

Année 2008

N° : 20

Développements Méthodologiques en Spectroscopie RMN *in vivo* pour l'étude des tumeurs cérébrales

THÈSE DE DOCTORAT

École Doctorale : CHIMIE BIOLOGIE

Discipline : Biophysique

Spécialité : RMN

*Présentée
et soutenue publiquement par*

DESAL Hubert-Armand

Le 25 juin 2008, à 14h devant le jury ci-dessous

Rapporteurs : M. DIETEMANN Jean-Louis, *Professeur • Université de Strasbourg*
M. PRUVO Jean-Pierre, *Professeur • Université de Lille*

Examineurs : Mme ALLARD Michèle, *Professeur • Université Bordeaux*
M. de KERSAINT-GILLY Axel, *Professeur • Université de Nantes*

Directeur de thèse : M. AKOKA Serge, *Professeur • Université de Nantes*

Co-Directrice : Mme CURTET Chantal, *Maître de Conférences • Université de Nantes*

Avant-propos

"N'allez pas où le chemin peut mener, allez là où il n'y a pas de chemin et laissez une trace."
Waldo EMERSON (1803-1882) Ralph

"Les yeux sont aveugles. Il faut chercher avec le coeur."
Antoine de Saint-Exupéry (1900-1944)

PLAN

AVANT-PROPOS.....	6
INTRODUCTION.....	8
I RAPPEL	10
I.1 Notion de spectroscopie protonique localisée (SRM-¹H).....	10
I-1-1 Le déplacement chimique.....	10
I-1-2 Le couplage de spin	11
I-1-3 Suppression du signal de l'eau.....	13
I-1-4 Localisation spatiale.....	13
I-1-4-1 Séquence PRESS	14
I-1-4-2 Séquence STEAM.....	15
I-1-4-3 Comparaison des séquences PRESS et STEAM.....	17
I-1-3 Influence du temps d'écho (TE)	20
I.2 ERETIC	20
I.3 Traitement du signal.....	21
I-3-1 Dans le domaine temporel.....	21
I-3-1-1 L'apodisation.....	21
I-3-1-2 Zero-filling	22
I-3-1-3 Correction des courants de Foucault	22
I-3-2 Dans le domaine fréquentiel.....	23
I-3-2-1 Correction de la phase	23
I-3-2-2 Correction de la ligne de base	24
I-3-2-3 Quantification	24
I.4 Composition chimique et Métabolites cérébraux	27
I.5 Analyse en Composantes Principales.....	34
I.6 Les Tumeurs cérébrales d'origine gliale.....	35
I-6-1 Considérations anatomo-pathologiques.....	35
1-6-1-1 Astrocytomes grade II de l'OMS	36
1-6-1-2 Astrocytomes anaplasiques grade III de l'OMS.....	36
1-6-1-3 Glioblastome polymorphe grade IV de l'OMS	37
1-6-1-4 Oligodendrogliome (grade II) et Oligodendrogliome anaplasique (grade III).....	37
1-6-1-5 Oligoastrocytome (grade II) et Oligoastrocytome anaplasique (grade III).....	37
I -6-2 Imagerie des Gliomes.....	39
I -6-2-1 Imagerie morphologique	39
I -6-2-2 Limites de l'imagerie morphologique	43
I -6-2-3 Imagerie fonctionnelle.....	44
I -6-2-4 Spectroscopie par résonance magnétique (SRM- ¹ H).....	46
I -6-2-5 Imagerie par médecine nucléaire	56
1-6-3 Apports de la biologie moléculaire, génomique et protéomique	57
1-6-4 Considérations thérapeutiques	59
1-6-4-1 La chirurgie.....	59
1-6-4-2 La radiothérapie	59
1-6-4-3 La chimiothérapie.....	59

II DEVELOPPEMENTS METHODOLOGIQUES..... 60

II-1 Description du protocole d'acquisition 60

II-1-1	Matériels	61
II-1-2	Développement méthodologique du protocole de post-traitement.....	62
II-1-3	Description de notre protocole de post-traitement : P-protocole	62
II-1-4	Calcul du temps de relaxation T2 et de la concentration absolue des métabolites	64

II-2 Résultats de la comparaison des deux protocoles - Validation 66

II-2-1	Spectres sur les fantômes de métabolites purs.....	66
II-2-2	Approches quantitatives sur fantôme contenant des concentrations de métabolites connues	67
II-2-3	Spectres sur volontaires sains.....	68
II-2-4	Approches quantitatives, calcul des temps de relaxations T1, T2 et des concentrations (PRESS)	69
II-2-4-1	Évaluation de l'effet T1	70
II-2-4-2	Prise en compte de l'effet T2.....	70
II-2-4-3	Effet du filtre	72
II-2-5	Approches quantitatives, calcul des temps de relaxations T1, T2 et des concentrations (STEAM)....	73
II-2-6	Evaluation comparative avec la méthode QUEST	76
II-2-7	Evaluation comparative avec la méthode LC-Model	78

II-3 Discussion 78

II-3-1	Analyse des résultats obtenus avec « P-protocole ».....	78
II-3-2	Comparaison avec d'autres méthodes de post-traitement	80

III APPLICATION AUX TUMEURS GLIALES 84

III-1 Matériels et Méthodes..... 84

III-1-1	Volontaires / Patients pour PRESS.....	85
III-1-1-1	Volontaires / Témoins	85
III-1-1-2	Patients	85
III-1-2	Volontaires / Patients pour STEAM.....	87
III-1-3	Acquisition des données	87
III-1-4	Post-traitement.....	88
III-1-5	Traitement statistique des données	89

III-2 Résultats..... 90

III-2-1	Exemples de spectres obtenus avec « P-protocole ».....	90
III-2-1-1	Volontaires / Témoins	90
III-2-1-2	Gliome de grade II.....	92
III-2-1-3	Gliome anaplasique de grade III.....	93
III-2-1-4	Glioblastome	94
III-2-2	Statistiques par groupes avec PRESS.....	95
III-2-3	Statistiques par groupes avec STEAM.....	101
III-2-4	Analyse en Composante Principale (ACP) et Analyse Factorielle de correspondance (AFC)	106
III-2-4-1	ACP avec la séquence PRESS.....	106
III-2-4-2	AFC avec la séquence PRESS.....	109
III-2-4-3	ACP avec la séquence STEAM.....	110

III-3 Discussion..... 112

III-3-1	Protocole d'acquisition	113
III-3-1-1	Méthode de localisation spatiale	113
III-3-1-2	Choix du temps de répétition (TR)	113
III-3-1-3	Acquisition mono-voxel (SVS) ou multi-voxel (CSI)	113
III-3-1-4	Choix de la taille du voxel et de sa position.....	114
III-3-1-5	Temps d'écho optimum	115
III-3-2	Protocole de post-traitement	117

III-3-2-1	Rapport des métabolites sur la créatine.....	117
III-3-2-2	Rapport des métabolites sur l'eau.....	119
III-3-2-3	ACP des rapports, des concentrations et des temps de relaxation T2	120
III-3-3	Intérêt de notre méthodologie appliquée aux tumeurs gliales. Commentaires sur les patients et leur survie.	123
IV	DEVELOPPEMENTS ET PERSPECTIVES	126
IV-1	ERETIC	126
IV-1-1	Matériels et Méthodes	130
IV-1-1-1	Fantômes	130
IV-1-1-2	Volontaires.....	131
IV-1-1-3	Acquisitions & Post-Traitement.....	131
IV-1-2	Résultats	132
IV-1-2-1	Création du signal ERETIC	132
IV-1-2-2	Traitement des données	132
IV-1-2-3	Analyse des Résultats	133
IV-1-3	Résultats	135
IV-1-4	Discussion	139
IV-1-4-1	Comparaison entre TE 30 ms et TE 135 ms.....	139
IV-1-4-2	Concentrations obtenues avec ERETIC comme référence.....	140
IV-1-4-3	Quantification Absolue.....	141
IV-1-5	Conclusion.....	145
IV-2	Détermination du TE optimum à l'aide de l'ACP	146
IV-2-1	Méthode.....	147
IV-2-2	Résultats	147
IV-2-3	Discussion	150
IV-2-4	Conclusion.....	152
IV-3	Perspectives.....	153
	CONCLUSION	155
	BIBLIOGRAPHIE	158
	Annexe n°1	
	Annexe n°2	
	Annexe n°3	

AVANT-PROPOS

"N'allez pas où le chemin peut mener, allez là où il n'y a pas de chemin et laissez une trace."

Ralph Waldo EMERSON (1803-1882)

"Les yeux sont aveugles. Il faut chercher avec le coeur."

Antoine de Saint-Exupéry (1900-1944)

Ce travail n'aurait pu être mené à son terme sans la confiance et l'aide de nombreuses personnes qui m'ont supporté tout au long de cette période, qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance et de mes plus chaleureux remerciements.

À toute ma famille mais surtout à Pascale, Raphaël, Flore et Elsa pour leur patience, leur compréhension et leur soutien. Leur amour et leur bonheur est mon unique motivation.

Au Professeur Serge Akoka, dont la rigueur, l'exigence, le soutien et les qualités humaines, m'ont accompagné et guidé tout au long de ce travail. Je souhaite prolonger notre collaboration pour construire, sous votre expertise scientifique, un projet de recherche à long terme. Je suis votre élève dans le monde de la recherche fondamentale, croyez en ma totale reconnaissance.

Au Professeur Axel de Kersaint-Gilly, qui m'a encouragé et permis de mener à bout ce travail, pour la charge de travail supplémentaire que cela vous a demandé, veuillez croire à ma sincère admiration pour avoir créé un service de neuroradiologie hospitalo-universitaire ayant également une vocation de recherche.

Je remercie les Professeurs Jean-Louis Dietemann et Jean-Pierre Pruvo d'avoir accepté d'être rapporteurs et de juger ce travail. Leur contribution scientifique au rayonnement de la neuroradiologie française est pour moi un exemple.

Je remercie le Professeur Michèle Allard de participer au jury de cette thèse.

Je remercie Mme Chantal Curtet pour m'avoir soutenu fidèlement depuis de longues années et pour juger ce travail.

À M^{lle} Nashiely Pineda-Alonso (PhD) avec qui j'ai eu le plaisir et l'honneur de travailler pendant trois ans. Son travail et sa participation active à l'élaboration des développements méthodologiques ont été les fondements de l'application clinique. Nous avons tous pu apprécier tes qualités humaines et scientifiques. Accepte mes remerciements les plus amicaux.

Au Docteur Elisabeth Auffray-Calvier qui m'a tout enseigné en neuroradiologie diagnostique. Pour tout ce que le service te doit, accepte les remerciements amicaux de ton élève.

À tous les chefs de clinique - Assistant des hôpitaux du service : Eric Wafflart, Erika Naudou-Giron, Arnaud Madoz, Benjamin Daumas-Duport et Nathalie David, pour leur travail actif dans le service me permettant de me consacrer à cette thèse.

À l'ensemble du personnel du Service de Neuroradiologie, pour l'ambiance bénéfique et apaisante, qui m'a motivé pour aboutir.

À tous mes amis, par leurs indéfectibles encouragements, qui m'ont apporté soutien et confiance.

INTRODUCTION

Les développements technologiques en résonance magnétique nucléaire (RMN), ces trente dernières années, représentent une révolution scientifique et médicale de première importance. Pour le monde des neurosciences, ces techniques, véritablement non invasives, ont permis l'analyse *in vivo* de l'anatomie (imagerie par résonance magnétique - IRM) mais aussi du fonctionnement et du métabolisme cérébral (spectroscopie par résonance magnétique - SRM). Ces différentes ramifications d'une même technique nous permettent de mieux comprendre le cerveau normal et nous informent sur les mécanismes sous-jacents à de nombreux processus pathologiques (Grand 2006, Talos 2006).

Ce travail s'inscrit dans la continuité des efforts méthodologiques pour que la spectroscopie protonique par résonance magnétique, SRM-¹H, devienne un outil performant et facilement utilisable dans la pratique quotidienne des services de radiologie travaillant au sein des neurosciences.

En effet, il faut constater que l'SRM-¹H n'a pas encore une place parfaitement définie parmi les explorations RMN en pratique clinique. Malgré le fait que la SRM ait précédé de plus de 40 ans le développement de l'IRM et continue de jouer un rôle fondamental en physique, en chimie et en biochimie.

Déjà en 1991, Bottomley écrivait un éditorial titré : « le problème avec les publications en spectroscopie », pour critiquer et donner des conseils sur les études cliniques concernant la spectroscopie. Pourtant 15 ans plus tard, Lin *et al.* (2006) soulignent, à l'heure de « l'évidence-based medicine », qu'il persiste de nombreuses interrogations sur la valeur ajoutée de la SRM-¹H dans le diagnostic des processus pathologiques cérébraux et de nombreux défauts méthodologiques dans la littérature (Mark 2005).

Tout au long de cette thèse, notre travail a donc été en permanence guidé par deux grandes préoccupations :

- optimiser les méthodologies d'acquisition et de post-traitement pour une utilisation « non-opérateur » dépendante de la SRM-¹H à des fins de différenciation des tumeurs cérébrales ;
- proposer une approche qui soit directement transposable dans les protocoles d'exploration de routine clinique.

Dans un premier temps, les développements méthodologiques ont porté sur l'évaluation des séquences de localisation (PRESS & STEAM) et des paramètres d'acquisitions (TE & TR) pour obtenir la meilleure reproductibilité et fiabilité sur une population témoin de 30 volontaires. Un protocole de

post-traitement, opérationnel directement sur la console de l'imageur, a été mis au point afin de prendre en compte toute la complexité des spectres SRM- ^1H *in vivo*, J-modulation et effets de 2nd ordre compris, tout en gardant la convivialité du protocole proposé par le constructeur.

Dans une seconde étape, ce protocole a été appliqué aux tumeurs gliales prises en charge par notre service lors des examens diagnostiques initiaux mais également lors du suivi sous traitement pour validation et évaluation. Nous avons ainsi pu déterminer la meilleure méthodologie pour obtenir des données pertinentes lors de l'analyse en composantes principales (ACP), dont l'intérêt essentiel est de ne pas nécessiter de classification *a priori*. Cette approche nous a permis de montrer que l'ACP est un outil simple et efficace pour situer visuellement une tumeur gliale dans un graphe qui renseigne sur l'agressivité de la lésion.

Dans une dernière étape, deux études plus exploratoires ont été menées. Nous avons évalué une nouvelle stratégie d'optimisation et de rationalisation du choix des TE : le couplage de l'analyse en composantes principales et de la simulation des intensités à différents TE. Enfin, dans le cadre d'un protocole de recherche sur 10 volontaires, nous avons démontré la faisabilité de la méthode ERETIC pour la détermination des concentrations absolues des métabolites sur un imageur corps entier commercial.

I **Rappel**

I.1 **Notion de spectroscopie protonique localisée (SRM-¹H)**

Tout noyau de spin non nul, ayant un rapport gyromagnétique propre, γ , soumis à l'action d'un champ magnétique B_0 , émet un signal de résonance magnétique (RMN) à une fréquence ω_0 définie par la relation de Larmor

$$\omega_0 = \gamma \cdot B_0$$

L'amplitude du signal RMN enregistré, après excitation par une impulsion de radiofréquence (RF) à cette même fréquence, est proportionnelle aux nombres de noyaux présents dans l'échantillon. En mesurant le signal d'un noyau donné point par point dans un plan de coupe, on va donc pouvoir reconstruire une cartographie de la distribution de ce noyau, les intensités étant modulées par les temps de relaxation et les choix des paramètres des séquences. Le noyau d'hydrogène est celui utilisé en IRM morphologique. Il a l'avantage d'être abondant à l'état naturel, d'avoir une bonne sensibilité RMN et d'être présent dans toutes les molécules en particulier l'eau (qui représente 70% du corps humain)

La SRM-¹H *in vivo* utilise, comme l'IRM morphologique, le noyau de l'atome d'hydrogène pour une caractérisation tissulaire.

I-1-1 **Le déplacement chimique**

Le déplacement chimique est le premier phénomène permettant d'obtenir des renseignements sur la structure d'une molécule. Le déplacement chimique correspond à la modification de la fréquence de résonance des noyaux au sein des molécules, en fonction de leur environnement chimique. La présence du nuage électronique constitue un « blindage » électronique qui atténue légèrement le champ magnétique perçu par le noyau. Le champ magnétique effectif (B) correspond donc à B_0 auquel s'ajoute l'influence de l'environnement chimique. La fréquence de résonance ν est alors :

$$\nu = \gamma \cdot B / 2\pi$$

À chaque groupement chimique d'une molécule contenant des atomes d'hydrogène correspond un déplacement chimique précis. Les différences de fréquence de résonance sont exprimées en parties par millions (ppm), qui est une valeur indépendante de l'amplitude du champ magnétique. La valeur du déplacement chimique nous renseigne ainsi sur le groupement moléculaire qui porte les noyaux d'hydrogène.

I-1-2 Le couplage de spin

Le couplage de spin est un autre type d'interaction moléculaire modifiant la fréquence de résonance. Les protons, présents à l'intérieur d'une molécule, interagissent avec d'autres spins (groupement chimique voisin) et vont altérer le champ magnétique local autour de chaque noyau. Ce phénomène est relayé à l'état liquide, par les électrons de liaison. La distance entre 2 raies d'un même massif est caractérisée par une constante de couplage, notée J , exprimée en Hertz.

Le couplage de spin diffère également du déplacement chimique par deux aspects:

Il est indépendant du champ B_0 appliqué alors que le déplacement chimique lui est directement proportionnel lorsqu'il est mesuré en Hz.

Il existe toujours un autre spin impliqué dans le couplage alors que le déplacement chimique est propre à un groupement fonctionnel au sein d'une molécule.

On parle d'un couplage de 1^{er} ordre ou couplage faible, quand la constante de couplage J est inférieure d'au moins un ordre de grandeur par rapport à la différence du déplacement chimique des groupes de spins en interaction.

On parle d'un couplage de 2^{ème} ordre ou couplage fort, lorsque la différence de déplacement chimique entre les noyaux est du même ordre de grandeur que la constante de couplage J , les multiplets apparaissent alors déformés sur le spectre.

Lorsque le signal RMN est acquis à l'aide d'une séquence d'écho de spin (ou d'écho stimulé), comme c'est le cas pour la spectroscopie localisée, le couplage de spin peut permettre de distinguer des molécules ayant le même déplacement chimique. Ainsi, dans le cas d'un doublet, les deux aimantations correspondant aux deux raies du doublet évoluent avec des vitesses différentes dans le référentiel tournant. L'une d'elles tourne à la vitesse $+J/2$ et l'autre à la vitesse $-J/2$. Pour une valeur de TE égale à $1/(2J)$, ces deux aimantations ont parcouru un angle de $\pi/2$ en directions opposées et sont alors en opposition de phase à la fin de l'écho. Ce phénomène est appelé J-modulation.

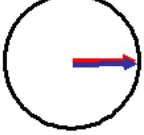
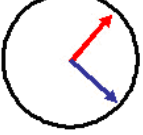
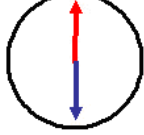
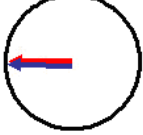
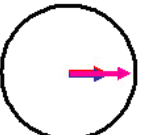
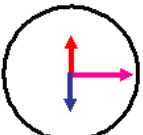
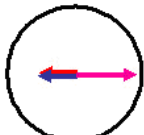
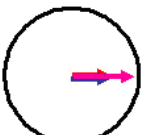
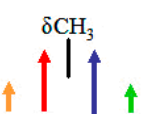
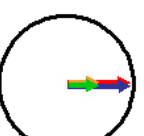
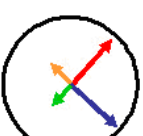
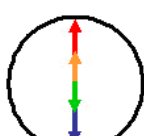
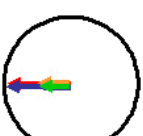
Temps d'écho				
Multiplet	TE=0	TE=1/(4J)	TE=1/(2J)	TE=1/J
δCH  Doublet				
δCH_2  Triplet				
δCH_3  Quadruplet				

Figure n° I-1 : Exemple de la J-modulation pour un doublet, triplet et quadruplet à différents temps d'écho (exprimés en fonction de la constante de couplage J).

La J-modulation induit donc une différence de phase entre les différentes raies d'un multiplet. À titre d'exemple pertinent en clinique, on observe que les groupements CH_3 des lactates et CH_2 des lipides résonnent conjointement à 1,3 ppm lors d'acquisition à TE court, or le doublet du lactate s'inverse lorsque le temps d'écho est de $\text{TE}=1/J$, ce qui permet de les différencier à TE 135ms, le doublet du lactate s'inversant alors que le massif des lipides reste positif.

(a)

(b)

Figure n° I-2a,b : doublet CH_3 du lactate à 1,3 ppm sur un spectre de $^{\text{SRM-1H}}$ SVS in vivo (PRESS, TR : 2000ms) à TE 30ms (a) et TE 135ms (b). Inversion du doublet à 135ms permettant de le distinguer du pic CH_2 des lipides.

I-1-3 Suppression du signal de l'eau

Dans les milieux biologiques, les métabolites cérébraux sont présents en très faible quantité par rapport à l'eau (dix mille fois plus abondante). Les métabolites cérébraux sont en concentration de l'ordre de 10 mM alors que l'eau est à environ 40 M dans un cerveau sain (Barker 2006). De plus le déplacement chimique de l'eau à 4,7 ppm se situe à proximité de la zone de résonance des métabolites cérébraux (entre 0,5 et 4 ppm). En conséquence la suppression du signal de l'eau est indispensable pour pouvoir individualiser et observer le signal des métabolites cérébraux. L'eau ayant un temps de relaxation T2 plus court que les principaux métabolites, sa suppression sera d'autant plus efficace à TE long.

La méthode la plus utilisée pour supprimer le signal de l'eau est la pré-saturation sélective par une série d'impulsions de 90°, avant les gradients de localisation, appelée CHEmical Shift Selective ou CHESS (Haase 1985). La séquence CHESS est basée sur l'application de trois impulsions de 90° de largeur de bande étroite, centrée sur la fréquence de résonance de l'eau suivie d'un gradient (« spoiler »). Cette séquence atténue le signal de l'eau d'un facteur 1000.

I-1-4 Localisation spatiale

Les techniques de localisation spatiale du signal en spectroscopie protonique se déclinent en acquisition monovoxel (Single voxel Spectroscopy – SVS) ou acquisition multi-voxel (imagerie spectroscopique ou imagerie de déplacement chimique - MRSI – chemical shift imaging - CSI). En spectroscopie localisée ou monovoxel (SVS), l'objectif est d'acquérir un spectre unique provenant d'un petit volume bien défini et situé à un endroit précis du parenchyme cérébral.

Les deux méthodes de localisation spatiale les plus utilisées sont la séquence PRESS (Kimmich 1987) et la séquence STEAM (Granot 1986, Frahm 1987). Elles reposent sur le même principe d'utilisation d'impulsions sélectives en présence d'un gradient de champ pour sélectionner et exciter une région précise de dimension voulue. La localisation spatiale s'effectue en une seule fois en excitant successivement trois plans de coupes orthogonales. Le volume analysé est défini par l'intersection de ces trois plans de coupe. Seul le signal des spins à l'intérieur de ce volume sera recueilli et analysé. Ce point est particulièrement crucial car, sachant que le volume cérébral est en moyenne de 1500 cc³ et que le volume habituel d'une SVS est de 8 cc³, si la séquence recueille 1% du signal provenant de l'extérieur du voxel, il y aura, alors, 2 fois plus de signal issu de l'extérieur que du voxel lui-même !

(Barker 2006) il est donc essentiel que le signal à l'extérieur du voxel soit le plus efficacement supprimé.

Une autre approche de localisation spatiale du signal consiste à combiner plusieurs acquisitions afin d'éliminer les signaux non souhaitables. C'est le cas de la technique ISIS (Image Selective *In Vivo* Spectroscopy). Cette méthode est principalement utilisée en spectroscopie du phosphore et ne sera pas développée dans ce travail.

I-1-4-1 Séquence PRESS

La séquence PRESS (Point Resolved Steady State) (Kimmich1987) est basée sur un double écho de spin. La séquence PRESS consiste à appliquer une impulsion sélective de 90° suivie de deux impulsions de 180° .

À la suite d'une impulsion de 90° , les spins se déphasent rapidement en raison des inhomogénéités de champ magnétique d'origine moléculaire mais aussi en raison des inhomogénéités propres de B_0 . Si au bout d'un temps $TE/2$ (TE étant le temps d'écho) après l'impulsion RF de 90° (les spins sont déjà déphasés), une impulsion RF de 180° est appliquée, celle-ci va inverser les déphasages (image en miroir) sans modifier le sens de rotation. Les spins qui précédaient le plus rapidement vont se retrouver derrière les plus lents et comme les vitesses de précession (et le sens de rotation) restent identiques, au bout d'un temps $2*TE/2=TE$ (temps d'écho), les spins seront de nouveau en phase, engendrant un signal dit écho de spin. L'application d'un gradient suivant x pendant l'impulsion de 90° sélectionne une coupe. Le gradient suivant l'axe y est appliqué pendant la première impulsion 180° , ce qui conduit à la formation d'un écho de spin qui ne provient que du parallélépipède résultant de l'intersection entre les deux coupes. Une deuxième impulsion de 180° , en présence d'un gradient suivant l'axe z , produit un second écho de spin qui ne contient que le signal présent dans le voxel résultant de l'intersection des trois coupes. Le chronogramme d'une séquence PRESS est représenté dans la Figure n° I.3.

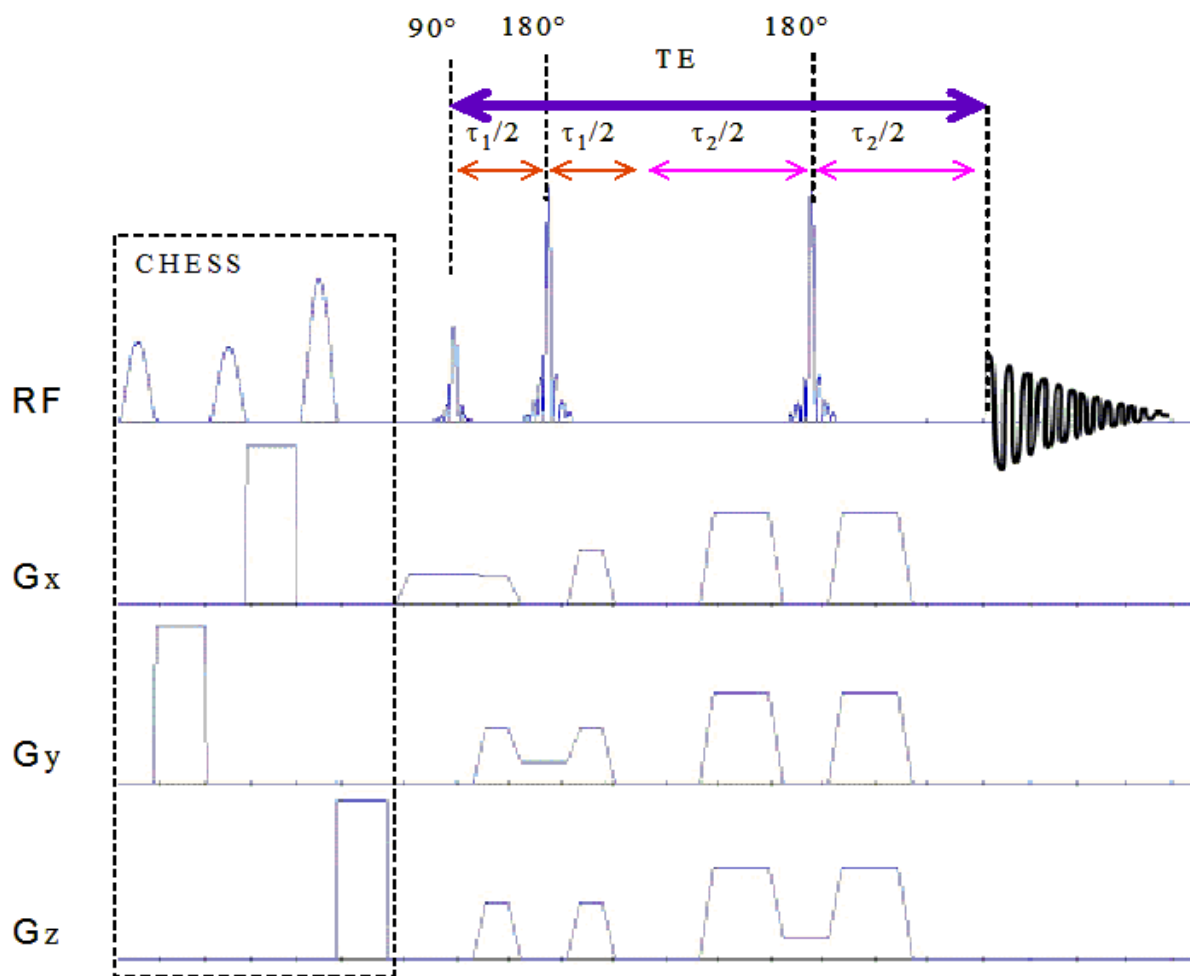


Figure n°I-3 : Séquence de spectroscopie PRESS, précédée par la séquence de saturation du signal de l'eau (CHESS). τ_1 correspond au temps d'écho du premier écho de spin créé par les impulsions de 90° et 180° . τ_2 correspond au temps d'écho du deuxième écho de spin, créé par la deuxième impulsion de 180° .

I-1-4-2 Séquence STEAM

La séquence STEAM (Stimulated Echo Acquisition Mode) (Frahm 1987) est basée sur le recueil d'un écho stimulé et met en œuvre trois impulsions de 90° . La première impulsion fait basculer l'aimantation dans le plan transversal. La seconde impulsion fait rebasculer une partie de l'aimantation suivant l'axe longitudinal. L'aimantation transversale résiduelle chute durant l'intervalle de temps TM et n'entre donc pas dans le signal. La troisième impulsion fait rebasculer l'aimantation dans le plan transversal. Le signal de l'écho stimulé est mesuré après un intervalle de temps TE/2 donné. Dans l'intervalle de temps TM, l'aimantation longitudinale est soumise à la relaxation T1. Cela signifie que

TM doit être court par rapport aux constantes T1 des tissus étudiés. La perte de signal due aux effets de T1 doit être la plus faible possible.

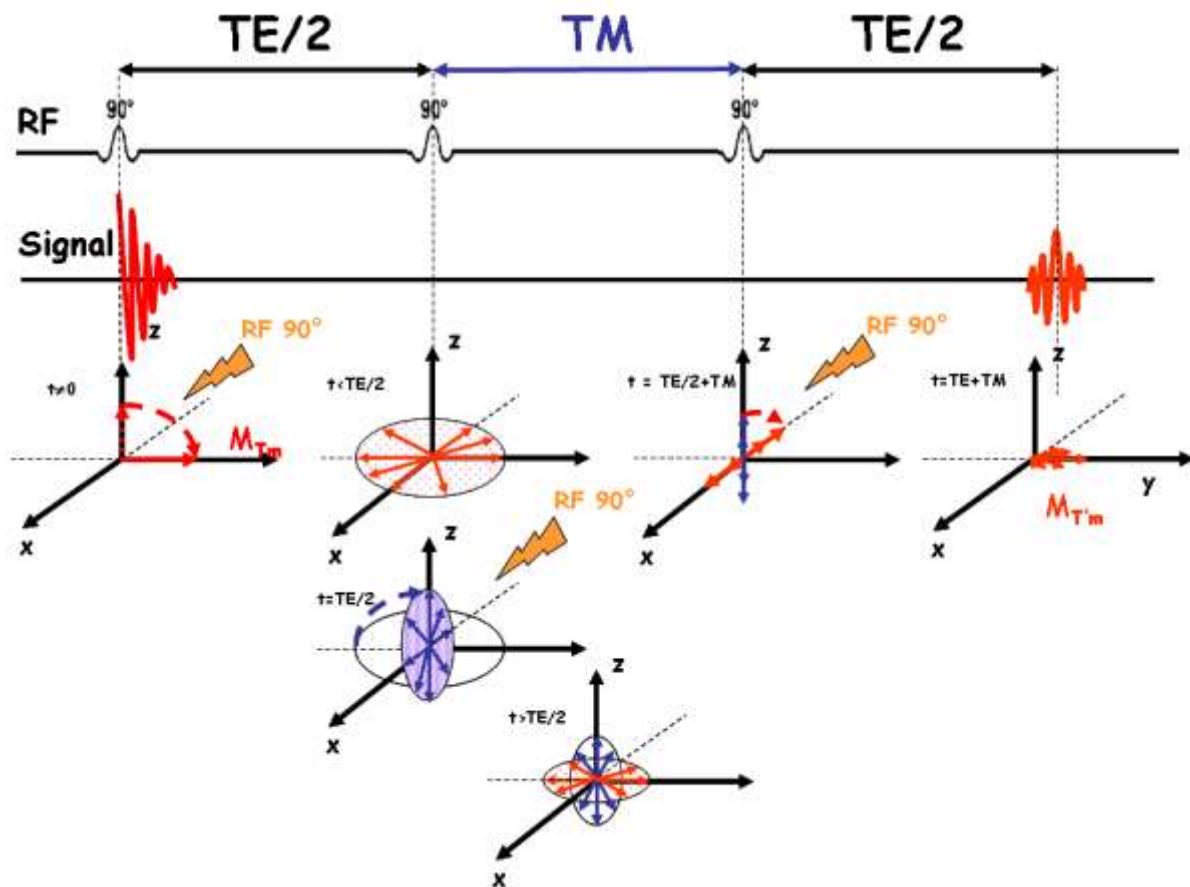


Figure n° I-4 : Dans la séquence d'écho stimulé, la première RF de 90° bascule l'aimantation dans le plan transversal. La deuxième impulsion va réaligner une partie de l'aimantation qui se trouve dans le plan transversal sur l'axe longitudinal. Pendant le temps TM , l'intensité de l'aimantation va décroître par l'effet de la relaxation T1. La troisième impulsion RF rebascule l'aimantation dans le plan transversal pour qu'elle soit lue. L'écho stimulé sera généré par la refocalisation de la moitié de l'aimantation.

L'intensité du signal d'écho stimulé sera diminuée en T2 par rapport à l'intensité du FID résultant de la première impulsion RF de 90° .

Comme dans les cas de la séquence PRESS, chacune des trois impulsions RF est appliquée en présence d'un gradient différent. L'écho stimulé provient donc du voxel résultant de l'intersection des trois coupes sélectionnées.

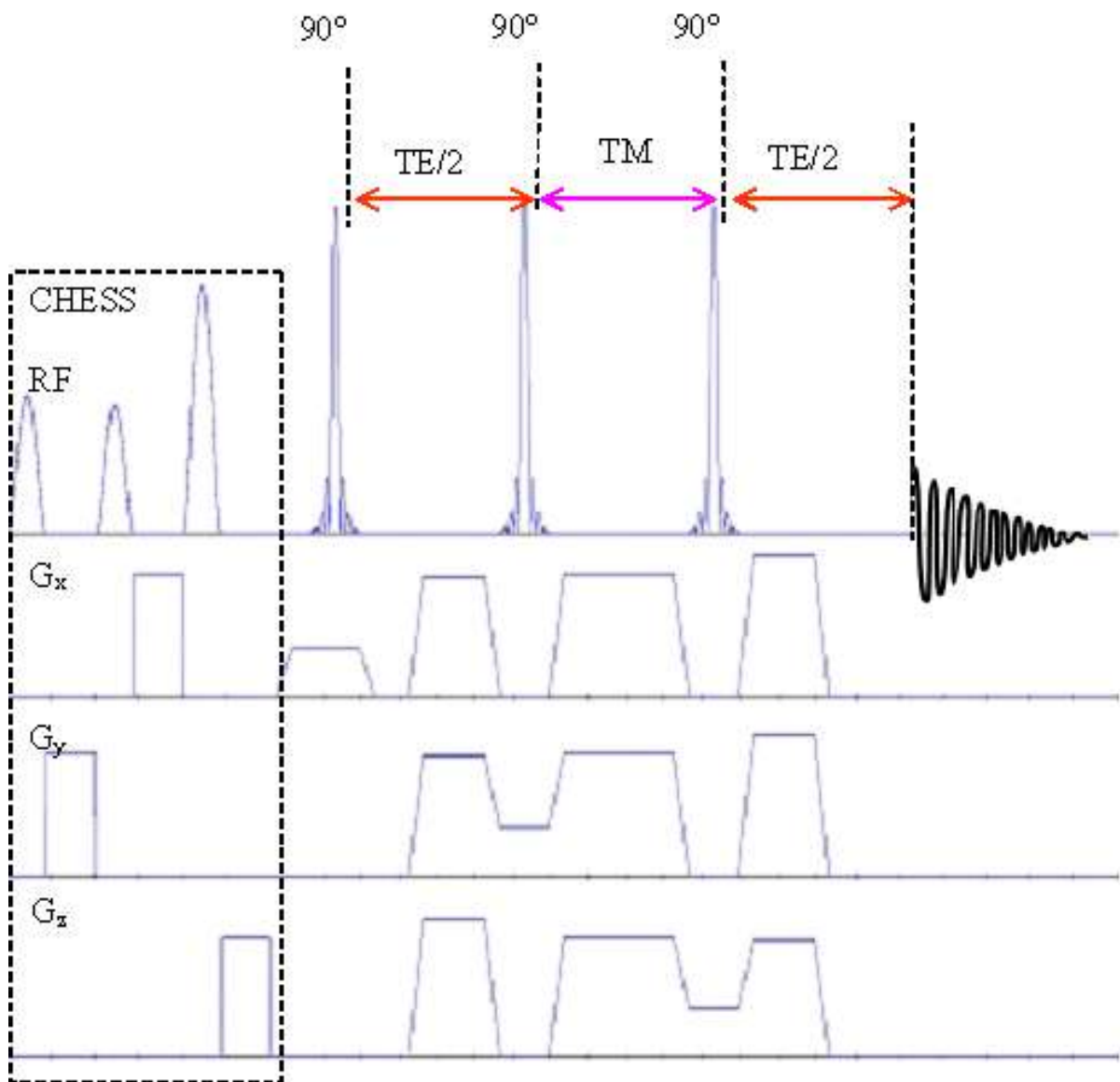


Figure n°I-5 : Séquence STEAM, précédée par la séquence de saturation du signal de l'eau (CHESS). TM correspond au temps de mélange.

I-1-4-3 Comparaison des séquences PRESS et STEAM

Les deux séquences (PRESS & STEAM) reposent sur la réalisation de trois impulsions sélectives, chacune dans une direction de l'espace. Le voxel étudié est placé à l'intersection de ces trois plans. Cependant, ces deux séquences possèdent des propriétés différentes (Moonen 1989, Barker 2006) en termes de :

Profils de coupes : les impulsions de 180° (PRESS) sont délicates à produire, induisant des profils de coupes plus approximatifs avec une « pollution » extérieure au VOI. La séquence STEAM est donc plus précise en terme de localisation spatiale.

