \pi \cdot t_2)^2}{2 \cdot \log(2)} \right) \quad (1.8)$$

L'optimisation numérique est réalisée dans le domaine fréquentiel. La fonction de coût correspond à la somme des moindres carrés de la différence entre le signal 2D à quantifier $x(t_2, t_1)$ et le modèle mathématique $\hat{x}(t_2, t_1)$. Des termes de régularisation ont été ajoutés à la fonction de coût afin de contraindre les valeurs des différents facteurs d'amortissement $\sigma_{e,m}$ à tendre vers une valeur typique fixée arbitrairement et à minimiser les écarts entre les différents décalages en fréquence $\Delta_{2,m}$.

Le principe de *ProFit* repose sur une procédure de quantification à trois niveaux ou imbrications (Fig. 1.20) :

1. Le niveau le plus élevé englobe l'optimisation non-linéaire (en jaune sur la Fig. 1.20) et se compose de trois itérations. L'optimisation non-linéaire est ré-initialisée à chaque itération avec les estimations obtenues lors de la précédente itération. De plus, à chaque itération, les degrés de liberté de la procédure de quantification augmentent :
 - (a) Lors de la première itération, seuls les métabolites ne présentant aucun couplages J (par exemple, les métabolites Cho, Cre et NAA) sont ajustés en amplitude c_m et en fréquence $\Delta_{2,m}$.
 - (b) Lors de la seconde itération, les facteurs d'amortissement $\sigma_{e,m}$ et σ_g sont également ajustés pour ces mêmes métabolites.
 - (c) Lors de la troisième itération, les paramètres de concentration c_m , de facteurs d'amortissement $\sigma_{e,m}$ et σ_g , et de décalage en fréquence $\Delta_{2,m}$ sont ajustés pour tous les métabolites.
2. Le niveau intermédiaire correspond à l'optimisation non-linéaire. Cette partie de la procédure de quantification est itérée un grand nombre de fois et se compose d'une optimisation non-linéaire des paramètres correspondant aux facteurs d'amortissement $\sigma_{e,m}$ et σ_g et au décalage en fréquence $\Delta_{2,m}$.
3. Le noyau de la procédure de quantification repose sur un ajustement numérique

linéaire des paramètres de concentrations c_m . Cette partie de la procédure de quantification est itérée un grand nombre de fois.

La procédure de quantification s'achève lorsque l'étape d'optimisation non-linéaire est répétée trois fois. Les résultats de quantification se composent des valeurs correspondant aux estimations des paramètres de concentration c_m pour chaque métabolite m (Fig. 1.21). Chacune de ces valeurs est accompagnée d'un intervalle de confiance généralement exprimé en pourcentage. Cette marge d'erreur sur l'estimation est évaluée à l'aide de la théorie de Cramér-Rao dont le principe est détaillé au paragraphe suivant.

Metabolite	<i>Inc</i>	Cr ratio	SD [%]	CRLB [%]
NAA/NAAG	26	1.74	6.13	—
NAA	26	1.48	6.54	0.7 ± 0.2
NAAG	24	0.282	27.8	3.7 ± 1.4
PCh/GPC	26	0.282	9.12	—
Glu	26	1.28	13.1	2.6 ± 0.4
mI	26	0.99	18.4	2.8 ± 0.6
GSH	26	0.256	11.8	4.4 ± 0.7
GABA	23	0.172	22.2	12.3 ± 3.1
Ala	20	0.11	47.6	13.7 ± 3.6
Asc	26	0.468	29.1	5.8 ± 2.3
Asp	24	0.412	31.3	10.6 ± 3.2
Glc	25	0.368	30.8	10.0 ± 3.5
Gln	20	0.213	17.1	13.6 ± 2.4
Gly	24	0.123	20.9	12.1 ± 3.1
Lac	22	0.12	19.5	11.5 ± 2.6
PE	26	0.408	28.1	8.7 ± 2.8
Scy	26	0.049	41.2	10.7 ± 3.8
Tau	1	0.242	0	10.2 ± 0.0
Cr 3.03	26	1	0	0.9 ± 0.2
Cr 3.91	26	1.07	6.52	1.7 ± 0.3

FIG. 1.21: Résultats d'estimation des concentrations métaboliques avec la méthode *ProFit* pour des signaux de SRM 2D J-résolue acquis dans le cerveau de l'homme (27 sujets) avec un IRM clinique 3 T. Tableau extrait de [Schulte and Boesiger, 2006].

1.4.4.2 Erreur d'estimation : bornes de Cramér-Rao

Toute estimation, quel que soit la technique employée pour la calculer, comporte une erreur ou un intervalle de confiance. Cette intervalle de confiance reflète la précision de l'estimation. Dans le domaine médical où la SRM est employée pour établir des profils métaboliques à partir de résultats de quantification, la précision de l'estimation joue un rôle important. Selon la précision des estimations, le diagnostic réalisé par le médecin au vu du profil métabolique sera plus ou moins fiable.

En 2001, S. Cavassila propose l'utilisation de la borne de Cramér-Rao¹⁹ ou CRLB²⁰ pour évaluer l'erreur sur l'estimation des concentrations des métabolites [Cavassila *et al.*, 2001]. La théorie de Cramér-Rao permet de déterminer numériquement la limite inférieure des variances associées aux paramètres estimés dans le cas où l'estimateur est non biaisé. Cette limite est indépendante de la méthode de quantification utilisée et est par conséquent une technique très employée dans le domaine de la RMN pour évaluer la précision des résultats de quantification.

La détermination des CRLB repose sur le calcul de la matrice de Fisher associée au signal $\hat{x}(t_2, t_1)$. La matrice de Fisher inversée présente des termes diagonaux correspondant aux variances limites des paramètres du signal $\hat{x}(t_2, t_1)$. La borne de Cramér-Rao dépend directement du niveau de bruit présent dans le signal à quantifier. Ainsi, la valeur de la CRLB est proportionnelle à l'écart-type du bruit ce qui confirme que la présence de bruit dans un signal rend ce dernier plus délicat à quantifier et induit des erreurs dans les estimations. Un exemple de présentation de résultats de quantification est donné à la Fig. 1.22.

Un seuil maximal de 20 % pour la borne CRLB des concentrations métaboliques est souvent évoqué dans la littérature relative à la quantification des signaux de SRM. Cette valeur limite, discutable et arbitrairement choisie par S. W. Provencher dans le cadre du développement de la méthode *LCModel* [Provencher, 1993b], permet de rejeter les estimations considérées comme trop imprécises. Il est important de rappeler que les bornes de Cramér-Rao permettent d'évaluer l'erreur minimale d'une estimation dans le cas idéal où l'estimateur n'est pas biaisé. Or, en pratique, les procédures de quantification induisent généralement un léger biais qui se retrouve par la suite dans les estimations. Ainsi, une borne de Cramér-Rao élevée permet de rejeter une estimation trop imprécise au-delà d'un seuil limite arbitrairement fixé (20 %). Toutefois, l'inverse n'est pas possible. Une borne de Cramér-Rao faible (inférieure à 20 %) ne permet pas d'affirmer que l'estimation est précise car elle pourrait être biaisée.

La théorie de Cramér-Rao permet donc l'accès à une information précieuse permettant de caractériser la précision d'une estimation. Toutefois, en pratique, il est intéressant de coupler cette information avec d'autres critères tels que l'analyse du signal résiduel issu de l'optimisation numérique ou la sensibilité des estimations aux valeurs initiales de la procédure de quantification.

¹⁹aussi appelée borne de Fréchet-Darmonis-Cramér-Rao (ou borne FDCR) en l'honneur de Maurice Fréchet, Georges Darmonis, Harald Cramér et Calyampudi Radhakrishna Rao.

²⁰Cramér-Rao Lower Bound

Metabolite	9.4 T		14.1 T	
	Concentration (mmol/kg) \pm SD	CRLB (%)	Concentration (mmol/kg) \pm SD	CRLB (%)
Alanine (Ala)	0.37 \pm 40%	23	0.63 \pm 19% ^a	11
Aspartate (Asp)	1.7 \pm 31%	14	1.9 \pm 10%	9
Phosphocholine (PCho)	0.47 \pm 33%	16	0.32 \pm 16% ^a	16
			0.49 \pm 26% ^b	17
Glycerophosphocholine (GPC)	0.33 \pm 30%	18	0.87 \pm 5% ^a	6
			0.66 \pm 32% ^{ab}	12
Creatine (Cr)	3.9 \pm 12%	4	4.0 \pm 11%	3
Phosphocreatine (PCr)	4.5 \pm 9%	3	4.3 \pm 10%	3
γ -Aminobutyrate (GABA)	1.1 \pm 22%	9	1.5 \pm 13% ^a	6
Glutamine (Gln)	3.0 \pm 19%	3	2.8 \pm 19%	3
Glutamate (Glu)	9.8 \pm 6%	1.5	10.3 \pm 8%	1.2
Glutathione (GSH)	1.0 \pm 12%	7	1.3 \pm 14% ^a	5
Glycine (Gly)	0.50 \pm 32%	22	0.81 \pm 17%	13
Glucose (Glc)	1.2 \pm 66%	30	2.3 \pm 10% ^a	9
myo-Inositol (Ins)	5.9 \pm 6%	2	6.2 \pm 5%	2
N-Acetylaspartate (NAA)	9.2 \pm 10%	1.0	9.3 \pm 12%	1.0
Taurine (Tau)	6.1 \pm 12%	2	6.0 \pm 9%	2
Ascorbate (Asc)	1.2 \pm 40%	14	1.4 \pm 33%	11
N-Acetylaspartylglutamate (NAAG)	0.40 \pm 51%	6	0.96 \pm 16% ^a	6
Phosphoethanolamine (PE)	2.1 \pm 9%	6	2.2 \pm 12%	9
Lactate (Lac)	1.4 \pm 33%	7	0.73 \pm 19% ^a	12

The spectra in each pair had the same SNR (within $\pm 3\%$), the overall range of SNR was 27–40.

^a Metabolite concentrations, which were found significantly different at 14.1 T compared to 9.4 T ($t < 0.1$).

^b Only the spectral range from 0 to 4.1 ppm was used in the LCModel fit.

FIG. 1.22: Tableau présentant les estimations de concentrations métaboliques obtenues avec *LCModel* sur des signaux de SRM acquis dans le cerveau de rat pour des champs de 9,4 et 14,1 T (tableau extrait de [Mlynárik *et al.*, 2008]). Chaque concentration est estimée en mmol/kg et est accompagnée d'un intervalle de confiance en pourcentage correspondant à la borne de Cramér-Rao.

1.4.5 Spectroscopie RMN 2D *in vivo* quantitative : état de l'art

La spectroscopie RMN 2D *in vivo* a fait l'objet d'une quarantaine d'articles publiés dans des journaux internationaux. La grande majorité des travaux publiés ont été réalisés dans des laboratoires américains et portent sur la détection de métabolites dans le cerveau humain sain ou dans le cas de la présence de tumeurs [Ryner *et al.*, 1995b, Thomas *et al.*, 1996, Thomas *et al.*, 2001b, Thomas *et al.*, 2003, Ramadan *et al.*, 2011]. Toutefois, la SRM 2D est également employée pour l'étude du cancer de la prostate [Nagarajan *et al.*, 2010, Lange *et al.*, 2008, Thomas *et al.*, 2008] ou du sein [Thomas *et al.*, 2001a] et quelques études ont également traité le cas du muscle [Ramadan *et al.*, 2010, Kreis and Boesch, 1996]. L'expérimentation animale remporte un grand succès en Europe où la SRM 2D appliquée au cerveau de

souris ou de rat a fait l'objet de plusieurs articles principalement à la fin des années 90 et au début des années 2000 [Delmas *et al.*, 2001].

Les séquences employées pour réaliser les acquisitions de SRM 2D *in vivo* sont principalement les séquences J-PRESS et L-COSY, détaillées précédemment (Cf. §1.4.2). Mis à part les travaux relatifs au développement de ces deux techniques publiés à la fin des années 90 [Ryner *et al.*, 1995a, Kreis and Boesch, 1996, Thomas *et al.*, 2001b, Ziegler *et al.*, 2002], peu d'études portent exclusivement sur le développement ou l'optimisation de séquences de SRM 2D mono-voxel. En 2001, F. Delmas publie des travaux originaux sur le développement d'une séquence de SRM de corrélation permettant l'acquisition simultanée de signaux provenant de deux volumes d'intérêts [Delmas *et al.*, 2001]. Plus récemment, l'intérêt pour l'imagerie spectroscopique à base de SRM 2D s'accroît et fait l'objet de nombreuses publications [Kim *et al.*, 2007, Li *et al.*, 2007, Jensen *et al.*, 2005, hyun Kim *et al.*, 2005, Hiba *et al.*, 2004]. Près des deux tiers des travaux relatifs à la SRM 2D mono-voxel appliquée *in vivo* sont basés sur la séquence J-PRESS. Le succès remporté par cette séquence s'explique par plusieurs raisons évoquées au paragraphe 1.4.3. La raison majeure est sans doute d'ordre technique : la séquence J-PRESS a l'avantage d'être très similaire à la séquence PRESS, présente sur la majorité des systèmes d'imagerie, ce qui en facilite son implémentation.

Enfin, plus de la moitié des études ne présentent aucune données quantitatives relatives aux concentrations métaboliques. Parmi les travaux présentant des résultats de concentrations métaboliques, la technique la plus employée demeure l'intégration des volumes des pics, technique reconnue pour sa sensibilité aux problèmes de recouvrement spectrale. Cette constatation reflète un besoin en procédure de quantification précise pour les signaux de SRM 2D alors que les travaux traitant de cet aspect méthodologique sont peu nombreux [Schulte and Boesiger, 2006, Gonenc *et al.*, 2010].

Les pages suivantes présentent un tableau récapitulatif de quelques publications sélectionnées dans le domaine de la SRM 2D *in vivo*, avec un accent sur l'expérimentation animale qui sera l'un des aspects du chapitre suivant. Chacun des travaux est décrit en termes d'objectifs et de résultats clés. Les conditions expérimentales, les séquences, les paramètres d'acquisition et la méthode employée pour l'analyse des spectres obtenus sont également précisés. Les principaux paramètres d'une séquence de SRM 2D J-résolue retenus sont :

- le Temps d'Echo minimal noté TE_{min} . Un TE court a l'avantage d'accroître le RSB du signal. Toutefois, les macromolécules, qui ont généralement un T_2 court, seront plus présentes sur le spectre acquis.

- le nombre d’incrémentes N_1 suivant la dimension t_1 . Le paramètre N_1 conditionne la largeur spectrale suivant la dimension F_1 et multiplie la durée d’acquisition.
- le nombre d’accumulations NA . Ce paramètre conditionne le RSB des signaux acquis et multiplie la durée d’acquisition.
- le volume d’intérêt. Le RSB des signaux est proportionnel au volume du voxel sélectionné. Toutefois, le choix d’un volume d’intérêt important induit une plus grande sensibilité aux inhomogénéités de champ B_0 .
- la durée d’acquisition totale. Ce paramètre, qui dépend des paramètres TR , N_1 et NA , doit être le plus faible possible afin de réduire la durée d’examen dans le cadre médical et d’atténuer les risques de mouvement du sujet.

Objectifs de l'étude	Séquences & paramètres	Durée	Méthode d'analyse	Résultats clés
[Ryner et al., 1995b] Réaliser les premières acquisitions de SRM J-résolue localisée <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> sur le cerveau humain avec un imageur clinique ($B_0=1,5$ T)	Localized 2D J-PRESS, $N_1=50$, NA=20, voxel de 9 mL	37 mn	Identification de pics	<ul style="list-style-type: none"> – Premier résultat de SRM 2D J-résolue localisée <i>in vivo</i> – Découverte de l'apport de la SRM J-résolue pour l'application <i>in vivo</i>
[Delmas et al., 2001] Réaliser une acquisition de SRM de corrélation avec double localisation spatiale du signal sur le cerveau de rat sain et en situation ischémique ($B_0=4,7$ T)	Séquence proche de L-COSY avec encodage Hadamard, $TE_{min}=15$ ms, $N_1=80$, NA=8, double voxel de 125 μL chacun	21 mn	Identification de pics	<ul style="list-style-type: none"> – La double localisation spatiale du signal permet l'acquisition simultanée de deux spectres respectivement dans les deux hémisphères du cerveau – 12 métabolites détectés – Les couples de métabolites Gln/Glu et Lac/Lip sont difficilement identifiables
[Welch et al., 2003] Détecter une évolution de la concentration en GABA, Gln, mIns et Tau dans le cerveau de rat suite à un traitement ($B_0=7$ T)	2D ISIS L-COSY, $N_1=111$, NA=64, voxel de 270 μL	2 h	Intégration du volume des pics	<ul style="list-style-type: none"> – Augmentation des concentrations en GABA, Gln et Tau – Sélection spatiale efficace basée sur ISIS – Quantification d'une variation de concentration en GABA de 0,15 mM avec un coefficient de variation (CV) de 15 %

<p>[Thomas <i>et al.</i>, 2003]</p> <p>Réaliser des acquisitions comparatives de SRM J-résolue et COSY localisées dans le cerveau humain ($B_0=3$ T)</p>	<p>2D J-PRESS : 34 min $TE_{min}=30$ ms, $N_1=64$, NA=8/16; 2D L-COSY : $TE_{min}=30$ ms, $N_1=128$, NA=8; voxel de 27 mL</p>	<p>Identification de pics</p>	<ul style="list-style-type: none"> – Intérêt de la SRM J-résolue pour l'application <i>in vivo</i> pour la plus courte durée d'acquisition – Le spectre L-COSY permet une meilleure identification des métabolites Lac et GSH
<p>[Adalsteinsson <i>et al.</i>, 2004]</p> <p>Réaliser des acquisitions de SRM J-résolue localisée sur le cerveau de souris dans un imageur clinique ($B_0=3$ T)</p>	<p>PRESS, $TE_{min}=35$ ms, $N_1=16$, NA=8, voxel de 250 μL</p>	<p>Intégration du volume des pics</p>	<ul style="list-style-type: none"> – Faisabilité de la SRM 2D J-résolue sur un imageur clinique – Quantification précise du NAA, Cr et Cho – Besoin d'une méthode de quantification
<p>[Braakman <i>et al.</i>, 2008]</p> <p>Réaliser la première acquisition SRM de corrélation localisée sur le cerveau de souris ($B_0=9,4$ T)</p>	<p>L-COSY, $TE_{min}=15$ ms, $N_1=192$, NA=20, voxel de 64 μL</p>	<p>Identification de pics</p>	<ul style="list-style-type: none"> – Nombre important de métabolites détectables (20) en comparaison à la SRM 1D – Séparation des signatures spectrales des couples Glu/Gln et NAA/NAAG
<p>[Lange <i>et al.</i>, 2008]</p> <p>Quantifier les concentrations des métabolites présents dans la prostate de sujets sains ($B_0=3$ T)</p>	<p>2D J-PRESS, 23 mn $TE_{min}=49$ ms, $N_1=100$, NA=8, voxel de 6 mL</p>	<p><i>ProFit</i></p>	<ul style="list-style-type: none"> – Quantification précise des métabolites spécifiques à la prostate (citrate et spermine) – Réduction des CRLB des estimations en comparaison avec <i>LCModel</i> (SRM 1D) – Les métabolites Gln, Glu et Tau font l'objet de CRLB élevées

1.5 Conclusion

Ce chapitre, après avoir présenté les notions essentielles de la RMN, a démontré le grand intérêt de la SRM *in vivo*. Cette technique permet de caractériser les métabolites présents dans un tissu et d'en déduire le profil métabolique, outil puissant pour le diagnostic. Toutefois, dans le cas des champs couramment utilisés chez l'homme (1,5 et 3 T) et chez le petit animal (7 T), les signaux de SRM 1D acquis à temps d'écho court présentent des limitations qui affectent particulièrement la quantification des signaux. Afin de séparer plus efficacement les contributions des différents métabolites, la SRM 2D est proposée. Cette technique, récemment appliquée sur l'homme, fait l'objet d'un intérêt croissant dans le domaine de la spectroscopie RMN *in vivo* à moyen champ. En 2004, un article de revue générale portant sur la SRM du petit animal va jusqu'à considérer les techniques de spectroscopie RMN 2D comme étant l'avenir dans le domaine [Meric *et al.*, 2004].

A l'heure actuelle, la majorité des résultats de quantification des signaux de SRM 2D évoqués dans la littérature sont obtenus par intégration des volumes des pics, technique peu précise et relativement sensible aux recouvrements spectrales. De plus, les études portant sur la SRM 2D portent principalement sur le cerveau ou la prostate chez l'homme et peu de travaux ont été réalisés chez le petit animal.

Le chapitre suivant porte sur les travaux relatifs aux développements de la SRM 2D J-résolue pour l'étude du cerveau du petit animal (rat et souris). Les travaux sont présentés suivant deux axes principaux. Le premier axe concerne le développement d'une séquence 2D J-PRESS localisée dédiée à l'acquisition de spectres RMN 2D J-résolus sur le cerveau de rat et de souris. Le deuxième axe concerne le développement d'une procédure de quantification des signaux 2D acquis avec cette technique.

Développements méthodologiques pour la quantification de signaux spectroscopiques RMN 2D *in vivo*

2.1 Introduction

La SRM 2D présente un grand intérêt pour la quantification des concentrations des métabolites présents dans le cerveau. A l'heure actuelle, peu d'études portent sur la SRM 2D quantitative *in vivo*. Développé en 2006, *ProFit* [Schulte and Boesiger, 2006] permet de réaliser la quantification précise d'une majorité des métabolites à partir de signaux acquis sur le cerveau de l'homme à 3 T mais les concentrations en Gln, Gly et mIns restent encore délicates à estimer. De plus, *ProFit* est une méthode reposant principalement sur deux approches existantes en SRM 1D opérant dans le domaine fréquentiel et ne considère donc pas le signal RMN 2D comme un signal bi-dimensionnel à part entière mais comme un ensemble de signaux 1D.

Ce chapitre porte sur les travaux réalisés dans le domaine de la SRM 2D J-résolue quantitative en s'articulant principalement autour du développement de méthodes d'acquisition et de quantification des signaux. Ainsi, une séquence d'impulsions développée pour l'acquisition de signaux de SRM 2D J-résolue *in vivo* y est détaillée

dans la première partie du chapitre. Basée sur la séquence 2D J-PRESS mise au point par L. N. Ryner en 1995 [Ryner *et al.*, 1995b], la séquence proposée a toutefois été dotée de nouvelles fonctions permettant, entre autres, l'échantillonnage irrégulier des signaux RMN 2D suivant la dimension t_1 . Cette technique, peu répandue dans le domaine de la SRM 2D, permet de réduire les durées d'acquisition et d'exploiter les différences de constantes de couplage J existant entre les métabolites pour acquérir, par exemple, un spectre présentant un chevauchement spectral minimal.

Une procédure de quantification dédiée à l'estimation des signaux de SRM 2D J-résolue acquis *in vivo* a été développée et est détaillée dans un deuxième temps. Basée sur un fort *a priori* et une modélisation dans le domaine temporel, cette méthode a fait l'objet de nombreux travaux d'optimisation. Elle intègre, entre autres, une stratégie de quantification permettant de réaliser l'estimation des paramètres en plusieurs étapes afin de réduire la sensibilité de la méthode aux problèmes d'optimisation numérique. De plus, du fait d'un ajustement numérique dans le domaine temporel, elle gère de manière native l'échantillonnage irrégulier des données, permettant ainsi la quantification de signaux acquis de manière non-conventionnelle avec la séquence évoquée précédemment.

La procédure de quantification a fait l'objet de plusieurs études permettant d'évaluer statistiquement ses performances pour l'estimation des concentrations métaboliques à partir de signaux RMN 2D J-résolus. Ces étapes de validation sont détaillées en trois volets comprenant respectivement une validation basée sur des outils théoriques tels que la borne de Cramér-Rao, une validation par la méthode Monte Carlo avec la quantification de signaux simulés dans des conditions *in vivo* puis enfin par une validation expérimentale avec l'acquisition et la quantification de signaux RMN 2D J-résolus acquis dans le cerveau du petit animal.

Une part importante des travaux est portée sur l'évaluation du gain apporté par l'échantillonnage irrégulier des signaux RMN 2D J-résolus pour la quantification des concentrations des métabolites. Pour cela, un algorithme a été développé et permet de déterminer théoriquement les échantillonnages optimisés suivant la dimension t_1 améliorant la quantification des signaux métaboliques. Cette approche, également validée par une étude Monte Carlo, a fait l'objet d'une validation expérimentale. Ces développements sont présentés en détail en fin de chapitre.

2.2 2D J-PRESS WISH : séquence de de spectroscopie RMN 2D J-résolue localisée

Une séquence permettant l'acquisition de spectres RMN 2D J-résolus a été développée sur les IRM *Bruker Biospec* 4,7 T et 7 T petit animal dont les caractéristiques sont brièvement décrites en annexe §A.1. Cette séquence est basée sur le principe énoncé par L. N. Ryner [Ryner *et al.*, 1995b] et est, en pratique, largement inspirée de la séquence de spectroscopie RMN localisée intitulée PRESS (Cf. §1.3.2.2). Toutefois, de nombreuses fonctionnalités ont été ajoutées permettant, entre autres, l'échantillonnage irrégulier suivant la dimension t_1 , une pondération en terme d'accumulation selon les incréments et l'acquisition du spectre RMN 2D J-résolu des macromolécules avec la technique d'inversion-récupération. La séquence a été baptisée 2D J-PRESS WISH pour *2D J-Resolved Point REsolved SpectroScopy with Weighted Irregular Sampling Handling* et son code est donné en annexe §B.1.

2.2.1 Développement de la séquence

Le principe de la séquence 2D J-PRESS WISH repose sur la répétition de la séquence PRESS. A chaque répétition, le temps d'évolution t_1 est incrémenté afin d'acquérir la seconde dimension spectrale. En pratique, le développement de la séquence 2D J-PRESS WISH a consisté en deux modifications majeures de la séquence PRESS : l'ajout de délais incrémentables entre les impulsions et l'ajout d'une boucle permettant de répéter la séquence N_1 fois.

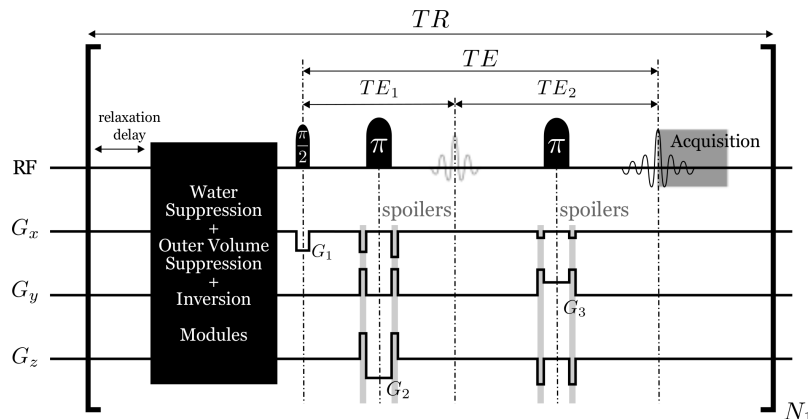


FIG. 2.1: Chronogramme de la séquence de SRM mono-voxel 2D J-PRESS WISH. La séquence PRESS (Cf. Fig. 1.11) est répétée N_1 fois permettant l'acquisition de la seconde dimension spectroscopique.

2.2.1.1 Préparation

L'étape de préparation de la séquence est composée de trois modules *Paravision* qui sont activés et configurés depuis l'interface graphique :

- Un module de suppression d'eau *WsSat* permettant d'atténuer fortement l'intensité du signal RMN induit par la molécule d'eau. Pour y parvenir, ce module met à disposition les deux techniques de suppression d'eau, VAPOR et CHESS (Cf. §1.3.2.2). En pratique, ces deux techniques nécessitent l'ajustement en puissance de certaines impulsions. Même si la console *Paravision* procède à un ajustement automatique, il est parfois nécessaire d'affiner la suppression manuellement. Par souci de simplicité, la technique VAPOR sera employée car elle nécessite seulement l'ajustement de deux impulsions contre trois pour la technique CHESS.
- Un module OVS permettant l'atténuation des signaux provenant de l'extérieur du volume d'intérêt afin d'accroître la sélectivité spatiale (Cf. §1.3.2.2).
- Un module *InvPulse* permettant d'émettre une impulsion 180° non sélective suivie d'un temps d'inversion TI.

L'ajout de ce dernier module rend possible l'acquisition du spectre RMN 2D des macromolécules par la technique d'inversion-récupération [Seeger *et al.*, 2003, Seeger *et al.*, 2001]. Les macromolécules, dont les signaux contribuent grandement à la ligne de base présente sur un spectre RMN *in vivo* à temps d'écho courts, se différencient des métabolites par leurs temps de relaxation longitudinale T_1 . K. L. Behar a montré en 1994 que les temps de relaxation T_1 des macromolécules sont en moyenne plus courts que ceux des métabolites [Behar *et al.*, 1994]. La technique d'inversion-récupération tire parti de ces différences en T_1 et permet d'annuler l'aimantation longitudinale des métabolites au début de l'étape d'excitation PRESS (Fig. 2.2).

Le signal acquis lors l'étape de détection provient des macromolécules et le spectre RMN obtenu constitue une information précieuse pour caractériser la ligne de base. Ce dernier pourra ainsi être modélisé pour prendre en compte le signal des macromolécules lors de la quantification des données (Cf. 2.3.5).

2.2.1.2 Excitation & Détection

Les étapes d'excitation et de détection de la séquence 2D J-PRESS WISH sont très similaires à celles présentes dans la séquence PRESS (Cf. §1.3.2.2). Le schéma d'excitation de la séquence PRESS a fait l'objet de quelques modifications détaillées

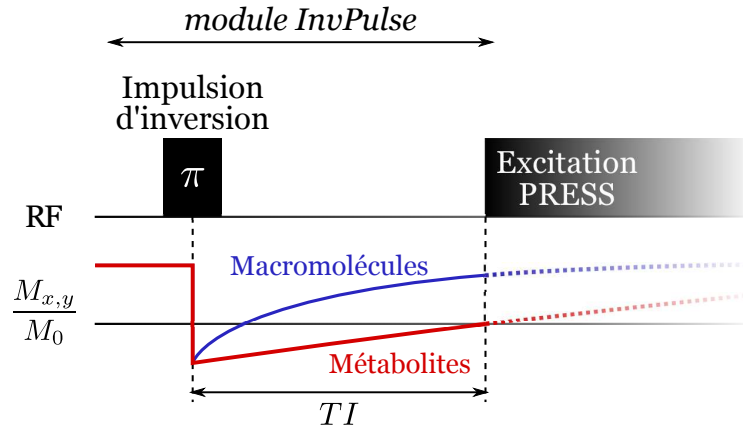


FIG. 2.2: Chronogramme du module *InvPulse* présent lors de l'étape de préparation de la séquence 2D J-PRESS WISH. L'impulsion 180° non sélective provoque l'inversion de l'aimantation longitudinale à $t=0$. Suite à l'inversion, les métabolites et les macromolécules font l'objet d'une relaxation longitudinale avec des temps T_1 différents. A $t = TI$, l'aimantation longitudinale des macromolécules a atteint une repousse quasi-complète alors celle des métabolites est nulle. L'étape d'excitation PRESS qui débute à cet instant n'aura d'effets que sur l'aimantation macromoléculaire.

dans les paragraphes suivants. Ainsi, des délais incrémentables ont été ajoutés entre les impulsions 90° et 180° , entre les impulsions 180° , et entre la dernière impulsion et le début de l'acquisition. Ces délais permettent d'incrémenter le TE et d'acquérir la seconde dimension spectrale. La durée TE correspond à la somme des deux durées TE_1 et TE_2 . L'incrémentation du TE peut être réalisée de plusieurs façons :

- En incrémentant le délai TE_1 et en conservant le délai TE_2 constant, ce qui correspond au mode de calcul *Fixed TE2*.
- En incrémentant le délai TE_2 et en conservant le délai TE_1 constant, ce qui correspond au mode de calcul *Fixed TE1* ou *Min TE1*.
- En incrémentant les deux délais de la même durée, ce qui correspond au mode de calcul *Equalise TE*.

Les valeurs des délais TE_1 et TE_2 influencent la forme des raies présentes sur le spectre RMN, en particulier pour les signaux métaboliques couplés tels que Glu et Gln [Snyder *et al.*, 2010, Snyder and Wilman, 2010]. Toutefois, peu d'études portent sur l'optimisation de ces délais pour l'obtention de spectre RMN *in vivo*. En pratique, le constructeur *Bruker* préconise de réduire le délai TE_1 au minimum dans le cas de l'acquisition de signaux métaboliques couplés (mode *Min TE1*).

Le pas d'incrémentation du TE peut être fixe ou variable selon que l'échantillonnage suivant la dimension t_1 est régulier ou irrégulier. L'échantillonnage irrégulier en SRM 2D, technique encore peu présente dans la littérature, permet de réduire la

durée d'acquisition d'un spectre RMN 2D. Une étude consacrée à cette technique est détaillée au paragraphe 2.6 et présente les premiers résultats de quantification *in vivo*.

En pratique, la séquence PRESS permet d'accumuler les signaux acquis afin d'accroître le RSB. Ainsi, NA signaux sont acquis puis directement sommés lors de la détection. Dans la continuité de la technique d'échantillonnage irrégulier évoquée précédemment, la séquence 2D J-PRESS WISH offre également la possibilité d'accumuler un nombre différent de signaux suivant la dimension t_1 . Autrement dit, le nombre d'accumulations NA est variable suivant les TE auxquels sont acquis les signaux. Cette technique permet de pondérer en terme de RSB les signaux acquis suivant la dimension t_1 . Cette fonctionnalité n'a pas été pleinement exploitée dans les travaux de thèse mais est toutefois évoquée dans les perspectives.

2.2.2 Reconstruction des signaux

Les signaux acquis avec la séquence 2D J-PRESS WISH ne sont pas directement exploitables et doivent être traités numériquement pour obtenir un spectre RMN 2D. Dans le cas de la SRM 2D J-résolue, cette étape, dite de « reconstruction des données », consiste principalement à appliquer une Transformée de Fourier (TF) dans les deux dimensions t_2 et t_1 afin d'obtenir la représentation du signal 2D dans le plan spectroscopique (F_2, F_1) .

Toutefois, en pratique, les signaux acquis *in vivo* présentent de nombreux artefacts. Ces derniers sont principalement induits par les imperfections du champ magnétique principal B_0 , les imperfections des gradients de champs magnétiques ou encore les défauts de la chaîne d'acquisition. L'impact de ces artefacts sur la qualité du spectre 2D J-résolu peut être atténué par l'application de traitements numériques des données adéquats lors de l'étape de reconstruction. Cette dernière débute par la lecture des données acquises et des paramètres de séquence tels que la fréquence d'échantillonnage F_e , la fréquence de référence F_{ref} et le nombre de points N_2 acquis. Elle se poursuit ensuite par l'application d'un certain nombre de traitements numériques pour la correction d'artefacts dont les principaux sont détaillés dans les paragraphes suivants.

2.2.2.1 Courants de Foucault

Lors de l'étape d'excitation, la séquence 2D J-PRESS WISH utilise des gradients de champ magnétique afin de réaliser la sélection spatiale du volume d'intérêt. Lors

des montées et descentes de gradients, des courants induits peuvent se créer dans les matériaux conducteurs à proximité des bobines de gradients (fils électriques, antennes, bobines de champ magnétique, etc.). Ces courants induits ou courants de Foucault (« eddy currents » en anglais) vont donner lieu à des petits champs magnétiques variables qui vont s'ajouter aux champs magnétiques des gradients et dégrader leurs profils [Terpstra *et al.*, 1998]. Malgré le blindage actif des bobines de gradient et l'optimisation du profil du courant électrique envoyé aux bobines de gradient afin de compenser les courants induits, ce phénomène persiste et induit une distorsion de la forme de raie sur le spectre RMN. Les pics sont caractérisés par une forme de raie asymétrique et la présence d'un « pied » négatif (Fig. 2.3a) typique de l'effet des courants de Foucault en SRM.

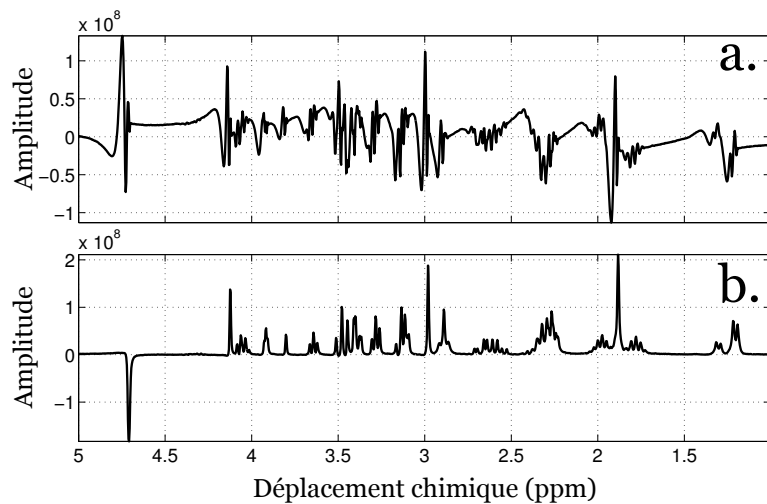


FIG. 2.3: Deux spectres RMN 1D *in vitro* acquis avec la séquence PRESS sur une solution contenant un mélange des neuf métabolites suivants à une concentration de 50 mmol/L : Cre, Cho, GABA, Gln, Glu, Lac, mIns, NAA et Tau (Cf. A.2.1). Les paramètres de la séquence PRESS sont les suivants : $TE=14$ ms, $TR=5$ s, $NA=64$, voxel de dimension 6 mm x 6 mm x 6 mm. Le spectre (a) n'a pas fait l'objet de correction de courants de Foucault et présente de fortes distorsions spectrales. Le spectre (b) a été corrigé par estimation de la phase sur un spectre de référence acquis dans les mêmes conditions sans activer le module de suppression d'eau.

L'impact des courants de Foucault peut être fortement atténué par l'emploi d'un traitement numérique adéquat [Kreis, 2004]. Lors de l'acquisition du signal FID en présence de courants induits, la phase du signal évolue au cours du temps induisant des distorsions spectrales dans le domaine fréquentiel. La correction consiste à mesurer l'évolution de la phase au cours du temps sur un signal de référence acquis dans les mêmes conditions que le signal d'intérêt. Ce signal de référence est généralement celui de l'eau et est acquis en désactivant le module de suppression d'eau présent à l'étape de préparation de la séquence 2D J-PRESS WISH. Le signal d'intérêt est

ensuite corrigé en appliquant un terme de phase dépendant du temps correspondant à la phase estimée sur le signal de référence. Après reconstruction, les distorsions de la forme de raie sont fortement atténuées sur le spectre RMN (Fig. 2.3b).

2.2.2.2 Dérive en fréquence

Le champ magnétique B_0 généré par le système IRM est rendu homogène par l'utilisation de correcteurs de champ magnétique. Ces dispositifs, appelés bobines de « shim », permettent de compenser les défauts d'inhomogénéité du champ magnétique principal. Ainsi, après la mise en place de l'échantillon ou du patient dans l'IRM, une étape d'ajustement permettant l'homogénéisation du champ est systématiquement effectuée. Néanmoins, lors d'une acquisition, les conditions expérimentales et plus particulièrement la température, peuvent induire une détérioration de l'homogénéité du champ B_0 , induisant entre autres une légère variation de la fréquence de Larmor au cours du temps. Dans le cas d'une acquisition de SRM, cette dérive en fréquence peut induire un élargissement des raies dû à l'accumulation des signaux.

Alors que les spectromètres haute-résolution utilisés en chimie sont équipés de système de « verrouillage » (« frequency lock ») permettant de corriger cette dérive en fréquence pendant l'acquisition en réajustant l'homogénéité du champ B_0 , les systèmes IRM ne disposent pas de tels dispositifs. La séquence PRESS implémentée sur la console *Paravision* offre toutefois la fonctionnalité *Retro Frequency Lock*. Cette dernière consiste à réaliser avant chaque répétition de la séquence une excitation non sélective avec un angle de bascule faible afin d'acquérir le signal FID de l'eau. Lors de la reconstruction, ce signal de référence permettra d'estimer numériquement la dérive en fréquence du système au cours de l'acquisition et les données acquises peuvent ensuite être corrigées. En pratique, cette fonctionnalité, qui n'a pas été intégrée à la séquence 2D J-PRESS WISH pour des raisons techniques, présentent peu d'intérêt pour l'acquisition *in vivo*. En effet, l'excitation réalisée lors de l'acquisition du signal de référence n'est pas localisée dans l'espace.

L'étape de reconstruction des données issues d'une acquisition avec la séquence 2D J-PRESS WISH comprend une procédure de correction permettant la compensation numérique de la dérive en fréquence. Cette procédure semi-automatique consiste à demander à l'utilisateur de choisir un pic d'intérêt sur le spectre RMN acquis pour le premier incrément suivant la dimension t_1 . Un algorithme évalue ensuite le décalage en fréquence de ce pic pour chacun des $(N_1 - 1)$ spectres 1D acquis. Le recalage des spectres est ensuite réalisé numériquement afin d'annuler toute dérive en fréquence (Fig. 2.4).

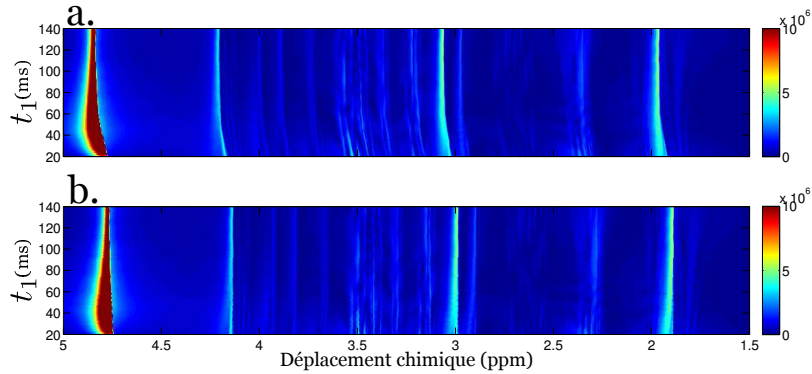


FIG. 2.4: Deux spectres RMN 2D J-résolus *in vitro* (représentation temps-fréquence) acquis avec la séquence 2D J-PRESS WISH sur une solution contenant un mélange des neuf métabolites suivants à une concentration de 50 mmol/L : Cre, Cho, GABA, Gln, Glu, Lac, mIns, NAA et Tau (Cf. A.2.1). Les paramètres de la séquence 2D J-PRESS WISH sont les suivants : $TE=14$ à 140 ms, $N_1=24$, $TR=5$ s, $NA=24$, voxel de dimension 6 mm x 6 mm x 6 mm. Le spectre (a) n'a pas fait l'objet de correction de la dérive en fréquence et présente un décalage fréquentiel variable suivant la dimension t_1 . Le spectre (b) a été corrigé par recalage des N_1 spectres et ne présente plus aucune dérive en fréquence.

Afin d'accroître la résolution spectrale suivant la dimension F_2 , la procédure de correction de la dérive en fréquence peut également être appliquée sur les signaux « bruts » issus directement de l'acquisition et avant l'accumulation des données. Ainsi, chacun des ($N_1 \cdot NA$) spectres acquis est traité avant d'obtenir N_1 spectres par accumulation ou moyennage. Cette méthode de correction des signaux n'est pas systématiquement employée car elle nécessite des signaux présentant un RSB important.

2.2.2.3 Suppression du signal résiduel de l'eau

L'étape de préparation de la séquence 2D J-PRESS WISH comprend un module de suppression du signal de l'eau. Celle-ci est primordiale dans le cadre de la SRM *in vivo* car elle rend possible l'acquisition des signaux issus des métabolites présents à des concentrations beaucoup plus faibles que celle de l'eau. En pratique, les techniques de suppression d'eau permettent d'atténuer fortement le signal de l'eau sans toutefois l'annuler complètement. Par conséquent, les spectres RMN acquis *in vivo* présentent quasi-systématiquement un signal résiduel de l'eau, qui se traduit par un pic d'intensité plus ou moins élevée avec un déplacement chimique de 4,7 ppm. Selon les conditions expérimentales, la résolution spectrale et le RSB des signaux acquis, la présence de ce pic peut perturber la procédure de quantification des données.

Ce signal résiduel peut être supprimé par filtrage avec HLSVD (Cf. 1.3.4.1). Ce filtrage réalise une décomposition en valeurs singulières sur tout le signal. Toutes les

composantes spectrales résultant de la modélisation et se retrouvant au voisinage de la région fréquentielle de l'eau sont soustraites du signal.

2.2.2.4 Zero-filling et apodisation

Dans le domaine de la spectroscopie RMN, les signaux acquis font systématiquement l'objet d'une préparation des données avant l'application de la TF. Pour cela, deux traitements numériques sont principalement employés : le « zero-filling » et l'apodisation (de l'anglais « apodization »). Le « zero-filling » consiste à augmenter le nombre de points du signal acquis en ajoutant des zéros à la fin, induisant une interpolation des données dans le domaine fréquentiel. Ce procédé simple permet, dans certains cas, d'augmenter la résolution digitale. Quant à l'apodisation, il s'agit d'une technique de traitement du signal largement répandue en spectroscopie RMN. Elle consiste à multiplier le signal acquis avec une fenêtre de pondération dans le domaine temporel afin d'accroître le RSB apparent dans le domaine fréquentiel. Dans le domaine de la SRM *in vivo*, la fenêtre d'apodisation la plus couramment employée est de type exponentielle décroissante. En théorie, le facteur d'amortissement de cette fenêtre d'apodisation doit être égale $\frac{1}{T_2^*}$, T_2^* étant le temps caractérisant l'amortissement du signal FID. En pratique, le facteur d'amortissement est proche de cette valeur mais doit être finement ajusté afin d'atteindre un compromis entre le gain apparent en RSB et la perte en résolution spectrale.

De la même manière qu'en SRM traditionnelle 1D, les signaux issus d'une acquisition de SRM 2D possèdent deux dimensions suivant lesquelles une TF est appliquée. Les traitements numériques évoqués au paragraphe précédent sont donc appliqués suivant ces deux dimensions afin d'accroître le RSB et la résolution spectrale du spectre RMN 2D J-résolu reconstruit.

2.3 NEMESIS : procédure de quantification des signaux de SRM 2D J-résolue

Une procédure de quantification a été développée pour l'estimation des concentrations des métabolites à partir de signaux acquis *in vivo* avec la séquences 2D J-PRESS WISH. Basée sur un ajustement dans le domaine temporel, elle permet la quantification de signaux échantillonnés de manière irrégulière ouvrant la voie à une réduction de la durée d'acquisition. Cette procédure de quantification porte le nom de NEMESIS pour *Numeric Estimation Method for 2D Spectroscopy Irregularly*

Sampled data. Le code *MATLAB* de la fonction modèle, pièce centrale de NEMESIS, est listé en annexe B.2.

2.3.1 Principe

NEMESIS est une procédure de quantification des signaux spectroscopiques 2D J-résolus reposant sur un principe proche de celui de QUEST [Ratiney *et al.*, 2005]. Cette procédure de quantification s’articule autour d’une modélisation paramétrique du signal RMN 2D basée sur une connaissance *a priori* incluant un ensemble de signatures métaboliques. Ainsi, contrairement aux techniques existantes à l’heure actuelle pour la quantification de données de SRM 2D, le signal 2D acquis n’est pas considéré comme un ensemble de signaux 1D mais bien comme un signal bi-dimensionnel à part entière dont une modélisation est calculée dans le domaine temporel, c’est-à-dire dans le plan (t_2, t_1) .

La connaissance *a priori* sur laquelle est basée le modèle paramétrique consiste en une base de signatures métaboliques 2D simulées avec la librairie GAMMA [Smith *et al.*, 1994]. Basée sur le formalisme de produits d’opérateurs, la librairie GAMMA peut simuler différents types de séquence d’impulsions et permet de calculer numériquement les signaux RMN d’une molécule connaissant le nombre de spins mis en jeu, la valeur des différents déplacements chimiques et des constantes de couplage J. Ainsi, NEMESIS fait appel à GAMMA pour construire la base de connaissances *a priori* regroupant les signatures métaboliques 2D. Le nombre de spins, la valeur des déplacements chimiques et des constantes de couplages J de chaque métabolite sont tirés de la littérature [Govindaraju *et al.*, 2000].

Un ajustement numérique non-linéaire (avec la fonction *lsqnonlin* sur *MATLAB* 7) incluant des contraintes de bornes permet de déterminer les paramètres de modélisation tels que les concentrations des métabolites. En pratique, l’ajustement numérique comporte près de quarante paramètres à estimer, rendant l’optimisation particulièrement sensible aux problèmes de minima locaux. Pour cette raison, une stratégie de quantification a été mise au point afin de s’affranchir des valeurs initiales et réduire les biais d’estimation.

Enfin, NEMESIS intègre une prise en compte de la ligne de base et plus particulièrement des signaux issus des macromolécules. Pour cela, le modèle paramétrique évoqué précédemment inclut la modélisation des macromolécules consistant en la combinaison linéaire de fonctions gaussiennes. Cette partie du modèle sera ajustée numériquement sur le signal RMN *in vivo* acquis en activant le module *Inv-*

Pulse permettant une acquisition du spectre des macromolécules par la méthode d'inversion-récupération.

2.3.2 Modélisation paramétrique

La procédure de quantification consiste à ajuster un signal estimé, noté $\hat{x}(t_2, t_1)$, à un signal expérimental noté $x(t_2, t_1)$. Le signal estimé, qui a pour expression l'équation (2.1), consiste en une combinaison linéaire de M signaux métaboliques dans le domaine temporel (t_2, t_1) .

$$\hat{x}(t_2, t_1) = \exp(i \cdot \phi_0) \sum_{m=1}^M c_m \cdot \hat{x}(t_2, t_1)^m \cdot \exp \left[\left(-\frac{t_1}{T_{2m}} \right) + (\Delta\alpha_m + i \cdot \Delta\omega_m) \cdot t_2 \right] \quad (2.1)$$

Pour chaque métabolite m , une signature métabolique $\hat{x}(t_2, t_1)^m$ est extraite de la base de connaissances *a priori* et est modulée par les cinq paramètres suivants :

- c_m : terme d'amplitude du signal métabolique $\hat{x}(t_2, t_1)^m$ proportionnel à la concentration du métabolite
- T_{2m} : temps de relaxation T_2 propre à chaque métabolite m (en secondes)
- $\Delta\alpha_m = \frac{1}{T_{2m}^*}$: facteur d'amortissement propre à chaque métabolite m (en hertz) dépendant de son T_2^* , permettant d'ajuster les largeurs des raies dans la dimension F_2
- $\Delta\omega_m$: terme de décalage en fréquence propre à chaque métabolite m (en hertz) pour compenser les variations en fréquence dans le signal dues aux inhomogénéités du champ magnétique principal.
- ϕ_0 : terme de phase d'ordre 0 du signal (en radians).

Ce dernier paramètre contrôlant la phase du modèle s'applique à tous les signaux métaboliques. En pratique, un spectre RMN présente une phase globale d'ordre 0 qui dépend de la phase du récepteur lors de l'acquisition et de très faibles écarts de phase entre les différents signaux métaboliques. Ces écarts sont négligés afin de simplifier le modèle et réduire le nombre de paramètre à ajuster. En effet, lorsqu'une base de connaissances comprenant M signaux métaboliques est invoquée, jusqu'à $(5 \cdot M)$ paramètres peuvent être estimés.

Enfin, la fonction dont l'expression est donnée à l'équation (2.1) permet la modélisation d'un spectre RMN 2D J-résolu mais également, et de manière implicite,

la modélisation d'un spectre RMN 1D traditionnel lorsque $N_1=1$. Cette fonctionnalité sera largement exploitée lors de l'étude théorique comparative entre la SRM 1D traditionnelle et la SRM 2D pour la quantification des signaux (Cf. §2.4).

2.3.3 Connaissance *a priori*

Le terme $\hat{x}(t_2, t_1)^m$ présent dans l'expression (2.1) correspond aux signaux numériques 2D temporels générés avec la librairie GAMMA. Lors de l'initialisation de la procédure de quantification, cette librairie est appelée afin de construire une base de connaissances *a priori* compatible en termes de nombre de points et d'échantillonnage suivant les dimensions t_2 et t_1 avec le signal expérimental à quantifier. La base de connaissances *a priori* est dynamique et peut être modifiée sans conséquence pour la fonction modèle. Ainsi, l'utilisateur peut choisir le nombre et la nature des métabolites formant l'*a priori* de la méthode NEMESIS. Selon la stratégie de quantification adoptée par l'utilisateur (Cf. §2.3.6), tous les signaux métaboliques $\hat{x}(t_2, t_1)^m$ ne contribuent pas nécessairement au signal estimé.

Par la suite, les travaux présentés relatifs à la méthode NEMESIS sont basés sur une base de connaissances *a priori* pouvant inclure jusqu'à 19 signaux métaboliques correspondant aux métabolites suivants : Ala, Asp, Cho, Cre, GABA, Glc, Gln, Glu, Gly, GPC, GSH, Lac, mIns, NAA, NAAG, PCr, PCho, PE et Tau. Leurs rôles respectifs dans le cerveau sont mentionnés au tableau 1.1. Un exemple de base de signaux métaboliques simulés avec GAMMA est représenté à la Fig. 2.5.

2.3.4 Ajustement numérique & implémentation informatique

L'ajustement numérique de NEMESIS consiste à minimiser la fonction de coût C dont l'expression est donnée à l'équation (2.2). Cette dernière correspond à la somme des moindres carrés calculée entre le signal estimé $\hat{x}_{n_{t_2}, n_{t_1}}$ et le signal expérimental $x_{n_{t_2}, n_{t_1}}$.

$$C = \sum_{n_{t_2}=0}^{n_{t_2}=N_2} \sum_{n_{t_1}=0}^{n_{t_1}=N_1} [x(n_{t_2}, n_{t_1}) - \hat{x}(n_{t_2}, n_{t_1})]^2 \quad (2.2)$$

La minimisation de cette fonction repose sur l'algorithme de Levenberg-Marquardt disponible via la fonction *lsqnonlin* de *MATLAB*. Cet algorithme, très utilisé pour les problèmes non linéaires, repose sur les deux méthodes d'optimisation numérique de Gauss-Newton et de la descente de gradient. En pratique, la fonction *lsqnonlin*

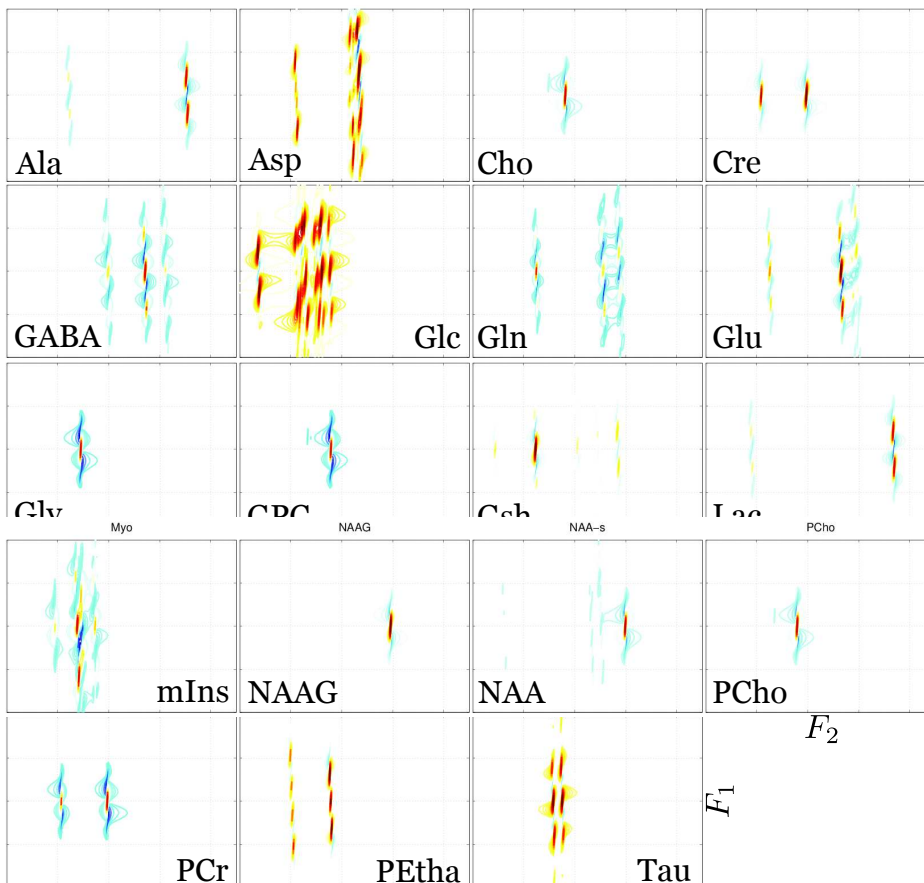


FIG. 2.5: Représentation fréquentielle d'un exemple de base de 19 signaux métaboliques 2D obtenus avec la librairie GAMMA pour un champ $B_0=7$ T. Les signaux de SRM 2D ont été calculés numériquement par simulation d'une séquence d'impulsion d'écho de spin avec les paramètres suivants : $TE=20$ à 200 ms (mode *Equalize TE*), facteur d'amortissement global $\Delta\alpha=20$ Hz, 4096 x 64 points interpolés à 8192 x 512 points. La partie réelle des spectres RMN 2D J-résolus est représentée entre 0,5 et 5 ppm dans la dimension F_2 et entre -20 et +20 Hz dans la dimension F_1 .

réalise l'ajustement des paramètres du modèle en effectuant un grand nombre d'évaluations de la fonction modèle. En se basant sur l'évolution de la fonction de coût C et sur l'information contenue dans la matrice jacobienne¹, l'algorithme parvient, généralement après un grand nombre d'itérations, à déterminer les paramètres pour lesquels C est minimum.

La durée d'exécution est variable et dépend de nombreux facteurs tels que la complexité du modèle paramétrique, le nombre d'échantillons à traiter ou encore les performances de l'ordinateur. Toutefois, certaines tâches réalisées lors de l'optimisation numérique peuvent être optimisées pour réduire la durée d'exécution. Ainsi, la matrice jacobienne, qui contient une information précieuse pour la méthode de

¹Matrice des dérivées partielles du premier ordre de la fonction modèle

descente de gradient, est habituellement déterminée de manière approximative par le calcul de dérivées partielles numériques particulièrement coûteuses en temps. Afin de réduire les temps d'exécution, l'expression analytique de la matrice jacobienne a été déterminée et implantée dans l'algorithme d'optimisation numérique. De plus, le code de programmation de la fonction modèle a été particulièrement optimisé et réalise le pré-calcul de certains termes de la fonction modèle, la mise en mémoire d'une itération à l'autre de certaines constantes et une utilisation importante du calcul vectoriel (Cf. annexe B.2). Ces travaux d'optimisation de code ont permis un gain exceptionnel concernant la durée d'exécution de la procédure de quantification NEMESIS. Alors que les premiers essais permettaient de quantifier des signaux de SRM 2D J-résolue en plusieurs dizaines de minutes (voire plus), la dernière version de NEMESIS nécessite environ une minute pour effectuer la même tâche.

Enfin, la procédure de quantification NEMESIS comporte de nombreuses fonctionnalités complémentaires. L'étape d'optimisation numérique a été dotée des fonctionnalités suivantes :

- La possibilité de fixer la valeur d'un ou plusieurs paramètres au choix (*parameter lock*). Les paramètres de concentration de certains métabolites peuvent ainsi être fixés à une valeur nulle afin qu'ils n'entrent pas en jeu lors de la quantification.
- La possibilité de lier la valeur de certains paramètres p_1 à d'autres paramètres p_2 (*parameter link*) avec ou sans facteur multiplicatif r (*parameter ratios*) tels que $p_1 = r \cdot p_2$. Cette fonctionnalité permet d'ajouter une connaissance *a priori* relative aux écarts inter-métabolites en termes de concentrations ou de temps de relaxation.
- La possibilité de pondérer la fonction de coût avec une fenêtre 2D (Cf. §2.3.5.1). Cette fonctionnalité permet de pondérer par exemple l'erreur de minimisation suivant la dimension t_1 en donnant plus de « poids » aux échantillons acquis pour des t_1 longs lors de l'optimisation numérique.
- La possibilité de spécifier un critère d'arrêt à l'optimisation numérique dépendant au choix du nombre d'itérations, de la valeur de la fonction de coût, du pas de variation des paramètres mais également de la borne CRLB de certains paramètres.

La procédure de quantification NEMESIS inclut également des fonctionnalités relatives à l'affichage dont :

- La possibilité d'afficher le résultat de l'ajustement numérique à chaque itération. Cette fonctionnalité permet de vérifier le bon déroulement de la procédure

de quantification et d'évaluer qualitativement l'estimation du signal.

- La possibilité d'afficher sous la forme d'histogrammes et à chaque itération l'estimation obtenue pour chaque paramètre et accompagnée de son incertitude respective (borne CRLB).
- La possibilité d'afficher à chaque itération une représentation graphique de la matrice de corrélation des paramètres afin d'évaluer si certains paramètres sont fortement corrélés lors de l'optimisation numérique. Cette fonctionnalité permet par exemple d'optimiser la stratégie de quantification (Cf. §2.3.6).

Enfin, NEMESIS permet de produire les résultats de la quantification sous la forme d'histogrammes des concentrations métaboliques incluant les erreurs d'estimations obtenues par le calcul des bornes Cramér-Rao.

2.3.5 Prise en compte de la ligne de base

La ligne de base présente sur les spectres RMN *in vivo* constitue un signal de nuisance pouvant induire un biais important dans l'estimation des concentrations des métabolites. Deux approches ont été abordées pour la prise en compte de la ligne de base dans la procédure de quantification NEMESIS et sont détaillées dans les paragraphes suivants. Bien que la deuxième approche permette d'obtenir des résultats optimaux, les deux approches ont été intégrées à NEMESIS.

2.3.5.1 Première approche : troncature & pondération dans le domaine temporel

La première approche s'inspire de la méthode QUEST [Ratiney *et al.*, 2005] et consiste à tronquer les premiers points des signaux acquis dans le domaine temporel. Les macromolécules contribuent au spectre RMN *in vivo* sous la forme de pics larges en fréquence, qui se traduisent dans le domaine temporel par des temps de relaxation T_2^* courts. Autrement dit, les signaux issus des macromolécules s'expriment principalement au début du signal FID. La méthode de la troncature des premiers points tire parti de la différence en T_2^* entre les macromolécules et les métabolites et consiste en pratique à tronquer un certain nombre de points dans le domaine temporel pour réduire la contribution des macromolécules dans la ligne de base.

Appliquée aux signaux RMN 2D *in vivo*, l'opération de troncature est réalisée suivant les deux dimensions temporelles t_2 et t_1 formant ainsi une « fenêtre » de troncature 2D (Fig. 2.6a). La première approche intégrée dans la procédure de

quantification NEMESIS est la multiplication d'une telle fenêtre, notée F , avec le résultat des moindres carrés calculé lors de l'ajustement numérique. Cette opération, décrite à l'équation (2.3), permet de réduire l'impact de la ligne de base sur l'estimation des paramètres. Néanmoins, cette méthode induit également une forte réduction du RSB des signaux métaboliques ce qui engendre un accroissement des erreurs d'estimation. De plus, le nombre optimal de points à tronquer dans les deux dimensions est particulièrement délicat à évaluer et constitue une importante source d'erreur.

$$C = \sum_{n_{t_2}=0}^{n_{t_2}=N_2} \sum_{n_{t_1}=0}^{n_{t_1}=N_1} \left[[x(n_{t_2}, n_{t_1}) - \hat{x}(n_{t_2}, n_{t_1})]^2 \cdot F(n_{t_2}, n_{t_1}) \right] \quad (2.3)$$

L'effet de la troncature dans le domaine temporel peut être atténué avec l'utilisation de fenêtre de pondération 2D (Fig. 2.6b). Ce type de fenêtre permet d'appliquer une contrainte plus douce que dans le cas d'une troncature du signal. La fonction de pondération peut être de type linéaire, bi-exponentielle avec un facteur d'amortissement pour les deux dimensions ou encore de type *quart de sinus*, fonction couramment employée pour l'apodisation des signaux de SRM haute-résolution.

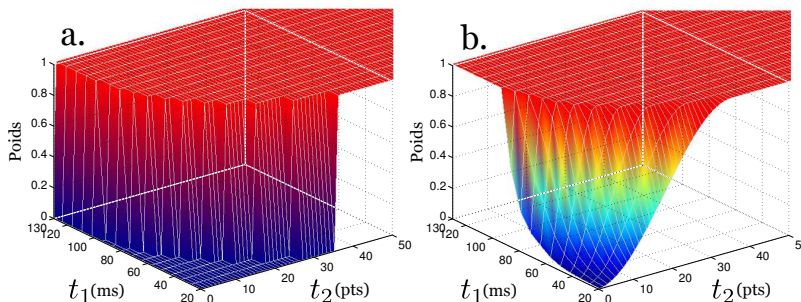


FIG. 2.6: Représentation temporelle de deux fenêtres de pondération 2D pour la prise en compte de la ligne de base lors de la quantification de spectre RMN 2D *in vivo* incluant 16 incréments suivant la dimension t_1 entre 20 et 130 ms et 4096 points suivant la dimension t_2 . Ces deux fenêtres permettent de réduire le poids des premiers échantillons acquis suivant les dimensions t_2 et t_1 lors de l'optimisation numérique par une pondération binaire (ou troncature) (a) et une pondération progressive basée sur une fonction *quart de sinus* (b).

Pour illustrer l'impact de cette méthode lors de l'optimisation, une opération de pondération numérique de données issues d'une acquisition de SRM 2D J-résolue *in vivo* a été effectuée avec une fenêtre de pondération similaire à celle présentée en Fig. 2.6b. Le spectre RMN 2D traité numériquement présente une réduction de l'intensité des signaux issus des macromolécules et plus particulièrement des lipides (Fig. 2.7). Toutefois, malgré ces premiers résultats encourageants, cette approche originale n'a pas permis d'obtenir de résultats satisfaisants lors de la validation

par méthode Monte Carlo. Le gabarit 2D des fenêtres de pondération est contrôlé par plusieurs paramètres particulièrement délicats à ajuster et la perte en RSB obtenue à la suite d'un tel traitement numérique induit une augmentation des erreurs d'estimation (résultats non présentés ici).

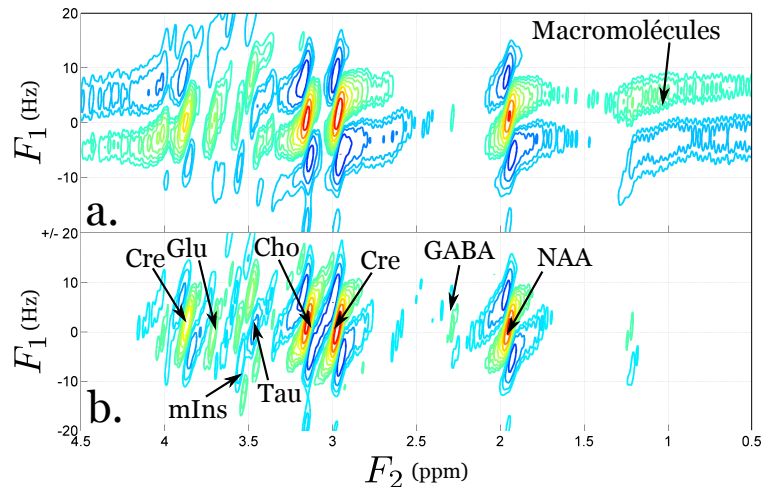


FIG. 2.7: Représentation fréquentielle d'un spectre RMN 2D J-résolu *in vivo* avant (a) et après multiplication avec une fenêtre de pondération de type *quart de sinus* (b). L'acquisition a été réalisée avec la séquence 2D J-PRESS WISH sur un cerveau de souris pour un champ $B_0=7$ T. Les paramètres suivants ont été fixés : $TE=20$ à 150 ms, $N_1=16$, $TR=3$ s, $NA=200$, voxel de dimension 4 mm x 4 mm x 4 mm. Le spectre RMN 2D *in vivo* traité numériquement (b) illustre l'intérêt de l'utilisation d'une fenêtre de pondération pour la réduction de l'influence du signal de ligne de base lors de la quantification des données.

2.3.5.2 Seconde approche : modélisation paramétrique de la ligne de base

La seconde approche étudiée pour la prise en compte du signal de ligne de base se base sur l'acquisition *in vivo* du spectre des macromolécules avec la technique d'inversion-récupération, technique disponible dans la séquence 2D J-PRESS WISH (Cf. §2.2.1.1). Le signal expérimental des macromolécules est ensuite quantifié puis inclus dans la connaissance *a priori* de NEMESIS lors de la quantification du signal d'intérêt.

En pratique, cette approche implique une seconde acquisition de SRM 2D *in vivo* sur le même volume d'intérêt et dans les mêmes conditions que lors de la première acquisition. Selon l'ajustement du temps d'inversion TI intervenant dans le module d'inversion de la séquence, il est possible de réduire fortement la contribution des signaux métaboliques dans le signal acquis et donc d'obtenir un spectre RMN 2D J-résolu des macromolécules. Ces molécules contribuant largement au signal de ligne

de base, l'information contenue dans ce spectre est particulièrement précieuse pour la prise en compte de ce signal de nuisance.

NEMESIS permet d'intégrer en tant que connaissance *a priori* l'information contenue dans le spectre RMN 2D J-résolu *in vivo* des macromolécules. Pour cela, la base de signaux métaboliques inclut une série de vingt signaux permettant la modélisation du signal de ligne de base. Chacun de ces signaux correspond à une composante gaussienne du signal de ligne de base avec un déplacement chimique compris entre 0 et 5 ppm. Ainsi, lors de la quantification, NEMESIS modélise le signal de ligne de base par une combinaison linéaire de composantes gaussiennes modulées, comme pour chacun des signaux métaboliques, par des paramètres de concentration c_m , de temps de relaxation T_{2m} , de facteur d'amortissement $\Delta\alpha_m$, de décalage en fréquence $\Delta\omega_m$ et de phase ϕ_0 . Par la suite, les paramètres décrivant la modélisation de la ligne de base sont sauvegardés et intégrés dans la connaissance *a priori* de NEMESIS. Un exemple de modélisation 2D d'un spectre RMN 2D J-résolu *in vivo* des macromolécules est présentée à la Fig. 2.8.

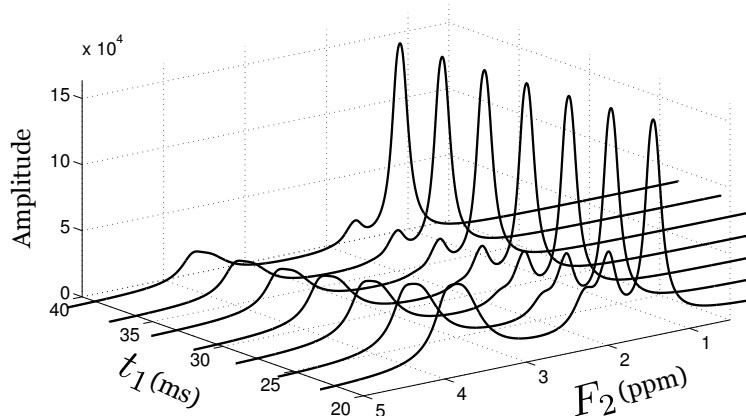


FIG. 2.8: Représentation temps-fréquence d'un spectre RMN 2D *in vivo* de macromolécules modélisé à partir une combinaison linéaire de fonctions gaussiennes. L'acquisition a été réalisée avec la séquence 2D J-PRESS WISH sur un cerveau de rat pour un champ $B_0=7$ T. Les paramètres suivants ont fixés : $TI=675$ ms, $TE=20$ à 40 ms, $N_1=4$ (puis interpolé à 7), $TR=2,5$ s, $NA=128$, voxel de dimension 4 mm x 4 mm x 4 mm. Comme les macromolécules, les lipides (présents à environ 1 ppm) ont des temps de relaxation T_1 plus courts que les métabolites et peuvent contribuer largement au signal de ligne de base selon la position du volume d'intérêt dans le cerveau.

En pratique, les spectres RMN 2D J-résolus obtenus avec la technique d'inversion-récupération présentent un RSB faible résultant de la faible concentration des macromolécules. Pour accroître le RSB des signaux acquis et permettre une modélisation précise de la ligne de base, les acquisitions de spectres RMN 2D J-résolus des macromolécules font l'objet d'un grand nombre d'accumulations (NA) et par conséquent

d'une durée d'acquisition importante. Afin de réduire cette durée, il est peut être intéressant de réduire le nombre d'incrémentes N_1 , voire de faire l'acquisition du spectre RMN 1D des macromolécules ($N_1=1$). L'estimation du temps de relaxation T_2 des macromolécules étant impossible dans le cas de la SRM 1D, elle est alors réalisée lors de la quantification des signaux métaboliques.

2.3.6 Stratégie de quantification

Les premières évaluations de la procédure de quantification NEMESIS par la méthode de Monte Carlo (Cf. §2.5) ont mis en évidence un biais important dans l'estimation de certains métabolites. La présence de ce biais dans les résultats de quantification s'explique principalement par le grand nombre de paramètres à estimer et par une sensibilité de la méthode au problème des minima locaux. En théorie, la fonction de coût, qui est minimisée lors de l'optimisation numérique, est considérée comme une fonction convexe ne possédant qu'un seul minimum appelé minimum global. Or, en pratique, cette fonction possède également un certain nombre de minima locaux qui influencent grandement les algorithmes d'optimisation numérique basés sur la descente de gradient. Il arrive ainsi que le minimum déterminé par optimisation numérique ne soit en réalité que l'un des minima locaux de la fonction de coût, induisant un biais dans l'estimation des paramètres.

Pour réduire le biais d'estimation de la procédure de quantification NEMESIS, deux approches sont combinées. La première approche consiste à répéter la procédure de quantification plusieurs fois pour différentes valeurs de paramètres initiaux. Ces valeurs initiales sont calculées aléatoirement suivant une plage de valeurs fixées par l'utilisateur lors des premières étapes de quantification. Seuls les résultats de quantification pour lesquels le résidu² est minimal sont retenus. Cette méthode (appelée « multistart optimization » en anglais) permet de réduire la sensibilité de la procédure de quantification NEMESIS aux valeurs initiales et par conséquent au problème des minima locaux.

La seconde approche consiste à mettre au point une « stratégie de quantification » permettant de réaliser la quantification en plusieurs étapes en augmentant progressivement le nombre de paramètres à estimer. Cette approche, également adoptée par R. F. Schulte lors du développement de *Profit* [Schulte and Boesiger, 2006], permet de guider la recherche du minimum pour faire face à l'explosion combinatoire des solutions due à la complexité de la fonction à minimiser et au grand nombre

²Valeur de la fonction de coût en fin d'optimisation numérique.

de paramètres qui doivent être co-déterminés. NEMESIS possède une stratégie de quantification articulée en quatre étapes majeures détaillées ci-dessous. Chacune de ces étapes est répétée plusieurs fois par « multistart optimization » afin de réduire la sensibilité aux valeurs initiales. Les plages de valeurs des paramètres initiaux sont réduites à chaque étape suivant les résultats obtenus à l'étape précédente. L'intérêt d'une telle stratégie de quantification a été démontré par une étude Monte Carlo dont les résultats sont présentés au paragraphe 2.5.2.

2.3.6.1 NEMESIS étape 1 : estimation de la ligne de base

La première étape de la stratégie de quantification consiste à modéliser le signal de ligne de base à partir du spectre RMN 1D ou 2D des macromolécules. Cette étape, précédemment détaillée au paragraphe 2.3.5.2, permet d'intégrer une modélisation paramétrique de la ligne de base dans la connaissance *a priori* de NEMESIS avant de quantifier le spectre RMN 2D J-résolu *in vivo* d'intérêt.

2.3.6.2 NEMESIS étape 2 : estimation du décalage fréquentiel global

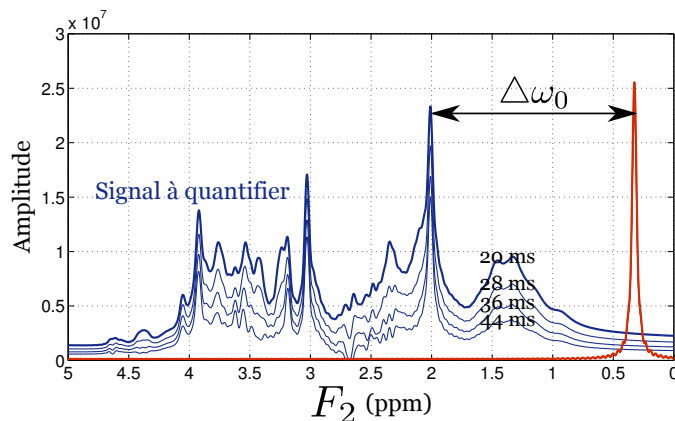


FIG. 2.9: Figure illustrant la seconde étape de quantification de la procédure NEMESIS. Le décalage global en fréquence du spectre RMN 2D *in vivo* est estimé par détection des maxima correspondant aux trois singulets des métabolites Cho, Cre et NAA.

La seconde étape de quantification consiste à estimer le décalage global en fréquence, noté $\Delta\omega_0$, du spectre RMN 2D *in vivo* à quantifier (Fig. 2.9). En pratique, le signal RMN acquis présente généralement un léger décalage en fréquence (quelques hertz) qui a pour origine la dérive en fréquence du système IRM (Cf. §2.2.2.2). Pour adapter en fréquence la base des signatures métaboliques au signal à quantifier, il est indispensable d'estimer le décalage global en fréquence. Pour cela, une détection des maxima du spectre RMN 2D *in vivo* est réalisée et permet de déterminer avec

précision les fréquences des trois singulets appartenant respectivement aux trois signatures spectrales des métabolites Cho, Cre et NAA. Ces trois métabolites sont présents en concentration importante dans le cerveau sain et la présence de singulets dans leurs signatures spectrales les rendent particulièrement identifiables dans un spectre RMN *in vivo*. A la suite de cette détection, le décalage fréquentiel global $\Delta\omega_0$ est estimé et les paramètres de décalage $\Delta\omega_m$ de chacun des métabolites sont initialisés pour l'étape suivante.

2.3.6.3 NEMESIS étape 3 : estimation des singulets

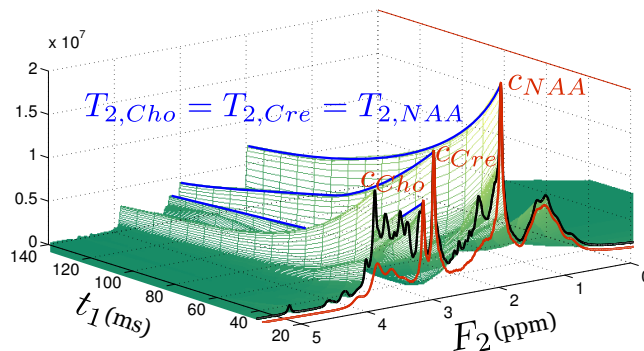


FIG. 2.10: Figure illustrant la troisième étape de quantification de la procédure NEMESIS. Les paramètres de concentration c_m des trois métabolites Cho, Cre et NAA sont estimés indépendamment alors que les paramètres T_{2m} , $\Delta\alpha_m$, $\Delta\omega_m$ et ϕ_0 sont estimés de manière globale.

Lors de la troisième étape de quantification, seuls les paramètres de concentration c_m des métabolites Cho, Cre et NAA sont estimés (Fig. 2.10). Les paramètres T_{2m} , $\Delta\alpha_m$, $\Delta\omega_m$ et ϕ_0 sont estimés de manière globale pour les trois métabolites. Cette étape permet de débiter la quantification des données avec un nombre restreint de paramètres à estimer (10 paramètres) et avec des métabolites présents en forte concentration dans le cerveau. A l'issue de cette première estimation, les paramètres T_{2m} , $\Delta\alpha_m$, $\Delta\omega_m$ et ϕ_0 de chacun des métabolites sont initialisés pour l'étape suivante avec une moyenne des estimations obtenues pour les trois métabolites Cho, Cre et NAA.

2.3.6.4 NEMESIS étape 4 : estimation globale

L'étape finale de quantification de la procédure NEMESIS consiste à estimer les paramètres c_m , T_{2m} , $\Delta\alpha_m$ et $\Delta\omega_m$ pour chacun des métabolites de la base de connaissances alors que le paramètre ϕ_0 est estimé de manière globale pour tous les

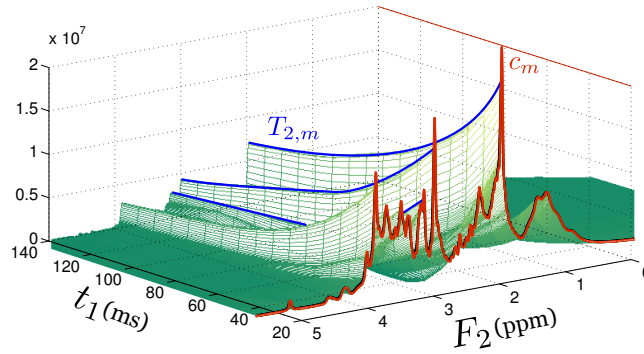


FIG. 2.11: Figure illustrant l'étape finale de quantification de la procédure NEMESIS. Les paramètres de concentration c_m , T_{2m} , $\Delta\alpha_m$ et $\Delta\omega_m$ des métabolites sont estimés indépendamment alors que le paramètre ϕ_0 est estimé de manière globale. Les résultats de quantification issus de cette étape correspondent aux résultats finaux obtenus avec la procédure NEMESIS.

métabolites. Lors de cette étape, selon la stratégie de prise en compte du signal de ligne de base, près de 40 paramètres sont estimés dans le cas par exemple où la base connaissances comprend 19 signaux métaboliques et 20 composantes gaussiennes pour la modélisation de la ligne de base. Le résultat de cette étape correspond au résultat final obtenu avec la procédure de quantification NEMESIS.

Afin de rendre l'accroissement du nombre de paramètres plus progressif, il est intéressant de faire précéder cette dernière étape de quantification par une étape intermédiaire lors de laquelle les paramètres T_{2m} , $\Delta\alpha_m$, $\Delta\omega_m$ et ϕ_0 sont estimés de manière globale pour tous les métabolites. Ainsi, une telle configuration permet d'obtenir un nombre intermédiaire de paramètres à estimer (environ 30 pour $M=19$ et selon la stratégie de prise en compte du signal de ligne de base) mais augmente le temps total d'exécution de la procédure de quantification NEMESIS.

2.4 Validation théorique de la SRM 2D J-résolue *in vivo* quantitative

Le développement de la SRM 2D J-résolue *in vivo* quantitative se base sur l'hypothèse selon laquelle les erreurs d'estimation sur les concentrations des métabolites sont réduites avec la quantification de signaux de SRM 2D en comparaison avec la quantification de signaux de SRM 1D traditionnelle. Les paragraphes suivants présentent une courte étude théorique permettant de valider cette hypothèse avec l'outil statistique de la borne de Cramé-Rao.

2.4.1 Principe de l'étude

La borne de Cramér-Rao permet de déterminer théoriquement l'erreur relative minimale d'une estimation dans le cas idéal où l'estimateur n'est pas biaisé (Cf. §1.4.4.2) et la fonction modèle paramétrique représente idéalement le signal à quantifier. Cet outil statistique repose sur la détermination de la matrice de Fisher qui dépend uniquement de la fonction modèle de l'estimateur. La borne de Cramér-Rao permet ainsi d'évaluer de manière théorique l'impact en terme d'erreur d'estimation d'une modélisation paramétrique par rapport à une autre.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'intérêt de la SRM 2D en comparaison avec la SRM 1D traditionnelle pour l'estimation des concentrations des métabolites. Pour cela, la borne de Cramé-Rao est utilisée comme critère d'évaluation du modèle paramétrique inclut dans la procédure de quantification NEMESIS (Cf. §2.3.2). Les bornes de Cramér-Rao estimées pour les paramètres de concentration c_m de chacun des métabolites sont évaluées dans les deux cas où la fonction modèle est calculée dans une ou deux dimensions spectrales. De plus, afin de rendre la comparaison équitable entre les deux techniques, la durée d'acquisition a été intégrée à l'étude. La durée d'acquisition Δt_{ACQ} d'une expérience de SRM a pour expression l'équation (2.4).

$$\Delta t_{ACQ} = TR \cdot NA \cdot N_1 \quad (2.4)$$

Cette durée d'acquisition se répartit de manière différente selon que l'expérience de SRM réalisée est à une ou deux dimensions. Dans le cadre de cette étude théorique, le temps de répétition TR est identique dans les deux cas. Ainsi, dans le cas de la SRM 1D, seul un incrément suivant la dimension t_1 est acquis ($N_1=1$) et le nombre d'accumulations NA est fixé selon le RSB et la durée d'acquisition souhaitée. Dans le cas de la SRM 2D et dans le cadre de l'étude comparative entre les deux techniques, le nombre d'accumulations NA est fixé à 1 alors que le nombre d'incrément N_1 acquis dans la dimension t_1 est ajusté suivant la durée d'acquisition souhaitée. Les durées d'acquisition des expériences de SRM 1D et 2D sont donc respectivement égales à $(TR \cdot NA)$ et $(TR \cdot N_1)$. Dans le cadre de cette étude théorique, les deux techniques de SRM 1D et 2D sont comparées à durée d'acquisition équivalente. Pour cela, une unité de temps commune notée N_{temps} est posée à l'équation (2.5).

$$N_{temps} = \frac{\Delta t_{ACQ}}{TR} \quad (2.5)$$

En théorie, la borne Cramér-Rao représente l'erreur relative minimum d'une estimation. Or, cette erreur d'estimation dépend directement du niveau de bruit présent dans les données à quantifier. Lors d'une acquisition de SRM, le niveau de bruit dépend de la durée d'acquisition et décroît en $\sqrt{\Delta t_{ACQ}}$ (Cf. §1.3.3). Pour cette raison, les CRLB calculés dans cette étude sont normalisés en divisant leur valeur par la racine carrée du nombre d'unités de temps $\sqrt{N_{temps}}$.

Pour résumer, cette étude théorique permet de répondre à la question « *Pour une durée d'acquisition donnée, l'incertitude sur l'estimation des concentrations métaboliques est-elle plus faible en utilisant une technique de SRM 1D traditionnelle ou une technique de SRM 2D J-résolue ?* » ou encore, avec les notions évoquées précédemment, « *Pour un nombre d'unités de temps N_{temps} donné, les bornes CRLB des paramètres de concentration des métabolites sont-elles théoriquement plus faibles pour une modélisation de signaux de SRM 1D ou 2D J-résolue ?* »

2.4.2 Méthode

Les bornes de Cramér-Rao obtenues avec les deux modélisations ont été comparées pour plusieurs durées d'acquisition, c'est-à-dire pour un nombre d'unités de temps N_{temps} variant de 1 à 32. Les bornes CRLB ne dépendant pas uniquement de la fonction modèle, des paramètres de modélisation et de la durée d'acquisition, aucune optimisation numérique n'a été réalisée. Pour chaque durée d'acquisition donnée, deux signaux de SRM sont calculés avec la fonction modèle de NEMESIS : l'un est un signal simulé de SRM 1D et l'autre est un signal simulé de SRM 2D J-résolue dont les incréments en t_1 ont des valeurs comprises entre 20 et 140 ms. La matrice de Fisher puis les bornes de Cramér-Rao sont ensuite déterminées pour chacun des signaux simulés connaissant les paramètres de modélisation. Les évolutions des bornes de Cramér-Rao estimées pour les paramètres de concentration de quelques métabolites sont représentées à la Fig. 2.12 en fonction de la durée d'acquisition et du type de SRM (1D ou 2D).

Lors de cette étude théorique, les paramètres de modélisation ont été choisis pour obtenir des signaux simulés les plus proches possible de signaux RMN *in vivo* expérimentaux acquis dans le cerveau de rat avec un champ $B_0=7$ T. Des valeurs typiques de concentrations observées dans le cerveau de rat avec un champ $B_0=14,1$ T ont ainsi été relevées dans la littérature [Mlynárik *et al.*, 2008]. Des valeurs typiques de temps de relaxation ont également été relevées [Xin *et al.*, 2008] mais leurs estimations ont été réalisées sur des signaux acquis avec un champ $B_0=9,4$ T. Or, les temps de relaxation T_2 des métabolites dépendent de l'intensité du champ

Métabolite	Concentration (mmol/kg)	Temps de relaxation T_2 (ms)
Ala	0,6	*
Asp	1,9	*
Cho	1,2	178
Cre	4,0	114
GABA	1,5	105
Glc	2,3	104
Gln	2,8	116
Glu	10,3	89
Gly	0,8	*
GSH	1,3	106
Lac	0,73	*
mIns	6,2	148
NAA	9,3	202
NAAG	0,96	*
PCre	4,3	113
PE	2,2	96
Tau	6,0	93

TAB. 2.1: Tableau des valeurs typiques de concentrations (extraites de [Mlynárik *et al.*, 2008]) et de temps de relaxation T_2 (extraites de [Xin *et al.*, 2008] et pour un champ $B_0=9,4$ T) pour chaque métabolite détectable dans le cerveau de rat. Les valeurs manquantes dans la littérature sont indiquées par le symbole (*).

principal B_0 . Toutefois, R. A. de Graaf a proposé une méthode d’extrapolation des temps de relaxation T_2 par modélisation avec une fonction puissance [de Graaf *et al.*, 2006]. Les écarts entre les valeurs de temps de relaxation T_2 obtenues pour un champ $B_0=9,4$ T et extrapolées pour un champ $B_0=7$ T sont négligeables et n’ont pas été pris en compte dans cette étude. Le tableau 2.1 répertorie les valeurs typiques de concentrations et de temps de relaxation pour chaque métabolite détectable dans le cerveau de rat. Enfin, les signaux simulés comprennent également un signal de ligne de base modélisé à partir de données de SRM 2D J-résolue acquises *in vivo*.

2.4.3 Résultats & discussion

Les bornes de Cramér-Rao estimées pour les paramètres de concentration c_m des six métabolites, Ala, Cre, GABA, Glu, GSH et NAA, sont globalement plus faibles, quelque soit la durée d’acquisition, dans le cas d’une quantification de signaux de SRM 2D J-résolue que dans le cas de signaux de SRM 1D traditionnelle. Toutefois, la réduction de la CRLB dépend de la nature du métabolite. Ainsi, il est intéressant de remarquer que cette réduction est plus marquée (jusqu’à 50% d’écart) dans le

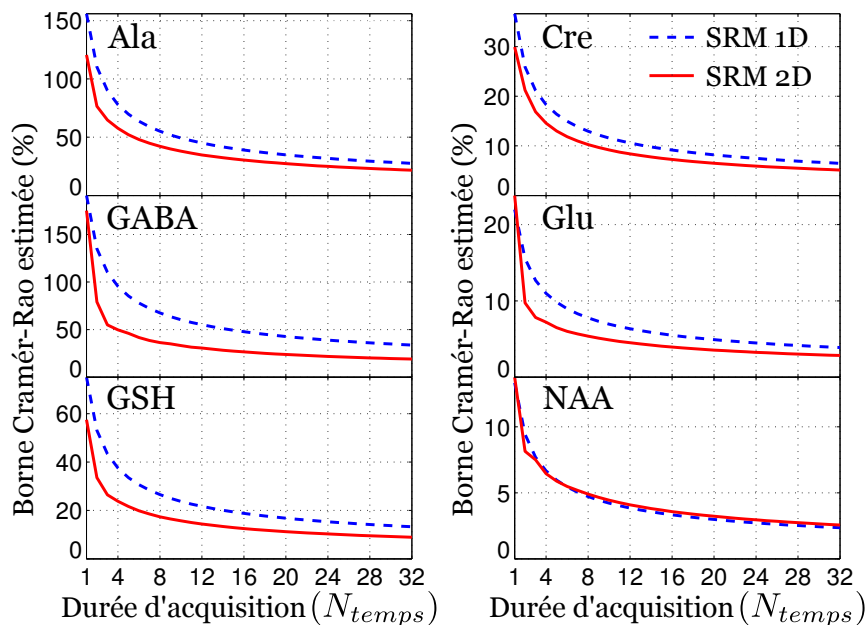


FIG. 2.12: Résultats de l'étude théorique comparant les bornes Cramér-Rao pour les estimations des concentrations métaboliques en SRM 1D et SRM 2D J-résolue pour une durée d'acquisition variant de 1 à 32 (sans unité). L'évolution des bornes Cramér-Rao estimées pour les paramètres de concentration métabolique est représentée suivant la durée d'acquisition ou le nombre d'unités de temps N_{temps} pour la quantification de signaux de SRM 1D (bleu) et de SRM 2D J-résolue (rouge) et pour les métabolites suivants : Ala, Cre, GABA, Glu, GSH et NAA. L'erreur relative théorique sur l'estimation des concentrations métaboliques est globalement réduite avec l'utilisation de la SRM 2D J-résolue.

cas de métabolites fortement couplés (GABA, Glu et GSH) que dans le cas de métabolites présentant des singulets d'intensité élevée dans leur signature spectrale (Cre et NAA).

Cette dernière observation met en évidence l'apport d'information de la SRM 2D J-résolue pour la quantification des signaux métaboliques présentant de nombreuses constantes de couplages J . En effet, l'acquisition de la seconde dimension spectrale F_1 , suivant laquelle ces couplages s'expriment majoritairement, permet une quantification plus précise de la contribution des signaux métaboliques concernés.

Les résultats de cette étude permettent de valider l'intérêt de la SRM 2D J-résolue pour la quantification de signaux acquis *in vivo*. Ces résultats théoriques sont néanmoins à interpréter avec précaution. Le gain en précision sur l'estimation des concentrations métaboliques obtenu dans le cas de la SRM 2D J-résolue demeure globalement assez faible et est spécifique à la fonction modèle de la procédure de quantification NEMESIS. De plus, la borne de Cramér-Rao ne représente que l'erreur relative théorique minimale de l'estimateur dans un cas idéal où ce dernier n'est pas biaisé. Dans le paragraphe suivant, les performances de NEMESIS sont évaluées en

tant qu'estimateur en termes de biais et d'erreur relative. Cette étude, basée sur la méthode de Monte Carlo, permettra de valider la procédure NEMESIS pour la quantification de signaux RMN 2D *in vivo*.

2.5 Validation de NEMESIS sur signaux simulés : études Monte Carlo

La précédente étude, basée sur le calcul des bornes de Cramér-Rao, a permis d'obtenir des résultats théoriques encourageants concernant l'intérêt de la SRM 2D J-résolue pour la quantification des concentrations métaboliques. Avant d'appliquer la procédure de quantification NEMESIS à des données acquises *in vivo*, il est intéressant d'évaluer les caractéristiques statistiques de l'estimateur en termes de biais et d'erreur relative ou d'écart-type. Pour cela, deux études basées sur la méthode Monte Carlo ont été réalisées. La première étude permet d'évaluer l'intérêt de la stratégie de quantification intégrée à NEMESIS (Cf. §2.3.6) alors que la seconde étude se focalise sur l'influence du nombre d'incrémentes N_1 acquis sur la quantification des signaux et sur le gain apporté par la quantification de signaux de SRM 2D comparativement à la quantification de signaux de SRM 1D. Les études Monte Carlo induisent des durées d'exécution importantes (plusieurs dizaines d'heures) et ont par conséquent été réalisées à l'aide de la grille de calcul disponible au laboratoire.

2.5.1 Principe

Les travaux présentés par la suite sont basés sur la méthode Monte Carlo. Cette méthode repose sur le tirage de nombres aléatoires. Dans le cadre de la SRM quantitative, cette méthode est employée afin d'évaluer les caractéristiques statistiques de l'estimateur. Son principe consiste à calculer un signal modèle dont les paramètres de modélisation sont connus puis à y ajouter un signal de bruit calculé par un algorithme de génération de nombres aléatoires. Un nombre N_s de signaux bruités est ainsi calculé avec les mêmes paramètres de modélisation mais avec un bruit de distribution différente. Chaque signal est ensuite quantifié et l'ensemble des paramètres estimés est analysé avec des outils statistiques. Plus le nombre N_s d'estimations réalisées est grand, plus les résultats statistiques sont fiables. Les deux principaux critères statistiques retenus pour l'évaluation d'un estimateur tel que NEMESIS sont :

- Le biais : il s'agit en pratique de l'écart moyen entre la valeur estimée et la valeur vraie d'un paramètre. Ainsi, l'estimateur est qualifié de « non-biaisé »

- lorsque son biais à l'estimation est nul. En pratique, le biais s'exprime en pourcentage de la valeur vraie du paramètre et doit être le plus faible possible.
- L'écart-type ou l'erreur relative : il s'agit de l'écart-type calculé sur l'ensemble des valeurs estimées. Plus l'écart-type est faible, plus l'intervalle de confiance des estimations est réduit. En pratique, l'écart-type s'exprime en pourcentage de la valeur vraie du paramètre et doit être le plus faible possible. Toutefois, il est nécessairement égal ou supérieur à la borne Cramér-Rao qui décrit en théorie l'erreur relative minimale.

Les signaux de SRM calculés par simulation lors des études Monte Carlo sont proches des signaux expérimentaux acquis *in vivo* sur le cerveau de rat sain avec un champ $B_0=7$ T (Fig. 2.13). Les valeurs utilisées pour les paramètres de concentrations métaboliques et de temps de relaxation T_2 sont tirées de la littérature (Cf. Tab.2.1) et un signal de ligne de base est modélisé à partir de données de SRM 2D J-résolue acquises *in vivo*. Enfin, le signal de bruit présente une distribution gaussienne centré en zéro et son écart-type est ajusté afin que le RSB du signal soit équivalent à celui observé sur des signaux acquis *in vivo*.

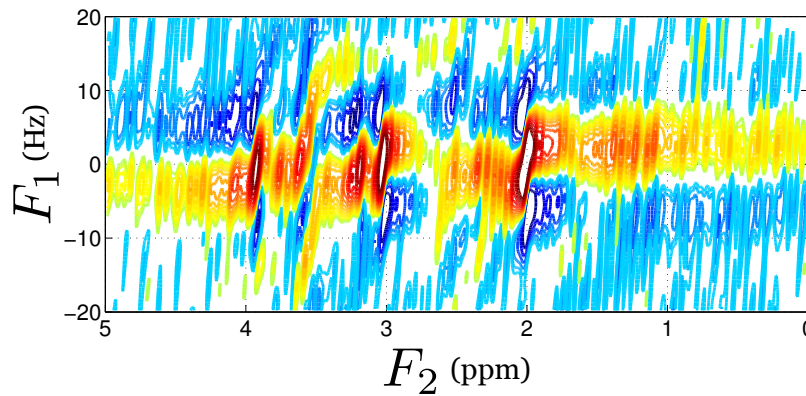


FIG. 2.13: Représentation fréquentielle d'un spectre RMN 2D J-résolu simulé pour un champ $B_0=7$ T et avec un niveau de bruit équivalent à celui observé sur des signaux acquis *in vivo*. Les valeurs des concentrations et des temps de relaxation T_2 de 19 métabolites (Ala, Asp, Cre, Cho, GABA, Glc, Gln, Glu, Gly, GPG, GSH, Lac, mIns, NAA, NAAG, Pcre, PCho, PE et Tau) sont tirées de la littérature. Les paramètres de simulation de ce signal sont les suivants : $TE=20$ à 140 ms, $N_1=16$, 4096×16 points.

2.5.2 Validation de la stratégie de quantification

Une stratégie de quantification a été mise au point et intégrée à NEMESIS et détaillée (Cf. §2.3.6). Elle permet en théorie de réduire la sensibilité de la procédure de quantification aux problèmes d'optimisation. Afin de vérifier et d'évaluer le gain

apporté par cette stratégie dans le cadre de l'estimation des concentrations métaboliques à partir de signaux de SRM 2D J-résolue, une étude Monte Carlo a été réalisée.

2.5.2.1 Méthode

L'étude Monte Carlo consiste à réaliser la quantification indépendante de 100 signaux simulés bruités, tels que celui présenté à la Fig. 2.13, avec et sans stratégie de quantification. Les biais et les écart-types des concentrations estimées par NEMESIS dans les deux cas sont ensuite évalués pour chaque métabolite (Fig. 2.14). Les signaux ont été simulés pour un champ $B_0=7$ T et une plage en TE allant de 20 à 140 ms.

2.5.2.2 Résultats & discussion

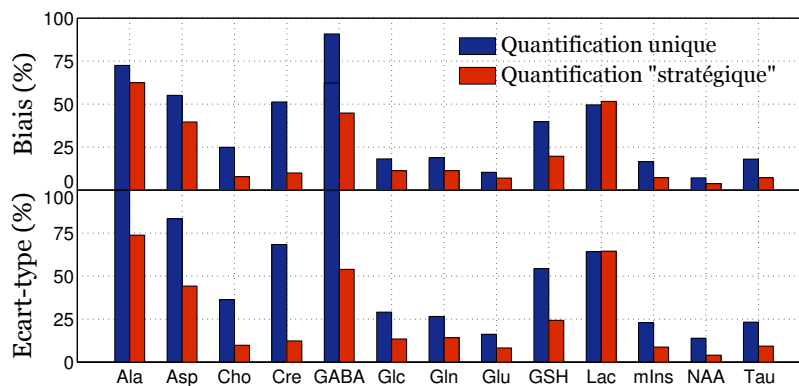


FIG. 2.14: Résultats de l'étude Monte Carlo permettant d'évaluer l'intérêt de la stratégie de quantification intégrée à NEMESIS. Les biais et les écart-types sont calculés à partir des concentrations métaboliques estimées par la procédure de quantification NEMESIS avec et sans l'emploi de la stratégie de quantification et représentés pour chaque métabolite. La stratégie de quantification permet de réduire globalement les biais et les écart-types sur l'estimation des concentrations des métabolites.

Les résultats de l'étude Monte Carlo montrent une réduction globale des biais et des écart-types pour l'estimation des concentrations métaboliques dans le cas où NEMESIS réalise la quantification en plusieurs étapes en suivant la stratégie de quantification évoquée au paragraphe 2.3.6. Ainsi, pour une majorité des métabolites couplés tels que GABA, Asp, Glc, mIns et Tau, les biais et les écart-types sont fortement réduits (10 à 50 %). Toutefois, il est intéressant de remarquer la plus faible réduction pour les métabolites Ala et Lac, dont les signatures spectrales sont fortement corrélées avec la contamination macromoléculaire.

Cette étude Monte Carlo a permis de valider l'intérêt d'élaborer une stratégie pour la quantification des signaux de SRM 2D J-résolue. Toutefois, la stratégie mise au point de manière empirique puis intégrée dans la procédure de quantification NEMESIS est efficace mais n'est pas nécessairement optimale. Afin d'obtenir de meilleurs résultats, il serait intéressant d'élaborer une stratégie de quantification optimale reposant sur des critères quantitatifs. De plus, malgré la mise en place de cette stratégie de quantification et la prise en compte du signal de ligne de base par une modélisation à base de composantes gaussiennes, les concentrations de certains métabolites demeurent délicats à estimer du fait de la présence du signal macromoléculaire.

2.5.3 Influence du nombre d'incrémentes N_1 acquis sur la quantification de signaux de SRM 2D J-résolue

Cette seconde étude Monte Carlo a été réalisée avec le même objectif que l'étude théorique basée sur la borne de Cramér-Rao, détaillée au paragraphe 2.4. Le but est de vérifier l'hypothèse selon laquelle les erreurs d'estimation sur les concentrations métaboliques sont réduites avec la quantification de signaux de SRM 2D en comparaison avec la quantification de signaux de SRM 1D. Toutefois, la méthode Monte Carlo, contrairement à l'étude de la borne Cramér-Rao, permet d'évaluer avec précision les propriétés statistiques de l'estimateur dans des conditions proches de celles rencontrées *in vivo*.

2.5.3.1 Méthode

Le principe de cette étude Monte Carlo consiste à comparer en termes de biais et d'écart-type l'influence du nombre d'incrémentes N_1 présents dans le signal de SRM 2D sur les estimations des concentrations métaboliques. De plus, cette comparaison est réalisée de manière équitable pour une même durée d'acquisition, ou autrement dit pour un certain nombre d'unités de temps N_{temps} . Pour résumer, cette étude Monte Carlo tente de résoudre le problème suivant :

3200 unités de temps sont par exemple disponibles pour réaliser une acquisition de SRM in vivo. Toutefois, ces 3200 unités de temps peuvent être « dépensées » de plusieurs manières différentes soit, par exemple, l'acquisition de 10 incréments suivant la dimension t_1 en accumulant 320 signaux à chaque incrément ou encore l'acquisition de 4 incréments en accumulant 800 signaux. Quel est l'impact sur la

Nombre d'incrémentes N_1	Nombre d'accumulation NA	Stratégie d'acquisition
16	200	Acquisition de 16 incréments avec l'accumulation de 200 signaux à chaque incrément (En pratique, ce nombre d'accumulations permet l'obtention d'un spectre RMN 2D J-résolu <i>in vivo</i> avec un RSB proche de 10)
8	400	Acquisition de 8 incréments avec l'accumulation de 400 signaux à chaque incrément
4	800	Acquisition de 4 incréments avec l'accumulation de 800 signaux à chaque incrément
2	1600	Acquisition de 2 incréments avec l'accumulation de 1600 signaux à chaque incrément
1	3200	Acquisition d'un signal de SRM 1D traditionnelle accumulé 3200 fois

TAB. 2.2: Tableau descriptif des cinq schémas d'acquisition retenus pour la simulation des signaux.

quantification de tels choix lors de l'acquisition et quelle est alors la meilleure stratégie d'acquisition à adopter afin de réduire les erreurs d'estimation lors de la quantification des données ?

Lors de cette étude, la durée d'acquisition disponible N_{temps} a été arbitrairement fixée à 3200 et cinq schémas d'acquisition ont été retenus pour la simulation des signaux (Tab. 2.2). 200 signaux bruités sont simulés pour un champ $B_0=7$ T, de la même manière que dans l'étude précédente, et selon ces cinq schémas d'acquisition. Le niveau de bruit gaussien est ajusté en fonction du nombre d'accumulations NA afin de simuler l'effet de l'accumulation des signaux sur le RSB. Contrairement à l'étude présentée plus bas (Cf. §2.6), l'échantillonnage suivant la dimension t_1 demeure ici régulier et s'étend sur une plage allant de 20 à 150 ms. Les biais et les écart-types des concentrations estimées par NEMESIS dans les cinq cas sont évalués pour chaque métabolite (Fig. 2.15).