Rapport Signal sur Bruit : avec PRESS, l'écho est généré en prenant en compte l'aimantation complète alors qu'avec STEAM seule une partie du signal crée l'écho stimulé. Par conséquent, PRESS présente un meilleur rapport signal sur bruit (de l'ordre d'un facteur 2).

Temps d'écho minimum : STEAM permet l'acquisition à TE plus court que PRESS grâce à l'utilisation du TM durant la relaxation T1.

Suppression de l'eau : en théorie STEAM possède une meilleure suppression du signal de l'eau du fait de la possibilité d'application d'impulsion additionnelle durant la période de mélange (TM).

Couplage et « zero-quantum » cohérence : ce phénomène complexe apparaît pour les spins couplés (lactate, glutamate...). STEAM est plus sensible à ce phénomène du fait de ses impulsions à 90°.

Sensibilité aux mouvements et à la diffusion : STEAM est beaucoup plus sensible aux mouvements (physiologique du cerveau) et aux phénomènes de diffusion que la séquence PRESS (Patany 2006).

En pratique, ces différences doivent être connues, mais PRESS & STEAM sont généralement considérées comme comparables en routine clinique. Le choix de l'une ou de l'autre dépend principalement de la disponibilité sur la machine utilisée.

Longo *et al.* (1994) ont caractérisé expérimentalement la séquence PRESS en évaluant différents paramètres:

- l'efficacité de la sélection du signal à l'intérieur du VOI (volume of interest).
- l'efficacité pour la suppression du signal provenant de l'extérieur du VOI.
- la contamination par le signal provenant de l'extérieur du VOI.

Ces auteurs démontrent que les résultats sont affectés par le temps d'écho et non par des modifications du TR. L'efficacité de la sélection apparaît moyenne mais stable. De plus, la contamination est de plus en plus importante dans le cas d'un mauvais ajustement des impulsions.

L'équipe de Yongbi (1995) a mené une étude similaire à celle de Longo (1994). Pour PRESS, la contamination était de 7 % à 12 % et pour STEAM de 3% à 8%. Cependant, l'efficacité maximale de sélection de signal à TE = 270 ms pour les deux techniques (PRESS et STEAM) était relativement

faible (de 10 % à 17 %), et limitée par les pertes T2 et les profils non rectangulaires des impulsions sélectives.

Ernst *et al.* (1991) ont évalué les effets de couplage qui peuvent être induits par les séquences PRESS et STEAM dans les systèmes à couplage faible. Pour la séquence PRESS, les échos de spin sont dépendants de l'angle de l'impulsion de refocalisation, qui peut entraîner une atténuation du signal acquis. Pour STEAM, les cohérences à zéro quanta et la polarisation longitudinale sont les effets qui dominent l'évolution du signal pendant les temps TM, ce qui module d'une manière importante le spectre lors de la variation de TM. Il semblerait que les modulations qu'ils ont observées compliqueraient la quantification des métabolites au-dessous des temps d'écho de 50 ms.

Par ailleurs, Moonen *et al.* (1989) ont comparé PRESS et STEAM en terme de :

- Sensibilité au mouvement et à la diffusion.
- Minimisation du temps d'écho TE.
- Suppression du signal de l'eau.
- Possibilité d'éditer des pics.

Les expériences ont été menées sur des cerveaux de chat à 4,7 T et sur des cerveaux humains à 1,5 T. Ils ont conclu que les deux techniques sont de bonnes méthodes de localisation. Pour des temps d'écho longs, PRESS est la méthode la plus intéressante car elle offre un gain d'intensité de signal deux fois supérieure par rapport à STEAM. PRESS est moins sensible au mouvement (Pattany 2006) et à la diffusion et elle n'est pas sensible aux effets de transition à multiple quanta. STEAM offre des avantages pour l'observation des métabolites avec des T2 courts car des temps d'écho plus courts peuvent être atteints.

I-1-3 Influence du temps d'écho (TE)

Le temps d'écho (TE) est un facteur essentiel et déterminant dans le nombre de métabolites détectés et la qualité de la ligne de base (Cousins 1995). De nombreuses controverses persistent sur le TE optimal (Voir Chapitre n° IV-2).

Les spectres à TE court (< 35 ms) :

L'acquisition à TE court permet de détecter les métabolites à temps de relaxation T2 court.

Avantage : richesse de l'information

Inconvénient : les spectres sont plus difficiles à analyser du fait d'un grand nombre de recouvrements des pics, d'une ligne de base plus importante et d'une plus grande sensibilité aux artéfacts (Devos 2004)

Les spectres à TE long (> 130 ms) :

A TE long, seuls les signaux émis par la Cho, Cr et le NAA sont retrouvés chez les sujets sains, alors que des métabolites comme les lactates (Lac), l'alanine (Ala) ou les lipides (Lip) ne seront détectables que si leur concentration est suffisamment élevée dans le cadre d'un processus pathologique.

Avantage : les pics sont plus différenciés sans recouvrement, avec une meilleure élimination du signal de l'eau.

Inconvénient : on constate une diminution ou une disparition du pic de certains métabolites à temps de relaxation T2 court et du fait de la J-modulation (Lucas 2004).

I.2 ERETIC

La méthode ERETIC (Electronic REference To assess In vivo Concentration) consiste à synthétiser une pseudo-FID, générée électroniquement et transmise pendant l'acquisition du signal RMN. Après transformation de Fourier, cette référence va apparaître comme un pic additionnel dans le spectre qui sera calibré grâce à une solution standard et qui pourra être utilisée comme référence. (Voir Chapitre n° IV-1)

I.3 Traitement du signal

Le traitement du signal est un point crucial de la spectroscopie protonique dans son exploitation clinique. Même s'il est largement automatisé sur les machines actuelles, il demande des vérifications et des ajustements qui peuvent rendre l'analyse du spectre longue et délicate.

Pendant l'acquisition des données, le signal analogique FID est filtré par un filtre « passe-bas » pour éliminer le bruit à haute fréquence. Ensuite ce signal filtré est traité par un convertisseur ADC (Analog Digital Converter, convertisseur du signal analogique en signal numérique) où il est échantillonné avec N points pendant un temps T afin de créer une version numérique du signal. L'intervalle de temps entre deux points d'échantillonnage est appelé « dwell time » ou temps d'échantillonnage et est obtenu par $\Delta t = T/N$.

Le signal RMN est souvent détecté en quadrature. Il s'agit alors d'un signal complexe constitué d'une composante réelle (signal en mode absorption) et d'une composante imaginaire (signal en mode dispersion). La transformée de Fourier d'un tel signal est un spectre complexe dont la partie réelle sera utilisée pour l'analyse du spectre, car l'intégrale de l'aire des pics est proportionnelle au nombre de spins qui produisent le signal.

L'extraction d'un spectre de qualité à partir du signal nécessite plusieurs étapes pouvant être réalisées successivement avant (dans le domaine temporel) ou après la transformation de Fourier (dans le domaine fréquentiel).

I-3-1 Dans le domaine temporel

Dans le domaine temporel, on applique une correction « d'offset » de l'ADC puis un filtrage par apodisation avant de compléter le signal de FID numérisé par un zero-filling.

I-3-1-1 L'apodisation

L'apodisation, également appelée fenêtrage ou filtre, consiste en la multiplication du signal FID par une fonction filtre pour améliorer soit le rapport signal sur bruit, soit la résolution ou encore pour éliminer des artefacts de troncature. Les filtres améliorent le niveau du rapport signal sur bruit, en renforçant le signal au début du temps d'acquisition et l'annulant à la fin, au détriment d'un

élargissement des raies. Plusieurs fonctions d'apodisation existent mais très peu sont utilisées. Les plus communes sont les fonctions exponentielles, gaussiennes et Hanning.

- Le filtre exponentiel est défini par l'équation :

$$E(t) \sim \exp(-t/T_d)$$

où t est le temps à l'intérieur du signal et T_d la constante de décroissance.

- Le filtre gaussien est défini par l'équation :

$$G(t) \sim \exp[-(t-t_c)^2/T_d]$$

où T_d est la constante de décroissance et t_c le centre du filtre.

I-3-1-2 Zero-filling

Le « Zero-filling » a pour objectif d'augmenter artificiellement le nombre de points de valeur nulle à la fin du signal pour améliorer la résolution. La bande passante ($BW=1/\Delta t=N/T$) est déterminée par la gamme de fréquences contenues dans le signal FID. La bande passante doit être suffisamment large pour pouvoir acquérir toutes ces fréquences mais également assez étroite pour minimiser le bruit issu des hautes fréquences. La période T doit être suffisamment longue pour acquérir les signaux de tout le FID mais suffisamment courte pour éviter le bruit de fond, présent à la fin du signal FID. Par conséquent, le nombre de points d'échantillonnage qui dépend de la bande passante et du temps T ne peut pas être augmenté de manière arbitraire. Une approche alternative pour améliorer la résolution est le « Zero-filling ». Si 1024 points ont été échantillonnés, l'opération de « Zero-filling » augmentera la taille des données à 2048 points, en ajoutant 1024 points d'amplitude nulle à la suite des points du signal FID.

I-3-1-3 Correction des courants de Foucault

D'autres corrections comme la correction des courants de Foucault (« Eddy currents ») et la suppression du signal résiduel de l'eau se font également dans le domaine temporel. La correction des courants de Foucault est nécessaire car les variations rapides du champ magnétique générées par les gradients provoquent des courants dans les structures conductrices qui entourent l'aimant. S'ils ne sont pas corrigés ou compensés, ces courants engendrent des distorsions dans le signal et créent des artefacts spectraux. Pour corriger les distorsions dues à ces courants de Foucault dans un spectre, on

doit les mesurer dans un spectre de référence (par exemple : le spectre du pic de l'eau). L'évolution de la phase et le décalage de fréquence du spectre de référence sont calculés et utilisés pour éliminer les distorsions.

I-3-2 Dans le domaine fréquentiel

Après transformation de Fourier, dans le domaine fréquentiel, on applique une correction de phase et une correction de la ligne de base afin de permettre l'ajustement du spectre à un modèle théorique et la quantification des pics de métabolites.

I-3-2-1 Correction de la phase

Pendant l'acquisition de signaux RMN, des décalages en phase peuvent être induits par les ajustements « hardware » ou par le timing des séquences. Après transformation de Fourier, ces décalages introduisent un mélange entre les signaux de dispersion (réels) et d'absorption (imaginaires) dans le spectre. L'analyse quantitative s'effectuant sur le spectre d'absorption, une procédure de correction de phase est nécessaire pour séparer le spectre d'absorption de celui de dispersion. La plupart des décalages en phase peuvent être corrigés avec une phase constante ou d'ordre zéro, φ_0 , et avec un facteur qui est linéairement dépendant de la fréquence, correction de phase au premier ordre, φ_1 . Par exemple, un délai entre la fin de l'impulsion RF d'excitation et le début de l'acquisition des données produit des décalages de phase dépendants de la fréquence. Si le délai est t_d , une composante du signal de pulsation ω , expérimente un décalage de phase ωt_d . Parce que les différentes composantes du signal ont des fréquences différentes, elles vont subir des décalages de phases différents. Ce type de décalage de phase nécessite une correction de phase du premier ordre φ_1 . Par ailleurs, si la phase du détecteur en quadrature n'est pas correctement ajustée, ou s'il y a une différence de phase fixe entre l'émetteur et le récepteur RF, toutes les composantes du signal subissent le même décalage de phase et dans ces cas une correction d'ordre 0 suffit.

La correction de phase est faite par la multiplication du signal par une fonction du type $\exp[i(\varphi_0 + \omega \cdot \varphi_1)]$, où φ_0 est le terme de phase constante et φ_1 le terme dépendant de la fréquence. Les deux facteurs doivent être optimisés pour obtenir la meilleure séparation entre les signaux d'absorption et de dispersion.

Par nature les échos de spin ou les échos stimulés compensent les déphasages dépendant de ω . Une correction d'ordre 0 est donc généralement suffisante pour des spectres obtenus à partir de PRESS ou STEAM.

I-3-2-2 Correction de la ligne de base

Dans des conditions idéales, la ligne de base d'un spectre RMN serait « plate ». Il existe toutefois plusieurs facteurs qui peuvent introduire des distorsions. Un décalage entre l'impulsion RF d'excitation et le début de l'acquisition produit une ligne de base ondulée. Les macromolécules sont classiquement considérées comme la cause principale des fluctuations de la ligne de base. Ce sont des composés de haut poids moléculaire ayant généralement un temps de relaxation T2 très court (Jansen 2006) et donc des raies très larges.

Pour l'évaluation correcte des aires des pics, toutes les distorsions doivent être minimisées et la ligne de base doit être aussi « plate » et bien définie que possible. Une approche communément utilisée pour l'estimation de la ligne de base consiste à ajuster des sections de la ligne de base à une courbe qui sera postérieurement soustraite au spectre. Cette approche fait appel à deux types de technique : les techniques qui estiment en une fois la partie métabolique et la ligne de base (ajustement d'un modèle non linéaire par la méthode des moindres carrés) et les techniques qui estiment en plusieurs étapes et séparément le signal de la ligne de base et le signal des métabolites (Provencher 1993).

L'objectif de l'ensemble de ces étapes de traitement du signal est l'obtention d'un spectre de qualité permettant une approche quantitative des métabolites cérébraux chez le sujet sain et lors de processus pathologiques.

I-3-2-3 Quantification

On oppose classiquement les méthodes de quantification relative, où les résultats sont le plus souvent exprimés en rapports de concentration (le pic de Créatine ou la comparaison par rapport à la zone saine contralatérale sert souvent de valeurs de référence), aux méthodes de quantification absolue où la mesure de la concentration réelle des métabolites par SRM-¹H se heurte à de nombreuses difficultés techniques (Jansen 2006). L'aire des pics doit être déterminée précisément puis être convertie en concentration après calibration. Pourtant la quantification est le point clé de l'application clinique de la SRM-¹H *in vivo*.

Seule la quantification absolue permettrait une comparaison des résultats obtenus avec des méthodologies différentes et permettrait de s'affranchir de l'ensemble des biais liés aux manipulations du signal par l'expérimentateur.

Une quantification absolue par des méthodes biochimiques est impossible en raison des fortes modifications intervenant très rapidement après une biopsie (pH, température, lyse moléculaire). En SRM- ^1H , l'amplitude du signal est théoriquement représentative de la concentration d'un métabolite dans le volume étudié (Grand 2006). La quantification peut se faire par rapport à un métabolite endogène dont la concentration est connue ; l'eau, par exemple, est souvent utilisée comme composé de référence. Mais cette supposition comporte une approximation car la concentration de l'eau ou de n'importe quel autre métabolite endogène peut changer d'un individu à l'autre et surtout avec le type de pathologie.

Dans la plupart des études cérébrales en spectroscopie RMN, les rapports entre les métabolites ont été choisis pour exprimer le résultat de l'analyse du spectre. Les changements de concentration entre les composés contenant la Choline (Cho), le N-acétyl-aspartate (NAA) et la Créatine plus la Phosphocréatine (Cr) ont été largement discutés en termes de comparaison de rapports relatifs (NAA/Cr, NAA/Cho et Cho/Cr) entre patients et volontaires sains. Pour les patients, cette comparaison peut intéresser également la partie controlatérale à la lésion (Ross 2001, Castillo 1998).

Un avantage de l'utilisation de la méthode semi-quantitative de comparaison des rapports est qu'elle peut être appliquée à tout type de spectres, mais avec l'inconvénient que de grandes variations peuvent être masquées. Il apparaît donc nécessaire de pouvoir isoler l'information quantitative de chaque pic du spectre pour pouvoir quantifier de manière «absolue» (Jansen 2006).

Or, dans un spectre standard obtenu par spectroscopie localisée, les aires sous la courbe des différents pics ne sont pas uniquement déterminées par la concentration mais également par les temps de relaxation transversale et longitudinale. Puisque les processus pathologiques modifient les temps de relaxation, l'aire sous la courbe doit être corrigée pour permettre une quantification précise.

Pour l'ensemble de ces raisons, il est important d'utiliser la spectroscopie RMN comme une méthode quantitative (Jansen 2006). La quantification absolue des concentrations des métabolites devrait faciliter la comparaison et l'analyse des résultats. Malheureusement, ces mesures de concentration sont faites avec des logiciels experts, performants (VARPRO, LC-Model, JMRUI) qui sont peu utilisés en routine clinique car de maniement difficile pour des radiologues cliniciens et sont rarement intégrés dans les systèmes commerciaux (Provencher 1993).

a) VARPRO

VARPRO ajuste le spectre obtenu *in vivo* à une somme de pics de forme gaussienne et lorentzienne à partir d'une connaissance *a priori* des résonances. Il lui est impossible d'incorporer ces résonances d'une façon précise lors de TE courts en raison de l'intense ligne de base à ces TE. Il ne peut pas corriger les erreurs expérimentales.

b) LC-MODEL

LC-Model est le logiciel de quantification spectrale le plus utilisé actuellement (Provencher SW 1993) ; il est basé sur une combinaison linéaire de spectres partant de l'hypothèse que les solutions de référence, qui constituent la base des métabolites à quantifier, sont une vraie représentation des composants *in vivo*. LC-Model traite le spectre *in vivo* comme une combinaison d'un modèle expérimental de chacun des composés métaboliques attendus dans le spectre. Ce modèle comporte une correction automatique des déphasages et de la ligne de base. La ligne de base peut également être modélisée comme une combinaison de pics de macromolécules. Sous réserve d'une calibration optimale de l'appareillage d'acquisition, LC-Model détermine la concentration de chaque métabolite (relativement au signal de l'eau) et calcule un degré d'incertitude. LC-Model présente, toutefois, quelques limites en cas d'omission d'un métabolite ou d'une mauvaise prise en compte de l'impact de la variation du PH dans un déplacement chimique ou la sous-estimation de l'influence d'une variation relative des temps de relaxation entre les différents sites d'une même molécule.

c) JMRUI

JMRUI est une interface de traitement de spectres RMN dans le domaine temporel. JMRUI possède deux principaux algorithmes de traitement du signal qui traitent les spectres RMN *in vivo* obtenus avec des spectromètres cliniques RMN : AMARES et QUEST. Pour AMARES (Vanhamme 1997) il est possible de quantifier un signal sans avoir besoin d'une base de données, mais en incorporant une connaissance « *a priori* » pour faire converger l'algorithme pour la quantification. QUEST (Ratiney 2003) est basé sur une estimation semi-paramétrique, en invoquant une connaissance « *a priori* » optimale. QUEST ajuste une fonction dans le domaine temporel, composée de la modélisation de la totalité des signaux des métabolites, à un signal spectroscopique RMN *in vivo*. Une base de données, construite sur des signaux mesurés *in vitro*, peut être également utilisée.

I.4 Composition chimique et Métabolites cérébraux

Le cerveau humain est composé majoritairement et principalement d'eau, ce qui explique l'intérêt et l'efficacité particulière de l'imagerie. Toutefois seuls quelques métabolites cérébraux sont détectables bien que leur concentration soit très inférieure à celle de l'eau (10^{-3} Mole/litre).

Les principaux métabolites observables sur un spectre cérébral normal sont évoqués dans les paragraphes qui suivent. Chaque composé présente plusieurs déplacements chimiques mais un seul (parfois deux) est utilisé pour la quantification. Ce déplacement chimique particulier est indiqué après l'acronyme utilisé pour identifier le métabolite (Miller 1991, Govindaraju 2000).

- Le N-acétyl aspartate (NAA-2,02 ppm), est un marqueur spécifique des neurones ; l'intensité de ce signal est fonction de la densité de neurones et de leur état physiologique. Il est considéré comme le reflet du fonctionnement neuronal normal même si son rôle précis reste incertain. On constate sa diminution aspécifique dans la plupart des pathologies cérébrales, sauf dans la « maladie de Canavan ». D'autres composés avec groupes N-acetyl (NAAG) contribuent au signal.

- La créatine totale (Cr-3,02 ppm), correspondant au « pool » de créatine et de phosphocréatine, rencontrée dans toutes les cellules, est impliquée dans le système de transport à haute énergie (source de phosphate pour convertir l'ADP en ATP dans la mitochondrie) et est donc un marqueur du métabolisme énergétique global et de la densité cellulaire. Il est classique, mais probablement inexact, de considérer sa relative stabilité au cours des différents processus pathologiques cérébraux.

- La choline (Cho-3,22 ppm), est un marqueur de l'activité et du renouvellement membranaire (augmente en cas de prolifération cellulaire ou de démyélinisation). Elle est impliquée, ainsi que tous ses dérivés (glycérophosphocholine, phosphocholine et choline libre) dans le métabolisme et la structure des phospholipides membranaires et de leurs précurseurs.

- Le myoinositol (mI-3,6 ppm), visible qu'à TE court, est considéré comme un marqueur de la glie normale, mais sa physiologie n'est pas totalement élucidée. Il semblerait jouer un rôle dans la régulation osmotique et le volume cellulaire.

- Le complexe glutamine/glutamate (Glx- entre 2 et 2,5 ppm). Le glutamate est un neurotransmetteur d'excitation, dont le signal contient aussi du GABA (gamma amino-butyrique acide). Leur pic

constitue un massif complexe, contenant de nombreux multiplets, élargissant le pied gauche du pic de NAA.

D'autres métabolites ne sont détectables que lors de processus pathologiques :

- Le lactate (Lac-doublet à 1,32 ppm) est un marqueur du métabolisme anaérobie et sa présence témoigne d'une souffrance anoxique. Absent dans un spectre normal, sa détection indique que le cycle de la respiration oxydative ne fonctionne plus correctement, et que l'énergie cellulaire est fournie par la glycolyse anaérobie (catabolisme des glucides). Cette production d'acide lactique ne doit pas être confondue avec celle qui provient de l'invasion du parenchyme cérébral par des cellules fonctionnant en glycolyse aérobie comme les macrophages ou les cellules tumorales. Le lactate peut ainsi être vu dans les tumeurs de haut grade, l'infarctus par ischémie et la nécrose.

- Les lipides libres (Lip- CH_2 à 1,3 ppm et CH_3 à 0,9 ppm) sont présents dans le spectre en cas d'arrêt de la myélinisation et dans les tumeurs de haut grade. Lors de destruction membranaire, le signal des chaînes des lipides membranaires (devenues mobiles) devient détectable. Le groupement CH_2 a le même déplacement chimique que le CH_3 du lactate et le groupement CH_3 se superpose à celui des acides aminés. Une acquisition à TE long permettra de les différencier.

- Les acides aminés (AA-large multiplet à 0,97 ppm), correspondent à la valine, la leucine et l'iso-leucine, sont retrouvés dans les abcès à pyogènes (avec l'acétate à 1,9 et le succinate à 2,4 ppm). Leur constante de couplage est responsable d'une inversion du pic à TE $\approx$ 135 ms.

Avant de considérer les modifications de ces métabolites dans des processus pathologiques cérébraux, de nombreux auteurs se sont intéressés à déterminer l'aspect normal tant qualitativement que quantitativement chez des sujets sains (Ross 2001). L'évolution de la concentration de ces métabolites avec le vieillissement physiologique normal a été également étudiée tant à 1,5 qu'à 3 Tesla (Gruber 2003 et 2007, Kreis 1993a et b, Kreis 2005)

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

I.5 Analyse en Composantes Principales

L'analyse en composantes principales (ACP) est une méthode statistique d'analyse multifactorielle de données qui consiste à rechercher les directions de l'espace qui représentent le mieux les corrélations entre n variables aléatoires et qui permet une représentation graphique résumant l'information d'un ensemble important de données. L'ACP est aussi connue sous le nom de transformée de Karhunen-Loève ou de transformée de Hotelling. L'ACP est une méthode statistique (initialement de statistique descriptive) qui a pour but de comprendre et de visualiser comment les effets de phénomènes a priori isolés se combinent.

Lorsque l'on ne considère que deux effets, il est usuel de caractériser leurs effets conjoints via un coefficient de corrélation (dont le seul défaut est de ne prendre en compte que des effets conjoints linéaires, ce qui se remarque en regardant les coefficients d'une régression linéaire).

Lorsque l'on se place en deux dimensions, les points disponibles peuvent être représentés sur un plan. Le résultat d'une ACP sur ce plan est de déterminer les deux axes qui expliquent le mieux la dispersion des points disponibles. Lorsqu'il y a plus de deux effets, par exemple trois effets, il y a trois coefficients de corrélations à prendre en compte. La question qui a donné naissance à l'ACP est : comment avoir une intuition rapide des effets conjoints ?

En dimension supérieur à deux, une ACP va toujours déterminer les axes (si on est en dimension 256, il y aura 256 axes à déterminer) qui expliquent le mieux la dispersion du nuage des points disponibles (de la photographie de ces points). Elle va aussi les ordonner par l'inertie expliquée. Si l'ACP est majoritairement utilisée pour visualiser des données, c'est aussi un moyen :

- de décorréler ces données ; dans la nouvelle base, constituée des nouveaux axes, les points ont une corrélation nulle ;
- de débruiter ces données, en considérant que les axes que l'on décide de négliger sont des axes bruités ;
- de classer ces données en amas (clusters) corrélés.

I.6 Les Tumeurs cérébrales d'origine gliale

Les tumeurs cérébrales primitives du système nerveux central constituent, malgré leur rareté relative (2% de l'ensemble des cancers), une source importante de morbidité et de mortalité et représentent un problème majeur de santé publique. Les gliomes de grade II ont une médiane de survie entre 2 et 8 ans, 2 ans pour les grades III et moins d'un an pour les grades IV (Kwock 2006). Les tumeurs d'origine gliales (gliomes) sont les tumeurs primitives du système nerveux central les plus fréquentes (entre 64 et 90%). L'incidence globale des gliomes se situe entre 1,45 et 6,5 par an pour 100 000 habitants avec, une augmentation chez les personnes de plus de 60-65 ans (de Angeli 2001).

I-6-1 Considérations anatomo-pathologiques

Les gliomes sont pathomorphologiquement définis comme des tumeurs faisant preuve d'une différenciation gliale dans leurs caractéristiques histologiques, immuno-histochimiques et ultrastructurelles. La classification actuellement la plus utilisée est celle de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (Kleihus 2000), selon laquelle les gliomes sont classés selon leur cellule originelle probable. On distingue donc les astrocytomes, les oligodendrogliomes et les épendymomes (De Angelis 2001).

En se basant sur différents critères histologiques, ces tumeurs sont classées de I à IV selon leur degré de malignité. La gradation joue un rôle décisif dans leur pronostic. Les astrocytomes sont divisés en astrocytomes de bas grade (grade I et II) et en astrocytomes malins : astrocytome anaplasique (grade III) et glioblastome multiforme (grade IV). Ils représentent la majeure partie des tumeurs gliales.

Les tumeurs de grade I sont biologiquement considérées comme bénignes et peuvent, en fonction de leur localisation et de leur abord, être guéries chirurgicalement. Bien que les tumeurs de grade II soient considérées comme faiblement malignes, il faut insister sur le fait qu'elles ne peuvent être guéries par la chirurgie, du fait de leur expansion invasive. De plus on estime qu'environ 50 % des astrocytomes de bas grade (grade II) dégénèrent en grade III ou IV après 7-8 ans d'évolution. Les gliomes de grade III et IV sont considérés comme malins, les grades IV ayant un pronostic sombre.

Les progrès en neuro-oncologie sont considérables grâce à l'apport de la biologie moléculaire et de l'onco-génèse. Parallèlement, l'imagerie participe aux différents stades de la prise en charge de la maladie, au moment du diagnostic, du bilan pré-opératoire et de la surveillance sous traitement.

Malheureusement, les progrès en termes de survie restent modestes (Fisher 2005). La principale difficulté de la prise en charge des tumeurs gliales provient de l'importante hétérogénéité lésionnelle comme en témoignent les débats sur les classifications histo-pronostiques.

Le diagnostic neuropathologique revêt une importance capitale quant au pronostic et au traitement. La classification de l'OMS, qui est par définition la référence mondiale, est basée sur les seuls critères anatomopathologique et cytologique en microscopie conventionnelle : différenciation cellulaire, densité cellulaire, atypies nucléaires, activité mitotique, nécrose, prolifération vasculaire. Des examens complémentaires, dont la recherche d'anticorps contre les antigènes prolifératifs (Ki67) peuvent venir appuyer cette gradation, mais ne sont pas, actuellement, utilisables isolément.

1-6-1-1 Astrocytomes grade II de l'OMS

L'astrocytome fibrillaire, gémistokystique et protoplasmique fait partie des astrocytomes à expansion diffuse. L'astrocytome fibrillaire est le représentant de loin le plus fréquent de ces tumeurs à faible malignité (grade II de l'OMS). Les caractéristiques de ces tumeurs sont une densité cellulaire faible, avec des atypies cellulaires et nucléaires, avec l'absence de mitoses, de nécroses ou de prolifération vasculaire. Il y a souvent des foyers microkystiques contenant du mucus. Le degré de prolifération (index Ki67) est normalement au-dessous de 4%. Le sous-type d'astrocytome gémistokystique a une importance dans la mesure où ce gliome a une tendance plus marquée à la progression vers un degré tumoral plus élevé. La principale caractéristique histologique est le nombre élevé (au moins 20 % de la population totale) d'astrocytes adipeux (gémistokystique). L'astrocytome protoplasmique est rare et son pronostic est comparable à celui de l'astrocytome fibrillaire classique.

1-6-1-2 Astrocytomes anaplasiques grade III de l'OMS

Contrairement aux astrocytomes à faible malignité, l'astrocytome anaplasique se caractérise par une densité cellulaire plus élevée, des atypies cellulaires évidentes et des mitoses plus nombreuses. Ces mitoses vont de pair avec un index de prolifération Ki67 plus élevé (de l'ordre de 5-10 %). L'activité mitotique et de prolifération font partie des critères permettant la différenciation avec les astrocytomes encore à faible degré de malignité (grade II). L'absence de nécrose et éventuellement de prolifération vasculaire différencie l'astrocytome anaplasique du glioblastome polymorphe (grade IV). Mais l'astrocytome anaplasique va dégénérer en astrocytome de plus haut grade.

1-6-1-3 Glioblastome polymorphe grade IV de l'OMS

Le glioblastome polymorphe (GBM) est la tumeur cérébrale la plus fréquente de l'adulte et totalise 50 à 60 % de tous les astrocytomes. Avec une survie moyenne de quelques mois seulement, le GBM est sans aucun doute la tumeur la plus maligne. Il s'agit histologiquement d'une tumeur très cellulaire, anaplasique, avec des cellules astrocytaires indifférenciées, pléiomorphes. Une activité mitotique très élevée est caractéristique. Contrairement à l'astrocytome anaplasique, le GBM se caractérise par des proliférations vasculaires gloméruloïdes et/ou des nécroses en « guirlande ». L'index de prolifération Ki67 est supérieur à 20 %. Comme son nom l'indique, l'aspect histologique peut être très polymorphe (multiforme). Le GBM se développe *de novo*, primitivement, mais aussi secondairement à partir d'astrocytomes préalablement plus différenciés. Ces deux formes de GBM (*de novo* ou secondaire) pourraient avoir des modes d'apparition différents du point de vue de la génétique moléculaire. La question de savoir s'il s'agit véritablement d'identités tumorales différentes n'est pas encore résolue. Quoiqu'il en soit le pronostic de ces deux formes de GBM reste très défavorable.

1-6-1-4 Oligodendrogliome (grade II) et Oligodendrogliome anaplasique (grade III)

L'oligodendrogliome de faible malignité est histologiquement une tumeur modérément cellulaire infiltrative. Ses caractéristiques sont des cellules à cytoplasme clair avec un réseau de fins capillaires pathologiques et des microcalcifications. Contrairement aux astrocytomes de grade II, la présence d'atypies cellulaires et de rares mitoses ne récusent pas le diagnostic. L'index de prolifération est bas. Les oligodendrogliomes anaplasiques (grade III) présentent des critères de malignité pouvant se présenter en foyers ou diffus comprenant une densité cellulaire élevée, des atypies cellulaires et nucléaires, une activité mitotique marquée et parfois des proliférations vasculaires et des nécroses. La délétion 1p -19q est un facteur pronostique favorable en termes de survie et potentiellement en termes de réponse au traitement.

1-6-1-5 Oligoastrocytome (grade II) et Oligoastrocytome anaplasique (grade III)

Les oligoastrocytomes sont les gliomes mixtes les plus fréquents. Le diagnostic se pose sur la présence d'une composante tumorale astrocytaire et oligodendrogliale. Les oligoastrocytomes peuvent prendre deux formes. La forme biphasique, dans lequel les deux composantes tumorales sont relativement séparées ou la forme diffuse, dans laquelle les composantes astrocytaire et oligodendrogliale sont

entremêlées. Les examens immunohistochimiques sont particulièrement importants dans ce cadre de tumeur, à la recherche de la protéine des fibres gliales acides (GFAP), caractéristique du cytosquelette des astrocytes. Des transitions vers un GBM secondaire peuvent se rencontrer. La réponse typique à la chimiothérapie non seulement des oligodendrogliomes « purs », mais aussi des oligoastrocytomes, impose de rechercher attentivement une composante oligodendrogliale dans toute biopsie neurochirurgicale.

Le diagnostic et la classification d'un processus tumoral cérébral reposent donc actuellement sur l'analyse d'un échantillon (prélevé par un neurochirurgien) représentatif de la lésion. Ce prélèvement doit permettre de déterminer le type de gliome et le grade (et si possible de permettre la réalisation d'études de cytogénétique et de biologie moléculaire). Les critères actuels d'analyse anatomopathologique pour faire le diagnostic et le « grading » reposent sur la classification de l'OMS. Or, sans participer à la polémique, plusieurs études ont démontré les limites de cette classification des gliomes (Mittler 1996, Coons 1997).

Dans l'étude de Mittler *et al.* (1996), les discordances diagnostiques observées entre 4 experts neuropathologistes nord américains étaient : de 43% pour les astrocytomes de grade II, de 64% pour les astrocytomes anaplasiques (grade III) et de 38% pour les GBM (grade IV). De plus, des discordances similaires étaient observées lorsqu'il était demandé à un même observateur de réinterpréter les mêmes préparations histologiques quelques semaines plus tard (Daumas-Duport 2000).

Daumas-Duport C *et al.* (2000, 2005) reprochent à la classification de l'OMS :

- son absence de reproductibilité,
- l'absence de distinction entre les éléments qui appartiennent en propre à la tumeur et ceux qui appartiennent au parenchyme infiltré, sans prise en compte de l'importante hétérogénéité intrinsèque caractéristique de ces tumeurs,
- et enfin, l'absence de prise en compte des données cliniques et de l'imagerie

La particularité, et la grande originalité, de la classification de Sainte-Anne proposée par Daumas-Duport C *et al.* (2005) est de renforcer la place des oligodendrogliomes par rapport aux astrocytomes et de tenir compte les données de l'imagerie (Varlet 2005).

Selon les recommandations de l'ANOCEF 2002, la classification de St Anne – Daumas-Duport n'est recommandée qu'en complément optionnel pour le typage et le « grading » des oligodendrogliomes (SOR 2002).

Toute classification ayant ses limites et étant par essence perfectible, il y a lieu de s'intéresser à l'apport de l'imagerie moderne dans une meilleure reconnaissance et caractérisation des processus tumoraux cérébraux, considérant que le scanner et l'IRM morphologique fournissent l'équivalent d'un examen macroscopique de la tumeur. Les nouvelles techniques d'imagerie dites fonctionnelles s'intéressent plus précisément aux conséquences « microscopiques » de la tumeur elle-même et au parenchyme cérébral environnant.

I-6-2 Imagerie des Gliomes

I-6-2-1 Imagerie morphologique

L'imagerie morphologique diagnostique (Bracard 2006, Dietemann 2007), préopératoire, doit au mieux être réalisée par IRM (accord d'experts selon les SOR 2002).

L'IRM morphologique est réalisée sans et avec injection de produit de contraste, explorant les trois plans de l'espace (imagerie tridimensionnelle pour la neuronavigation), utilisant des séquences pondérées en T2 (et/ou FLAIR) et en T1.

Les objectifs de l'imagerie sont multiples. L'imagerie permet d'évoquer le diagnostic de tumeur cérébrale et d'éliminer les lésions non tumorales, de préciser la localisation, d'en décrire les caractéristiques morphologiques (structure, limites, volume, extension) et son retentissement sur les structures cérébrales (effet de masse, engagements, hydrocéphalie), d'en évoquer la nature primitive et l'origine gliale, de tenter d'évaluer le degré de malignité de la lésion. L'IRM est nettement supérieure au scanner grâce à ses capacités de différenciation des différentes structures cérébrales. Dans le diagnostic préopératoire, l'imagerie permet de guider l'indication et la planification du geste chirurgical (biopsie ou exérèse), d'aider le radiothérapeute dans la programmation de ses plans d'irradiation, d'assurer la surveillance post-thérapeutique.

L'imagerie préopératoire repose donc sur l'IRM sans et avec injection de produit de contraste. L'existence ou non d'une prise de contraste fait partie des arbres décisionnels pour le diagnostic anatomopathologique de la classification de St Anne/Mayo Clinic, mais également pour la prise en charge thérapeutique post opératoire. La prise de contraste, en IRM ou en TDM, au niveau d'une tumeur cérébrale est le reflet des lésions de la barrière hématoencéphalique (BHE) et de l'extravasation du produit de contraste dans l'espace interstitiel et non le reflet d'une hypervascularisation (Le Bas 2000, Kremer 2002).

Les gliomes sont des tumeurs de la substance blanche. Par référence au signal de la substance blanche, la tumeur est habituellement hypointense en pondération T1, hyperintense en pondération T2, parfois indissociable de l'hypersignal de « l'œdème » associé. La plage tumorale peut comporter des zones hémorragiques ou des calcifications dont seules les plus volumineuses seront reconnues par leur absence de signal.

Après injection de produit de contraste, la zone de rehaussement ne représente pas la limite de la tumeur, car des cellules tumorales sont mises en évidence au-delà de cette zone. De plus, on ne doit pas considérer la limite de l'hypersignal en T2 comme une limite de "sécurité" car on peut trouver des cellules malignes en dehors de cette plage, qui représente donc un tissu « œdémateux » infiltré de cellules tumorales (Inglese 2006). Le terme « d'œdème péri lésionnel » est donc inapproprié, et il vaut mieux parler « d'œdème lésionnel ». Les plages non rehaussées après injection, au sein d'une tumeur prenant le contraste, correspondent à des zones nécrotiques ou à des zones kystiques.

L'IRM, permet d'évaluer également l'œdème lésionnel et l'effet de masse qui sont corrélés au grade tumoral et dont l'évolution permet d'apprécier la réponse au traitement.