2.5.3.2 Résultats & discussion

Les résultats de l'étude Monte Carlo (Fig. 2.15) montrent une réduction des biais et des écart-types pour l'estimation des concentrations lorsque le nombre d'incrément

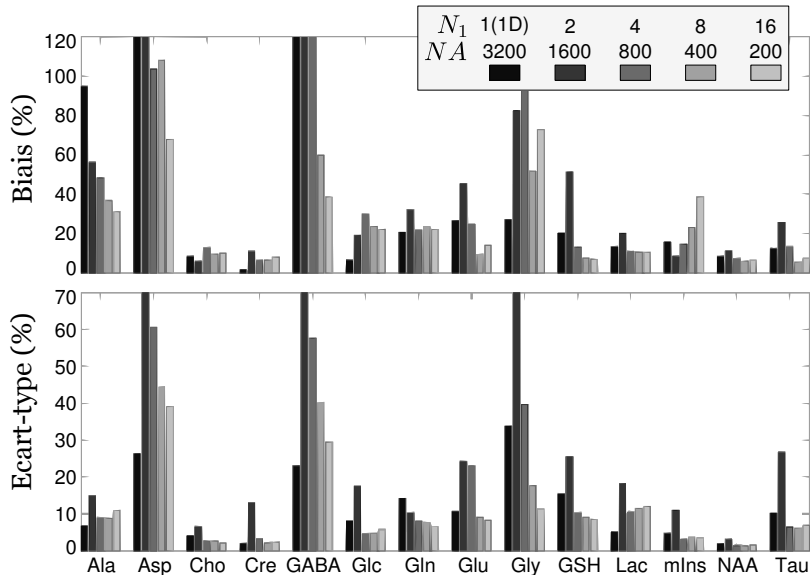


FIG. 2.15: Résultats de l'étude Monte Carlo permettant d'évaluer l'influence du nombre d'incrémentes acquis sur la quantification de signaux de SRM 2D avec NEMESIS. Les biais et les écart-types sont calculés à partir des concentrations métaboliques estimées par la procédure de quantification NEMESIS et sont représentés pour chaque métabolite pour les cinq stratégies d'acquisition différentes impliquant un nombre variable d'incrémentes N_1 et d'accumulations NA . Les schémas d'acquisition correspondant à la SRM 2D permettent de réduire les biais et des écart-types des estimations pour une majorité de métabolites et en particulier pour les métabolites couplés (GABA, Gln, Glu, GSH et Tau).

ments N_1 augmente. Cette observation est particulièrement valable pour les métabolites couplés tels que GABA, Gln, Glu, GSH et Tau qui montrent une réduction de 5 à 10 %. Néanmoins, les concentrations de quelques autres métabolites couplés tels que Ala, Asp, Glc ou Lac, présentant des biais et des écart-types importants dans le cas du schéma d'acquisition de SRM 1D, ne sont pas mieux estimées dans le cas de la SRM 2D, quelque soit le compromis entre N_1 et NA . Concernant les métabolites peu couplés tels que Cho, Cre et NAA, l'estimation de leurs concentrations est très peu influencée par le nombre d'incrémentes N_1 (moins de 5 % de réduction).

Les résultats de cette étude Monte Carlo ne permettent de vérifier que partiellement les résultats théoriques obtenus précédemment (Cf. 2.4) et démontrent certaines limitations de la mise en œuvre pratique de la SRM 2D J-résolue quantitative. L'optimisation numérique joue un rôle essentiel dans la procédure de quantification NEMESIS et est probablement à l'origine de ces limitations. Ainsi, la prise en compte du signal de ligne de base ou la stratégie de quantification sont inévitablement des problèmes plus complexes à gérer lorsque le signal s'exprime suivant deux dimensions spectrales, induisant par exemple la multiplication du nombre de paramètres à estimer.

Enfin, une autre approche peut être retenue pour interpréter ces résultats. Cette approche repose sur l'existence de temps d'évolution t_1 singuliers présentant un chevauchement spectral minimal entre les signaux métaboliques, du fait de l'expression des constantes de couplages J suivant la dimension t_1 . Ainsi, selon l'échantillonnage de sa dimension t_1 , un signal de SRM 2D J -résolue pourra être estimé avec une erreur de quantification plus ou moins élevée selon que l'échantillonnage comprend certaines valeurs singulières. Lors de cette étude Monte Carlo, la seconde dimension t_1 a fait systématiquement l'objet d'un échantillonnage régulier dans une plage de valeurs allant de 20 et 150 ms. Par conséquent, il est probable que certains échantillonnages, selon le nombre d'incrémentes N_1 simulés, aient influencé le processus de quantification en augmentant (ou en réduisant) les biais et les écart-types d'estimation. Cette hypothèse, qui pourrait expliquer certains résultats obtenus lors de cette étude Monte Carlo, a été vérifiée en pratique et les travaux qui en découlent sont présentés au paragraphe suivant.

2.6 Stratégies d'échantillonnage irrégulier

L'existence de temps d'évolution t_1 singuliers présentant un chevauchement spectral minimal entre les signaux métaboliques a fait l'objet de quelques travaux dans le domaine de la SRM *in vivo*. Ainsi, en 1998, M. Mescher met au point une séquence d'édition intitulée MEGA-PRESS³ permettant l'acquisition du spectre RMN 1D *in vivo* d'un métabolite couplé en réduisant la contribution des autres signaux métaboliques dans le signal [Mescher *et al.*, 1998]. Cette technique, dite « J-difference editing » en anglais, couramment employée pour l'estimation de la concentration en GABA [Henry *et al.*, 2011], repose entre autres sur les différences inter-métabolites en termes de constantes de couplage J .

Dans le domaine de la SRM 2D *in vivo* quantitative, l'exploitation de ces différences en constantes de couplages J n'a, à ce jour, fait l'objet d'aucune publication. Cette approche se traduit en SRM 2D J -résolue par l'échantillonnage irrégulier de la dimension t_1 . Dans l'hypothèse que cet échantillonnage irrégulier permette une amélioration de quantification et une réduction de la durée d'acquisition, des travaux ont été réalisés dans le cadre de cette thèse afin d'évaluer l'intérêt de l'échantillonnage irrégulier pour la quantification des signaux de SRM 2D J -résolue *in vivo* et sont détaillés dans les paragraphes suivants.

³Mescher-Garwood Point-Resolved Spectroscopy

2.6.1 Principe

En pratique, cette étude s'appuie largement sur la séquence 2D J-PRESS WISH (Cf. 2.2) et sur la procédure de quantification NEMESIS (Cf. 2.3). En effet, la séquence 2D J-PRESS WISH permet l'acquisition *in vivo* de données de SRM 2D J-résolue avec un échantillonnage irrégulier suivant la dimension t_1 alors que NEMESIS, du fait de sa modélisation dans le domaine temporel, permet implicitement la quantification de ce type de signaux peu conventionnels. L'étude s'articule autour de trois objectifs :

1. La mise au point d'un algorithme permettant d'estimer, pour un métabolite donné, l'échantillonnage optimal suivant la dimension t_1 induisant une erreur d'estimation minimale en terme de bornes de Cramér-Rao (Cf. §2.6.2)
2. La validation de ces stratégies d'échantillonnage optimisé et la comparaison des erreurs d'estimation obtenues avec NEMESIS en termes de biais et d'écart-type au moyen d'une étude Monte Carlo (Cf. §2.6.3)
3. La validation expérimentale par la quantification de signaux de SRM 2D J-résolue acquis *in vivo* et dont l'échantillonnage suivant la dimension t_1 a été optimisé pour la quantification d'un ou plusieurs métabolites (Cf. §2.6.4)

2.6.2 CRISO : algorithme pour l'optimisation de l'échantillonnage de la dimension t_1

Un algorithme permettant l'optimisation de l'échantillonnage suivant la dimension t_1 des signaux de SRM 2D J-résolue a été développé. Intitulée CRISO pour *Cramér-Rao guided Irregular Sampling Optimization*, son principe repose sur la minimisation numérique de la borne de Cramér-Rao estimée pour les concentrations métaboliques d'un signal 2D modèle. L'échantillonnage irrégulier suivant la dimension t_1 propre à chaque métabolite constitue les paramètres à estimer. De plus, lors de l'optimisation de l'échantillonnage, l'algorithme caractérise chaque incrément t_1 par un rang décrivant son impact sur la réduction de la borne de Cramér-Rao. Ainsi, pour un échantillonnage comprenant N_1 incréments, l'incrément de rang 1 a permis la réduction des CRLB la plus importante alors que l'incrément de rang N_1 a permis la plus faible réduction.

L'algorithme CRISO est décrit ci-dessous sous la forme de pseudo-code. L'échantillonnage optimisé suivant la dimension t_1 , stocké dans un vecteur noté S_m , propre

à chaque métabolite m , est déterminé sur une plage de valeurs comprises entre t_1^{min} et t_1^{max} avec un nombre maximal d'échantillons noté N_1^{max} . Pour chaque incrément testé, noté $t_1^{candidat}$, les bornes Cramér-Rao sont estimées à partir du signal modèle \hat{X} connaissant les paramètres de modélisation P . Les CRLB sont ensuite stockées dans un vecteur $CRLB_m$. L'incrément qui a permis l'obtention d'un CRLB minimale est noté t_1^{best} . Cet incrément est à ajouté au vecteur S_m et au vecteur R_m décrivant son rang.

```

for  $m = 1$  to  $M$  do
   $S_m$ .init( $t_1^{min}$ )
   $R_m$ .init( $t_1^{min}$ )
  for  $N_1 = 2$  to  $N_1^{max}$  do
    for  $t_1^{candidat} = t_1^{min}$  to  $t_1^{max}$  do
       $S_m^{candidat} \leftarrow S_m$ 
       $S_m^{candidat}$ .add( $t_1^{candidat}$ )
       $\hat{X} \leftarrow \text{modelfunction}(S_m^{candidat}, P)$ 
       $CRLB_m$ .add CRLB( $\hat{X}, P$ )
    end for
     $t_1^{best} \leftarrow CRLB_m$ .minimum()
     $S_m$ .add( $t_1^{best}$ )
     $R_m$ .add( $t_1^{best}$ )
  end for
end for
 $S_m$ .sort()
return  $S_m, R_m, CRLB_m$ 

```

Les signaux de SRM calculés par simulation lors de cette étude sont proches des signaux expérimentaux acquis *in vivo* sur le cerveau de rat sain avec un champ $B_0=7$ T. Les valeurs utilisées pour les paramètres de concentrations métaboliques et de temps de relaxation T_2 sont tirées de la littérature (Cf. Tab.2.1) et un signal de ligne de base est modélisé à partir de données de SRM 2D J-résolue acquises *in vivo*. L'algorithme a été exécuté pour un échantillonnage comprenant 16 incréments (N_1^{max}) compris entre 20 et 140 ms et les échantillonnages optimisés S_m obtenus sont représentés graphiquement à la Fig. 2.16. Le rang R_m de chacun des incréments en t_1 est représenté avec un gradient de couleur. De plus, les valeurs des CRLB estimées pour les concentrations de quelques métabolites sont listées et brièvement comparées avec celles obtenues dans le cas d'un échantillonnage régulier non-optimisé (Tab. 2.3).

Les échantillonnages irréguliers obtenus dépendent de la nature du métabolite (Fig. 2.16). Pour améliorer la quantification de l'alanine par exemple, il est préférable

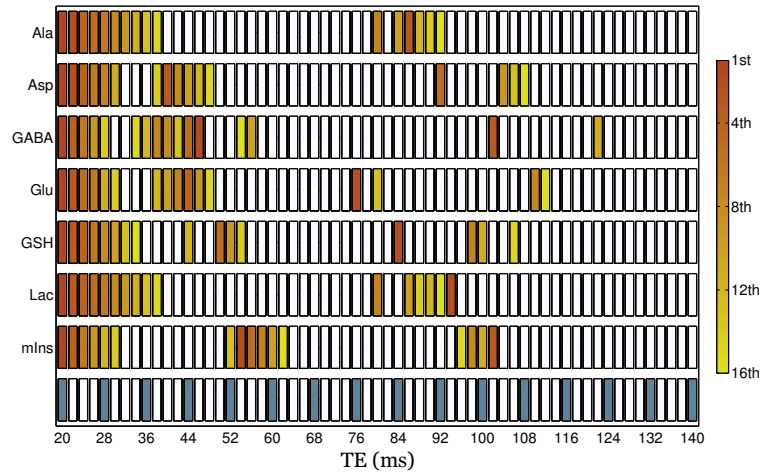


FIG. 2.16: Représentation graphique des échantillonnages optimisés suivant la dimension t_1 calculés entre 20 et 140 ms pour les principaux métabolites couplés (Ala, Asp, GABA, Glu, GSH, Lac et mIns). Le gradient de couleur indique le rang de l'incrément t_1 décrivant son impact sur la réduction de la borne de Cramér-Rao estimée pour la concentration métabolique. Une représentation graphique d'un échantillonnage régulier a été ajoutée en bleu.

Métabolite	Echantillonnage optimisé	Echantillonnage régulier
Ala	51,6 %	63,5 %
Asp	38,9 %	47,7 %
GABA	47,5 %	53,8 %
NAA	5,4 %	5,9 %

TAB. 2.3: Valeurs des bornes de Cramér-Rao estimées pour les concentrations de quatre métabolites (Ala, Asp, GABA et NAA) dans le cas d'un signal de SRM 2D J-résolu dont l'échantillonnage suivant la dimension t_1 a été optimisée avec l'algorithme CRISO et dans le cas où l'échantillonnage suivant cette dimension est régulier. L'optimisation de l'échantillonnage suivant la dimension t_1 permet une réduction globale des CRLB majoritairement pour les métabolites fortement couplés (Ala, Asp et GABA).

de faire l'acquisition d'incrément t_1 pour des valeurs proches de 20 et de 86 ms alors que pour améliorer la quantification du myo-inositol, ces valeurs sont différentes : 20, 54 et 100 ms. Ces observations permettent de vérifier théoriquement l'hypothèse selon laquelle il existe des incréments singuliers dans la dimension t_1 permettant de réduire les erreurs d'estimation des concentrations métaboliques. Ces différents échantillonnages irréguliers suivant la dimension t_1 constituent ainsi un ensemble de stratégies d'échantillonnages optimisés permettant d'améliorer indépendamment la quantification des signaux métaboliques.

Les résultats comparatifs entre les valeurs de CRLB obtenues pour un échantillonnage régulier et un échantillonnage optimisé par l'algorithme CRISO montre

une réduction globale des bornes de Cramér-Rao dans le second cas (Tab. 2.3). Toutefois, cette réduction est faible (5 à 10 % selon les métabolites) et concerne majoritairement les métabolites couplés. En théorie, l'échantillonnage suivant la dimension t_1 a donc une influence relativement limitée sur la quantification des données de SRM 2D J-résolue. Ces dernières observations doivent néanmoins être interprétées avec précaution. En effet, des essais ultérieurs ont montré une forte dépendance de ces résultats avec les paramètres de modélisation tels que les concentrations des métabolites. Afin de valider ces résultats théoriques, une étude Monte Carlo, sur le même principe que celles présentées précédemment, a été réalisée et est présentée dans la paragraphe suivant.

2.6.3 Validation sur signaux simulés : étude Monte Carlo

Une étude Monte Carlo a été réalisée dans le but d'évaluer l'intérêt de l'optimisation de l'échantillonnage suivant la dimension t_1 pour la quantification des signaux de SRM 2D J-résolue en termes de biais et d'écart-type. Pour cela, quatre stratégies d'échantillonnage ont été retenues pour cette étude, soit les stratégies d'échantillonnage propres aux métabolites Ala, Asp et GABA calculées avec CRISO et une stratégie d'échantillonnage régulier. Pour chacun de ces quatre échantillonnages, 200 signaux bruités de SRM 2D J-résolue sont simulés puis quantifiés dans les mêmes conditions que lors des précédentes études Monte Carlo (Cf. 2.5.1). Les biais et les écart-types des concentrations estimées par NEMESIS sont ensuite évalués dans les quatre cas pour quelques métabolites (Fig. 2.17).

En accord avec la théorie de Cramér-Rao, les résultats de l'étude Monte Carlo montrent une diminution globale des biais et des écart-types des estimations des concentrations métaboliques dans le cas où le signal de SRM 2D J-résolue quantifié présente un échantillonnage optimisé suivant sa dimension t_1 (Fig. 2.17).

Toutefois, cette diminution est faible et certains résultats sont déroutants. Ainsi, le biais et l'écart-type relatifs à l'estimation de la concentration en GABA sont minimaux lorsque la stratégie d'échantillonnage dédiée à l'alanine est employée. Ce résultat a probablement pour origine le nombre trop faible de signaux quantifiés (200) lors de cette étude Monte Carlo, étude particulièrement coûteuse en temps de calcul.

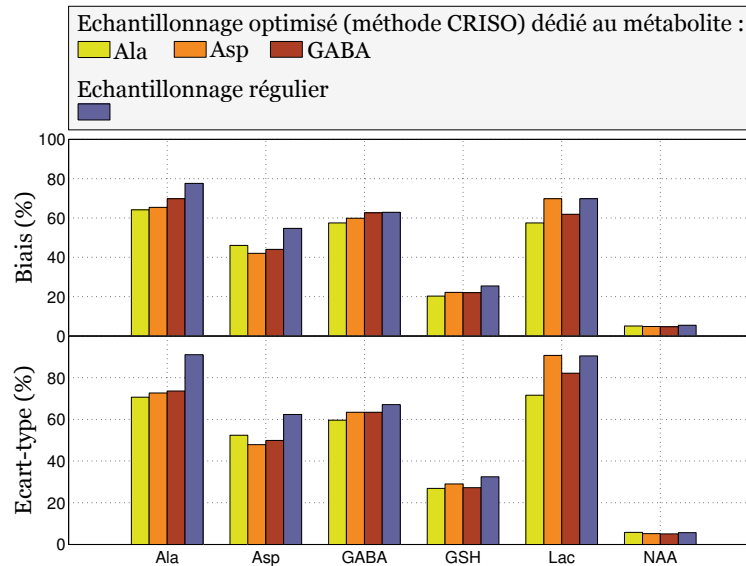


FIG. 2.17: Résultats de l'étude Monte Carlo permettant d'évaluer l'intérêt de l'optimisation de l'échantillonnage suivant la dimension t_1 pour la quantification des signaux de SRM 2D J-résolue. Les biais et les écart-types sont calculés à partir des concentrations métaboliques estimées par la procédure de quantification NEMESIS pour les quatre stratégies d'échantillonnage. L'échantillonnage irrégulier de la dimension t_1 permet de réduire légèrement le biais et l'écart-type des estimations réalisées avec NEMESIS.

2.6.4 Validation expérimentale

Afin de valider l'intérêt de l'échantillonnage optimisé suivant la dimension t_1 , cette approche a été employée pour l'acquisition et la quantification de signaux de SRM 2D J-résolue *in vivo*. Une souris saine âgée de trois mois (modèle Swiss) a été anesthésiée par inhalation d'isoflurane puis placée dans un IRM *Bruker BioSpin* 7 T, sa température corporelle étant maintenue à 37°C par un système de chauffage. Le suivi de son cycle respiratoire a été réalisé par le biais d'un capteur de pression. Une antenne d'émission/réception a été utilisée pour recueillir le signal provenant d'un voxel de 90 μL placé dans le cerveau. Après avoir ajusté la position du voxel en réalisant une séquence d'imagerie de positionnement puis une séquence RARE⁴, des signaux de SRM 2D J-résolue ont été acquis avec la séquence 2D J-PRESS WISH ($TR=3$ s et $NA=128$). L'échantillonnage suivant la dimension t_1 a été fixé de façon judicieuse entre des valeurs allant de 20 à 140 ms afin couvrir les quatre stratégies d'échantillonnage optimisé évoquées au paragraphe précédent, soit les stratégies dédiées à la quantification des métabolites Ala, Asp et GABA et une stratégie d'échantillonnage régulier.

Après acquisition, les données ont été corrigées puis rééchantillonnées suivants

⁴Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement

les quatre stratégies évoquées précédemment. Chacun de ces signaux de SRM 2D J-résolue a ensuite été quantifié avec NEMESIS. Du fait de l'application d'une TF 2D lors de l'affichage d'un spectre RMN 2D, seul le signal comprenant un échantillonnage régulier suivant la dimension t_1 peut être représenté (Fig. 2.18a). Son spectre estimé par NEMESIS est représenté à la Fig. 2.18b. Les estimations des concentrations métaboliques sont représentées à la Fig. 2.19 pour les quatre métabolites Asp, GABA, Gln et NAA.

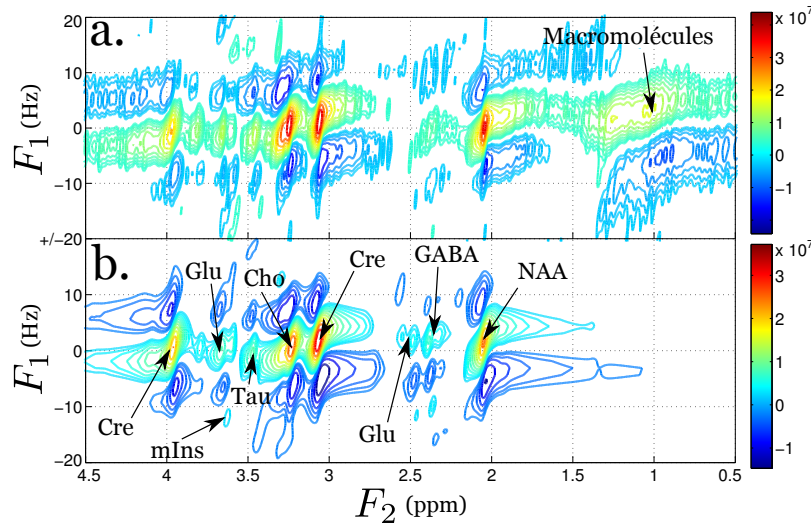


FIG. 2.18: Représentation fréquentielle d'un spectre RMN 2D J-résolu *in vivo* acquis dans le cerveau de souris avec un IRM *Bruker BioSpin* 7 T (a) et son spectre estimé avec la procédure NEMESIS (b). Les paramètres de la séquence 2D J-PRESS WISH sont les suivants : $TE=20$ à 140 ms, $N_1=16$, $TR=3$ s, $NA=128$, voxel de dimension 5 mm x $4,5$ mm x 4 mm.

Les résultats de la quantification des signaux de SRM 2D J-résolue acquis *in vivo* montrent une influence des stratégies d'échantillonnage sur les concentrations estimées, en particulier pour les métabolites couplés (Fig. 2.19). En accord avec la théorie, l'estimation de la concentration de NAA est indépendante de l'échantillonnage et demeure constante quelque soit la stratégie d'échantillonnage employée. La stratégie d'échantillonnage optimisée dédiée à la quantification de l'aspartate a permis d'obtenir des concentrations estimées proches des valeurs de la littérature. Toutefois, les bornes de Cramér-Rao estimées dans cas de la stratégie d'échantillonnage dédiée au GABA sont globalement les plus faibles, rendant délicat l'interprétation de ces résultats.

Au vu des résultats obtenus avec la méthode Monte Carlo et sur des signaux expérimentaux acquis *in vivo*, l'optimisation de l'échantillonnage suivant la dimension t_1 présente un intérêt limité pour la quantification de signaux de SRM 2D J-résolue

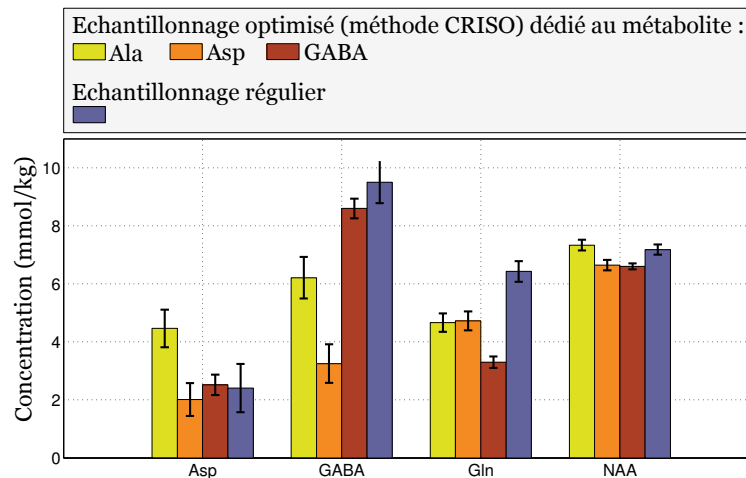


FIG. 2.19: Résultats de quantification avec la procédure NEMESIS de signaux de SRM 2D J-résolue *in vivo* pour quatre stratégies d'échantillonnage et pour les métabolites Asp, GABA, Gln et NAA. Chaque concentration métabolique estimée est accompagnée d'une barre d'erreur correspondant à la borne de Cramér-Rao. Ces résultats montrent une influence des stratégies d'échantillonnage sur les concentrations estimées, en particulier pour les métabolites couplés.

avec NEMESIS. Cette approche ouvre toutefois la voie vers de nouvelles perspectives qui seront évoquées au paragraphe 2.8.

2.7 Validation expérimentale de NEMESIS : quantification de signaux de SRM 2D J-résolue acquis *in vivo*

Les développements réalisés en SRM 2D quantitative ont donné naissance à la séquence 2D J-PRESS WISH (Cf. §2.2) permettant l'acquisition *in vivo* de signaux de SRM 2D J-résolue et à la procédure de quantification NEMESIS (Cf. §2.3) permettant leur quantification respective. Ces travaux ont fait l'objet d'une validation expérimentale au cours de laquelle des signaux de SRM 2D J-résolue ont été acquis dans le cerveau de rat puis quantifiés afin d'estimer les concentrations des métabolites présents.

2.7.1 Méthode

La validation expérimentale a été réalisée avec un IRM *Bruker BioSpin 7 T*. Un rat sain âgé de cinq mois a été anesthésié par inhalation d'isoflurane, sa température

corporelle étant maintenue à 37°C par un système de chauffage. Le suivi de son cycle respiratoire a été réalisé par le biais d'un capteur de pression. Une antenne volumique et une antenne de surface ont été utilisées respectivement pour l'émission et la réception du signal RMN. Des images de positionnement ont été acquises pour plusieurs coupes axiales du cerveau avec la séquence d'imagerie RARE afin d'ajuster avec précision la position du voxel et son volume égal à 64 μL (Fig. 2.20). Avant de débiter les acquisitions spectroscopiques, le champ principal B_0 a été homogénéisé par l'ajustement automatique des « shim » de premiers et seconds ordres à l'aide de la séquence FASTMAP⁵ [Gruetter, 1993]. Primordialement lors d'une acquisition *in vivo*, ces ajustements ont permis d'obtenir une largeur de raie estimée pour le pic de l'eau de 18 Hz.

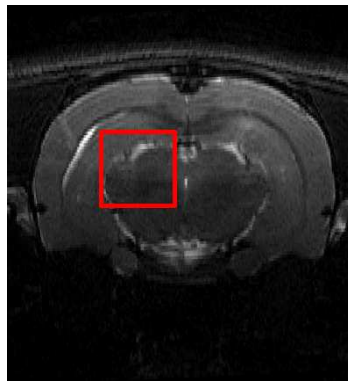


FIG. 2.20: Image d'une coupe axiale du cerveau d'un rat acquise avec la séquence RARE sur un IRM *Bruker BioSpin 7 T*. Les paramètres de la séquence sont : $TE=15$ ms, $TR=5166$ ms avec une épaisseur de coupe égale à 1 mm. Le voxel de volume 64 μL sélectionné pour les acquisitions spectroscopiques dans le cerveau est représenté.

Trois acquisitions de SRM 2D J-résolue localisée ont été réalisées avec la séquence 2D J-PRESS WISH sur l'IRM *Bruker BioSpin 7 T* induisant une durée d'acquisition totale d'environ 2 h :

1. L'acquisition du spectre RMN 2D J-résolu des métabolites avec les paramètres suivants : $TE=20$ à 140 ms, $N_1=24$, $TR=2,5$ s, $NA=96$, modules VAPOR et OVS actifs.
2. L'acquisition du spectre RMN 2D J-résolu de référence (spectre de l'eau) avec les paramètres suivants : $TE=20$ à 140 ms, $N_1=24$, $TR=5$ s, $NA=2$, modules VAPOR et OVS actifs.
3. L'acquisition du spectre RMN 2D J-résolu des macromolécules avec les paramètres suivants : $TI=675$ ms, $TE=20$ à 38 ms, $N_1=4$, $TR=2,5$ s, $NA=128$, modules VAPOR et OVS actifs.

⁵Fast, Automatic Shimming Technique by Mapping Along Projections

Les signaux de SRM 2D J-résolue sont reconstruits puis quantifiés, avec une durée d'exécution inférieure à la minute, par la procédure de quantification NEMESIS, la modélisation de la ligne de base étant calculée à partir du spectre RMN 2D des macromolécules. Les spectres RMN 2D J-résolus des métabolites acquis *in vivo* et estimés par NEMESIS sont représentés à la Fig. 2.21. Afin d'illustrer le processus de quantification, la séparation des signaux métaboliques contribuant au spectre RMN 2D J-résolu *in vivo* est représentée sous la forme de spectres RMN 1D à la Fig. 2.23. Enfin, les estimations de concentrations des métabolites sont représentées sous la forme d'un histogramme à la Fig. 2.22.

2.7.2 Résultats & discussion

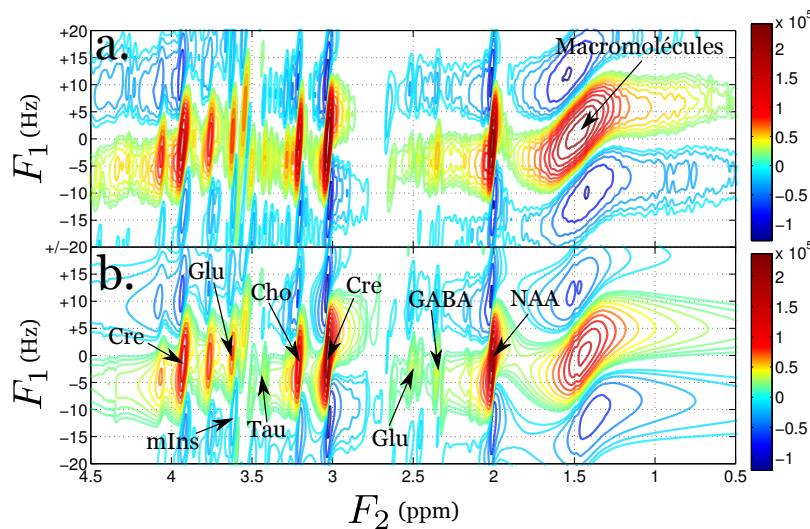


FIG. 2.21: Représentation fréquentielle d'un spectre RMN 2D J-résolu *in vivo* acquis dans le cerveau de rat avec un IRM *Bruker BioSpin 7 T* (a) et son spectre estimé avec la procédure NEMESIS (b). Les paramètres de la séquence 2D J-PRESS WISH sont les suivants : $TE=20$ à 140 ms, $N_1=24$, $TR=2,5$ s, $NA=96$, voxel de dimension 4 mm x 4 mm x 4 mm.

Les concentrations estimées sont globalement en bon accord avec la littérature (Fig. 2.22). Toutefois, les résultats montrent que les concentrations de certains métabolite, tels que Asp, GSH, mIns et plus particulièrement Ala, sont largement sur-estimées. Ce biais d'estimation a probablement pour origine une modélisation imprécise de la ligne de base. En effet, l'alanine a une la signature spectrale fortement corrélée avec les signaux lipidiques pour environ $1,5$ ppm (Fig. 2.23). Les bornes de Cramér-Rao, décrivant l'intervalle de confiance des estimations, sont relativement

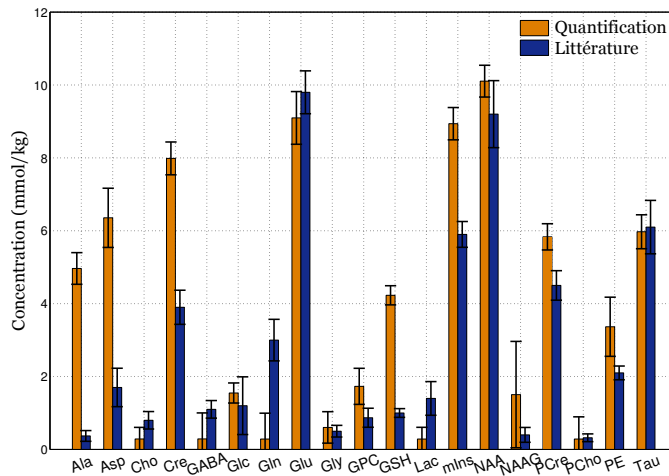


FIG. 2.22: Résultats de quantification avec la procédure NEMESIS de signaux de SRM 2D J-résolue *in vivo* acquis dans le cerveau de rat avec un IRM *Bruker BioSpin* 7 T. Chaque concentration métabolique estimée est accompagnée d'une barre d'erreur correspondant à la borne de Cramér-Rao et est comparée à la concentration typique relevée dans la littérature [Mlynárik *et al.*, 2008].

faibles pour les métabolites couplés tels que Asp, Glc, Glu, GSH, mIns, et Tau. La comparaison des erreurs d'estimation obtenues et relevées dans la littérature doit être faite avec précaution. En effet, il est important de rappeler que ces résultats, utilisés comme référence ici, ont été obtenus par la quantification de signaux de SRM *in vivo* pour un champ magnétique très élevé (14,1 T) [Mlynárik *et al.*, 2008]. Enfin, ces résultats montrent que la séparation et la quantification des signaux correspondant aux couples de métabolites tels que Cre/Pcre, Cho/PCho demeurent délicates pour un champ $B_0=7$ T.

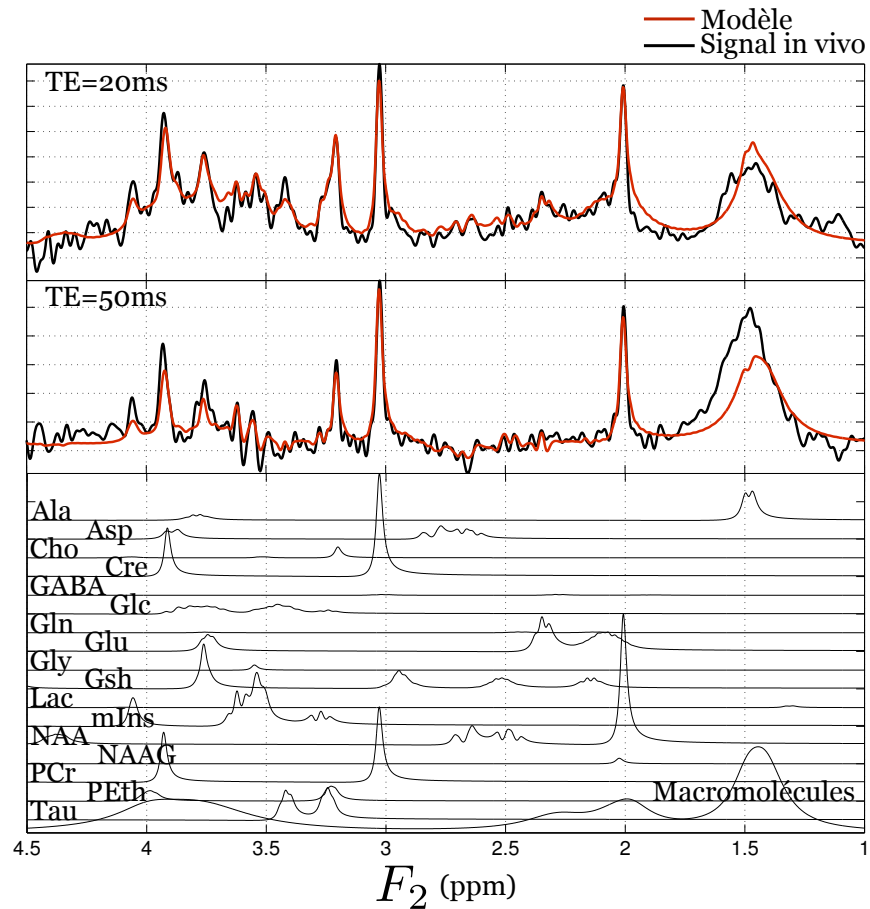


FIG. 2.23: Représentation graphique de la séparation des signaux métaboliques réalisée par la procédure de quantification NEMESIS pour un extrait pour $TE=20$ ms du spectre RMN 2D J-résolu *in vivo* acquis dans le cerveau de rat avec un IRM *Bruker BioSpin 7 T*.

2.8 Perspectives et conclusions

Un nouvel algorithme de quantification de signaux de SRM 2D J-résolue *in vivo* supportant l'échantillonnage irrégulier a été développé. Il repose largement sur la séquence d'acquisition 2D J-PRESS WISH développée. La quantification des signaux de SRM 2D J-résolue acquis dans le cerveau du petit animal reste un défi vis-à-vis du faible RSB, des distorsions spectrales, des largeurs de raie et de la contamination macromoléculaire pour le champ employé (7 T). Une étude théorique suivie d'une étude Monte Carlo ont toutefois permis de démontrer l'intérêt de la SRM 2D J-résolue pour la quantification en comparaison avec la SRM 1D traditionnelle. Enfin, malgré un intérêt limité pour l'estimation des concentrations métaboliques, l'acquisition de signaux dont l'échantillonnage suivant la dimension t_1 est optimisé constitue une approche originale en SRM 2D J-résolue et offre de nouvelles perspectives.

En pratique, cette approche pourrait ainsi être combinée avec une acquisition à TE ultra-court (1 à 2 ms) de signaux de SRM 2D J-résolue, permettant un gain important en RSB. Délicate à mettre en œuvre, cette technique a déjà fait l'objet de nombreux travaux en SRM du petit animal [Tkáč *et al.*, 1999] et a donné naissance aux séquences SPECIAL⁶ [Mlynárik *et al.*, 2006] et LASER⁷ [Oz and Tkáč, 2011] permettant l'acquisition spectroscopique pour des TE courts.

A l'heure actuelle, l'algorithme CRISO, développé pour l'optimisation de l'échantillonnage suivant la dimension t_1 , ne prend pas en compte la notion de nombre d'accumulations. Cette fonctionnalité, déjà implémentée dans la séquence 2D J-PRESS WISH, permettrait de pondérer l'acquisition du signal RMN 2D en terme de RSB suivant la dimension t_1 afin d'établir des stratégies d'échantillonnage plus précises comprenant pour chaque incrément en t_1 un nombre d'accumulations NA optimal.

La procédure de quantification NEMESIS, validée avec succès sur des signaux expérimentaux de SRM 2D J-résolue *in vivo* présente toutefois un certain nombre de limitations en pratique. Ainsi, la prise en compte du signal 2D des macromolécules et la fonction modèle demeurent encore basiques et pourraient être optimisées. Malgré les nombreux développements réalisés pour réduire la sensibilité de la méthode aux problèmes d'optimisation numérique, des contraintes « douces » imposées aux paramètres estimés sous la forme de termes de régularisation dans la fonction de coût manquent cruellement et permettraient l'obtention d'estimations plus proches de la réalité.

Enfin, une limitation importante de la SRM 2D *in vivo* réside dans sa sensibilité. Lors des validations expérimentales, des durées d'acquisition de plusieurs heures ont été nécessaires pour l'obtention de spectres RMN 2D J-résolus *in vivo* présentant un RSB et une résolution spectrale dans la dimension F_1 suffisants pour leur quantification. De telles durées d'acquisition induisent irrémédiablement des dérives en fréquence ou en phase du fait de l'évolution des conditions d'acquisitions, mais également une évolution du signal RMN du fait des variations du métabolisme. De plus, de telles durées d'acquisitions sont incompatibles avec une application clinique sur l'homme. Il existe toutefois des approches pour augmenter la sensibilité des acquisitions spectroscopiques. Ainsi, le développement de réseaux d'antennes ou la mise au point de séquences d'impulsions permettant l'acquisition de l'écho de spin entier permettent en théorie de réduire les durées d'acquisitions. La partie suivante porte sur une approche originale basée sur la méthode de « RMN ultrarapide » permettant d'acquérir un spectre RMN 2D J-résolu complet avec une réduction drastique de la

⁶Spin Echo, Full Intensity Acquired Localized

⁷Localization by Adiabatic Selective Refocusing

durée d'acquisition, celle-ci étant de l'ordre de quelques secondes.

Références bibliographiques relatives à la SRM 2D conventionnelle

- [Adalsteinsson *et al.*, 2004] Adalsteinsson, E., Hurd, R. E., Mayer, D., Sailasuta, N., Sullivan, E. V., and Pfefferbaum, A. (2004). In vivo 2D J-resolved magnetic resonance spectroscopy of rat brain with a 3-T clinical human scanner. *Neuroimage*, 22(1) :381–386.
- [Arnold *et al.*, 1951] Arnold, J. T., Dharmatti, S. S., and Packard, M. E. (1951). Chemical effects on nuclear induction signals from organic compounds. *J Chem Phys*, 19(4) :507–507.
- [Aue *et al.*, 1976a] Aue, W. P., Bartholdi, E., and Ernst, R. R. (1976a). Two-dimensional spectroscopy. Application to nuclear magnetic resonance. *J Chem Phys*, 64(5) :2229–2246.
- [Aue *et al.*, 1976b] Aue, W. P., Karhan, J., and Ernst, R. R. (1976b). Homonuclear broad band decoupling and two-dimensional J-resolved NMR spectroscopy. *J Chem Phys*, 64(10) :4226–4227.
- [Barrère *et al.*, 1990] Barrère, B., Peres, M., Gillet, B., Mergui, S., Beloeil, J. C., and Seylaz, J. (1990). 2D COSY 1H NMR : a new tool for studying in situ brain metabolism in the living animal. *FEBS Lett.*, 264(2) :198–202.
- [Bax and Freeman, 1981] Bax, A. and Freeman, R. (1981). Investigation of complex networks of spin-spin coupling by two-dimensional NMR. *Journal of Magnetic Resonance (1969)*, 44(3) :542 – 561.
- [Behar *et al.*, 1994] Behar, K. L., Rothman, D. L., Spencer, D. D., and Petroff, O. A. (1994). Analysis of macromolecule resonances in 1H NMR spectra of human brain. *Magn Reson Med*, 32(3) :294–302.
- [Bloch *et al.*, 1946] Bloch, F., Hansen, W. W., and Packard, M. (1946). The nuclear induction experiment. *Phys. Rev.*, 70 :474–485.

- [Bottomley, 1987] Bottomley, P. A. (1987). Spatial localization in NMR spectroscopy in vivo. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 508 :333–348.
- [Braakman *et al.*, 2008] Braakman, N., Oerther, T., de Groot, H. J. M., and Alia, A. (2008). High resolution localized two-dimensional MR spectroscopy in mouse brain in vivo. *Magn Reson Med*, 60(2) :449–456.
- [Brereton *et al.*, 1994] Brereton, I. M., Galloway, G. J., Rose, S. E., and Doddrell, D. M. (1994). Localized two-dimensional shift correlated spectroscopy in humans at 2 Tesla. *Magn Reson Med*, 32(2) :251–257.
- [Cavassila *et al.*, 2001] Cavassila, S., Deval, S., Huegen, C., van Ormondt, D., and Graveron-Demilly, D. (2001). Cramér-rao bounds : an evaluation tool for quantitation. *NMR Biomed*, 14(4) :278–283.
- [de Beer *et al.*, 1992] de Beer, R., van Ormondt, D., and Pijnappel, W. (1992). Quantification of I-D and 2-D magnetic resonance time domain signals. *Pure Appl. Chem.*, 64(6) :815–823.
- [de Beer *et al.*, 1995] de Beer, R., van Ormondt, D., Wajer, F., Cavassila, S., Graveron-Demilly, D., and Van Huffel, S. (1995). *SVD-Based modelling of medical NMR signals*. Elsevier, Publ.
- [de Graaf *et al.*, 2006] de Graaf, R. A., Brown, P. B., McIntyre, S., Nixon, T. W., Behar, K. L., and Rothman, D. L. (2006). High magnetic field water and metabolite proton T1 and T2 relaxation in rat brain in vivo. *Magn Reson Med*, 56(2) :386–394.
- [Delmas *et al.*, 2001] Delmas, F., Beloeil, J. C., van der Sanden, B. P., Nicolay, K., and Gillet, B. (2001). Two-voxel localization sequence for in vivo two-dimensional homonuclear correlation spectroscopy. *J. Magn. Reson.*, 149(1) :119–125.
- [Dreher and Leibfritz, 1995] Dreher, W. and Leibfritz, D. (1995). On the use of two-dimensional-J NMR measurements for in vivo proton MRS : measurement of homonuclear decoupled spectra without the need for short echo times. *Magn Reson Med*, 34(3) :331–337.
- [Frahm *et al.*, 1989] Frahm, J., Bruhn, H., Gyngell, M. L., Merboldt, K. D., Hänicke, W., and Sauter, R. (1989). Localized high-resolution proton NMR spectroscopy using stimulated echoes : initial applications to human brain in vivo. *Magn Reson Med*, 9(1) :79–93.
- [Frahm *et al.*, 1987] Frahm, J., Merboldt, K.-D., and Hänicke, W. (1987). Localized proton spectroscopy using stimulated echoes. *Journal of Magnetic Resonance (1969)*, 72(3) :502 – 508.

- [Freeman, 1998] Freeman, R. (1998). *Spin choreography : basic steps in high resolution NMR*. Oxford University Press, USA, first edition.
- [Golub and Pereyra, 1973] Golub, G. H. and Pereyra, V. (1973). The differentiation of pseudo-inverses and nonlinear least squares problems whose variables separate. *SIAM Journal on Numerical Analysis*, 10(2) :413–432.
- [Gonenc *et al.*, 2010] Gonenc, A., Govind, V., Sheriff, S., and Maudsley, A. A. (2010). Comparison of spectral fitting methods for overlapping J-coupled metabolite resonances. *Magn Reson Med*, 64(3) :623–628.
- [Govindaraju *et al.*, 2000] Govindaraju, V., Young, K., and Maudsley, A. A. (2000). Proton NMR chemical shifts and coupling constants for brain metabolites. *NMR Biomed*, 13(3) :129–153.
- [Gruetter, 1993] Gruetter, R. (1993). Automatic, localized in vivo adjustment of all first- and second-order shim coils. *Magn Reson Med*, 29(6) :804–811.
- [Hahn, 1950] Hahn, E. L. (1950). Spin echoes. *Phys. Rev.*, 80 :580–594.
- [Henry *et al.*, 2011] Henry, M. E., Lauriat, T. L., Shanahan, M., Renshaw, P. F., and Jensen, J. E. (2011). Accuracy and stability of measuring GABA, glutamate, and glutamine by proton magnetic resonance spectroscopy : a phantom study at 4 Tesla. *J. Magn. Reson.*, 208(2) :210–218.
- [Hiba *et al.*, 2004] Hiba, B., Serduc, R., Provent, P., Farion, R., Rémy, C., and Ziegler, A. (2004). 2D J-resolved spiral spectroscopic imaging at 7 T : application to mobile lipid mapping in a rat glioma. *Magn Reson Med*, 52(3) :658–662.
- [Hong *et al.*, 2011] Hong, S.-T., Balla, D. Z., Shajan, G., Choi, C., Uğurbil, K., and Pohmann, R. (2011). Enhanced neurochemical profile of the rat brain using in vivo 1H NMR spectroscopy at 16.4 T. *Magn Reson Med*, 65(1) :28–34.
- [hyun Kim *et al.*, 2005] hyun Kim, D., Margolis, D., Xing, L., Daniel, B., and Spielman, D. (2005). In vivo prostate magnetic resonance spectroscopic imaging using two-dimensional J-resolved PRESS at 3 T. *Magn Reson Med*, 53(5) :1177–1182.
- [Jensen *et al.*, 2005] Jensen, J. E., Frederick, B. D., Wang, L., Brown, J., and Renshaw, P. F. (2005). Two-dimensional, J-resolved spectroscopic imaging of GABA at 4 Tesla in the human brain. *Magn Reson Med*, 54(4) :783–788.
- [Jensen *et al.*, 2009] Jensen, J. E., Licata, S. C., Ongür, D., Friedman, S. D., Prescott, A. P., Henry, M. E., and Renshaw, P. F. (2009). Quantification of J-resolved proton spectra in two-dimensions with LCMoDel using GAMMA-simulated basis sets at 4 Tesla. *NMR Biomed*, 22(7) :762–769.
- [Kastler, 2006] Kastler, B. (2006). *Comprendre l'IRM*. MASSON.

- [Kim *et al.*, 2007] Kim, D.-H., Henry, R., and Spielman, D. M. (2007). Fast multivoxel two-dimensional spectroscopic imaging at 3 T. *Magn Reson Imaging*, 25(8) :1155–1161.
- [Kreis, 2004] Kreis, R. (2004). Issues of spectral quality in clinical ^1H -magnetic resonance spectroscopy and a gallery of artifacts. *NMR Biomed*, 17(6) :361–381.
- [Kreis and Boesch, 1996] Kreis, R. and Boesch, C. (1996). Spatially localized, one- and two-dimensional NMR spectroscopy and in vivo application to human muscle. *J Magn Reson B*, 113(2) :103–118.
- [Lange *et al.*, 2008] Lange, T., Schulte, R. F., and Boesiger, P. (2008). Quantitative J-resolved prostate spectroscopy using two-dimensional prior-knowledge fitting. *Magn Reson Med*, 59(5) :966–972.
- [Li *et al.*, 2007] Li, Y., Chen, A. P., Crane, J. C., Chang, S. M., Vigneron, D. B., and Nelson, S. J. (2007). Three-dimensional J-resolved ^1H magnetic resonance spectroscopic imaging of volunteers and patients with brain tumors at 3T. *Magn Reson Med*, 58(5) :886–892.
- [Lymer *et al.*, 2007] Lymer, K., Haga, K., Marshall, I., Sailasuta, N., and Wardlaw, J. (2007). Reproducibility of GABA measurements using 2D J-resolved magnetic resonance spectroscopy. *Magn Reson Imaging*, 25(5) :634–640.
- [Macura and Brown, 1983] Macura, S. and Brown, L. R. (1983). Improved sensitivity and resolution in two-dimensional homonuclear J-resolved NMR spectroscopy of macromolecules. *Journal of Magnetic Resonance (1969)*, 53(3) :529 – 535.
- [McKinnon and Bosiger, 1988] McKinnon, G. C. and Bosiger, P. (1988). Localized double-quantum filter and correlation spectroscopy experiments. *Magn Reson Med*, 6(3) :334–343.
- [Meric *et al.*, 2004] Meric, P., Autret, G., Doan, B. T., Gillet, B., Sébrie, C., and Beloeil, J.-C. (2004). In vivo 2D magnetic resonance spectroscopy of small animals. *MAGMA*, 17(3-6) :317–338.
- [Mescher *et al.*, 1998] Mescher, M., Merkle, H., Kirsch, J., Garwood, M., and Gruetter, R. (1998). Simultaneous in vivo spectral editing and water suppression. *NMR Biomed*, 11(6) :266–272.
- [Mlynárik *et al.*, 2008] Mlynárik, V., Cudalbu, C., Xin, L., and Gruetter, R. (2008). ^1H NMR spectroscopy of rat brain in vivo at 14.1 Tesla : improvements in quantification of the neurochemical profile. *J. Magn. Reson.*, 194(2) :163–168.
- [Mlynárik *et al.*, 2006] Mlynárik, V., Gambarota, G., Frenkel, H., and Gruetter, R. (2006). Localized short-echo-time proton MR spectroscopy with full signal-intensity acquisition. *Magn Reson Med*, 56(5) :965–970.

- [Nagarajan *et al.*, 2010] Nagarajan, R., Gomez, A. M., Raman, S. S., Margolis, D. J., McClure, T., and Thomas, M. A. (2010). Correlation of endorectal 2D JPRESS findings with pathological Gleason scores in prostate cancer patients. *NMR Biomed*, 23(3) :257–261.
- [Ordidge *et al.*, 1986] Ordidge, R., Connelly, A., and Lohman, J. (1986). Image-selected in vivo spectroscopy (ISIS). A new technique for spatially selective NMR spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance (1969)*, 66(2) :283 – 294.
- [Oz and Tkáč, 2011] Oz, G. and Tkáč, I. (2011). Short-echo, single-shot, full-intensity proton magnetic resonance spectroscopy for neurochemical profiling at 4 T : validation in the cerebellum and brainstem. *Magn Reson Med*, 65(4) :901–910.
- [Prescot *et al.*, 2009] Prescot, A., Becerra, L., Pendse, G., Tully, S., Jensen, E., Hargreaves, R., Renshaw, P., Burstein, R., and Borsook, D. (2009). Excitatory neurotransmitters in brain regions in interictal migraine patients. *Mol Pain*, 5 :34.
- [Provencher, 1993a] Provencher, S. W. (1993a). Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. *Magn Reson Med*, 30(6) :672–679.
- [Provencher, 1993b] Provencher, S. W. (1993b). *LCModel Manual* (<http://s-provencher.com/pages/lcmodel.shtml>).
- [Ramadan *et al.*, 2011] Ramadan, S., Andronesi, O. C., Stanwell, P., Lin, A. P., Sorensen, A. G., and Mountford, C. E. (2011). Use of in vivo two-dimensional MR spectroscopy to compare the biochemistry of the human brain to that of glioblastoma. *Radiology*, 259(2) :540–549.
- [Ramadan *et al.*, 2010] Ramadan, S., Ratai, E.-M., Wald, L. L., and Mountford, C. E. (2010). In vivo 1D and 2D correlation MR spectroscopy of the soleus muscle at 7T. *J. Magn. Reson.*, 204(1) :91–98.
- [Rance *et al.*, 1983] Rance, M., Soerensen, O. W., Bodenhausen, G., Wagner, G., Ernst, R. R., and Wuethrich, K. (1983). Improved spectral resolution in COSY proton NMR spectra of proteins via double quantum filtering. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 117(2) :479–85.
- [Ratiney *et al.*, 2005] Ratiney, H., Sdika, M., Coenradie, Y., Cavassila, S., van Ormondt, D., and Graveron-Demilly, D. (2005). Time-domain semi-parametric estimation based on a metabolite basis set. *NMR Biomed*, 18(1) :1–13.
- [Ryner *et al.*, 1995a] Ryner, L. N., Sorenson, J. A., and Thomas, M. A. (1995a). 3D localized 2D NMR-spectroscopy on a MRI scanner. *Journal Of Magnetic Resonance Series B*, 107(2) :126–137.

- [Ryner *et al.*, 1995b] Ryner, L. N., Sorenson, J. A., and Thomas, M. A. (1995b). Localized 2D J-resolved 1H MR spectroscopy : strong coupling effects in vitro and in vivo. *Magn Reson Imaging*, 13(6) :853–869.
- [Schulte and Boesiger, 2006] Schulte, R. F. and Boesiger, P. (2006). ProFit : two-dimensional prior-knowledge fitting of J-resolved spectra. *NMR Biomed*, 19(2) :255–263.
- [Schulte *et al.*, 2006] Schulte, R. F., Lange, T., Beck, J., Meier, D., and Boesiger, P. (2006). Improved two-dimensional J-resolved spectroscopy. *NMR Biomed*, 19(2) :264–270.
- [Seeger *et al.*, 2003] Seeger, U., Klose, U., Mader, I., Grodd, W., and Nägele, T. (2003). Parameterized evaluation of macromolecules and lipids in proton MR spectroscopy of brain diseases. *Magn Reson Med*, 49(1) :19–28.
- [Seeger *et al.*, 2001] Seeger, U., Mader, I., Nägele, T., Grodd, W., Lutz, O., and Klose, U. (2001). Reliable detection of macromolecules in single-volume 1H NMR spectra of the human brain. *Magn Reson Med*, 45(6) :948–954.
- [Slotboom *et al.*, 1998] Slotboom, J., Boesch, C., and Kreis, R. (1998). Versatile frequency domain fitting using time domain models and prior knowledge. *Magn Reson Med*, 39(6) :899–911.
- [Smith *et al.*, 1994] Smith, S. A., Levante, T. O., Meier, B. H., and Ernst, R. R. (1994). Computer simulations in magnetic resonance. An object-oriented programming approach. *Journal of Magnetic Resonance, Series A*, 106(1) :75 – 105.
- [Snyder *et al.*, 2010] Snyder, J., Thompson, R. B., and Wilman, A. H. (2010). Difference spectroscopy using PRESS asymmetry : application to glutamate, glutamine, and myo-inositol. *NMR Biomed*, 23(1) :41–47.
- [Snyder and Wilman, 2010] Snyder, J. and Wilman, A. (2010). Field strength dependence of PRESS timings for simultaneous detection of glutamate and glutamine from 1.5 to 7T. *J. Magn. Reson.*, 203(1) :66–72.
- [Terpstra *et al.*, 1998] Terpstra, M., Andersen, P. M., and Gruetter, R. (1998). Localized eddy current compensation using quantitative field mapping. *J Magn Reson*, 131(1) :139–143.
- [Thomas *et al.*, 2001a] Thomas, M. A., Binesh, N., Yue, K., and DeBruhl, N. (2001a). Volume-localized two-dimensional correlated magnetic resonance spectroscopy of human breast cancer. *J Magn Reson Imaging*, 14(2) :181–186.
- [Thomas *et al.*, 2003] Thomas, M. A., Hattori, N., Umeda, M., Sawada, T., and Naruse, S. (2003). Evaluation of two-dimensional L-COSY and JPRESS using

- a 3 T MRI scanner : from phantoms to human brain in vivo. *NMR Biomed*, 16(5) :245–251.
- [Thomas *et al.*, 2008] Thomas, M. A., Lange, T., Velan, S. S., Nagarajan, R., Raman, S., Gomez, A., Margolis, D., Swart, S., Raylman, R. R., Schulte, R. F., and Boesiger, P. (2008). Two-dimensional MR spectroscopy of healthy and cancerous prostates in vivo. *MAGMA*, 21(6) :443–458.
- [Thomas *et al.*, 1996] Thomas, M. A., Ryner, L. N., Mehta, M. P., Turski, P. A., and Sorenson, J. A. (1996). Localized 2D J-resolved 1H MR spectroscopy of human brain tumors in vivo. *J Magn Reson Imaging*, 6(3) :453–459.
- [Thomas *et al.*, 2001b] Thomas, M. A., Yue, K., Binesh, N., Davanzo, P., Kumar, A., Siegel, B., Frye, M., Curran, J., Lufkin, R., Martin, P., and Guze, B. (2001b). Localized two-dimensional shift correlated MR spectroscopy of human brain. *Magn Reson Med*, 46(1) :58–67.
- [Tkác *et al.*, 1999] Tkác, I., Starcuk, Z., Choi, I. Y., and Gruetter, R. (1999). In vivo 1H NMR spectroscopy of rat brain at 1 ms echo time. *Magn Reson Med*, 41(4) :649–656.
- [van der Veen *et al.*, 1988] van der Veen, J. W., de Beer, R., Luyten, P. R., and van Ormondt, D. (1988). Accurate quantification of in vivo ^{31}P NMR signals using the variable projection method and prior knowledge. *Magn Reson Med*, 6(1) :92–98.
- [Vanhamme *et al.*, 1999] Vanhamme, L., Van Huffel, S., Van Hecke, P., and van Ormondt, D. (1999). Time-domain quantification of series of biomedical magnetic resonance spectroscopy signals. *J. Magn. Reson.*, 140(1) :120–130.
- [Welch *et al.*, 2003] Welch, J. W. R., Bhakoo, K., Dixon, R. M., Styles, P., Sibson, N. R., and Blamire, A. M. (2003). In vivo monitoring of rat brain metabolites during vigabatrin treatment using localized 2D-COSY. *NMR Biomed*, 16(1) :47–54.
- [Xin *et al.*, 2008] Xin, L., Gambarota, G., Mlynárik, V., and Gruetter, R. (2008). Proton T2 relaxation time of J-coupled cerebral metabolites in rat brain at 9.4 T. *NMR Biomed*, 21(4) :396–401.
- [Yue *et al.*, 2002] Yue, K., Marumoto, A., Binesh, N., and Thomas, M. A. (2002). 2D JPRESS of human prostates using an endorectal receiver coil. *Magn Reson Med*, 47(6) :1059–1064.
- [Ziegler *et al.*, 2002] Ziegler, A., Gillet, B., Beloeil, J.-C., Macher, J.-P., Décorps, M., and Nédelec, J.-F. (2002). Localized 2D correlation spectroscopy in human brain at 3 T. *MAGMA*, 14(1) :45–49.

[Ziegler *et al.*, 2001] Ziegler, A., von Kienlin, M., Décorps, M., and Rémy, C. (2001). High glycolytic activity in rat glioma demonstrated in vivo by correlation peak 1H magnetic resonance imaging. *Cancer Res.*, 61(14) :5595–5600.

II La spectroscopie RMN 2D ultrarapide

Chapitre 1

La RMN 2D ultrarapide

1.1 Introduction

Avant d'être appliquée *in vivo* à l'aide d'un système d'imagerie par résonance magnétique (IRM), la spectroscopie par RMN est historiquement une technique employée en chimie depuis les années 50. Ainsi, une très grande majorité des développements liés à la spectroscopie ont été réalisés en pratique sur des spectromètres. Ces appareils, qui ont existé avant l'obtention des premières images par IRM en 1973, sont dédiés à l'étude *in vitro* de solutions. La localisation spatiale du signal n'a alors que peu d'intérêt et ces appareils sont généralement dotés d'un unique gradient suivant la dimension z , permettant l'application de gradients de « rephasage ». Ce chapitre présente la technique de spectroscopie RMN 2D ultrarapide, technique qui n'est, à ce jour, utilisée exclusivement que sur des spectromètres haute-résolution.

De nombreuses approches ont été développées pour obtenir le spectre RMN 2D d'une solution placée dans un spectromètre en une durée minimale. Les premières approches ont consisté en des techniques de reconstruction de spectres à partir d'un faible nombre d'échantillons. Ces techniques, dites de prédiction linéaire (LP) [Barkhuijsen *et al.*, 1985] permettent la reconstruction par extrapolation de spectres RMN 2D à partir de données acquises avec un nombre réduit d'incrémentes suivant la dimension t_1 . D'autres techniques similaires basées sur l'entropie ont éga-

lement été développées [Hoch, 1985, Stern *et al.*, 2002]. Ces techniques, qui peuvent être appliquées pour différents types de spectroscopie (COSY, J-résolue, etc.) ont l'inconvénient majeur d'être sensibles au bruit.

Réduire la durée d'acquisition d'un spectre RMN 2D J-résolu peut également être réalisé par le développement ou l'optimisation de séquences. E. Kupče et R. Freeman ont, par exemple, suggéré la spectroscopie Hadamard [Kupce and Freeman, 2003], basée sur une excitation dans le domaine fréquentiel permettant d'obtenir des spectres RMN sans le traitement habituel par transformée de Fourier. En appliquant cette technique en spectroscopie RMN 2D, il est possible d'échantillonner de manière irrégulière l'une des deux dimensions du spectre, permettant ainsi une réduction de la durée d'acquisition [Feliz *et al.*, 2006].

Pour résumer, appliquées à la spectroscopie RMN 2D J-résolue, les approches précédentes permettent de réduire le nombre d'échantillons à acquérir suivant une dimension mais exigent tout de même un certain nombre de répétitions pour acquérir un nombre suffisant d'incrément. Le temps d'acquisition est souvent fortement diminué mais demeure égal à une durée multiple du TR, temps caractéristique qui est souvent long dans le domaine de la spectroscopie RMN haute-résolution. En s'inspirant des techniques d'imagerie ultrarapide telles que l'imagerie écho planar ou EPI¹, l'équipe du Pr. L. Frydman a mis au point en 2002 une méthode dite de « RMN ultrarapide » permettant d'acquérir un spectre RMN complet à deux dimensions en une seule répétition, soit une seule excitation. La durée d'acquisition totale est alors réduite à une fraction de seconde [Frydman *et al.*, 2002].

Ce chapitre présente le principe de la RMN ultrarapide dans le cadre d'études *in vitro* en spectroscopie haute-résolution. Cette étude bibliographique est présentée dans l'optique du développement de la technique ultrarapide J-résolue sur des systèmes IRM pour des applications *in vivo*. Les différents motifs d'excitation proposés dans la littérature sont présentés et leurs performances sont évaluées théoriquement. Une comparaison de ces motifs d'excitation permettant de choisir le motif optimal pour le développement de la spectroscopie RMN 2D J-résolue ultrarapide est présentée. Les différents motifs de détection sont également détaillés et comparés. Enfin, l'étape de reconstruction des spectres RMN 2D à partir de signaux ultrarapides est abordée.

¹Echo Planar Imaging

1.2 Principe général

L'intérêt de la technique ultrarapide réside dans l'utilisation d'une direction spatiale pour coder une dimension spectroscopique. Dans le cas simple d'une excitation ultrarapide discrète, l'échantillon est découpé suivant une direction spatiale en N sous-ensembles qui possèdent chacun une période d'évolution t_1 respective. Une période de mélange peut être ajoutée suivant le type de corrélation que l'on souhaite observer. L'acquisition consiste à lire l'ensemble des signaux émis par les N sous-ensembles pendant une période t_2 (Fig. 1.1). Ces signaux permettent, après reconstruction, d'obtenir un spectre RMN 2D complet.

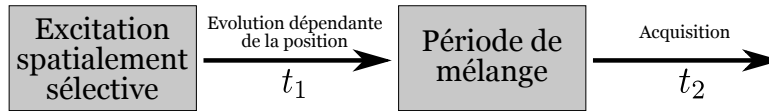


FIG. 1.1: Représentation schématique d'une expérience RMN 2D ultrarapide comprenant les 2 temps d'évolution caractéristiques t_1 et t_2 .

1.3 Excitation ultrarapide

1.3.1 Excitation sélective et encodage spatial discret

L'excitation sélective consiste à encoder de manière discrète une direction spatiale. Cette première technique a été développée par Frydman en 2002 [Frydman *et al.*, 2002]. Elle consiste à appliquer un gradient de champ magnétique dit d'excitation G_e puis à générer successivement une série d'impulsions sélectives. Le gradient induit une variation de la fréquence de résonance sur une plage allant de O_i à O_f suivant la direction z . En appliquant une impulsion de fréquence O_j appartenant à cette même plage, une coupe de l'échantillon est spatialement sélectionnée. Pour compenser le déphasage induit par l'application du gradient G_e , chaque excitation est suivie d'un gradient de rephasage. Ce gradient de rephasage est de signe opposé et de même intensité que le gradient d'excitation (Fig. 1.2).

En répétant ce schéma d'excitation N fois en faisant varier la fréquence de l'impulsion O_j entre O_i et O_f , les sélections spatiales de N coupes de l'échantillon sont réalisées successivement (Fig. 1.3). La durée d'une sélection spatiale est notée Δt . La durée totale de la phase d'excitation est donc de $N \cdot \Delta t$.

A la fin du motif d'excitation, les aimantations de chaque coupe n'ont pas subi la même période d'évolution. Les aimantations de la coupe excitée par la première

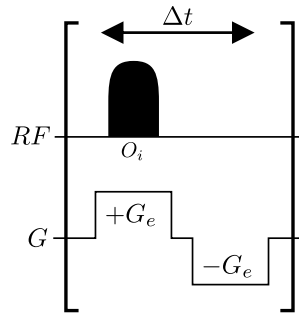


FIG. 1.2: Motif de l'excitation ultrarapide avec encodage spatial discret. Une impulsion RF de fréquence O_i est émise en présence d'un gradient d'excitation noté $+G_e$ puis est suivie d'un gradient $-G_e$ permettant de compenser les déphasages.

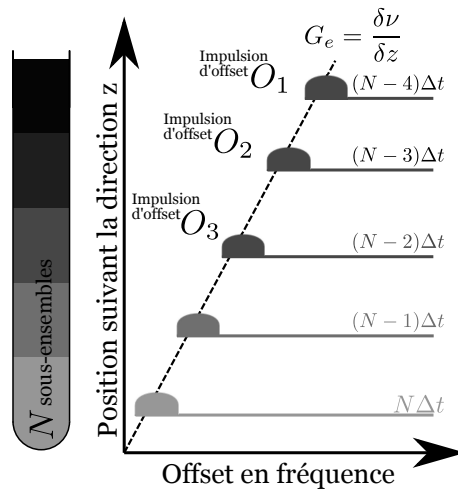


FIG. 1.3: Schéma illustrant l'excitation ultrarapide avec encodage spatial discret. L'incrément de la fréquence O_i avec laquelle est émise l'impulsion à chaque répétition du motif d'excitation va induire l'excitation successive des N sous-ensembles de l'échantillon.

impulsion ont subi une période d'évolution égale à $N \cdot \Delta t$, celles de la coupe suivante ont évolué pendant $(N - 1) \cdot \Delta t$ et enfin la dernière coupe sélectionnée a vu ses aimantations évoluer pendant seulement Δt .

Ce codage temporel dépendant de l'espace induit des différences de temps d'évolution selon les coupes sélectionnées. L'aimantation de chaque coupe est caractérisée par une phase d'évolution $\omega(z)$ dépendant de sa position z dans l'échantillon et de la pulsation $\Omega = 2 \cdot \pi \cdot f$, f étant la fréquence de précession. Cette dépendance est décrite par l'équation (1.1).

$$\omega(z) = C \cdot \Omega \cdot (L_z - z) \quad (1.1)$$

Les termes z et L_z correspondent respectivement à la position dans l'échantillon

et à la longueur suivant la direction z de la zone excitée, Ω étant la pulsation de résonance dans le référentiel tournant. La constante C a été définie par L. Frydman (23) comme étant la dépendance en $\Omega \cdot z$ du déphasage en fin d'excitation et est donnée par l'équation (1.2). Cette constante est ajustable par l'utilisateur via l'intensité des gradients d'excitation G_e et la gamme de fréquence des impulsions ΔO .

$$C = \frac{\Delta t}{\Delta z} = \frac{\Delta t \cdot \gamma \cdot G_e}{\Delta O} \quad (1.2)$$

$\Delta O = |O_{i+1} - O_i|$ et γ est le rapport gyromagnétique du noyau excité. Le déphasage à la fin du motif d'excitation est décrit par l'équation (1.3).

$$\phi(z) = \frac{\Omega \cdot \Delta t \cdot \gamma \cdot G_e}{\Delta O} L - \frac{\Omega \cdot \Delta t \cdot \gamma \cdot G_e}{\Delta O} z \quad (1.3)$$

L'encodage spatial discret présente un certain nombre d'inconvénients [Pelupessy, 2003]. Les impulsions utilisées n'ont jamais un profil d'excitation parfaitement rectangulaire. Pour cette raison, l'encodage spatial ne permet pas d'exciter la totalité de l'échantillon. Des effets d'off-résonance peuvent également affecter les cohérences après leur excitation. Les impulsions sélectives employées peuvent alors induire une dispersion de phase entraînant une perte de linéarité dans l'encodage spatial. Le motif d'excitation consiste en une répétition de gradients d'excitation bipolaire induisant un grand nombre de commutations. Ces commutations répétées peuvent également accroître les imperfections dues à l'inhomogénéité ou à l'asymétrie de ces gradients. Enfin, l'encodage spatial discret consistant en une suite de sélections spatiales, peut nécessiter, selon la sélectivité des coupes souhaitées, des gradients d'excitation intenses pour induire la dispersion en fréquence des aimantations suivant la direction d'encodage.

1.3.2 Excitation continue

Plusieurs motifs d'excitation de type « continue » ont récemment été proposés [Shrot *et al.*, 2004, Tal *et al.*, 2005, Andersen and Köckenberger, 2005, Pelupessy, 2003] et permettent de s'affranchir de la majorité des inconvénients de l'encodage discret (Fig. 1.4, 1.5, 1.6 et 1.7). Ce type d'excitation est basé sur des impulsions à balayage continu en fréquence (dit « chirp » en anglais, en référence au gazouillement des oiseaux) en présence de gradients. Ces dernières remplacent avantageusement la série d'impulsions sélectives et permettant ainsi l'encodage spatial en une seule et unique répétition du motif d'excitation.

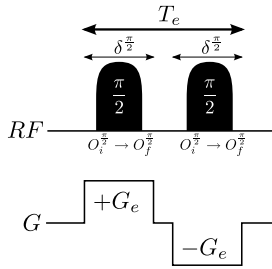


FIG. 1.4: Motif proposé par Y. Shrot.

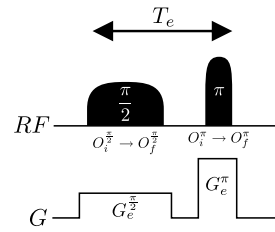


FIG. 1.5: Motif proposé par A. Tal.

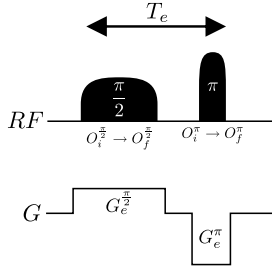


FIG. 1.6: Motif proposé par N.S. Andersen et W. Köckenberger.

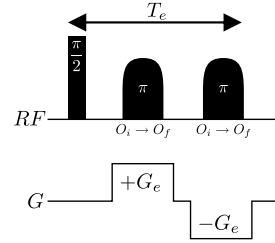


FIG. 1.7: Motif proposé par P. Pelupessy.

Les impulsions à balayage continu en fréquence sont généralement utilisées en tant qu'impulsions adiabatiques. Ce type d'impulsion et la définition de l'adiabaticité sont détaillés dans le paragraphe suivant.

1.3.2.1 Les impulsions radiofréquence adiabatiques

Les impulsions adiabatiques permettent de compenser certaines imperfections des impulsions RF traditionnelles. Elles sont généralement reconnues pour leur faible sensibilité aux inhomogénéités du champ B_1 , la réduction de l'effet off-résonance et leur faible puissance [Hardy *et al.*, 1986, Bendall and Pegg, 1986, Silver *et al.*, 1984a]. Une impulsion adiabatique va induire une variation de l'amplitude du champ RF entre 0 et w_1 et une variation de sa fréquence entre O_i et O_f .

Ainsi, ces impulsions créent un champ efficace $\overrightarrow{B_{eff}}$ permettant de basculer progressivement l'aimantation alors que celle-ci précesse autour de ce champ. Lorsque la vitesse de précession des spins autour de ce champ $|\frac{d\Theta}{dt}|$ est très supérieure à la vitesse de basculement ω_{eff} , la condition d'adiabaticité est respectée et la rotation est alors insensible aux inhomogénéités de $\overrightarrow{B_1}$ et aux effets d'off-résonance. L'équation (1.4) définit l'adiabaticité à l'instant t pour une aimantation à la fréquence Ω . Dans cette expression, $\omega_{eff}(\Omega, t)$ est la vitesse de précession de l'aimantation autour du champ efficace $\overrightarrow{B_{eff}}$ et $|\frac{\partial\Theta}{\partial t}|$ est la vitesse de basculement du champ efficace. Ainsi,

une impulsion est adiabatique si son coefficient K est largement inférieur à 1.

$$K(\Omega, t) = \frac{\omega_{eff}(\Omega, t)}{|\frac{\partial \Omega}{\partial t}|} \quad (1.4)$$

De nombreuses formes d'impulsions adiabatiques ont été proposées permettant des angles de bascule de π (impulsion Adiabatic Full Passage) ou de $\frac{\pi}{2}$ (impulsion Adiabatic Half Passage). Le balayage en fréquence peut être réalisé suivant une fonction tangente ou linéaire. Les impulsions adiabatiques trouvent aujourd'hui de nombreuses applications [Garwood and DelaBarre, 2001], en particulier pour des expériences de découplage large bande en spectroscopie haute-résolution mais aussi en spectroscopie *in vivo* où elles sont appréciées pour leur grande sélectivité, leur faible puissance surtout lorsqu'il s'agit de réaliser une inversion des aimantations [de Graaf and Nicolay, 1997, Boer *et al.*, 2011, Mlynárik *et al.*, 2006, Gruetter *et al.*, 1998].

Le balayage tangentiel en fréquence a par exemple donné naissance aux impulsions de type *sech* [Silver *et al.*, 1984b] largement utilisées dans certaines séquences récentes d'IRM [Norris, 2002]. Le balayage linéaire en fréquence est exploité par certaines impulsions telles que les impulsions WURST (Wideband, Uniform Rate and Smooth Truncation) [Kupce and Freeman, 1995a, Kupce and Freeman, 1995b] dont le nom, qui fait référence au profil en amplitude de l'impulsion, rend hommage à la plus grande spécialité gastronomique allemande (la saucisse).

1.3.2.2 Les impulsions radiofréquence à balayage continu en fréquence

Les impulsions RF à balayage continu en fréquence sont des impulsions dont la fréquence varie au cours du temps. De nombreuses formes d'impulsions RF ont été proposées. Certaines impulsions, en particulier les impulsions 180° , sont similaires à des impulsions adiabatiques, à ceci près que leur coefficient d'adiabaticité n'est pas très élevé et permet simplement d'effectuer efficacement une inversion. Les impulsions 90° nécessitent, quant à elles, un ajustement précis de leur coefficient d'adiabaticité pour réaliser un basculement efficace des aimantations.

Les impulsions RF utilisées dans les motifs d'excitation continue doivent présenter un balayage continu et linéaire en fréquence afin d'encoder régulièrement l'espace. Cette dépendance entre la fréquence ν de l'impulsion et le temps induit une variation quadratique de la phase ($\nu = \frac{\partial \phi}{\partial t}$). De nombreuses impulsions présentent ce type de profil, dont les impulsions *Smoothed Chirp* [Bohlen and Bodenhausen, 1993] (Fig. 1.8) fréquemment utilisées en spectroscopie ultrarapide [Pelupessy, 2003].

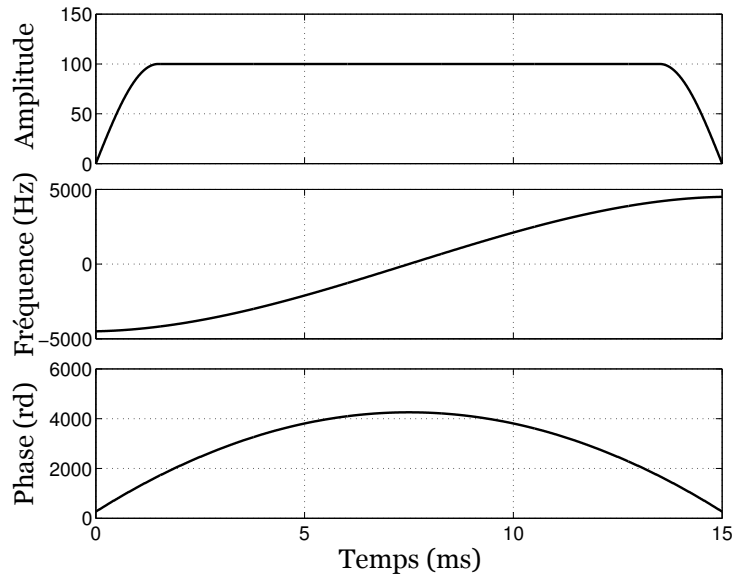


FIG. 1.8: Profil en amplitude, en fréquence et en phase d'une impulsion de type *chirp* avec une bande passante de 9 kHz et une durée de 15 ms. La fréquence présente une variation linéaire suivant le temps alors que la phase varie de façon quadratique.

1.3.2.3 Codage en amplitude : schéma de Y. Shrot

La technique proposée par Y. Shrot (Fig. 1.4) [Shrot *et al.*, 2004] consiste à appliquer une impulsion 90° durant un gradient $+G_e$. De la même façon que lors d'un encodage discret, les aimantations sont basculées à 90° dans le plan transversal à un instant donné, dépendant de leur position z . Toutefois, ce basculement est réalisé de manière continue sur toute la longueur de l'échantillon.

Après l'application de cette première impulsion, les aimantations ont subi un déphasage dépendant de leur position z dans l'échantillon. Cette dépendance possède un terme quadratique (z^2) qui doit être compensé par l'application d'une seconde impulsion identique durant un gradient identique mais de signe opposé ($-G_e$). Y. Shrot a montré que le déphasage à la fin du motif d'excitation est proportionnel à la position z dans l'équation (1.5)

$$\phi(z) = \Omega \cdot \delta \frac{\pi}{2} - 2 \frac{\gamma \cdot G_e^{\frac{\pi}{2}} \cdot \delta \frac{\pi}{2}}{\Delta O} \left[\Omega - \left(\frac{O_f^{\frac{\pi}{2}} + O_i^{\frac{\pi}{2}}}{2} \right) \right] z \quad (1.5)$$

Les termes $O_i^{\frac{\pi}{2}}$ et $O_f^{\frac{\pi}{2}}$ correspondent aux bornes du balayage en fréquence de l'impulsion de durée $\delta \frac{\pi}{2}$. Le terme $G_e^{\frac{\pi}{2}}$ est l'intensité du gradient d'excitation permettant l'encodage spatial. L'équation (1.5) est similaire à l'expression du déphasage à la fin du motif d'excitation discrète (Cf. équation (1.3)). De l'équation (1.5) est

tirée l'expression de la constante d'encodage spatio-temporel C spécifique à ce type d'excitation continue (équation (1.6)). Quant au terme $\left(\frac{O_f^{\frac{\pi}{2}} + O_i^{\frac{\pi}{2}}}{2}\right)$, il représente le centre de la gamme de fréquence balayée par l'impulsion et permet d'ajuster la fenêtre spectrale d'excitation.

$$C = -2 \frac{\gamma \cdot G_e^{\frac{\pi}{2}} \cdot \delta^{\frac{\pi}{2}}}{\Delta O} \quad (1.6)$$

Le codage en amplitude présente l'avantage d'exciter l'ensemble de l'échantillon en une répétition contrairement à l'encodage discret qui réalise une excitation successive de plusieurs sections de l'échantillon. Ainsi, seuls deux gradients successifs sont nécessaires pour réaliser l'encodage spatial. De plus, les gradients d'excitation sont de plus faible intensité que dans le motif d'excitation par encodage discret. Néanmoins, ce schéma d'excitation ne peut pas être directement suivi par le bloc de détection. Il est nécessaire d'ajouter une impulsion 90° non sélective en fin de motif pour basculer l'aimantation dans le plan transversal. Enfin, le codage en amplitude n'est pas adéquat pour le développement de la spectroscopie J-résolue [Tal *et al.*, 2005] qui exige une modulation en phase [Aue *et al.*, 1976]. Deux autres motifs d'excitation exploitant le codage en phase ont donc été proposés.

1.3.2.4 Codage en phase : schéma de A. Tal

Le motif proposé par A. Tal [Tal *et al.*, 2005] est inspiré de l'écho de spin (90° - 180°) et débute, comme pour le motif de Y. Shrot, par une excitation continue 90° (Fig. 1.5). Une impulsion 90° à balayage en fréquence est appliquée en présence d'un premier gradient d'excitation $G_e^{\frac{\pi}{2}}$. La seconde impulsion 180° , appliquée en présence d'un second gradient d'excitation G_e^π permet d'une part de compenser le terme de déphasage quadratique induit lors de la première excitation, et d'autre part, de basculer l'aimantation dans le plan transversal. En fin de motif, le déphasage obtenu est décrit à l'équation (1.7).

$$\begin{aligned} \phi(z) = & \left[-\delta^\pi \left(\frac{\Omega^2}{\gamma \cdot G_e^\pi \cdot L} + \frac{\gamma \cdot G_e^\pi \cdot L}{4} \right) - \frac{\delta^{\frac{\pi}{2}}}{2} \left(\Omega - \frac{\Omega^2}{\gamma \cdot G_e^\pi \cdot L} - \frac{\gamma \cdot G_e^{\frac{\pi}{2}} \cdot L}{4} \right) \right] \\ & + \left[-\frac{\delta^{\frac{\pi}{2}} \cdot \gamma \cdot G_e^{\frac{\pi}{2}}}{2} + (\delta^{\frac{\pi}{2}} - 2 \cdot \delta^\pi) \cdot \frac{\Omega}{L} \right] \cdot z + \gamma \cdot \left[\frac{\delta^{\frac{\pi}{2}} \cdot G_e^{\frac{\pi}{2}} - 2 \cdot \delta^\pi \cdot G_e^\pi}{2 \cdot L} \right] \cdot z^2 \end{aligned} \quad (1.7)$$

Si les durées des impulsions 90° et 180° , respectivement $\delta^{\frac{\pi}{2}}$ et δ^π , et les intensités

des gradients respectifs vérifient l'équation (1.8), le terme en z^2 s'annule et le terme dépendant en z se réduit à l'expression (1.9).

$$\delta^{\frac{\pi}{2}} \cdot G_e^{\frac{\pi}{2}} = 2 \cdot \delta^\pi \cdot G_e^\pi \quad (1.8)$$

$$\phi(z) = \left[-\frac{\delta^{\frac{\pi}{2}} \cdot \gamma \cdot G_e^{\frac{\pi}{2}}}{2} + \frac{\delta^{\frac{\pi}{2}}}{L} \left(1 - \frac{G_e^{\frac{\pi}{2}}}{G_e^\pi} \right) \cdot \Omega \right] \cdot z \quad (1.9)$$

Lorsque la condition $G_e^{\frac{\pi}{2}} = G_e^\pi$ est vérifiée, les effets des déplacements chimiques sont refocalisés et peuvent être détectés lors de l'acquisition, permettant ainsi l'obtention de spectres J-résolus. Ce motif peut être directement suivi de la détection sans ajouter d'impulsion 90° car les aimantations se trouvent déjà dans le plan transversal contrairement au schéma d'excitation proposé par Y. Shrot. L'expression du déphasage en fin de motif (1.9) est entachée de diverses approximations. En conséquence, ce schéma d'excitation nécessite en pratique un ajustement fin des intensités des gradients d'excitation, respectivement $G_e^{\frac{\pi}{2}}$ et G_e^π , pour respecter la condition (1.8) et obtenir des résultats optimaux [Tal *et al.*, 2005].

1.3.2.5 Codage en phase : schéma de A. Tal avec gradient inversé

N.S. Andersen et W. Köckenberger [Andersen and Köckenberger, 2005] ont proposé un motif similaire (Fig. 1.6) à celui présenté par A. Tal [Tal *et al.*, 2005]. La différence repose sur le fait que les deux gradients d'excitation $G_e^{\frac{\pi}{2}}$ et G_e^π sont de signe contraire. Les auteurs ont également suggéré d'inverser le sens de balayage de l'impulsion 180° afin de compenser le déphasage quadratique et de réaliser l'encodage spatial. Toutefois, P. Giraudeau a démontré analytiquement que le déphasage induit par ce motif d'excitation comporte un terme quadratique impossible à annuler en pratique [Giraudeau, 2008]. Il propose de conserver un sens identique pour le balayage en fréquence des impulsions. Ainsi, l'expression du déphasage induit par le motif d'excitation est décrit par l'équation (1.10).

$$\begin{aligned} \phi(z) = & \left[-\delta^\pi \left(\frac{\Omega^2}{\gamma \cdot G_e^\pi \cdot L} + \frac{\gamma \cdot G_e^\pi \cdot L}{4} \right) - \frac{\delta^{\frac{\pi}{2}}}{2} \left(\Omega - \frac{\Omega^2}{\gamma \cdot G_e^\pi \cdot L} - \frac{\gamma \cdot G_e^{\frac{\pi}{2}} \cdot L}{4} \right) \right] + \\ & \left[-\frac{\delta^{\frac{\pi}{2}} \cdot \gamma \cdot G_e^{\frac{\pi}{2}}}{2} + (\delta^{\frac{\pi}{2}} + 2 \cdot \delta^\pi) \cdot \frac{\Omega}{L} \right] \cdot z + \gamma \cdot \left[\frac{\delta^{\frac{\pi}{2}} \cdot G_e^{\frac{\pi}{2}} - 2 \cdot \delta^\pi \cdot G_e^\pi}{2 \cdot L} \right] \cdot z^2 \end{aligned} \quad (1.10)$$

L'équation (1.10) comporte un terme en z^2 identique à celui obtenu pour le

motif d'excitation proposé par A. Tal. De la même façon, lorsque la condition (1.8) est respectée, ce terme est annulé et l'expression du déphasage induit par le motif d'excitation est simplifié (1.11). L'expression obtenue est similaire à l'équation (1.9). Toutefois, ce motif permet de réaliser l'excitation ultrarapide avec une constante d'encodage spatio-temporel C différente.

$$\phi(z) = \left[-\frac{\delta^{\frac{\pi}{2}} \cdot \gamma \cdot G_e^{\frac{\pi}{2}}}{2} + \frac{\delta^{\frac{\pi}{2}}}{L} \left(1 + \frac{G_e^{\frac{\pi}{2}}}{G_e^{\pi}} \right) \cdot \Omega \right] \cdot z \quad (1.11)$$

1.3.2.6 Codage en phase : schéma de P. Pelupessy

Le schéma d'excitation proposé par P. Pelupessy [Pelupessy, 2003] (Fig. 1.7) est basé sur le motif de double écho de spin ($90^\circ - 180^\circ - 180^\circ$) également employé dans la séquence PRESS (Cf. §1.3.2.2). Une première impulsion 90° non sélective va tout d'abord basculer l'aimantation dans le plan transversal. Une seconde impulsion 180° à balayage en fréquence est ensuite appliquée en présence d'un gradient d'excitation $+G_e^\pi$ pendant une durée δ^π . Cette première impulsion, balayant une gamme de fréquence ΔO , va induire un déphasage décrit dans l'équation (1.12).

$$\phi(z) = \frac{(\Omega + \gamma \cdot G_e^\pi \cdot z)^2 \cdot \delta^\pi}{\Delta O} \quad (1.12)$$

Le terme quadratique de l'équation (1.12) peut être annulé en appliquant une troisième impulsion identique à la première en présence d'un gradient d'excitation $-G_e^\pi$. L'expression finale du déphasage en fin de motif (1.13) ne comporte qu'un terme dépendant de z .

$$\phi(z) = \frac{4 \cdot \delta^\pi \cdot \Omega \cdot \gamma \cdot G_e^\pi \cdot z}{\Delta O} = \frac{4 \cdot \delta^\pi}{L} \cdot \Omega \cdot z \quad (1.13)$$

Ce motif d'excitation a l'avantage d'être simple à mettre en œuvre. En effet, ce dernier ne nécessite pas l'ajout d'impulsion ou de gradient de déphasage avant la détection, ou encore l'ajustement d'intensité de gradients comme dans le cas de certains motifs précédemment évoqués.

1.3.3 Compensation des termes non quadratiques

Les équations des déphasages comportent parfois un terme de phase indépendant de z . Ce terme se traduit par une distorsion de phase du premier ordre des signaux

acquis. Ce déphasage est corrigé par post-traitement en calculant le module des signaux ultrarapides.

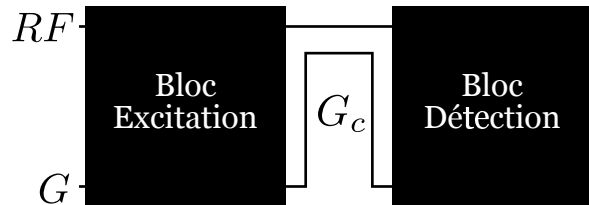


FIG. 1.9: Gradient de « purge » placé entre le bloc d'excitation et de détection.

De la même manière, ces équations comportent parfois un terme dépendant uniquement de z qui se traduit par un décalage de la fenêtre spectrale lors de la détection. Pour compenser ce déphasage et parce que les calculs menant à ces équations ont fait l'objet d'approximations conduisant à des termes de phase imprévus, il est utile d'ajouter un gradient G_c de déphasage dit « spoiler » ou « gradient de purge » avant la détection (Fig. 1.9). Ce gradient joue également un rôle dans l'ajustement de la position des échos ultrarapides dans la fenêtre de détection.

1.3.4 Comparaison des schémas d'excitation

1.3.4.1 Comparaison théorique

Selon le type d'encodage spatial, les schémas présentés précédemment ne permettent pas tous d'obtenir un spectre RMN J-résolu. Dans l'optique de réaliser une séquence de spectroscopie RMN 2D J-résolue ultrarapide localisée, la comparaison sera donc limitée au schéma original de A. Tal, à sa version avec le second gradient inversé, et au schéma proposé par P. Pelupessy.

Les schémas d'excitation présentés précédemment induisent tous un déphasage comportant un terme en $\Omega \cdot z$. Ce terme, noté C , a un impact sur l'encodage spatial et peut être directement relié à la résolution spectrale des signaux ultrarapides. P. Giraudeau a montré que la largeur à mi-hauteur $\delta\nu^{\frac{1}{2}}$ des pics selon la dimension ultrarapide est inversement proportionnelle à la constante C [Giraudeau and Akoka, 2008], comme décrit par l'équation (1.14). La meilleure résolution est obtenue pour une valeur maximale de C . Cette constante constitue un premier élément de comparaison théorique entre les différents motifs d'excitation.

$$\delta\nu^{\frac{1}{2}} \approx \frac{1,21}{L \cdot C} \quad (1.14)$$

Schéma d'excitation	T_e	C
A. Tal	$\frac{\delta\pi/2}{2} + \delta\pi$	$\frac{2 \cdot T_e}{L} \cdot \frac{1 - G_e^{\pi/2}/G_e^\pi}{1 + G_e^{\pi/2}/G_e^\pi}$
A. Tal avec G_e inversé	$\frac{\delta\pi/2}{2} + \delta\pi$	$\frac{2 \cdot T_e}{L}$
P. Pelupessy	$2 \cdot \delta\pi$	$\frac{2 \cdot T_e}{L}$

TAB. 1.1: Expressions analytiques du temps moyen T_e passé par les aimantations dans le plan transversal et de la constante de codage C pour différents schémas d'excitation continue.

Le deuxième critère de comparaison est lié à la durée du motif d'excitation qui a un impact direct sur l'intensité du signal. En effet, lors de l'étape d'excitation, la relaxation transversale entraîne une perte de signal qui dépend des temps de relaxation et du temps passé par les aimantations dans le plan transversal. Ce temps diffère d'un schéma d'excitation à l'autre. Ainsi, dans le schéma de P. Pelupessy, cette durée est indépendante de z et est égale à la durée du motif d'excitation, car toutes les aimantations sont basculées dans le plan transversal au même moment par l'impulsion 90° initiale. Dans les autres schémas, le temps passé dans le plan xy dépend de la position z , les différentes parties de l'échantillon étant excitées à des instants différents. Afin de comparer les différents schémas dans des conditions similaires, P. Giraudeau a proposé de définir le temps moyen passé par les aimantations dans le plan transversal [Giraudeau, 2008], noté T_e . Les différents schémas devront être comparés à T_e identique pour s'assurer qu'ils ont bien la même dépendance envers la relaxation transversale. Les expressions analytiques de la constante de codage C et de la durée T_e sont données pour chacun des quatre motifs d'excitation ultrarapide dans le tableau 1.1.

Le tableau 1.1 montre que la constante C est maximale pour les motifs d'excitation proposés par P. Pelupessy et A. Tal avec inversion du second gradient. Ces deux motifs permettent donc théoriquement d'obtenir la meilleure résolution. Le schéma original proposé par A. Tal souffre d'une plus faible résolution due au terme $\frac{1 - G_e^{\pi/2}/G_e^\pi}{1 + G_e^{\pi/2}/G_e^\pi}$, rapport des gradients d'excitation qui pondère la valeur de C . Ce terme peut être négligé si $G_e^\pi \gg G_e^{\pi/2}$. Or, pour respecter la condition (1.8), il est

alors nécessaire de réduire fortement la durée du gradient G_e^T et donc de l'impulsion 180° . Cette impulsion 180° à balayage en fréquence doit toutefois conserver une certaine durée pour être adiabatique et réaliser une refocalisation efficace [Hardy *et al.*, 1986]. Pour ces raisons, le schéma original proposé par A. Tal n'est pas optimal pour l'obtention de spectres RMN 2D J-résolus.

Pour résumer, les schémas d'excitation continue proposés par P. Pelupessy et A. Tal (avec inversion du second gradient) permettent d'obtenir théoriquement les meilleurs résultats en terme de résolution spectrale.

1.3.4.2 Comparaison expérimentale

Pour confirmer les résultats théoriques évoqués dans le paragraphe précédent, P. Giraudeau a vérifié expérimentalement leurs performances en terme de RSB et de résolution [Giraudeau, 2008]. En pratique, les trois schémas d'excitation ont été testés pour une durée T_e courte (30 ms) pour limiter le phénomène de relaxation et en appliquant des gradients d'excitation de même intensité pour encoder spatialement la même longueur d'échantillon. Le motif de détection (Cf. §1.4.2) et la procédure de reconstruction des données étaient également identiques dans les trois cas.

Les résultats expérimentaux obtenus ont confirmé les résultats théoriques présentés précédemment. Les schémas d'excitation proposés par P. Pelupessy et A. Tal (avec inversion du second gradient) permettent d'obtenir la meilleure résolution. Toutefois, le schéma proposé par P. Pelupessy est plus performant en terme de RSB, surtout pour une durée d'excitation T_e longue. Cet écart peut s'expliquer par le fait que la durée T_e calculée pour le schéma de A. Tal (avec inversion du second gradient) est une approximation. De plus, ce schéma d'excitation est en pratique difficile à mettre en œuvre. Les intensités de l'impulsion 90° et du gradient d'excitation doivent être ajustées avec précision pour obtenir une résolution acceptable.

Le schéma d'excitation proposé par P. Pelupessy permet d'obtenir le meilleur RSB et la meilleure résolution par rapport aux autres schémas disponibles dans la littérature. Il est également le plus simple à mettre en œuvre. Pour ces raisons, ce schéma d'excitation constitue un bon point de départ pour le développement du bloc d'excitation de la séquence de spectroscopie RMN 2D J-résolue ultrarapide localisée développée au chapitre 2.

1.4 Détection des signaux spectroscopiques ultrarapides

La spectroscopie RMN 2D ultrarapide tire son nom de la très courte durée d'acquisition nécessaire à l'obtention d'un spectre RMN 2D complet. Cette avancée n'a été possible qu'avec l'emploi de motifs de détection permettant l'échantillonnage 2D du plan spectroscopique ultrarapide en une seule répétition. Ces techniques de détection, détaillées par la suite, permettent la réduction de la durée d'acquisition de plusieurs ordres de grandeurs. Ainsi, alors que la spectroscopie RMN 2D conventionnelle haute-résolution exige des durées d'acquisition de plusieurs minutes, une acquisition en spectroscopie RMN 2D ultrarapide peut être réalisée en moins d'une seconde.

1.4.1 La technique d'imagerie Echo Planar

1.4.1.1 Principe

La phase d'excitation ultrarapide, quel que soit le motif employé, est suivi de la phase de détection qui permet l'acquisition des signaux. Un gradient de purge peut éventuellement être placé entre les deux phases (Cf. §1.3.3). Les motifs de détection évoqués dans la littérature traitant de spectroscopie RMN 2D ultrarapide sont similaires aux motifs utilisés dans la séquence d'imagerie écho planar ou EPI développée par P. Mansfield (Fig. 1.10). Cette technique, également employée dans les séquences d'imagerie spectroscopique, est la méthode d'acquisition la plus rapide en IRM.



FIG. 1.10: Sir Peter Mansfield, avec une mine épanouie, pose à l'entrée d'un aimant IRM.

Dans le cadre d'une acquisition de signaux spectroscopiques, la détection de type EPI consiste en une acquisition continue ou quasi-continue d'un train d'échos de gradient, pour acquérir l'espace spectroscopique 2D dans sa totalité. Pour constituer le train continu d'échos de gradient, un gradient de lecture est appliqué en permanence, avec des alternances positives et négatives. L'espace spectroscopique est balayé en « zigzag » de gauche à droite. Ce type de motif exige des gradients performants, intenses (pour lire rapidement le signal), avec des temps de montée courts (car les commutations de gradients sont fréquentes).

Acquisition de la dimension ultrarapide

En fin de motif d'excitation, l'aimantation est caractérisée par une phase d'évolution $\phi(z)$ dépendant de la position z dans l'espace et du motif d'excitation employé. Le motif de détection EPI débute par un premier gradient de lecture ou d'acquisition noté G_a , actif pendant une durée T_a . Ce gradient génère la formation d'un écho de gradient lorsque le déphasage induit par le gradient $\phi_a = k \cdot z$ compense exactement le déphasage des aimantations $\phi = C \cdot \Omega \cdot z$ induit par le motif d'excitation (Fig. 1.11). Le nombre d'onde k dépend du gradient G_a (1.15) et décrit la position de l'écho dans la dimension ultrarapide.

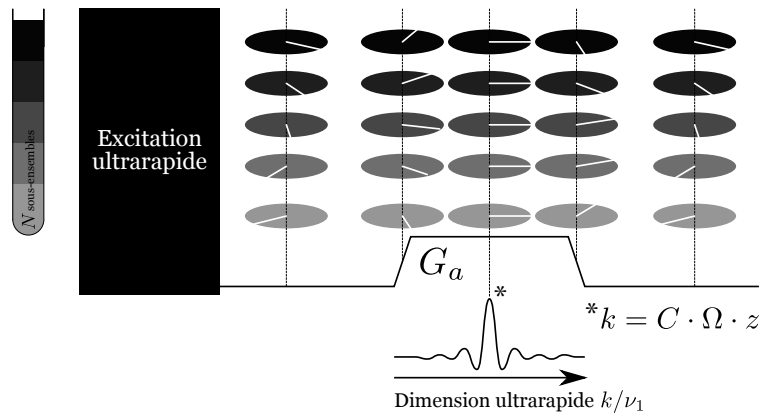


FIG. 1.11: Principe de l'acquisition suivant la dimension ultrarapide avec un schéma de détection EPI. Les déphasages induits par le motif d'excitation sont compensés par le gradient d'acquisition G_a et un écho se forme pour $k = C \cdot \Omega \cdot z$.

$$k = \gamma \cdot \int_0^t G_a(t) \cdot dt \quad (1.15)$$

Ainsi, en présence du gradient G_a , un écho se forme à la durée τ_a si la condi-

tion (1.16) est respectée.

$$\gamma \cdot G_a \cdot \tau_a \cdot z = C \cdot \Omega \cdot z \quad (1.16)$$

La position temporelle de l'écho τ_a est déduite de l'équation (1.17) et de la durée séparant deux échos (1.18) ayant des pulsations séparées de $\Delta\Omega = 2 \cdot \pi \cdot \Delta\nu$.

$$\tau_a = \frac{C \cdot \Omega}{\gamma \cdot G_a} \quad (1.17)$$

$$\Delta\tau_a = \frac{C}{\gamma \cdot G_a} \cdot 2 \cdot \pi \cdot \Delta\nu \quad (1.18)$$

Pour résumer, la présence du gradient d'acquisition G_a va induire, selon l'espèce chimique observée, la création de multiples échos à différentes positions formant directement un spectre RMN 1D, sans avoir à appliquer une transformée de Fourier. Ce signal est acquis et correspond à la première dimension k/ν_1 , dite « ultrarapide », du spectre RMN 2D final. Le nombre de points acquis suivant cette dimension est noté N_1 .

Acquisition de la dimension conventionnelle

Le paragraphe précédent a décrit la formation du signal ultrarapide en présence d'un gradient d'acquisition G_a . La détection EPI consiste à répéter ce phénomène en alternant régulièrement et rapidement le signe du gradient. A chaque nouvelle application du gradient $\pm G_a$, le signal est collecté formant ainsi la seconde dimension t_2 du spectre RMN 2D. Pour résumer, le signal 2D obtenu dépend à la fois de la position z des aimantations dans l'espace et des fréquences d'évolution suivant t_2 , ce qui correspond à une phase d'évolution de la forme $\phi = k \cdot z + t_2 \cdot \nu_2$.

A l'inverse de la dimension ultrarapide, l'acquisition suivant cette dimension est conventionnelle : il s'agit d'un échantillonnage régulier du signal 2D suivant la dimension t_2 , dite dimension conventionnelle. Le nombre de points suivant cette dimension est noté N_2 .

Dans le cas d'un schéma EPI classique, sans gradients de type « blip », l'acquisition du signal 2D s'effectue suivant une trajectoire en « zigzag » dans le plan spectroscopique ultrarapide $(k/\nu_1, t_2)$ (Fig. 1.12). Cette trajectoire inhabituelle peut provoquer des artefacts lors de la reconstruction du spectre RMN 2D ultrarapide. Pour atténuer ces artefacts, une fréquence d'échantillonnage élevée suivant la dimension t_2 doit être préférée.

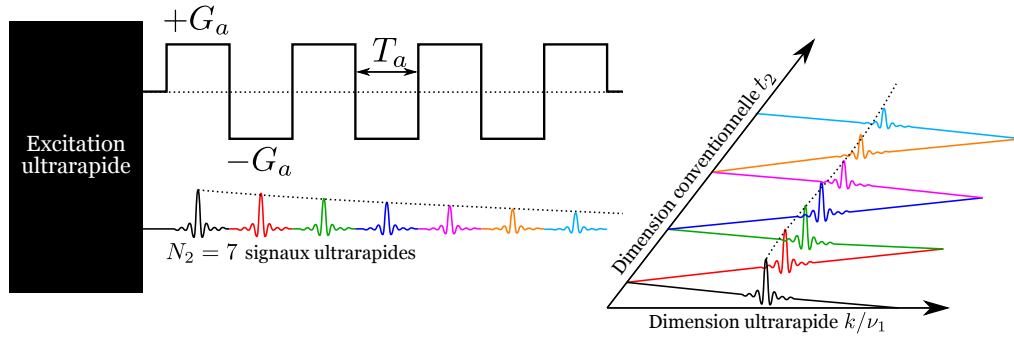


FIG. 1.12: Principe de l'acquisition suivant la dimension conventionnelle. En alternant rapidement le signe du gradient G_a durant l'acquisition, le plan spectroscopique ultrarapide $(k/\nu_1, t_2)$ est échantillonné avec une période T_a .

1.4.1.2 Largeurs spectrales

Il existe une relation reliant la résolution spectrale et les caractéristiques du schéma d'excitation employé (Eq. 1.14). Concernant les largeurs spectrales du spectre RMN 2D, elles dépendent à la fois des paramètres d'excitation mais également des paramètres de détection.

Largeur spectrale suivant la dimension ultrarapide

Lors de l'acquisition, le gradient de lecture G_a est appliqué pendant une durée T_a . En présence du gradient de lecture, le nombre d'onde k (1.15) évolue pour atteindre une valeur maximale $k_{max} = \gamma \cdot G_a \cdot T_a$ lorsque le gradient s'annule. La largeur spectrale suivant la dimension k/ν_1 est donnée par l'équation (1.19) [Frydman *et al.*, 2003].

$$SW_1 = \frac{k_{max}}{C} \quad (1.19)$$

Dans le cadre d'une excitation avec le motif proposé par P. Pelupessy, l'expression finale (1.20) de la largeur spectrale suivant la dimension ultrarapide dépend du gradient de lecture G_a mais également de la durée d'excitation T_e . Plus la durée d'excitation T_e est grande, moins la bande spectrale est large.

$$SW_1 = \frac{\gamma \cdot G_a \cdot T_a \cdot L}{2 \cdot T_e} \quad (1.20)$$

Autrement dit, la largeur spectrale à l'excitation est conditionnée par la durée d'excitation T_e et la zone spatiale excitée L (dans le cas où $\Delta O = \gamma \cdot G_e \cdot L$)

alors que la largeur spectrale à l'acquisition est contrôlée par l'intensité G_a et la durée T_a du gradient de lecture. Comme dans le cas de séquences de spectroscopie conventionnelle, la largeur spectrale d'excitation doit être supérieure à la largeur spectrale à l'acquisition de façon à acquérir les signaux utiles et à éviter les effets de bords.

Largeur spectrale suivant la dimension conventionnelle

Comme évoqué dans le paragraphe précédent, la dimension conventionnelle est échantillonnée régulièrement avec une certaine fréquence d'échantillonnage, correspondant à la largeur spectrale dans cette dimension après reconstruction du spectre. A chaque application du gradient de lecture G_a , une ligne de l'espace spectroscopique est acquise pendant une durée T_a (durée du gradient). L'étape de reconstruction décrite au paragraphe 1.5 impose une séparation des données en signaux « pairs » et « impairs ». Au final, chaque point dans la dimension conventionnelle t_2 n'est plus séparé de la durée T_a mais du double $2 \cdot T_a$. La largeur spectrale est donc simplement l'inverse de cette durée, comme décrit par l'équation (1.21).

$$SW_2 = \frac{1}{2 \cdot T_a} \quad (1.21)$$

1.4.1.3 Limitations

Le terme de spectroscopie « ultrarapide » a pour origine l'emploi de la technique EPI pour la détection. Cette technique permet une acquisition du signal spectroscopique 2D extrêmement rapide souvent avec une durée inférieure à la seconde. Néanmoins, cette technique souffre d'une faible largeur spectrale suivant la dimension conventionnelle t_2 qui démontre son incompatibilité avec la spectroscopie 2D J-résolue. Cette incompatibilité est expliquée dans les deux paragraphes suivants.