Parmi les critères utilisés pour l'histopronostic des tumeurs malignes, deux peuvent être appréhendés par l'IRM : la vascularisation et la nécrose ; si la première ne permet pas isolément de distinguer un grade II d'un grade III (car le rehaussement de contraste n'implique pas obligatoirement le critère histologique de prolifération endothéliale), la mise en évidence de nécrose implique « ipso facto » un glioblastome, donc un grade IV. Il est néanmoins parfois impossible de différencier nécrose et composante kystique.

Les données de l'imagerie permettent souvent d'estimer le grade tumoral, et, en cas de discordance entre les données de l'imagerie et celles de la biopsie, il peut être indiqué de refaire celle-ci. La prise de contraste en IRM est l'actuelle « gold standard » pour guider la zone sur laquelle sera pratiquée une biopsie neurochirurgicale diagnostique. Toutefois, si l'existence d'une prise de contraste implique généralement la présence de foyers de haut grade, l'absence de prise de contraste n'exclut pas un gliome de haut grade dans un tiers des cas (Barker 1997). Pour certains (White 2005) la prise de contraste n'a qu'une valeur limitée dans la discrimination entre oligodendrogliome anaplasique et de bas grade (sensibilité de 63%, spécificité de 50%, valeur prédictive positive de 45% et valeur prédictive négative de 67%).

Les gliomes de bas grade ont une imagerie assez univoque. En scanner, la tumeur est hypodense et ne prend pas le produit de contraste. En IRM, elle est hypo intense en T1 et hyper intense en T2. Il n'y a pas de prise de contraste après injection. L'effet de masse est minime compte tenu du caractère

infiltrant de ces lésions. L'oligodendrogliome présente quelques particularités permettant de l'évoquer sur les seules données de l'imagerie. On constate la présence, dans 50% des cas, de calcifications irrégulières, punctiformes ou linéaires. Des kystes sont retrouvés dans un tiers des cas. En IRM, l'aspect des oligodendrogliomes est plus hétérogène avec parfois une discrète prise de contraste, la présence d'hémorragie intra tumorale est rare. La prise de contraste plaide en faveur d'un grade III, présente d'emblée ou apparaissant au cours de l'évolution d'une tumeur de grade II.

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

A.

B.

Figure n° I-6 : Gliome grade II frontal gauche : A) IRM pondérée en T1, coronale, après injection de gadolinium, la tumeur apparaît en hyposignal et n'est pas réhaussée. B) IRM pondérée en T2, axiale, la tumeur apparaît en hypersignal.

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

A.

B.

Figure n° I-7 : Gliome grade III insulaire gauche : A) IRM axiale pondérée en T1, avec injection gadolinium, la tumeur apparaît en hyposignal avec une prise de contraste postérieure. B) IRM axiale pondérée en T2, la tumeur apparaît en hypersignal.

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

A.

B.

Figure n° I-8: Glioblastome (grade IV): A) IRM pondérée T1, après injection gadolinium, processus expansif intra-axial prenant le contraste de façon hétérogène et présentant une composante nécrotique. B) IRM pondérée T2, la tumeur apparaît en hypersignal hétérogène.

Les gliomes de haut grade se composent classiquement de deux compartiments en imagerie. Un noyau tumoral dense, nécrotique ou kystique en son centre, s'accompagnant en périphérie d'une infiltration tumorale (l'œdème péri-lésionnel). Le rehaussement après injection de produit de contraste est constant et caractérise le passage ou la transformation d'une lésion de bas en haut grade. Cette prise de contraste, d'épaisseur variable, parfois irrégulière, en cocarde, définit la zone tumorale active et correspond à l'augmentation de la perméabilité de la barrière hémato encéphalique liée au développement des capillaires tumoraux anormaux.

L'imagerie post-opératoire et la surveillance évolutive post thérapeutique sont assurées, de façon optimum, par IRM. Le contrôle post-opératoire a une importance fondamentale pour déterminer le traitement complémentaire éventuel et le pronostic. Un reliquat tumoral se traduira par un rehaussement de contraste persistant. Or, le tissu cicatriciel occupant le lit opératoire va lui aussi se manifester comme une prise de contraste tissulaire et, après une dizaine de jours, il sera impossible de différencier reliquat et cicatrice fibreuse. L'examen de contrôle post-opératoire, qui servira de référence, doit au mieux être pratiqué avant le cinquième jour. L'examen de choix est encore l'IRM, car le rehaussement de contraste décrit plus exactement la rupture de barrière hémato-encéphalique que la néovascularisation tumorale. Si l'examen de contrôle précoce, avant le 5^{ème} jour, retrouve une prise de contraste résiduelle, il s'agit d'un reliquat tumoral et il sera surveillé sous traitement complémentaire. Si l'examen de contrôle précoce ne montre pas de rehaussement résiduel et que le 2^{ème} contrôle montre un rehaussement du lit opératoire, il s'agit avec une très grande probabilité de tissu cicatriciel et non d'une récurrence. Celles-ci sont exceptionnelles *in situ* en cas d'exérèse complète mais surviennent à distance du foyer initial dans la quasi-totalité des cas. Qu'il y ait ou non rehaussement résiduel sur l'examen de contrôle précoce, l'apparition d'un rehaussement de contraste focal à distance du site initial est fortement suspect de seconde localisation à révélation tardive ou de métastase.

I -6-2-2 Limites de l'imagerie morphologique

Si l'IRM est sans aucun doute la technique la plus sensible dans la détection des tumeurs cérébrales, sa spécificité est limitée car différents types de tumeurs peuvent présenter un aspect IRM morphologique tout à fait semblable. Kondziolka *et al.* (1993) ont rapporté un taux de 50% de faux positif dans le diagnostic de gliome de bas grade sur les seuls aspects de l'IRM et du scanner.

L'IRM permet le diagnostic initial d'une lésion cérébrale avec une fiabilité de 30 à 90% en fonction du type de tumeur (Howe 2003), mais la biopsie est toujours considérée comme incontournable pour déterminer son type et son degré de malignité. Dans une étude multimodale sur 160 patients Law *et al.*

(2003) ont évalué l'IRM dans le grading des gliomes avec 72,5% de sensibilité, 65% de spécificité, 86,1% de valeur prédictive positive et 44,1% de valeur prédictive négative. Selon Ellika *et al.* (2007) la sensibilité et la spécificité de l'IRM morphologique pour le diagnostic des gliomes de hauts grades n'est que de 85,7% et 60% respectivement. Malheureusement, la biopsie comporte un risque de 1,7 % de mortalité (Bernstein 1994) et Yu X *et al.* (2000), sur 550 patients biopsiés pour suspicion de tumeur, ont diagnostiqué 8% d'abcès ou de processus inflammatoires, 3,4 % de réponses non contributives et 8% ont présenté une complication. Une approche non invasive et précise du type de lésion réduirait idéalement d'inutiles biopsies pour des lésions non tumorales et pour des tumeurs qui pourraient être traitées par radiothérapie ou chimiothérapie exclusives.

L'IRM présente, également, des limites de spécificité dans la distinction, au sein des plages d'hypersignal T2, de l'infiltration tumorale ou d'un simple œdème péritumorale. En effet des cellules tumorales sont classiquement présentes au-delà des limites de l'hypersignal T2 (Kelly 1987, Sijens 2002) qui ne donne donc pas, de façon précise, les limites tumorales.

I -6-2-3 Imagerie fonctionnelle

Les séquences d'IRM dites fonctionnelles (activation, diffusion, perfusion et spectroscopie protonique) ne sont actuellement considérées qu'en option facultative pour les Standards, Options et Recommandations en neuro-oncologie (SOR 2002), alors qu'elles sont utilisées de plus en plus fréquemment en routine dans l'ensemble des centres de neuro-oncologie.

Elles sont de plus en plus souvent associées et réalisées au cours du même examen morphologique standard.

L'IRM d'activation (IRMf) permet la reconnaissance de zones fonctionnelles à proximité des berges d'exérèse et guidera les limites chirurgicales.

L'IRM de diffusion donne des informations sur la nature des différentes composantes tumorales. L'imagerie de diffusion permet le diagnostic différentiel entre une tumeur et un abcès à pyogène en montrant une restriction de la diffusion au sein de la composante nécrosée du processus expansif (Lai 2003). Elle renseigne sur la malignité et l'hypercellularité (Bulakbasi 2004) des tumeurs en cas de réduction du coefficient de diffusion apparent (ADC). L'importance de la réduction de la diffusion aurait une importante valeur pronostique péjorative (Oh 2004).

L'IRM de perfusion donne des informations sur la micro vascularisation et l'angiogénèse tumorale (Le Bas 2007). L'imagerie de perfusion évalue l'angiogénèse tumorale (Le Bas 2006) grâce à la mesure du volume sanguin cérébral (CBV) au sein de la lésion. Il faut noter que cette imagerie de perfusion peut être acquise par IRM (en valeur relative- $rCBV$) mais également par les scanners multibarrettes de dernière génération (en valeur absolue). L'augmentation du CBV est corrélée à l'angiogénèse et sera donc d'autant plus élevée que le grade de la tumeur est élevé (Sadeghi 2008). Selon, les auteurs et les techniques utilisées il semble qu'un rapport $rCBV$ supérieur à 1,5 – 1,9 entre tissu tumoral et tissu sain permette de distinguer les gliomes de haut et bas grade (Kremer 2002, Ellika 2007). La comparaison de multiples modalités montre qu'un seuil de $rCBV$ à 1,75 aurait la meilleure performance diagnostique dans le grading des gliomes avec 95% de sensibilité, 57,5% de spécificité, 87% de valeur prédictive positive et 79,3% de valeur prédictive négative (Law 2003). Ces techniques d'imagerie fonctionnelle approchant la densité microvasculaire sont amenées, d'ores et déjà, à jouer un rôle essentiel lors du grading des gliomes. Parallèlement aux techniques de premier passage, l'« arterial spin labelling » à 3 T est en cours d'évaluation (Chawla 2007).

Enfin, la spectroscopie par résonance magnétique (SRM- 1H) permet une approche complémentaire par l'identification des métabolites cérébraux au sein de la tumeur et sera détaillée dans le chapitre suivant sur l'imagerie métabolique.

L'ensemble de ces techniques récentes ouvre la voie à une analyse multimodale plus exhaustive des tumeurs cérébrales (Galanaud 2003, Cha 2006).

I -6-2-4 Spectroscopie par résonance magnétique (SRM-¹H)

Les tumeurs gliales sont très certainement le domaine d'application clinique le plus fréquent de la spectroscopie protonique *in vivo* (SRM-¹H) car il a été rapidement constaté (Bruhn 1989) que les tumeurs cérébrales présentaient un spectre très différent du cerveau normal (Howe 2003).

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

Figure n° I-9: Spectres (TE 30 ms), normalisés et moyennés avec variation standard. Extrait d'Howe FA et Opstad KS (2003). Spectre témoin normal. B) Méningiome. C) Métastase. D) Astrocytome grade II. E) Astrocytome anaplastique. F) Glioblastome. (Abréviations : Ala, alanine ; tCho, cholines ; tCr, créatines ; Glx, glutamate+glutamine ; GSH, glutathion ; L1, L2, lipides ; Lac, lactate ; MM, macromolécules ; mIG, myo-inositol + glycine ; NAA, N'acétyl-aspartate).

L'hypothèse initiale était que des tumeurs histologiquement identiques présentaient également une signature spectrale similaire. Malheureusement, la multiplicité des méthodologies ne facilite pas une vision claire de sa contribution dans la prise en charge de ces tumeurs. Au début des années 90, Segebarth (1990) parlait « d'enfance » de la technique, il faut s'interroger sur nos capacités à faire rentrer la spectroscopie protonique *in vivo* dans le monde de la maturité de l'adulte et de son utilisation en routine clinique. En 1995, la SRM-¹H bénéficiait d'une reconnaissance officielle comme séquence diagnostique utile en clinique par la FDA nord-américaine. Pourtant, en 2008, les radiologues ne se sont toujours pas encore totalement appropriés la technique. Le mythe est-il véritablement devenu réalité ? (Anstett 2003)

Une des premières difficultés tient à la nature elle-même, très hétérogène de cette pathologie à propos de laquelle existent toujours des controverses de classification anatomo-pathologique. De plus, les différents grades de tumeur ne représentent que l'analyse à un temps « t » d'un processus évolutif vers un grade plus élevé. Au sein même d'une tumeur, peuvent coexister plusieurs contingents de malignités différentes. La complexité de la pathologie explique également en partie la grande variabilité des résultats de la littérature.

À cela s'ajoute la multiplicité des protocoles de SRM-¹H utilisés pour l'acquisition des spectres, et pour le post-traitement qui constituent des étapes cruciales influençant l'interprétation des résultats de SRM-¹H. Cette interprétation est hautement dépendante de la méthode d'analyse des données spectrales ; donc souvent opérateur et logiciel de post-traitement dépendante (TEC 2003) faisant douter de la possibilité de généraliser les résultats obtenus à d'autres centres cliniques. Une volonté d'harmonisation des pratiques de spectroscopie *in vivo* apparaît (INTERPRET project et maintenant FPG European project « eTumor ») mais n'a pas permis d'obtenir un consensus à l'heure actuelle.

Il faut donc reconnaître, qu'avec les moyens méthodologiques actuellement employés, son apport ne se précise et ne s'affine qu'en complémentarité avec les autres techniques d'IRM, morphologique et fonctionnelle. Il est, en effet, difficile en pratique clinique, d'utiliser la SRM-¹H isolément.

Le défi pour la SRM-¹H est de savoir si elle peut participer au diagnostic non invasif, du type et du grade, d'une tumeur cérébrale. À l'heure actuelle, si de grandes tendances sont unanimement acceptées, il persiste des discordances importantes entre les différentes études.

De façon générale et aspécifique, en cas de prolifération tumorale, des cellules tumorales gliales remplaçant les neurones normaux, on assiste à une augmentation du rapport Choline/NAA, témoignant autant d'une chute du NAA que d'une augmentation de la Choline. Dans le cas des gliomes de bas grade, le métabolisme tumoral est proche de celui de la glie normale et on trouve une Créatine normale, une élévation du myo-inositol mais sans élévation des lipides. Par contre, en cas de gliome de haut grade, les lipides dominent le spectre avec une diminution des autres métabolites à l'exception de la Choline qui peut rester élevée.

Hollingworth W *et al.* (2006) ont conduit une revue systématique de la littérature, publiée entre 2002 et 2004, sur l'apport de la SRM-¹H dans la caractérisation des tumeurs cérébrales. Une seule large étude (Moller-Hartmann 2002) montrait un bénéfice statistiquement significatif de l'apport diagnostique de la SRM-¹H dans l'efficacité diagnostique d'un processus tumoral intracrânien par rapport à l'IRM morphologique seule. Par contre le bénéfice de la SRM-¹H dans la différenciation entre lésion de bas et de haut grade apparaissait moins clair, par rapport à l'IRM morphologique. Ces

auteurs remarquaient la diversité des méthodologies employées et que très peu d'études (12%) abordaient la variabilité inter-observateur, gage de la reproductivité d'une méthodologie.

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

Figure n°I-10 : Revue de la littérature 2002-2004 par Hollingworth W et al. (2006)

On retrouve dans la littérature de multiples approches ou thématiques précises sur lesquelles a été évalué la SRM-¹H (Cha 2006, Hollingworth 2006, Galanaud 2006, Grand 2006, Kwock 2006, Sitbain 2007, Oshiro 2007) :

**Caractérisation d'un processus expansif intra-axial : est-il tumoral ou non-tumoral (infectieux) ?
Diagnostic différentiel ?**

Moller-Hartmann *et al.* (2002) ont montré que la SRM-¹H SVS permettait d'augmenter de 16% (de 55 à 71 %, $p < 0,01$) la pertinence diagnostique par rapport à l'IRM morphologique seule (Bulakbasi 2003).

L'indication de la SRM-¹H, la plus ancienne et indiscutablement reconnue, est le diagnostic positif des abcès à pyogènes, en association avec les séquences de diffusion (Lai 2002).

Les DNETs ont une signature SRM-¹H normale associées à une élévation du coefficient de diffusion apparent ($116,25 \pm 6,93 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$) selon Bulakbasi *et al.* (2003).

Les méningiomes se caractérisent par la présence d'Alanine (Ala) dans une proportion trois à quatre fois supérieure aux autres tumeurs cérébrales (Bulakbasi 2003, Majos 2004). De façon classique, le NAA est absent d'un spectre pur de méningiome.

Les lymphomes ont particulièrement été étudiés en IRM de perfusion, ce qui permet à cette technique de les distinguer assez facilement des gliomes de haut grade. Les lymphomes présentent une hypercellularité avec rupture de la barrière hémato-encéphalique sans néo-angiogénèse. Un gliome de haut grade aura une élévation importante du $rCBV$ compris entre 2 à 5 fois la normale au niveau de la prise de contraste alors que le lymphome présente un $rCBV$ normale, voire diminué.

S'agit-il d'un processus tumoral primitif ou secondaire ? (glioblastome versus métastase)

Il s'agit d'un point particulièrement intéressant dans l'évaluation de la SRM-¹H car en cas de pathologie métastatique unique, une irradiation externe pourrait être réalisée sans recours à la confirmation anatomo-pathologique si l'ensemble des données de l'imagerie morphologique, fonctionnelle et métabolique atteignait un niveau de spécificité acceptable (Fan 2004). Soulignons également que lorsque l'on étudie des métastases, le diagnostic histologique n'est pas toujours exigé. À ce jour les données de la littérature sont encourageantes mais parfois contradictoires.

Selon Castillo (1998, 2000), le myo-inositol est toujours présent dans les tumeurs primitives du système nerveux central mais devrait être absent des métastases.

Ishimaru *et al.* (2001) dans une étude comparant l'aspect SRM-¹H des gliomes de haut grade (31 patients) et des métastases (25 patients) montrent que la présence de Créatine au sein de la lésion, à TE long, suggère une tumeur gliale alors que l'absence évoque une métastase (Burscher 2001). D'autre part, l'absence de lipides, à TE court, éliminerait une métastase. Pour Majos *et al.* (2004) aucune différence statistique n'est mise en évidence pour différencier glioblastomes et métastases et ceci quelque soit le TE utilisé et sur 86 patients (Lukas 2004).

L'analyse SRM-¹H du parenchyme périlésionnel dans cette indication précise semble particulièrement performante car l'absence d'augmentation de la choline dans l'hypersignal périlésionnel serait

déterminante pour différencier une métastase d'une lésion gliale infiltrante dont l'aspect IRM peut être similaire (Burtscher 2001, Law 2002, Fan 2004).

Peut-on différencier les processus tumoraux primitifs ? Caractérisation des tumeurs gliales (grading), haut grade versus bas grade, grade II versus grade III, tumeurs astrocytaires versus composante oligodendrogliale ?

À ce jour aucune étude n'a permis de déterminer de façon fiable et reproductible, d'un centre à l'autre, une méthodologie de SRM-¹H permettant de se passer de la biopsie cérébrale pour grader un processus tumoral.

Pour certains auteurs, l'élévation du rapport NAA/Cho et la présence de lactate sont les meilleurs paramètres pour différencier tumeurs bénignes et malignes, sans permettre toutefois un grading satisfaisant (Bulakbasi 2003). Le rapport Cho/Cr semble être le paramètre d'approche du grading tumoral le plus performant mais peu spécifique pour différencier des tumeurs de même grade (glioblastome et métastase, tumeur astrocytaire et non astrocytaire de bas grade).

Majos *et al.* (2004) trouvent que le rapport Gly/MI à TE court serait utile pour différencier les grades II et III comme cela a été évoqué par Castillo *et al.* (2000).

De nombreux rapports de métabolites ont été utilisés pour différencier et caractériser les gliomes (Kwong 2006). Le rapport Cho/Cr augmente avec le degré de malignité à TE long alors que le rapport myoinositol/Cr diminue à TE court (Tableau n°I-3).

	TE=135 ms	TE=30 ms	
	Cho/Cr	Cho/Cr	Myo/Cr
Témoin	1,08 ± 0,19	0,91 ± 0,15	0,42 ± 0,16
Grade II	1,66 ± 0,28	1,28 ± 0,63	1,02 ± 0,13
Grade III	2,72 ± 0,49	2,06 ± 0,36	0,49 ± 0,21
Grade IV	3,23 ± 1,06	2,15 ± 0,66	0,33 ± 0,17

Moyenne ± écart-type

TE: temps d'écho, Cho :Choline,

Cr :Créatine, Myo :Myoinositol

Grade de l'OMS

Table n° I-3 : Rapport de métabolites sur la Créatine chez des sujets témoins et des patients porteurs de gliomes (d'après Smith *et al.* 2003, Castillo *et al.* 2000, Shimizu *et al.* 2000)

Empiriquement, un rapport Cho/Cr supérieur à 2 permet de détecter la présence d'une composante maligne au sein de la tumeur étudiée alors que des valeurs entre 1,5 et 2 sont plus suspectes d'infiltration tumorale. Tedeschi *et al.* (1997) et Shimizu *et al.* (2000) concordent pour retrouver une augmentation de la Choline corrélée aux capacités prolifératives des gliomes. De façon contradictoire, Howe *et al.* (2003) et Dowling *et al.* (2001) retrouvent un niveau de Choline inférieur dans les glioblastomes (grade IV) que dans les gliomes de grade II ou III.

De nombreux auteurs se sont intéressés au rôle du lactate en pathologie cérébrale tumorale. L'apparition d'un pic de Lactate en SRM-¹H témoigne d'une perturbation du métabolisme énergétique cellulaire. Dans la pathologie tumorale, le lactate est considéré comme un marqueur de malignité (Usenius 1994, Isobé 2002) et également d'efficacité thérapeutique (Kimura 2001, Tarnawski 2002, Masumura 2005). A TE court, la superposition du pic des lipides ne permet pas d'individualiser le Lactate mais l'acquisition à TE long (135 ms) permet de le détecter grâce au phénomène de couplage et au temps de relaxation T2 plus courts des lipides. Selon Bulakbasi *et al.* (2003) l'augmentation du rapport Lac/Cr est corrélée au degré de malignité. Meyerand *et al.* (1999) montrent que les rapports Lac/Eau et Cho/Eau sont particulièrement performants pour différencier les trois grades de tumeurs gliales et que Cho/Eau était le meilleur index pour individualiser les tumeurs de bas grade (grade II) et les gliomes malins (grade III & IV). Les mêmes auteurs utilisant la créatine comme référence interne sont également capables de différencier 75 % des grades III des grades IV avec le rapport Lac/Cr.

Les Lipides sont fréquemment retrouvés dans les tumeurs de haut grade à TE courts, par contre uniquement dans 41% des cas à TE long du fait de leur temps de relaxation T2 court. Des études histologiques ont corrélé la présence de lipides avec la nécrose, qui est une caractéristique des lésions de haut grade, et avec le pronostic du patient (Howe 2003).

Preul *et al.* (2000) atteignent 90 % de fiabilité dans la distinction du type et du grade des tumeurs cérébrales primitives. Majos *et al.* (2004) ont obtenu une classification tumorale exacte dans 94 % des cas en utilisant les informations fournies aux 2 temps d'écho (30 et 136 ms).

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

Figure n° I-11 : spectre SRM-¹H SVS moyen obtenu à TE = 30 ms (PRESS, TR=2000 ms) pour 5 types de tumeurs (Majos et al. 2002). Pas de différence significative entre les glioblastomes et les métastases.

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

Figure n° I-12 : spectre SRM-¹H SVS moyen obtenu à TE = 136 ms (PRESS, TR=2000 ms) pour 5 types de tumeurs (Majos et al. 2002). Pas de différence significative entre les glioblastomes et les métastases.

Au sein des gliomes de bas grade, la différenciation entre les astrocytomes et les tumeurs à composante oligodendrogliale est toujours un sujet en cours de développement.

Pour Rijpkema *et al.* (2003) la mise en évidence d'un pic correspondant au complexe glutamine-glutamate au sein d'un gliome de bas grade ferait évoquer le diagnostic d'oligodendrogliome plutôt que celui d'astrocytome.

Vuori *et al.* (2004), montrent avec réserve, sur une petite population, que le niveau de Choline et de Créatine pourrait aider à différencier les astrocytomes des tumeurs de la lignée oligodendrogliale (oligodendrogliomes et oligoastrocytomes). Les astrocytomes de bas grade sont associés à une « modeste » élévation de la Cho (+69 % ± 34) et à une diminution de la Cr (-27 % ± 37) alors que les oligodendrogliomes et oligoastrocytomes montrent une augmentation beaucoup plus prononcée de la Cho (+149 % ± 43, $p < 0.01$) et de la Cr (+58 % ± 50, $p < 0.01$).

Pour Stadlbauer *et al.* (2006), sur 26 patients étudiés en imagerie spectroscopique haute résolution trouvent un seuil de 0,8 pour le rapport Cho/NAA pour différencier les grade II des grades III et séparent au sein du sous groupe des grades III, les oligodendrogliomes/ oligoastrocytomes des astrocytomes sur la valeur de la concentration absolue en Cr ($> 7 \text{ mmol/l}$, $p = 0,02$ pour les astrocytomes grade III). Les concentrations en NAA et en Cho ne permettent pas de différencier ces deux groupes de tumeurs. Stadlbauer *et al.* (2006) justifient ces résultats contradictoires d'avec Vuori *et al.* (2004) par leur capacité en CSI à obtenir des plus petits voxels de $0,45 \text{ cm}^3$ grâce à la haute résolution (versus $1,5 \text{ cm}^3$ pour Vuori 2004).

Yin (2004) illustre, sur un cas, la transformation d'un oligodendrogliome vers la malignité en montrant l'apparition d'un pic de Lactate lors d'une surveillance évolutive.

Caractérisation de l'infiltration tumorale

La SRM- ^1H a été évaluée sur ses capacités discriminatives entre l'infiltration tumorale et l'œdème péri lésionnel. L'œdème réalisant une simple dilution des métabolites, le spectre aura une apparence normale, alors que l'infiltration tumorale aura un spectre tumoral classique. Croteau *et al.* (2001) ont montré que le pic de Choline était positivement corrélé au degré d'infiltration tumorale constaté à l'analyse histologique. Au sein de « l'œdème » péri tumoral (Fan 2004, Ricci 2007) on assiste à une diminution significative des rapports NAA/Cr et NAA/Cho, ainsi qu'à la détection plus fréquente de Lactate. Ces études suggèrent que le Lac diffuse de la lésion vers le tissu péri tumoral. Fan *et al.* (2004) ont évalué chez 22 patients (8 métastases et 14 gliomes de haut grade, III & IV) l'efficacité de la SVS à 2 Tesla (PRESS, TE 45 et 135 ms, dans les régions péri tumorales, rehaussés par le produit de contraste, et une référence dans le tissu normal controlatéral) pour différencier les tumeurs gliales de haut grade des métastases cérébrales. L'élévation du pic de Cho et l'augmentation du rapport Cho/Cr au sein de l'hypersignal T2 péri tumoral sont retrouvés exclusivement dans les gliomes de haut grade et sont tout à fait spécifiques et confirment l'infiltration tumorale des tissus adjacents à la prise de contraste tumorale. Pour Stadlbauer 2006, il existe une corrélation linéaire entre les modifications du NAA et le degré d'infiltration tumorale. Au sein des gliomes de haut grade, les rapports Cho/Cr dans les régions péri tumorales étaient significativement différents ($p < 0,01$) entre les grades III et IV (respectivement $1,3 \pm 0,56$ et $3,18 \pm 0,24$). Les rapports Glu/Cr sont également plus élevés dans les grades IV que dans les grades III et ceci autant dans la région tumorale que dans la région péri tumorale. Ces résultats pouvant être un argument indiquant que les élévations de la Cho et du Glutamate pourraient être corrélées positivement avec la transformation en gliome de plus haut grade (Stadlbauer 2006).

Surveillance des tumeurs gliales : évolution spontanée, en cours de traitement, récurrence versus radionécrose ?

Il s'agit d'un domaine illustrant le manque de spécificité de l'IRM devant la présence d'une prise de contraste lors de la surveillance d'une tumeur cérébrale. S'agit-il d'une évolution tumorale ou d'un effet de la radiothérapie ? La SRM-¹H a été mise à contribution dans cette indication (Graves 2001, Schlemmer 2001 et 2002, Rabinov 2002) montrant qu'une augmentation de la Cho de plus de 50 % et/ou Cho/Cr > 2 avait une sensibilité comprise entre 64 et 95 % pour une spécificité entre 82 et 100 % (Cha 2006) pour détecter une évolution tumorale.

Alimenti *et al.* (2007), sur un suivi longitudinal de 21 patients, montrent que le rapport NAA/Cho est le meilleur marqueur de transformation tumorale d'un grade II en III avant traitement avec une sensibilité de 53,9 %

Dans une évaluation pronostique, Kuznetzov *et al.* (2003) montrent, grâce à l'analyse de multiples paramètres spectroscopiques sur un modèle de régression logistique, que la SRM-¹H permettait de prédire la survie de patients porteurs de gliomes.

Enfin, la SRM-¹H a également été étudiée lors du suivi thérapeutique des tumeurs cérébrales. L'efficacité du traitement entraîne l'effondrement des métabolites cellulaires et l'apparition de lipides libres (Preul 2000, Kimura 2001). La reprise évolutive s'accompagne d'une élévation de la Choline qui précède les modifications morphologiques.

Remarques générales

On retrouve, dans la littérature, une tendance récente à favoriser l'utilisation de l'imagerie spectroscopique (CSI) aux dépens de l'analyse mono-voxel (SVS). La justification clinique de l'utilisation du CSI (Yerli 2007, Kwok 2006, Pruel 1996) est qu'elle permet une approche beaucoup plus globale de l'hétérogénéité tumorale. Toutefois, les partisans du SVS (Tong 2004, Jeun 2005, Ricci 2007, Meyerand 1999) soulignent la perte de signal et la diminution de qualité individuelle des spectres acquis en spectroscopie multi-voxel.

Malgré la performance de la SRM-¹H à de nombreux niveaux de la prise en charge des gliomes, les résultats obtenus dans la littérature sont difficilement reproductibles en pratique clinique. Le principal défaut de la SRM-¹H réside dans l'importante hétérogénéité des protocoles d'acquisition et de post-traitement utilisés par chaque équipe. C'est la raison pour laquelle une volonté d'harmonisation des

pratiques de spectroscopie *in vivo* apparaît (INTERPRET projet – IST-1999-10310) mais n'a pas, encore, permis d'obtenir un consensus à l'heure actuelle.

Devant cette difficulté majeure de l'application de la SRM-¹H en routine clinique, deux voies sont possibles :

- Soit le développement d'un « logiciel universel » utilisable sur toutes les modalités industrielles et dans tous les sites de neuro-spectroscopie.
- Soit l'utilisation exclusive d'un référentiel local (base de données et logiciel de post-traitement) dont les données, validées localement, ne seront pas forcément comparables à ceux d'autres centres.

I -6-2-5 Imagerie par médecine nucléaire

Selon les SOR (Standard, Option et Recommandation des centres de lutte contre le cancer 2002), les techniques d'imagerie de médecine nucléaire, comme la tomographie par émission de positons (TEP) et la tomographie par émission mono photonique (TEMP), ne doivent être réalisées que dans le cadre d'un protocole de recherche clinique.

La TEP (PET-scan) est classiquement considérée comme l'examen de référence pour l'étude du métabolisme cérébral (Bénard 2003). Mais les résolutions spatiales et temporelles restent médiocres et l'irradiation importante limite son emploi comparativement aux explorations moins invasives. Elle utilise deux marqueurs principaux jugés complémentaires.

Le ¹⁸F-FDG (2 Fluorodéoxyglucose) étudie le métabolisme tumoral du glucose et n'est pas influencé par la rupture de la BHE. La spécificité reste toutefois imparfaite vis-à-vis du grade tumoral des gliomes mais aussi vis-à-vis du diagnostic de malignité d'une masse intracrânienne (Sasaki 1998)

Le ¹¹C-MET (L-Méthyl-¹¹C-méthionine) étudie le métabolisme et le transport de la méthionine. L'étude de Sasaki et al. (1998) sur 23 patients montre que le ¹¹C-MET-PET permet le diagnostic d'astrocytomes et la différenciation entre tumeurs bénignes et malignes, mais ne permet pas de déterminer le grade des tumeurs de façon supérieure au ¹⁸F-FDG (Miwa 2007). Le ¹¹C-MET-PET présente des contraintes techniques lourdes et coûteuses (durée de vie très courte des radioéléments obligeant à réaliser l'imagerie à proximité du Cyclotron).

La TEMP (SPECT) a l'avantage d'être une technique moins onéreuse et moins irradiante que la TEP, ce qui la rend plus accessible, mais sa résolution spatiale est en revanche très inférieure. Elle utilise différents radioéléments pour l'étude des tumeurs cérébrales (Thallium 201, Technetium-99-sestamibi)

sans que son utilité en clinique ne soit clairement établie. Toutefois dans la distinction entre récurrence tumorale ou radio-nécrose, il semble que la TEMP au Thallium 201 soit supérieure au TEP-FDG (Gomez-Rio 2008).

Les outils d'imagerie nucléaire peuvent participer à l'évaluation multimodale des gliomes cérébraux avec une augmentation de l'efficacité diagnostique (de 68 % à 97 %) en association avec l'IRM et ^{18}F -FDG (Floeth 2005).

1-6-3 Apports de la biologie moléculaire, génomique et protéomique

Ces dernières années, les progrès en biologie moléculaire et en génétique ont permis d'identifier de multiples voies de l'oncogénèse cérébrale. L'impact clinique de ces données reste encore limité mais est promis à un avenir décisif dès que des corrélations entre les caractéristiques génomiques et protéomiques auront été faites avec le comportement clinique de ces tumeurs (Maher 2001).

L'étude des altérations génétiques qui sous-tendent la genèse et la progression des gliomes permet la compréhension des mécanismes à l'origine du développement de ces tumeurs en établissant une « carte d'identité génétique » (génotypage) de chaque tumeur. Elle ouvre la perspective d'une nouvelle classification « moléculaire ». Il s'agit d'une révolution de la logique actuelle de classification des tumeurs en permettant une individualisation pronostique et thérapeutique. Selon Nutt *et al.* (2003) une classification basée sur la génomique serait mieux corrélée à la survie des patients que la classification histologique. Les anomalies moléculaires qui mettent en jeu gènes suppresseurs et oncogènes semblent se succéder pour former des voies de progressions tumorales multiples. Par ailleurs des acteurs de la différenciation, de l'invasion et de l'angiogénèse tumorale, participent à la transformation tumorale gliale.

Le gène p53 est muté dans plus de 50% des astrocytomes de grade II, rarement dans les glioblastomes de novo et dans les oligodendrogliomes purs. Les mutations du gène p53 semblent donc être un facteur pronostic défavorable. Par contre, dans le cadre des oligodendrogliomes, on retrouve fréquemment des délétions associées du chromosome 1p et 19q. Ces anomalies ne sont retrouvées que dans moins de 10% des tumeurs astrocytaires. Ces différents profils moléculaires ont une incidence pronostique. La délétion 1p isolée semble représenter un facteur prédictif positif de réponse à la chimiothérapie et influence favorablement la survie. D'autres altérations moléculaires comme les pertes du chromosome 10q, les délétions de P16/CDKN2A sembleraient avoir un rôle pronostic défavorable. Le gène MGMT, participant à la réparation de l'ADN en supprimant les groupements

alkyls. Il va donc potentiellement induire des résistances aux chimiothérapies alkylantes. Les résultats demeurent cependant limités et parfois contradictoires.

Figure n° I-13 : Représentation schématique des voies de progression des tumeurs gliales (extrait de Behin A et al. Lancet 2003 ;361 :323-31).

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

LOH = perte de l'hétérozygotie ; GBM = glioblastome ; GBMO = glioblastome avec composante oligodendrogliale ; Carré orange = altération génétique du contrôle du cycle cellulaire ; TP 53 = mutation ; RB = mutation ; P16/CDKN2A = délétion homozygote ; CDK4 = amplification ; Carré vert = altérations génétiques touchant les voies de transductions ; EGFR = amplification ; PDGFR = surexpression ; PTEN = mutation ; Carré bleu = perte de l'hétérozygotie des chromosomes 1p/19q ou 10q.

1-6-4 Considérations thérapeutiques

La prise en charge thérapeutique des gliomes de l'adulte se base actuellement en France sur le rapport établi en 2002 par la Fédération Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer (FNCLCC) établissant des « standards, options et recommandations » (SOR 2002). L'âge et l'état fonctionnel préopératoire du patient ainsi que le type histologique et le grade de la tumeur sont les facteurs pronostiques déterminants et reconnus (Philippon 2004).

1-6-4-1 La chirurgie

La chirurgie reste la technique fondamentale pour la confirmation histologique (biopsie stéréotaxique ou exérèse) et le traitement. L'exérèse doit être optimale, c'est-à-dire aussi large que possible sans risque fonctionnel majeur afin de réduire l'effet de masse.

1-6-4-2 La radiothérapie

La radiothérapie doit être proposée comme traitement de première intention des gliomes de haut grade. L'irradiation doit être focale par radiothérapie externe conventionnelle. Le volume tumoral macroscopique (GTV) correspond à la prise de contraste à l'imagerie ou, en cas d'exérèse complète, aux bords de la cavité opératoire. Pour les lésions sans prise de contraste en pondération T1, l'hypointensité tumorale sera incluse dans le GTV. Le volume cible (CTV) comprend une zone de sécurité de 20 mm, située au-delà des limites du GTV.

En fonction du grade et du type histologique, et du volume tumoral, cette marge de sécurité peut être réduite. Des rayonnements multiples, focalisés, doivent être utilisés afin de minimiser la dose totale délivrée, par fractionnement, au cerveau normal. La dose doit être adaptée au type histologique et au grade de la lésion et ne doit pas dépasser un total de 60 Gy.

1-6-4-3 La chimiothérapie

La stratégie thérapeutique doit être adaptée à l'histologie et à l'état clinique du patient, les tumeurs gliales ayant une chimio-sensibilité limitée. La chimiothérapie à base de nitrosourées (BCNU) a montré une certaine efficacité seule ou en association sous l'appellation PVC (CCNU, procarbazine et vincristine) particulièrement sur les oligodendrogliomes présentant une délétion des chromosomes 1p-19q. En deuxième ligne, le témozolamide peut être utilisé.

II Développements Méthodologiques

En pratique de SRM- ^1H clinique de routine neuroradiologique, le post-traitement utilisé est, le plus souvent, directement fourni par l'industriel sans une évaluation préalable (Petrou 2007). Les logiciels de post-traitement experts souffrent de la difficulté d'un long apprentissage et d'une expérience nécessaire au maniement des outils statistiques.

Notre objectif a été de développer un ensemble cohérent d'outils pour explorer et caractériser les tumeurs cérébrales avec les méthodes de spectroscopie protonique mono voxel (SRM- ^1H SVS) facilement utilisables dans un environnement clinique et un protocole de traitement des spectres le plus indépendant possible des opérateurs pour s'affranchir de tout biais lié à l'expérience. Ce nouveau post-traitement a pu être comparé à celui du constructeur (plateforme SyngoTM).

L'utilisation d'un post-traitement plus simple, implanté sur la console même de l'IRM, ne veut pas pour autant dire réducteur ni simplificateur, mais plus reproductible d'un opérateur à un autre, sans la nécessité de se former au maniement de logiciels experts complexes et déportés. Nous avons opté pour la prise en compte de tous les paramètres de spectroscopie protonique, c'est-à-dire le couplage au second ordre, la J-modulation, la déclaration de tous les métabolites cérébraux présents dans le spectre entre 0 et 4 ppm et ayant une concentration supérieure à 1 mM. Seize de ces métabolites ont été modélisés et pris en compte dans la librairie locale du logiciel SyngoTM.

II-1 Description du protocole d'acquisition

Notre première étape a été la mise au point d'un protocole d'acquisition de spectres permettant d'évaluer la fiabilité des conditions d'acquisition et de déterminer précisément le temps de relaxation T2 pour s'affranchir des modulations induites par la relaxation transversale.

L'ensemble des expérimentations a été effectué sur un imageur clinique de 1,5 Tesla (Sonata, Siemens AG, Erlangen, Allemagne) installé à l'hôpital G&R Laënnec, St Herblain CHU de Nantes (Service de Neuroradiologie Diagnostique et Interventionnelle du Pr A. de Kersaint-Gilly). Une antenne « Tête » émettrice-réceptrice classique a été utilisée.

Des mesures de SRM- ^1H sans et avec suppression du signal de l'eau (CHESS) ont été acquises en séquence PRESS à 4 temps d'échos (TE : 30, 60, 135 et 270 ms). Le Temps de Répétition (TR) a été

choisi à 2000 ms. Le nombre d'accumulation était de 96 pour les spectres des volontaires sains avec suppression du signal de l'eau, de 32 pour les spectres de fantômes avec suppression du signal de l'eau et de 2 pour les spectres de l'eau sur volontaires et sur fantômes. La fréquence d'échantillonnage était de 1100 Hz. 1024 points complexes étaient acquis. La taille du voxel était de 20 x 20 x 20 mm situé dans la substance blanche du lobe frontal gauche chez les volontaires sains. L'homogénéité du champ magnétique était optimisée grâce à une option « shim automatique » pour se rapprocher d'une largeur à mi-hauteur du pic de l'eau de 5 Hz chez les volontaires et toujours inférieure pour les fantômes.

Cette mesure du pic de l'eau nous sert de référence pour évaluer l'homogénéité de B_0 et la qualité de la mesure pour chaque volontaire. En cas de résultats supérieurs à 5 Hz, nous repositionnons le voxel pour éviter toute contamination par des structures ventriculaires ou osseuses. Pour les fantômes, une attente de 10 minutes, entre le positionnement et la première acquisition, était généralement nécessaire pour obtenir une stabilisation de la solution liquide et permettre l'obtention d'une largeur à mi-hauteur inférieure à 5 Hz.

II-1-1 Matériels

Ce protocole d'acquisition a été utilisé sur des solutions modèles et des volontaires sains.

Solutions modèles : Les solutions modèles des principaux métabolites cérébraux ont été préparées par dilution dans une solution tampon ($\text{pH} = 7,00 \pm 0,02$) contenant du NaN_3 pour la stérilisation et un composé de référence pour le réglage de la phase et pour une meilleure correction du décalage en fréquence. Les métabolites analysés sont : l'alanine, l'aspartate, la choline, la créatine, l'éthanolamine, le GABA, le glutamate, la glutamine, le glutathione, le myo-inositol, le scyllo-inositol, le NAA, les lactates et la taurine. La concentration des métabolites était de 30 mM à l'exception du glutamate (40 mM), du NAA (10 mM) et de la taurine (20 mM). Deux composés ont été utilisés pour « phaser » le spectre : le diméthyl-2,5-hexanediol, concentré à 5 mM a été utilisé dans la plupart des cas et l'acétate, concentré à 25 mM, pour les métabolites ayant un déplacement chimique entre 0,7 ppm et 2 ppm (alanine et lactate). Ces solutions ont été transférées dans un fantôme sphérique de 2,5L (dont 125 ml de solution tampon) pour faire les acquisitions.

La solution tampon était composée de :

0,5 M (114 g) $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

0,5M (68 g) KH_2PO_4

12 g NaN_3 (pour un litre d'eau distillée)

Volontaires sains : Trente volontaires sains (17 femmes et 13 hommes) ont été recrutés. La moyenne d'âge était de 29,5 ans (de 19 à 59 ans). Les volontaires n'avaient pas d'antécédent de maladies du système nerveux central. Leur examen d'IRM morphologique de repérage n'a révélé aucune anomalie.

II-1-2 Développement méthodologique du protocole de post-traitement

Notre second objectif a été de développer un protocole de post traitement fiable, reproductible et « non-opérateur-dépendant », utilisable en pratique clinique sur la console de l'IRM. Ce travail a fait l'objet d'une publication en Annexe n°1 (*Pineda-Alonso N, Desal H, Baguet E, Toulgoat F, Akoka S. Accurate Determination of concentrations by localized proton magnetic resonance spectroscopy. Instrumentation Science and technology 2008;36:71-80.*)

Deux protocoles de post-traitement ont été comparés. Ces deux protocoles utilisaient la même plateforme clinique « SyngoTM ».

M-protocole : est le protocole installé en routine par le constructeur Siemens. Ce logiciel « SyngoTM » travaille dans le domaine fréquentiel et possède un algorithme itératif d'ajustement par les moindres carrés, qui détermine la valeur optimale de la position, de l'intensité et de la largeur des pics pour les métabolites afin de minimiser l'erreur d'ajustement. Dans ce protocole, seuls 5 métabolites sont déclarés dans la librairie locale avec leur singulet ou multiplets sans tenir compte des effets de couplage au second ordre ou de la J-modulation. Un filtre de Hanning (largeur de 700ms) est appliqué centré à 0ms. La correction de la ligne de base est obtenue par soustraction d'une fonction polynomiale de degré 6, calculée par ajustement dans cinq régions du spectre définies par l'opérateur.

P-protocole : est le protocole développé à l'occasion de ce travail.

II-1-3 Description de notre protocole de post-traitement : P-protocole

Notre hypothèse de travail est de considérer la ligne de base comme une combinaison linéaire de l'ensemble des massifs de métabolites présents entre 0 et 4 ppm. Nous avons modélisé pour les seize métabolites cérébraux cibles, tous les massifs situés entre 0 et 4 ppm en utilisant les travaux de Govindaraju *et al.* (2000) pour les déplacements chimiques et les constantes de couplage. Chaque massif, correspondant à un déplacement chimique, a été modélisé pour chacun des TE (30, 60, 135 et 270 ms), en tenant compte de la J-modulation.

La prise en compte de l'effet de second ordre pour les couplages conduit à un nombre très important de raies. Compte tenu de la faible valeur du champ magnétique B_0 (1,5 Tesla) et de la largeur des raies (plusieurs Hz), les recouvrements sont très nombreux. Lorsque plusieurs raies se superposent, nous avons choisi de simuler un seul signal global en moyennant les phases relatives des raies superposées et en additionnant leurs intensités. Les massifs ont été déclarés individuellement dans la librairie de pics du logiciel « SyngoTM » sous forme de métabolite avec un déplacement chimique précis, un nombre limité de raies et des fréquences et phases fixées et relatives au déplacement chimique du massif (<http://www.sciences.univ-nantes.fr/CEISAM/ebsi/irmquant.html>).

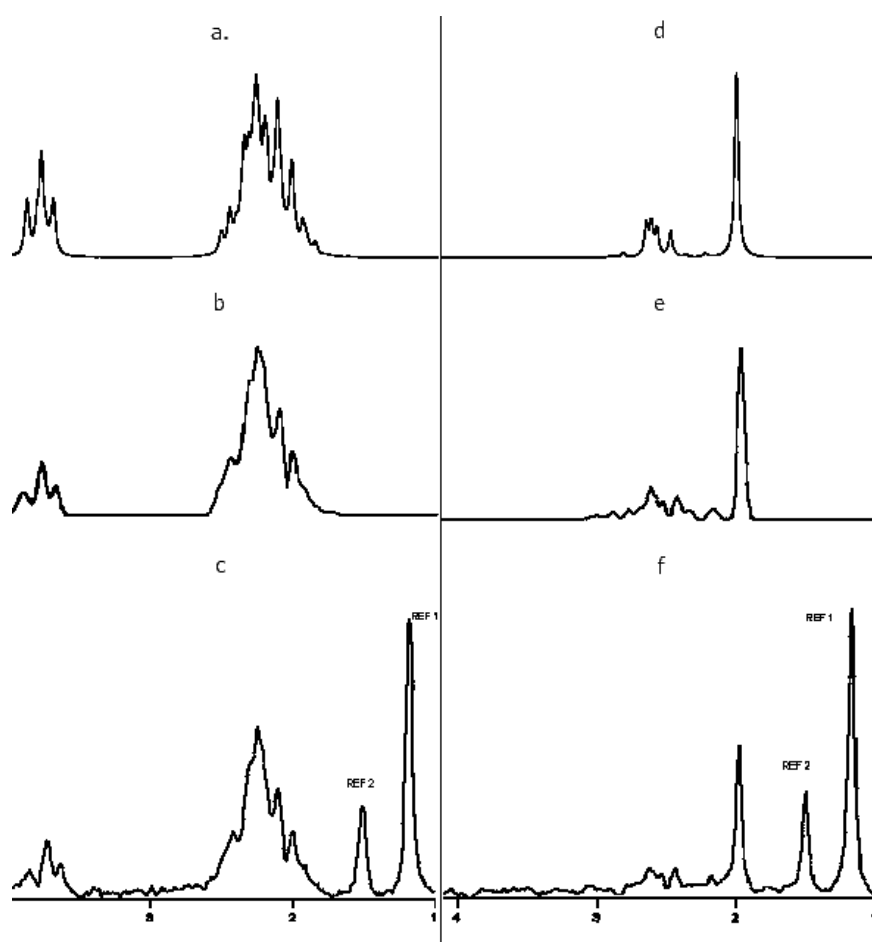


Figure n°II-1: Spectres du glutamate (gauche) et du NAA (droite) simulés à 63,6 MHz au 2e ordre (a et d), au 2e ordre et en considérant la J-modulation (b et e). Spectres expérimentaux obtenus sur les solutions modèles avec la séquence PRESS, TR = 2000 ms et TE = 30 ms (c et f). L'axe des abscisses correspond au déplacement chimique en ppm.

Un ajustement empirique final est réalisé avec le spectre expérimental du métabolite pur, obtenu dans les mêmes conditions que les mesures *in vivo*.

Le signal des lipides est défini dans le domaine fréquentiel comme de larges pics gaussiens.

Grâce à la prise en compte de ces seize métabolites, la ligne de base est correctement décrite et une correction au premier ordre par un ajustement automatique dans le domaine fréquentiel est alors suffisante.

Une correction manuelle du décalage en fréquence, par rapport au pic de Cho (3,21ppm), est la seule opération manuelle pour minimiser l'erreur d'ajustement entre les courbes expérimentales et théoriques. Un filtre exponentiel avec une constante de 200 ms, centré à 0ms, a été appliqué, car pour l'approche que nous suggérons, l'utilisation de ce filtre nous donnait l'erreur d'adaptation la plus faible par rapport aux autres filtres possibles donnés par le logiciel SyngoTM, (Hanning, Gaussien et Rectangle). De plus, ce filtre permet d'éliminer plus de bruit que le filtre de Hanning proposé dans le protocole du constructeur. Les autres types de filtres appliqués avec une constante de 200 ms donnaient une mauvaise résolution des raies et une erreur d'adaptation supérieure.

De façon commune aux deux protocoles (M et P) les étapes suivantes ont également été appliquées :

- élimination logicielle du signal résiduel de l'eau,
- remplissage par des zéros jusqu'à 2048 points avant Transformation de Fourier
- et correction de phase automatique d'ordre 0.

Nous avons également vérifié expérimentalement que la correction au premier ordre n'améliorait pas le post-traitement. Cela est cohérent avec l'utilisation de séquences générant un écho (PRESS ou STEAM) ; la différence de phase entre les différents massifs est alors compensée par la refocalisation.

II-1-4 Calcul du temps de relaxation T2 et de la concentration absolue des métabolites

Le calcul du temps de relaxation T2 a été obtenu par un ajustement exponentiel avec les mesures de chaque métabolite aux quatre temps d'écho (30 ms, 60 ms, 135 ms et 270 ms). Un ajustement multi-exponentiel n'a pas été utilisé en raison du faible nombre d'échos acquis. Il est possible que le temps d'écho à 30 ms induise une erreur systématique dans le calcul du T2.

La concentration absolue a été calculée en utilisant l'eau comme référence interne et les équations (II-1, II-2, II-3) (Gruber 2003, Isobe 2002):

$$C_{\text{métabolite}} = C_{\text{eau}} \cdot \left(\frac{fw}{fs} \right) \cdot \left(\frac{2}{n} \right) \cdot \left(\frac{S_{\text{métabolite}}}{S_{\text{eau}}} \right) \cdot K_1 \cdot K_2 \quad \text{Éq. II-1}$$

$$K_1 = \frac{1 - \exp\left(-\frac{TR}{T1_{\text{eau}}}\right)}{1 - \exp\left(-\frac{TR}{T1_{\text{métabolite}}}\right)} \quad \text{Éq. II-2}$$

$$K_2 = \frac{\exp\left(\frac{TE}{T2_{\text{métabolite}}}\right)}{\exp\left(\frac{TE}{T2_{\text{eau}}}\right)} \quad \text{Éq. II-3}$$

où $C_{\text{métabolite}}$ et C_{eau} sont les concentrations des métabolites (mol/kg poids humide) et de l'eau (35 mol/kg poids humide) (Isobe 2002),

$S_{\text{métabolite}}$ et S_{eau} sont les aires sous les raies des métabolites et de l'eau,

n est le nombre de protons sur un site moléculaire donné,

TE est le temps d'écho,

TR est le temps de répétition,

$T2_{\text{métabolite}}$ et $T2_{\text{eau}}$ sont les temps de relaxation transversale du métabolite et de l'eau,

$T1_{\text{métabolite}}$ et $T1_{\text{eau}}$ sont les temps de relaxation longitudinale du métabolite et de l'eau.

fs et fw sont des facteurs du gain du récepteur pour les spectres avec saturation du signal de l'eau et les spectres de l'eau. Dans cette étude fs et fw sont constants pour toutes les mesures. En pratique, grâce à l'utilisation d'un Convertisseur Analogique Numérique (ADC) de 32 bits du système, fs et fw sont égaux.

II-2 Résultats de la comparaison des deux protocoles - Validation

II-2-1 Spectres sur les fantômes de métabolites purs

Lors de l'application de P-protocole sur le spectre d'un fantôme de métabolite pur, on obtient un seul spectre du métabolite analysé et cela quel que soit le TE utilisé.

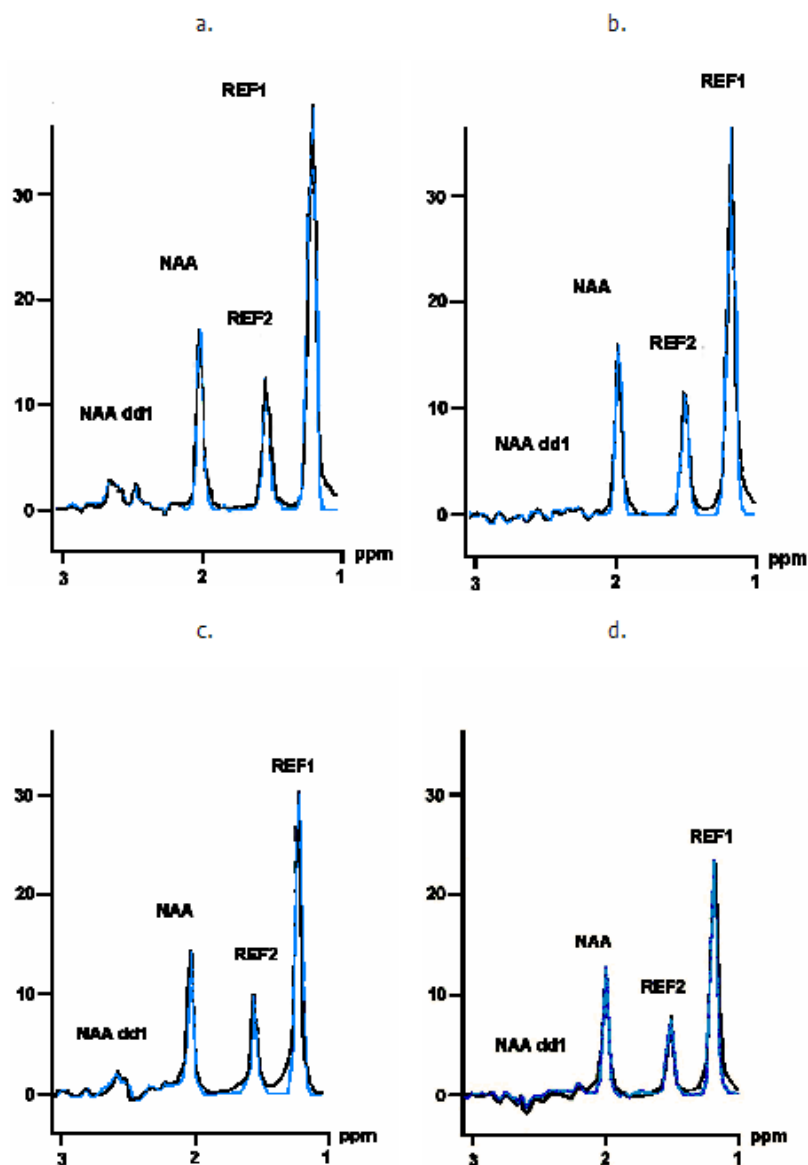


Figure n° II-2: Spectre d'un fantôme contenant du NAA à une concentration de 30 mM. Spectre expérimental (ligne noire) et spectre modélisé (ligne bleue) du NAA à quatre temps d'écho différents (a. 30, b. 60, c. 135 et d. 270 ms), TR 2000 ms avec 32 accumulations. Les lignes REF 1 et REF 2 correspondent au diméthyl-2,5-hexanediol qui a été utilisé comme référence pour ajuster le décalage de phase. L'axe des abscisses correspond au déplacement chimique en ppm et l'axe des ordonnées correspond à l'intensité des pics donnée en unité arbitraire.

II-2-2 Approches quantitatives sur fantôme contenant des concentrations de métabolites connues

Nous avons réalisé des acquisitions sur un fantôme de 50 mL contenant 5 métabolites (NAA, créatine, choline, glutamate et myo-inositol) à des concentrations proches de celles du cerveau humain (Govindaraju 2000). Le pH était contrôlé à $7,05 \pm 0,02$. Du Dotarem (Gd-DOTA à $0,5 \text{ mol.l}^{-1}$) a été ajouté à 1 % afin d'obtenir un temps de relaxation longitudinale proche de la valeur observée *in vivo*.

Afin de disposer des valeurs les plus précises possibles pour les concentrations des métabolites, un échantillon a été prélevé et quantifié par spectroscopie haute résolution (DRX 500 avance Bruker, tube 5mm, soude duale directe $^1\text{H}/^{13}\text{C}$, suppression du pic de l'eau par saturation, quantification par le logiciel PERCHTM, répétition de chaque spectre 10 fois)

Les mesures réalisées sur les volontaires ont été reproduites sur ce fantôme et répétées cinq fois. Les résultats ont été analysés avec les deux protocoles P-Protocole et M-Protocole (Tableau n° II-1). Même si les deux protocoles donnent des résultats satisfaisants pour la quantification, les incertitudes des mesures sont plus faibles avec le P-Protocole et les mesures sont significativement plus justes pour le NAA et la choline. Pour la créatine, les deux protocoles donnent des résultats comparables.

Tableau n° II-1: Concentrations réelles et mesurées obtenues sur le fantôme de 50 mL contenant NAA, créatine, choline, glutamate et myo-inositol. Les résultats sont exprimés en mM (moyenne $\pm$ écart-type sur 5 spectres). La valeur en % indique la justesse : écart à la valeur obtenue en haute résolution.

	Concentration dans le fantôme (mM) *	Concentration quantifiée par P-Protocole (mM)	Concentration quantifiée par M-Protocole (mM)
NAA	$11,55 \pm 0,09$	$12,7 \pm 0,2$ (+10,0 %)	$13,2 \pm 0,3$ (+14,3 %)
Cho	$2,52 \pm 0,01$	$2,4 \pm 0,1$ (-4,8 %)	$3,1 \pm 0,2$ (+23,0 %)
Cr	$8,32 \pm 0,05$	$8,4 \pm 0,2$ (+1,0 %)	$8,1 \pm 0,3$ (-2,6 %)

* Mesurées par RMN haute résolution

Il faut noter que pour ces mesures, les valeurs de T2 étant très supérieures à ce qui est observé *in vivo*, la correction en T2 n'a pas été utile.

II-2-3 Spectres sur volontaires sains

Le spectre *in vivo* des métabolites cérébraux de chacun des 30 volontaires a été ajusté par un spectre simulé qui est le résultat d'une combinaison linéaire des spectres modélisés pour les 16 métabolites. Quand les mêmes données brutes sont analysées avec notre protocole (P-Protocole) et le protocole proposé par le constructeur (M-Protocole), notre protocole donne une erreur d'adaptation de 5 à 10 fois plus faible que l'erreur d'adaptation du protocole du constructeur (Figure n° II-3).

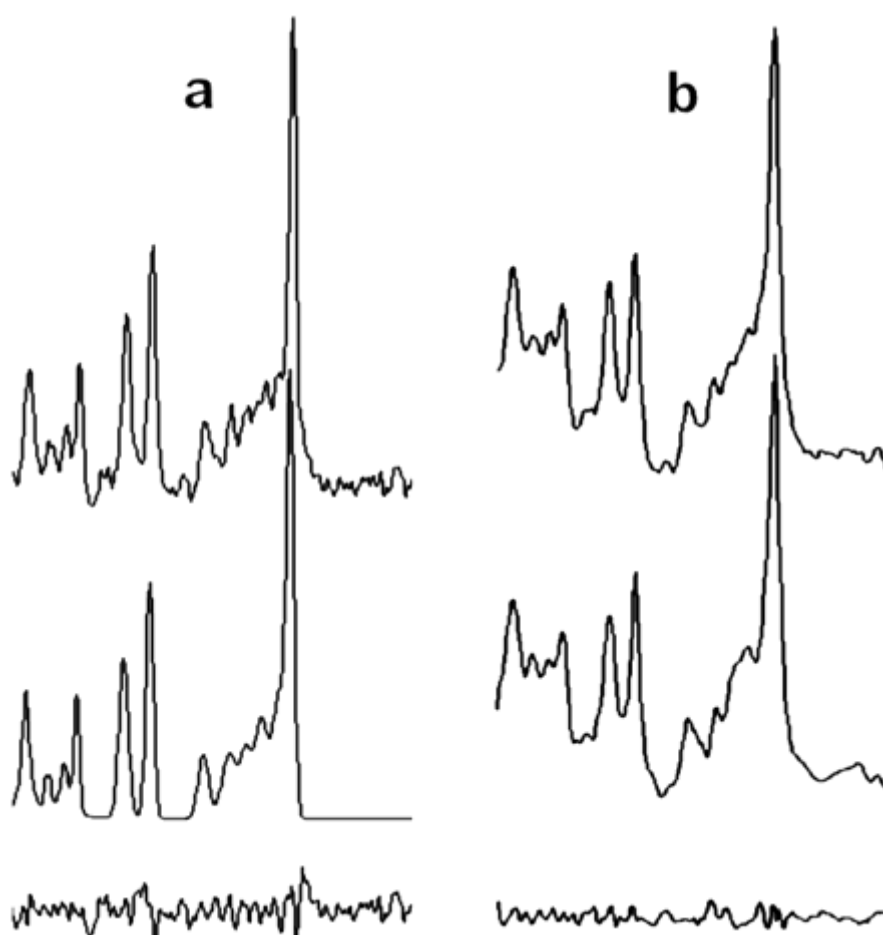


Figure n° II-3 : Spectre d'un volontaire sain (séquence PRESS, TR de 2000 ms et TE = 30 ms). (a) spectre traité avec le protocole de post-traitement proposé par le constructeur (M-Protocole). (b) spectre traité avec notre protocole de post-traitement (P-Protocole). Les spectres expérimentaux sont en haut, les spectres simulés au milieu et la différence exp-sim est en bas. L'erreur d'adaptation est 85 u.a. pour M-Protocole et 11 u.a. pour P-Protocole.

Pour les TE longs, l'erreur d'adaptation absolue diminue naturellement puisque le niveau de signal diminue. La qualité de l'ajustement est meilleure pour le P-Protocole pour les 3 TE (30 ms, 135 ms et

270 ms) et reste quasi constante, tandis que pour le M-Protocole l'ajustement devient moins bon pour les TE longs. Ceci est plus clairement illustré lorsque l'erreur normalisée est calculée (erreur d'ajustement/niveau du signal FID) et tracée pour les deux protocoles et les quatre échos. (Figure n° II-4).

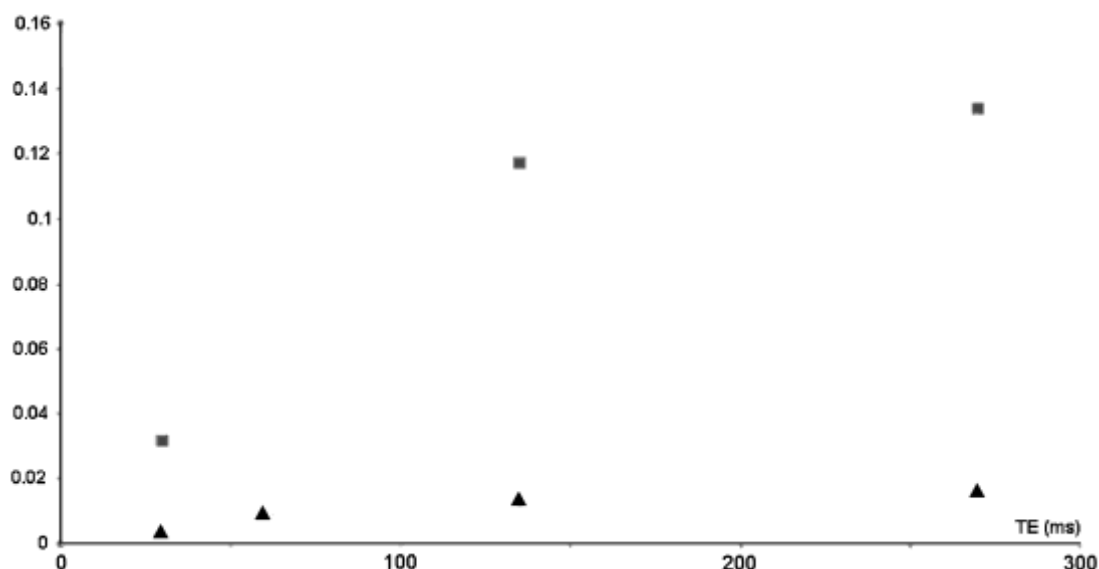


Figure n° II-4 : Erreur d'ajustement entre la courbe expérimentale et la courbe simulée, normalisée par le niveau de signal du FID (Erreur d'ajustement/ Niveau de signal du FID) pour TE égal à 30, 60, 135 et 270 ms. L'erreur reste faible pour le protocole P-Protocole (▲) par rapport au M-Protocole (■) même si le niveau du signal du FID décroît.

Les pics de résonances quantifiées sont les singulets du NAA, de la créatine et la choline. Nous avons utilisé l'aire sous la courbe de ces métabolites pour calculer la concentration. Les autres groupes sont, pour cette étude, uniquement utilisés pour modéliser la ligne de base. La qualité des mesures n'a pas permis un calcul précis de la concentration des autres métabolites.

II-2-4 Approches quantitatives, calcul des temps de relaxations T1, T2 et des concentrations (PRESS)

À partir des équations de quantification d'Isobe (2002) et Gruber (2003) (Éq. II-2) et (Éq. II-3), les temps de relaxations T1 et T2 sont nécessaires pour calculer la concentration des métabolites (Éq. II-1). L'erreur induite dans l'estimation de la concentration dépend donc de la précision de mesure de ces paramètres. Les formules (Éq. II-2) et (Éq. II-3) corrigent les effets du T1 et du T2 des métabolites et de l'eau au sein de l'échantillon analysé.

II-2-4-1 Évaluation de l'effet T1

Quand le TR d'une séquence est court (inférieur à 5 fois le temps de relaxation longitudinal - T1) l'aimantation n'a pas le temps de se reconstituer totalement avant l'excitation suivante, ce qui aboutit à une réduction du signal (saturation partielle). Un TR de 7000 ms permet une réduction de signal de 0,7 % alors qu'un TR à 2000 ms conduit à une réduction de signal de 25% (Jansen 2006). Toutefois, lorsque les T1 des différents métabolites mesurés sont proches, l'atténuation relative entre deux raies du spectre est faible. En remplaçant les valeurs de T1 dans l'expression K1 (Éq. II-1), nous avons trouvé que l'erreur que nous induisons en négligeant la correction des effets T1 est d'environ 10%. Notons aussi que la correction de l'effet T1 implique une augmentation du temps d'acquisition, puisque l'aire sous la courbe des principaux pics doit être mesurée pour différents TR, ce qui est une limitation pour l'application clinique. Nous avons donc choisi un TR = 2000 ms afin de pouvoir négliger la correction des effets de la relaxation T1, en considérant le T1 trouvé dans la littérature (Kreis 1997).

Isobe *et al.* (2002) retrouvent : $T1_{\text{eau}} = 1134,6 \pm 57,9$, $T1_{\text{NAA}} = 1433,5 \pm 102,5$, $T1_{\text{Cr}} = 1471,6 \pm 106,9$ et $T1_{\text{Cho}} = 1450,9 \pm 129,8$ ms dans la substance blanche de la région pariéto-occipitale chez le sujet sain.

Ala-Kopela *et al.* (1995) retrouvent : $T1_{\text{NAA}} = 1400 \pm 21,4$, $T1_{\text{Cr}} = 1400 \pm 35,7$ et $T1_{\text{Cho}} = 1200 \pm 33,3$ ms dans la substance blanche de la zone frontale chez le sujet sain.

Cette approximation nous a semblé acceptable compte tenu de la faible erreur consentie en négligeant la composante T1 du spectre et le gain en temps de la mesure rendant son évaluation difficile en pratique clinique.

II-2-4-2 Prise en compte de l'effet T2

La différence entre le temps de relaxation T2 de l'eau et celui des métabolites est plus importante que la différence entre le temps de relaxation T1 de l'eau et celui des métabolites. L'effet T2 est donc plus sensible dans l'objectif de quantification et doit être considéré avec plus d'attention.

Nous avons effectué les mesures du temps de relaxation T2 pour l'eau et les métabolites. En remplaçant dans la formule K₂ (Éq. II-3), le T2 par les valeurs du Tableau n° II-2, nous avons obtenu une erreur d'environ 20%, avec un T2 de l'eau de l'ordre de $94 \text{ ms} \pm 5 \text{ ms}$. Cette valeur a été calculée grâce aux spectres de l'eau sur nos 30 volontaires.

Le calcul de T2 a été fait par un ajustement exponentiel avec les mesures des quatre temps d'échos acquis (30 ms, 60 ms, 135 ms et 270 ms) (Figure n° II-5). Pour le calcul de la concentration, nous avons utilisé les niveaux de signal pour le spectre avec un TE de 30 ms et nous l'avons remplacé dans (Éq. II-1). Les valeurs de T2 et de concentration (obtenues après correction du temps de relaxation T2) sont proches de la littérature (Ala-Korpela 1995) pour un protocole d'acquisition similaire et avec le signal de l'eau comme signal de référence (Tableau n° II-2).

Tableau n° II-2: Résultats de la concentration et du T2 obtenus avec les deux protocoles de post-traitement. Ces résultats sont confrontés aux résultats de la littérature (Ala-Korpela et al. 1995 & De Graaf et al . 2001). L'abréviation mmol/kg_{ww} signifie millimoles par kilogramme de poids humide.

		P-Protocole		M-Protocole		Littérature
		av ^a	ss ^b	av ^a	ss ^b	
Concentration mmol/kg _{ww}	NAA	11,8 ± 1,1	13,6 ± 1,9	8,3 ± 1,1	9,5 ± 1,3	6,0 – 14,7
	Cr	5,5 ± 0,6	6,2 ± 1,0	4,1 ± 0,3	5,1 ± 0,3	5,5 – 8,9
	Cho	1,3 ± 0,3	1,8 ± 0,3	1,1 ± 0,2	1,4 ± 0,3	1,3 – 2,5
T2 (msec)	NAA	256 ± 31		336 ± 70		319 ± 46
	Cr	170 ± 21		256 ± 40		202 ± 14
	Cho	277 ± 95		437 ± 137		323 ± 52

a : avec correction de l'effet de la relaxation transversale

b : sans correction de l'effet de la relaxation transversale

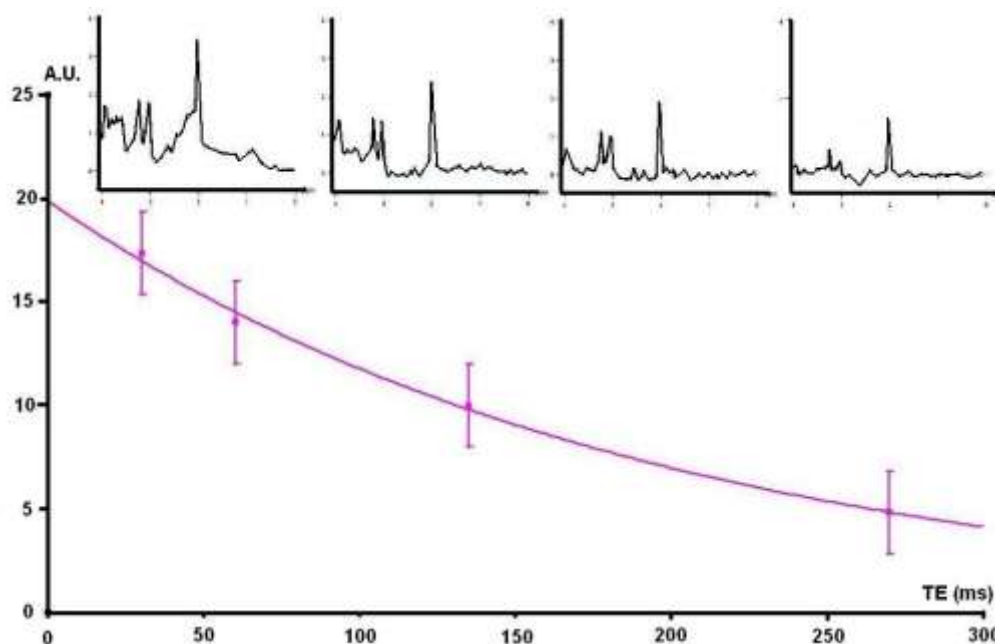


Figure n° II-5: Mesure du T2 par ajustement exponentiel des aires des pics obtenues à partir de spectres à TE = 30, 60, 135 et 270 ms.

Les valeurs de concentration obtenues à partir des spectres à TE = 30 ms et sans correction de l'effet T2 sont également reportées dans le tableau n° II-2 pour comparaison. Les différences observées ne semblent pas significatives compte tenu de la précision sur les mesures.

II-2-4-3 Effet du filtre

L'une des différences importantes entre le protocole que nous proposons (P-protocole) et celui du constructeur est la nature et la constante du filtre. Alors que le protocole du constructeur intègre un filtre de Hanning avec une constante de 700 ms, le nôtre utilise un filtre exponentiel avec une constante de 200 ms. Cette seule différence a des conséquences importantes sur la largeur et la forme des raies ainsi que sur le rapport signal-sur-bruit.

Dans le but de caractériser l'influence du filtre sur les résultats obtenus, les spectres à TE = 30 ms des 30 volontaires ont été retraités avec un protocole « intermédiaire » : P-protocole avec un filtre de Hanning et une constante de 700 ms. Les résultats obtenus pour les concentrations de NAA, créatine et choline sont rassemblés dans le tableau n° II-3 et comparés à ceux du P-protocole.

Tableau n° II-3 : Résultats des concentrations mesurées (sans correction de l'effet de la relaxation transversale) sur 30 volontaires avec le protocole de post-traitement P-protocole et un filtre de Hanning identique à celui du M-protocole. Ces résultats obtenus avec un filtre exponentiel sont également reportés pour comparaison. L'abréviation mmol/kg_{ww} signifie millimoles par kilogramme de poids humide.

		Filtre Hanning	Filtre exponentiel
Concentration mmol/kg _{ww}	NAA	16,5 ± 2,1	13,6 ± 1,9
	créatine	7,1 ± 0,9	6,2 ± 1,0
	choline	2,4 ± 0,4	1,8 ± 0,3

Les concentrations obtenues sont environ 20 % plus élevées et les écarts-types sont du même ordre que ceux observés avec le P-protocole. Toutefois, l'erreur d'adaptation de l'ajustement est environ 70 % plus grande quand le filtre de Hanning est utilisé.

Le changement de filtre entre les deux protocoles joue donc un rôle important dans l'amélioration de la quantification mais ce n'est pas le facteur le plus déterminant.

II-2-5 Approches quantitatives, calcul des temps de relaxations T1, T2 et des concentrations (STEAM)

Nous avons évalué la séquence STEAM avec les quatre TE (30, 60, 135 et 270 ms) selon le même protocole d'acquisition qu'avec la séquence PRESS, auxquels nous avons ajouté un nouveau temps d'écho TE = 20 ms car STEAM permet d'accéder à des temps d'échos plus faibles. Le TR a été choisi de manière à maintenir le temps de récupération de l'aimantation longitudinale constant :

$$T_{I_{STEAM}} = TR - TE/2 - TM.$$

Le calcul des temps de relaxations T2 et T1 avec la séquence STEAM est faite avec des paramètres variables de TE, TM et TR.

Christiansen *et al.* (1993) ont utilisé des valeurs de TE = 20, 46, 92 et 272 ms avec un TR de 1.6 secondes et un TM de 30 ms, d'autres mesures à TE = 46 ms avec un TR = 6 s ont été réalisées pour le calcul du T1.