Largeur spectrale suivant la dimension conventionnelle

Suivant la dimension conventionnelle, la largeur spectrale est limitée par la durée T_a du gradient de lecture (Cf. équation (1.21)). La largeur spectrale maximale sera obtenue pour une durée T_a minimale. Cette durée minimale T_a correspond à la montée suivie directement de la descente du gradient. Alors que sur un spectromètre, cette durée peut être largement inférieure à la milliseconde, elle est souvent de l'ordre de plusieurs millisecondes dans le cas d'un IRM, surtout lorsqu'il s'agit de réaliser

une acquisition en présence du gradient. Ainsi, la bande de fréquence à l'acquisition suivant la dimension conventionnelle t_2 peut être, suivant les cas, limitée à quelques centaines de Hertz. La bande de fréquence suivant la dimension ultrarapide k/ν_1 est, quant à elle, peu limitée par les paramètres de la séquence et permet des largeurs spectrales de plusieurs milliers de Hertz.

Déplacements chimiques encodés suivant la dimension conventionnelle

L'emploi du schéma de détection EPI permet l'acquisition d'un spectre RMN 2D en une très courte durée. Dans le cas de l'emploi du motif proposé par P. Pelupessy, le spectre obtenu sera J-résolu et l'expression des déplacements chimiques se fera suivant la dimension conventionnelle t_2 alors que l'expression des couplages J se fera suivant la dimension ultrarapide k/ν_1 (Fig. 1.13). L'expression des déplacements chimiques occupe à l'acquisition une bande de fréquence de quelques milliers de Hertz alors que l'expression des couplages J occupe seulement quelques dizaines de Hertz. Pour cette raison et pour celle évoquée dans le paragraphe précédent, il sera donc, dans certains cas, impossible d'observer l'ensemble des pics d'intérêts dans la dimension conventionnelle, ce qui se traduira par la disparition ou le repliement de certaines fréquences d'intérêt.

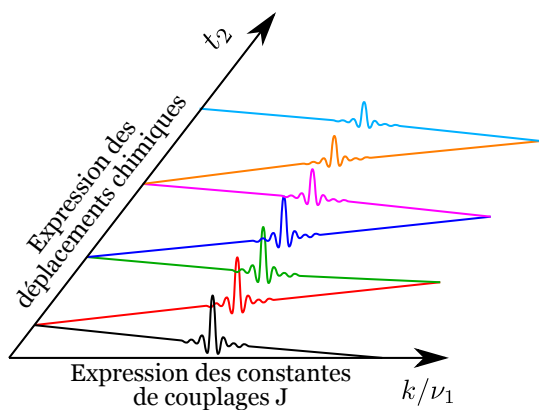


FIG. 1.13: Représentation schématique du remplissage du plan spectroscopique ultrarapide avec le schéma de détection EPI original. Les déplacements chimiques s'expriment suivant la dimension conventionnelle alors que les constantes de couplage J sont observables suivant la dimension ultrarapide.

1.4.2 Détection de type EPI modifié : schéma de P. Giraudeau

1.4.2.1 Principe

En 2007, P. Giraudeau a développé un nouveau schéma de détection [Giraudeau and Akoka, 2007] en s'inspirant du schéma de détection EPI utilisé jusqu'alors pour l'acquisition des signaux ultrarapides le plus souvent dans le cas de spectroscopie COSY. Ce schéma de détection EPI modifié peut être couplé avec les schémas d'excitation permettant un codage en phase. Le principe de l'acquisition reste le même et les considérations en terme de largeur spectrale sont identiques (Cf. §1.4.1.2), seules la séquence d'impulsions et les dimensions spectroscopiques lors de l'acquisition changent.

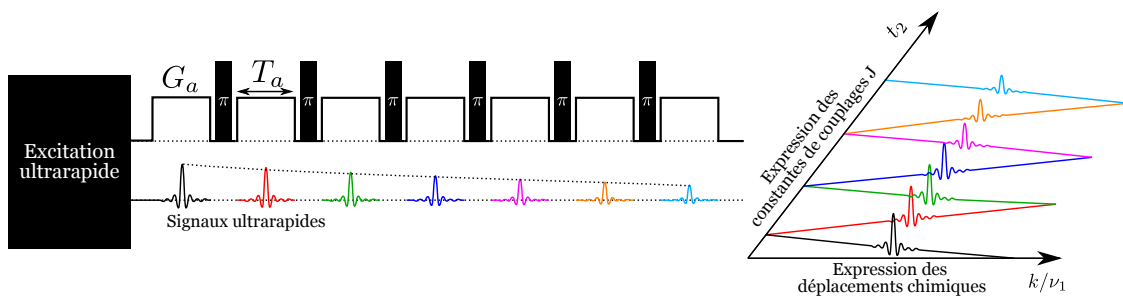


FIG. 1.14: Représentation schématique du remplissage du plan spectroscopique ultrarapide avec le schéma de détection EPI modifié par P. Giraudeau. Une impulsion 180° est placée entre chaque gradient d'acquisition G_a permettant aux déplacements chimiques d'être observables suivant la dimension ultrarapide et aux constantes de couplage J de s'exprimer suivant la dimension conventionnelle.

Le motif permettant la détection consiste en un gradient de lecture G_a , qui a le même rôle dans le motif EPI original, suivi d'une impulsion 180° non-sélective. Cette impulsion, présente entre les gradients de lecture, permet de refocaliser régulièrement l'effet des déplacements chimiques sans affecter les couplages. Cette impulsion provoque également une inversion et il n'est donc plus nécessaire d'alterner le signe du gradient d'acquisition G_a . Par conséquent, en combinant ce motif de détection avec le schéma d'excitation de P. Pelupessy, le spectre 2D J -résolu obtenu sera comme transposé : les déplacements chimiques apparaîtront dans la dimension ultrarapide k/ν_1 alors que seules les constantes de couplages J seront exprimées dans la dimension conventionnelle t_2 [Giraudeau, 2008].

1.4.2.2 Limitations

Comparé au motif EPI original, ce motif présente un inconvénient mineur. Dans le cas d'une détection avec le motif EPI original, l'acquisition est ininterrompue et le CAN² demeure donc actif pendant l'alternance du gradient de lecture ce qui facilite grandement la programmation du bloc de détection.

A l'inverse, et plus particulièrement dans le cas de l'implémentation du motif EPI proposé par P. Giraudeau sur un système IRM, le CAN ne peut pas resté actif pendant toute la durée de la détection au risque de détériorer l'antenne de réception. En effet, ce motif contient une impulsion 180° qui rend impossible toute acquisition durant son émission. Dans le cas de l'emploi d'une antenne double canaux et de deux antennes respectivement pour l'émission et la réception, des dommages matériels pourraient être causés sur le canal de réception car le découplage qui habituellement le protège n'est pas actif pendant une acquisition. A chaque répétition du motif, il est donc nécessaire d'activer et de désactiver le CAN pour réaliser l'acquisition, ajoutant ainsi de petits délais de pré-acquisition qui viennent limiter la durée T_a minimale.

1.5 Reconstruction du spectre RMN 2D J-résolu

Lors de l'acquisition, le plan spectroscopique $(k/\nu_1, t_2)$ est balayé en « zigzag ». Dans le cas d'une détection avec le motif proposé par P. Giraudeau, chaque ligne acquise dans le plan fera l'objet de l'acquisition d'un signal temporel pendant une durée T_a . Chacun de ces signaux est ensuite stocké en mémoire pour former une matrice 2D des points acquis. Ce signal 2D ne représente pas le spectre RMN 2D et nécessite un traitement ou « post-processing ».

1.5.1 Signaux pairs et impairs

Selon l'ordre avec lequel les signaux ultrarapides sont acquis, ces derniers sont qualifiés de signaux « pairs » ou « impairs ». Les signaux pairs correspondent à une trajectoire de sens inverse à celle des signaux impairs dans le plan spectroscopique $(k/\nu_1, t_2)$. Autrement dit, pour obtenir un signal pair, le plan a été balayé de gauche à droite alors que le signal impair a été obtenu en balayant le plan de droite à gauche. Par conséquent, les signaux impairs sont inversés suivant l'axe temporel par rapport

²Convertisseur Analogique-Numérique

aux signaux pairs. Pour y remédier, la reconstruction du spectre RMN 2D consiste dans un premier temps, à inverser l'ordre des points dans la dimension ultrarapide des signaux pairs ou impairs (Fig. 1.15).

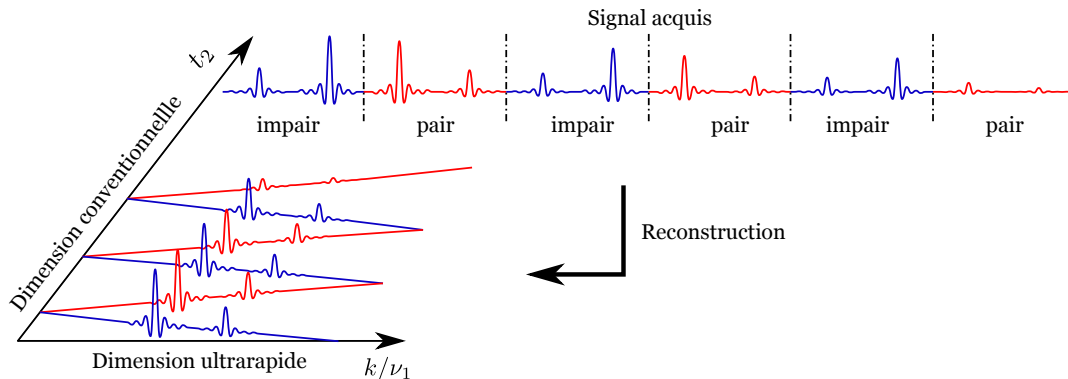


FIG. 1.15: Lors de la reconstruction du spectre RMN 2D ultrarapide, les signaux pairs et impairs acquis sont réorganisés dans un vecteur 2D correspondant au plan spectroscopique $(k/\nu_1, t_2)$.

1.5.2 Séparation des données

Il est indispensable de séparer les signaux pairs des signaux impairs lors de la reconstruction du spectre RMN 2D. En effet, les données obtenues à l'étape précédente, bien que remises dans l'ordre, ne sont pas échantillonnées régulièrement suivant la dimension conventionnelle t_2 (Fig. 1.15). Cet échantillonnage irrégulier s'explique par le remplissage non cartésien (en « zigzag ») du plan spectroscopique. Une solution consiste à séparer les données paires des données impaires de façon à obtenir deux jeux de données théoriquement échantillonnés de façon identique (Fig. 1.16). Par la suite, ces deux signaux 2D obtenus sont traités séparément pour être finalement sommés pour augmenter le RSB.

Contrairement à l'imagerie par EPI, la RMN ultrarapide a, jusqu'à présent, suscité peu de travaux concernant la reconstruction des spectres RMN 2D ultrarapides. Toutefois, M. Mishkovsky [Mishkovsky and Frydman, 2005] propose l'emploi de la transformée de Fourier « entrelacée » [Bracewell, 1986] permettant de gérer l'entrelacement des signaux pairs et impairs.

1.5.3 Forme de raie et apodisation spatiale

Les pics présents sur un spectre RMN ultrarapide ont une forme de raie particulière du fait de la nature de l'excitation ultrarapide. Un pic ultrarapide, qui est

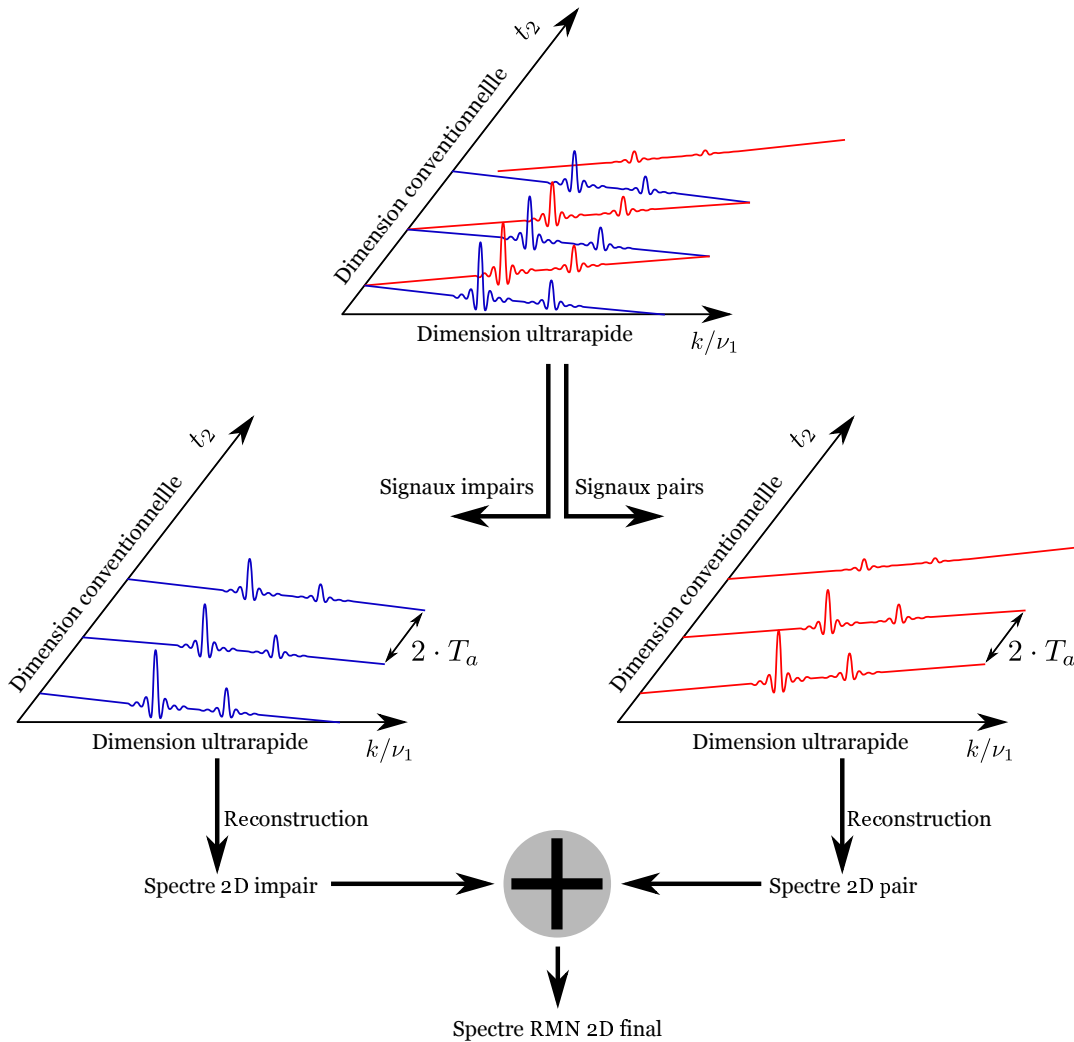


FIG. 1.16: Schéma illustrant le traitement séparé des données paires et impaires. Les signaux pairs et impairs sont respectivement reconstruits en deux spectres RMN 2D distincts pair et impair, qui sont ensuite sommés afin d'obtenir le spectre RMN 2D ultrarapide final.

en réalité un écho, est caractérisé par une raie accompagnée de lobes latéraux asymétriques de type *sinc*. Cette forme de raie, spécifique à la RMN ultrarapide, a été étudiée en détail par B. Shapira en 2004 [Shapira *et al.*, 2004]. Plus récemment, P. Giraudeau a proposé une approche en traitement du signal pour la réduction des oscillations en *sinc* sur un spectre RMN ultrarapide [Giraudeau and Akoka, 2011] : l'apodisation spatiale.

L'apodisation spatiale est un traitement numérique simple permettant un gain important en termes de RSB avec une diminution négligeable de la résolution spectrale. L'apodisation spatiale est réalisée en trois étapes. Dans un premier temps, une transformée de Fourier inverse est appliquée aux signaux acquis dans le domaine ultrarapide $(k/\nu_1, t_2)$. Les signaux obtenus sont visualisés dans le domaine dit

« spatial ». Les signaux transformés sont ensuite multipliés avec une fenêtre d'apodisation puis ramenés finalement dans le domaine ultrarapide initial en appliquant une transformée de Fourier (Fig. 1.17). Ce traitement simple permet généralement de multiplier le RSB par 2,5 sans modifier la résolution spectrale.

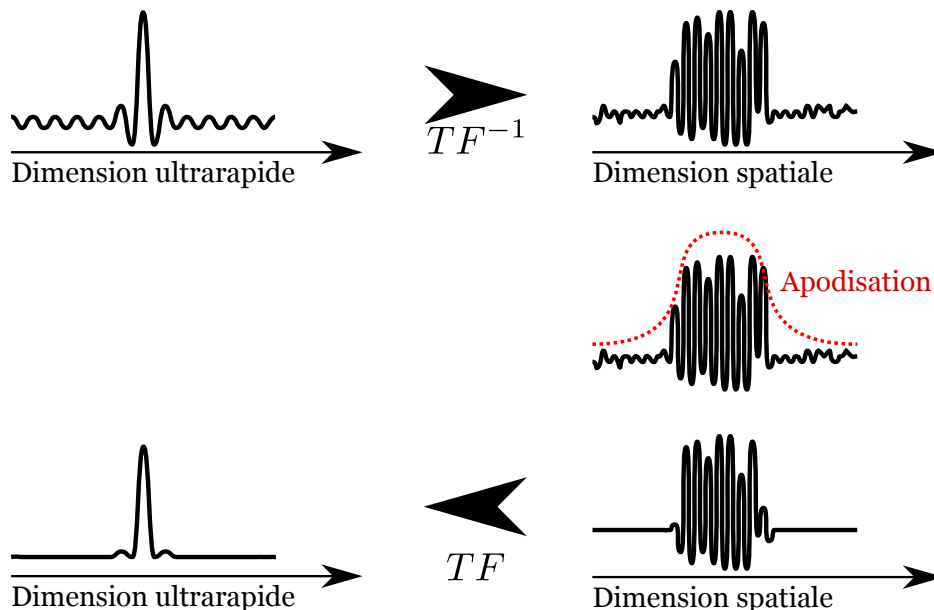


FIG. 1.17: Principe de l'apodisation spatiale. Pour chaque signal ultrarapide acquis, une transformée de Fourier inverse (TF^{-1}) est appliquée, suivie d'une apodisation du signal spatial puis d'une transformée de Fourier TF .

Le choix du type de fenêtre d'apodisation et de sa largeur sont les deux paramètres de ce traitement. En général, une fenêtre d'apodisation de type gaussienne avec une largeur telle que la résolution spectrale finale des signaux reste inchangée donne un résultat optimal [Giraudeau and Akoka, 2011].

1.5.4 Obtention du spectre 2D final

L'étape finale de la reconstruction consiste à appliquer une transformée de Fourier dans la dimension conventionnelle t_2 afin d'obtenir la dimension F_2 permettant d'observer l'expression des constantes de couplages J. Afin de s'affranchir d'éventuelles distorsions de phase, le spectre RMN 2D J-résolu est calculé en mode magnitude.

En pratique, d'autres traitements peuvent être intégrés au processus de reconstruction, tels que le recalage des signaux pairs et impairs ou encore une apodisation des signaux avant transformée de Fourier. Ces traitements seront évoqués dans le chapitre suivant.

1.6 Conclusions

La RMN 2D ultrarapide, qui est une technique issue de développements récents en spectroscopie haute-résolution, permet l'acquisition de spectres RMN 2D complets en une fraction de seconde. Face à la spectroscopie conventionnelle, le gain en temps est exceptionnel. Dans le cadre de l'obtention de spectres 2D J-résolus, le schéma d'excitation proposé par P. Pelupessy combiné avec le schéma de détection proposé par P. Giraudeau permettent d'obtenir les meilleurs résultats en termes de résolution spectrale et de RSB.

A ce jour, toutes les études expérimentales relatives à la RMN ultrarapide ont été réalisées sur des spectromètres RMN dans le domaine de la chimie. A priori, peu d'obstacles majeurs s'opposent à la mise en œuvre de cette technique dans le domaine de l'IRM. Le chapitre suivant traitera du développement de la RMN ultrarapide sur un imageur IRM dédié au petit animal.

La spectroscopie RMN 2D J-résolue ultrarapide localisée *in vivo*

2.1 Introduction

La spectroscopie RMN 2D *in vivo* permet l'apport d'informations supplémentaires pour une meilleure identification des métabolites et une quantification plus précise de leur concentration. Elle est basée sur l'acquisition d'une seconde dimension spectrale qui se traduit par une forte augmentation de la durée d'acquisition. Réduire cette durée d'acquisition en conservant un certain nombre d'incrémentes se traduit souvent par la diminution du nombre d'accumulations des signaux ce qui a pour résultat une chute du RSB. Ce compromis entre durée d'acquisition, résolution spectrale suivant la deuxième dimension, et RSB a été largement abordé au chapitre 2. Peu d'approches permettent un réel gain en temps d'acquisition et les techniques développées dans le domaine de la spectroscopie RMN haute-résolution (Cf. §1.1) sont souvent peu appliquées *in vivo*.

En 2002, l'équipe du Pr. L. Frydman met au point le concept de RMN ultrarapide. Cette technique, détaillée au chapitre précédent, est prometteuse et a été depuis appliquée à de nombreuses reprises en spectroscopie haute-résolution. Les résultats sont nombreux et sont tous caractérisés par l'obtention de spectres RMN 2D avec une

durée d'acquisition très courte. Alors que cette technique fait l'objet d'améliorations constantes en spectroscopie haute-résolution, elle n'a fait l'objet d'aucun travaux en spectroscopie *in vivo*. Cette absence de travaux sur cet axe de recherche peut s'expliquer par une limitation méthodologique. La spectroscopie haute-résolution permet l'étude de solutions ou d'échantillons de constitution homogène et le signal provient naturellement de tout l'échantillon. La spectroscopie *in vivo* permet, par définition, l'étude d'organismes vivants, rarement homogènes, et le signal ne provient alors que d'un volume choisi dans l'échantillon. Il s'agit alors de localisation du signal spectroscopique dans les trois dimensions spatiales, ce qui n'est possible qu'avec un système de type IRM équipé de trois gradients de champ magnétique.

Ce chapitre traite de la mise au point de la technique de spectroscopie RMN 2D ultrarapide dans un cadre nouveau : la spectroscopie *in vivo* sur un système IRM. Les travaux relatifs au développement de séquences ont été réalisés sur les imageurs *Bruker Biospin* 4,7 T et 7 T brièvement décrit en annexe §A.1. Une première séquence dite de « calibration » permettant l'ajustement des impulsions d'excitation ultrarapide est détaillée. La séquence d'impulsions permettant l'acquisition de spectres RMN 2D J-résolus ultrarapides localisés est ensuite décrite. Une étape d'optimisation des paramètres de séquences a été conduite et est détaillée. Enfin, une étude finale a permis d'évaluer les performances de la SRM 2D ultrarapide localisée en termes de RSB, de résolution spectrale et de localisation spatiale du signal. Les résultats obtenus sont comparés à ceux obtenus en SRM 2D conventionnelle et sont discutés.

Les travaux présentés dans ce chapitre sont le fruit d'une collaboration scientifique avec Serge Akoka et Patrick Giraudeau, tous deux membres du laboratoire CEISAM¹, CNRS UMR 6230, Université de Nantes. Cette collaboration scientifique a été financée par le CNRS (PEPS-INSIS 2010 « siQMU »).

2.2 ufJPRESSadj : séquence de calibration localisée des impulsions adiabatiques

Avant de réaliser toute acquisition spectroscopique ou d'imagerie à l'aide d'une séquence, la console *Paravision*, qui équipe les machines IRM expérimentales, effectue le calcul des atténuations des impulsions employées en fonction de leur durée et d'une atténuation de référence. Cette dernière est généralement obtenue lors de la

¹Chimie Et Interdisciplinarité : Synthèse, Analyse, Modélisation

phase d’ajustements effectuée en début d’expérience, durant laquelle l’atténuation d’une impulsion rectangulaire de durée 1 ms est ajustée pour obtenir un basculement des aimantations à 90° et 180° .

En pratique, le calcul de l’atténuation des impulsions traditionnellement employées dans les séquences de spectroscopie ou d’imagerie (impulsions rectangulaires, de type *gauss*, *hermite*, etc.) est implémenté. Cependant, il ne l’est pas pour certaines impulsions adiabatiques telles que l’impulsion *chirp*. De plus, les procédures d’ajustement et de calcul automatiques induisent parfois quelques approximations du fait qu’elles réalisent par exemple la calibration des impulsions non pas sur un volume d’intérêt mais sur la totalité de l’échantillon. Ces approximations, généralement négligeables pour les impulsions traditionnelles, peuvent changer l’angle de bascule d’une impulsion adiabatique.

Enfin, implémenter un schéma d’excitation continue pour l’obtention de spectre RMN 2D ultrarapide nécessite l’emploi d’impulsions adiabatiques et donc une calibration précise de ces dernières pour obtenir un RSB maximal. Pour toutes ces raisons, une séquence de calibration des impulsions adiabatiques a été développée pour ajuster finement l’atténuation de ces impulsions. En pratique, la séquence a été intégrée dans un motif de type PRESS permettant une excitation de type écho de spin localisée. Cette séquence a été baptisé ufJPRESSadj pour *UltraFast Point Resolved Spectroscopy Adjustment* et son code est donné en annexe §??.

2.2.1 Principe

Dans sa thèse, P. Giraudeau [Giraudeau, 2008] a développé une séquence (Fig. 2.1) permettant entre autres de caractériser le profil d’excitation des impulsions d’excitation pour la RMN 2D ultrarapide. En pratique, cette séquence a deux intérêts. En désactivant l’excitation continue, cette séquence permet d’obtenir, après reconstruction du signal, une réponse en fréquence qui dépend de la coupe spatiale de l’échantillon et de la dispersion en fréquence induite par les gradients. La qualité de la sélection spatiale ou l’homogénéité du champ induit par les gradients peuvent ainsi être vérifiées. En ajoutant le bloc d’excitation ultrarapide, la réponse en fréquence obtenue est pondérée par l’angle de bascule induit par l’impulsion à balayage en fréquence.

La visualisation de ce profil d’excitation permet l’ajustement de l’impulsion adiabatique. L’objectif est de concevoir une nouvelle version de cette séquence dans laquelle le signal sera localisé dans les trois dimensions grâce aux trois gradients

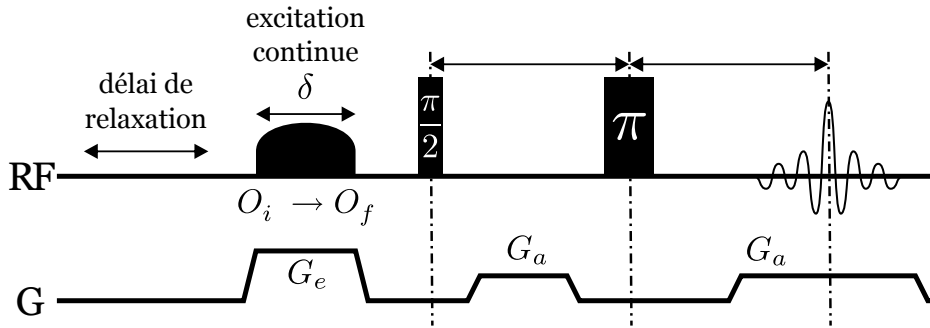


FIG. 2.1: Chronogramme de la séquence basée sur l'écho de spin, implémentable sur un spectromètre équipé d'un seul gradient, permettant l'ajustement des impulsions employées dans les schémas d'excitation continue. L'excitation continue, qui se compose d'une impulsion à balayage en fréquence appliquée en présence d'un gradient d'excitation G_e , est suivie d'un motif de type écho de spin (90° - 180°). Le gradient d'acquisition G_a permet la lecture du signal.

disponibles sur l'IRM.

2.2.2 Impulsion à balayage en fréquence : forme et caractéristiques

2.2.2.1 Forme d'impulsion *Smoothed Chirp*

Plusieurs formes d'impulsion sont disponibles pour réaliser un balayage linéaire en fréquence. La littérature traitant de la RMN ultrarapide cite régulièrement les impulsions de forme *WURST- n* ou *Smoothed Chirp*. Ces impulsions permettent un balayage linéaire en fréquence et une variation quadratique de la phase. D'après P. Pelupessy, le choix de la forme d'impulsion a peu d'impact sur les résultats tant que ces deux critères sont respectés. Selon le même auteur, l'impulsion de forme *Smoothed Chirp*, présente le meilleur compromis en termes de bande de fréquence et du respect de l'offset en fréquence [Pelupessy, 2003].

En pratique, cette impulsion peut être directement générée sur la console *Paravision* à l'aide de l'outil *ShapeTool* de *TopSpin* (commande *stdisp*) (Fig. 2.2) ce qui facilite son implémentation dans les séquences de spectroscopie ultrarapide. Les principaux paramètres de génération de l'impulsion sont la durée δ , la bande de fréquence ΔO et le facteur « Smooth » qui permet d'ajuster le profil de l'impulsion en modifiant la vitesse de montée et de descente en amplitude. Le sens du balayage en fréquence peut également être spécifié. Le nombre de points pour générer l'impulsion doit être égal ou supérieur à $2 \cdot \Delta O \cdot \delta$ pour respecter le théorème d'échantillonnage de Nyquist-Shannon.

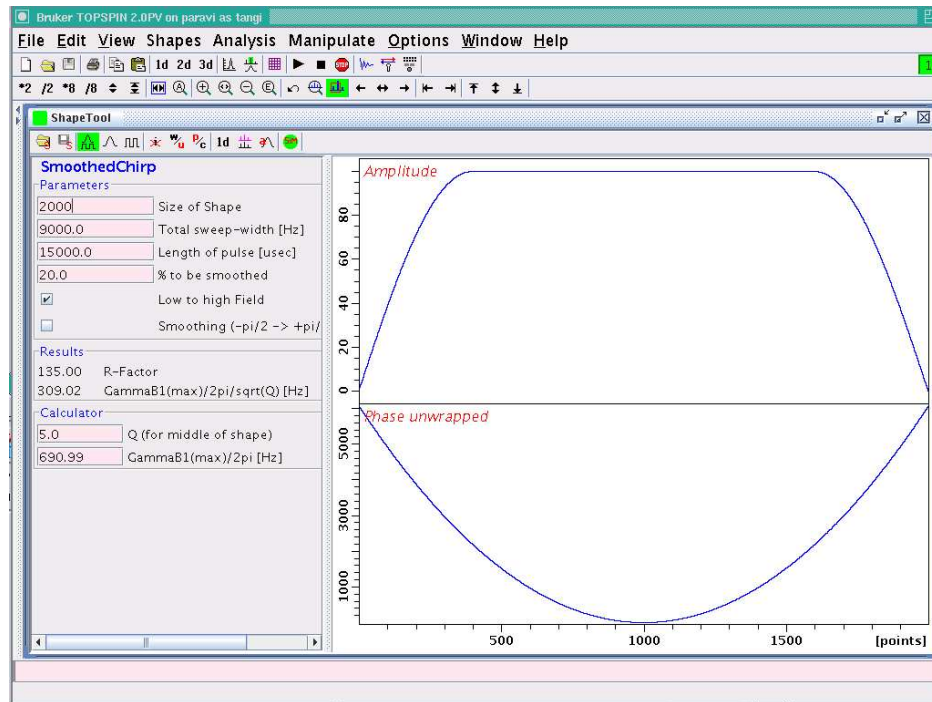


FIG. 2.2: Interface *ShapeTool* de *Bruker TopSpin* permettant la génération d'impulsion RF avec ici l'exemple d'une impulsion *Smoothed Chirp* de durée 15 ms et de bande passante 9 kHz.

2.2.2.2 Largeur spectrale d'excitation

Lors d'une expérience de spectroscopie RMN *in vivo*, la largeur spectrale d'intérêt SW_u des signaux acquis est d'environ 5 ppm. En théorie, les impulsions employées réalisent une excitation homogène sur cette bande passante. Toutefois, il peut être nécessaire en pratique de fixer les bandes passantes des impulsions d'excitation à des valeurs supérieures. Ainsi, la réponse en fréquence d'une impulsion étant souvent plus « plate » aux fréquences centrales, une excitation homogène est assurée aux fréquences d'intérêt.

Cette observation est également valable lors de l'utilisation d'impulsions à balayage en fréquence telle que l'impulsion *Smoothed Chirp*. M. Pathan conseille de choisir une bande passante d'excitation beaucoup plus large que la largeur spectrale d'intérêt [Pathan *et al.*, 2011], d'où la relation (2.1).

$$\Delta O = 5 \cdot SW_u \quad (2.1)$$

Ainsi, les travaux décrits par la suite font souvent état d'impulsions *Smoothed Chirp* dont la bande passante est fixée à environ 25 ppm, soit environ 9 kHz pour

un champ B_0 de 7 T.

2.2.2.3 Sélection spatiale

Lors d'une sélection spatiale, la bande passante de l'impulsion est habituellement égale à la dispersion en fréquence induite par le gradient sur la coupe de l'échantillon à sélectionner. Dans le cas des impulsions à balayage en fréquence, P. Giraudeau a montré que pour exciter la coupe spatiale d'intérêt de manière homogène, la bande spectrale d'excitation ΔO devait être légèrement plus large que la dispersion en fréquence $\Delta f_{gradient}$ induite par le gradient [Giraudeau, 2008], d'où la relation (2.2).

$$\Delta O = 1,2 \cdot \Delta f_{gradient} \quad (2.2)$$

En effet, ce type d'impulsion présente généralement de légères non-linéarités dans le balayage en fréquence en début et en fin d'impulsion.

2.2.3 Développement de la séquence

Une nouvelle version de la séquence d'impulsions présentée au paragraphe 2.2.1 a été développée (Fig. 2.3). Comme la séquence originale, elle permet la calibration des impulsions adiabatiques utilisées dans les schémas d'excitation continue ultrarapide. Toutefois, dans cette version, le signal acquis provient exclusivement d'un voxel donné dans l'espace. La calibration des impulsions à l'aide de cette séquence n'est donc effective que pour ce volume d'intérêt, volume duquel seront ensuite collectés les signaux ultrarapides lors de l'étape d'acquisition du spectre RMN ultrarapide.

2.2.3.1 Préparation

La phase de préparation de la séquence `ufJPRESSadj` consiste en un module OVS (Cf. § 1.3.2.2). Ce module disponible dans les bibliothèques de programmation de *Paravision*, consiste à appliquer plusieurs bandes de saturation autour du volume d'intérêt afin d'améliorer la sélectivité spatiale en éliminant les signaux provenant de l'extérieur du voxel.

2.2.3.2 Excitation

La phase de préparation est suivie par la phase d'excitation. Celle-ci débute par une excitation continue composée d'une impulsion à balayage en fréquence en

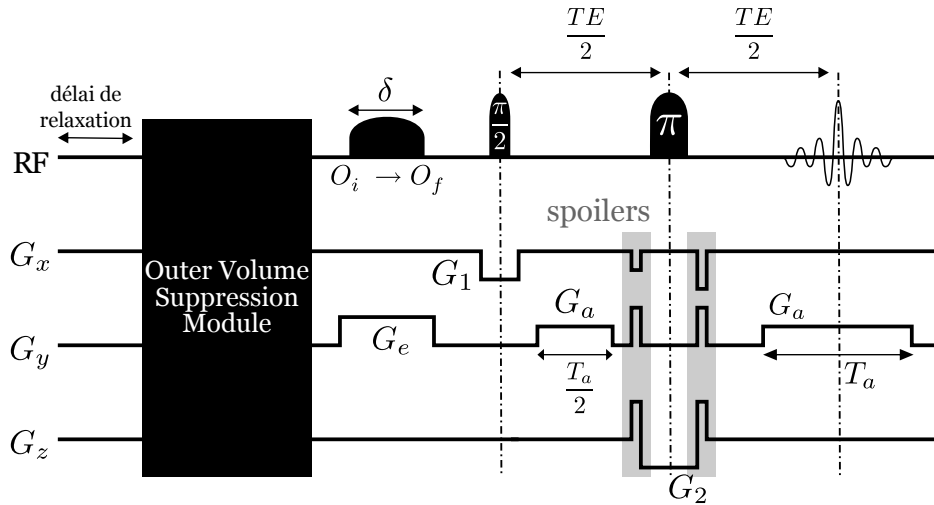


FIG. 2.3: Chronogramme de la séquence ufJPRESSadj dédiée à l’ajustement spatialement localisé des impulsions ultrarapides. Suite à l’étape de préparation, une impulsion à balayage en fréquence est appliquée en présence du gradient d’excitation G_e induisant ainsi une excitation continue et une première sélection spatiale suivant la direction y de l’espace. Les deux impulsions sélectives 90° et 180° qui suivent sont respectivement appliquées en présence des gradients G_1 et G_2 afin de réaliser successivement les deux sélections spatiales suivant les directions x et z de l’espace. Un écho est acquis en présence du gradient de lecture G_a pour $t = TE$.

présence d’un gradient d’excitation G_e . Cette impulsion, dont la puissance doit être ajustée, doit réaliser un balayage linéaire entre les fréquences O_i et O_f pendant une durée δ . Sa bande passante $\Delta O = O_f - O_i$ doit respecter les conditions (2.1) et (2.2). L’intensité du gradient d’excitation G_e est donc calculé suivant l’expression (2.3) où L_c est la longueur du côté du voxel.

$$G_e = \frac{5 \cdot SW_u}{1,2 \cdot \gamma \cdot L_c} \quad (2.3)$$

La sélection et l’encodage spatiales sont réalisés suivant une première dimension spatiale correspondant à la direction du gradient (y dans le cas de la Fig. 2.3). La suite de l’excitation est similaire à la séquence PRESS. Une impulsion 90° est appliquée en présence d’un gradient G_1 permettant de réaliser une sélection spatiale suivant une seconde direction de l’espace (x dans le cas de la Fig. 2.3). Puis, une impulsion 180° est appliquée en présence d’un gradient G_2 permettant de réaliser une sélection spatiale suivant une troisième direction de l’espace (z dans le cas de la Fig. 2.3).

Le schéma d’excitation PRESS comprend des gradients « spoilers » permettant de compenser les déphasages induits par les gradients de sélection. Ces gradients de

rephasages sont intégrés dans la séquence pour compenser les déphasages introduits par G_1 et G_2 . Enfin, les formes d'impulsions originalement présentes dans la séquence PRESS implémentée sur la console *Paravision* ont été conservées, soit des formes de type *hermite*.

L'ajustement de l'atténuation de l'impulsion adiabatique est réalisé, comme pour toute impulsion, pour une durée δ donnée. Lors de l'emploi d'un schéma d'excitation ultrarapide, il peut être intéressant de modifier la durée d'excitation T_e afin d'améliorer la résolution spectrale (Cf. §1.3.4). Or, modifier la durée d'application d'une impulsion à balayage en fréquence risque de déformer celle-ci dans le temps et induire des changements imprévus de bande de fréquence lors de l'excitation. Il est donc nécessaire de régénérer l'impulsion avec la durée adéquate après toute modification de T_e . Cette opération est réalisée automatiquement par un appel interne à TopSpin. Les paramètres de génération d'impulsion sont passés par ligne de commande, évitant ainsi l'utilisation répétée de l'interface graphique. La régénération des signaux impulsions reste ainsi un processus complètement transparent pour l'utilisateur.

2.2.3.3 Détection

Un gradient G_a est appliqué à deux reprises dans la séquence. Il joue le rôle de gradient de lecture lors de la détection et permet l'obtention d'un écho qui, après reconstruction, donne le profil d'excitation de la coupe spatiale sélectionnée (dans le plan xz dans le cas de la Fig. 2.3). Comme dans le cas d'une séquence de type écho de spin, un temps d'écho TE caractérise la position temporelle de l'écho. Cette durée doit être courte (de l'ordre d'une dizaine de millisecondes) de façon à obtenir une intensité maximale de signal. L'acquisition est active en présence du gradient de lecture pendant une durée T_a . En pratique, la durée d'acquisition est légèrement plus courte car de petits délais de pré-acquisition sont nécessaires lors de l'ouverture et la fermeture du CAN.

2.2.4 Reconstruction et interprétation du profil d'excitation

La réponse fréquentielle est obtenue après reconstruction du signal acquis. Ce dernier est tout d'abord tronqué dans le temps pour éliminer le bruit souvent présent avant et après l'écho. En pratique, la séquence induit parfois un retard temporel de l'écho lors de la détection due à de possibles approximations dans le calcul des délais. Ce retard temporel peut être corrigé en ajustant la phase d'ordre 1 du signal. Enfin,

la transformée de Fourier du signal est calculée en mode magnitude afin d'obtenir le profil d'excitation.

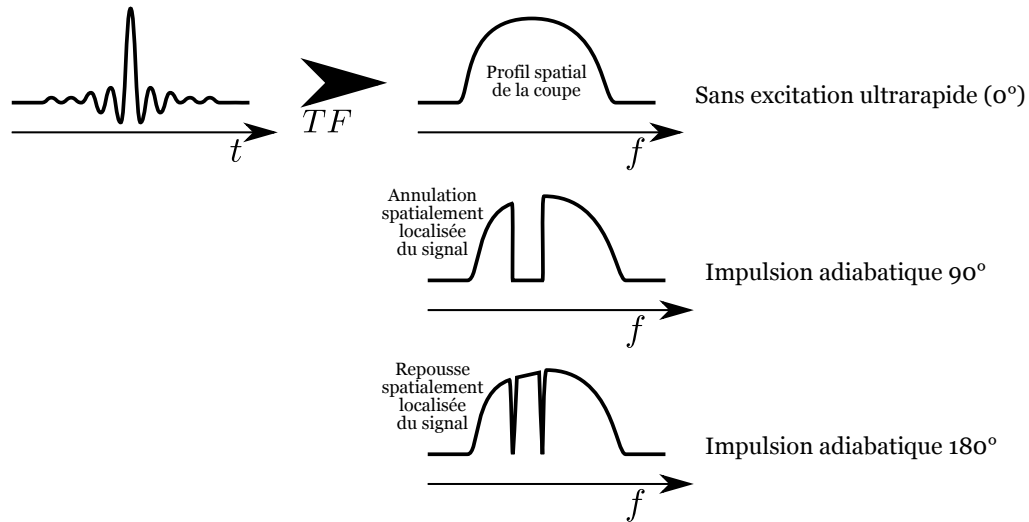


FIG. 2.4: Interprétation du profil d'excitation acquis lors de la calibration des impulsions adiabatiques à balayage linéaire en fréquence. Dans le cas d'une impulsion adiabatique 90° , l'annulation d'une section du profil d'excitation est observée. Dans le cas d'une impulsion 180° et d'un profil d'excitation calculé en mode magnitude, la repousse de l'intensité du signal est observée, traduisant une inversion localisée des aimantations.

Le profil d'excitation dépend de l'angle de bascule induit par l'impulsion à balayage en fréquence présent dans le bloc d'excitation ultrarapide (Fig. 2.4). Ainsi, sans excitation ultrarapide (soit un angle de bascule nul), le profil obtenu correspond au profil spatial de l'échantillon. Pour une impulsion d'angle 90° , une section du profil d'excitation est annulée traduisant l'impact localisé de l'excitation ultrarapide. Pour une impulsion d'angle 180° ou plus, une repousse du signal de cette même section est observée (dans le cas d'une visualisation en mode magnitude) traduisant l'inversion localisée des aimantations.

2.2.5 Démarche expérimentale pour la calibration des impulsions Smoothed Chirp 180°

Le schéma d'excitation continue ultrarapide proposée par P. Pelupessy emploie des impulsions 180° à balayage en fréquence. Une démarche expérimentale est décrite pour la calibration de l'impulsion *Smoothed Chirp* à 180° .

2.2.5.1 Acquisition sans excitation continue

La première étape consiste en une acquisition du profil spatial en désactivant l'excitation ultrarapide. L'intensité du gradient d'excitation G_e est nulle et l'impulsion *Smoothed Chirp* n'est pas émise. La démarche suivante pourra être suivie pour obtenir la bonne acquisition du profil spatial sur une console *Paravision*.

1. Dans la fenêtre *method*, s'assurer d'être en mode *Adjustment*
2. Fixer la position et la taille du voxel (27 mm^3 ou plus)
3. Fixer le TR à une valeur importante (5-10 s) pour éviter toute saturation du signal
4. Fixer le temps d'écho TE de la séquence à une valeur la plus faible possible pour obtenir un RSB maximal
5. Contrôler le gain à la réception RG
6. Ajuster l'étalement temporel de l'écho en ajustant l'intensité du gradient G_a
7. Ajuster le nombre de points N_1 à acquérir
8. Noter le niveau de signal ou le taux de remplissage de la dynamique du CAN (`digitizer_filling`)

2.2.5.2 Ajustement de l'atténuation de l'impulsion adiabatique

La seconde étape de la calibration de l'impulsion *Smoothed Chirp* à 180° consiste à réactiver l'excitation ultrarapide et à ajuster l'atténuation de l'impulsion pour obtenir un profil d'excitation présentant une inversion locale du signal. Lors de la diminution de l'atténuation (augmentation de la puissance d'émission), est observée successivement une baisse, une annulation puis une repousse localisée de la réponse en fréquence. L'annulation du signal correspond à un angle de bascule de 90° . Lorsque la repousse est complète, l'impulsion *Smoothed Chirp* réalise un angle de bascule de 180° , soit une inversion complète. La calibration est terminée et l'atténuation obtenue sera utilisée lors des acquisitions. La démarche suivante pourra être suivie sur une console *Paravision*.

1. Fixer la largeur spectrale d'excitation (25 ppm selon la largeur spectrale d'intérêt à acquérir)
2. Fixer la durée de l'impulsion *Smoothed Chirp* selon le compromis RSB/résolution spectrale souhaité par la suite (15 ms par exemple)
3. Initialiser l'atténuation de l'impulsion *Smoothed Chirp* à une valeur importante (150 dB)

4. Augmenter progressivement l'atténuation de l'impulsion *Smoothed Chirp*
5. Observer l'annulation localisée du profil d'excitation
6. Continuer d'augmenter progressivement l'atténuation de l'impulsion *Smoothed Chirp*
7. Observer la repousse localisée du profil d'excitation
8. Lorsque la repousse est quasi-complète, le taux de remplissage de la dynamique du CAN (`digitizer_filling`) doit atteindre une valeur proche à celle notée lors de la première étape de calibration
9. Noter la valeur de l'atténuation de l'impulsion *Smoothed Chirp*

En pratique, une atténuation trop faible (soit une puissance d'émission trop forte) ne provoque pas un basculement d'un angle supérieur à 180° . Il est conseillé de préférer l'atténuation obtenue dès l'apparition de l'inversion quasi-complète et de ne pas pousser la calibration plus loin pour éviter toutes distorsions du spectre ultrarapide (Cf. §2.4.3.2).

2.2.6 Résultats expérimentaux & discussion

Des essais de calibration d'impulsion *Smoothed Chirp* ont été réalisés sur un échantillon contenant une solution d'éthanol concentré à 10 % (m/m) avec l'imagerie IRM *Bruker Biospin 7T* petit animal équipé d'une console *Paravision 5.1*. L'antenne utilisée est de type quadrature (émission/réception, 32 mm de diamètre, *Rapid Biomed*). La démarche détaillée précédemment a été suivie et a permis d'obtenir les profils d'excitation présentés en Fig. 2.5.

L'impulsion *Smoothed Chirp* calibrée à 180° induit comme prévu une inversion du profil d'excitation sur une zone localisée de l'échantillon suivant la direction z (direction du gradient d'excitation) (Fig. 2.5). Les limites de la sélection spatiale de l'impulsion sont identifiables par la présence de brusques ruptures du profil. Le voxel sélectionné n'est pas centré par rapport à la zone de sensibilité à la réception de l'antenne, ce qui est en accord avec les résultats d'imagerie de positionnement.

La séquence `ufJPRESSadj` permet l'ajustement d'impulsions à balayage en fréquence telles que les impulsions de type *Smoothed Chirp*. Toutefois, dans le cas des impulsions 180° , l'atténuation obtenue pourra être affinée ultérieurement lors de l'acquisition spectroscopique. En effet, comme évoqué au §2.2.5.2, l'atténuation exacte pour laquelle le profil d'excitation est totalement inversé est difficile à estimer et pourra être fixée par l'observation directe du niveau de distorsion du spectre RMN ultrarapide.

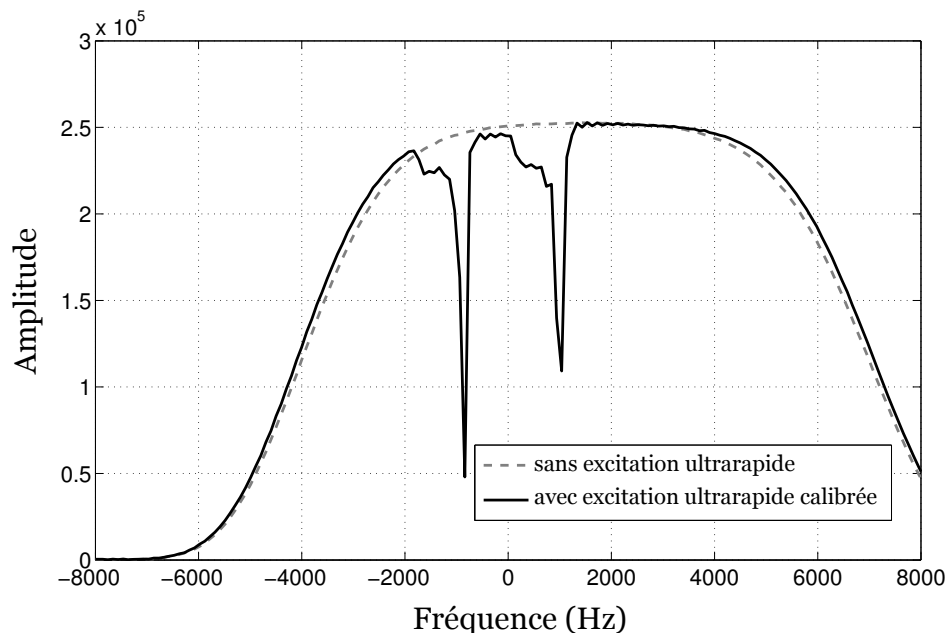


FIG. 2.5: Profils d'excitation acquis sur un échantillon d'éthanol concentré à 10 % (m/m) sur un IRM *Bruker BioSpin* 7 T. Le profil en trait discontinu a été obtenu sans excitation ultrarapide. Le profil en trait continu a été obtenu avec une excitation ultrarapide composée d'une impulsion *Smoothed Chirp* de durée $\delta=15$ ms et de bande passante $\Delta O=25$ ppm, émise avec une atténuation de 33 dB en présence du gradient G_e d'intensité 36 mT/m. Les paramètres suivants ont été fixés : $TR=5$ s, $TE=20$ ms, $G_a=8$ mT/m, $T_a=10$ ms, voxel de dimension 5 mm x 5 mm x 5 mm.

2.3 ufJPRESS : séquence de spectroscopie RMN 2D J-résolue ultrarapide localisée

La mise au point d'une séquence de spectroscopie RMN 2D J-résolue ultrarapide sur un système IRM nécessite un travail d'édition de séquence RMN. Afin d'appliquer cette technique dans le cadre d'études *in vivo*, le signal collecté doit être spatialement localisé dans les trois dimensions de l'espace. De plus, le volume d'intérêt et sa position dans l'espace doit pouvoir être choisi par l'utilisateur. Les travaux relatifs à l'élaboration de la séquence ufJPRESS sont décrits dans les paragraphes suivants.

En pratique, la séquence a été intégrée dans un motif de type PRESS permettant une excitation de type écho de spin localisée. Cette séquence a été baptisée ufJPRESS pour *Ultrafast Point Resolved Spectroscopy* et son code est donné en annexe §??.

2.3.1 Principe

Le chapitre précédent a permis d'identifier le schéma d'excitation continue proposé par P. Pelupessy (Cf. §1.3.4) et le schéma de détection proposé par P. Giraudeau (Cf. §1.4.2) comme étant les plus performants pour l'obtention de spectres RMN 2D J-résolus ultrarapides dans le cadre de la spectroscopie haute-résolution. Le développement d'une séquence de spectroscopie ultrarapide localisée consiste à intégrer ces deux motifs en assurant la localisation du signal.

La séquence PRESS, qui présente un motif d'excitation de type double écho de spin localisé dans l'espace, est particulièrement intéressante pour ce développement. En effet, le motif PRESS a l'avantage d'être similaire en termes de séquences d'impulsion ($90^\circ - 180^\circ - 180^\circ$) avec le schéma d'excitation ultrarapide proposé par P. Pelupessy et elle assure déjà la localisation du signal dans les trois dimensions spatiales.

Les travaux de développement de la séquence de spectroscopie RMN 2D ultrarapide localisée, réalisés sur un système IRM équipé d'une console *Paravision*, ont porté sur l'intégration du schéma d'excitation ultrarapide dans un motif PRESS suivi d'un bloc de détection ultrarapide.

2.3.2 Développement de la séquence

La séquence évoquée au paragraphe précédent a été développée (Fig. 2.6). Elle permet l'obtention de spectres RMN 2D J-résolus ultrarapides avec localisation spatiale du signal. La séquence est décrite dans les paragraphes suivants et son code est disponible en annexe §??.

2.3.2.1 Préparation

La phase de préparation de la séquence ufJPRESS est similaire à la séquence ufJPRESSadj. Le module OVS y est présent, permettant d'éliminer les signaux provenant de l'extérieur du volume d'intérêt (Cf. §2.2.3.1).