Gruber *et al.* (2003) ont utilisé la séquence STEAM avec TE/TM/TR = 20/30/6000 ms. Pour Hajeck *et al.* (2000) STEAM fut appliquée avec TE/TM/TR = 10/15/5000 ms).

Nous avons effectué des mesures sur le fantôme de 50 mL contenant NAA, créatine, choline, glutamate et myo-Insitol avec les paramètres résumés dans le tableau suivant.

Tableau n° II-4: Paramètres utilisés pour la mesure de la concentration et des T1 et T2 du fantôme de 50 mL avec la séquence STEAM.

TE	30 ms	60 ms	135 ms	270 ms
TM/TR	20/4020 ms	20/4050 ms	20/4130 ms	20/426 ms
TM/TR	300/4300 ms	300/4330 ms	300/4410 ms	300/4540 ms
TM/TR	800/4800 ms	800 /4830 ms	800/4910 ms	800/5040 ms
TM/TR	1500/5500 ms	1500/5530 ms	1500/5610 ms	1500/5740 ms

Le calcul du T1 avec la séquence STEAM a été effectué avec un TM variable plutôt qu'avec un TR variable, comme c'est le cas dans la plupart des études de la littérature (Isobe *et al.* 2002), car elle permet d'accéder à toute la dynamique de l'évolution de l'aimantation longitudinale. Dans le cas de séquences, PRESS et/ou STEAM, à TR variable, la dynamique de l'évolution de l'aimantation longitudinale est plus faible car les TR utilisés sont supérieurs ou égaux aux T1 à mesurer. Le calcul du signal avec la séquence STEAM est donné par les équations suivantes:

$$\sigma^{\text{métabolite}} = S^{\text{métabolite}} \cdot f_{T1}^{\text{métabolite}} \cdot f_{T2}^{\text{métabolite}}$$

avec :

$$f_{T2} = \exp(-TE/T2)$$

$$f_{T1} = [1 - \exp(-(TR-TE/2-TM)/T1)] \cdot \exp(-TM/T1) = \exp(-TM/T1) - \exp[-(TR-TE/2)/T1]$$

Nous avons calculé les T1 et T2 pour chaque TM et TE par ajustement exponentiel. Nous obtenons alors des valeurs de concentration proches de la concentration réelle (voir Tableau n° II-6)

Tableau n° II-5 : Concentrations réelles et mesurées obtenues sur le fantôme de 50 mL contenant NAA, créatine, choline, glutamate et myo-Inositol. Les résultats sont exprimés en mM (les écarts relatifs par rapport à la vraie concentration sont indiqués en pourcentage %).

	Vraie concentration dans le fantôme (mM)	Concentration quantifiée par P-Protocole pour STEAM (mM)
NAA	12,5	14,34 (14,73 %)
créatine	10,2	10,14 (-0,56 %)
choline	3,7	3,71 (0,20 %)

Chez les volontaires, nous avons utilisé un protocole cliniquement applicable, c'est-à-dire des TR relativement courts mais suffisants pour pouvoir atteindre un niveau de rapport signal sur bruit permettant une quantification correcte. Dans un premier temps, nous avons appliqué un protocole d'acquisition avec un TE variable (20, 30, 60, 135 et 270 ms) et un TM constant (50 ms). Le TR a été calculé pour avoir une repousse de l'aimantation longitudinale constante pour toutes les mesures (1550, 1560, 1590, 1670 et 1800 ms). Nous avons appliqué également un protocole d'acquisition avec un TE constant de 20 ms et un TM variable (50, 200, 400, 800 ms). Le TR a été également choisi pour maintenir une repousse de l'aimantation constante (1550, 1700, 1900, 2300 ms). Pour les deux protocoles, le nombre d'accumulations était égal à 128. 1024 points d'échantillonnage et 1200 Hz de largeur de bande ont été utilisés.

Nous avons vérifié expérimentalement que si le spectre à TE = 30 ms et le spectre à TM = 800 ms étaient négligés pour le calcul des temps de relaxation, le calcul de T2 et de T1 n'était pas affecté. Pour cette raison et par souci de la durée d'examen, nous avons décidé d'ôter ces deux spectres dans le protocole d'acquisition. Nous avons calculé le T1, le T2 et la concentration du NAA, de la créatine et de la choline sur 20 volontaires sains. (Tableau n° II-6)

Tableau n° II-6 : Valeurs des concentrations, T1 et T2 obtenues avec P-Protocole pour STEAM. Ces résultats sont confrontés aux résultats de la littérature (Ala-Korpela 1995 & Barker 1993). L'abréviation mmol/kg_{ww} signifie milli moles par kilogramme de poids humide.

		P-Protocole	Littérature
Concentration mmol/kg _{ww}	NAA	12,58 ± 2,57	16,60 ± 2,31
	Cr	6,75 ± 1,55	10,60 ± 1,30
	Cho	1,69 ± 0,31	1,90 ± 0,50
T1 (msec)	NAA	452 ± 178	1400
	Cr	443 ± 165	1400
	Cho	426 ± 192	1200
	Eau	529 ± 121	
T2 (msec)	NAA	187 ± 60	430 ± 169,85
	Cr	126 ± 40	210 ± 60,06
	Cho	210 ± 68	360 ± 140,04
	Eau	79 ± 4	

II-2-6 Evaluation comparative avec la méthode QUEST

La méthode QUEST (Ratney 2003) est une méthode de quantification, dans le domaine temporel, fondée sur une base de connaissances de métabolites et sur une approche semi-paramétrique pour les signaux acquis à TE courts. QUEST s'applique à des signaux acquis à des TE courts ainsi l'effet de la J-modulation est négligeable lorsque l'on utilise une base de signaux générés par des programmes de simulation du type NMR-SCOPE ou GAMMA (Provencher 1993) fondés sur des principes de mécanique quantique.

Nous avons choisi d'utiliser les métabolites mesurés *in vitro* (NAA, créatine, choline, glutamate, glutamine, glutathione, myo-inositol, GABA, aspartate, éthanolamine, alanine et lactate) pour quantifier avec la méthode QUEST.

Nous avons créé des bases de métabolites pour les séquences PRESS et STEAM. Les paramètres d'acquisition des signaux des métabolites étaient les mêmes que ceux utilisés dans les séquences *in vivo*. Les caractéristiques (concentration, substances de référence) des fantômes utilisés pour l'acquisition des signaux de référence (résolution) sont décrites dans le chapitre II-1-1.

Nous avons préalablement traité les signaux de 12 métabolites de référence pour constituer la base à utiliser par QUEST. Les spectres issus du système sont extraits de la console de visualisation comme des fichiers « .rda » (format des spectres « bruts » de SIEMENS). Dans le cas des spectres issus des systèmes Siemens, la référence est le pic de l'eau, pour les analyser avec la plateforme JMRUI, il faut tout d'abord les déplacer en fréquence de 4,7 ppm. Ensuite, nous avons éliminé le pic de l'eau et les pics du métabolite qui nous avaient servi de référence, soit le diméthyl-2,5-hexanediol ou l'acétate. Nous avons apodisé, avec un filtre lorentzien de 5 Hz (ou de bande passante de 200ms), puis phasé le spectre, jusqu'à ce qu'il soit visiblement bien corrigé. Nous avons enregistré le signal comme un fichier « .mrui » (format de la plateforme JMRUI). Une fois tous les métabolites traités, nous avons construit une base de données avec ces métabolites, en définissant la concentration des métabolites dans le fantôme.

Pour la quantification *in vivo*, nous avons traité les spectres de volontaires sains, en décalant les fonctions appliquées aux spectres *in vivo* de 4,7 ppm, en éliminant du pic de l'eau résiduel, en appliquant un filtre lorentzien de 5 Hz et le décalage en phase. Une fois ce pré-traitement effectué, la quantification par QUEST était faite, en invoquant la base des métabolites créée, puis grâce à la version de JMRUI v2.2 nous avons pu déplacer manuellement en fréquence chaque métabolite de référence pour qu'il soit le plus précisément placé par rapport au spectre *in vivo*. Les phases d'ordre 0 et d'ordre 1 ont été fixées à 0. La plage de largeur de raie a été bornée entre 0 et 20 Hz. La plage de déplacement fréquentiel des raies a été fixée à ± 10 Hz.

Les résultats obtenus pour la séquence PRESS et la séquence STEAM pour 28 et 37 volontaires respectivement sont donnés dans le tableau n° II-7.

Tableau n° II-7 : Résultats de l'estimation de la concentration du NAA, Cr et Cho in vivo sur volontaires sains avec QUEST et une base de métabolites de référence in vitro. Les valeurs données correspondent à la moyenne $\pm$ l'écart-type et sont comparées avec la littérature (De Graaf et al. 2001)

		PRESS	STEAM	Littérature
Concentration mmol/kg _{ww}	NAA	9,0 $\pm$ 0,9	6,2 $\pm$ 1,6	6,0 – 14,7
	Cr	13,2 $\pm$ 1,3	12,1 $\pm$ 3,1	5,5 – 8,9
	Cho	1,1 $\pm$ 0,3	2,5 $\pm$ 0,9	1,3 - 2,5
Nb de volontaires		28	37	

II-2-7 Evaluation comparative avec la méthode LC-Model

Les spectres obtenus à TE = 30 ms sur les 30 volontaires ont été traités à l'aide de la méthode LC-Model (Provencher 1993). Cette méthode utilise une combinaison linéaire des spectres de solutions modèles. Nous avons utilisé la base de spectres modèles fournie avec le logiciel et avons incorporé les mêmes métabolites que pour le P-Protocole. Le signal de l'eau est utilisé comme référence pour le calcul des concentrations. La version du logiciel que nous avons utilisée ne permettait pas la prise en compte d'une correction de l'effet de la relaxation. Les concentrations obtenues pour le NAA, la créatine et la choline sont regroupés dans le tableau n° II-8 et comparés à ceux obtenus par le P-protocole et à des valeurs de la littérature.

Tableau n°II-8 : Résultats de l'estimation de la concentration du NAA, Cr et Cho in vivo sur volontaires sains avec LC-Model. Les valeurs données correspondent à la moyenne $\pm$ l'écart-type. Les valeurs obtenues avec le P-Protocole et trouvées dans la littérature (De Graaf et al. 2001) sont également reportées pour comparaison.

		LC-Model	P-Protocole	Littérature
Concentration mmol/kg _{ww}	NAA	8,3 $\pm$ 0,6	13,6 $\pm$ 1,9	6,0 – 14,7
	Cr	4,3 $\pm$ 0,2	6,2 $\pm$ 1,0	5,5 – 8,9
	Cho	1,3 $\pm$ 0,2	1,8 $\pm$ 0,3	1,3 - 2,5

II-3 Discussion

II-3-1 Analyse des résultats obtenus avec « P-protocole »

Le principe de base de notre protocole est la modélisation de chaque multiplets des métabolites par la prise en compte de toutes les modulations présentes sur un spectre RMN *in vivo*. Chaque couplage de spins a été modélisé en considérant les effets de la J-modulation, de l'inhomogénéité du champ et les effets de second ordre. Le post-traitement a été réalisé entièrement avec le logiciel Syngo™ fourni avec la console de visualisation d'images et de spectres. Nous avons comparé notre protocole avec celui proposé par le constructeur (Siemens) : « M-protocole » et avec d'autres outils de traitement.

L'une des particularités de notre « P-protocole » est l'application exclusive d'une correction de ligne de base au premier ordre sur les régions allant de -2 ppm à 8 ppm. Notre hypothèse est que la ligne de base est principalement constituée des métabolites présents dans le cerveau et du signal résiduel de l'eau. La ligne de base est une combinaison linéaire des massifs complexes des métabolites modélisés. Cette amélioration apportée dans la correction de la ligne de base simplifie la quantification des principaux métabolites et la rend indépendante de l'opérateur.

L'erreur d'adaptation entre les courbes modélisées et expérimentales de notre protocole est de 5 à 10 fois inférieure à l'erreur d'adaptation du protocole proposé par le constructeur.

L'effet de relaxation a été corrigé grâce à la quantification des métabolites pour chacune des acquisitions à différents TE. Le calcul de T2 a été fait par un ajustement exponentiel avec les mesures de l'aire sous la courbe de chacun des métabolites aux quatre TE (30 ms, 60 ms, 135 ms et 270 ms).

L'analyse de 30 volontaires sains a montré que les concentrations obtenues avec correction des effets de relaxation pour les trois métabolites principaux (NAA : $11,8 \pm 1,1$ mM/kgww, Cr : $5,5 \pm 0,6$ mM/kgww, Cho : $1,3 \pm 0,3$ mM/kgww) étaient en accord avec la littérature pour des conditions d'acquisition de spectre similaire et pour la même référence endogène (signal de l'eau). Toutefois, la suppression de la correction T2 simplifie le calcul des concentrations et permet significativement de réduire le temps d'acquisition des données.

L'ajustement automatique de notre protocole élimine les tâches opérateur-dépendantes, facilite et accélère le calcul de concentration des métabolites principaux en application clinique.

La méthodologie, développée dans ce protocole, peut être généralisée et implantée sur n'importe quelle machine permettant la déclaration de métabolites dans une base de données.

L'étude de la littérature retrouve de grandes variations dans l'estimation des concentrations par SRM- ^1H (Gruber 2003). Nous expliquons, en partie, la différence trouvée entre les résultats de la littérature et les nôtres, par l'écart d'intensité du champ magnétique appliqué (3 Tesla versus 1,5 Tesla pour notre étude). Dans les spectres acquis à 3 Tesla, le NAA et le NAAG sont mieux différenciés par rapport aux spectres à 1,5 T. Cependant, nos résultats sont plus proches de ceux rapportés dans la littérature à 1,5 T avec d'autres modalités de post-traitement. La différence entre les valeurs obtenues par Gruber *et al.* (2003) et les nôtres, peut également être attribuée aux différences de concentration de l'eau et au mode de correction de la ligne de base.

Enfin, les valeurs de T1 que nous avons obtenues avec la séquence STEAM (en faisant varier le TM) sont nettement différentes de ce que l'on trouve dans la littérature (Ala-Korpela 1995, Isobe 2002), car les T1 sont généralement déterminés à partir d'acquisitions à TR variable (STEAM ou PRESS) pour lesquelles il n'est pas possible d'exploiter toute la dynamique de la courbe de relaxation.

Les deux méthodes de localisation spatiale les plus utilisées sont la séquence PRESS (Kimmich 1987) et la séquence STEAM (Granot 1986, Frahm 1987). Les deux séquences (PRESS & STEAM) reposent sur la réalisation de trois impulsions sélectives, chacune dans une direction de l'espace. Le voxel étudié est placé à l'intersection de ces trois plans. PRESS (Tong 2004, Kim 2006, Ricci 2007, Meyerand 1999, Kaminogo 2001) et STEAM (Poptani 1999, Jeun 2005, Bruhn 1989) sont généralement considérées comme comparables en routine clinique. Le choix de l'une ou de l'autre dépend principalement de la disponibilité sur la machine utilisée. Nous avons privilégié la séquence PRESS pour favoriser le meilleur rapport signal/bruit (2 fois supérieur) notamment pour les acquisitions à TE long et diminuer les difficultés de quantification liées aux phénomènes de modulation pendant les TM avec les séquences STEAM.

Le choix du temps de répétition (TR) est un compromis entre la contribution du temps de relaxation T1 et le temps d'acquisition qui doit être compatible avec une utilisation en pratique clinique. Nous avons choisi un TR de 2000 ms car des études (Howe 2003) à TR variable ne montrent qu'une variation des rapports de métabolites compris entre 1 et 3 % suivant l'utilisation d'un TR à 1500 ou 3000 ms.

II-3-2 Comparaison avec d'autres méthodes de post-traitement

VARPRO ajuste à un spectre SRM-¹H *in vivo* une somme de courbes lorentziennes et gaussiennes. Il utilise une connaissance « *a priori* » des résonances pour ajuster un modèle au spectre *in vivo*. Mais il est incapable d'incorporer « *a priori* » l'intense ligne de base des spectres à court TE. Il est par ailleurs très sensible aux imperfections expérimentales (mouvement, inhomogénéités de B₀, inexactitude de phase des impulsions RF, pH ...etc).

LC-Model, dont l'ajustement est une combinaison linéaire des spectres de solutions modèles, apporte théoriquement une correction automatique de toutes les imperfections expérimentales quand les solutions modèles, qui constituent la base de données des spectres des métabolites, sont mesurées dans les mêmes conditions que les mesures *in vivo* (de Graaf 2001). Cependant, cette approche suppose que les solutions modèles soient une vraie représentation des molécules *in vivo* et que toutes les solutions

modèles soient incluses dans l'ajustement. L'omission d'une résonance principale amènerait à une surestimation des autres résonances. En outre, l'impact de la variation du pH dans le déplacement chimique ne peut pas être correctement pris en compte. En effet, une variation de pH induit une modification sélective des différents déplacements chimiques d'un métabolite alors que LC-Model ne permet qu'un décalage global de tous les massifs d'un même composé.

L'utilisation de LC-Model est relativement simple à mettre en œuvre même si elle n'est pas possible sur la station de travail de l'imageur. Toutefois, les résultats obtenus montrent des écarts significatifs avec ceux du P-protocole (Tableau n° II-9). Ceci peut probablement être expliqué par le fait que la base de spectres modèles, que nous avons utilisée, était fournie avec le logiciel. Ces spectres n'ont donc pas été acquis sur notre imageur.

La plateforme JMRUI grâce à ces deux principaux algorithmes de traitement de spectres (AMARES et QUEST) dans le domaine temporel permet de quantifier les niveaux de signal et la concentration des métabolites. Pour AMARES (Vanhamme 1997) il existe la possibilité de quantifier un signal sans avoir besoin d'une base de données de spectres, et d'incorporer à la place une connaissance *a priori* des résonances pour facilement faire converger l'algorithme. QUEST (Ratney 2003) est basé sur une estimation quantique semi-paramétrique, invoquant une connaissance optimale *a priori*. Il ajuste une fonction dans le domaine temporel, faite à partir d'une base de données où la totalité des signaux des métabolites ont été simulés ou mesurés *in vitro*.

Kanowski M *et al.* (2004) ont fait une comparaison entre LC-Model et AMARES. Ils concluent que les rapports des métabolites par rapport à la créatine calculée, avec LC-Model, sont plus précis que l'estimation de la concentration absolue. Ces auteurs expliquent que la déclaration de la base de « prior knowledge » d'AMARES est une opération très lourde. Cependant, l'acquisition des métabolites pour la base de LC-Model n'est pas une opération facile et requiert une grande rigueur opératoire pour parvenir à appliquer systématiquement les mêmes paramètres d'acquisition que ceux appliqués *in vivo*.

Nous avons pu constater que l'utilisation de QUEST pour l'estimation de la concentration des principaux métabolites, une fois la base de métabolites créée, est très pratique et rapide. De surcroît, il suffit d'acquérir un seul spectre *in vivo*, correspondant aux paramètres d'acquisition des métabolites de la base. Cependant, il existe dans ce type d'approche un aspect opérateur-dépendant car des opérations de post-traitement telles que le « phasage » du signal, la sélection de zones d'élimination du signal résiduel de l'eau, sont sans conteste opérateur-dépendantes. Les résultats obtenus pourraient donc être significativement différents d'un opérateur à un autre. Toutefois, nous n'avons pas quantifié ces différences.

Lorsque nous avons quantifié la concentration des métabolites avec QUEST (Tableau n° II-9) nous avons trouvé une valeur du NAA plus faible qu'avec P-Protocole et très proche de la valeur donnée par le M-Protocole, pour la séquence PRESS. Dans la base de QUEST nous avons défini uniquement le NAA (de façon identique au M-Protocole) et non le NAAG comme dans notre protocole (P-Protocole), ce qui pourrait expliquer cette différence. Avec la séquence STEAM, la valeur du NAA est faible en comparaison des résultats trouvés avec P-Protocole et ceux de la littérature (Kreis 1997, Govindaraju 2000, Gruber 2003).

La valeur de la créatine calculée par QUEST avec PRESS est très supérieure par rapport aux résultats obtenus avec P-Protocole ou M-Protocole (Tableau n° II-9), ainsi que pour STEAM par rapport à P-Protocole. En ce qui concerne la choline, les résultats obtenus avec QUEST sont du même ordre de grandeur que ceux trouvés avec les protocoles SyngoTM pour PRESS et plus importants pour ce qui concerne la séquence STEAM et la littérature. Lorsque nous avons analysé la ligne de base, elle était la plupart du temps négative au niveau de la créatine. Ce qui explique la surestimation de ce métabolite. Pour faire face à cette difficulté, nous avons dû adapter le nombre de points à tronquer au début du FID pour avoir une ligne de base la moins négative possible.

Notre protocole ne fait intervenir qu'une seule opération manuelle, le décalage de fréquence, qui n'est pas opérateur-dépendant puisque le décalage en fréquence optimale est celui qui minimise l'erreur d'adaptation (critère robuste d'évaluation) entre la courbe modélisée et la courbe expérimentale. La correction de la ligne de base est faite au premier ordre et repose sur des régions exemptes de raies. Cette correction est faite sans aucune intervention manuelle. Notre expérience a montré qu'en cas d'ajustement des courbes dans le domaine fréquentiel, le choix des régions spectrales pour la correction de la ligne de base influence considérablement les résultats finaux. La détermination des régions spectrales pour corriger la ligne de base augmente le temps du post-traitement et constitue une tâche opérateur-dépendante. Notre stratégie, basée sur la modélisation des massifs et non des spectres complets, permet, également, de considérer les variations de déplacements chimiques induites par le changement de pH dans la molécule. Il est donc essentiel de considérer ces modifications entre les déplacements chimiques d'un même métabolite car beaucoup de pathologies induisent des modifications de pH intracellulaire.

Enfin, le principal avantage de notre méthodologie est d'être facilement implantable sur la plupart des consoles d'IRM clinique moderne. L'imageur doit uniquement pouvoir héberger un logiciel de post-traitement de spectres RMN, dans lequel une base de données des métabolites peut être déclarée, ce qui est le cas des logiciels de post-traitement proposés aujourd'hui en routine par tous les constructeurs. Les données obtenues peuvent être traitées en temps réel avec la même console

d'acquisition. La méthodologie n'est pas opérateur-dépendante, et donne des résultats fiables pour la quantification des trois principaux métabolites (NAA, créatine et choline). Cette approche réduit le coût additionnel nécessaire pour optimiser l'environnement de traitement de spectre, ainsi que l'effort requis pour la formation des opérateurs dans l'utilisation d'outils d'analyse scientifique puissants, mais très souvent peu conviviaux.

Nous avons appliqué cette méthode à la spectroscopie mono-voxel (SVS) mais elle est aisément transposable à l'imagerie spectroscopique (CSI). De plus, les métabolites comme le lactate, l'alanine, l'acétate et les lipides, dont la concentration peut devenir significative dans certaines pathologies cérébrales, sont déjà considérés dans notre modèle. Celui-ci est donc directement applicable à n'importe quel type de pathologie cérébrale.

Tableau n° II-9 : Récapitulatif des calculs de la concentration des trois principaux métabolites en millimoles par kilogramme de poids humide $\pm$ écart-type. Notre protocole (P-Protocole) est comparé à différents post-traitements sans correction de la relaxation T2 (M-Protocole, QUEST et LC-Model) et aux données de la littérature (De Graff et al. 2001).

	P-Protocole	M-Protocole	QUEST	LC-Model	Littérature
NAA	13,6 $\pm$ 1,9	9,5 $\pm$ 1,3	9,0 $\pm$ 0,9	8,3 $\pm$ 0,6	6,0 $\pm$ 14,7
Cr	6,2 $\pm$ 1,0	5,1 $\pm$ 0,3	13,2 $\pm$ 1,3	4,3 $\pm$ 0,2	5,5 $\pm$ 8,9
Cho	1,8 $\pm$ 0,3	1,4 $\pm$ 0,3	1,1 $\pm$ 0,3	1,3 $\pm$ 0,2	1,3 $\pm$ 2,5

III Application aux tumeurs gliales

Parmi les nouvelles techniques d'imagerie fonctionnelle offerte par l'IRM, la SRM du proton est celle qui a eu le plus de difficultés à s'imposer en pratique clinique dans le milieu neuroradiologique. La spectroscopie protonique (SRM- ^1H) monovoxel (SVS) est pourtant une approche prometteuse et complémentaire qui se heurte malheureusement à une exploitation et une interprétation à laquelle la neuroradiologie n'est pas habituée. La sémiologie radiologique a toujours été basée sur l'analyse de l'image, elle doit aujourd'hui s'approprier des analyses spectrales liées à un post-traitement nécessitant apprentissage et expertise. Notre objectif a été de tirer profit de l'expérience et de l'expertise du monde de la chimie fondamentale pour établir un protocole d'acquisition et de post-traitement fiable, reproductible et facilement utilisable en routine clinique basé sur une méthodologie rigoureuse tout en tenant compte des recommandations du « réseau français de spectrométrie cérébrale clinique » (Vion-Dury 1999).

Il nous a semblé pertinent d'appliquer ces développements méthodologiques à la pathologie tumorale cérébrale. En effet, si la neuro-oncologie vit actuellement une profonde évolution de ses connaissances en matière de biologie moléculaire et d'oncogénèse, les progrès en termes de résultats sont plus modestes. La SRM- ^1H doit faire partie intégrante du bilan diagnostique de tout processus expansif intra cérébrale.

III-1 Matériels et Méthodes

Notre étude a comparé, en SRM- ^1H *in vivo* SVS, une base de données spectroscopiques obtenues chez des volontaires sains à des patients atteints de tumeurs gliales. Notre objectif a été de comparer le protocole de post-traitement que nous avons développé (« P-Protocole ») avec le protocole commercial installé par le constructeur (« M-Protocole ») pour la caractérisation des tumeurs gliales. Secondairement nous avons déterminé les meilleurs paramètres pour cette classification. La mesure des intégrales des principaux métabolites aux différents TE et TR pour les 2 protocoles a servi à calculer leurs temps de relaxations T2 et T1. Les concentrations ont ensuite été calculées en utilisant la mesure de l'eau comme référence interne. Les rapports à différents TE ont également été calculés. L'ensemble des résultats a été traité statistiquement afin de déterminer les éléments les plus discriminants dans la séparation des groupes.

III-1-1 Volontaires / Patients pour PRESS

III-1-1-1 Volontaires / Témoins

Nous avons acquis les spectres de 30 volontaires (17 femmes et 13 hommes) ne présentant aucune pathologie du système nerveux central, âgés de 19 à 52 ans (âge moyen 29,5 ans). Le voxel, de 20 x 20 x 20 mm (8 cm³), a été placé au sein de la substance blanche en région frontale gauche.

III-1-1-2 Patients

24 patients âgés de 27 à 70 ans (âge moyen 45,4 ans) ont été examinés : 16 hommes et 8 femmes dont 7 pour lesquels l'examen a été répété 2 fois à quelques mois d'intervalle. Tous les patients ont bénéficié d'une confirmation anatomo-pathologique sauf un (patient n° 16).

Le voxel a été positionné au sein de l'anomalie de signal, sur la portion charnue la plus hétérogène ou sur une éventuelle zone de prise de contraste connue. Un voxel de 15x15x15 mm a été utilisé dans certains cas notamment lorsque la zone d'intérêt se trouvait à proximité du vertex ou de zones à forte concentration en eau. Pour les 7 patients ayant eu 2 examens, le voxel a été positionné exactement au même endroit. Les patients ont été séparés en 3 groupes selon leur appartenance histologique (classification OMS):

Grade II: 7 gliomes bas grade en « vert »

Grade III: 19 gliomes grade intermédiaire en « noir »

Grade IV: 5 glioblastomes en « rouge »

Ce code de couleur est utilisé dans le tableau n° III-1 où sont rappelées les caractéristiques cliniques et thérapeutiques de tous les patients.

Tableau n° III-1 : Principales caractéristiques des patients inclus dans le protocole utilisant la séquence PRESS

N°	Age, sexe	ANAPATH	LOCALISATION	DATE SPECTRO	PDC ¹ Au moment de la spectro	TTT ² AU MOMENT DE LA SPECTRO
P01	50 H	03.2000 grade B (<-A/II)	Temporale gauche	09.2003	OUI -	RT ³ initialement RT + CT ⁴ SUITE REPRISE EN 04.03
P02	50 H	03.2000 grade B (<-A/II)	Temporale gauche	01.2004	OUI -	
P03	34 H	01.2003 grade B/III (A<-II)	Hémisphérique dte	01.2004	OUI -	RT CT EN 01.03 STABILITE LESION
P04	54 H	01.2004 grade IV	Pariéto-occipitale dte	01.2004	OUI	SANS TTT
P05	40 H	07.2002 grade B/III (<-A/II)	Temporale gauche	06.2003	OUI	CHIR ⁵ RT
P06	40 H	07.2002 grade B/III(<-A/II)	Temporale gauche	05.2004	OUI	CHIR RT CT
P07	41 H	02.2003 grade IV	Frontale gauche	06.2003	OUI	CHIR RT CT
P08	55 F	04.2003 grade B/III	Frontale gauche	09.2003	OUI	PDC EN 04.2003 : RT CT
P09	32 H	01.2002 grade A/II	Temporo-insulaire dt	01.2004	OUI	CHIR RT Evolution sous RT
P10	27 H	10.2001 grade B(<-A/II)	Pariéto-occ dte, pariét g	11.2003	OUI	RT TRANSFOMATION EN 11.2003
P11	48 H	08.1996 grade A/II	Frontale gauche	06.2003	OUI	CHIR EN 1996 RECIDIVE EN 06.2003 : CT
P12	48 H	08.1996 grade A/II	Frontale gauche	09.2003	NON	
P13	46 H	06.2000 grade B/III	Frontale bilatérale	03.2004	OUI	RT CT RECIDIVE EN 03.2004
P14	42 H	01.1993 grade B/III (<-A/II)	Rolandique dte	05.2003	OUI	CHIR RT
P15	41 H	01.2003 grade A	Temporale dte	02.2004	NON	RT
P16	40 F	09.1991 grade A	Frontale gauche	10.2003	NON	SANS TTT, pas d'anapath
P17	39 F	04.2003 grade A/II-III	Fronto-calleux dt	09.2003	NON	APRES CHIR RT CT
P18	34 F	05.1998 grade B (<-A/II)	Rolandique dte	09.2003	OUI	APPARITION PDC 04.03 / DISPARITION DE LA PDC APRES CT
P19	34 F	05.1998 grade B (<-A/II)	Rolandique dte	12.2003	NON	
P20	30 H	02.2002 grade B/III	Temporale dt	02.2004	OUI	CHIR RT REPRISE EN 02.2004
P21	70 F	09.2003 grade IV	Corps calleux	09.2003	OUI	SANS TTT
P22	66 H	12.2002 grade IV	Frontale dt	11.2003	OUI	CHIR RT RECIDIVE 11.2003
P23	45 H	07.2003 Grade A/II	Frontale gauche	07.2003	NON	SANS TTT
P24	61 F	10.2000 grade B/III	Temporale dt	07.2003	OUI	CHIR RECIDIVE EN 07.2003 : CHIR RT
P25	61 F	10.2000 grade B/III	Temporale dt	10.2003	OUI	
P26	65 F	08.2003 grade IV	Frontale gauche	07.2003	OUI	SANS TTT
P27	36 H	01.2004 grade A/II-III	Fronto-insulaire gauche	12.2003	NON	SANS TTT
P28	44 H	10.2003 grade B (<-A/II)	Frontale g	10.2003	OUI	RT AVANT SANS ANAPATH (II ?)
P29	44 H	10.2003 grade B (<-A/II)	Frontale g	03.2004	OUI	RECIDIVE EN 10.2003 AVEC PDC MAIS GRADE II SUR BIOPSIE : CT
P30	41 F	09.1998 grade B (<-A/II)	Frontale-corps calleux	01.2004	OUI	RT CT EN 2002
P31	41 F	09.1998 grade B (<-A/II)	Frontale-corps calleux	04.2004	OUI	

¹ PDC : Prise de contraste

² TTT : Traitement

³ RT : Radiothérapie

⁴ CT : Chimio thérapie

⁵ CHIR : Chirurgie d'exérèse

III-1-2 Volontaires / Patients pour STEAM

Pour la séquence STEAM, les spectres de trente volontaires / témoins (16 femmes et 14 hommes, de 19 à 52 ans, moyenne de 28 ans) ont servi pour le calcul des temps de relaxations (T1 et T2) et de la concentration des principaux métabolites.

Les spectres de 9 patients (5 femmes et 4 hommes, de 19 à 58 ans, moyenne de 35 ans) ont servi aux calculs des temps de relaxations T1 et T2 avec STEAM.

Les patients ont été classifiés comme dans l'acquisition avec PRESS en trois groupes. Les classifications sont détaillées dans le tableau suivant.

Tableau n°III-2 : Principales caractéristiques des 9 patients inclus dans le protocole utilisant la séquence STEAM.

N°	Age, sexe	ANAPAT	LOCALISATION	DATE SPECTRO	PDC	TTT au moment de la spectro
P01	27 H	Grade II	temporale	10/12/2005	NON	CT
P02	19 H	Grade II	frontale	22/09/2005	NON	CT
P03	53 F	Grade II	temporale	25/10/2005	NON	RT
P04	32 F	Grade IV	bifrontal	13/10/2005	OUI	CT
P05	43 H	Grade III	parietal	6/10/2006	OUI	CT
P06	27 H	Grade IV	bifrontal	30/01/2006	OUI	CT
P07	58 F	Grade III	temporale	06/10/2005	OUI	CT
P08	26 F	Grade IV	intraventriculaire	20/10/2005	NON	RT+CT
P09	34 F	grade III	frontale	17/11/2005	OUI	CT

PDC : Prise de contraste

TTT : Traitement

RT : Radiothérapie

CT : Chimio thérapie

CHIR : Chirurgie d'exérèse

III-1-3 Acquisition des données

Toutes les acquisitions de spectroscopie ont été réalisées sur l'IRM clinique (*Sonata, Siemens AG, Erlangen*) à 1,5 tesla avec une antenne tête fournie par le constructeur. Les images de localisation ont été acquises avec des séquences TrueFisp 2D.

Des mesures SRM- ^1H sans et avec suppression du signal de l'eau ont été acquises avec la séquence PRESS, à quatre TE (30 ms, 60 ms, 135 ms et 270 ms). La suppression du signal de l'eau a été faite avec la séquence CHESS (Haase 1985). Le temps de répétition (TR) était de 2000 ms. Le nombre d'accumulations était de 96 pour les spectres des volontaires avec suppression du signal de l'eau, et 2 pour le spectre de l'eau. La fréquence d'échantillonnage était de 1100 Hz. 1024 points complexes étaient acquis. Le voxel, de 20 x 20 x 20 mm, était localisé au sein de la substance blanche en frontale gauche pour les volontaires. L'homogénéité du champ magnétique a été ajustée en utilisant l'option de shim automatique de l'IRM. La largeur à mi-hauteur du pic de l'eau était proche de 5 Hz, après apodisation. La durée d'acquisition est de 3 minutes 12 secondes pour chacun des TE.

Pour les séquences d'acquisition avec STEAM, les paramètres d'acquisition pour TE/TR variable ont été 20 ms/1550 ms, 60 ms/1590 ms, 135 ms/1670 ms et 270 ms/1800 ms ; le TR a été choisi de manière à maintenir le temps de repousse de l'aimantation longitudinale constant ($T_{\text{rep}} = \text{TR} - \text{TE} / 2 - \text{TM}$) avec un TM constant de 50 ms. A partir de ces données, nous avons pu calculer le T2 des métabolites. Nous avons fait, également, des acquisitions avec un TE constant (20 ms) et TM/TR variables 50 ms/1550 ms, 200 ms/1700 ms et 400 ms/1900 ms. Le TR a été choisi de la même façon que pour les mesures de TE variable, c'est-à-dire pour maintenir un temps de repousse de l'aimantation longitudinale constant.

Dans la majorité des cas, les spectres ont été acquis avant toute injection de produit de contraste.

III-1-4 Post-traitement

Pour les acquisitions avec PRESS, les deux protocoles de post-traitement ont été utilisés (P-Protocole et M-Protocole décrits au chapitre II).

Pour « M-Protocole », trois TE ont pu être exploités car le constructeur ne propose que trois protocoles qui correspondent aux TE 30, 135 et 270 ms

Dans le cas de STEAM, seul le « P-Protocole » a été utilisé. Le constructeur ayant prévu un post-traitement, mais celui-ci n'est applicable qu'à TE = 20 ms et TE = 135 ms.

III-1-5 Traitement statistique des données

Les données brutes ont été calculées sur la base du recueil des intégrales des métabolites suivants : N-Acétyl-Aspartate (NAA), choline (Cho), créatine (Cr), lipides (Lip) et lactate (Lac) aux différents TE ainsi que la mesure de l'eau, comme référence interne, aux différents TE et aux différents TM dans le cas de la séquence STEAM.

Ces données ont permis le calcul des rapports des surfaces aux quatre TE (30, 60, 135 et 270 ms) avec PRESS et à différents TM (50, 200, 400 ms) et TE (20, 60, 135, 270 ms) pour STEAM : NAA/Cr, NAA/Cho, Cho/Cr, Lip+Lac/Cr. Puis, le calcul du T2, du T1 pour STEAM et de la concentration en NAA, Cr et Cho ont été réalisés.

Avec PRESS, le calcul a été effectué à partir des 3 temps d'échos proposés par constructeur (M-Protocole) et à partir de 4 temps d'échos (30, 60, 135 et 270 ms) pour notre protocole (P-Protocole). Avec STEAM, seul P-protocole a été appliqué, le constructeur ne proposant qu'un seul protocole à TE = 20 ms, où les modulations dues au TM ne sont pas prises en compte.

Les données ont été traitées à l'aide du logiciel « StatisticaTM ». L'analyse a été faite par groupes (4 groupes : 1 groupe de volontaires, 3 groupes de patients selon le grade histologique). Une série d'analyses en composantes principales a ensuite été effectuée.

III-2 Résultats

III-2-1 Exemples de spectres obtenus avec « P-protocole »

Le spectre mesuré est représenté en blanc et la ligne rouge correspond au spectre modélisé théorique. L'erreur d'adaptation est calculée par la méthode des moindres carrés.

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

A

B

Figure n° III-1 : Comparaison entre un spectre SVS SRM-¹H PRESS TR/TE : 2000/ 30 ms obtenu chez un volontaire traité par le « M-protocole » (A) et « P-protocole » (B)

III-2-1-1 Volontaires / Témoins

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

Figure n° III-2 : Positionnement du voxel SRM-¹H PRESS de 20 x 20 x 20 mm dans la substance blanche frontale gauche chez les volontaires. Repérage sur des acquisitions TruFisp dans les trois plan de l'espace.

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

A

B

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

C

D

Figure n° III-3 : SVS SRM-¹H PRESS TR/TE : 2000/ 30 ms (A), 60 ms (B), 135 ms (C) et 270 ms (D), voxel de 20 x 20 x 20 mm dans la substance blanche frontale gauche. Résultats obtenus chez un volontaire. On retrouve les 3 métabolites principaux (NAA, Cho et Cr). Le pic du NAA est deux fois supérieur aux autres pics.

III-2-1-2 Gliome de grade II

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

A

B

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

C

D

Figure n° III-4 : : SVS SRM-¹H PRESS TR/TE : 2000/ 30 ms (A), 60 ms (B), 135 ms (C) et 270 ms (D), chez un patient présentant un gliome de grade II de l'OMS. Les 3 métabolites principaux sont visibles (NAA, Cho, Cr) mais on observe une diminution relative du NAA.

III-2-1-3 Gliome anaplasique de grade III

A

B

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

C

D

Figure n° III-5 : : SVS SRM-¹H PRESS TR/TE : 2000/ 30 ms (A), 60 ms (B), 135 ms (C) et 270 ms (D), chez un patient présentant un gliome de grade III de l'OMS. On note l'augmentation du pic de choline, ainsi que l'apparition de lipides à 0,9 ppm et l'inversion du doublet des lactates à TE 135 ms.

III-2-1-4 Glioblastome

A

B

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

C

D

Figure n° III-6 : : SVS SRM-¹H PRESS TR/TE : 2000/ 30 ms (A), 60 ms (B), 135 ms (C) et 270 ms (D), chez un patient présentant un gliome de grade IV de l'OMS. Le pic de lipide est marqué, ainsi que la chute du NAA.

III-2-2 Statistiques par groupes avec PRESS

Nous avons calculé la moyenne et l'écart-type des principaux rapports NAA/Cr, NAA/Cho, Cho/Cr et (Lip+Lac)/Cr (Tableau n° III-3 et Figure n° III-7), pour les deux protocoles et pour chaque temps d'écho. Ensuite nous avons calculé les niveaux de signal normalisés par le signal de l'eau (NAA*1000/Eau, Cr*1000/Eau, Cho*1000/Eau, (Lip+Lac)*1000/Eau) pour chaque métabolite à chaque temps d'écho en calculant leur moyenne et écart-type (Tableau n° III-4 et Figure n° III-8). Nous avons fait une comparaison entre les populations par t-test.

Tableau n° III-3 : Rapports NAA/Créatine, NAA/choline, choline/créatine et (lipides+lactate)/créatine. Les résultats donnés sont les moyennes $\pm$ l'écart-type. Séquence PRESS.

TE = 30 ms								
	NAA/CR		NAA/CHO		CHO/CR		LIP+LAC/CR	
	M-Protocole (SIEMENS)	P-Protocole	M-Protocole (SIEMENS)	P-Protocole	M-Protocole (SIEMENS)	P-Protocole	M-Protocole (SIEMENS)	P-Protocole
Volontaires	2,10 ± 0,27	2,28 ± 0,22	2,56 ± 0,55	3,13 ± 0,96	0,84 ± 0,13	0,78 ± 0,19	0,45 ± 0,22	2,11 ± 0,65
Bas grade	1,88 ± 0,60	1,17 ± 0,37	1,84 ± 0,78	1,24 ± 0,45	1,10 ± 0,36	0,96 ± 0,17	0,60 ± 0,24	2,54 ± 0,57
Grade intermédiaire	2,60 ± 1,63	1,28 ± 0,53	1,60 ± 0,79	1,68 ± 1,30	1,83 ± 1,10	1,15 ± 0,68	2,90 ± 4,24	4,43 ± 2,68
Haut Grade	12,61 ± 12,39	2,82 ± 1,26	2,68 ± 1,63	1,19 ± 0,21	5,18 ± 4,41	2,35 ± 0,89	71,72 ± 91,23	34,01 ± 26,54
TE = 60 ms								
	NAA/CR		NAA/CHO		CHO/CR		LIP+LAC/CR	
	P-Protocole		P-Protocole		P-Protocole		P-Protocole	
Volontaires	1,97 ± 0,20		2,56 ± 0,48		0,80 ± 0,17		1,04 ± 0,34	
Bas grade	0,71 ± 0,41		0,74 ± 0,46		0,99 ± 0,14		1,03 ± 0,18	
Grade intermédiaire	0,75 ± 0,37		0,59 ± 0,39		1,60 ± 1,04		2,44 ± 1,71	
Haut Grade	1,54 ± 0,28		0,60 ± 0,09		2,63 ± 0,69		17,01 ± 11,86	
TE = 135 ms								
	NAA/CR		NAA/CHO		CHO/CR		LIP+LAC/CR	
	M-Protocole (SIEMENS)	P-Protocole	M-Protocole (SIEMENS)	P-Protocole	M-Protocole (SIEMENS)	P-Protocole	M-Protocole (SIEMENS)	P-Protocole
Volontaires	2,04 ± 0,26	2,69 ± 0,56	2,02 ± 0,30	3,20 ± 0,64	1,02 ± 0,16	0,86 ± 0,19	0,64 ± 0,30	0,54 ± 0,27
Bas grade	0,78 ± 0,57	1,11 ± 0,49	0,67 ± 0,67	1,15 ± 0,84	1,37 ± 0,44	1,15 ± 0,47	0,93 ± 0,43	0,69 ± 0,37
Grade intermédiaire	0,86 ± 0,59	1,44 ± 0,84	0,59 ± 0,51	0,86 ± 0,51	1,88 ± 0,82	2,07 ± 1,45	2,05 ± 1,58	2,11 ± 1,63
Haut Grade	1,26 ± 0,77	2,23 ± 1,42	0,57 ± 0,57	0,82 ± 0,46	3,10 ± 1,94	3,24 ± 1,85	9,92 ± 8,60	9,37 ± 6,32
TE = 270 ms								
	NAA/CR		NAA/CHO		CHO/CR		LIP+LAC/CR	
	M-Protocole (SIEMENS)	P-Protocole	M-Protocole (SIEMENS)	P-Protocole	M-Protocole (SIEMENS)	P-Protocole	M-Protocole (SIEMENS)	P-Protocole
Volontaires	2,84 ± 0,45	3,44 ± 0,37	2,38 ± 0,32	2,73 ± 0,49	1,24 ± 0,28	1,30 ± 0,27	0,50 ± 0,37	0,38 ± 0,22
Bas grade	1,20 ± 0,73	1,44 ± 1,38	0,80 ± 0,77	1,02 ± 1,12	1,92 ± 1,17	1,60 ± 0,36	0,55 ± 0,37	0,84 ± 0,16
Grade intermédiaire	1,46 ± 1,08	1,20 ± 0,83	1,09 ± 1,89	0,50 ± 0,43	2,15 ± 0,98	3,54 ± 3,23	1,25 ± 1,00	4,51± 10,97
Haut Grade	1,71 ± 1,06	4,71 ± 7,32	0,74 ± 0,49	0,41 ± 0,27	3,00 ± 2,17	9,95 ± 13,29	6,07 ± 5,67	24,86 ± 30,94

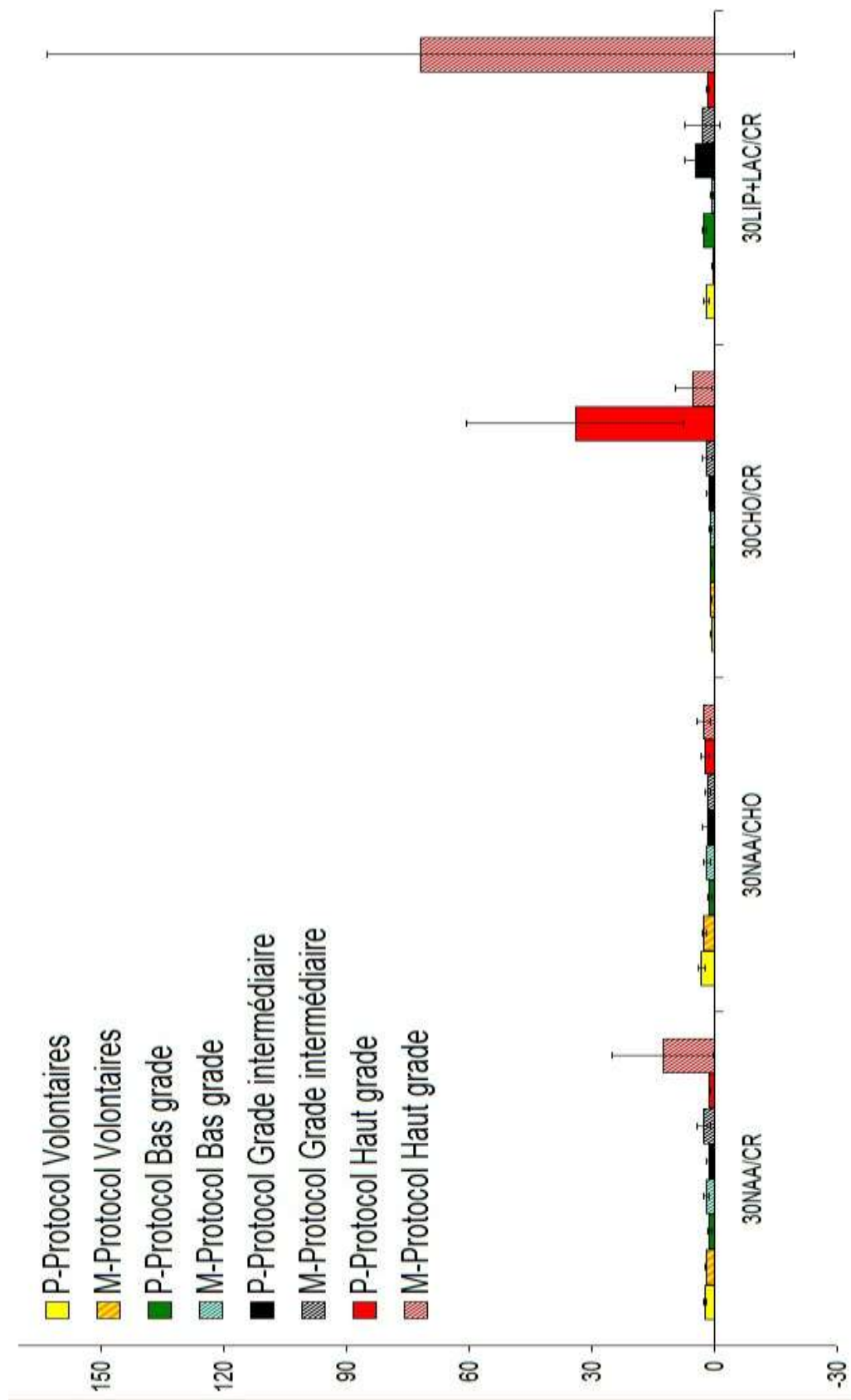


Figure n° III-7 : Moyennes et écart-type des différents rapports de surfaces des métabolites à TE = 30ms par rapport à la créatine, séquence PRESS pour les protocoles P-Protocole et M-Protocole pour les quatre groupes d'individus (jaune = volontaires, vert = tumeurs bas grade, noir = tumeurs intermédiaires, rouges = glioblastomes ou haut grade).

Tableau n° III-4 : Rapports des métabolites multipliés par 1000 et divisés par la valeur de l'eau. Les résultats donnés sont les moyennes $\pm$ l'écart-type. Séquence PRESS.

TE = 30 ms								
	NAA/Eau		CR/Eau		CHO/Eau		LIP+LAC/Eau	
	M-Protocole (SIEMENS)	P-Protocole	M-Protocole (SIEMENS)	P-Protocole	M-Protocole (SIEMENS)	P-Protocole	M-Protocole (SIEMENS)	P-Protocole
Volontaires	0,44 ± 0,052	0,63 ± 0,05	0,21 ± 0,01	0,28 ± 0,02	0,18 ± 0,03	0,22 ± 0,05	0,09 ± 0,05	0,60 ± 0,21
Bas grade	0,32 ± 0,08	0,34 ± 0,10	0,17 ± 0,03	0,29 ± 0,06	0,18 ± 0,04	0,28 ± 0,06	0,11 ± 0,05	0,74 ± 0,19
Grade intermédiaire	0,39 ± 0,29	0,34 ± 0,09	0,15 ± 0,06	0,30 ± 0,12	0,28 ± 0,20	0,30 ± 0,16	0,43 ± 0,66	1,14 ± 0,49
Haut Grade	0,29 ± 0,13	0,27 ± 0,06	0,06 ± 0,51	0,11 ± 0,05	0,12 ± 0,03	0,23 ± 0,06	1,16 ± 1,21	3,00 ± 1,84
TE = 60 ms								
	NAA/Eau		CR/Eau		CHO/Eau		LIP+LAC/Eau	
	P-Protocole		P-Protocole		P-Protocole		P-Protocole	
Volontaires	0,63 ± 0,04		0,32 ± 0,03		0,25 ± 0,05		0,33 ± 0,11	
Bas grade	0,19 ± 0,12		0,28 ± 0,03		0,27 ± 0,05		0,29 ± 0,05	
Grade intermédiaire	0,17 ± 0,07		0,24 ± 0,07		0,35 ± 0,16		0,51 ± 0,26	
Haut Grade	0,16 ± 0,04		0,10 ± 0,03		0,26 ± 0,05		1,61 ± 1,06	
TE = 135 ms								
	NAA/Eau		CR/Eau		CHO/Eau		LIP+LAC/Eau	
	M-Protocole (SIEMENS)	P-Protocole	M-Protocole (SIEMENS)	P-Protocole	M-Protocole (SIEMENS)	P-Protocole	M-Protocole (SIEMENS)	P-Protocole
Volontaires	1,00 ± 0,09	1,32 ± 0,11	0,50 ± 0,05	0,50 ± 0,07	0,51 ± 0,07	0,43 ± 0,08	0,32 ± 0,14	0,26 ± 0,11
Bas grade	0,20 ± 0,19	0,30 ± 0,15	0,24 ± 0,06	0,27 ± 0,06	0,31 ± 0,05	0,29 ± 0,09	0,22 ± 0,11	0,17 ± 0,06
Grade intermédiaire	2,60 ± 1,63	0,34 ± 0,19	1,60 ± 0,79	0,27 ± 0,13	1,83 ± 1,10	0,48 ± 0,24	2,90 ± 4,24	0,46 ± 0,20
Haut Grade	0,13 ± 0,11	0,16 ± 0,06	0,11 ± 0,06	0,08 ± 0,04	0,25 ± 0,08	0,25 ± 0,17	0,72 ± 0,51	0,71 ± 0,52
TE = 270 ms								
	NAA/Eau		CR/Eau		CHO/Eau		LIP+LAC/Eau	
	M-Protocole (SIEMENS)	P-Protocole	M-Protocole (SIEMENS)	P-Protocole	M-Protocole (SIEMENS)	P-Protocole	M-Protocole (SIEMENS)	P-Protocole
Volontaires	2,91 ± 0,40	3,18 ± 0,39	1,03 ± 0,20	0,94 ± 0,17	1,23 ± 0,16	1,19 ± 0,22	0,47 ± 0,30	0,34 ± 0,19
Bas grade	0,38 ± 0,41	0,44 ± 0,48	0,31 ± 0,19	0,30 ± 0,12	0,46 ± 0,12	0,47 ± 0,15	0,12 ± 0,09	0,25 ± 0,10
Grade intermédiaire	0,42 ± 0,31	0,38 ± 0,32	0,33 ± 0,18	0,29 ± 0,16	0,69 ± 0,40	0,79 ± 0,39	0,37 ± 0,28	0,50 ± 0,26
Haut Grade	0,23 ± 0,13	0,13 ± 0,09	15,4 ± 13,89	0,09 ± 0,05	320,42 ± 282,02	0,37 ± 0,20	0,56 ± 0,15	1,02 ± 0,76

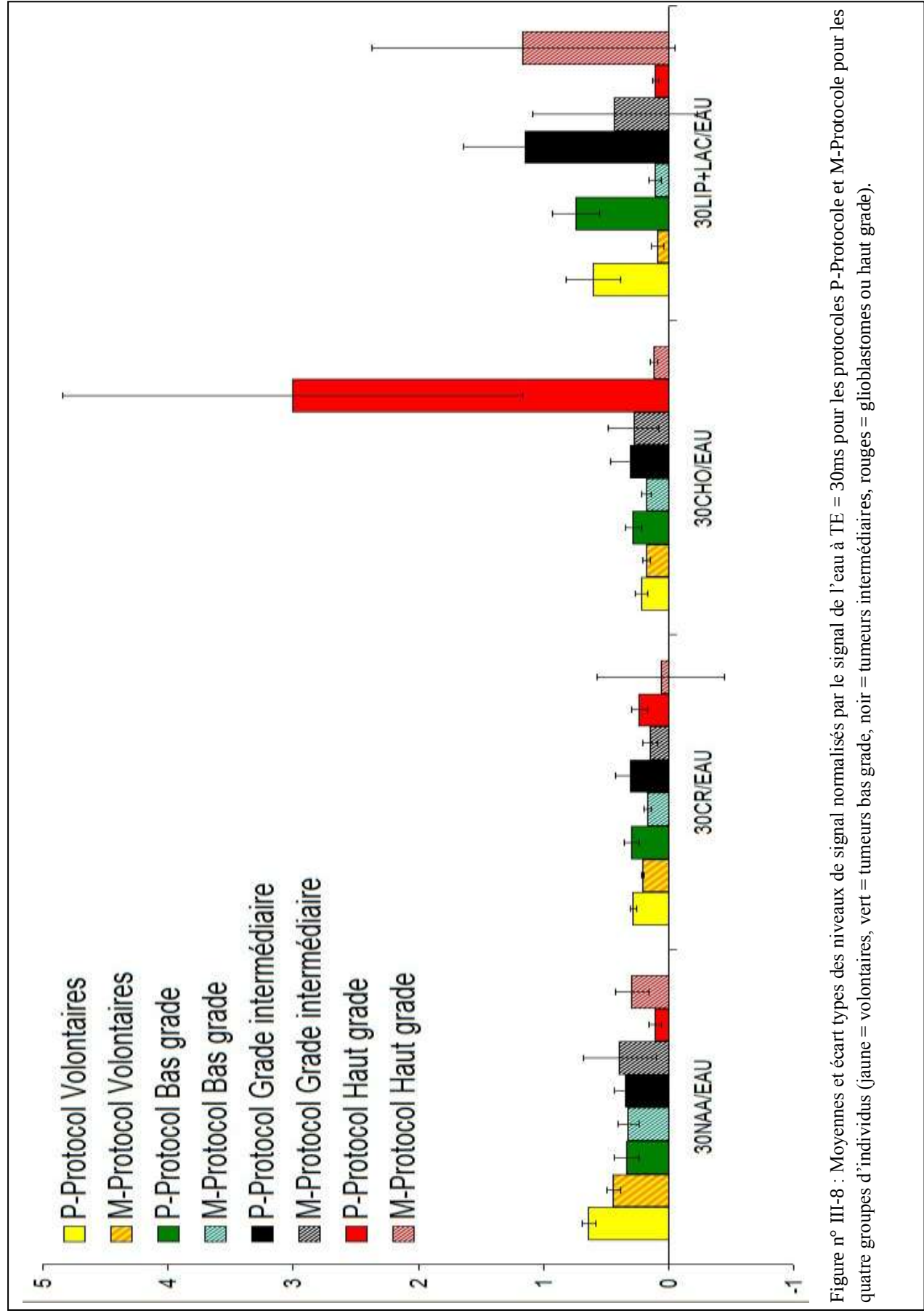


Figure n° III-8 : Moyennes et écart types des niveaux de signal normalisés par le signal de l'eau à TE = 30ms pour les protocoles P-Protocole et M-Protocole pour les quatre groupes d'individus (jaune = volontaires, vert = tumeurs bas grade, noir = tumeurs intermédiaires, rouges = tumeurs haut grade).

Tableau n° III-5 : Concentrations moyennes (mmol/kg_{ww}) et écarts-types des trois principaux métabolites pour les volontaires et les trois groupes de patients.

	NAA	CR	CHO
Volontaires	11,76 ± 1,06	5,53 ± 0,61	1,34 ± 0,33
Grade II	7,65 ± 2,04	5,66 ± 1,14	6,08 ± 1,13
Grade III	8,19 ± 2,31	5,66 ± 2,40	6,41 ± 3,39
Grade IV	8,12 ± 3,13	2,12 ± 1,04	5,26 ± 1,46

Tableau n°III-6 : Temps de relaxations T2 (ms) moyen et écart-type pour les trois principaux métabolites, l'eau et (lip+lac) des volontaires et des trois groupes de patients.

	T2 NAA	T2 CR	T2 CHO	T2 LIP+LAC	T2 EAU
Volontaires	256,22 ± 30,73	169,71 ± 21,18	277,05 ± 94,88	85,38 ± 35,89	85,11 ± 3,51
Grade II	195,50 ± 73,61	152,34 ± 32,08	268,20 ± 87,27	102,75 ± 10,13	163,29 ± 35,75
Grade III	165,84 ± 84,2	127,46 ± 36,91	334,30 ± 171,77	116,43 ± 37,01	141,56 ± 32,99
Grade IV	94,57 ± 5,70	129,32 ± 39,37	194,40 ± 67,44	92,68 ± 13,52	157,76 ± 29,43

Les résultats du t-test issus de la comparaison entre les différentes populations étaient intéressants et informatifs.

Entre les volontaires et les patients avec des tumeurs de bas grade, la comparaison a mis en évidence des différences significatives sauf pour les rapports :

NAA/Eau, (Lip+Lac)/Eau, (Lip+Lac)/Cr à 30 ms,

Cho/Eau, (Lip+Lac)/Eau et (Lip+Lac)/Cr à 60 ms,

(Lip+Lac)/Cr à 135 ms et (Lip+Lac)/Eau à 270 ms.

La comparaison entre volontaires et tumeurs de grade intermédiaire a montré également des différences significatives pour toutes les valeurs comparées sauf pour le T2 de la choline, les rapports NAA/Eau à 30 ms et Cho/Eau à 135 ms.

La comparaison entre volontaires et tumeurs de haut grade a montré des différences significatives pour la plupart des valeurs comparées sauf pour les rapports NAA/Cho à 30 ms, à 60 ms et à 135 ms et Cho/Eau à 270 ms.

La comparaison entre tumeurs de bas grade et tumeurs de grade intermédiaire a donné, par contre, des résultats non-significativement différents pour la plupart des valeurs comparées. Les seules valeurs significativement différentes entre ces deux populations ont été les rapports :

NAA/Eau ($p = 0,0039$) et (Lip+Lac)/Eau ($p = 0,00013$) à 30 ms,
(Lip+Lac)/Eau ($p = 0,0359$) et (Lip+Lac)/Cr ($p = 0,04247$) à 60ms,
(Lip+Lac)/Eau ($p = 0,0013$) et (Lip+Lac)/Cr ($p = 0,00339$) à 135 ms,
Cho/Eau ($p = 0,042225$) et (Lip+Lac)/Eau ($p = 0,024717$) à 270 ms.

La comparaison entre tumeurs de bas et haut grade a montré des différences significatives pour la plupart des valeurs comparées sauf pour la concentration de Naa et la concentration de Choline, les rapports Cr/Eau, NAA/Cr à 30 ms, NAA/Eau, Cr/Eau (Lip+Lac)/Eau et NAA/Cr à 60 ms, Cr/Eau, Cho/Eau, NAA/Cr et (Lip+Lac)/Cr à 135 ms, NAA/Eau, Cr/Eau, Cho/Eau, NAA/Cr, NAA/Cho et Cho/Cr à 270 ms.

La comparaison entre les tumeurs de grade intermédiaire et de haut grade a montré quasiment les mêmes résultats que la comparaison "bas grade - haut grade", c'est-à-dire, les seuls résultats non-significativement différents ont été la concentration de Naa et la concentration de choline, les rapports Cr/Eau, NAA/Cr et NAA/Cho à 30 ms, NAA/Eau, Cr/Eau (Lip+Lac)/Eau, NAA/Cr et (Lip+Lac)/Cr à 60 ms, Cr/Eau, Cho/Eau, NAA/Cr et (Lip+Lac)/Cr à 135 ms, NAA/Eau, Cr/Eau, Cho/Eau et (Lip+Lac)/Cr à 270 ms.

III-2-3 Statistiques par groupes avec STEAM

Les mêmes calculs statistiques ont été effectués pour STEAM.

Tableau n° III-7 : Séquence STEAM. Rapports pour le temps d'écho (TE) 20ms et différents temps de mélange (TM = 50 ms, 200 ms et 400 ms). Les résultats donnés sont les moyennes $\pm$ l'écart-type.

TM = 50 ms				
	NAA/CR	NAA/CHO	CHO/CR	LIP+LAC/CR
	P-Protocole	P-Protocole	P-Protocole	P-Protocole
Volontaires	2,03 $\pm$ 0,39	2,55 $\pm$ 0,57	0,82 $\pm$ 0,19	1,71 $\pm$ 0,59
Grade II	2,24 $\pm$ 1,91	1,15 $\pm$ 0,65	1,99 $\pm$ 1,46	11,00 $\pm$ 12,00
Grade III	1,04 $\pm$ 0,01	1,40 $\pm$ 0,03	0,75 $\pm$ 0,01	1,37 $\pm$ 1,27
Grade IV	0,89 $\pm$ 0,51	0,96 $\pm$ 0,72	1,05 $\pm$ 0,61	1,43 $\pm$ 1,31
TM = 200 ms				
	NAA/CR	NAA/CHO	CHO/CR	LIP+LAC/CR
	P-Protocole	P-Protocole	P-Protocole	P-Protocole
Volontaires	2,08 $\pm$ 0,46	2,66 $\pm$ 0,80	0,84 $\pm$ 0,29	0,78 $\pm$ 0,48
Grade II	0,84 $\pm$ 0,33	0,62 $\pm$ 0,40	1,88 $\pm$ 1,39	9,41 $\pm$ 12,37
Grade III	0,70 $\pm$ 0,56	1,47 $\pm$ 1,44	0,56 $\pm$ 0,17	0,99 $\pm$ 0,79
Grade IV	0,79 $\pm$ 0,46	0,67 $\pm$ 0,54	1,48 $\pm$ 0,98	1,29 $\pm$ 1,36
TM = 400 ms				
	NAA/CR	NAA/CHO	CHO/CR	LIP+LAC/CR
	P-Protocole	P-Protocole	P-Protocole	P-Protocole
Volontaires	7,14 $\pm$ 12,23	1,56 $\pm$ 1,20	7,35 $\pm$ 12,60	2,52 $\pm$ 3,96
Grade II	1,41 $\pm$ 0,83	0,64 $\pm$ 0,20	2,28 $\pm$ 1,43	4,95 $\pm$ 5,87
Grade III	0,98 $\pm$ 0,76	2,44 $\pm$ 2,68	0,58 $\pm$ 0,32	0,46 $\pm$ 0,56
Grade IV	1,67 $\pm$ 1,58	1,28 $\pm$ 1,69	1,94 $\pm$ 1,83	1,23 $\pm$ 0,75

Tableau n° III-8 : Rapports à différents temps d'écho (TE = 60 ms, 135 ms et 270 ms) et temps de mélange (TM) 50 ms. Les résultats donnés sont les moyennes $\pm$ l'écart-type. Séquence STEAM.

TE = 60 ms				
	NAA/CR	NAA/CHO	CHO/CR	LIP+LAC/CR
	P-Protocole	P-Protocole	P-Protocole	P-Protocole
Volontaires	2,07 $\pm$ 0,42	2,22 $\pm$ 0,82	1,01 $\pm$ 0,28	1,21 $\pm$ 0,53
Grade II	2,02 $\pm$ 2,89	0,79 $\pm$ 0,82	2,16 $\pm$ 1,19	15,51 $\pm$ 25,43
Grade III	1,14 $\pm$ 0,33	0,81 $\pm$ 0,58	1,7 $\pm$ 0,81	1,21 $\pm$ 0,97
Grade IV	0,79 $\pm$ 0,52	0,36 $\pm$ 0,11	2,11 $\pm$ 1,38	1,16 $\pm$ 0,90
TE = 135 ms				
	NAA/CR	NAA/CHO	CHO/CR	LIP+LAC/CR
	P-Protocole	P-Protocole	P-Protocole	P-Protocole
Volontaires	0,45 $\pm$ 0,11	2,10 $\pm$ 0,55	1,21 $\pm$ 0,47	0,82 $\pm$ 0,45
Grade II	1,37 $\pm$ 0,80	0,56 $\pm$ 0,31	2,11 $\pm$ 1,27	1,85 $\pm$ 2,34
Grade III	0,68 $\pm$ 0,02	1,53 $\pm$ 0,14	0,97 $\pm$ 0,06	0,63 $\pm$ 0,58
Grade IV	2,22 $\pm$ 0,73	0,48 $\pm$ 0,29	1,52 $\pm$ 1,45	0,21 $\pm$ 0,09
TM = 270 ms				
	NAA/CR	NAA/CHO	CHO/CR	LIP+LAC/CR
	P-Protocole	P-Protocole	P-Protocole	P-Protocole
Volontaires	4,37 $\pm$ 2,53	2,94 $\pm$ 0,89	1,51 $\pm$ 0,80	0,99 $\pm$ 1,24
Grade II	1,80 $\pm$ 1,34	0,82 $\pm$ 0,77	3,48 $\pm$ 3,34	9,30 $\pm$ 13,36
Grade III	2,31 $\pm$ 1,61	1,41 $\pm$ 0,28	1,55 $\pm$ 0,83	3,66 $\pm$ 2,12
Grade IV	2,12 $\pm$ 2,11	0,55 $\pm$ 0,17	3,32 $\pm$ 2,63	3,33 $\pm$ 4,08

Tableau n° III-9 : Rapports des métabolites multipliés par 1000 et divisés par la valeur de l'eau pour un TE = 20 ms et différents TM (50 ms, 200 ms et 400 ms). Les résultats donnés sont les moyennes $\pm$ l'écart-type. Séquence STEAM.

TM = 50 ms				
	NAA/EAU	CR/EAU	CHO/EAU	LIP+LAC/EAU
	P-Protocole	P-Protocole	P-Protocole	P-Protocole
Volontaires	0,62 $\pm$ 0,12	0,31 $\pm$ 0,05	0,24 $\pm$ 0,04	0,52 $\pm$ 0,19
Grade II	0,34 $\pm$ 0,10	0,29 $\pm$ 0,22	0,39 $\pm$ 0,23	1,30 $\pm$ 0,44
Grade III	0,45 $\pm$ 0,08	0,44 $\pm$ 0,08	0,33 $\pm$ 0,06	0,65 $\pm$ 0,66
Grade IV	0,30 $\pm$ 0,21	0,38 $\pm$ 0,21	0,32 $\pm$ 0,04	0,37 $\pm$ 0,11
TM = 200 ms				
	NAA/EAU	CR/EAU	CHO/EAU	LIP+LAC/EAU
	P-Protocole	P-Protocole	P-Protocole	P-Protocole
Volontaires	0,57 $\pm$ 0,13	0,28 $\pm$ 0,07	0,22 $\pm$ 0,06	0,22 $\pm$ 0,15
Grade II	0,16 $\pm$ 0,12	0,24 $\pm$ 0,21	0,33 $\pm$ 0,23	0,69 $\pm$ 0,32
Grade III	0,27 $\pm$ 0,16	0,43 $\pm$ 0,12	0,25 $\pm$ 0,14	0,47 $\pm$ 0,45
Grade IV	0,20 $\pm$ 0,13	0,28 $\pm$ 0,19	0,32 $\pm$ 0,08	0,21 $\pm$ 0,13
TM = 400 ms				
	NAA/EAU	CR/EAU	CHO/EAU	LIP+LAC/EAU
	P-Protocole	P-Protocole	P-Protocole	P-Protocole
Volontaires	0,49 $\pm$ 0,14	0,14 $\pm$ 0,10	0,44 $\pm$ 0,23	0,19 $\pm$ 0,15
Grade II	0,14 $\pm$ 0,16	0,15 $\pm$ 0,20	0,22 $\pm$ 0,26	0,32 $\pm$ 0,32
Grade III	0,34 $\pm$ 0,14	0,42 $\pm$ 0,18	0,27 $\pm$ 0,24	0,24 $\pm$ 0,32
Grade IV	0,20 $\pm$ 0,19	0,18 $\pm$ 0,15	0,23 $\pm$ 0,09	0,16 $\pm$ 0,01

Tableau n° III-10 : Rapports des métabolites multipliés par 1000 et divisés par la valeur de l'eau pour le temps d'écho, un temps de mélange (TM) de 50 ms et différents temps d'écho (TE = 60ms, 135 ms et 270 ms). Les résultats donnés sont les moyennes $\pm$ l'écart-type. Séquence STEAM.

TE = 60 ms				
	NAA/EAU	CR/EAU	CHO/EAU	LIP+LAC/EAU
	P-Protocole	P-Protocole	P-Protocole	P-Protocole
Volontaires	2,07 $\pm$ 0,42	2,22 $\pm$ 0,82	1,01 $\pm$ 0,28	1,21 $\pm$ 0,53
Grade II	2,02 $\pm$ 2,89	0,79 $\pm$ 0,82	2,16 $\pm$ 1,19	15,51 $\pm$ 25,43
Grade III	1,14 $\pm$ 0,33	0,81 $\pm$ 0,58	1,7 $\pm$ 0,81	1,21 $\pm$ 0,97
Grade IV	0,79 $\pm$ 0,52	0,36 $\pm$ 0,11	2,11 $\pm$ 1,38	1,16 $\pm$ 0,90
TE = 135 ms				
	NAA/EAU	CR/EAU	CHO/EAU	LIP+LAC/EAU
	P-Protocole	P-Protocole	P-Protocole	P-Protocole
Volontaires	0,45 $\pm$ 0,11	2,10 $\pm$ 0,55	1,21 $\pm$ 0,47	0,82 $\pm$ 0,45
Grade II	1,37 $\pm$ 0,80	0,56 $\pm$ 0,31	2,11 $\pm$ 1,27	1,85 $\pm$ 2,34
Grade III	0,68 $\pm$ 0,02	1,53 $\pm$ 0,14	0,97 $\pm$ 0,06	0,63 $\pm$ 0,58
Grade IV	2,22 $\pm$ 0,73	0,48 $\pm$ 0,29	1,52 $\pm$ 1,45	0,21 $\pm$ 0,09
TE = 270 ms				
	NAA/EAU	CR/EAU	CHO/EAU	LIP+LAC/EAU
	P-Protocole	P-Protocole	P-Protocole	P-Protocole
Volontaires	4,37 $\pm$ 2,53	2,94 $\pm$ 0,89	1,51 $\pm$ 0,80	0,99 $\pm$ 1,24
Grade II	1,80 $\pm$ 1,34	0,82 $\pm$ 0,77	3,48 $\pm$ 3,34	9,30 $\pm$ 13,36
Grade III	2,31 $\pm$ 1,61	1,41 $\pm$ 0,28	1,55 $\pm$ 0,83	3,66 $\pm$ 2,12
Grade IV	2,12 $\pm$ 2,11	0,55 $\pm$ 0,17	3,32 $\pm$ 2,63	3,33 $\pm$ 4,08

Compte tenu de la petite population de patients au sein des différents groupes de tumeurs analysées avec STEAM, il nous est difficile tirer des conclusions sur ces résultats. Par contre, en ce qui concerne la comparaison volontaires/patients, certaines constatations peuvent être faites.

Le rapport NAA/Cr des volontaires est le rapport le plus important pour les TM 200 ms et 4000 ms, et pour le TE = 270 ms. Pour les TE = 20 et 60 ms, ce rapport est proche du rapport des gliomes de grade II et pour TE = 135 ms et inférieur aux rapports des gliomes II et IV.

Pour NAA/Cho, nous retrouvons la même tendance, c'est-à-dire que NAA/Cho pour les volontaires est le plus haut rapport en comparaison des rapports NAA/Cho des tumeurs sauf pour le TM = 400 ms, où les gliomes de grade III ont un rapport supérieur.

Pour Cho/Cr, il est plus difficile de trouver une tendance, car ce rapport pour les volontaires est très proche de celui obtenu pour les gliomes de grade III à TE = 20 et 270 ms, et à TM = 200 ms. Il est supérieur à tous les rapports Cho/Cr des tumeurs à TM = 400 ms et inférieur à tous les rapports Cho/Cr pour TE = 60 ms.

Nous ne pouvons pas tirer des conclusions à partir des valeurs de (Lip+Lac)/Cr.

NAA/Eau pour les volontaires est supérieur à toutes les valeurs pour les tumeurs sauf pour TE = 135 ms. Il est intéressant de remarquer comment cette valeur reste quasiment constante pour tous les TM (11% de variation).

Le rapport Cr/Eau des volontaires pour TM variable reste constante (variation de 7,19%) pour TM 50 et 200 ms, et chute pour TM = 400 ms. On remarque que ce rapport change peu d'un groupe à l'autre pour chaque TM (sauf pour les gliomes III) (variation de 14,5 %, 8,7 % et 13,3 % pour TM 50, 200 et 400 ms entre les groupes, en éliminant la valeur des gliomes grade III). Ce rapport pour les gliomes de grade III reste le même pour les différents TM (2,33 % de variation).

Cho/Eau est un rapport quasi constant à TM variable et ressemble à la valeur des tumeurs. La gamme des valeurs de ce rapport tous groupes confondus est de 0,22 à 0,44. 0,44 étant la valeur des volontaires à TM = 400 ms.

(Lip+Lac)/Eau chute en fonction de la croissance de TM, et cela est vrai pour tous les groupes.

III-2-4 Analyse en Composante Principale (ACP) et Analyse Factorielle de correspondance (AFC)

4 groupes ont été considérés (sujet témoin, gliome de bas grade II, gliome de grade intermédiaire III et glioblastome) et une couleur a été attribuée à chacun d'eux pour faciliter la représentation spatiale des différents groupes dans les graphes « ACP »:

Témoins / Volontaires : en jaune.

Gliome bas grade (II) : en vert.

Gliome de grade intermédiaire (III) : en noir.

Glioblastomes grade IV: en rouge.

Plusieurs analyses ont été effectuées à partir des données suivantes :

- Rapports NAA/Cho, NAA/Cr, Cho/Cr, (LIP+LAC)/Cr à 30, 60, 135 et 270 ms
- T2 des métabolites (NAA, Cho, Cr, LIP+LAC et Eau)
- Concentrations des 3 principaux métabolites (NAA, Cho, Cr)
- Concentrations et T2 des trois principaux métabolites
- Niveaux de signal des métabolites normalisés par le niveau du signal de l'eau
Naa/Eau, Cr/Eau, Cho/Eau et (LIP+LAC)/Eau.