Lors d'une acquisition spectroscopique, la suppression du signal de l'eau est indispensable pour observer le spectre RMN correspondant aux molécules en faible concentration. Le module de suppression d'eau *WsSat* est donc également présent dans cette phase de préparation et rend disponible l'emploi de deux techniques de suppression d'eau : VAPOR et CHESS (Cf. § 1.3.2.2). Les séquences d'impulsions permettant la suppression du signal de l'eau nécessite l'ajustement en puissance de

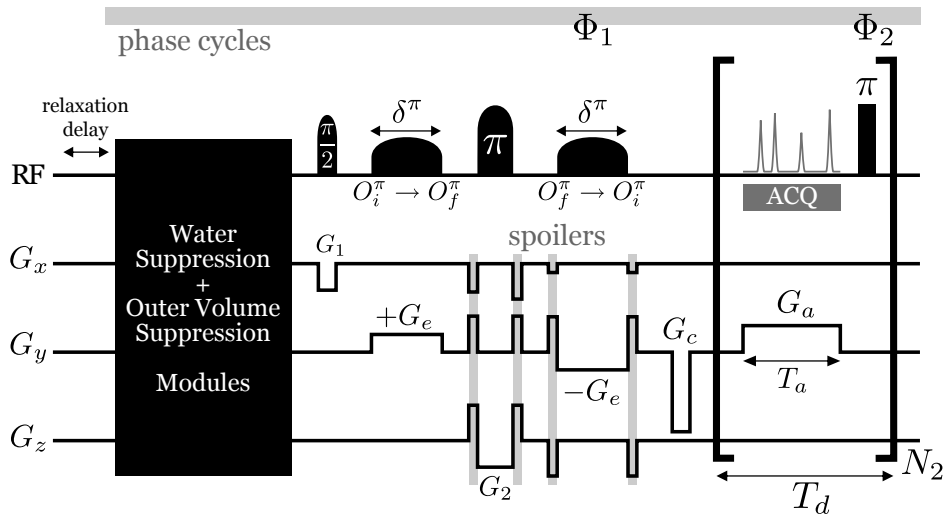


FIG. 2.6: Chronogramme de la séquence ufJPRESS dédiée à l'acquisition de spectres RMN 2D J-résolus ultrarapides. Suite à l'étape de préparation, une première impulsion sélective 90° appliquée en présence d'un gradient G_1 réalise une première sélection spatiale suivant la direction x de l'espace. L'excitation continue, qui se compose de deux impulsions à balayage en fréquence est réalisée suivant la direction y à l'aide du gradient G_e . L'impulsion 180° appliquée en présence d'un gradient G_2 réalise la troisième sélection spatiale, suivant la direction z de l'espace. Le motif de détection, de durée T_d , est répété N_2 fois et se compose d'un gradient d'acquisition G_a et d'une impulsion rectangulaire 180° . Deux cycles de phase Φ_1 et Φ_2 ont été implémentés dans la séquence.

certaines impulsions. Même si la console *Paravision* procède à un ajustement automatique, il est parfois nécessaire d'affiner la suppression manuellement. Par souci de simplicité, la technique VAPOR sera employée car elle nécessite seulement l'ajustement de deux impulsions contre trois pour la technique CHESS.

2.3.2.2 Excitation

Le motif d'excitation ultrarapide proposé par P. Pelupessy permet l'encodage ultrarapide suivant une dimension spatiale. L'intégration de ce schéma dans un motif PRESS consiste à remplacer l'une des deux impulsions sélectives 180° par le schéma d'excitation ultrarapide. Cette approche simple donne la possibilité de développer plusieurs versions différentes du schéma d'excitation ultrarapide localisée. Certains d'entre eux seront évoqués dans la partie traitant de l'optimisation de la séquence (§2.4.2). Le schéma décrit ici a permis d'obtenir les meilleurs résultats en termes de RSB, de résolution et de réduction d'artefacts.

La phase d'excitation est basée sur le motif PRESS et débute par une impulsion 90° . Cette impulsion est appliquée en présence d'un gradient G_1 afin de réaliser une sélection spatiale suivant une première dimension de l'espace (x dans le cas de la

Fig. 2.6). Une première impulsion *Smoothed Chirp* 180° est ensuite appliquée durant un gradient $+G_e$ pour réaliser l'encodage spatial suivant une seconde dimension spatiale (y dans le cas de la Fig. 2.6). Avant d'appliquer la seconde impulsion *Smoothed Chirp* 180° , une impulsion sélective 180° originalement issue du motif PRESS est appliquée en présence du gradient G_2 , permettant une sélection spatiale suivant la troisième dimension de l'espace (z dans le cas de la Fig. 2.6). Enfin, la seconde impulsion *Smoothed Chirp* 180° est appliquée en présence d'un gradient $-G_e$ pour compenser le déphasage induit par la première. La présence de l'impulsion 180° de refocalisation issue du motif PRESS entre les deux impulsions à balayage en fréquence induit une inversion spatiale de l'encodage. Les sens de balayage des deux impulsions *Smoothed Chirp* devront donc être contraires.

La bande passante ΔO des impulsions *Smoothed Chirp* est calculée selon la largeur spectrale d'intérêt SW_u spécifiée par l'utilisateur suivant la relation (2.1). L'intensité du gradient d'excitation G_e est calculée suivant la longueur du côté du voxel L_c et SW_u selon l'équation (2.3).

De plus, tout comme pour la séquence ufJPRESSadj, les gradients « spoilers » issus du motif PRESS ont été conservés afin de compenser les déphasages induits par les gradients de sélection. Enfin, les formes originalement présentes dans la séquence PRESS implémentée sur la console *Paravision* ont été conservées, soit des formes d'impulsions de type *hermite*.

2.3.2.3 Détection

L'excitation est suivie par un gradient de déphasage ou « gradient de purge » noté G_c (Cf. §1.3.3). Le motif de détection est décrit dans le paragraphe 1.4.2. La durée du motif de détection T_d doit être le plus court possible car elle conditionne la largeur spectrale suivant la dimension conventionnelle F_2 du spectre ultrarapide (Cf. §1.4.1.2) suivant l'équation (2.4).

$$SW_2 = \frac{1}{2 \cdot T_d} \quad (2.4)$$

La durée du gradient d'acquisition T_a contribue majoritairement à la durée de détection T_d et doit donc être minimale. La durée de l'impulsion 180° de refocalisation doit être également la plus courte possible afin de réaliser une refocalisation sur une large bande passante et de minimiser la durée de détection T_d . Pour ces raisons, cette impulsion est de forme rectangulaire (*blockpulse*) et de courte durée

(500 μs ou moins). D'autres approches ont été étudiées et sont détaillées dans le paragraphe 2.4.4.

Enfin, lorsque le gradient d'acquisition G_a est appliqué, un temps de montée et de descente est observé. Ces temps varient d'une machine à l'autre mais restent très courts (50 à 300 μs) et peuvent induire des artefacts sur les signaux acquis. Pour cette raison, l'acquisition est réalisée lorsque l'intensité du gradient G_a est stable, i.e. après la montée et avant la descente en intensité du gradient.

2.3.2.4 Cycles de phase

Deux cycles de phase ont été implémentés dans la séquence (Cf. annexe ??). Le premier cycle de phase s'apparente au cycle de phase PAPS² qui permet en accumulant les signaux de soustraire les artefacts constants et de sommer les signaux utiles. Il est noté Φ_1 et concerne la seconde impulsion *Smoothed Chirp* lors de l'excitation. L'alternance de phase proposée est $[x, -x]$.

Le motif de détection induit l'émission répétée de l'impulsion 180° rectangulaire de refocalisation. Les effets cumulés des imperfections de cette impulsion induisent la formation d'échos stimulés [Hahn, 1950] qui provoquent l'apparition d'artefacts pour $\nu_2 = 0$ Hz. P. Giraudeau a proposé la réduction de ces artefacts en implémentant un cycle de phase noté Φ_2 sur l'impulsion de refocalisation 180° appliquée lors de la détection [Giraudeau and Akoka, 2007]. L'alternance de phase proposée est : $[y, y, -y, -y]$.

2.3.3 Fonctionnalités spéciales

2.3.3.1 Offset en fréquence d'excitation

Lors d'une expérience de spectroscopie RMN localisée conventionnelle, la fréquence d'émission des impulsions d'excitation est généralement égale ou proche de la fréquence d'excitation du proton F_{ref} dans le champ B_0 concerné. Toutefois, il est parfois intéressant de décaler cette fréquence d'émission des impulsions d'une valeur ΔF_{ref} afin de centrer la largeur spectrale d'excitation sur des fréquences d'intérêt.

Dans le cadre de la spectroscopie ultrarapide, la fenêtre spectrale d'acquisition dépend des paramètres G_a et T_a (Cf. §1.4.1.2) et la position spectrale de cette fenêtre peut être ajustée à l'aide du gradient de déphasage G_c (Cf. §1.3.3). Suivant le type

²Phase Alternating Pulse Sequence

d'impulsion employée, l'excitation peut ne pas être homogène sur toute la bande de fréquence d'intérêt. Il est alors intéressant de décaler la fréquence d'émission des impulsions F_{ref} pour la centrer dans la région spectrale où se situe les pics d'intérêt dans le but de gagner en RSB. Le paramètre ΔF_{ref} est ajustable dans la séquence ufJPRESS mais n'a pas fait l'objet d'optimisations. En effet, une limitation technique liée au positionnement du voxel, détaillée au paragraphe 2.3.4, empêche la modification de ΔF_{ref} au risque d'une perte totale de signal.

2.3.3.2 Compensation des imperfections des gradients d'excitation

Lors de l'excitation ultrarapide, des gradients bipolaires $\pm G_e$ sont employés pour réaliser l'encodage spatial. Les gradients bipolaires peuvent parfois être concernés par un problème d'asymétrie. Autrement dit, la dispersion en fréquence induite par un gradient d'intensité $+G_e$ n'est pas égale à la dispersion en fréquence induite par un gradient d'intensité $-G_e$. Ce problème couramment rencontré dans les séquences d'imagerie écho planar provoque des déplacements et des distorsions des échos lors de la détection et l'apparition de distorsions géométriques sur l'image reconstruite.

La compensation de cette asymétrie des gradients d'excitation consiste à ajuster finement la valeur de l'intensité de l'un des gradients $+G_e$ ou $-G_e$. La séquence ufJPRESS comprend un paramètre ε_{G_e} ajustable par l'utilisateur tel que $-G_e = -(+G_e) + \varepsilon_{G_e}$. Le paramètre ε_{G_e} n'a pas fait l'objet d'optimisations.

2.3.3.3 Dummy Detections

La séquence ufJPRESS réalise la détection des signaux ultrarapides dès la fin de la phase d'excitation. Selon les espèces chimiques et leurs constantes de couplage J , il peut arriver que l'intensité des pics ultrarapides sur le premier spectre ultrarapide acquis ne soit pas maximale. Or, comme évoqué au paragraphe 2.3.5, des ajustements sont réalisés en observant ce premier spectre. Ces ajustements ont pour objectif l'optimisation des paramètres de détection G_a , T_a et G_c et il est donc préférable que les pics présents sur le spectre acquis soient d'intensité suffisante.

Certaines séquences de spectroscopie comportent des « Dummy Scans » (DS) lors desquelles la séquence est répétée plusieurs fois sans réaliser d'acquisition. Cette fonctionnalité est utile lorsque le TR est court et qu'il y a saturation de l'aimantation longitudinale. Par analogie à cette technique, la séquence ufJPRESS permet de réaliser des « Dummy Detections » (DD). Le motif de détection est répété DD fois sans réaliser d'acquisition (Fig. 2.7). Ainsi, le TE du premier spectre acquis

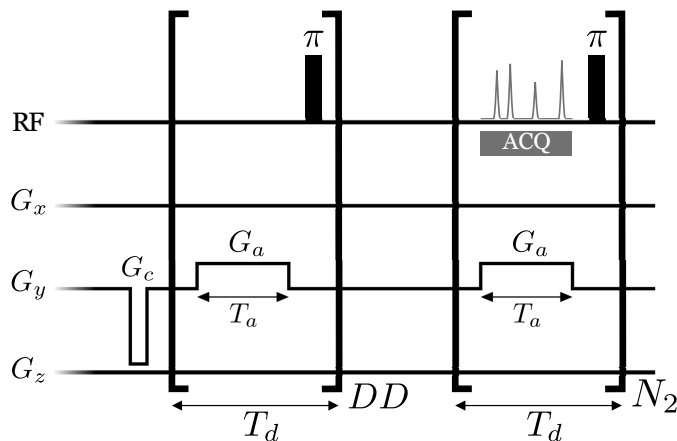


FIG. 2.7: Chronogramme de la phase de détection de la séquence ufJPRESS présentant le motif permettant des « Dummy Detections ». Le motif de détection est précédé d'un motif similaire répété DD fois sans activer le CAN et se composant d'un gradient d'acquisition G_a et d'une impulsion rectangulaire 180° .

est ajustable, permettant l'obtention pour des espèces chimiques couplées, de pics d'intensité suffisante pour ajuster les paramètres de détection.

2.3.3.4 Ordre des directions d'excitation

La séquence PRESS réalise une localisation spatiale du signal en effectuant trois sélections spatiales suivant les trois directions de l'espace. Ces trois directions spatiales forment un ordre d'excitation ou « Excitation Order ». Ce paramètre permet à l'utilisateur de choisir de réaliser par exemple la première sélection spatiale suivant la direction X notée « Right Left (RL) », la seconde suivant la direction Y notée « Anterior Posterior (AP) » et la troisième suivant la direction Z notée « Head Foot (HF) ». En pratique, ce paramètre a peu d'impact sur le signal acquis par la séquence PRESS sauf dans certains cas, où le volume d'intérêt est hétérogène.

La séquence ufJPRESS possède la même fonctionnalité. Toutefois, lors de l'excitation, les deux premières sélections spatiales sont réalisées avec les impulsions de sélection traditionnelles (*hermite*) alors que la troisième est réalisée avec les impulsions *Smoothed Chirp* responsables de l'encodage ultrarapide. Ce paramètre « Excitation Order » permet alors de spécifier la direction d'encodage ultrarapide qui a un léger impact sur le signal acquis avec la séquence ufJPRESS (Cf. §2.4.3.3). La séquence présentée à la Fig. 2.6 présente par exemple un ordre d'excitation X-Z-Y ou RL-HF-AP. Ce paramètre est ajustable dans la fenêtre *Geo Editor* de *Paravision* (Fig. 2.8).

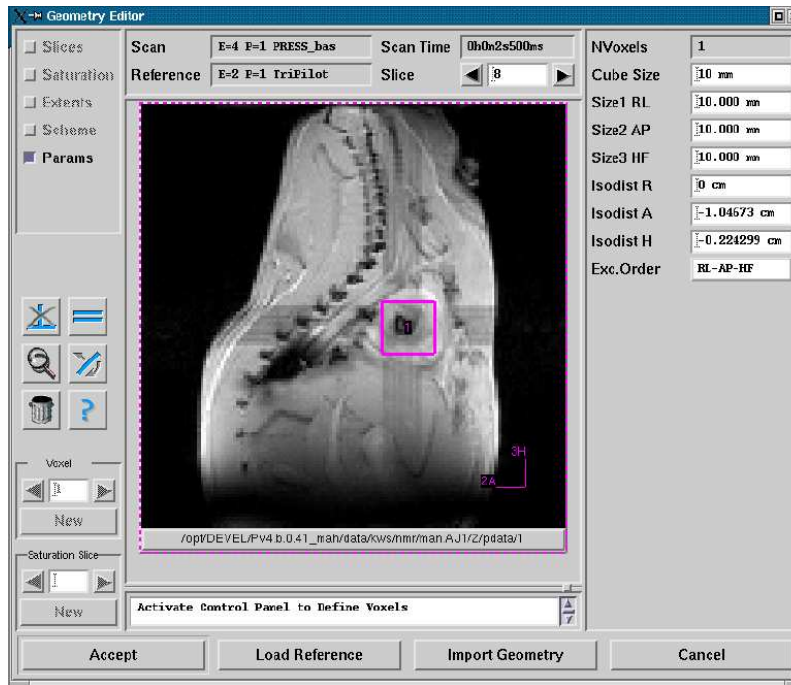


FIG. 2.8: Interface *Geo Editor* de *Paravision* permettant l’ajustement de la position et de la taille du voxel et de l’ordre d’excitation.

2.3.4 Limitations

De manière générale, lors d’une sélection spatiale, l’épaisseur de la coupe dépend de la dispersion en fréquence induite par le gradient et de la bande passante de l’impulsion sélective. La position de la coupe suivant la direction d’application du gradient dépend du décalage ou « offset » en fréquence de l’impulsion sélective.

Dans la version actuelle de la séquence, un changement d’offset en fréquence aura pour conséquence un décalage spectral de la fenêtre d’acquisition mais également un décalage spatial de la coupe sélectionnée. Dans le cas d’un ordre d’excitation XZY comme illustré Fig. 2.6, l’excitation ultrarapide est réalisée suivant l’axe Y. Déplacer le voxel le long de l’axe Y induirait un déplacement de la fenêtre spectrale et les pics d’intérêt suivant la dimension ultrarapide seront fortement décalés en fréquence.

En théorie, cet effet peut être corrigé par l’application d’un gradient de purge G_c intense. Toutefois, d’après de premiers tests, le spectre ultrarapide voit son RSB diminuer pour de trop fortes valeurs de G_c . De plus, un décalage de plusieurs millimètres nécessite un gradient G_c de forte intensité et de durée T_c importante. Les gradients présentant une limite en intensité et en durée (à cause de l’échauffement), ces derniers limitent la plage de déplacement du voxel. La séquence ufJPRESS souffre donc d’une limitation concernant le positionnement du voxel suivant la direction

d'excitation ultrarapide.

2.3.5 Démarche expérimentale

Avant de réaliser une acquisition, il est nécessaire d'ajuster l'atténuation des impulsions *Smoothed Chirp* à l'aide de la séquence de calibration *ufJPRESSadj* (Cf. §2.2.5). La démarche suivante pourra être suivie sur une console *Paravision* pour l'obtention de spectres 2D J-résolus ultrarapides avec la séquence *ufJPRESS*.

1. Reprendre le *scan* utilisé lors des ajustements (Cf. §2.2.5)
2. Dans la fenêtre *method*, s'assurer d'être en mode *Acquisition*
3. Fixer l'atténuation de l'impulsion *Smoothed Chirp* à la valeur optimale obtenue lors des ajustements
4. Initialiser le temps d'acquisition T_a à une valeur importante (500 ms) et l'intensité du gradient G_a à une valeur faible (4 mT/m)
5. Initialiser le nombre de répétitions N_2 du motif de détection à 1
6. Contrôler le gain à la réception *RG*
7. Ajuster progressivement l'étalement temporel du spectre ultrarapide en augmentant l'intensité du gradient G_a
8. Lorsque le signal ne s'étale plus que sur quelques millisecondes (environ 3 ms), fixer la durée d'acquisition T_a à cette même durée
9. Décaler en fréquence le spectre en ajustant l'intensité du gradient G_c
10. Ajuster la suppression du pic de l'eau en affinant les atténuations des impulsions du module *VAPOR*
11. Ajuster le nombre de points N_1 à acquérir

Le signal observé jusqu'à cette étape correspond au premier spectre ultrarapide qui sera acquis. Si le signal présente des artefacts larges en fréquence, il peut être utile d'augmenter le nombre de *Dummy Detections (DD)*.

1. Ajuster l'atténuation de l'impulsion rectangulaire 180° de refocalisation du motif de détection à sa valeur minimale (attention de ne pas surchauffer l'antenne d'émission !)
2. Augmenter le nombre de répétitions N_2 du motif de détection (4)

Le signal observé correspond alors au quatre premiers spectres ultrarapides qui seront acquis par la suite. Ces signaux doivent présenter les caractéristiques des signaux ultrarapides pairs et impairs (Cf. §1.5).

1. Remettre à zéro le nombre de *Dummy Detections* (*DD*)
2. Fixer le nombre de répétitions N_2 du motif de détection à une valeur élevée (128)
3. Ajuster éventuellement le nombre d'accumulations NA
4. Réaliser l'acquisition

2.4 Optimisation & discussion

Lors du développement de la séquence ufJPRESS, de nombreuses fonctionnalités ont été ajoutées pour donner la possibilité à l'utilisateur de modifier directement depuis une interface graphique le comportement de la séquence. L'utilisateur peut par exemple ajuster aisément la taille et la position du volume d'intérêt sur une image IRM, choisir le motif d'excitation ultrarapide localisée parmi quatre motifs disponibles, spécifier les largeurs spectrales souhaitées dans les deux dimensions, ajuster la durée, la puissance et la forme de chacune des impulsions ou encore modifier la durée d'un gradient sans modifier le produit (*intensité · durée*).

De nombreux travaux relatifs à l'optimisation de la séquence ufJPRESS ont été réalisés. En pratique, les acquisitions ont été réalisées sur des solutions à base d'éthanol dont la préparation est décrite en annexe A.2.2. Ces travaux ont permis de justifier certains choix de paramètres, certaines implémentations concernant les motifs d'excitation ou encore la valeur de certains délais de la séquence pour l'obtention de spectres RMN 2D J-résolus ultrarapides. Certains de ces travaux sont détaillés dans les paragraphes suivants.

2.4.1 Préparation : bandes de saturation

2.4.1.1 Impact des bandes de saturation sur le profil d'excitation

La technique des bandes de saturation est communément employée en spectroscopie *in vivo* pour réduire l'intensité des signaux issus de l'extérieur du volume d'intérêt. Le module OVS qui a été ajouté au bloc de préparation de la séquence ufJPRESSadj est contrôlé principalement par deux paramètres : l'épaisseur des bandes de saturation (*OVS thickness*) et le petit espace les séparant du voxel (*OVS gap to voxel*). Pour vérifier l'implémentation du module OVS et sa compatibilité avec l'excitation ultrarapide, des tests de calibration de l'impulsion *Smoothed Chirp* ont été

réalisés en activant et en désactivant le module OVS. Les profils d'excitation obtenus sont présentés en Fig. 2.9.

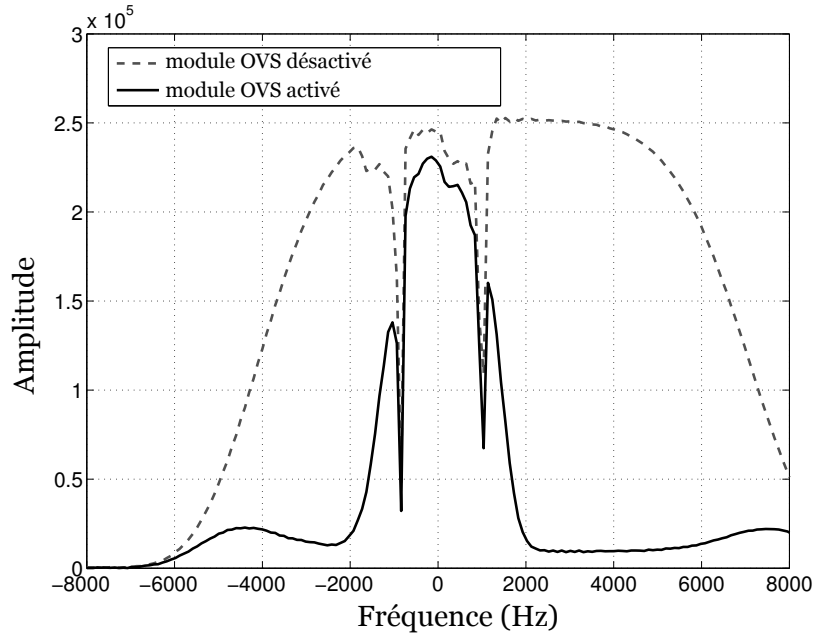


FIG. 2.9: Profils d'excitation acquis sur un échantillon d'éthanol concentré à 10 % (m/m) sur un IRM *Bruker BioSpin 7 T* avec le module OVS activé (*OVS thickness*=3 cm et *OVS gap to voxel*=1 mm) (trait continu) et désactivé (trait discontinu). Les paramètres suivants ont été fixés : impulsion *Smoothed Chirp* de durée $\delta=15$ ms et de bande passante $\Delta O=25$ ppm, émise avec une atténuation de 33 dB, $TR=5$ s, $TE=20$ ms, $G_a=8$ mT/m, $T_a=10$ ms, voxel de dimension 5 mm x 5 mm x 5 mm.

Comme décrit au paragraphe 2.2.6, les limites de la sélection spatiale de l'impulsion sont identifiables par la présence de brusques ruptures du profil. L'impact des bandes de saturation est nettement observable lorsque le module OVS est actif : l'intensité du signal provenant du volume non sélectionné est fortement réduit alors que le signal provenant du volume d'intérêt reste constant. Le module OVS est compatible avec l'encodage spatial induit par l'excitation ultrarapide. Le paragraphe suivant détaille l'impact des bandes de saturation sur le spectre ultrarapide.

2.4.1.2 Impact des bandes de saturation sur le spectre ultrarapide

Des tests similaires à ceux présentés dans le paragraphe précédent ont été réalisés avec la séquence *ufJPRESS*. Quatre acquisitions de spectres 1D ultrarapides ont été effectuées dans le but d'évaluer qualitativement l'impact des bandes de saturation, de leur largeur et de leur position par rapport au volume d'intérêt (Fig. 2.10).

Toutefois, chacune des acquisitions n'a donné lieu qu'à un seul spectre ultrarapide 1D ($N_2=1$). Le signal obtenu est directement exploitable et ne nécessite aucune reconstruction. Le traitement des données en est simplifié et les résultats obtenus ne dépendent que de la séquence d'acquisition. De plus, contrairement à un spectre 2D, un spectre 1D permet de visualiser facilement le niveau de bruit ou les distorsions éventuelles du signal. Par la suite, les résultats des travaux d'optimisation seront souvent présentés sous la forme de spectres ultrarapides 1D.

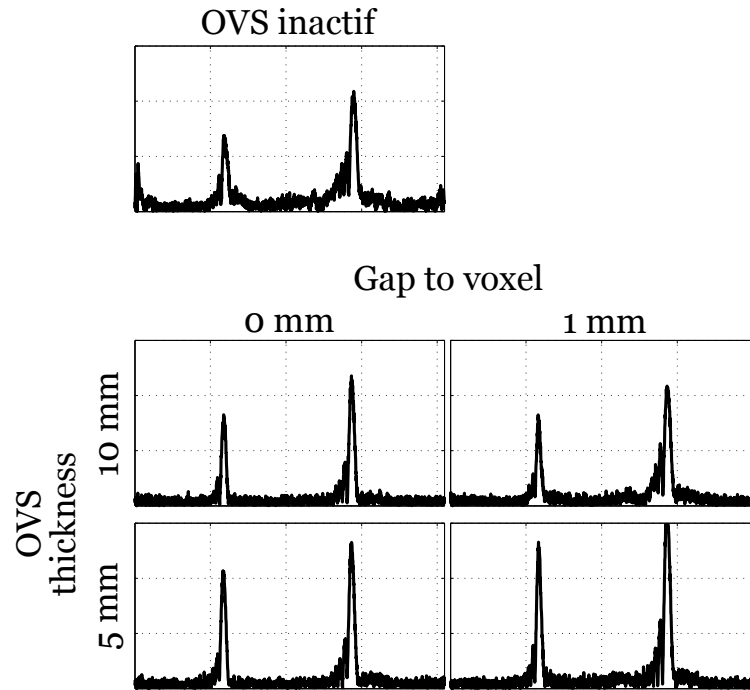


FIG. 2.10: Cinq spectres 1D ultrarapides acquis sur un échantillon d'éthanol concentré à 10 % (m/m) sur un IRM *Bruker BioSpin 7 T*. Le premier spectre a été acquis sans l'emploi de bandes de saturation alors que les quatre suivants ont été acquis en activant le module OVS avec deux valeurs pour chacun des paramètres *OVS gap to voxel* (0 et 1 mm) et *OVS thickness* (5 et 10 mm). Les paramètres suivants ont été fixés : $TR=5$ s, $NA=1$, impulsion *Smoothed Chirp* 180° de durée $\delta=15$ ms ($T_e=30$ ms) et de bande passante $\Delta O=25$ ppm, $G_e=24$ mT/m, $G_c=-100$ mT/m, $T_c=500$ μ s, $G_a=48$ mT/m, $T_a=6$ ms, $N_2=1$, voxel de dimension 8 mm x 8 mm x 8 mm.

Le premier spectre ultrarapide présenté en Fig. 2.10 comporte des artefacts intenses en début et en fin de signal, la présence d'une oscillation entre les deux pics d'intérêt de l'éthanol et un niveau de bruit non négligeable.

Les bandes de saturation permettent une forte réduction de l'intensité des artefacts de « bords » et une amélioration globale de la qualité du spectre ultrarapide. Si l'espace séparant les bandes de saturation du volume d'intérêt est nul (juxtaposition des bandes de saturation au voxel), les oscillations présentes entre les deux pics

d'intérêt sont atténuées. La largeur des bandes de saturation n'a qu'un léger impact sur les résultats. Le RSB des spectres obtenus est visuellement légèrement plus élevé lorsque ce paramètre est fixé à 5 mm.

Les observations précédentes permettent d'affirmer que les artefacts, plus particulièrement les artefacts de « bords » régulièrement rencontrés en pratique, sont des signaux provenant de l'extérieur du volume d'intérêt. La présence de ces artefacts et leur réduction par l'emploi de bandes de saturation mettent en évidence une sélection spatiale imparfaite. Cette observation sera vérifiée lors de l'optimisation de l'ordre d'excitation au paragraphe 2.4.3.3.

Pour résumer, le module OVS doit être de préférence activé avec des largeurs de bandes de saturation *OVS thickness* adaptées selon la taille du voxel (quelques millimètres) et avec le paramètre *OVS gap to voxel* à une valeur nulle. Toutefois, lors des tests d'optimisation présentés par la suite, ce module sera désactivé dans certains cas où il est intéressant de vérifier la qualité de la sélection spatiale.

2.4.2 Motifs d'excitation

Avant d'aboutir au motif d'excitation J-résumé ultrarapide localisée présenté en Fig. 2.6, trois autres motifs ont été développés. Ces motifs notés A, B, C et D sont disponibles via l'interface graphique de la séquence mais ne sont pas tous opérationnels. Le motif A (Fig. 2.11) est le premier motif programmé pour la séquence. Seuls les motifs A et B ont donné lieu à des signaux exploitables et sont abordés ici.

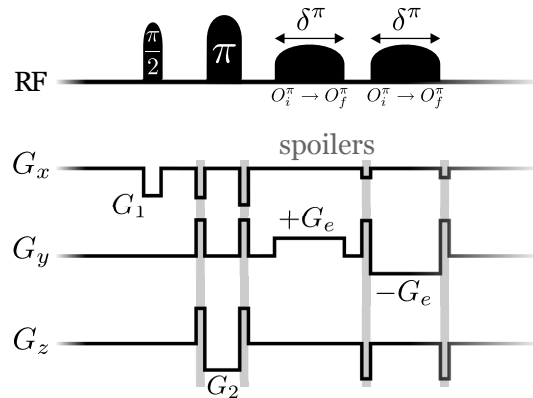


FIG. 2.11: Chronogramme du premier motif programmé pour l'excitation J-résumé ultrarapide localisée. Ce motif diffère de la version finale du motif d'excitation de par la position dans le temps de la première impulsion à balayage en fréquence, qui se trouve ici après les deux impulsions sélectives.

Le motif d'excitation A a l'avantage d'être simple à mettre en œuvre car les

deux impulsions ont le même sens de balayage. Toutefois, les spectres obtenus avec ce motif présentent un RSB faible (Fig. 2.12a). De plus, dans certaines conditions d'acquisition difficiles à définir, un artefact large en fréquence recouvre certains pics d'intérêt. Avec le développement du motif d'excitation B, cet artefact a disparu (Fig. 2.12b) ce qui laisserait supposer qu'il a pour origine une sélection spatiale imparfaite lors de l'excitation ultrarapide. Les résultats obtenus avec le motif B sont également meilleurs en termes de RSB. Il s'agit du motif d'excitation employé par défaut par la séquence ufJPRESS.

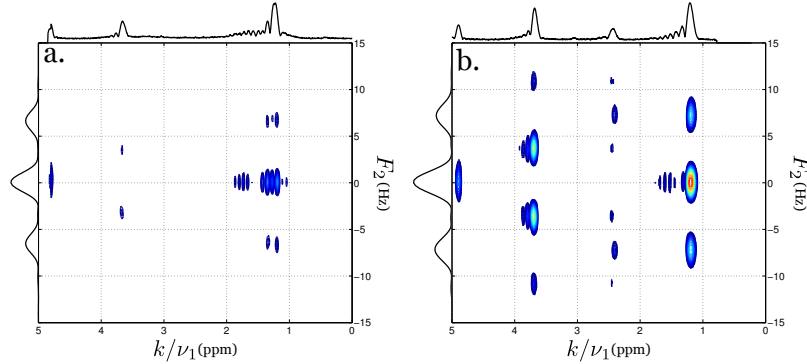


FIG. 2.12: Spectres RMN 2D J-résolus ultrarapides acquis sur un échantillon d'éthanol concentré à 10 % (m/m) sur un IRM *Bruker BioSpin* 7 T avec le motif d'excitation ultrarapide A (a) ($G_a=124$ mT/m) et le motif d'excitation ultrarapide B (b) ($G_a=72$ mT/m). Les paramètres suivants ont été fixés : $TR=10$ s, $NA=1$, impulsion *Smoothed Chirp* 180° de durée $\delta=15$ ms ($T_e=30$ ms) et de bande passante $\Delta O=25$ ppm, $G_e=24$ mT/m, $G_c=-160$ mT/m, $T_c=600$ μ s, $T_a=4$ ms, voxel de dimension 8 mm x 8 mm x 8 mm. Le profil suivant la dimension F_2 du triplet situé à 1,19 ppm est représenté sur l'axe vertical.

2.4.3 Excitation

2.4.3.1 Bande passante des impulsions sélectives *hermite*

Lors des tests de validation de la séquence ufJPRESS, la qualité des signaux acquis ont montré une forte dépendance avec la bande passante des impulsions d'excitation *hermite* 90° et 180° employées pour réaliser les sélections spatiales. Afin de confirmer l'impact de la bande passante de ces impulsions sur les acquisitions ultrarapides, 31 spectres 2D J-résolus ultrarapides d'une solution d'éthanol ont été acquis pour une bande passante allant de 500 Hz à 30 kHz, les autres paramètres d'acquisition demeurant fixes. Le RSB a été estimé pour chacun de ces spectres en intégrant le volume d'un pic d'intérêt. Pour illustrer l'impact de la bande passante des impulsions *hermite*, deux spectres ont été représentés à la Fig. 2.13 pour deux

valeurs de bandes passantes différentes de seulement 2 kHz (17 et 19 kHz). Pour éviter d'introduire toutes approximations dans l'estimation du RSB, les spectres 2D ultrarapides n'ont été que partiellement reconstruits (pas de transformée de Fourier) et sont représentés dans le domaine d'acquisition ultrarapide ($k/\nu_1, t_2$).

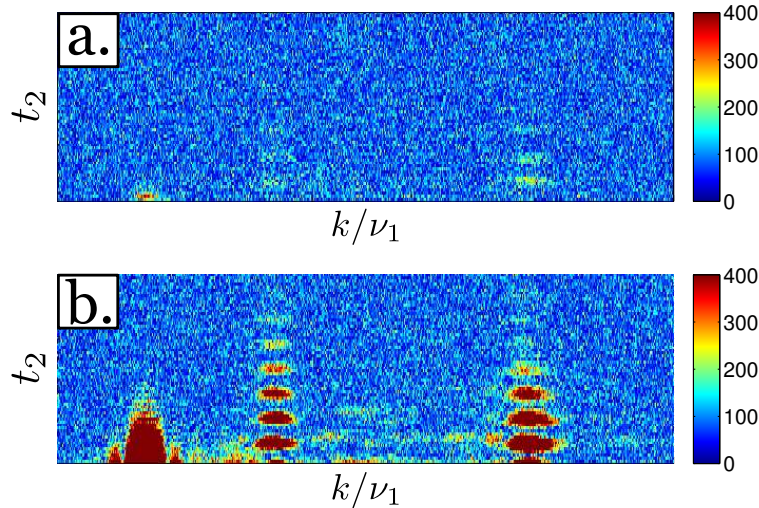


FIG. 2.13: Deux spectres J-résolus 2D ultrarapides (représentation temps-fréquence) acquis sur un échantillon d'éthanol concentré à 10 % (m/m) sur un IRM *Bruker BioSpin* 7 T avec une bande passante pour les impulsions *hermite* de 19 kHz (a) et de 17 kHz (b). Les paramètres suivants ont été fixés : $TR=5$ s, $NA=1$, impulsion *Smoothed Chirp* 180° de durée $\delta=15$ ms ($T_e=30$ ms) et de bande passante $\Delta O=25$ ppm, $G_e=36$ mT/m, $G_c=-200$ mT/m, $T_c=500$ μs , $G_a=32$ mT/m, $T_a=6$ ms, $N_2=128$, module OVS désactivé, voxel de dimension 5 mm x 5 mm x 5 mm.

Une légère augmentation de la bande passante des impulsions *hermite* engendre une perte quasi-complète du signal. En effet, le spectre acquis pour une bande passante de 19 kHz présente visuellement un RSB très faible comparé au spectre acquis pour une bande passante de 17 kHz (Fig. 2.13). Afin d'établir la dépendance entre bande passante et RSB, une estimation du RSB a été effectuée pour chaque spectre 2D ultrarapide acquis. L'évolution du RSB en fonction de la bande passante est représentée à la Fig. 2.14.

L'évolution du RSB dépend de manière quasi-périodique avec la bande passante des impulsions *hermite* (Fig. 2.14) avec parfois un gain de facteur 4 entre deux valeurs successives. Pour une bande passante inférieure à environ 600 Hz, le RSB est fortement réduit : la bande passante d'excitation ne recouvre plus la totalité de la largeur spectrale d'intérêt et l'observation des déplacements chimiques de l'éthanol devient impossible.

Cette dépendance entre RSB et bande passante des impulsions *hermite* reste largement inexpliquée. La variation du RSB étant la seule conséquence observée,

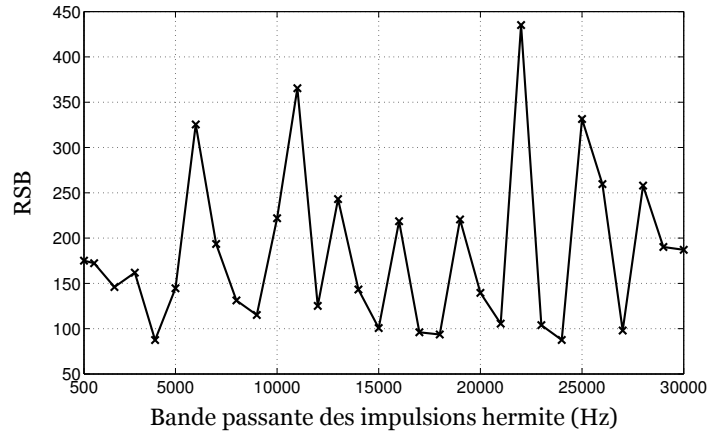


FIG. 2.14: Estimation du RSB pour un pic d'intérêt de l'éthanol pour une plage de bande passante allant de 500 Hz à 30 kHz.

une erreur dans l'implémentation des gradients « spoilers », plus particulièrement le gradient de déphasage de la première sélection spatiale, pourrait être à l'origine de ces observations. En effet, lorsque la bande passante d'une impulsion *hermite* est modifiée, sa durée l'est également, provoquant un recalcul des durées et des intensités des gradients de rephasage. Au vu du gain possible en terme de RSB, il est primordial d'identifier et de corriger l'origine de ce problème à l'avenir.

2.4.3.2 Atténuation de l'impulsion *Smoothed Chirp*

L'étape d'ajustement des impulsions *Smoothed Chirp* décrite au paragraphe 2.2.5 permet de déterminer l'atténuation optimale pour laquelle l'impulsion bascule les aimantions de 180° . Il est intéressant d'affiner l'ajustement par observation directe du premier spectre ultrarapide acquis. Afin de caractériser l'impact d'une « sous-calibration » (atténuation trop forte) et d'une « sur-calibration » (atténuation trop faible), des acquisitions ultrarapides ont été réalisées avec une atténuation variant de 40 à 5 dB par pas de 5 dB, 35 dB étant l'atténuation optimale estimée avec la séquence ufJPRESSadj.

Une première observation est que l'atténuation de l'impulsion *Smoothed Chirp* a un impact sur l'étalement du spectre ultrarapide (Fig. 2.15) : plus l'atténuation de l'impulsion est élevée, plus le spectre est étalé suivant la dimension ultrarapide. Pour des valeurs d'atténuation supérieures à 35 dB, il y a « sous-calibration » et le spectre présente un niveau de signal faible, des oscillations et l'apparition d'artefacts.

Pour des valeurs d'atténuation inférieures à 35 dB, il y a « sur-calibration » et le spectre devient difficile à interpréter. En pratique, dans ce cas, l'intensité des oscillations de type *sinc* accompagnant les pics ultrarapides (Cf. §1.5.3) s'accroît

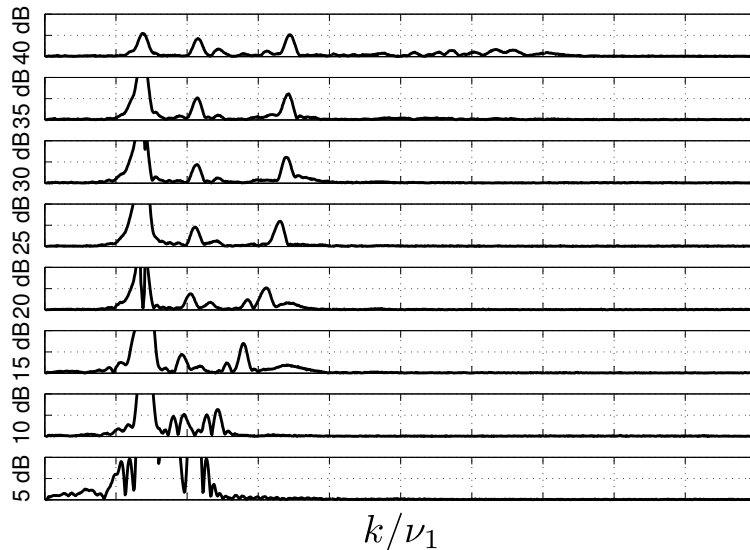


FIG. 2.15: Huit spectres 1D ultrarapides acquis sur un échantillon d'éthanol concentré à 10 % (m/m) sur un IRM *Bruker BioSpin 7 T* respectivement pour une impulsion *Smoothed Chirp* ayant une atténuation de 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10 et 5 dB. Les paramètres suivants ont été fixés : $TR=5$ s, $NA=1$, impulsion *Smoothed Chirp* de durée $\delta=15$ ms ($T_e=30$ ms) et de bande passante $\Delta O=25$ ppm, $G_e=4$ mT/m, $G_c=-100$ mT/m, $T_c=500$ μ s, $G_a=24$ mT/m, $T_a=15$ ms, $N_2=1$, module OVS désactivé, voxel de dimension 40 mm x 40 mm x 40 mm.

fortement. Dans le cas d'une très forte « sur-calibration » (5 dB), l'impulsion est alors émise avec une trop forte puissance et le signal acquis présente des formes de raies de type *sinc*, des distorsions spectrales importantes avec un étalement spectral minimal, rendant les données inexploitable.

Ainsi, l'ajustement de l'impulsion par observation directe du spectre ultrarapide est délicate à réaliser. Elle consiste à ajuster finement l'atténuation de l'impulsion à partir de la valeur obtenue avec la séquence *ufJPRESSadj* en tentant d'atteindre un compromis entre le RSB et l'intensité des lobes *sinc* des pics responsables des distorsions spectrales. La séquence *ufJPRESSadj* permet généralement d'atteindre l'atténuation optimale à 2 ou 3 dB près. L'ajustement par observation directe du spectre ultrarapide permet d'affiner la valeur obtenue à 0,5 ou 1 dB.

2.4.3.3 Ordre de directions d'excitation

Les signaux acquis avec la séquence *PRESS* dépendent peu de l'ordre d'excitation car les trois sélections spatiales sont réalisées de la même manière : émission d'une impulsion sélective *hermite* en présence d'un gradient. Dans le cas de la séquence *ufJPRESS*, l'une des sélections spatiales est réalisée lors de l'excitation continue. Afin

de caractériser l'impact sur le spectre ultrarapide du choix de la direction spatiale pour l'encodage ultrarapide, cinq acquisitions ont été réalisées pour lesquelles l'encodage ultrarapide a été réalisé suivant la direction X, Y et Z. L'ordre de sélection des coupes réalisées par les impulsions *hermite* a également été testé. Au final, les cinq ordres d'excitation testés sont : X-Z-Y, Y-X-Z, Y-Z-X, Z-X-Y et Z-Y-X.

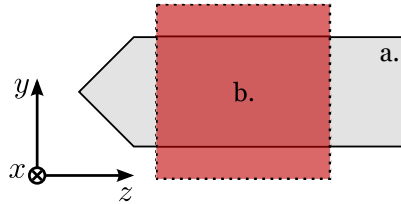


FIG. 2.16: Schéma illustrant le tube Falcon de 50 mL contenant la solution d'éthanol concentré à 10 % (m/m) (a) et le voxel sélectionné (b) dans le cadre des tests d'optimisation du paramètre *Excitation Order*.

La position et la taille du voxel ont été fixées de façon à couvrir largement les dimensions du tube suivant les directions X et Y (Fig. 2.16) et le module OVS a été désactivé. Cette configuration permet de vérifier la qualité de la sélection spatiale réalisée par le motif d'excitation continue lorsque ce dernier est employé pour sélectionner la coupe suivant la direction Z.

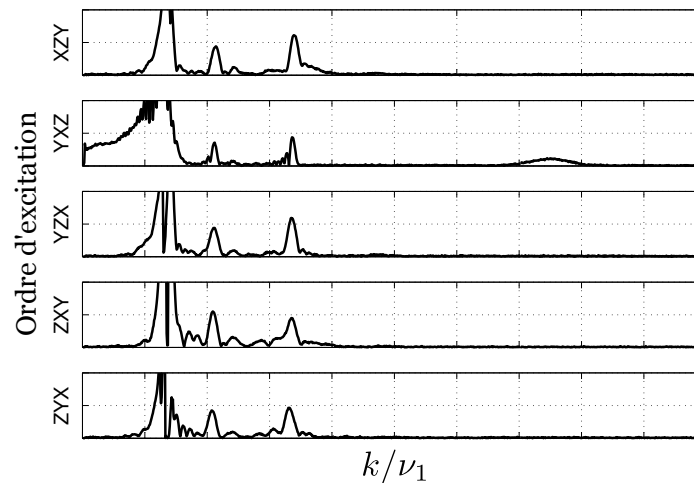


FIG. 2.17: Cinq spectres 1D ultrarapides acquis sur un échantillon d'éthanol concentré à 10 % (m/m) sur un IRM *Bruker BioSpin 7 T* pour un ordre d'excitation X-Z-Y, Y-X-Z, Y-Z-X, Z-X-Y et Z-Y-X. Les paramètres suivants ont été fixés : $TR=5$ s, $NA=1$, impulsion *Smoothed Chirp* de durée $\delta=15$ ms ($T_e=30$ ms) et de bande passante $\Delta O=25$ ppm, $G_e=4$ mT/m, $G_c=-100$ mT/m, $T_c=500$ μ s, $G_a=24$ mT/m, $T_a=15$ ms, $N_2=1$, module OVS désactivé, voxel de dimension 40 mm x 40 mm x 40 mm.

L'ordre d'excitation a globalement peu d'impact sur le spectre ultrarapide (Fig. 2.17). Selon la direction d'encodage ultrarapide, les formes de raies varient et le pic d'eau

est plus ou moins atténué. Toutefois, lorsque l'encodage ultrarapide est réalisé suivant la direction Z de l'espace (ordre d'excitation Y-X-Z), le spectre obtenu est caractérisé par une résolution spectrale légèrement supérieure, une distorsion importante des pics d'intérêt en *sinc* et la présence d'un artefact large en fréquence. Cet artefact qui apparaît uniquement pour un ordre d'excitation Y-X-Z met en évidence une sélection spatiale imparfaite suivant la direction Z. Ce signal non souhaité provient de l'extérieur de volume d'intérêt dans la direction Z. Le motif d'excitation continue ne permet donc pas une sélection spatiale efficace.

Des acquisitions réalisées sur une solution d'éthanol concentré à 10 % (m/m) contenue dans une sphère ont permis de vérifier de manière équitable la qualité de la sélection spatiale dans les trois directions de l'espace. Les résultats obtenus montrent que la sélection spatiale réalisée par le motif d'excitation ultrarapide présente une faiblesse dans les trois directions de l'espace et pas seulement dans la direction Z.

Pour résumer, l'ordre d'excitation doit être choisi selon la configuration géométrique de l'échantillon et la position du voxel. Ainsi, il est préférable de réaliser l'excitation ultrarapide suivant une direction selon laquelle une sélection spatiale performante n'est pas indispensable (directions X ou Y dans le cas la configuration illustrée à la Fig. 2.16. Dans tous les cas, l'activation du module OVS permet une forte réduction de l'intensité de ces artefacts (Cf. §2.4.1.2).

2.4.3.4 Dimensions du voxel

D'après l'expression du déphasage induit par le motif d'excitation de P. Pelupessy (Cf. §1.3.4), la longueur d'excitation L intervient dans l'encodage ultrarapide. Dans le cas de la séquence ufJPRESS, cette longueur L correspond au côté L_c du voxel sélectionné. Afin d'évaluer l'impact de la taille du voxel sélectionné sur le spectre ultrarapide, cinq acquisitions ont été réalisées avec un voxel de côté L_c variant entre 40 et 5 mm. Dans chaque cas, les paramètres d'excitation (principalement le gradient Ge) sont recalculés.

Les dimensions du voxel ont un impact sur l'étalement du spectre ultrarapide (Fig. 2.18) : plus les dimensions du voxel sont réduites, plus le spectre est étalé suivant la dimension ultrarapide. Cette observation est la conséquence directe de l'expression de la constante d'encodage C du motif proposé par P. Pelupessy. Pour des voxels de faibles dimensions, les signaux acquis peuvent présenter des caractéristiques similaires à une « sous-calibration » : faible RSB et étalement spectral important. Toutefois, dans ce cas, l'impulsion *Smoothed Chirp* est parfaitement calibrée. Pour compenser l'étalement spectral induit par une réduction des dimensions

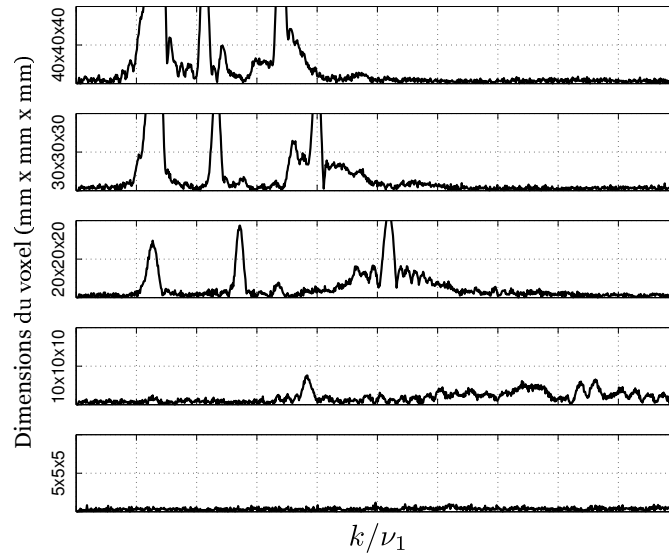


FIG. 2.18: Cinq spectres 1D ultrarapides acquis sur un échantillon d'éthanol concentré à 10 % (m/m) sur un IRM *Bruker BioSpin* 7 T acquis respectivement pour un voxel de côté 40, 30, 20, 10 et 5 mm. Les paramètres suivants ont été fixés : $TR=5$ s, $NA=1$, impulsion *Smoothed Chirp* de durée $\delta=15$ ms ($T_e=30$ ms) et de bande passante $\Delta O=25$ ppm, $G_c=-100$ mT/m, $T_c=500$ μ s, $G_a=24$ mT/m, $T_a=15$ ms, $N_2=1$, module OVS désactivé.

du voxel, il est indispensable d'augmenter le produit ($G_a \cdot T_a$). Il est préférable, dans la mesure du possible, d'augmenter l'intensité du gradient G_a et de conserver une durée T_a la plus courte possible.

2.4.4 Détection : forme de l'impulsion de refocalisation

Les acquisitions réalisées avec la séquence ufJPRESS mettent en évidence une faible sensibilité de la spectroscopie 2D J-résolue ultrarapide face à la spectroscopie conventionnelle (Cf. §2.6). Le faible RSB des spectres 2D ultrarapides J-résolus a plusieurs origines dont une décroissance trop rapide du signal suivant la dimension conventionnelle t_2 . Cette perte de signal lors de la détection a pour origine les imperfections de l'impulsion 180° rectangulaire de refocalisation.

Des tests ont été réalisés dans le but de remplacer cette impulsion 180° rectangulaire par une impulsion adiabatique, plus performante lorsqu'il s'agit de réaliser une refocalisation et moins sensible aux inhomogénéités de champ B_1 en comparaison avec les impulsions traditionnelles (Cf. § 1.3.2.1). Deux formes d'impulsions ont été sélectionnées :

- La forme d'impulsion adiabatique de type « universal rotation » [Luy *et al.*, 2005] construite à partir de l'impulsion BIBOP [Kobzar *et al.*, 2004]. Cette

impulsion de refocalisation a l'avantage d'être insensible aux inhomogénéités de champ B_1 .