III-2-4-1 ACP avec la séquence PRESS

Les graphes des différentes analyses sont présentés. Les meilleurs résultats, pour une discrimination visuelle des différents groupes, ont été obtenus avec les rapports des métabolites sur le niveau du signal de l'eau : NAA/Eau, Cr/Eau, Cho/Eau et (LIP+LAC)/Eau (Figure n° III-9 à Figure n° III-12).

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

Figure n° III-9 : ACP des niveaux de signal des métabolites normalisés par le niveau du signal de l'eau, obtenus à partir de la séquence PRESS à $TE = 30$ ms.

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

Figure n° III-10 : ACP des niveaux de signal des métabolites normalisés par le niveau du signal de l'eau, obtenus à partir de la séquence PRESS à $TE = 60$ ms.

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

Figure n° III-11 : ACP des niveaux de signal des métabolites normalisés par le niveau du signal de l'eau, obtenus à partir de la séquence PRESS à TE = 135 ms.

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

Figure n° III-12 : ACP des niveaux de signal des métabolites normalisés par le niveau du signal de l'eau, obtenus à partir de la séquence PRESS à TE = 270 ms.

III-2-4-2 AFC avec la séquence PRESS

Nous avons également utilisé l'analyse factorielle de correspondance pour intégrer, à l'analyse, la gradation qui a été attribuée à chaque tumeur par le résultat de la biopsie et la prise de contraste.

Les meilleurs résultats ont été obtenus avec les temps d'écho à 135 ms et 270 ms. Nous avons obtenu à TE = 270 ms la distance la plus importante entre les centres de gravité des nuages de points :

- entre les volontaires et les tumeurs de bas grade (**0,61**),
- entre les volontaires et les tumeurs de grade intermédiaire (**0,92**),
- entre les volontaires et les tumeurs de haut grade (**1,71**),
- entre les tumeurs de bas grade et les tumeurs de haut grade (**1,29**),
- entre les tumeurs de grade intermédiaire et les tumeurs de haut grade (**0,99**).

En revanche, le meilleur TE pour différencier les tumeurs de bas grade des tumeurs de grade intermédiaire est 135 ms, avec une distance entre les centres de gravité de ces deux groupes égale à (**0,3501**), à TE = 270 ms cette distance est à peine plus faible (**0,3462**) (Figure n° III-13). La différenciation entre les tumeurs de bas grade et de haut grade n'est pas très évidente. Toutefois, il faut noter que ces résultats ont été uniquement obtenus à partir des données expérimentales, il est possible que sur des données simulées à partir des T2 et S0 les résultats soient meilleurs à d'autres temps d'écho (voir Chapitre IV-2).

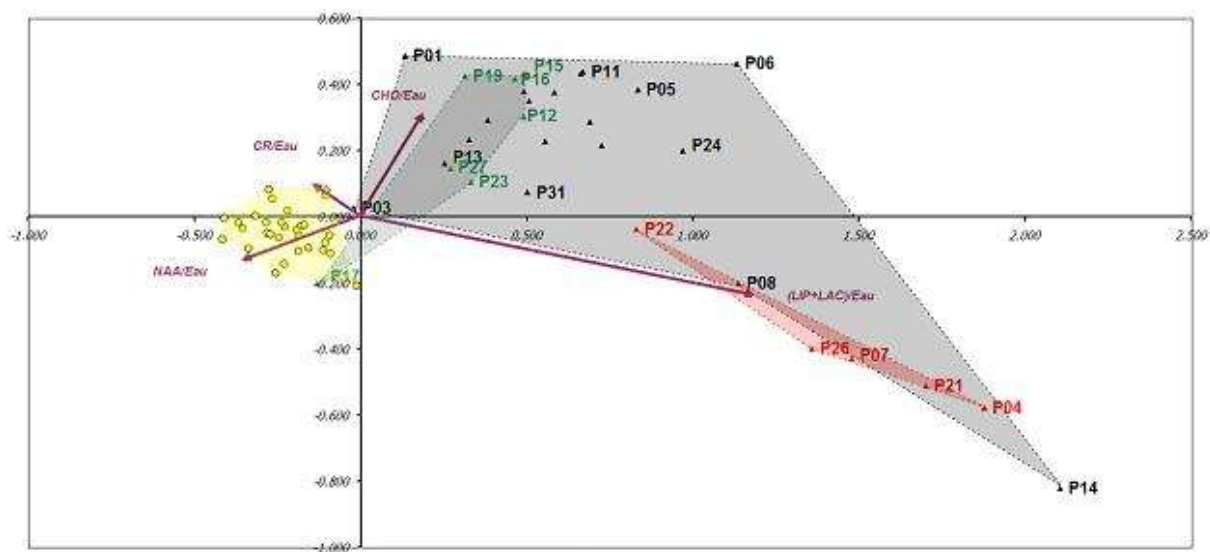


Figure n°III-13 : AFC des données expérimentales obtenues avec la séquence PRESS, normalisées par le signal de l'eau, à TE = 270 ms.

III-2-4-3 ACP avec la séquence STEAM

Les mêmes opérations ont été appliquées pour STEAM.

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

Figure n° III-14 : ACP des signaux mesurés NAA/Eau, Cr/Eau, Cho/Eau et (Lip+Lac)/Eau pour la séquence STEAM TE = 20 ms, TM = 50 ms.

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

Figure n°III-15 : ACP des signaux mesurés NAA/Eau, Cr/Eau, Cho/Eau et (Lip+Lac)/Eau pour la séquence STEAM $TE = 20\text{ ms}$, $TM = 200\text{ ms}$.

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

Figure n° III-16 : ACP des signaux mesurés NAA/Eau, Cr/Eau, Cho/Eau et (Lip+Lac)/Eau pour la séquence STEAM $TE = 60\text{ ms}$, $TM = 50\text{ ms}$.

Les analyses en AFC n'ont pas donné de meilleurs résultats.

III-3 Discussion

Les tumeurs gliales sont très certainement le domaine d'application clinique le plus fréquent de la spectroscopie protonique *in vivo* (SRM-¹H). L'hypothèse de départ est que des tumeurs histologiquement identiques présentent également une signature spectrale similaire. Malheureusement, la multiplicité des méthodologies ne facilite pas une vision claire de sa contribution dans la prise en charge diagnostique et thérapeutique de ces tumeurs.

Une des premières difficultés tient à la nature, elle-même, très hétérogène de cette pathologie à propos de laquelle existent toujours des controverses de classification anatomo-pathologique (Mittler 1996). De plus, les différents grades de tumeur ne représentent que l'analyse à un temps « t » d'un processus évolutif vers un grade plus élevé. Enfin, au sein même d'une tumeur, peuvent coexister plusieurs contingents de malignités différentes.

La complexité de la pathologie explique également en partie la grande variabilité des résultats de la littérature. À cela s'ajoute la multiplicité des protocoles de SRM-¹H utilisés pour l'acquisition des spectres, et le post-traitement qui constituent des étapes cruciales influençant l'interprétation des résultats. L'interprétation des résultats de SRM-¹H est hautement dépendante de la méthode d'analyse des données spectrales ; donc souvent opérateur et logiciel de post-traitement dépendant.

Une volonté d'harmonisation des pratiques de spectroscopie *in vivo* apparaît (INTERPRET projet – IST-1999-10310) mais n'a pas permis d'obtenir un consensus à l'heure actuelle.

Notre objectif a été la mise au point d'un protocole d'acquisition robuste et réalisable en routine clinique (« user-friendly »). Puis à partir des spectres obtenus, de déterminer quelles étaient les données les plus pertinentes pour caractériser les groupes de patients considérés. *(ce travail a été soumis à publication– « Grading of glioma by in vivo proton MRS and principal component analysis »)*

III-3-1 Protocole d'acquisition

III-3-1-1 Méthode de localisation spatiale

Les deux méthodes de localisation spatiale les plus utilisées sont la séquence PRESS (Kimmich 1987) et la séquence STEAM (Granot 1986, Frahm 1987). Ces deux séquences (PRESS & STEAM) reposent sur la réalisation de trois impulsions sélectives, chacune dans une direction de l'espace. PRESS (Meyerand 1999, Ishimaru 2001, Kaminogo 2001, Lai 2002, Bulakbasi 2003, Tong 2004, Fan 2004, Majos 2004, Kim 2006, Stadlbauer 2006, Ricci 2007, Alimenti 2007) et STEAM (Bruhn 1989, Poptani 1999, Barker 2001, Jeun 2005) sont généralement considérés comme comparables en routine clinique (Keevil 2001). Le choix de l'une ou de l'autre dépend principalement de sa disponibilité sur la machine utilisée.

Nous avons privilégié la séquence PRESS pour favoriser le meilleur rapport signal/bruit (2 fois supérieur) notamment pour les acquisitions à TE long et diminuer les difficultés de quantification liés aux phénomènes de modulation pendant les TM avec les séquences STEAM.

III-3-1-2 Choix du temps de répétition (TR)

Le choix du temps de répétition est un compromis entre la contribution du temps de relaxation T1 dans le spectre obtenu et le temps d'acquisition qui doit être compatible avec une utilisation en pratique clinique. Nous avons choisi un TR de 2000 ms car des études (Howe 2003) à TR variable ne montrent qu'une variation minime des ratios de métabolites compris entre 1 et 3 % suivant l'utilisation d'un TR à 1500 ou 3000 ms. Certains ont proposé d'utiliser un TR de 5000 ms pour calculer le pic de l'eau comme référence interne. Mais il nous semble indispensable d'utiliser le même TR pour l'acquisition du spectre des métabolites et celui de l'eau.

III-3-1-3 Acquisition mono-voxel (SVS) ou multi-voxel (CSI)

L'approche globale du caractère hétérogène des tumeurs gliales incite *a priori* à privilégier l'acquisition type imagerie métabolique (CSI) (Yerli 2007, Kwock 2006, Pruel 1996, Stadlbauer 2006). Mais l'étude mono-voxel (SVS) présente plusieurs avantages significatifs (Meyerand 1999, Ishimaru 2001, Bulakbasi 2003, Tong 2004, Fan 2004, Jeun 2005, Ricci

2007). Elle permet d'obtenir une meilleure homogénéité du champ magnétique au sein du voxel, autorisant donc des mesures plus fiables, primordiale notamment dans le cadre de la quantification. D'autre part, la durée d'un examen multi-écho, quantitatif, en CSI n'apparaît pas réaliste. De même, un des objectifs étant un post-traitement accessible et rapide, l'acquisition monovoxel trouve plus facilement sa place.

Il existe cependant quelques limitations concernant la SVS. À 1,5 Tesla, la taille du voxel peut difficilement être réduite. Néanmoins, l'utilisation d'un voxel plus petit permettrait d'analyser une zone plus homogène, en diminuant les artéfacts de déplacement chimique notamment dans les zones proches de l'os ou de la graisse du cuir chevelu. Le corollaire reste néanmoins de parfaitement placer la région d'intérêt comme cela a été mis en évidence pour le patient 3 dont le voxel a été placé en substance blanche péri-tumorale, au sein d'une zone de signal normale en pondération T2 alors qu'il est décédé un an plus tard. Il existe maintenant un consensus pour placer le voxel sur les données de l'IRM morphologique après injection de produit de contraste (<http://carbon.uab.es/INTERPRET>). La faible dégradation du spectre induite par le gadolinium est alors largement compensée par la pertinence du placement et le gain en qualité (Murphy 1999, Smith 2000, Murphy 2002).

La dégradation du rapport signal/bruit en acquisition multi-voxels pourrait être compensée par l'acquisition à plus haut champ à 3 T, mais des évaluations sont encore nécessaires.

III-3-1-4 Choix de la taille du voxel et de sa position

La région d'analyse de la tumeur (VOI) (Fan 2004) est particulièrement importante lors d'une étude en monovoxel (SVS), car on ne peut jamais être totalement certain d'avoir analysé la région la plus pertinente en terme d'agressivité sur les seules données de l'IRM morphologique. C'est la raison pour laquelle de nombreux auteurs pratiquent leurs études monovoxel après injection de gadolinium. L'influence du gadolinium dans le spectre ayant été démontré comme négligeable (Murphy 2002).

Nous avons choisi de systématiquement utiliser un volume de 8 ml (20 x 20 x 20 mm) pour nos acquisitions SVS. Le positionnement du volume était toujours décidé sur les données de l'imagerie morphologique, sur la région charnue prenant le produit de contraste ou la plus hétérogène. Pour les examens de surveillance, la reproductibilité était assurée visuellement pour explorer exactement la même région d'intérêt.

En SVS, le positionnement du voxel est crucial dans l'interprétation des résultats, certaines études ont concerné la portion kystique ou nécrotique centro-tumorale (Lai 2002), la portion charnue prenant le produit de contraste (Meyerand 1999) ou la région de « l'œdème » péri-tumorale (Fan 2004, Ricci 2007). Chaque région correspondant à une zone différente du processus tumoral, les résultats leur seront directement liés.

III-3-1-5 Temps d'écho optimum

L'analyse de la littérature concernant la SRM-¹H SVS dans l'étude *in vivo* des tumeurs cérébrales ne permet pas de déterminer un temps d'écho optimum et consensuel. Autant d'études ont privilégié un TE court (Devos 2004, Tong 2004, Poptani 1999, Kim 2006, Kaminogo 2001, Alimenti 2007, Bartha 2008) qu'un TE long (Lai 2002, Lukas 2004, Bulakbasi 2003, Meyerand 1999, Preul 1996 Stadlbauer 2006), certains réalisant des analyses à deux TE (Bruhn 1989, Ishimaru 2001, Majos 2004, Kim 2006).

L'étude réalisée par Majos (2004) comparait un TE 30 à un TE 135, retrouvant une caractérisation légèrement supérieure à TE court comparativement à TE long. Dans notre protocole, l'utilisation de 4 temps d'écho (30, 60, 135, 270) avait deux objectifs : d'une part comme une méthode de quantification pour évaluer le temps de relaxation T2 et d'autre part pour déterminer le temps d'écho le plus discriminant. En effet, l'utilisation de plusieurs temps d'écho en pratique clinique apparaît trop lourde, notamment en cas d'évaluation multimodale, responsable d'un temps d'acquisition long, d'un inconfort pour le patient et d'une augmentation potentielle des artefacts de mouvements.

L'utilisation de TE long permet une réduction du nombre de métabolites et une diminution des phénomènes de distorsion de la ligne de base rendant l'interprétation plus facile. Ici, le protocole de post-traitement utilisé a été optimisé pour réduire au maximum les distorsions de la ligne de base. La correction du décalage en fréquence était la seule opération manuelle, la détermination de la meilleure valeur se faisant de manière objective à partir de l'erreur d'adaptation (choix du décalage en fréquence donnant l'erreur d'adaptation la plus faible, opération pouvant donc à terme être automatisée). L'affichage du pic de l'eau a également été ajouté, rendu d'une part nécessaire pour les calculs des rapports et permettant d'autre part d'évaluer la qualité de l'acquisition et de fixer un critère de rejet du spectre.

Sur notre étude, l'utilisation d'un TE à 270 ms n'a pas montré de supériorité, aucune différence statistiquement significative entre les groupes pathologiques n'ayant été mis en évidence.

Le TE 135 ms permet la meilleure séparation, en ACP, entre les groupes témoins et pathologiques. Néanmoins, la séparation au sein des différents groupes pathologiques apparaît moins tranchée. Ce temps d'écho garde néanmoins un intérêt certain dans la détection des doublets de lactates inversés à cause du couplage J, permettant de les différencier des lipides et des macromolécules.

L'utilisation de TE plus court montre surtout sa supériorité si l'on s'intéresse à la détection d'un plus grand nombre de métabolites, certains d'entre eux ayant une intensité de signal fortement diminuée à TE long, compte tenu de la J-modulation et de l'effet T2. C'est le cas des lipides, des macromolécules, du myoinositol et du massif glutamine-glutamate. L'apport de ces composés n'a pas été évalué dans cette étude compte tenu de l'évaluation nécessaire des mêmes rapports aux différents temps d'écho.

Concernant les métabolites étudiés, les volontaires apparaissent mieux individualisés à TE 60 ms qu'à TE 30 ms. Au sein du regroupement des grades II en ACP, on retrouve le même nombre de grades III/II avec prise de contraste. Par contre, le reste des grades III/II avec prise de contraste ne « s'intercale » pas entre les grades II et les volontaires à TE 60 ms.

Le TE 60 ms semble donc légèrement supérieur aux autres TE. On pourrait donc, à la lumière des résultats obtenus, envisager secondairement une évaluation à TE 60 ms incluant d'autres métabolites non évalués précédemment. En effet, ce temps d'écho n'apparaît pas inférieur au TE long (surtout 135 ms) dans l'évaluation des principaux métabolites et il reste suffisamment court pour recueillir un signal utilisable sur les métabolites à T2 court.

A ce stade, nous pouvons donc proposer une acquisition avec un TE de 60 ms et une deuxième acquisition à TE 135 ms, l'évaluation à ce niveau n'étant que qualitative (présence ou non de lactate) et donc réalisable avec un nombre d'accumulation plus faible permettant une séquence supplémentaire de courte durée. Ce protocole d'acquisition, comportant deux TE, est en accord avec les premières conclusions du protocole « INTERPRET-project ». Ce groupe préconise un TE court à 30 ms (PRESS) ou 20 ms (STEAM) puis un TE long à 136 ms (PRESS). Toutefois aucune équipe à notre connaissance n'a étudié l'intérêt d'un TE intermédiaire à 60 ms avec notre méthodologie.

III-3-2 Protocole de post-traitement

Les importantes variabilités des conditions de mesures et d'acquisitions ne permettent pas d'interpréter la valeur brute d'un métabolite et nécessite le recours à des méthodes de quantification relative ou absolue. De multiples techniques (plus ou moins complexes) sont utilisées sans qu'aucun consensus ne soit accepté par tous.

Plusieurs approches sont décrites dans la littérature :

- Les rapports des aires sous la courbe des principaux métabolites cérébraux (NAA, Cho, mI, Lac, lipides) normalisés par l'aire sous la courbe de la créatine (Govindaraju 2000, Miller 1991, Howe 2003, Lucas 2004, Shimizu 1996, Yin 2004, Kaminogo 2001, Ricci 2007) ou de l'eau (Usenius 1996).

- Le calcul des concentrations des métabolites est obtenu en prenant soit l'eau comme référence interne (Chritiansen 1993, Ala-Korpela 1995, Ernst 1993, Soher 1996, Longo 1995), soit la créatine (Longo 1995) ou des références externes avec des fantômes contenant un composant en concentration connue (Michaelis 1993, Longo 1995). Cette dernière demande des mesures et des calculs supplémentaires qui sont difficilement utilisables en routine clinique.

- D'autres approches fondées sur des analyses multi-variées (Hagberg 1995, Roser 1997) intégrant l'ensemble des informations métaboliques permettent d'améliorer le diagnostic différentiel par SRM-¹H entre les différents types de tumeurs. Ces méthodes sont toujours en cours d'évaluation.

III-3-2-1 Rapport des métabolites sur la créatine

Les résultats obtenus chez les témoins peuvent être comparés avec les valeurs contrôles publiées par Vion-Dury et Michotey (2005), sur un imageur du même constructeur (Siemens Symphony, Quantum) et avec le même logiciel de traitement automatique des données (Syngo VA 15). Avec une séquence PRESS et des paramètres d'acquisitions TR/TE : 1500/135 ms sur un voxel de 15 x 15 x 15 mm en substance blanche frontale, ils obtiennent des valeurs moyennes (sur 10 volontaires) de rapports cohérente avec nos résultats (sur 30 volontaires).

	Vion-Dury (2005)	"M-Protocole"
NAA/Cho	1,84 ± 0,54	2,02 ± 0,3
NAA/Cr	2,1 ± 0,7	2,04 ± 0,26
Cho/Cr	1,53 ± 0,53	1,02 ± 0,16

Table n°III-11 : Comparaison des résultats obtenus en SVS SRM-¹H PRESS TE 135 ms chez des témoins sains en substance blanche frontale, avec le logiciel Syngo de la société Siemens (moyenne ± écart-type). Vion-Dury J et al. 2005.

Pour la différenciation entre témoins et patients porteurs d'une tumeur gliale, le rapport Cho/Cr apparaît (Kaminogo 2001) comme l'estimation la plus simple (la différence entre les astrocytomes de grade II-III et les glioblastomes sont significatives). Par contre, la différence entre astrocytomes de bas grade et de grade intermédiaire n'est pas aussi tranchée. Dans notre étude, la différence est significative entre témoins et glioblastomes, entre glioblastomes et tumeurs de bas grade ainsi qu'entre glioblastomes et tumeurs intermédiaires. Par contre, elle est moins évidente entre les volontaires et les tumeurs de bas grade et de grade intermédiaire. Les résultats du t-test ont démontré que les rapports NAA/Eau et (Lip+Lac)/Eau à 30 ms, (Lip+Lac)/Eau et (Lip+Lac)/Cr à 60 ms, (Lip+Lac)/Eau et (Lip+Lac)/Cr à 135 ms, Cho/Eau et (Lip+Lac)/Eau à 270 ms, sont pertinents pour la différenciation entre les tumeurs de bas grade et de grade intermédiaire car c'était les rapports qui étaient les plus significativement différents entre ces deux populations.

La valeur du rapport NAA/Cr a été rapportée dans la littérature comme diminuée lors de la présence des tumeurs par rapport aux sujets témoins. Nous avons également trouvé des différences significatives entre les différentes populations que nous avons comparées. Par contre pour les glioblastomes et les sujets témoins, les rapports NAA/Cr à 30 ms, à 60 ms et à 135 ms et Cho/Eau à 270 ms, n'ont pas montré de différence significative, il existe une superposition des rapports principalement due à la dispersion des valeurs de NAA/Cr chez les glioblastomes. Cela peut être attribué à la surestimation du NAA dans le cas des glioblastomes, que cela soit pour notre protocole (où NAA = NAA + NAAG) ou dans le protocole proposé par Siemens où uniquement un singulet est considéré comme le pic du NAA total. Pour la détermination des pics dans la zone proche du NAA, l'algorithme dans la plateforme de SyngoTM, cherche à minimiser l'erreur d'adaptation entre les courbes modélisées et expérimentales en élargissant la raie du NAA. Le résultat est une surestimation du NAA et une sous-estimation des autres métabolites avoisinants (glutamate, glutamine, glutathione, GABA, aspartate, alanine, acétate ...) avec les deux protocoles de post-traitement (P-Protocole ou M-Protocole).

Li *et al.* (2003) ont démontré que l'utilisation des rapports des métabolites par rapport à la créatine, considérée comme stable, augmente considérablement la variabilité des résultats en comparaison avec le calcul des concentrations des métabolites. Ceci étant expliqué par une répartition non homogène de la créatine dans le cerveau (Michaelis 1993, Vion-Dury 2005).

De plus, Roser *et al.* (1997) ont démontré que les gliomes cérébraux ont tendance à s'étendre et à s'infiltrer au delà des anomalies de signal et en particulier aux régions contralatérales à la lésion, permettant de douter de la validité de la créatine au sein de la substance blanche contralatérale comme référence interne en cas de pathologie tumorale.

III-3-2-2 Rapport des métabolites sur l'eau

Meyerand *et al.* (1999) ont comparé l'utilisation de l'eau et de la créatine, comme référence interne, montrant une meilleure performance de l'eau comme dénominateur.

Nous avons, également, évalué l'intérêt d'une normalisation par le signal de l'eau. Grâce à cette normalisation, une plus faible dispersion est observée, en comparaison avec les rapports sur la créatine, pour les différents groupes. Dans la figure n° III-9, il existe une différence visuelle nette pour le niveau de NAA/Eau entre témoins et patients, même si entre les groupes de patients cette différence n'est pas si importante, il est facilement repérable (surtout pour les résultats obtenus avec P-Protocole) que le niveau moyen du signal NAA/Eau est plus faible pour les tumeurs de haut grade.

Le niveau de Cr/Eau à TE = 30 ms est intéressant à considérer. Il est quasiment stable pour les volontaires ainsi que pour les tumeurs de bas grade et intermédiaires, par contre pour les tumeurs de haut grade, ce niveau diminue. Ces résultats confirment la controverse décrite dans la littérature concernant le niveau de la créatine. Yerli H *et al.* (2007), montrent, en utilisant le CSI et la créatine normale comme référence interne, que la Cr tend à baisser dans les tumeurs de haut grade. Des résultats concordants ont été obtenus par Tong *et al.* (2004) en spectroscopie monovoxel et l'eau comme référence interne pour démontrer que le niveau de Créatine est abaissé dans les tumeurs gliales. Usenius *et al.* (1996) ont utilisé le signal de l'eau comme signal de normalisation des niveaux de métabolites et ils ont ensuite traité ces résultats pour la classification des tumeurs en se servant d'une analyse par réseaux neuronaux.

Dans notre étude, les niveaux de Cho/Eau à TE = 270 ms et NAA/Eau à TE = 30 ms s'avèrent intéressants pour la différenciation entre tumeurs de bas grade et tumeurs de grade intermédiaire. Cette différence est plus marquée avec les résultats de P-protocole, les résultats du t-test de ces rapports sont significativement différents entre ces deux populations. Staudler *et al.* (2006) trouvent que les niveaux de NAA, de choline et du rapport Cho/NAA sont significativement différents entre ces deux populations. La choline et le NAA sont très certainement des marqueurs importants de différenciation.

Le rapport (Lip+Lac)/Eau (PRESS et le P-Protocole) nous suggère que la présence des lipides et du lactate est corrélée avec la malignité tumorale. Dans le tableau n° III-4 et grâce aux résultats des t-tests, nous avons pu constater que le rapport (Lip+Lac)/Eau est un facteur de différenciation entre les tumeurs de grade II et de grade III, entre grade II et grade IV ainsi qu'entre les grades III et IV. Les seuls rapports qui n'ont pas été significativement différents étaient les rapports (Lip+Lac)/Eau entre les grades II et IV ainsi que les grades III et IV pour le TE = 60 ms. Cela est surtout dû à la grande dispersion de ces rapports chez les glioblastomes. Pour les TE longs (135 ms et 270 ms), la différence entre les valeurs moyennes de ce rapport est très importante, et il augmente de 100 % du grade II au grade III (Pour TE = 270 ms (Lip+Lac)/Eau = 0,25 pour les grades II et 0,52 pour les grades III) et du grade II au grade IV (Pour TE = 270 ms (Lip+Lac)/Eau = 1,02). Cependant, parmi tous les rapports, c'est le rapport qui possède le plus de variabilité, et doit être interprété avec prudence.

III-3-2-3 ACP des rapports, des concentrations et des temps de relaxation T2

Comme le montrent les paragraphes précédents, la complexité des modifications métaboliques au sein des tumeurs gliales rend difficile la détermination d'un seul rapport discriminant notamment compte tenu du caractère antagoniste de la choline et du groupe lipides-lactates dans les gliomes de hauts grades. D'autre part l'analyse des résultats montre des tendances cohérentes avec la physiopathologie mais peine à mettre en évidence des différences statistiquement significatives. L'utilisation de la valeur de l'eau comme dénominateur permet d'utiliser 4 rapports indépendants et donc de potentialiser l'analyse multivariée.

De plus, l'analyse univariée, reposant sur la variance, permet de mettre en évidence des différences statistiquement significatives malgré des zones de recouvrement importantes, facteur limitant dans notre étude.

L'analyse en composantes principales (ACP) permet l'étude point par point, la répartition se faisant sur l'ensemble de l'échantillon et non pas entre différents groupes. D'autres analyses statistiques de type multivariée sont proposées dans la littérature (Hagberg 1998, Tate 2003). L'analyse linéaire discriminante a certes l'avantage de fournir des données chiffrées de classement au sein des groupes. Néanmoins, elle suppose des conditions de « stringence » statistiques non réunies dans cette étude. De plus, compte tenu du continuum entre les grades II et III, l'ACP présente l'avantage déterminant de ne pas requérir de groupes prédéterminés, mettant en évidence cette continuité. De la même façon, elle est moins sensible aux « outliers ». Plusieurs publications ont mis en évidence cette difficulté ; Majos *et al.* (2003) retrouvent un recouvrement entre les grades II et III dû principalement à des grades III mal classés. Cette donnée semble se retrouver dans notre étude puisque les grades II apparaissent relativement groupés, en dehors d'un patient (le seul évolutif au sein de ce groupe) ainsi que les glioblastomes et les témoins. Ces difficultés sont probablement liées à l'hétérogénéité des tumeurs, cette caractéristique concernant plus particulièrement les grades III.

Les meilleurs résultats en ACP ont été obtenus avec les niveaux de signal normalisés par rapport à l'eau. Aucun des autres éléments pris en compte lors de cette étude (la concentration, les temps de relaxations T2, ou T1, les rapports sur la créatine) n'a permis une différenciation aussi bonne qu'avec la normalisation par le signal de l'eau.

Un regroupement clair peut être observé au niveau des volontaires pour n'importe quel temps d'écho en PRESS. Par contre, pour STEAM il y a une plus grande dispersion des témoins et des patients. Nous attribuons cette dispersion au faible niveau de rapport signal sur bruit par rapport à PRESS.

L'ACP réalisée sur les résultats obtenus avec la séquence PRESS montre des résultats encourageants pour la classification des tumeurs cérébrales. Nous avons calculé les centres de gravité des nuages de points pour chaque groupe et grâce aux distances entre ces centres de gravité nous avons pu établir des TE optimum pour différencier les tumeurs cérébrales. Il n'existe pas de séparation claire entre le groupe de tumeurs de bas grade et le groupe des tumeurs intermédiaires, mais les tumeurs de bas grade sont assez regroupées à l'intérieur du nuage des tumeurs intermédiaires.

Hagberg *et al.* (1995) ont développé une étude en analyse de clusters avec et sans ACP. Le résultat de ces deux approches dépendait du rapport Lip/Cr. Ils ont également fait appel à l'analyse factorielle discriminante et à la méthode du vecteur discriminant orthonormal (VDO). Par l'application du VDO, ils ont mis en place une combinaison linéaire de tous les rapports de métabolites (NAA/Cr, Macromolécules-glutamate-glutamine/Cr, Cho/Cr, Ino-Gly/Cr et Lip/Cr) qui a permis de différencier les groupes de tumeurs qu'ils s'étaient proposé de classer. Ces auteurs ont classé, *a priori*, les tumeurs en 2 groupes haut grade et bas grade. Cette approche est intéressante du point de vue méthodologique, car elle conduit à une équation linéaire qui explique la pondération de chaque rapport pour la classification des tumeurs. Cependant, la difficulté dans la classification des tumeurs cérébrales n'est pas dans la distinction entre haut grade et bas grade puisque l'IRM morphologique, la prise de contraste et les résultats histologiques donnent suffisamment de renseignements pour pouvoir les différencier. Le problème essentiel est de parvenir à identifier les tumeurs de bas grade et celles qui sont en voie de transformation pour devenir plus malignes (grade III de l'OMS). Ces auteurs expliquent également que le rapport Lip/Cr a une grande influence dans l'ACP surtout dans le cas des gliomes de haut grade. Ils concluent qu'il n'existe pas un métabolite qui puisse classer les différents grades des tumeurs mais plutôt une interprétation globale qui prend en compte la totalité des métabolites. Ils expliquent également que la séparation, entre les hauts et les bas grades, est très nette. Par contre la séparation entre bas grade et témoin n'est pas optimale.

Une limite de ce type d'analyse est liée à l'importance du signal Lip + Lac dans la séparation des glioblastomes. En effet, celui-ci diminue la puissance des autres paramètres, en particulier la choline, retrouvée dans plusieurs études comme le meilleur facteur discriminant entre grades II et III, alors que les lipides ou le lactate apparaissent plutôt comme discriminants pour les glioblastomes (Majos 2003).

Lors de l'utilisation de l'AFC, une différenciation plus nette entre les groupes apparaît (Figure n° III-13). Cependant l'utilisation de ce type d'analyse implique la connaissance préalable de l'histopathologie de la tumeur, ce qui n'est pas nécessaire avec l'ACP. Les résultats de l'AFC sont encourageants, cependant nous avons trouvé les mêmes patients (17 et 3) qui s'approchent du groupe des volontaires. Une explication peut être la contamination du signal du voxel par du tissu sain qui a pu fausser les résultats.

Pour les patients, il est difficile d'obtenir des valeurs de comparaison pour les temps de relaxation, car différents types de tumeurs sont le plus souvent mélangés. On notera une chute du T2 et du NAA en fonction du « grading », les volontaires et les gliomes de grade II n'ayant

pas des valeurs très différentes. Pour les autres métabolites, les valeurs ne séparent pas les différents groupes. Par ailleurs, l'ACP à l'aide des temps de relaxation T2 n'est pas concluante. Les résultats obtenus au niveau des témoins, qui restent groupés, permettent cependant de ne pas totalement discréditer la méthode.

III-3-3 Intérêt de notre méthodologie appliquée aux tumeurs gliales. Commentaires sur les patients et leur survie.

Cette étude a évalué notre méthodologie SRM-¹H SVS chez des patients porteurs d'une tumeur gliale, vérifiée histologiquement, en cours de surveillance ou de traitement.

Les différentes approches de quantification (correction des temps de relaxation, concentration et rapports normalisés par la créatine) que nous avons testées nous permettent de retenir celle qui nous semble la plus efficace. Grâce à l'analyse en composantes principales des rapports de métabolite (NAA, Cho, Cr et Lip+Lac) normalisé par le signal de l'eau, nous sommes capables de différencier les différents grades de tumeur des témoins sans « *a priori* ». Les graphes ACP à TE 60 et 135 ms sont ceux qui individualisent le mieux les différents groupes. La répartition des patients au sein du graphe ACP, liée à de multiples paramètres, nous semble plus pertinente que la catégorisation par seuil de valeur de rapport (le plus souvent choisi *a posteriori*). Elle donne des informations cohérentes avec la survie des patients. Les graphes en ACP sont mieux représentatifs de l'hétérogénéité de la pathologie.

Nous considérons notre méthodologie comme originale et prometteuse. Plus que des valeurs absolues de métabolites, la représentation graphique et visuelle des patients permet d'approcher à un temps « t » la signature biochimique d'une tumeur indépendamment de son histologie. Pour autant, nous ne pensons pas que la SRM-¹H puisse, isolément, caractériser une tumeur cérébrale. L'avenir de la caractérisation des tumeurs cérébrales appartient à la multimodalité faisant appel à l'ensemble des autres techniques d'IRM fonctionnelle et en particulier à l'IRM de perfusion pour appréhender l'angiogénèse tumorale.

Il est important de commenter quelques particularités de patients pour mieux comprendre leur position dans les graphes d'ACP. La survie est rapportée dans le tableau n° III-12 :

Patient N°/Sex/Age(y)	Tumeur type ^a	MRI- CE ^b	Contexte clinique et position de l' ^{SRM-1H} SVS	Survie ^c
	WHO			
P01/M/50	II	N	voxel sur l'hypersignal T2	transf III après 19 mois status epilepticus décès 12 mois
P02/M/50	II	N	voxel sur l'hypersignal T2	
P03/M/50	III	O	voxel sur l'hypersignal T2	
P04/M/53	IV	O	voxel sur la prise de contraste	décès 21 mois
P05/M/40	III	O	progression	
P06/M/40	III	O	stabilisation sous chimiothérapie	Recurrence à 7 mois décès 15 mois
P07/M/43	IV	O	voxel sur la prise de contraste	décès 12 mois
P08/F/55	III	O	voxel sur la prise de contraste	Pas de suivi
P09/M/31	II transf III	O	voxel sur la prise de contraste	stable sur 24 mois
P10/M/27	II transf III	O	début d'évolution	décès 8 mois
P11/M/48	II	O	small nodular contrast enhancement	
P12/M/48	II	N	Disparition de la prise de contraste	stable 24 mois
P13/M/46	III	O	évolution après 29 mois de stabilité	stable sur 24 mois
P14/M/42	II transf III	O	voxel sur la prise de contraste	décès 17 mois
P15/M/41	II stable	N	stable après radiothérapie	stable 24 mois
P16/F/40	II	N	Pas de traitement, stable	stable 28 mois
P17/F/39	II	N	Pas d'anomalie T2	stable 29 mois
P18/F/34	II transf III	O	small nodular contrast enhancement	
P19/F/34	II stable	N	disappearance of the contrast enhancement	stable 24 mois
P20/M/30	III	O	voxel sur la prise de contraste	décès 11 mois
P21/F/70	IV	O	voxel sur la prise de contraste	décès 2 mois
P22/M/66	IV	O	voxel sur la prise de contraste	décès 11 mois
P23/M/45	II	N	transformation maligne 2 mois avant décès	décès 15 mois
P24/F/61	III	O	Nouvelle prise de contraste	
P25/F/61	III	O	stable	stable 24 mois
P26/F/65	IV	O	voxel sur la prise de contraste	décès 7 mois
P27/M/36	II stable	N	voxel sur l'hypersignal T2	stable 24 mois
P28/M/44	II transf III	O	voxel sur la prise de contraste	
P29/M/44	II transf III	O	voxel sur la prise de contraste	stable 24 mois
P30/M/41	II transf III	O	voxel sur la prise de contraste	
P31/M/41	II transf III	O	voxel sur la prise de contraste	stable 15 mois

Tableau n° III-12: survie à 24 mois après la SRM-^{1H}SVS

a: classification OMS (WHO), II transf III (apparition d'une prise de contraste)

b: Prise de contraste en IRM

c: Survie

Le patient 23, par exemple, a été examiné avant tout traitement ainsi que le patient 27. Le patient 27 était le grade II le plus proche du groupe de glioblastomes (grade IV), la biopsie le classait comme une forme « limite ».

3 glioblastomes étaient bien isolés (21, 26, 4), Le patient 22 était en récurrence mais à plus d'un an d'évolution, ce qui constitue une survie bien au-delà de la moyenne pour un glioblastome. On notera que le voxel était placé au vertex. Le rapport (Lip+Lac)/Eau a un intérêt pour isoler les glioblastomes. Cela peut être observé dans la totalité des ACP (Figure n° III-9 à Figure n° III-12). La direction du rapport coïncide avec la zone où se regroupent ces tumeurs. Le patient 21, le plus éloigné dans les ACP, est celui avec le délai de survie le plus court (décès 1 mois après l'examen de spectroscopie). Le patient 22 a eu une survie supérieure aux autres glioblastomes (2 ans). Les patients 4, 7, 21 étaient des glioblastomes avec une survie d'environ 1 an (spectroscopie initiale au moment du diagnostic).

Au sein des grades III, dans la zone proche du groupe de glioblastomes, on trouve les patients 8 (possible radionécrose), 9 (prise évolutive), 13 (prise évolutive), 20 (décès à 1 an), 14 (décès à 1 an). Deux autres patients sont décédés à un an : le patient 3 dont tout le bilan était négatif avec une leucoencéphalopathie post radique un an plus tard et le patient 10 pour lequel aucun élément particulier n'a été retrouvé. Les patients 5 et 6, à distance sur l'axe du rapport Cho/Eau, correspondent au même patient, évolution moyenne avec progression morphologique pour le point 5 et aggravation clinico-radiologique à quelques mois pour le 6.