- La forme d'impulsion adiabatique COCA construite suivant le schéma 121 [Hwang *et al.*, 1997] à partir d'une impulsion adiabatique utilisée à l'origine pour le découplage 1H en RMN ^{13}C isotopique [Tenailleau and Akoka, 2007]. Cette impulsion de refocalisation réclame moins de puissance.

Des acquisitions ont été réalisés en remplaçant l'impulsion rectangulaire de refocalisation par chacune de ces deux impulsions. Une acquisition de référence a été réalisée avec une impulsion rectangulaire de durée minimale. Lors de la reconstruction des spectres 2D J-résolus ultrarapides, le seuil minimal pour le calcul des contours a volontairement été abaissé afin d'observer le niveau de bruit et les artefacts présents.

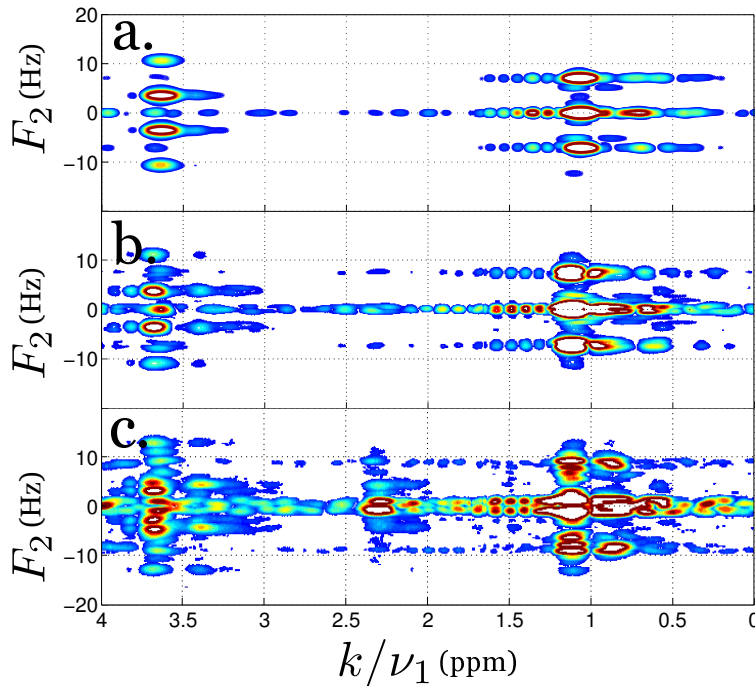


FIG. 2.19: Spectres 2D J-résolus ultrarapides acquis sur un échantillon d'éthanol concentré à 70 % (m/m) sur un IRM *Bruker BioSpin* 4,7 T avec pour impulsion de refocalisation en détection une impulsion de refocalisation de forme rectangulaire de durée $45 \mu s$ et d'atténuation 0,9 dB (a), une impulsion de refocalisation de forme BIBOP de durée $570 \mu s$ et d'atténuation 2,7 dB (b) et une impulsion de refocalisation de forme rectangulaire de durée 2,1 ms et d'atténuation 6 dB (c). Les paramètres suivants ont été fixés : $TR=10$ s, $NA=1$, impulsion *Smoothed Chirp* de durée $\delta=15$ ms ($T_e=30$ ms) et de bande passante $\Delta O=25$ ppm, $G_e=7,5$ mT/m, $G_c=-62,5$ mT/m, $T_c=500 \mu s$, $G_a=15$ mT/m, $T_a=6$ ms, $N_2=256$, module OVS désactivé, voxel de dimension 15 mm x 15 mm x 15 mm.

Le spectre obtenu avec l'emploi de l'impulsion 180° rectangulaire de refocalisation présente de nombreux d'artefacts (Fig. 2.19a). De nombreux signaux résiduels pour

$\nu_2=0$ Hz sont observés malgré l'implémentation du cycle de phase et des oscillations de forme *sinc* accompagnant les pics d'intérêt. Toutefois, des artefacts présents pour des fréquences ν_2 non nulles sont également présents mettant en évidence les effets de la refocalisation imparfaite réalisée par l'impulsion 180° rectangulaire lors de la détection.

L'utilisation des impulsions adiabatiques ne permet pas d'atténuer l'intensité des artefacts évoqués précédemment (Fig. 2.19b et c) et va plutôt multiplier leur nombre. Des tests ont également été réalisés avec l'utilisation d'impulsions composites de type $(90^\circ - 180^\circ - 180^\circ)$ avec un cycle de phase $[\Phi_{90}, \Phi_{180}, \Phi_{90}] = [y, x, y]$ (Fig. 2.20). Les spectres obtenus (non représentés ici) présentaient un RSB plus faible qu'avec une simple impulsion rectangulaire.

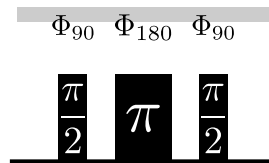


FIG. 2.20: Motif de l'impulsion composite de refocalisation. Trois impulsions rectangulaires $(90^\circ - 180^\circ - 180^\circ)$ sont émises successivement avec un cycle de phase $[\Phi_{90}, \Phi_{180}, \Phi_{90}] = [y, x, y]$.

En résumé, l'emploi d'une impulsion rectangulaire de refocalisation représente le meilleur compromis en termes de RSB, d'artefacts présents sur le spectre et de largeur spectrale suivant la dimension conventionnelle F_2 .

2.4.5 Accumulation des signaux

Une solution d'éthanol concentré à 10 % (m/m) correspond environ à une concentration de 2 mol/L. Pour des concentrations plus faibles, les spectres 2D J-résolus ultrarapides obtenus présentent, à l'heure actuelle, un RSB insuffisant pour identifier les espèces chimiques présentes. Pour accroître le RSB des signaux, une technique simple consiste à réaliser plusieurs fois l'acquisition avec les mêmes paramètres et à moyenner les signaux obtenus. Le nombre d'accumulations et donc d'acquisitions est fixé avec le paramètre NA .

Afin de vérifier si cette technique est compatible avec la séquence ufJPRESS, il est indispensable de vérifier si le bruit est centré en zéro. Pour cela, huit acquisitions identiques ont été réalisées avec un nombre d'accumulations variant de 1 (pas d'accumulation) à 8. L'écart-type du bruit a été estimé pour chacun des huit

spectres 2D J-résolus ultrarapides obtenus et a été représenté en fonction du nombre d'accumulations NA (Fig. 2.21).

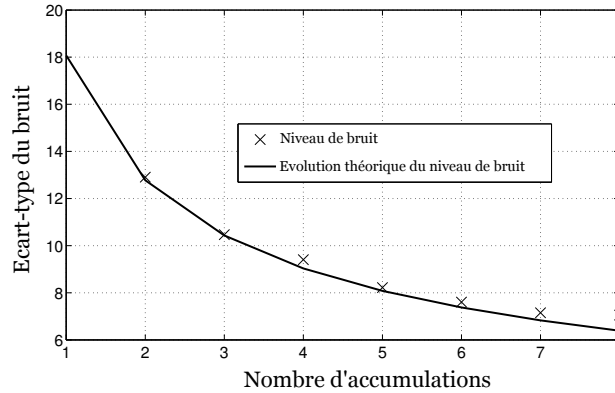


FIG. 2.21: Niveau de bruit moyen estimé sur les spectres 2D J-résolus ultrarapides acquis sur un échantillon d'éthanol concentré à 10 % (m/m) sur un IRM *Bruker BioSpin 7 T* et niveau de bruit théorique en fonction du nombre d'accumulations des données. Les paramètres suivants ont été fixés : $TR=5$ s, impulsion *Smoothed Chirp* de durée $\delta=15$ ms ($T_e=30$ ms) et de bande passante $\Delta O=25$ ppm, $G_e=18$ mT/m, $G_c=-160$ mT/m, $T_c=700$ μ s, $G_a=160$ mT/m, $T_a=6$ ms, $N_2=256$, module OVS désactivé, voxel de dimension 4 mm x 4 mm x 4 mm.

La décroissance du niveau de bruit estimé sur les données expérimentales respecte globalement la décroissance théorique en $(\sqrt{NA})^{-1}$. Toutefois, pour un grand nombre d'accumulations, le niveau de bruit estimé s'écarte légèrement du modèle théorique (Fig. 2.21). Cet écart met en évidence la présence de signaux résiduels d'une autre nature que du bruit gaussien sur les spectres 2D ultrarapides. Comme évoqué dans les paragraphes précédents, divers artefacts sont présents sur le spectre 2D ultrarapide et la procédure qui consiste à accumuler les signaux entraîne donc une légère augmentation de leur intensité.

2.5 Reconstruction des signaux

La procédure de reconstruction permet, à partir des données acquises « brutes », l'obtention d'un spectre RMN 2D J-résolu ultrarapide. Cette étape est indispensable et intervient après l'acquisition des données. C'est la raison pour laquelle les procédures de reconstruction sont généralement directement accessible depuis la console *Paravision*.

Toutefois, la procédure de reconstruction des données spectroscopiques ultrarapides a été programmée à l'aide de *MATLAB 7* afin de faciliter la mise au point

des différents traitements numériques. De plus, afin d'anticiper le développement d'algorithmes pour la quantification de spectres 2D J-résolus ultrarapides, la procédure de reconstruction et les fonctions associées ont été intégrées à l'ensemble des fonctions déjà développées relatives à la quantification des signaux spectroscopiques conventionnels.

2.5.1 Procédure de reconstruction

La procédure de reconstruction des spectres 2D J-résolus ultrarapides est basée sur la méthode décrite au paragraphe 1.5. En théorie, les données paires et impaires sont séparées afin de conserver un échantillonnage régulier suivant la dimension conventionnelle t_2 . Ainsi, deux spectres 2D ultrarapides, respectivement pair et impair, sont ensuite reconstruits en parallèle pour être au final moyennés en un seul spectre.

En pratique, les signaux pairs et impairs ne sont pas identiques et leur moyennage peut induire l'élargissement des raies et donc une détérioration de la résolution suivant les deux dimensions spectrales. Pour cette raison, la procédure de reconstruction détaillée dans les paragraphes suivants ne procède pas à la séparation des données paires et impaires. L'impact de l'échantillonnage irrégulier suivant la dimension conventionnelle t_2 est négligé ce qui permet la simplification du traitement numérique et entraîne l'accroissement de la largeur spectrale suivant la dimension F_2 . Certes, ce choix est discutable et les conséquences inévitables en termes de distorsion de phase sont discutées au paragraphe 2.5.4.

La procédure de reconstruction débute par quatre opérations simples de traitement du signal listés ci-dessous. Les opérations suivantes sont détaillées dans les paragraphes suivants.

1. Lecture des données acquises et des paramètres de séquence nécessaires à la reconstruction (N_1 , N_2 , T_d , etc.)
2. Somme des signaux par groupe de 2 du fait de l'implémentation du cycle de phase évoqué au paragraphe 2.3.2.4
3. Moyennage des NA signaux acquis
4. Inversion de l'ordre des échantillons des signaux impairs

2.5.2 Suppression des artefacts de « bords »

Selon les conditions d'acquisition, des artefacts de forte intensité peuvent être présents en début ($t=0$) et en fin ($t = T_a$) de tous les signaux ultrarapides (Cf. §2.4.1.2). Lors de l'acquisition, les paramètres de détection G_c , G_a et T_a doivent être ajustés dans le but de centrer les pics d'intérêt dans la fenêtre d'acquisition sans chevauchement avec ces artefacts. Ces artefacts, d'intensité parfois plus élevée que l'intensité du signal d'intérêt lui-même, ralentissent le traitement des données et principalement l'affichage des contours.

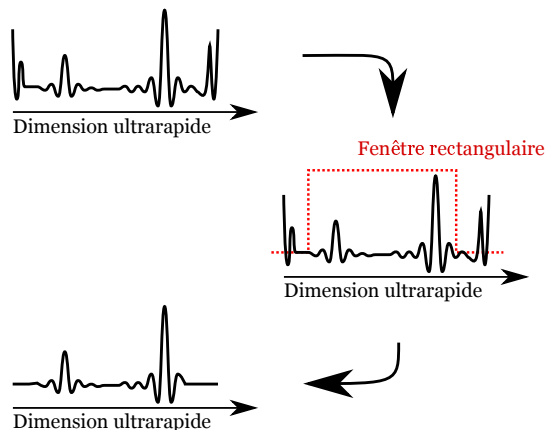


FIG. 2.22: Principe de la suppression des artefacts de « bords ». Chaque signal ultrarapide acquis est multiplié par une fenêtre rectangulaire.

La suppression de ces artefacts est réalisée par la multiplication du signal suivant la dimension ultrarapide par une simple fenêtre rectangulaire (Fig. 2.22). La largeur temporelle de la fenêtre doit être ajustée de façon à conserver les pics d'intérêt en supprimant les signaux non souhaités en début et en fin de signal.

2.5.3 Recalage automatique par inter-corrélation

Les signaux ultrarapides pairs et impairs se différencient par l'ordre des échantillons. En pratique, il arrive que ces signaux présentent également un décalage de quelques dizaines de microsecondes. Une représentation temps-fréquence du spectre ultrarapide (Fig. 2.23) illustre ce décalage et son impact similaire à l'effet « peigne » observé sur les images vidéo entrelacées. Lors de l'étape finale de la procédure de reconstruction, une transformée de Fourier est appliquée suivant la dimension conventionnelle t_2 du signal 2D acquis. Il est donc indispensable de recalibrer les signaux pairs et impairs avant cette opération afin d'éviter des distorsions majeures dans le plan $(k/\nu_1, F_2)$.

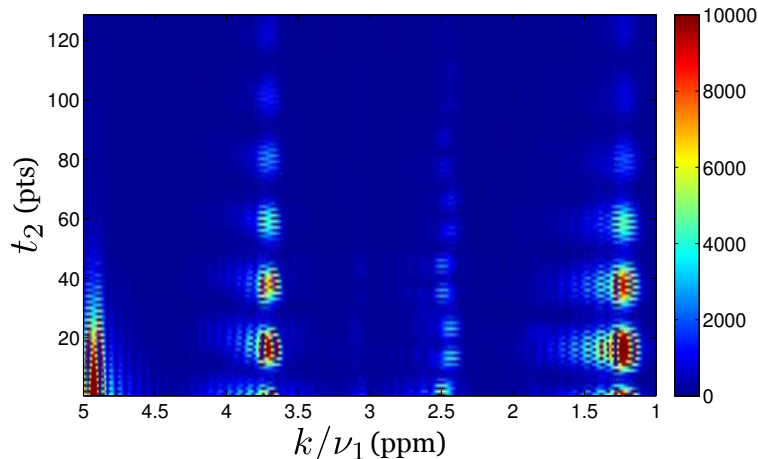


FIG. 2.23: Spectre RMN 2D J-résolu ultrarapide (représentation temps-fréquence) acquis sur un échantillon d'éthanol concentré à 10 % (m/m) sur un IRM *Bruker BioSpin 7 T* sans recalage des signaux pairs et impairs. Les paramètres suivants ont été fixés : $TR=10$ s, $NA=16$, impulsion *Smoothed Chirp* 180° de durée $\delta=15$ ms ($T_e=30$ ms) et de bande passante $\Delta O=25$ ppm, $G_e=24$ mT/m, $G_c=-160$ mT/m, $T_c=600$ μ s, $G_a=72$ mT/m, $T_a=4$ ms, $N_2=128$, voxel de dimension 8 mm x 8 mm x 8 mm.

Le recalage est réalisé de manière automatique. Pour cela, la fonction d'inter-corrélation entre l'ensemble des signaux pairs et impairs est calculée numériquement. Le résultat donne une indication sur le décalage à réaliser pour recaler les signaux. Le recalage peut également être effectué manuellement par observation directe du spectre 2D J-résolu ultrarapide dans le domaine d'acquisition ultrarapide ($k/\nu_1, t_2$). Les deux possibilités ont été implémentées dans la procédure de reconstruction.

2.5.4 Approche pour la correction de phase

Comme évoqué précédemment, la procédure de reconstruction ne réalise pas de séparation des données paires et impaires. Par conséquent, l'échantillonnage suivant la dimension conventionnelle t_2 demeurant irrégulier, de par la nature du motif de détection de type EPI (Cf. §1.4.2), le spectre 2D ultrarapide reconstruit présente des distorsions en phase suivant les deux dimensions spectrales k/ν_1 et F_2 .

Dans la mesure où les signaux pairs et impairs ne sont pas séparés, plusieurs approches sont possibles pour corriger ces distorsions de phase. Une première approche, inspirée de l'imagerie écho planar, consisterait à modifier le motif de détection de la séquence ufJPRESS en ajoutant des gradients de type « blip » afin de réaliser un remplissage cartésien du plan spectroscopique ultrarapide ($k/\nu_1, t_2$). Une autre approche, moins robuste, serait la mise au point d'un traitement numérique des données de type « regridding » afin de réaliser une interpolation 2D du signal vers

une grille d'échantillonnage régulier. Une approche similaire, consistant à faire appel à la transformée de Fourier « entrelacée » [Bracewell, 1986], semble également prometteuse [Mishkovsky and Frydman, 2005].

La procédure de reconstruction proposée intègre une correction des distorsions de phase présentes suivant la dimension F_2 . Elle est basée sur les techniques développées pour l'imagerie écho planar. En effet, les signaux acquis avec cette technique font également l'objet de distorsions de phase induisant des images fantômes (« ghosts ») suivant la dimension conventionnelle après reconstruction. L'évolution de la phase des signaux suivant la dimension t_2 est estimée numériquement pour un pic d'intérêt (Fig. 2.24a). Les 40 premiers signaux ultrarapides acquis ($N_2 = 128$) induisent une distorsion de la phase quasi-périodique, ce qui vérifie le déphasage constant existant entre les signaux pairs et impairs. Les derniers spectres ultrarapides présentent une évolution aléatoire du fait du manque de robustesse de l'estimation et du déroulement de la phase lorsque le RSB est faible.

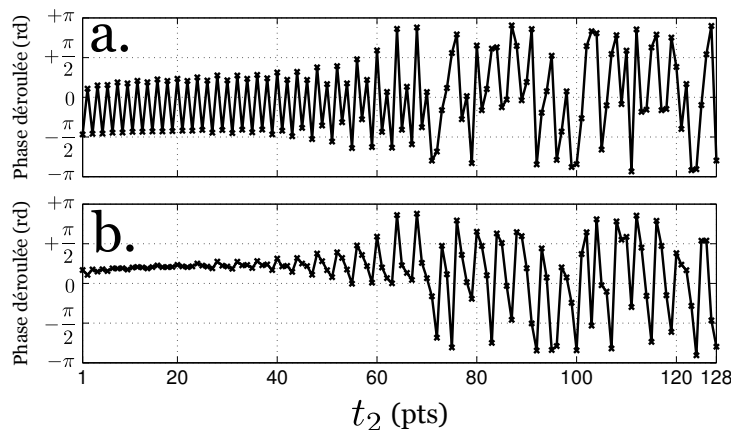


FIG. 2.24: Evolution de la phase déroulée estimée sur le pic CH_3 suivant la dimension conventionnelle t_2 sans correction de phase (a) et avec correction de phase (b). L'estimation de la phase a été réalisée sur les données d'un spectre RMN 2D J-résolu ultrarapide acquis sur un échantillon d'éthanol concentré à 10 % (m/m) sur un IRM *Bruker BioSpin* 7 T. Les paramètres suivants ont été fixés : $TR=10$ s, $NA=1$, impulsion *Smoothed Chirp* 180° de durée $\delta=15$ ms ($T_e=30$ ms) et de bande passante $\Delta O=25$ ppm, $G_e=24$ mT/m, $G_c=-160$ mT/m, $T_c=600$ μ s, $G_a=72$ mT/m, $T_a=4$ ms, $N_2=128$, voxel de dimension 8 mm x 8 mm x 8 mm.

La correction de phase consiste à linéariser l'évolution de la phase suivant la dimension t_2 par la multiplication d'un terme de phase $e^{(j \cdot \Phi_c)}$ avec les signaux impairs. Après correction, l'évolution de la phase se rapproche d'une valeur constante pour les premiers spectres acquis (Fig. 2.24b), réduisant fortement l'intensité des pics fantômes après reconstruction du spectre 2D ultrarapide.

Cette approche permet la réduction des distorsions de phase suivant la dimension conventionnelle t_2 et par conséquent, la diminution de l'intensité des pics « fantômes » et la hausse en RSB des pics d'intérêt présents sur le spectre 2D ultrarapide. Néanmoins, elle ne permet pas la correction des distorsions de phase touchant la dimension ultrarapide k/ν_1 . Par conséquent, il est souvent difficile de corriger tous les pics d'intérêt présents sur un spectre 2D. Au vu du gain possible en terme de RSB, l'amélioration de cette étape de correction de phase lors de la reconstruction des données demeure primordiale.

2.5.5 Apodisation spatiale optimisée des signaux

L'apodisation spatiale, décrite au paragraphe 1.5.3, est un traitement numérique simple permettant la réduction des oscillations de type *sinc* qui contribuent au niveau de bruit des signaux acquis. La largeur de la fenêtre d'apodisation spatiale doit être ajustée afin d'augmenter le RSB au maximum sans réduire la résolution spectrale. L'ajustement manuel de ce paramètre est délicat et risque d'introduire un biais dans la procédure de reconstruction. Cette dernière n'est alors plus reproductible et la comparaison de deux spectres ultrarapides en termes de RSB et de résolution spectrale est impossible. Pour cette raison, une procédure automatique d'apodisation spatiale a été mise au point.

$$c = (\delta\hat{\nu}^{\frac{1}{2}} - \delta\nu_{max}^{\frac{1}{2}})^2 \quad (2.5)$$

La procédure automatique d'apodisation spatiale détermine la largeur optimale de la fenêtre d'apodisation pour laquelle la fonction de coût c (2.5) est minimisée. Cette fonction calcule l'écart de la somme au carré entre l'estimation de la largeur de raie du spectre apodisé $\delta\hat{\nu}^{\frac{1}{2}}$ et une largeur de raie maximale acceptable $\delta\nu_{max}^{\frac{1}{2}}$. Ce dernier paramètre est défini par l'utilisateur et permet de limiter la perte en résolution spectrale. En pratique, les résultats obtenus dépendent fortement des conditions d'acquisition du spectre mais permettent généralement de multiplier le RSB d'environ 2,5 pour une perte en résolution spectrale d'environ 1 ou 2 Hz avec l'emploi du fenêtre d'apodisation de type gaussienne (Fig. 2.25).

Derrière l'appellation d'apodisation spatiale se cache en réalité un filtre numérique passe bande dont la bande-passante et la réponse en fréquence correspondent respectivement à la largeur et la forme de la fenêtre d'apodisation. Il est utile de remarquer que la console *Paravision* réalise automatiquement un filtrage numérique similaire lors de l'acquisition des signaux spectroscopiques. Peu d'informations tech-

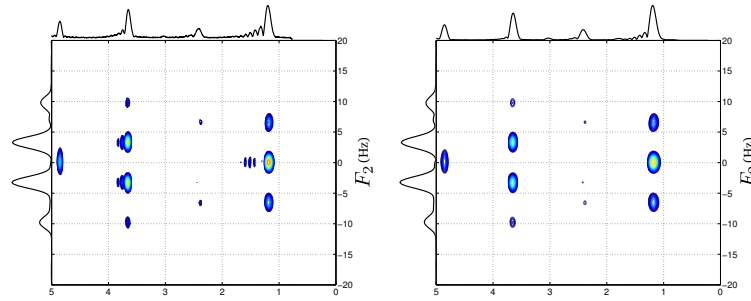


FIG. 2.25: Spectres RMN 2D J-résolus ultrarapides acquis sur un échantillon d'éthanol concentré à 10 % (m/m) sur un IRM *Bruker BioSpin* 7 T reconstruits sans apodisation spatiale (a) et avec apodisation spatiale (b) (fenêtre de type *gauss* avec $\delta\nu_{max}^{\frac{1}{2}}=6$ Hz). Les paramètres suivants ont été fixés : $TR=10$ s, $NA=2$, impulsion *Smoothed Chirp* 180° de durée $\delta=15$ ms ($T_e=30$ ms) et de bande passante $\Delta O=25$ ppm, $G_e=22$ mT/m, $G_c=-156$ mT/m, $T_c=600$ μ s, $G_a=70$ mT/m, $T_a=4$ ms, $N_2=128$, voxel de dimension 8 mm x 8 mm x 8 mm. Le profil suivant la dimension F_2 du quadruplet situé à 3,67 ppm est représenté sur l'axe vertical.

niques sont disponibles à ce sujet dans les documentations *Bruker* mais des tests expérimentaux ont permis de montrer que les bandes passantes de ces filtres sont beaucoup plus larges que les largeurs spectrales d'intérêt. Dans tous les cas, il est préférable de désactiver ces filtres numériques (mode *Analog* dans *Paravision*).

2.5.6 Transformée de Fourier suivant la dimension conventionnelle

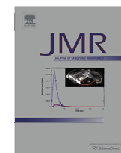
Suite à l'apodisation spatiale, la procédure de reconstruction s'achève par l'application d'une transformée de Fourier suivant la dimension conventionnelle t_2 du signal spectroscopique 2D. Cette étape, également présente lors de la reconstruction d'un spectre 2D J-résolu conventionnelle, peut être précédée d'une apodisation traditionnelle suivant la dimension t_2 de forme *Hamming* ou *Hanning*. Ce traitement permet de supprimer les discontinuités induites par les premiers et derniers signaux ultrarapides acquis.

2.6 Validation expérimentale

Une validation expérimentale des performances de la séquence ufJPRESS a été réalisée et a fait l'objet d'une publication dans le journal « *Journal of Magnetic Resonance* » en 2012 [Roussel *et al.*, 2012]. Les travaux présentés dans cette publi-

cation portent sur trois points essentiels. Les premiers résultats présentés concernent l'optimisation de la durée d'excitation T_e pour l'obtention de spectres 2D J-résolus ultrarapides localisés. La durée d'excitation est ajustée afin d'atteindre un compromis en termes de RSB et de résolution spectrale. Le deuxième point abordé dans la publication concerne les performances de la SRM 2D J-résolue ultrarapide en comparaison à la spectroscopie 2D J-résolue conventionnelle en termes de durée d'acquisition et de résolution spectrale.

Les travaux relatifs à la SRM 2D ultrarapide présentés précédemment font tous l'objet d'acquisition sur des solutions à base d'éthanol. Afin de valider l'intérêt de la séquence ufJPRESS pour une future application *in vivo*, le troisième et dernier point abordé dans la publication présente les premiers résultats d'acquisition spectroscopique 2D J-résolue ultrarapide localisée sur un tube bi-compartmental, dit « fantôme » contenant une solution de GABA et une solution d'éthanol pur. Une description du fantôme est donné en annexe A.2.3.



3D localized 2D ultrafast J-resolved magnetic resonance spectroscopy: *In vitro* study on a 7T imaging system

T. Roussel^{a,*}, P. Giraudeau^b, H. Ratiney^a, S. Akoka^b, S. Cavassila^a

^aCREATIS CNRS UMR 5220 Inserm U1044, Université de Lyon 1, Université de Lyon, Lyon, France

^bCEISAM UMR CNRS 6230, Université de Nantes, Nantes, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 4 November 2011

Revised 14 December 2011

Available online 23 December 2011

Keywords:

2D spectroscopy

Ultrafast NMR

Spatial encoding

Imaging

ABSTRACT

2D Magnetic Resonance Spectroscopy (MRS) is a well known tool for the analysis of complicated and overlapped MR spectra and was therefore originally used for structural analysis. It also presents a potential for biomedical applications as shown by an increasing number of works related to localized *in vivo* experiments. However, 2D MRS suffers from long acquisition times due to the necessary collection of numerous increments in the indirect dimension (t_1). This paper presents the first 3D localized 2D ultrafast J-resolved MRS sequence, developed on a small animal imaging system, allowing the acquisition of a 3D localized 2D J-resolved MRS spectrum in a single scan. Sequence parameters were optimized regarding Signal-to-Noise ratio and spectral resolution. Sensitivity and spatial localization properties were characterized and discussed. An automatic post-processing method allowing the reduction of artifacts inherent to ultrafast excitation is also presented. This sequence offers an efficient signal localization and shows a great potential for *in vivo* dynamic spectroscopy.

© 2011 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

The basic theory of Two-Dimensional (2D) J-resolved NMR spectroscopy was developed in 1976 [1] in order to achieve homonuclear broad band decoupling of NMR spectra of molecules in solution. Like the 2D COSY experiment, the 2D J-resolved experiment became a powerful tool for elucidating complex molecular structures, especially for weak scalar coupling systems. A 2D J-resolved pulse sequence gives rise to a phase-modulated 2D signal which allows, after 2D Fourier transform, to separate chemical shifts along one axis, and spin–spin coupling frequencies on the second axis. A 2D J-resolved spectrum shows an increased dispersion of NMR resonances versus a traditional overcrowded 1D NMR spectrum. As a consequence, metabolites are more likely to be identified and quantification is therefore more accurate [2,3]. 2D JPRESS *in vivo* acquisition was first reported by Ryner et al. in 1995 [4] and opened the way for a better analysis of complicated, overlapped, short-echo time *in vivo* MR spectra. This led to numerous works related to *in vivo* experiments mainly concentrated on metabolic profiling of human brain [5–8] and prostate [9–12] with different degrees of localization. Many studies on animal models were reported, mainly on mouse [13,14] and rat brain [15].

However, 2D MR spectroscopy (MRS) suffers from long acquisition times due to the necessary collection of numerous increments

in the indirect dimension (t_1) to obtain spectra with an adequate Signal-to-Noise (S/N) ratio and a good resolution. These numerous transients result in long scan times which are ill-suited for *in vivo* applications. Beyond experiment duration, this incrementation procedure makes 2D J-resolved MRS very sensitive to motion and temporal instabilities, leading in particular to large noise ridges along the t_1 dimension [16].

Recently, original ultrafast 2D acquisition schemes have been proposed to collect the 2D NMR data within a single scan [17]. The ultrafast concept translates the indirect-domain evolution characterizing a 2D NMR acquisition from its traditional temporal dependence into a spatial dependence. This spatial dependence is obtained by the application of gradients endowing spins at different positions with different resonance frequencies making possible for frequency-selective radiofrequency pulses to manipulate the spins. Provided that the pulse sequence is appropriately designed, any kind of multi-dimensional correlation can in principle be obtained in a single scan. Major improvements have been achieved concerning this ultrafast excitation scheme [18–24] especially using chirp pulses [25]. Up to now, these techniques have been applied mainly to organic chemistry [26], analytical chemistry [27] and structural biology [28]. A first *ex vivo* brain study using a NMR spectrometer was achieved by Sela et al. [29] in 2004.

Until now, ultrafast spectroscopic sequences have been implemented on standard spectrometers equipped with one (G_z) or two magnetic field gradients (G_z and G_y). Very few studies have reported localized ultrafast experiment [30,31]. In this paper, for

* Corresponding author.

E-mail address: tangi.roussel@creatis.univ-lyon1.fr (T. Roussel).

the first time, we present a 3D localized 2D ultrafast J-resolved spectroscopic sequence. Sequence parameters were optimized regarding S/N ratio and spectral resolution. Sensitivity and spatial localization properties were evaluated on model *in vitro* samples. Finally, an automatic post-processing method was developed to reduce artifacts inherent to ultrafast excitation.

2. Method

2.1. Pulse sequence

The proposed ultrafast JPRESS sequence, named ufJPRESS, is based on constant-time phase-modulated spatial encoding (Fig. 1). The core of the pulse sequence consists of a modified version of the ultrafast excitation scheme proposed by Pelulessy [25] and the EPI-based detection scheme proposed by Giraudeau and Akoka [32]. The pulse sequence starts with a water suppression module (VAPOR) combined with a slice saturation module (OVS). These modules are followed by the proposed 3D localized 2D ultrafast J-resolved excitation scheme. The 3D spatial encoding is based on a PRESS scheme involving the original 90° and 180° slice selective pulses which perform a selection along two spatial dimensions (X and Z in the case of Fig. 1). Hermite shape allows a good compromise between the requirements of a simple pulse shape with low power requirements and a good slice profile. As in the PRESS sequence, hermite-shaped soft selective pulses are used.

180° chirp pulses surround the third selective pulse of the PRESS scheme. These 180° chirp pulses have opposite linear frequency ramps and are applied respectively during inverted magnetic field gradients ($\pm G_z$). The combination of these two chirp pulses spatially encodes the chemical shift information along the third spatial dimension (Y in the case of Fig. 1). The direction of the ultrafast encoding scheme can be set to one of the three spatial dimensions (X, Y or Z). The chirp pulse bandwidth $\delta\nu^{chirp} = (O_f^+ - O_f^-)$ is about 20% larger than the dispersion induced by the gradient in order to reduce edge effects. A second identical chirp pulse, applied during an opposite gradient, is necessary to compensate for the quadratic dephasing created by the first one [25].

Prior to the acquisition, 180° chirp pulses were calibrated using a 3D localized spin-echo based sequence. This sequence consists in performing an ultrafast excitation (180° chirp pulse applied during

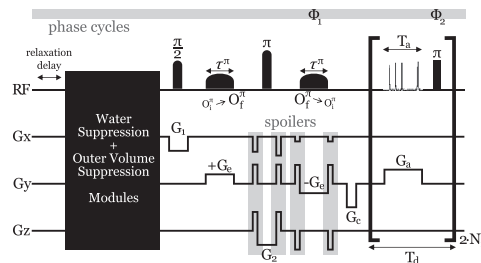


Fig. 1. Proposed ultrafast JPRESS pulse sequence (ufJPRESS) for *in vivo* 3D localized 2D J-resolved ultrafast spectroscopy. The pulse sequence starts with a combination of VAPOR and OVS modules, followed by the localized ultrafast excitation scheme. The 3D spatial encoding is based on a PRESS scheme involving the original 90° and 180° slice selective pulses, the gradients G_1 and G_2 , the slice rephase and the spoiler gradients. Two 180° chirp pulses and their respective bipolar gradients $+G_z$ and $-G_z$ were added in order to spatially encode the chemical shift information. The EPI-based detection scheme is preceded by a shifting gradient G_a . Detection consists in a readout gradient G_a and a 180° refocusing pulse. This scheme is repeated $2N_1$ times where N_1 is the number of increments along the t_1 dimension. Two phase cycles ϕ_1 and ϕ_2 were respectively implemented on the second 180° chirp pulse and on the 180° hard pulse in order to reduce undesired signals.

a $+G_z$ gradient) followed by a spatially localized spin-echo scheme (90° and 180° hermite pulses). An echo signal is acquired during a readout gradient and is Fourier transformed to obtain the ultrafast excitation profile. The calibration process consists in optimizing the 180° chirp pulse attenuation in order to completely invert the acquired profile.

The EPI-based detection scheme is preceded by a shifting gradient G_a to adjust the position of the spectral window. The EPI bipolar gradients have been replaced by a positive acquisition gradient G_a followed by a 180° refocusing pulse [32]. A short rectangular pulse was chosen, first because all resonance frequencies needed to be affected simultaneously, and also because a longer pulse would have increased the detection scheme duration T_d , thus reducing the spectral width in the conventional dimension.

Two phase cycles ϕ_1 and ϕ_2 were introduced in the sequence in order to reduce undesired signals. Imperfections of the 180° hard pulse used in the detection scheme can lead to spurious stimulated echoes. A $[+y, +y, -y, -y]$ pulse phase cycle (ϕ_1) is applied during the echo train in order to compensate these cumulated effects [32]. Moreover, a simple $[+x, +y]$ phase cycle (ϕ_2) is implemented on the second chirp pulse, alternating the receiver phase, in order to reduce constant undesired signals mainly present at $F_1 = 0$ Hz on the 2D ultrafast J-resolved spectrum. This last phase cycle requires a minimum number of 2 accumulations.

2.2. Excitation duration optimization

The spectral resolution in the ultrafast dimension depends on the excitation scheme. Giraudeau and Akoka [33] demonstrated that the highest resolution, that is the lowest full width at half maximum $\delta\nu^{1/2}$ in the ultrafast dimension, is obtained with Pelulessy's scheme. Spectral resolution can be improved by adapting the excitation duration $T_e = 2\tau^\pi$ where τ^π is the chirp pulse duration. This dependence has been fully described by Giraudeau and Akoka [33] and is illustrated by the equation

$$\delta\nu^{1/2} \approx \frac{1.21}{LC}$$

knowing the Pelulessy's spatio-temporal encoding constant $C = \frac{2\tau^\pi}{L}$ and the voxel thickness L along the ultrafast spatial encoding dimension. Tests were performed in order to optimize the ultrafast 2D J-resolved spectroscopic sequence parameters. These tests consisted in selecting the optimized T_e from the range [10;100] ms in order to reach the best compromise between S/N ratio and resolution. Special care has been taken to maintain the ultrafast peaks at the same temporal position in the detection window by adjusting the gradients strength G_a and G_c and the gradient duration T_c . The 180° chirp pulses have been carefully calibrated for each excitation duration tested. S/N ratio estimations were achieved in the frequency plan (F_2F_1) on the ethanol CH_3 peak for $F_1 = 7.1$ Hz. The model sample consisted of a concentrated ethanol solution (70% w/w in water).

2.3. Spectral resolution: ultrafast versus conventional 2D J-resolved spectroscopy

A comparative study was carried out to evaluate spectral resolution of conventional and ultrafast 2D J-resolved spectra. The spectral resolution along F_1 dimension depends on the number of increments n_{t_1} along the t_1 dimension. 128 transients were acquired using conventional and ultrafast 2D J-resolved spectroscopy. A minimum number of data accumulation was performed in both cases ($NA = 2$). The model sample consisted of a concentrated ethanol solution (10% w/w in water).

2.4. Voxel localization

One of the key features of uǰPRESS is its 3D spatial voxel localization property. Whereas recent studies related to ultrafast excitation reported 1D or 2D spatial localization [30,31], uǰPRESS performs a complete voxel spatial selection in the three dimensions of space. To evaluate the localization efficiency of the uǰPRESS sequence, tests were performed on a GABA (γ -aminobutyric acid) *in vitro* phantom. This phantom was purpose-built for localization tests: it consisted of a 1.5 mL tube containing a GABA solution (10% w/w in water) placed at the center of a 50 mL tube of pure ethanol. The localization test consisted in collecting the ultrafast signal from a voxel placed in the 1.5 mL tube and checking the residual signal of ethanol on the 2D ultrafast J-resolved spectrum of GABA. This method allows us to demonstrate the efficient 3D spatial volume selection of the sequence.

2.5. Post-processing procedure

Data reconstruction was processed by a home-made Matlab algorithm. It consisted in reading and accumulating the odd and even data signals, inverting the sample order in the even data signals in the ultrafast dimension and realigning the odd and even spectra by cross-correlation. About 100 data points are truncated at the beginning and at the end of the ultrafast signals in order to suppress edge effects induced by the acquisition gradient G_x .

Odd and even data signals are usually shifted in phase leading to a phase modulation along t_1 dimension. This phase distortion induces spectral EPI ghost artifacts after applying the Fourier transformation along the t_1 dimension. The even data signals are rephased in order to linearize phase along t_1 dimension and thus reducing the spectral ghost artifacts along F_1 dimension.

All peaks present on a 2D ultrafast J-resolved spectrum are characterized by asymmetric sinc shapes along the ultrafast dimension. These asymmetric sinc wiggles are inherent to ultrafast MR experiments and have been fully described by Shapira et al. [34]. Recently, Giraudeau and Akoka described an approach to reduce them using simple signal processing tools [35]. First, ultrafast signals are inverse Fourier transformed along the ultrafast dimension to obtain ultrafast signals in the spatial encoding domain. An apodization function is then applied, followed by a Fourier transform.

S/N ratio and linewidth are highly conditioned by the spatial apodization window width. Generally, the S/N ratio is greatly improved by applying an apodization window leading in return to a decrease of resolution. Moreover, some of the previous tests related to sequence optimization required comparing S/N ratio and linewidth estimations of several 2D ultrafast J-resolved spectra acquired with different acquisition parameters. In order to fairly compare these ultrafast spectra, the data reconstruction, which includes spatial apodization, must have an equivalent fallout on resolution from one spectrum to another.

For this reason, we developed an automatic procedure based on the method described above in order to optimize the spatial apodization window width. A simple linear optimization procedure (MATLAB 7) evaluates the optimal apodization window width by minimizing a cost function defined by the equation

$$c = \left(\delta v^{\frac{1}{2}} - \delta v_{\max}^{\frac{1}{2}} \right)^2$$

where $\delta v^{\frac{1}{2}}$ and $\delta v_{\max}^{\frac{1}{2}}$ correspond respectively to the estimated linewidth of user-defined 2D peak on the apodized ultrafast spectrum and a maximum acceptable linewidth. Thereby, S/N ratio is improved while the linewidth increase is limited by the user. When performed with a low value for $\delta v_{\max}^{\frac{1}{2}}$ (2 Hz), this method usually allows a 2.5 times increase of the S/N ratio.

Finally, the post-processing procedure ends with a Fourier transformation calculation along the t_1 dimension leading to the 2D ultrafast J-resolved spectrum.

3. Results and discussion

The results related to the excitation duration optimization show that S/N ratio strongly decreases according to T_e whereas peaks get narrower along the ultrafast dimension (Fig. 2). This S/N ratio dependence with T_e is essentially due to molecular diffusion [33]. It is known that *in vitro* studies suffer with diffusion effects since the samples are generally liquid. These diffusion effects can usually be reduced by cutting down the excitation gradients strength G_e . Recently, Giraudeau and Akoka [36] proposed a multi-echo excitation scheme designed to limit diffusion effects when a high T_e is required to obtain a good resolution. This multi-echo scheme shows great potential and should be shortly implemented in the uǰPRESS sequence. Moreover, molecular diffusion effects are highly reduced when considering *in vivo* samples, where the effects described above are expected to be much less critical.

The peak linewidth along the ultrafast dimension decreases according to T_e (Fig. 2) as predicted by Giraudeau and Akoka [33]. Spectral resolution, spectral bandwidth and sensitivity all depend on the ultrafast excitation scheme parameters, ie. excitation duration and 180° chirp pulses bandwidth. Any resolution improvement comes with a dramatic decrease of the S/N ratio associated with a reduction of the observable spectral width [37]. The spectral width of the 2D ultrafast J-resolved spectrum in the F_1 dimension varies in inverse proportion on the detection scheme duration T_d . Because T_d is directly involved in the calculation of T_d , the frequency dispersion induced by the detection gradient G_d was adjusted by changing only the gradient strength. Therefore, the detection gradient strength G_d reached a critical level for $T_e = 100$ ms. We chose an optimal excitation duration of 30 ms which is a good compromise between S/N ratio, ultrafast peak linewidth and maximum gradient strength requirements. According to previous remarks regarding diffusion effects, this duration will have to be redefined for future *in vivo* studies.

Conventional and ultrafast spectra were acquired on a concentrated ethanol sample (Fig. 3). The conventional MRS experiment consisted in the acquisition of 128 transients along the t_1 dimension leading to 21 min scan time (TR = 10 s). A 20 s scan time was sufficient to acquire the same number of transients using

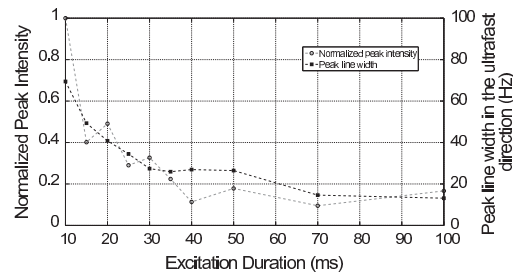


Fig. 2. CH_2 peak intensity estimated by numeric integration and peak linewidths in the ultrafast dimension according to the excitation duration (T_e). The model sample consisted of an ethanol solution (70% w/w in water). For each excitation duration, the smoothed chirp pulses and the bipolar excitation gradients were recalculated with a bandwidth of 9 kHz. The detection scheme was composed of 128 detection gradients of duration T_d of 6 ms each and strength G_d from 25 to 269 mT/m depending on T_e . The pre-detection gradient G_e was applied during 420 to 1100 ms with a strength from -85 to -207 mT/m depending on T_e . The signal (2048×128 points) was collected from a $8 \text{ mm} \times 8 \text{ mm} \times 8 \text{ mm}$ voxel (NA=4).

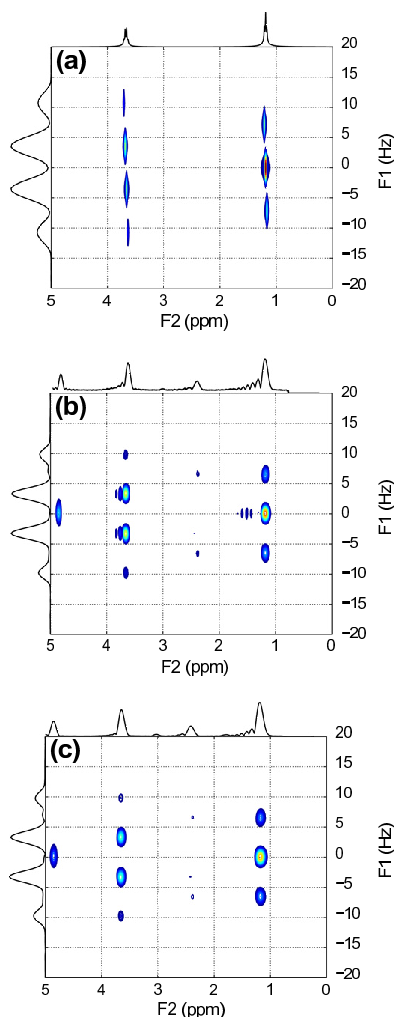


Fig. 3. (a) Tilted conventional localized 2D J-resolved spectrum acquired in 21 min using a jPRESS sequence. The following parameters were used: 128 Echo Times from 20 to 320 ms, TR = 10 s, NA = 1, VAPOR water suppression. (b) Raw and (c) post-processed 3D localized 2D ultrafast J-resolved spectrum acquired in 20 s using uJPRESS sequence. The following parameters were used: $T_c = 30$ ms, 15 ms smoothed chirp pulses with a sweep range of 9 kHz, bipolar gradients G_c of 22 mT/m during 15 ms each, 128 detection gradients G_d of 70 mT/m during 4 ms each, pre-acquisition gradient G_e of -156 mT/m during 600 ms, TR = 10 s, NA = 2, VAPOR water suppression. Spectrum (c) was post-processed using spatial apodization (gaussian window, $\delta v_{\text{max}} = 6$ Hz). In each case, the model sample consisted of a concentrated ethanol solution (10% w/w in water). The signal (2048×128 points) was collected from a $8 \text{ mm} \times 8 \text{ mm} \times 8 \text{ mm}$ voxel. A column was extracted from the 2D J spectrum (at 3.67 ppm) and projected on F_1 axis.

ultrafast excitation. The chemical shift and J-coupling values measured by the ultrafast method (Fig. 3b) are identical to those measured by conventional MRS (Fig. 3a). A water residue peak is present (4.7 ppm) on the 2D ultrafast J-resolved spectrum demonstrating a slightly less efficient VAPOR water suppression when ultrafast excitation is involved. Moreover, a signal artifact residue

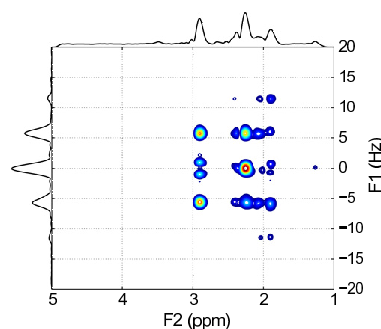


Fig. 4. 3D localized 2D ultrafast J-resolved spectrum acquired in 2 min 40 s using the uJPRESS sequence. The model sample consisted of a purpose-built phantom containing a GABA solution (10% w/w in water) placed at the center of a 50 mL tube of pure ethanol. The following parameters were used: $T_c = 30$ ms, 15 ms smoothed chirp pulses with a sweep range of 9 kHz, bipolar gradients G_c of 35 mT/m during 15 ms each, 128 detection gradients G_d of 62 mT/m during 6 ms each, a pre-acquisition gradient G_e of -117 mT/m during 700 ms, TR = 10 s, NA = 16, VAPOR water suppression, 3 mm Outer Volume Saturation (OVS) bands with a 0.5 mm gap to voxel. The signal (2048×128 points) was collected from a $5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$ voxel. The spectrum was post-processed using spatial apodization (gaussian window, $\delta v_{\text{max}} = 6$ Hz). A column was extracted from the 2D J spectrum (at 2.28 ppm) and projected on F_1 axis.

is present at 2.4 ppm which may originate from undesired coherences generated by the outer volume and not properly suppressed by the coherence selection scheme. As expected, the conventional 2D J-resolved MRS experiment led to a well resolved 2D spectrum with linewidth of less than 2 Hz along the 2 dimensions. The spectrum obtained from the ultrafast 2D J-resolved MRS experiment was much better resolved in the conventional F_1 dimension (2.3 Hz linewidth) than in the ultrafast F_2 dimension (17 Hz linewidth). These results are in good agreement with the resolution performances of ultrafast NMR experiments which were recently described [33]. Another noticeable feature of the ultrafast approach is its capacity to perform homonuclear decoupling in the ultrafast dimension, whereas a 45° tilt would be necessary to obtain the same result from the conventional data, as observed in Fig. 3. This is due to the constant-time nature of the spatial encoding scheme.

The spatial apodization procedure clearly improves the spectrum quality (Fig. 3c). The S/N ratio is increased by a factor of 3 while the linewidth in the ultrafast dimension increased by 6 Hz (maximum acceptable linewidth value defined by user). The asymmetric sinc wiggles inherent to ultrafast experiment are strongly reduced, improving the spectrum resolution. This easy-to-implement method should be particularly useful for quantitative studies [27] where the precision is highly conditioned by the S/N ratio.

The localization test result is presented in Fig. 4. Since the GABA solution was placed in a 1.5 mL tube, the voxel size was reduced to $5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$ causing a drop in the S/N ratio. We can clearly distinguish the chemical shifts (1.89, 2.28 and 3.01 ppm) and the J-coupling values of GABA which are in good agreement with literature [38]. Regarding the spatial localization performance, very low intensity ethanol peaks (at 1.19 ppm) were reported demonstrating the efficient 3D localization of the uJPRESS excitation scheme.

This feasibility study raises the question of the applicability of this approach for *in vivo* studies. A central question is the sensitivity of ultrafast experiments, as *in vivo* samples are characterized by much lower metabolite concentrations than those employed here. A possible consequence would be the need to accumulate more

transients to improve the detection limit of the method. While such a “multi-scan single shot” strategy would increase the experiment time, a recent *in vitro* study has shown that this approach was still competitive compared to conventional 2D MRS in terms of sensitivity [39], by being much less sensitive to hardware instabilities, as all t_1 increments are acquired in a short period of time.

Moreover, it is known that conventional MRS is sensitive to motion. Subject movements induce phase and frequency variation leading to t_1 noise from incoherent averaging of the acquired signals. Depending on the subject, a simple way of reducing these side effects usually consists in decreasing the scan time which results in low S/N ratio or even badly resolved 2D spectrum along the F_1 dimension. Still, due to their sampling strategy, ultrafast experiments are inherently less sensitive to motion than their conventional counterparts. As the ultrafast technique allows the acquisition of a whole 2D spectrum in a single scan, phase and frequency variation effects are therefore greatly reduced. Moreover, modifying the scan time of a “multi-scan single shot” ultrafast experiment will only lead to an increase of the S/N ratio while the spectral resolution is unchanged. This property of ultrafast experiment allows a complete control of the S/N ratio.

The ultrafast 2D COSY experiment has been extensively described in many previous studies [26–28] as a powerful tool for the identification of metabolites using NMR spectrometers. While the 2D J-resolved experiment encodes the J-coupling information along the conventional dimension, the 2D COSY experiment encodes chemical shift information along both dimensions. Performing an ultrafast 2D COSY experiment requires therefore a higher bandwidth and thus a higher acquisition gradient strength which represents a limitation on imaging systems [29]. Moreover, the ultrafast 2D COSY detection scheme could also suffer with S/N ratio loss due to acquisition sampling and filtering bandwidth limitations. However, 2D COSY could be investigated with the use of shaped sinusoidal acquisition gradients as described by Sela et al. [29].

4. Conclusions

This paper presents the first 3D localized 2D ultrafast MRS experiment developed on a small animal imaging system. The feasibility stage was successfully carried out showing good quality spectra. Experiments performed on low-concentrated metabolite solutions as found *in vivo* showed that methodological and hardware improvements to increase S/N ratio remain to be done. Nevertheless, this sequence offers an efficient signal localization which is a major step towards *in vivo* experiments. Important improvements are expected in the near future with the development of an optimized ultrafast version of the Chemical Shift Imaging (CSI) experiment. As CSI experiments are usually performed on larger volume of interest than single voxel spectroscopy experiments, a significant S/N ratio improvement is to be expected. Still, the method presented here already shows a great potential as it could be combined to existing high S/N ratio *in vivo* spectroscopy applications such as MR hyperpolarized acquisitions. The time saved using this technique opens new perspectives for *in vivo* dynamic spectroscopy.

5. Experimental

The experiments were carried out on a 7T Biospec Bruker imaging system (small animal) running with Paravision 5.1. A quadrature coil (transmit/receive, 32 mm diameter, Rapid Biomed) was used for *in vitro* acquisitions. The acquired data was processed using Matlab R2011b (7.13). All relevant acquisition and processing parameters are indicated in the figure legends.

Acknowledgments

This research was supported by CNRS (“SicMu”, PEPS-INSIS CNRS 2010 funding). Experimental part of this study was performed at ANIMAGE imaging facilities (CERMEP, Bron, F-69677, France).

References

- [1] W.P. Aue, J. Karhan, R.R. Ernst, Homonuclear broad band decoupling and two-dimensional J-resolved NMR spectroscopy, *J. Chem. Phys.* 64 (1976) 4226–4227.
- [2] P. Meric, G. Autret, B.T. Doan, B. Gillet, C. Sbric, J.-C. Beloeil, *In vivo* 2D magnetic resonance spectroscopy of small animals, *MAGMA* 17 (2004) 317–338.
- [3] C. Ludwig, M.R. Viant, Two-dimensional J-resolved nmr spectroscopy: review of a key methodology in the metabolomics toolbox, *Phytochem. Anal.* 21 (2010) 22–32.
- [4] L.N. Ryner, J.A. Sorenson, M.A. Thomas, Localized 2D J-resolved ^1H MR spectroscopy: strong coupling effects *in vitro* and *in vivo*, *Magn. Reson. Imaging* 13 (1995) 853–869.
- [5] M.A. Thomas, L.N. Ryner, M.P. Mehta, P.A. Turski, J.A. Sorenson, Localized 2D J-resolved ^1H MR spectroscopy of human brain tumors *in vivo*, *J. Magn. Reson. Imaging* 6 (1996) 453–459.
- [6] K. Lymer, K. Haga, I. Marshall, N. Sailasuta, J. Wardlaw, Reproducibility of GABA measurements using 2D J-resolved magnetic resonance spectroscopy, *Magn. Reson. Imaging* 25 (2007) 634–640.
- [7] J.E. Jensen, S.C. Licata, D. Ong, S.D. Friedman, A.P. Prescott, M.E. Henry, P.F. Renshaw, Quantification of J-resolved proton spectra in two-dimensions with LCModel using GAMMA-simulated basis sets at 4 Tesla, *NMR Biomed.* 22 (2009) 762–769.
- [8] A. Prescott, L. Becerra, G. Pendse, S. Tully, E. Jensen, R. Hargreaves, P. Renshaw, R. Burstein, D. Borsook, Excitatory neurotransmitters in brain regions in interictal migraine patients, *Mol. Pain* 5 (2009) 34.
- [9] K. Yue, A. Marumoto, N. Binesh, M.A. Thomas, 2D J-PRESS of human prostates using an endorectal receiver coil, *Magn. Reson. Med.* 47 (2002) 1059–1064.
- [10] M.A. Thomas, T. Lange, S.S. Velan, R. Nagarajan, S. Raman, A. Gomez, D. Margolis, S. Swart, R.R. Raylman, R.F. Schulte, P. Boesiger, Two-dimensional MR spectroscopy of healthy and cancerous prostates *in vivo*, *MAGMA* 21 (2008) 443–458.
- [11] T. Lange, R.F. Schulte, P. Boesiger, Quantitative J-resolved prostate spectroscopy using two-dimensional prior-knowledge fitting, *Magn. Reson. Med.* 59 (2008) 966–972.
- [12] R. Nagarajan, A.M. Gomez, S.S. Raman, D.J. Margolis, T. McClure, M.A. Thomas, Correlation of endorectal 2D J-PRESS findings with pathological Gleason scores in prostate cancer patients, *NMR Biomed.* 23 (2010) 257–261.
- [13] W. Dreher, D. Leibfritz, On the use of two-dimensional-J NMR measurements for *in vivo* proton MRS: measurement of homonuclear decoupled spectra without the need for short echo times, *Magn. Reson. Med.* 34 (1995) 331–337.
- [14] N. Braakman, T. Oerther, H.J.M. de Groot, A. Alia, High resolution localized two-dimensional MR spectroscopy in mouse brain *in vivo*, *Magn. Reson. Med.* 60 (2008) 449–456.
- [15] E. Adalsteinsson, R.E. Hurd, D. Mayer, N. Sailasuta, E.V. Sullivan, A. Pfefferbaum, *In vivo* 2D J-resolved magnetic resonance spectroscopy of rat brain with a 3-T clinical human scanner, *Neuroimage* 22 (2004) 381–386.
- [16] A.F. Mehlkopf, D. Korbee, T.A. Tiggelman, R. Freeman, Sources of t_1 noise in two-dimensional NMR, *J. Magn. Reson.* (1969) 58 (1984) 315–323.
- [17] L. Frydman, A. Lupulescu, T. Scherf, Principles and features of single-scan two-dimensional NMR spectroscopy, *J. Am. Chem. Soc.* 125 (2003) 9204–9217.
- [18] P. Pelupessy, L. Duma, G. Bodenhausen, Improving resolution in single-scan 2D spectroscopy, *J. Magn. Reson.* 194 (2008) 169–174.
- [19] Y. Shrot, L. Frydman, Spatial encoding strategies for ultrafast multidimensional nuclear magnetic resonance, *J. Chem. Phys.* 128 (2008) 052209.
- [20] B. Shapira, Y. Shrot, L. Frydman, Symmetric spatial encoding in ultrafast 2D NMR spectroscopy, *J. Magn. Reson.* 178 (2006) 33–41.
- [21] N.S. Andersen, W. Kckenberger, A simple approach for phase-modulated single-scan 2D NMR spectroscopy, *Magn. Reson. Chem.* 43 (2005) 795–797.
- [22] A. Tal, B. Shapira, L. Frydman, A continuous phase-modulated approach to spatial encoding in ultrafast 2D NMR spectroscopy, *J. Magn. Reson.* 176 (2005) 107–114.
- [23] B. Shapira, L. Frydman, Spatial encoding and the acquisition of high-resolution NMR spectra in inhomogeneous magnetic fields, *J. Am. Chem. Soc.* 126 (2004) 7184–7185.
- [24] Y. Shrot, B. Shapira, L. Frydman, Ultrafast 2D NMR spectroscopy using a continuous spatial encoding of the spin interactions, *J. Magn. Reson.* 171 (2004) 163–170.
- [25] P. Pelupessy, Adiabatic single scan two-dimensional NMR spectroscopy, *J. Am. Chem. Soc.* 125 (2003) 12345–12350.
- [26] A. Herrera, E. Fernandez-Valle, E.M. Gutierrez, R. Martinez-Alvarez, D. Molero, Z.D. Pardo, E. Sez, 2D ultrafast HMBC: a valuable tool for monitoring organic reactions, *Org. Lett.* 12 (2010) 144–147.
- [27] P. Girardeau, G.S. Remaud, S. Akoka, Evaluation of ultrafast 2D NMR for quantitative analysis, *Anal. Chem.* 81 (2009) 479–484.

- [28] M. Gal, T. Kem, P. Schanda, L. Frydman, B. Brutscher, An improved ultrafast 2D NMR experiment: towards atom-resolved real-time studies of protein kinetics at multi-Hz rates, *J. Biomol. NMR* 43 (2009) 1–10.
- [29] N. Sela, H. Degani, L. Frydman, Ultrafast 2D NMR spectroscopy using sinusoidal gradients: principles and ex vivo brain investigations, *Magn. Reson. Med.* 52 (2004) 893–897.
- [30] A. Tal, L. Frydman, Spectroscopic imaging from spatially-encoded single-scan multidimensional MRI data, *J. Magn. Reson.* 189 (2007) 46–58.
- [31] R. Panek, J. Granwehr, J. Leggett, W. Kckenberger, Slice-selective single scan proton COSY with dynamic nuclear polarisation, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 12 (2010) 5771–5778.
- [32] P. Giraudeau, S. Akoka, A new detection scheme for ultrafast 2D J-resolved spectroscopy, *J. Magn. Reson.* 186 (2007) 352–357.
- [33] P. Giraudeau, S. Akoka, Resolution and sensitivity aspects of ultrafast J-resolved 2D NMR spectra, *J. Magn. Reson.* 190 (2008) 339–345.
- [34] B. Shapira, A. Lupulescu, Y. Shrot, L. Frydman, Line shape considerations in ultrafast 2D NMR, *J. Magn. Reson.* 166 (2004) 152–163.
- [35] P. Giraudeau, S. Akoka, Sensitivity and lineshape improvement in ultrafast 2D NMR by optimized apodization in the spatially encoded dimension, *Magn. Reson. Chem.* 49 (2011) 307–313.
- [36] P. Giraudeau, S. Akoka, Sensitivity losses and line shape modifications due to molecular diffusion in continuous encoding ultrafast 2D NMR experiments, *J. Magn. Reson.* 195 (2008) 9–16.
- [37] Y. Shrot, L. Frydman, Spatial/spectral encoding of the spin interactions in ultrafast multidimensional NMR, *J. Chem. Phys.* 131 (2009) 224516.
- [38] V. Govindaraju, K. Young, A.A. Maudsley, Proton NMR chemical shifts and coupling constants for brain metabolites, *NMR Biomed.* 13 (2000) 129–153.
- [39] M. Pathan, S. Akoka, I. Tea, B. Charrier, P. Giraudeau, “multi-scan single shot” quantitative 2D NMR: a valuable alternative to fast conventional quantitative 2D NMR, *Analyst* 136 (2011) 3157–3163.

2.7 Perspectives et conclusions

Une nouvelle séquence de spectroscopie RMN 2D J-résolue ultrarapide a été développée avec succès sur un système IRM. Cette séquence, baptisée ufJPRESS, permet l’acquisition spatialement localisée de spectres RMN 2D J-résolus complets en un temps record de l’ordre de la seconde. La mise au point de la technique de RMN ultrarapide sur un système IRM est passée par plusieurs étapes de développement. Parmi elles, l’étape relative à l’écriture de la séquence a exigé des travaux d’optimisation dont un certain nombre est présenté dans ce chapitre (Cf. § 2.4). Ces travaux, qui ont permis l’optimisation de certains aspects de la séquence, mettent également en évidence plusieurs limitations de la version actuelle de cette dernière. Ainsi, la faible sensibilité des acquisitions, comparée à la spectroscopie conventionnelle, demeure un obstacle majeur à l’application *in vivo* de la séquence ufJPRESS (Cf. § 2.6).

Cette limitation en sensibilité trouve principalement son origine dans la nature des motifs d’excitation employés en RMN ultrarapide. Néanmoins, les travaux d’optimisation ont permis de mettre en évidence certains problèmes pouvant affecter la sensibilité de la séquence. Le motif d’excitation ultrarapide reste encore à optimiser et d’autres versions de ce motif, permettant entre autres une meilleure localisation du signal, sont en cours de développement. Les bandes passantes des impulsions sélectives de type *hermite* sont également, pour des raisons qui restent à identifier, à l’origine de la diminution de la sensibilité (Cf. § 2.4.1.2). Enfin, le motif de détection, peu abordé lors de l’optimisation de la séquence, est à l’origine d’une perte de signal suivant la dimension conventionnelle du spectre ultrarapide et de distorsions de phase du fait de la trajectoire de l’acquisition dans le plan spectroscopique ultrarapide ($k/\nu_1, t_2$).

Au vu de la démarche à adopter pour réaliser l’acquisition d’un spectre RMN 2D J-résolu ultrarapide (Cf. § 2.3.5), certains développements mineurs pourraient être réalisés afin de faciliter et d’automatiser certaines tâches qui sont, à l’heure actuelle,

effectuées par l'utilisateur. Le développement d'une séquence de calibration automatique des impulsions *Smoothed Chirp* serait, par exemple, la bienvenue. L'ajustement automatique de la compensation de l'asymétrie des gradients d'excitation ou encore des intensités et durées des gradients relatifs à la détection pourraient également faire l'objet de développements.

Ce chapitre a également évoqué le développement de la procédure de reconstruction des spectres RMN 2D J-résolus ultrarapides. Cette procédure peut encore être optimisée concernant la prise en compte de la trajectoire de l'acquisition dans le plan spectroscopique $(k/\nu_1, t_2)$ et la correction des distorsions de phase présentes sur le spectre RMN 2D J-résolu ultrarapide final (Cf. § 2.5.4). A l'heure actuelle, les échelles numériques accompagnant les deux dimensions spectrales sont calibrées manuellement par l'utilisateur, connaissant les déplacements chimiques et les constantes de couplage J de l'espèce observée. A l'avenir, cette tâche pourrait également être réalisée automatiquement.

Enfin, l'étude finale, présentée en fin de chapitre sous forme d'un article publié [Roussel *et al.*, 2012], démontre l'intérêt de la séquence ufJPRESS pour l'obtention de spectres RMN 2D J-résolus dans le but d'identifier un métabolite (GABA) habituellement présent dans le cerveau (Cf. § 2.6). L'identification de ce métabolite est d'un grand intérêt pour certaines pathologies cérébrales et a été réalisée avec succès grâce à la séquence ufJPRESS avec l'obtention d'un spectre RMN 2D du GABA en moins de trois minutes. Cette performance est très prometteuse pour l'avenir de la RMN ultrarapide dans le cadre *in vivo*.

Références bibliographiques

relatives à la SRM 2D ultrarapide

- [Andersen and Köckenberger, 2005] Andersen, N. S. and Köckenberger, W. (2005). A simple approach for phase-modulated single-scan 2D NMR spectroscopy. *Magn Reson Chem*, 43(10) :795–797.
- [Aue *et al.*, 1976] Aue, W. P., Karhan, J., and Ernst, R. R. (1976). Homonuclear broad band decoupling and two-dimensional J-resolved NMR spectroscopy. *J Chem Phys*, 64(10) :4226–4227.
- [Barkhuijsen *et al.*, 1985] Barkhuijsen, H., de Beer, R., Bovée, W., and van Ormondt, D. (1985). Retrieval of frequencies, amplitudes, damping factors, and phases from time-domain signals using a linear least-squares procedure. *Journal of Magnetic Resonance (1969)*, 61(3) :465 – 481.
- [Bendall and Pegg, 1986] Bendall, M. and Pegg, D. T. (1986). Uniform sample excitation with surface coils for in vivo spectroscopy by adiabatic rapid half passage. *Journal of Magnetic Resonance (1969)*, 67(2) :376 – 381.
- [Boer *et al.*, 2011] Boer, V. O., van Lier, A. L. H. M. W., Hoogduin, J. M., Wijnen, J. P., Luijten, P. R., and Klomp, D. W. J. (2011). 7-T 1H MRS with adiabatic refocusing at short TE using radiofrequency focusing with a dual-channel volume transmit coil. *NMR Biomed*, 24(9) :1038–1046.
- [Bohlen and Bodenhausen, 1993] Bohlen, J. M. and Bodenhausen, G. (1993). Experimental aspects of chirp NMR spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance, Series A*, 102(3) :293 – 301.
- [Bracewell, 1986] Bracewell, R. (1986). *The Fourier transform and its applications*. McGraw-Hill electrical and electronic engineering series. McGraw-Hill.
- [de Graaf and Nicolay, 1997] de Graaf, R. A. and Nicolay, K. (1997). Adiabatic RF pulses : applications to in vivo NMR. *Concepts in Magnetic Resonance*, 9(4) :247–268.

- [Feliz *et al.*, 2006] Feliz, M., García, J., Aragón, E., and Pons, M. (2006). Fast 2D NMR ligand screening using hadamard spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.*, 128(22) :7146–7147.
- [Frydman *et al.*, 2003] Frydman, L., Lupulescu, A., and Scherf, T. (2003). Principles and features of single-scan two-dimensional NMR spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.*, 125(30) :9204–9217.
- [Frydman *et al.*, 2002] Frydman, L., Scherf, T., and Lupulescu, A. (2002). The acquisition of multidimensional NMR spectra within a single scan. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 99(25) :15858–15862.
- [Garwood and DelaBarre, 2001] Garwood, M. and DelaBarre, L. (2001). The return of the frequency sweep : designing adiabatic pulses for contemporary NMR. *J. Magn. Reson.*, 153(2) :155–177.
- [Giraudeau, 2008] Giraudeau, P. (2008). *Développement de la RMN quantitative multi-dimensionnelle*. PhD thesis, Université de Nantes.
- [Giraudeau and Akoka, 2007] Giraudeau, P. and Akoka, S. (2007). A new detection scheme for ultrafast 2D J-resolved spectroscopy. *J. Magn. Reson.*, 186(2) :352–357.
- [Giraudeau and Akoka, 2008] Giraudeau, P. and Akoka, S. (2008). Resolution and sensitivity aspects of ultrafast J-resolved 2D NMR spectra. *J. Magn. Reson.*, 190(2) :339–345.
- [Giraudeau and Akoka, 2011] Giraudeau, P. and Akoka, S. (2011). Sensitivity and lineshape improvement in ultrafast 2D NMR by optimized apodization in the spatially encoded dimension. *Magn Reson Chem*, 49(6) :307–313.
- [Gruetter *et al.*, 1998] Gruetter, R., Weisdorf, S. A., Rajanayagan, V., Terpstra, M., Merkle, H., Truwit, C. L., Garwood, M., Nyberg, S. L., and Uğurbil, K. (1998). Resolution improvements in in vivo ^1H NMR spectra with increased magnetic field strength. *J. Magn. Reson.*, 135(1) :260–264.
- [Hahn, 1950] Hahn, E. L. (1950). Spin echoes. *Phys. Rev.*, 80 :580–594.
- [Hardy *et al.*, 1986] Hardy, C., Edelstein, W., and Vatis, D. (1986). Efficient adiabatic fast passage for NMR population inversion in the presence of radiofrequency field inhomogeneity and frequency offsets. *Journal of Magnetic Resonance (1969)*, 66(3) :470 – 482.
- [Hoch, 1985] Hoch, J. C. (1985). Maximum entropy signal processing of two-dimensional NMR data. *Journal of Magnetic Resonance (1969)*, 64(3) :436 – 440.

- [Hwang *et al.*, 1997] Hwang, T. L., van Zijl, P. C., and Garwood, M. (1997). Broadband adiabatic refocusing without phase distortion. *J. Magn. Reson.*, 124(1) :250–254.
- [Kobzar *et al.*, 2004] Kobzar, K., Skinner, T. E., Khaneja, N., Glaser, S. J., and Luy, B. (2004). Exploring the limits of broadband excitation and inversion pulses. *J. Magn. Reson.*, 170(2) :236–243.
- [Kupce and Freeman, 1995a] Kupce, E. and Freeman, R. (1995a). Adiabatic pulses for wide-band inversion and broad-band decoupling. *J. Magn. Reson.*, 115(2) :273–276.
- [Kupce and Freeman, 1995b] Kupce, E. and Freeman, R. (1995b). Stretched adiabatic pulses for broadband spin inversion. *J. Magn. Reson.*, 117(2) :246–256.
- [Kupce and Freeman, 2003] Kupce, E. and Freeman, R. (2003). Frequency-domain Hadamard spectroscopy. *J. Magn. Reson.*, 162(1) :158–165.
- [Luy *et al.*, 2005] Luy, B., Kobzar, K., Skinner, T. E., Khaneja, N., and Glaser, S. J. (2005). Construction of universal rotations from point-to-point transformations. *J. Magn. Reson.*, 176(2) :179–186.
- [Mishkovsky and Frydman, 2005] Mishkovsky, M. and Frydman, L. (2005). Interlaced fourier transformation of ultrafast 2D NMR data. *J. Magn. Reson.*, 173(2) :344–350.
- [Mlynárik *et al.*, 2006] Mlynárik, V., Gambarota, G., Frenkel, H., and Gruetter, R. (2006). Localized short-echo-time proton MR spectroscopy with full signal-intensity acquisition. *Magn Reson Med*, 56(5) :965–970.
- [Norris, 2002] Norris, D. G. (2002). Adiabatic radiofrequency pulse forms in biomedical nuclear magnetic resonance. *Concepts in Magnetic Resonance*, 14(2) :89–101.
- [Pathan *et al.*, 2011] Pathan, M., Akoka, S., Tea, I., Charrier, B., and Giraudeau, P. (2011). "multi-scan single shot" quantitative 2D NMR : a valuable alternative to fast conventional quantitative 2D NMR. *Analyst*, 136(15) :3157–3163.
- [Pelupessy, 2003] Pelupessy, P. (2003). Adiabatic single scan two-dimensional NMR spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.*, 125(40) :12345–12350.
- [Roussel *et al.*, 2012] Roussel, T., Giraudeau, P., Ratiney, H., Akoka, S., and Cavassila, S. (2012). 3D localized 2D ultrafast J-resolved magnetic resonance spectroscopy : in vitro study on a 7T imaging system. *J. Magn. Reson.*, 215 :50–55.
- [Shapira *et al.*, 2004] Shapira, B., Lupulescu, A., Shrot, Y., and Frydman, L. (2004). Line shape considerations in ultrafast 2D NMR. *J. Magn. Reson.*, 166(2) :152–163.

- [Shrot *et al.*, 2004] Shrot, Y., Shapira, B., and Frydman, L. (2004). Ultrafast 2D NMR spectroscopy using a continuous spatial encoding of the spin interactions. *J. Magn. Reson.*, 171(1) :163–170.
- [Silver *et al.*, 1984a] Silver, M., Joseph, R., and Hoult, D. (1984a). Highly selective $\pi/2$ and π pulse generation. *Journal of Magnetic Resonance (1969)*, 59(2) :347 – 351.
- [Silver *et al.*, 1984b] Silver, M. S., Joseph, R. I., Chen, C. N., Sank, V. J., and Hoult, D. I. (1984b). Selective population inversion in NMR. *Nature*, 310(5979) :681–683.
- [Stern *et al.*, 2002] Stern, A. S., Li, K.-B., and Hoch, J. C. (2002). Modern spectrum analysis in multidimensional NMR spectroscopy : comparison of linear-prediction extrapolation and maximum-entropy reconstruction. *J. Am. Chem. Soc.*, 124(9) :1982–1993.
- [Tal *et al.*, 2005] Tal, A., Shapira, B., and Frydman, L. (2005). A continuous phase-modulated approach to spatial encoding in ultrafast 2D NMR spectroscopy. *J. Magn. Reson.*, 176(1) :107–114.
- [Tenailleau and Akoka, 2007] Tenailleau, E. and Akoka, S. (2007). Adiabatic 1H decoupling scheme for very accurate intensity measurements in ^{13}C NMR. *J. Magn. Reson.*, 185(1) :50–58.

Conclusion et perspectives

Ce travail de thèse a donné lieu à la mise au point de nouvelles méthodes d'acquisition et de traitement du signal pour la SRM 2D *in vivo* quantitative. Les travaux ont été orientés vers l'étude du métabolisme cérébral du petit animal et plus particulièrement l'étude du cerveau de rat avec un champ magnétique de 7 T. Les développements réalisés sont de différentes natures avec à la fois la mise au point de séquences d'acquisition spectroscopique sur deux IRM 4,7 et 7 T et l'élaboration d'algorithmes pour la quantification des signaux de SRM 2D J-résolus acquis *in vivo*. Pour résumer, les différentes contributions de ce travail de thèse peuvent être réparties de la façon suivante :

- Le développement d'une séquence d'impulsions 2D J-PRESS WISH pour l'acquisition de spectres RMN 2D J-résolus *in vivo*. Cette séquence est basée sur le principe énoncé par L. N. Ryner [Ryner *et al.*, 1995] et possède de nombreuses fonctionnalités originales telles que l'échantillonnage irrégulier suivant la dimension t_1 , la pondération en terme d'accumulation selon les incréments et l'acquisition du spectre RMN 2D J-résolu des macromolécules avec la technique d'inversion-récupération. Cette séquence, mise en œuvre sur les IRM *Bruker Biospec* 4,7 T et 7 T petit animal, a été validée expérimentalement avec l'acquisition de signaux de SRM 2D J-résolus dans le cerveau de rat.
- La mise au point d'une procédure de quantification automatique NEMESIS permettant, à partir de signaux de SRM 2D J-résolus acquis *in vivo* avec la séquence 2D J-PRESS WISH, d'estimer les concentrations des métabolites. NEMESIS est une méthode de quantification globale des signaux RMN 2D J-résolus et repose sur une modélisation dans le domaine temporel basée sur un fort *a priori*. Elle est dotée d'une stratégie de quantification permettant de guider le processus d'ajustement numérique en réduisant la sensibilité de la méthode aux problèmes d'optimisation. NEMESIS gère également la ligne de base par modélisation du signal macromoléculaire 2D acquis avec la séquence

2D J-PRESS WISH. Afin d'évaluer les performances de NEMESIS en termes de biais et d'erreur relative sur les concentrations estimées, une étude reposant sur la théorie de Cramér-Rao ainsi qu'une étude Monte Carlo ont été réalisées dans le cadre de la quantification de signaux de SRM 2D J-résolue simulés dans des conditions *in vivo*. Les résultats ont permis de vérifier l'intérêt de la SRM 2D J-résolue pour la quantification par rapport à la SRM 1D traditionnelle.

- L'introduction d'une nouvelle approche permettant de réduire la durée d'acquisition des signaux et de diminuer les erreurs d'estimation lors de la quantification des données. Cette approche repose sur l'optimisation de l'échantillonnage suivant la dimension t_1 . Pour cela, l'algorithme CRISO, fondé sur la théorie de Cramér-Rao, permet de calculer l'échantillonnage irrégulier optimal pour lequel l'erreur d'estimation de la concentration métabolique est la plus faible. Validée au moyen d'une étude Monte Carlo puis d'une étude expérimentale sur des signaux de SRM 2D acquis avec la séquence 2D J-PRESS WISH sur le cerveau de rat, cette méthode constitue, à l'heure actuelle, une approche originale et offre de nouvelles perspectives pour l'acquisition de données RMN 2D J-résolues *in vivo*.
- Le développement d'une nouvelle séquence pour l'acquisition de signaux de SRM 2D J-résolue ultrarapide sur les IRM *Bruker Biospec* 4,7 T et 7 T petit animal. La séquence ufJPRESS, basée sur la technique de « RMN ultrarapide » initiée dix ans auparavant par L. Frydman [Frydman *et al.*, 2002] dans le domaine de la chimie, permet l'acquisition spatialement localisée de spectres RMN 2D J-résolus complets avec une durée d'acquisition de l'ordre de la seconde. La séquence, après avoir fait l'objet de nombreuses optimisations, a été évaluée en termes de RSB, de résolution spectrale et de localisation spatiale du signal sur un fantôme *in vitro* contenant du GABA [Roussel *et al.*, 2012], métabolite habituellement présent dans le cerveau.

Parmi les perspectives évoquées dans ce manuscrit, le développement de séquences d'acquisition de signaux de SRM 2D J-résolue à TE ultra-courts [Tkáč *et al.*, 1999, Mlynárik *et al.*, 2006, Oz and Tkáč, 2011] serait probablement un axe de recherche majeur dans le prolongement logique de cette thèse. Le gain en RSB apporté par une telle approche permettrait la réduction des durées d'acquisition mais impliquerait également des travaux d'optimisation de NEMESIS pour la prise en compte du signal de ligne base, particulièrement intense à TE courts. Ainsi,

une modélisation paramétrique des signaux macromoléculaires, s'appuyant sur un *a priori* physique réaliste, pourrait être intégrée à la fonction modèle. L'approche relative à l'optimisation de l'échantillonnage suivant la dimension t_1 pourrait également être reprise avec la notion de pondération en termes d'accumulation des signaux.

La SRM de corrélation *in vivo* quantitative constituerait également un axe de recherche important. Ce type de spectroscopie, qui permet de décorréler efficacement les signaux présentant des signatures spectrales complexes, est encore peu répandue en SRM *in vivo* et aucune procédure de quantification dédiée aux signaux de SRM 2D *in vivo* de corrélation n'est disponible à ce jour. Largement répandue dans le domaine de la RMN ultrarapide, la SRM de corrélation ultrarapide *in vivo* pourrait également être proposée afin de réduire les durées d'acquisition.

Enfin, dans l'optique d'une application clinique chez l'homme, une approche s'inscrit parfaitement dans la continuité des travaux de cette thèse : le développement de l'imagerie 3D spectroscopique reposant sur la SRM 2D J-résolue. Astucieusement combinée aux techniques d'excitation ultrarapide, cette approche révolutionnaire pourrait offrir de nouvelles perspectives dans le domaine de l'imagerie spectroscopique *in vivo*.

Références bibliographiques de conclusion

- [Frydman *et al.*, 2002] Frydman, L., Scherf, T., and Lupulescu, A. (2002). The acquisition of multidimensional NMR spectra within a single scan. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 99(25) :15858–15862.
- [Mlynárik *et al.*, 2006] Mlynárik, V., Gambarota, G., Frenkel, H., and Gruetter, R. (2006). Localized short-echo-time proton MR spectroscopy with full signal-intensity acquisition. *Magn Reson Med*, 56(5) :965–970.
- [Oz and Tkáč, 2011] Oz, G. and Tkáč, I. (2011). Short-echo, single-shot, full-intensity proton magnetic resonance spectroscopy for neurochemical profiling at 4 T : validation in the cerebellum and brainstem. *Magn Reson Med*, 65(4) :901–910.
- [Roussel *et al.*, 2012] Roussel, T., Giraudeau, P., Ratiney, H., Akoka, S., and Cavassila, S. (2012). 3D localized 2D ultrafast J-resolved magnetic resonance spectroscopy : in vitro study on a 7T imaging system. *J. Magn. Reson.*, 215 :50–55.
- [Ryner *et al.*, 1995] Ryner, L. N., Sorenson, J. A., and Thomas, M. A. (1995). Localized 2D J-resolved 1H MR spectroscopy : strong coupling effects in vitro and in vivo. *Magn Reson Imaging*, 13(6) :853–869.
- [Tkáč *et al.*, 1999] Tkáč, I., Starcuk, Z., Choi, I. Y., and Gruetter, R. (1999). In vivo 1H NMR spectroscopy of rat brain at 1 ms echo time. *Magn Reson Med*, 41(4) :649–656.

Annexes

Annexe A

Conditions expérimentales

A.1 Caractéristiques techniques des systèmes IRM

Les caractéristiques techniques des deux systèmes IRM *Bruker Biospec 4,7* et *7 T* petit animal, utilisés dans le cadre des acquisitions *in vivo* et des développements de séquence d'impulsions, sont brièvement détaillées au Tab. A.1. L'IRM *Bruker Biospec 4,7 T* est localisé au laboratoire CREATIS (bâtiment CPE, campus de la Doua, Université Claude Bernard Lyon I) alors que l'IRM *Bruker Biospec 7 T* est localisé à la plate-forme d'imagerie *ANIMAGE* (CERMEP, Bron).

Système IRM	Console	Intensité maximale des gradients	Temps de montée des gradients
<i>Bruker Biospec 4,7 T</i>	<i>Paravision 5.0</i>	250 mT/m	230 μs
<i>Bruker Biospec 7 T</i>	<i>Paravision 5.1</i>	400 mT/m	60 μs

TAB. A.1: Tableau récapitulatif des caractéristiques techniques des deux systèmes IRM petit animal utilisés dans le cadre des acquisitions *in vivo* et des développements de séquence d'impulsions.

A.2 Elaboration des solutions pour les études *in vitro*

A.2.1 Tubes de solution de métabolites

Une solution contenant un mélange de neuf métabolites (Cre, Cho, GABA, Gln, Glu, Lac, mIns, NAA et Tau) concentrée à 50 mmol/L a été employée dans le cadre des premières acquisitions de SRM 2D J-résolue. Cette solution a été élaborée en suivant le protocole décrit dans le manuel de LCMoDel¹. En pratique, l'élaboration de telles solutions consiste à réaliser la pesée précise de poudres de métabolites puis à diluer ces dernières dans une solution tampon à base d'eau distillée. Le pH de la solution finale est ajustée finement afin d'être neutre. Ce type de solution se conserve mal et est très sensible à la contamination bactérienne induisant une variation du pH et des concentrations métaboliques. Afin de prolonger la durée de vie des solutions, il est important de les conserver à des températures proche de 0°C.

A.2.2 Tubes de solution d'éthanol

Des solutions à base d'éthanol ont été employées dans le cadre des acquisitions *in vitro*, plus particulièrement lors des acquisitions SRM 2D ultrarapides. Ces solutions ont été préparées par simple dilution d'éthanol pur dans une solution d'eau distillée. Deux concentrations ont été retenues pour les acquisitions *in vitro* :

- Une concentration en éthanol d'environ 70 % (m/m) permettant d'obtenir un spectre RMN de l'éthanol avec des pics d'intérêt d'intensité équivalente à l'intensité du pic d'eau lorsque le module de suppression du signal de l'eau est désactivé.
- Une concentration en éthanol d'environ 10 % (m/m) permettant de réaliser de premiers tests relatifs à la sensibilité des séquences.

Ces deux solutions ont été placées dans des tubes *Falcon* de 50 mL dont la longueur est de 11 cm pour un diamètre de 2.8 cm. Lors des acquisition, le tube est « allongé » dans l'IRM suivant la direction Z. La molécule d'éthanol est caractérisée en RMN par deux déplacements chimiques (1,19 et 3,67 ppm) et une constante de couplage J (7.1 Hz) observable sur son spectre RMN 2D J-résolu (Fig. A.1).

¹Disponible à l'adresse <http://s-provencher.com/pages/lcmoDel.shtml>

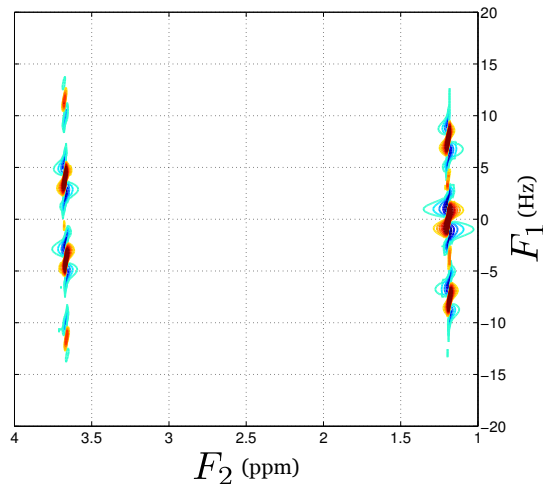


FIG. A.1: Spectre RMN 2D J-résolu titré de l'éthanol simulé pour un champ $B_0=7$ T.

A.2.3 Fantôme GABA/éthanol

Dans le cadre de la validation expérimentale de la séquence uPRESS, un fantôme a été élaboré dans le but d'évaluer les performances en termes de sélectivité spatiale. Le fantôme se compose d'un petit tube contenant 1.5 mL d'une solution de GABA à une concentration d'environ 10 % (m/m) plongé dans une solution éthanol pur. L'ensemble est placé dans un tube *Falcon* de 50 mL (Fig. A.2).

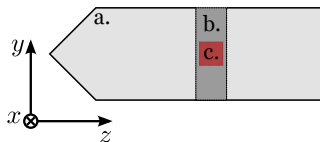


FIG. A.2: Schéma du fantôme GABA/éthanol avec tube *Falcon* de 50 mL contenant une solution d'éthanol pur (a) et un tube de 1.5 mL contenant une solution de GABA à une concentration d'environ 10 % (m/m) (b). Lors des acquisitions, le test de sélectivité spatiale consiste à placer le voxel d'intérêt (c) dans le tube contenant la solution de GABA.

Le métabolite GABA est caractérisé en RMN par trois déplacements chimiques (1,88, 2,28 et 3,01 ppm) et plusieurs constantes de couplage J comprises entre 5,37 et 10,58 Hz observables sur son spectre RMN 2D J-résolu (Fig. A.3).

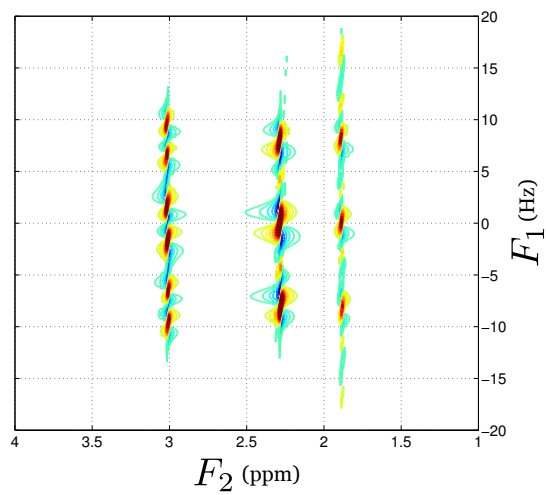


FIG. A.3: Spectre RMN 2D J-résolu titlé du GABA simulé pour un champ $B_0=7$ T.

Annexe B

Code source des scripts MATLAB et des séquences IRM

B.1 2D J-PRESS WISH : séquence de SRM 2D J-résolue localisée

```
;2DJPRESS_WISH.ppg - 2D J-Resolved Point REsolved SpectroScopy with Weighted Irregular
    Sampling Handling
;based on PRESS.ppg - voxel selective spectroscopy method
;
;*****
;2009 T Roussel
;*****

#include <MRI.include>
#include <PrepModulesHead.mod>
#include <decoacq.mod>

define delay de4
"de4=0.00002s-de"
define delay decodur
"decodur=0.00002s-de"

;delay list
define list <delay> d1list=${D1_delay_list}
define list <delay> d7list=${D7_delay_list}
define list <delay> d9list=${D9_delay_list}
```

```

define list <delay> d11list={$D11_delay_list}
;loopcounter list
define loopcounter lds={$NDummyScans}
define list <loopcounter> lcNA={$ACQ_ns_list}
;frequency list
define list<frequency> fq1list = {$ACQ_01_list}
define list<frequency,DDSB> fq8blist = {$ACQ_01B_list}

preset off
INIT_DEVICES

;-----D/P-----GRAD-----RF/ACQ-----

      lu      d11list.res
      lu      d7list.res
      lu      d9list.res
      lu      d11list.res

start, 4u
av,      d11list                      fq8blist:f1
;-----Triggered data -----
#include <TriggerPerSlice.mod>
#include <InvPulse.mod>

;-----noe module-----
subr Noe()
;-----ws & ovs module-----
subr WsOvs(ph0,ph0)

;-----localisation module-----
      lu
      d4      grad{ (t1) | (0.0) | (0.0) }  fq1list[0]:f1
      d6
      (p1:sp1 ph1):f1
      d6
      fq8blist:f1
      d7list  groff
      d8      grad{ (t4) | (t6) | (t7) }
      d4      grad{ (0.0) | (t2) | (0.0) }  fq1list[1]:f1
      d6
      gatepulse 1
      (p2:sp2 ph2):f1
      d6
      d8      grad{ (t5) | (t6) | (t7) }  fq8blist:f1
      d9list  groff
      d10     grad{ (t8) | (t9) | (t10) }
      d4      grad{ (0.0) | (0.0) | (t3) }  fq1list[2]:f1
      d6
      gatepulse 1
      (p3:sp3 ph3):f1
      d6
      d10     grad{ (t8) | (t9) | (t10) }  fq8blist:f1
      d11list groff

;-----data acquisition-----
subr decoup(decodur,ph31,ph0)
3m groff

if(OPT_RFLOnOff == On)

```

```

    {
      lm reload B0
    }
    else
    {
      lm
    }
    lm
    ADC_END

;-----dummy scans-----
"lds = lds - 1"
if "lds>=0" goto start

;-----averaging & phase cycling-----
if ( ACQ_scan_type == Scan.Experiment ) {
  lu      ipp1
  lu      ipp2
  lu      ipp3
  lu      ipp31
}
lo to start times lcNA
  lu      lcNA.inc
  lu      dllist.inc
  lu      d7list.inc
  lu      d9list.inc
  lu      dlllist.inc
  lu      rpp1
  lu      rpp2
  lu      rpp3
  lu      rpp31

lo to start times NI
lo to av times NR

SETUP_GOTO(av)
exit

ph0 = 0
ph1 = {0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0}^2^1^3
ph2 = {0 0 1 1 0 0 1 1 2 2 3 3 2 2 3 3}^2^1^3
ph3 = {0 2 0 2 1 3 1 3 0 2 0 2 1 3 1 3}^2^1^3
ph31= {0 0 2 2 2 2 0 0 0 0 2 2 2 2 0 0}^2^1^3

```

B.2 NEMESIS : fonction modèle de la procédure de quantification

```

function [sigM,sigJ]=genModeleAndJacobian(params,paramsLL)
%function [sigM,sigJ]=genModeleAndJacobian(params,paramsLL)
%
%genModeleOp permet le calcul du modele et de la matrice
%jacobienne associee.
%
%params : [nMetabolites x nOp] : vecteur contenant les parametres de modelisation ()
%paramsLL : [nMetabolites x nOp] : vecteur LinkLock (0=free, 1=locked, n=slave, -n=free &
master) ()

```

```
%
%sigM : [nPts x nTE] : vecteur contenant modele ()
%sigJ : [nPts*nTE x nFreeParams] : vecteur contenant la matrice jacobienne ()

%variables statiques
persistent memSigM; %dernier signal modelise (nPts x nTE)
persistent memSigJ; %dernier matrice jacobienne (nPts*nTE x nFreeParams)
persistent memParams; %derniers parametres (nMeta x nOp)
persistent memBuildJ; %vecteur optimisant le calcul de J (nMSParams x 3)
persistent memNMSPPerMeta; %nombre de parametres Masters et Slaves par metabolites (nMeta
    x 1)
persistent memIs2D; %booleen vrai si 2D

%demande d'initialisation : argument vide
if isempty(params)
    %libere les variables persistentes
    clear memSigM memSigJ memParams memBuildJ memNMSPPerMeta memIs2D;
    sigM=[];
    sigJ=[];
    return;
end

%connexion a la memoire META*
global metaMem;

%connexion a la memoire SHARED*
global sharedMem;

%test initialisation
if isempty(memParams)
    %parametres libres
    freeParamsLogic=paramsLL<1;
    MSParamsLogic=paramsLL~=1;
    nFreeParams=length(find(freeParamsLogic));

    %initialisation des signaux statiques
    memSigM=zeros(sharedMem.size(1:2));
    memSigJ=zeros(prod(sharedMem.size(1:2)),nFreeParams);

    %initialisation selon 2D ou 1D
    nOp=size(params,2);
    nMeta=size(params,1);
    memIs2D=(nOp==5);

    %initialisation de vecteurs pour le calcul de J
    %index operateur
    indOps=ones(nMeta,1)*(1:nOp);
    jOp=zeros(nMeta,nOp);
    jOp(MSParamsLogic)=indOps(MSParamsLogic);

    %temoin de somme pour esclaves
    jSum=false(nMeta,nOp);
    jSum(paramsLL>1)=true;

    %index dans J
    jInd=zeros(nMeta,nOp);
```

```

jInd(freeParamsLogic)=1:nFreeParams;
jInd=toFreeParams(jInd,paramsLL);
jInd=toParams(jInd,paramsLL,zeros(nMeta,nOp));

memBuildJ=zeros(length(find(MSParamsLogic)),3);
jOp=jOp';jSum=jSum';jInd=jInd';
memBuildJ(:,1)=jOp(MSParamsLogic');
memBuildJ(:,2)=jSum(MSParamsLogic');
memBuildJ(:,3)=jInd(MSParamsLogic');

memNMSPPerMeta=sum(MSParamsLogic,2);
end

%test signal deja calcule
if(isequal(memParams,params))
    sigM=memSigM;
    sigJ=memSigJ;
    return;
end

%sauvegarde des parametres
memParams=params;

%
%calcul du modele et de la matrice jacobienne
%

indMSP=1;
w=2*pi*li;
nMeta=metaMem.size(3);

%raz du modele et de J
memSigM=zeros(size(memSigM));
memSigJ=zeros(size(memSigJ));
if(memIs2D)
    %2D
    %pour chaque metabolite, ...
    for m=1:nMeta
        %calcule et stocke les operations exponentielles
        memExp=exp(-sharedMem.TEbase./params(m,2)+(w.*params(m,4)-params(m,3)).*sharedMem
            .timeBase+li.*params(m,5));
        %multiplie et somme le metabolite parametre au signal
        memSigM=memSigM+metaMem.sig(:, :, m).*params(m,1).*memExp;

        %calcul de J
        %pour chaque parametre libre pour ce metabolite
        nOpsMeta=memNMSPPerMeta(m);
        for k=1:nOpsMeta
            %calcule la derivee partielle selon le parametre en reutilisant
            %les operations exponentielles stockees
            indOp=memBuildJ(indMSP,1);
            bSum=memBuildJ(indMSP,2);
            indJ=memBuildJ(indMSP,3);
            if(bSum)
                %sommer la derivee partielle a une autre existante
                switch(indOp)

```

```

        case 1 %am
            memSigJ(:,indJ)=memSigJ(:,indJ)+reshape(metaMem.sig(:, :, m).*
                memExp, [], 1);
        case 2 %dTE
            memSigJ(:,indJ)=memSigJ(:,indJ)+reshape(params(m,1).*metaMem.sig
                (:, :, m).*sharedMem.TEbase./params(m,2).^2.*memExp, [], 1);
        case 3 %ddm
            memSigJ(:,indJ)=memSigJ(:,indJ)+reshape(-params(m,1).*metaMem.sig
                (:, :, m).*sharedMem.timeBase.*memExp, [], 1);
        case 4 %dfm
            memSigJ(:,indJ)=memSigJ(:,indJ)+reshape(params(m,1).*metaMem.sig
                (:, :, m).*w.*sharedMem.timeBase.*memExp, [], 1);
        case 5 %dphi
            memSigJ(:,indJ)=memSigJ(:,indJ)+reshape(params(m,1).*metaMem.sig
                (:, :, m).*li.*memExp, [], 1);
    end
else
    %pas de somme
    switch(indOp)
        case 1 %am
            memSigJ(:,indJ)=memSigJ(:,indJ)+reshape(metaMem.sig(:, :, m).*
                memExp, [], 1);
        case 2 %dTE
            memSigJ(:,indJ)=memSigJ(:,indJ)+reshape(params(m,1).*metaMem.sig
                (:, :, m).*sharedMem.TEbase./params(m,2).^2.*memExp, [], 1);
        case 3 %ddm
            memSigJ(:,indJ)=memSigJ(:,indJ)+reshape(-params(m,1).*metaMem.sig
                (:, :, m).*sharedMem.timeBase.*memExp, [], 1);
        case 4 %dfm
            memSigJ(:,indJ)=memSigJ(:,indJ)+reshape(params(m,1).*metaMem.sig
                (:, :, m).*w.*sharedMem.timeBase.*memExp, [], 1);
        case 5 %dphi
            memSigJ(:,indJ)=memSigJ(:,indJ)+reshape(params(m,1).*metaMem.sig
                (:, :, m).*li.*memExp, [], 1);
    end
end
indMSP=indMSP+1;
end
end
else
    %1D
    %pour chaque metabolite, ...
    for m=1:nMeta
        %calcule et stocke les operations exponentielles
        memExp=exp((w.*params(m,3)-params(m,2)).*sharedMem.timeBase+li.*params(m,4));
        %multiplie et somme le metabolite parametre au signal
        memSigM=memSigM+metaMem.sig(:, :, m).*params(m,1).*memExp;

        %calcul de J
        %pour chaque parametre libre pour ce metabolite
        nOpsMeta=memNMSPPerMeta(m);
        for k=1:nOpsMeta
            %calcule la derivee partielle selon le parametre en reutilisant
            %les operations exponentielles stockees
            indOp=memBuildJ(indMSP,1);
            bSum=memBuildJ(indMSP,2);

```

```

indJ=memBuildJ(indMSP,3);
if(bSum)
    %sommer la derivee partielle a une autre existante
    switch indOp
        case 1 %am
            memSigJ(:,indJ)=memSigJ(:,indJ)+reshape(metaMem.sig(:,:,m).*
                memExp,[],1);
        case 2 %ddm
            memSigJ(:,indJ)=memSigJ(:,indJ)+reshape(-params(m,1).*metaMem.sig
                (:,:,m).*sharedMem.timeBase.*memExp,[],1);
        case 3 %dfm
            memSigJ(:,indJ)=memSigJ(:,indJ)+reshape(params(m,1).*metaMem.sig
                (:,:,m).*w.*sharedMem.timeBase.*memExp,[],1);
        case 4 %dphi
            memSigJ(:,indJ)=memSigJ(:,indJ)+reshape(params(m,1).*metaMem.sig
                (:,:,m).*li.*memExp,[],1);
    end
else
    %pas de somme
    switch indOp
        case 1 %am
            memSigJ(:,indJ)=memSigJ(:,indJ)+reshape(metaMem.sig(:,:,m).*
                memExp,[],1);
        case 2 %ddm
            memSigJ(:,indJ)=memSigJ(:,indJ)+reshape(-params(m,1).*metaMem.sig
                (:,:,m).*sharedMem.timeBase.*memExp,[],1);
        case 3 %dfm
            memSigJ(:,indJ)=memSigJ(:,indJ)+reshape(params(m,1).*metaMem.sig
                (:,:,m).*w.*sharedMem.timeBase.*memExp,[],1);
        case 4 %dphi
            memSigJ(:,indJ)=memSigJ(:,indJ)+reshape(params(m,1).*metaMem.sig
                (:,:,m).*li.*memExp,[],1);
    end
end
indMSP=indMSP+1;
end
end
end
sigM=memSigM;
sigJ=memSigJ;

```

B.3 uFPRESSadj : séquence de calibration localisée des impulsions adiabatiques

```

;ufPRESS_adj.ppg - UltraFast Point Resolved Spectroscopy Adjustment
;
;*****
;2011 T Roussel
;*****

#include <MRI.include>
#include <PrepModulesHead.mod>

define delay de4

```

```

"de4=0.00002s-de"
define loopcounter lds=${$NDummyScans}
define list<frequency> lfreq=${$ACQ_01_list}
preset off
INIT_DEVICES

;-----D/P-----GRAD-----RF/ACQ-----

start, 4u
av, 4u          fq8b:f1

;relaxation
d1

;-----ws & ovs module-----
subr WsOvs(ph0,ph0)

;-----localisation module-----
;first pulse ultrafast 180 selectif (1)
d4      grad{(0.0)|(0.0)|(t20)}          lfreq[0]:f1
d6      gatepulse 1
      (p11:sp19 ph1):f1
d6
d4      groff

;pulse excitation 90 selectif (2)
d4      grad{(t1)|(0.0)|(0.0)}          lfreq[1]:f1
d6      gatepulse 1
      (p1:sp1 ph2):f1
d6
d4      groff

;gradient Ga
d4      grad{(0.0)|(0.0)|(t23)}
d7
d4      groff

;pulse refocus 180 selectif (3)
d8      grad{(t4)|(t6)|(t7)}
d4      grad{(0.0)|(t2)|(0.0)}          lfreq[2]:f1
d6      gatepulse 1
      (p2:sp2 ph3):f1
d8      grad{(t5)|(t6)|(t7)}
d4      groff

;adaptive delay for echo time
d5

;detection
      ADC_INIT_B(ph0,ph0)
d4      grad{(0.0)|(0.0)|(t23)}
d3
aqq      ADC_START
d3      ADC_END
d4      groff

```



```

SETUP_GOTO(av)
lo to av times NR
exit

```

```

ph0=0
ph1=0
ph2=0
ph3=0

```

B.4 ufJPRESS : séquence de SRM 2D J-résolue ultrarapide localisée

```

;ufJPRESS.ppg - Ultrafast Point Resolved Spectroscopy
;
;based on P. Pelupessy excitation scheme
;cf. Giraudeau, Akoka, J. Magn. Reson. 186 (2007), 352-357
;*****
;2011 T Roussel
;*****

#include <MRI.include>
#include <PrepModulesHead.mod>

define delay de4
"de4=0.00002s-de"
define loopcounter lds=${NDummyScans}
define loopcounter ldd=${NDummyDetections}
define list<frequency> lfreq=${SACQ_01_list}
preset off
INIT_DEVICES

;-----D/P-----GRAD-----RF/ACQ-----

start, 4u
av, 4u          fq8b:f1

;relaxation
d1

;-----ws & ovs module-----
subr WsOvs(ph0,ph0)

;-----localisation module-----
;pulse excitation 90 selectif (1)
d4      grad{(t1)|(0.0)|(0.0)}          lfreq[0]:f1
d6                               gatepulse 1
      (p1:sp1 ph1):f1
d6
d4      groff

;first pulse ultrafast 180 selectif (2)
d4      grad{(0.0)|(0.0)|(t20)}          lfreq[2]:f1
d6                               gatepulse 1
      (p11:sp19 ph2):f1

```

```

        d6
        d4      groff

;pulse refocus 180 selectif (3)
        d8      grad{(t5)|(t6)|(t7)}
        d4      grad{(0.0)|(t2)|(0.0)}          lfreq[1]:f1
        d6      gatepulse 1
        (p2:sp2 ph3):f1
        d6
        d8      grad{(t4)|(t6)|(t7)}
        d4      groff

;second pulse ultrafast 180 selectif reversed (4)
        d10     grad{(t8)|(t9)|(t10)}          lfreq[2]:f1
        d4      grad{(0.0)|(0.0)|(t21)}
        d6      gatepulse 1
        (p12:sp20 ph4):f1
        d6
        d10     grad{(t8)|(t9)|(t10)}
        d4      groff

;gradient de purge
        d4      grad{(0.0)|(0.0)|(t22)}          lfreq[3]:f1
        d7
        d4      groff

;dummy detections
if(PVM_ppgFlag6==Yes)
{
dummyacqloop,2u
        d4      grad{(0.0)|(0.0)|(t23)}
        aqq
        8u
        d4      groff
        2u      gatepulse 1
        if(PVM_ppgFlag5==Yes)
        {
        (p9:sp17 ph5):f1
        (p10:sp18 ph6):f1
        (p9:sp17 ph5):f1
        ipp5
        ipp6
        }
        else
        {
        (p8:sp16 ph7):f1
        ipp7
        }
lo to dummyacqloop times ldd
}

;detection
acqloop,2u
        d4      grad{(0.0)|(0.0)|(t23)}          ADC_INIT_B(ph0,ph0)
        aqq      ADC_START

```

```
8u                                ADC_END
d4      groff

;dummy scans
"lds = lds - 1"
if "lds>=0" goto start

2u                                gatepulse 1
if(PVM_ppgFlag5==Yes)
{
(p9:sp17 ph5):f1
(p10:sp18 ph6):f1
(p9:sp17 ph5):f1
ipp5
ipp6
}
else
{
(p8:sp16 ph7):f1
ipp7
}
lo to acqloop times NI
SETUP_GOTO(av)
ipp4
lo to av times NR
exit

ph0=0
ph1=0
ph2=0
ph3=0
;excitation phase cycling
ph4=0 1
;detection phase cycling (composite pulse)
ph5=1 1 3 3
ph6=0 0 2 2
;detection phase cycling (hard pulse)
ph7=1 1 3 3
```