Le patient 17 était en rémission au moment de la spectroscopie et analysé 6 mois plus tard après plusieurs lignes de chimiothérapie et de la radiothérapie. Néanmoins, il est surprenant qu'après ce type de traitement, les rapports se soient « normalisés ». Il est probable que le voxel contienne du tissu sain, ce qui explique et moyenne les résultats de cette analyse.

Pour STEAM, le faible nombre de patients pour chaque groupe ne permet pas de discerner une tendance ni de tirer des conclusions.

IV Développements et Perspectives

IV-1 ERETIC

Le mythe de quantifier d'une manière absolue *in vivo* les métabolites est un objectif indispensable pour une meilleure classification et un meilleur diagnostic des pathologies cérébrales (Kreis 1992, Podo 1998, Jansen 2006). La spectroscopie *in vivo* est principalement utilisée en clinique comme une méthode semi-quantitative. La plupart du temps, l'aire sous la courbe du pic de créatine divise l'aire sous la courbe des autres métabolites. Comme nous l'avons déjà indiqué, cette approximation limite l'interprétation car la concentration de la créatine varie en présence des pathologies (Li 2003). De plus, la variation des rapports contient moins d'informations que celle obtenue par le calcul des concentrations absolues (Gruber 2003). Une autre solution proposée dans la littérature est la comparaison des zones controlatérales normales (Yerli 2007). Cependant, des altérations dans les zones controlatérales, peuvent avoir lieu même avant toute thérapie (Sijens 2002, Inglese 2006).

L'utilisation du signal de l'eau comme référence interne semble être l'une des méthodes les plus robustes (Tong 2004, Christiansen 1993, Meyerand 1999), cependant la pathologie cérébrale induit une modification de la concentration de l'eau dans le cerveau (Ross 2001) et donc l'adoption de l'eau comme référence peut entraîner des erreurs de quantification. De façon concordante avec la littérature (Sijens 2002, Isobe 2002) nous avons retrouvé que les temps de relaxation T2 de l'eau chez les patients sont supérieurs à ceux des volontaires sains, on peut donc logiquement anticiper une modification des concentrations.

La méthode ERETIC est une méthode originale de quantification absolue qui pourrait permettre de s'affranchir de ce problème de référence (Barantin 1997). Cette méthode ERETIC (**E**lectronic **R**Eference **T**o assess **I**n vivo **C**oncentration) est basée sur la création d'un pic additionnel correspondant à un « pseudo signal » RMN (pseudo-FID) produit par un générateur de signaux électroniques (Barantin 1995, 1997). Cette pseudo-FID est le résultat d'une multiplication de deux composantes : un signal de radio-fréquence sinusoïdal et un signal basse fréquence à décroissance exponentielle. Ce signal est transmis par une antenne large bande qui peut être simplement un fil de cuivre, placé près de l'échantillon ou du tissu *in vivo* à analyser. Ce signal est émis et acquis en même temps que la réception du signal

RMN. Après transformation de Fourier, ce signal apparaîtra comme un singulet et pourra être utilisé comme une référence. Ce pic, qui doit être préalablement calibré sur un fantôme contenant un composant de concentration connue, permet alors d'accéder aux concentrations absolues des métabolites *in vivo*.

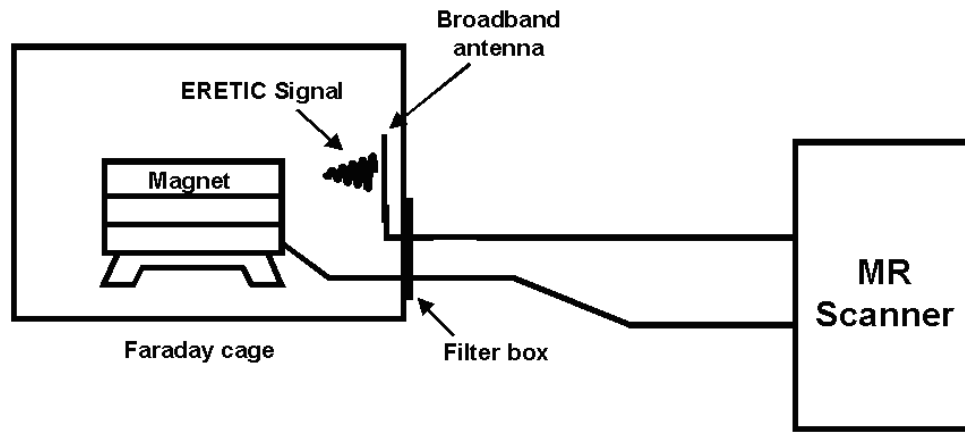


Figure n° IV-1 : Configuration schématique de la méthode ERETIC. Le signal ERETIC est créé par le canal de radiofréquence (et sans amplification) pour générer une pseudo FID à la fréquence nominale de l'Imageur (extrait de Barantin 1997).

La concentration d'un métabolite, [Met], est obtenue par :

$$\text{Met} = \frac{\text{ERET} \cdot S_{\text{Met}}}{k \cdot S_{\text{ERET}}} \cdot e^{-\frac{\text{TE}}{T2_{\text{Met}}}} \quad \text{Éq. IV-1}$$

où S_{Met} est le niveau de signal mesuré du métabolite, S_{ERET} est le niveau mesuré du signal ERETIC, $T2$ est le temps de relaxation transversale du métabolite et TE le temps d'écho. k prend en compte le nombre de protons de la molécule analysée (Barantin 1997).

La valeur ERETIC, [ERET], est donnée par :

$$\text{ERET} = \text{Ref} \cdot \frac{S_{\text{ERET}}}{S_{\text{Ref}}} \cdot e^{-\frac{\text{TE}}{T2_{\text{Ref}}}} \quad \text{Éq. IV-2}$$

où [Ref] est la concentration de la solution de calibration, S_{Ref} le niveau de signal du signal de calibration mesuré, $T2_{\text{Ref}}$ est le $T2$ de la solution de calibration (Barantin 1997).

Comme nous venons de le voir, dans sa version initiale (Barantin 1997), la méthode ERETIC suppose l'émission d'un signal électronique ayant toutes les caractéristiques d'un signal RMN afin de donner naissance, après transformation de Fourier, à une raie supplémentaire sur le spectre. Cette approche suppose que le signal ERETIC soit émis pendant la réception du signal RMN et cela implique l'utilisation d'un second canal radiofréquence capable d'émettre alors que le canal principal est en configuration de réception.

Cette stratégie fonctionne parfaitement sur les spectromètre-imageurs dédié à la recherche biomédicale car ceux-ci sont équipés d'au-moins deux canaux RF dans leur configuration de base. En revanche, l'immense majorité des imageurs utilisés pour le diagnostic ne comporte qu'un seul canal.

Afin de contourner ce problème, nous avons donc développé une autre approche qui consiste à émettre le signal ERETIC lors d'une acquisition différente de l'acquisition de spectroscopie localisée (juste avant ou juste après). Pour que ce signal puisse être utilisé de la même manière que dans la méthode ERETIC standard il est alors indispensable que tous les réglages ainsi que le positionnement du patient soient parfaitement identiques lors de la réception du signal ERETIC et lors de la réception du signal RMN.

Il faut noter, dans ce cas, que le signal ERETIC ne doit plus avoir nécessairement la forme d'un signal RMN. Nous avons donc choisi, dans un premier temps, d'utiliser la forme la plus simple : une impulsion rectangulaire.

Pour l'installation du signal ERETIC sur notre imageur clinique SONATA 1,5 Tesla (Siemens, Erlangen Allemagne) deux méthodes ont été envisagées.

Méthode n°1

Si l'antenne corps est utilisée pour émettre le signal, il n'y a pas besoin d'une modification « hardware » ou de l'installation d'une antenne externe (telle qu'une antenne filaire). Cependant il faut que la sensibilité de cette antenne corps soit corrigée pour obtenir le signal d'émission voulu. La charge de l'antenne corps est en effet très différente pour le fantôme de calibration et pour un patient.

Méthode n°2

Un signal RF de test en boucle peut être induit depuis l'armoire RF jusque dans la cage de Faraday. La seule tâche, à réaliser et à tester, est l'introduction dans la cage de Faraday d'un fil de cuivre qui serait l'antenne émettrice. Dans ce cas, une modification mineure du « hardware » est nécessaire mais cette méthode est indépendante de la charge de l'antenne corps.

Pour les deux solutions, il est indispensable de maintenir le canal d'émission ouvert pendant la réception. Ceci nécessite une modification, au sein du logiciel, d'un fichier concernant l'antenne. Cette synchronisation forcée ne peut pas être coupée à nouveau c'est-à-dire pendant l'émission de l'impulsion d'excitation de la séquence, il faut donc séparer l'expérience ERETIC de la vraie expérience spectroscopique. Cependant, il n'y a pas de perte de temps substantielle, puisque l'acquisition ERETIC dure moins d'une minute.

Un protocole de recherche clinique, étude ouverte monocentrique sans bénéfice individuel direct, a été établi entre le CHU de Nantes (promoteur), le Dr H Desal (coordonnateur principal) et la société Siemens AG, Medical Solutions (département ressources et développement) :

« Validation de la méthode ERETIC en spectroscopie protonique sur un imageur clinique de 1,5 Tesla » (BRD 06/04-B).

IV-1-1 Matériels et Méthodes

IV-1-1-1 Fantômes

Deux fantômes ont été créés :

Préparation du fantôme A : 3,6 g de choline et 2,5 g de NaN_3 sont dissouts dans 2,6 litres d'une solution de phosphate de potassium 100 mM tamponnée à pH = 7. Le pH est ajusté à 7,2. La solution est filtrée et transvasée dans une sphère en plexiglas de 2,5 litres.

Préparation du fantôme B : 274 mg de NAA, 164 mg de créatine, 52 mg de choline, 169 mg de myo-inositol, 230 mg de glutamate de sodium et 120 mg de NaN_3 sont dissouts dans 87,5 ml d'une solution de phosphate de potassium 100 mM tamponnée à pH = 7 et 37,5 ml de D_2O . Le pH est ajusté à 7,2. La solution est filtrée et transvasée dans un ballon en verre de 100 mL.

Les concentrations en eau et en métabolites ont été mesurées en spectroscopie RMN haute résolution à 500 MHz (spectromètre avance DRX 500, Bruker) du laboratoire CEISAM (Université de Nantes), à partir d'un prélèvement sur chacun des fantômes A et B.

Solution de référence dans du D_2O : Une solution de 2,5-diméthyl-2,5-hexanediol à 10 mM dans 10 mL de D_2O a été préparée de la façon suivante: dans une fiole jaugée de 10 mL ont été pesés 14,6 mg de 2,5-diméthyl-2,5-hexanediol auxquels ont été ajoutés 10 mL de D_2O . Référence interne : 2,5-diméthyl-2,5-hexanediol pur à 97 %, provenant de chez AVOCADO, produit solide, contenance : 100 g.

Préparation des tubes RMN : Dans un pilulier d'environ 4 mL sont ajoutés successivement 500 μL de la solution de référence dans D_2O et 500 μL prélevés sur le fantôme A ou B, ces volumes ont été prélevés à l'aide de seringue en verre Hamilton. Le tout est bien homogénéisé puis filtré directement dans le tube RMN 5 mm. La hauteur d'échantillon dans un tube 5 mm est environ de 6,6 cm et ce dans ces conditions de préparation.

Le fantôme A contient de la Choline (5,1 mM), de l'eau (55,2 mM) et du dotarem (1 ‰).

Le fantôme B contient du Naa (11,5 mM), de la Choline (2,6 mM), de la Créatine (8,3 mM), du Myo-Inositol (14,1 mM), Glutamate (10,4 mM), de l'eau (39,8 mM) et du dotarem (1 ‰).

IV-1-1-2 Volontaires

10 volontaires sains ont donné leurs consentements éclairés pour participer à l'étude au sein du protocole de recherche clinique (BRD 06/04-B) approuvé par le CCPPRB de l'établissement (CHU de Nantes, promoteur de l'étude). 4 femmes et 6 hommes âgés de 33,5 ans en moyenne (21 à 47 ans). Aucune pathologie cérébrale fortuite n'a été découverte sur les acquisitions morphologiques.

IV-1-1-3 Acquisitions & Post-Traitement

Les mesures spectroscopiques ont été réalisées dans l'IRM corps entier (Sonata, Siemens 1,5 T) avec une antenne « tête » (CP-Headcoil). Les acquisitions ont été obtenues avec la séquence PRESS (TR = 3000 ms, voxel de 8 mm³) et à TE = 30 ms et 135 ms, avec (32 scans) et sans (2 scans) suppression du signal de l'eau.

5 mesures ont été faites sur les fantômes et une seule pour chaque volontaire.

L'expérimentation se déroule selon une succession d'étapes :

- Une acquisition de repérage axiale, coronale et sagittale en pondération « TrueFisp 2D » est réalisée afin de positionner le voxel au sein de la substance blanche du centre ovale gauche.
- Ces images réalisées dans les trois plans de l'espace permettent de vérifier l'absence d'anomalie morphologique au niveau cérébral. La lecture sera réalisée par un neuroradiologue senior.
- Homogénéisation automatique du champ magnétique de l'IRM et vérification que la largeur à mi-hauteur du pic de l'eau est inférieure à 5 Hz.
- L'expérimentation a comporté une acquisition PRESS monovoxel à deux temps d'écho (TE 30 et 135 ms), TR 3000 ms, taille du voxel de 20x20x20 mm (8 mm³), un nombre d'accumulations de 96, le signal est décrit en 1024 points. Chaque acquisition à chaque TE était précédée d'une acquisition sans suppression du pic de l'eau (même constante d'acquisition mais avec seulement 2 sommations).
- Avant chaque série de volontaire, une acquisition sur les fantômes A et B a été réalisée. Cette acquisition servant de référence pour valider le signal de calibration ERETIC.

IV-1-2 Résultats

IV-1-2-1 Création du signal ERETIC

Le signal ERETIC ne pouvant être spatialement localisé, la séquence ERETIC est de type FID (free induction decay). Pendant la réception du signal RMN, une impulsion rectangulaire de 5 ms (Signal ERETIC) est émise par l'antenne « corps » 5 ms après le début de l'échantillonnage du signal (Figure n° IV-2a). L'amplitude de cette impulsion est déterminée par le paramètre TRA (transmission reference voltage). Ce paramètre, qui peut être défini dans le protocole, correspond dans une utilisation classique de l'imageur, à la calibration de l'émetteur.

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

Figure n° IV-2 : Création du signal ERETIC (a) : une impulsion rectangulaire de 5 ms est émise par l'antenne « corps » 5 ms après le début de l'échantillonnage du signal (b) : signal ERETIC dans le domaine temporel (c) : signal ERETIC dans le domaine fréquentiel.

IV-1-2-2 Traitement des données

Les spectres en haute résolution ont été analysés de la façon suivante :

- multiplication du FID par une fonction exponentielle élargissant le spectre de 0,3 Hz,
- l'ajustement du spectre a été réalisé par un modèle mathématique Lorentzien en utilisant le logiciel Perch (PERCH NMR Software™, University of Kuopio, Finland).

Le traitement des spectres des fantômes et des volontaires a été réalisé en utilisant le logiciel « Syngo MR 2004 A optimisé » grâce aux développements méthodologiques présentés dans le chapitre II.

- Elimination du pic résiduel de l'eau
- Application d'un filtre exponentiel de 200 ms de largeur centré à 0 ms
- « zero-filling » de 2048 points avant transformation de Fourier
- Correction automatique de la phase d'ordre 0
- Correction automatique de la ligne de base au premier ordre grâce à la déclaration de 16 principaux métabolites pour un ajustement dans le domaine des fréquences.

IV-1-2-3 Analyse des Résultats

Une comparaison a été réalisée des résultats quantitatifs sur les principaux métabolites avec ceux de la littérature ainsi qu'avec ceux obtenus par la méthode de la référence interne (signal de l'eau).

Normalisation des pics

Le signal ERETIC acquis correspond à :

$$S_{\text{ERET}} = S_{\text{ERET}}^0 \cdot f_r \cdot f_c$$

où f_r dépend du gain de la chaîne de réception et f_c dépend de la charge de l'antenne réceptrice.

D'autre part, la surface du pic du métabolite "u" est donnée par la formule :

$$S_u = f_r \cdot f_c \cdot k \cdot u \cdot p_u$$

où k ne dépend pas du gain de réception ou de la charge de l'antenne réceptrice.

Le facteur f_r est différent pour le signal ERETIC, le spectre de l'eau et le spectre obtenu après suppression du signal de l'eau. Toutefois ces différences sont parfaitement connues et peuvent être prises en compte.

En conséquence:

$$S_u = \frac{k \cdot S_{\text{ERET}} \cdot u \cdot p_u}{S_{\text{ERET}}^0}$$

l'intensité normalisée du pic de métabolite peut dès lors être calculée :

$$I_u = \frac{S_u}{\rho_u \cdot S_{\text{ERET}}}$$

I_u est donc proportionnelle à la concentration $[u]$ et indépendante de la sensibilité de la chaîne réceptrice.

Calcul des concentrations de métabolites

Trois différentes méthodes de calcul de concentration (en négligeant les effets de la relaxation) ont été réalisées sur les deux fantômes et chez les 10 volontaires :

- 1) En utilisant le signal de l'eau comme référence

$$\text{Met}^{\text{pat}} = \text{Wa}^{\text{pat}} \cdot \frac{S_{\text{Met}}^{\text{pat}}}{S_{\text{Wa}}^{\text{pat}}} \cdot \frac{\rho_{\text{Wa}}}{\rho_{\text{Met}}} = \text{Wa}^{\text{pat}} \cdot \frac{I_{\text{Met}}^{\text{pat}}}{I_{\text{Wa}}^{\text{pat}}}$$

- 2) En utilisant ERETIC et le fantôme A comme référence

$$\text{Met}^{\text{pat}} = \text{Cho}^{\text{A}} \cdot \frac{I_{\text{Met}}^{\text{pat}}}{I_{\text{Cho}}^{\text{A}}}$$

- 3) En utilisant ERETIC et le fantôme B comme référence

$$\text{Met}^{\text{pat}} = \text{Met}^{\text{B}} \cdot \frac{I_{\text{Met}}^{\text{pat}}}{I_{\text{Met}}^{\text{B}}}$$

Les légendes “pat”, “A” et “B” correspondent aux mesures chez les volontaires et à la calibration sur les fantômes A et B respectivement.

Pour les volontaires, la concentration ($[Met]$) est convertie en millimoles par kilogramme de poids sec (C) en divisant par ρ_{brain} , la densité du cerveau (Kreis 1993).

$$C = \frac{\text{Met}}{\rho_b}$$

IV-1-3 Résultats

Les résultats obtenus sur les fantômes sont donnés dans le Tableau n° IV-1 et la Figure n°IV-3.

Les résultats obtenus sur les volontaires sont donnés dans le Tableau n° IV-2 et les Figures n° IV-4 et n° IV-5.

Tableau n° IV-1: Concentrations mesurées sur fantômes $\pm$ écarts-types calculées sur cinq mesures (mM), (HR :concentration en haute résolution, Ref. Eau : concentrations mesurées avec l'eau comme référence, Ref. Eret. A : concentrations mesurées avec Eretic comme référence et le fantôme A pour calibration).

		EAU	NAA	Cho	Cr
H.R.		39.8 ± 0.1	11.49 ± 0.09	2.57 ± 0.01	8.27 ± 0.05
Ref. Eau	TE = 30 ms		11.0 ± 0.2	2.7 ± 0.8	7.5 ± 0.2
	TE = 135 ms		11.8 ± 1.2	2.7 ± 1.8	6.9 ± 0.4
Ref. Eret. A	TE = 30 ms	39.7 ± 0.3	11.1 ± 0.1	2.7 ± 0.5	7.6 ± 0.2
	TE = 135 ms	41.7 ± 1.6	12.5 ± 1.0	2.9 ± 1.2	7.3 ± 0.3

Figure n° IV-3: Concentrations mesurées sur les fantômes (mM)

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

Tableau n°IV-2: Concentrations mesurées $\pm$ écarts-types calculés sur 10 volontaires (mM).
a : concentrations mesurées avec l'eau pour référence, b : concentrations mesurées avec
Eretic pour référence et le fantôme A pour calibration, c : concentrations mesurées avec
Eretic pour référence et le fantôme B pour calibration.

		NAA + NAAG	Cho	Cr
Ref. Eau ^a	TE = 30 ms	12.5 $\pm$ 1.5	1.6 $\pm$ 0.2	6.6 $\pm$ 0.7
	TE = 135 ms	32.2 $\pm$ 4.7	5.4 $\pm$ 0.7	14.7 $\pm$ 1.9
Ref. Eret. A ^b	TE = 30 ms	11.8 $\pm$ 1.4	1.6 $\pm$ 0.2	6.3 $\pm$ 0.7
	TE = 135 ms	10.1 $\pm$ 1.6	1.7 $\pm$ 0.2	4.7 $\pm$ 0.7
Ref. Eret. B ^c	TE = 30 ms	11.6 $\pm$ 1.3	1.5 $\pm$ 0.2	6.9 $\pm$ 0.8
	TE = 135 ms	9.2 $\pm$ 1.5	1.6 $\pm$ 0.2	5.4 $\pm$ 0.7

Figure n° IV-4: Comparaison entre les concentrations de métabolites chez 10 volontaires mesurées à partir de la référence de l'eau (C^{Eau}) et celles mesurées à partir de la méthode ERETIC et le fantôme A (C^{ERET-A}). La droite de régression linéaire est également reportée : $C^{ERET-A} = 0,94 C^{Eau} + 0,02$ avec $R^2 = 0,997$).

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

Figure n°IV-5: Comparaisons entre les concentrations de métabolites chez 10 volontaires mesurées à partir de la référence de l'eau (C^{Eau}) et celles mesurées à partir de la méthode ERETIC et le fantôme B (C^{ERET-B}). La droite de régression linéaire est également reportée : $C^{ERET-B} = 0,99 C^{Eau} + 0,02$ avec $R^2 = 0,996$).

QuickTime™ and a
decompressor
are needed to see this picture.

IV-1-4 Discussion

La majorité des études de la littérature de SRM-¹H portant sur la pathologie cérébrale présentent leurs résultats sous forme de rapports d'intensités de métabolites (ratio). Même si de nombreux auteurs (Meyerand 1999, Tong 2004, Stadlbauer 2006) ont démontré que l'utilisation semi-quantitative des ratios de métabolites induisait une variabilité importante des résultats en comparaison avec la quantification absolue des concentrations (Li 2003).

Il s'agit d'une méthode simple, mais dont le principal défaut est de méconnaître les variations globales des métabolites en particulier de la créatine qui est le dénominateur le plus fréquemment utilisé. Le besoin de quantification absolue par SRM-¹H *in vivo* est notamment apparu nécessaire lors d'études sur le développement cérébral normal. Des variations du pic de créatine, qui était considérée comme stable et constante, ont été mises en évidence, et il est maintenant clair qu'une telle approximation n'est plus admissible.

De nombreuses stratégies de quantification absolue ont été utilisées (Kreis 1997): méthode par référence externe (Christiansen 1993) ; calibration par fantôme externe (« replace-and-match » technique) ; méthode utilisant le signal interne de l'eau (Barker 1993, Ernst 1993, Michaelis 1993, Keevil 1998, Tong 2004) ; principe de réciprocité (Jost 2005).

La méthode ERETIC permet d'obtenir un signal de référence électronique stable (variation inférieure à 2 %) qui est recueilli en même temps que le signal RMN. Ce signal est généré par le canal RF et émis par une antenne large bande additionnelle. Dans le domaine de la spectroscopie protonique, cette méthode a déjà démontré son efficacité pour plusieurs applications (Barantin 1997, Silvestre 2001, Michel 2004) et est en cours d'adaptation pour le contrôle-qualité des appareils. La méthode ERETIC constitue une étape essentielle vers la quantification absolue des données acquises en spectroscopie RMN. Le développement de la méthode ERETIC sur l'appareil corps entier 1,5 Tesla du CHU de Nantes nous a permis de normaliser entre eux les spectres obtenus à des fins de quantification absolue des métabolites cérébraux avec moins de 3 % d'erreur moyenne.

IV-1-4-1 Comparaison entre TE 30 ms et TE 135 ms

Bien que les spectres obtenus à TE = 135 ms soient plus faciles à quantifier, la différence des temps de relaxations entre les métabolites et le signal de référence (choline ou eau interne) ne

peut être négligée tout spécialement en acquisition *in vivo*. C'est la raison pour laquelle les valeurs obtenues à TE = 135 ms sont plus éloignées de celles qui sont obtenues en RMN haute résolution (sur fantômes) ou des valeurs de la littérature (pour les volontaires).

La discordance de résultats entre les deux TE est d'autant plus grande que le signal de l'eau est choisi comme référence. Ceci pouvant être attribué à la différence des temps de relaxations T2 qui est plus marquée entre l'eau et les métabolites, qu'entre deux métabolites eux-mêmes.

IV-1-4-2 Concentrations obtenues avec ERETIC comme référence

Les deux méthodes utilisant ERETIC comme référence donnent des résultats proches, chez les volontaires, en termes de moyennes et de coefficient de variation. Le R^2 est légèrement meilleur avec le fantôme A, mais la pente est plus proche de 1 avec le fantôme B (Figure n° IV-4 et n° IV-5). De plus, les résultats obtenus avec ERETIC sont proches de ceux qui sont obtenus en RMN haute résolution (pour les fantômes) et des valeurs de la littérature (pour les volontaires). Toutefois nous avons constaté une diminution de la précision des mesures sur fantômes lors d'acquisitions répétitives.

L'amplitude du signal ERETIC ne reste constante qu'à la condition que la charge de l'antenne corps reste la même durant les différentes acquisitions. Ce fut le cas lors de notre étude car la morphologie de nos volontaires permettait un coefficient de remplissage de l'antenne assez homogène. Toutefois, nous considérons, par anticipation, que cela pourrait ne pas être le cas sur une population plus importante. Cet inconvénient pourrait être compensé en utilisant une antenne « tête » uniquement réceptrice. L'impulsion RF pourrait, alors, être émise par l'antenne « corps » et grâce au principe de réciprocité (Jost 2005), la variation de charge de l'antenne pourrait être quantifiée par la valeur du « transmitter voltage » (TRA) obtenue par calibration d'une impulsion non selective de 90°.

Dans ce cas, le signal ERETIC transmis sera calculé par :

$$S_{\text{ERET}}^t = S_{\text{ERET}}^0 \cdot f_t$$

où f_t dépend de la sensibilité de l'antenne.

Donc:

$$S_{\text{ERET}}^t = k_t \cdot \frac{S_{\text{ERET}}^0}{\text{TRA}} \quad (k_t \text{ et } S_{\text{ERET}}^0 \text{ sont indépendants de l'antenne}).$$

IV-1-4-3 Quantification Absolue

La spectroscopie protonique est un outil unique et original d'analyse du métabolisme cérébrale *in vivo*. Elle est capable de détecter et d'observer les variations des métabolites présents en faible quantité (quelques milliMoles/litre) au sein d'un organe, le cerveau, où l'eau domine très largement. Mais certains auteurs (Talos 2006) soulignent, avec ironie, que bien qu'utilisé en routine depuis plus de 40 ans dans les domaines de physique, de chimie et de biochimie, son rôle reste mineur dans son exploitation médicale. Il est donc important de constater que nous n'avons pas encore trouvé la méthodologie adéquate, validée et universellement utilisable.

L'application sur des imageurs cliniques de la méthode ERETIC laisse espérer une quantification absolue des métabolites cérébraux en s'affranchissant de l'ensemble des facteurs confondants qui aboutissent à une littérature parfois contradictoire d'un centre à l'autre. Idéalement, la quantification absolue nécessite un référentiel constant lors de conditions d'expérimentations, physiologiques et pathophysiologiques variées (Tong 2004).

Une quantification absolue nécessite deux étapes :

- La détermination précise, fiable et reproductible des valeurs de pics de métabolites
- La conversion de ces valeurs en concentrations en utilisant une procédure de calibration utilisable quel que soit l'imageur clinique.

Le principe de base de la quantification absolue repose sur le fait que l'aire sous la courbe d'un métabolite est directement proportionnelle à sa concentration. Différentes stratégies de quantification conduisent à différents standards de concentration. 2 standards de concentration sont habituellement utilisés :

La Molarité (nombre de moles de métabolites par litre d'eau dans le cerveau)

La Molalité (nombre de moles de métabolites par kilogramme d'eau dans le cerveau)

(Knight-Scott 2003)

En principe, on peut convertir l'une en l'autre en utilisant une conversion qui nécessite de connaître la densité spécifique du tissu cérébral.

Selon de Graff et Rothman (2001) les concentrations normales des métabolites (substance blanche du lobe pariétal) obtenus en SRM-¹H à TE 30 ms sont :

NAA	9,6 mMol/Kg poids humide $\pm$ 3,0 (déviati on standard)
tCr	7,0 mMol/Kg poids humide $\pm$ 2,0 (déviati on standard)
tCho	1,8 mMol/Kg poids humide $\pm$ 0,5 (déviati on standard)

Ces résultats sont concordants avec ceux qui sont obtenus avec ERETIC (Tableau n° IV-2) mais nos écarts-types sont inférieures.

Par contre, Tong *et al.* (2004) retrouvent des valeurs de concentrations deux fois supérieures :

NAA	22,7 mMol $\pm$ 2,4 (déviati on standard)
tCr	11,8 mMol $\pm$ 1,5 (déviati on standard)
tCho	3,7 mMol $\pm$ 0,6 (déviati on standard)

avec des variations selon la région anatomique cérébrale étudiée. Les concentrations en Naa et Cr sont plus élevées dans le cortex occipital et les noyaux gris profond et la concentration en Cho plus élevée dans la protubérance et les noyaux gris profond. De même, des modifications des concentrations apparaissent naturellement avec le vieillissement physiologique (Gruber 2007).

Pour Kreis (1997) les différents résultats obtenus par diverses équipes sont principalement dûs aux différentes méthodes de correction de la ligne de base et aux traitements pour extraire la valeur des pics.

De nombreuses stratégies de quantification absolue ont été utilisées (Kreis 1997):

Méthode par référence externe (Christiansen 1993)

Calibration par fantôme externe (« replace-and-match » technique)

Méthode utilisant le signal interne de l'eau (Barker 1993, Ernst 1993, Michaelis 1993, Keevil 1998, Tong 2004)

Principe de réciprocité (Jost 2005)

La méthode par référence externe utilise un tube d'une solution de référence, dont la concentration et les temps de relaxations sont connus, placée dans l'antenne de radio-fréquence. Les spectres *in vivo* du patient et du tube sont réalisés durant la même expérimentation. Ce tube externe peut introduire des phénomènes de distorsion du champ magnétique statique pouvant gêner l'homogénéisation et la suppression du signal de l'eau.

Le principe de la calibration par fantôme externe (« replace-and-match » technique) est de remplacer le patient par un fantôme qui simule aussi parfaitement que possible le coefficient de remplissage et la charge de l'antenne obtenus *in vivo*. Le fantôme contient habituellement une solution se rapprochant des propriétés de conductivité électrique du tissu cérébral humain (Duc 1998). Il s'agit d'une technique difficilement utilisable en routine et dont la mise en œuvre est délicate et consommatrice de temps (Jansen 2006).

Ces deux stratégies de quantification, qui nécessitent une mesure supplémentaire sur un fantôme, sont exigeantes et doivent être réalisées dans les mêmes conditions expérimentales de gain du récepteur que l'acquisition *in vivo*.

La calibration par le signal interne de l'eau est une méthode très utilisée dans la littérature (Barker 1993, Ernst 1993, Keevil 1998). Sur un même voxel, sont réalisées des acquisitions avec et sans suppression du signal de l'eau. La concentration de l'eau obtenue sans suppression servant de référence endogène. Pour Keevil *et al.* (1998) il s'agit de la seule méthode pouvant être immédiatement utilisable sur toutes les machines mais également celle donnant la meilleure précision et reproductibilité inter-site. Sur 11 sites différents, et pour une cinquantaine de volontaires sains, les concentrations obtenues sont en totale concordance avec nos résultats et ceux de la littérature :

NAA	10,0 mM $\pm$ 3,4 (déviatiion standard)
tCr	6,5 mM $\pm$ 3,7 (déviatiion standard)
tCho	1,9 mM $\pm$ 1,0 (déviatiion standard)

Toutefois certaines limites doivent être considérées lors de l'utilisation de l'eau comme référence interne. Cette méthode doit tenir compte des variations du contenu en eau au sein des différents compartiments cérébraux (substance blanche et substance grise), avec les régions anatomiques et le vieillissement physiologique ainsi que dans certaines conditions pathologiques.

Le principe de réciprocité considère (pour les antennes émettrice – réceptrice) que le courant externe nécessaire, pour induire un certain B_1 spatialement localisé (calibration de l'émission) est inversement proportionnel au courant induit dans la même antenne par un B_1 prédéfini (réception du signal RMN). La stratégie de calibration nécessite la détermination du champ B_1 local, ce qui peut être fait en mesurant l'amplitude du courant nécessaire pour obtenir un signal maximal.

Pour Kreis (1997) aucune méthode de quantification n'est parfaite mais dans le cadre de l'utilisation au service de la pathologie cérébrale, la calibration par la référence de l'eau interne semble la plus robuste et la plus directement applicable. Toutefois, ERETIC présente l'avantage de ne pas être sensible aux variations de concentration en eau, notamment dans les phénomènes pathologiques. Nous avons également montré qu'ERETIC était aussi facile à mettre en oeuvre que l'utilisation d'une référence interne avec un principe proche de celui de la substitution par un fantôme sans ces inconvénients de mesure à chaque patient.

Sur notre population de volontaires l'utilisation de la méthode ERETIC, calibrée sur les fantômes A et B donne des résultats semblables en terme de moyennes et de déviations standards. De plus, nos résultats *in vivo* sont proches de ceux obtenus en haute résolution et de la littérature avec une excellente corrélation avec les valeurs utilisant l'eau comme référence interne. L'application de cette méthode chez des volontaires sains permet de s'affranchir de tout biais concernant le signal de l'eau et il peut donc en être déduit que les deux méthodes donnent des résultats concordants et fiables. Dans le cas d'exploration de processus pathologique, ERETIC permet de ne pas être exposé aux incertitudes et sources d'erreurs liées à la valeur du signal de l'eau. Cette valeur pourra alors être considérée comme un paramètre additionnel d'évaluation.

Les contraintes liées à cette technique sont :

- la nécessité d'une calibration du signal ERETIC sur un fantôme de concentration connue
- et l'acquisition supplémentaire du signal ERETIC chez tous les patients ou volontaires

Lors de notre étude préliminaire, nous avons calibré le signal ERETIC chaque demi-journée, toutefois la fréquence de ces calibrations nécessite d'être évaluée de façon plus précise et il est probable qu'une fréquence moins rapprochée donne d'aussi bons résultats. Concernant l'acquisition ERETIC supplémentaire, celle-ci prend moins d'une minute et ne pénalise en rien la durée totale du temps passé par le patient dans l'IRM.

IV-1-5 Conclusion

La spectroscopie cérébrale est en voie de devenir une séquence de routine de l'exploration cérébrale et elle fait maintenant partie de la classification commune des actes médicaux (CCAM) sous la référence AAQN001 à 3. Toutefois, les développements dans le domaine des neuro-sciences se heurtent à quelques difficultés résiduelles et en particulier de disposer de valeurs contrôles, fiables et reproductibles, des métabolites cérébraux étudiés. Tout profil métabolique d'une exploration spectroscopique en pathologie neurologique se doit d'être comparé à des valeurs de référence dans une population de volontaires sains témoins. Malgré les progrès incontestables réalisés dans le traitement du signal, il n'existe pas à l'heure actuelle de méthode de quantification absolue qui fasse l'objet d'un consensus. La méthode ERETIC est une voie de recherche prometteuse dans la quantification absolue des métabolites cérébraux car elle permettra une comparaison fiable indépendante des variations de conditions expérimentales d'un site à l'autre.

La méthode ERETIC peut être facilement installée sur un imageur 1,5 Tesla clinique. Nos résultats préliminaires obtenus sur une petite population de volontaires confirment la fiabilité de cette technique qui permet de s'affranchir des nombreux biais des autres méthodes de quantification absolue. L'étape suivante permettra d'utiliser le signal de l'eau comme un paramètre d'évaluation supplémentaire indépendant et non plus comme référence interne. L'évaluation doit être poursuivie sur une population de patients dans le cadre d'un protocole de recherche clinique.

IV-2 Détermination du TE optimum à l'aide de l'ACP

L'un des paramètres importants de l'acquisition en SRM-¹H est le temps d'écho (TE). Des études spécifiques ont évalué les avantages et inconvénients respectifs de chacun des TE.

A TE court (< 35 ms) on minimise les effets de la relaxation T2. A 1,5 T, le temps de relaxation T2 moyen du NAA est de 422 ms ± 48, 356 ms ± 35 pour la Choline et 214 ms ± 23 pour la Créatine (Kreis 1993). La réduction de signal du NAA serait alors d'environ de 21 % à TE = 100 ms pour une diminution de 5 % à TE = 20 ms.

Tableau n° IV-3 : Réduction en pourcentage des pics du NAA et de macromolécules en fonction du TE

TE (ms)	NAA ¹	Macromolécules ²
20	4,6	33,0
30	6,9	45,1
50	11,2	63,2
130	26,5	92,6
260	46,0	99,4

Les données sont exprimées en pourcentage de réduction des pics du NAA et de macromolécules.

Simulation avec un hypothétique TE = 0 ms d'après Jansen 2006

1- T2 du Naa de 420 ms

2- T2 des macromolécules de 50 ms

Par contre, le signal des macromolécules ayant un T2 très court, il sera en grande partie éliminé d'un spectre à TE long (> 135 ms). Ce qui permettra une meilleure lisibilité de la ligne de base et une meilleure suppression du signal résiduel de l'eau.

L'objectif de ce travail, en utilisant les données acquises et la méthodologie présentée dans les chapitres II et III, a été de déterminer quel pouvait être le TE théorique optimum permettant de différencier au mieux les volontaires et les tumeurs gliales de notre population. Notre hypothèse consistait à considérer qu'il pouvait exister un TE « meilleur » que les traditionnels TE court ou long.

IV-2-1 Méthode

Le temps de relaxation T2 a été calculé (pour tous les volontaires et les patients de l'étude) par ajustement exponentiel des mesures des signaux obtenus aux 4 temps d'écho (30, 60, 135 et 270 ms). Grâce au niveau de signal estimé à TE = 0 ms (S0) et au T2, nous avons pu modéliser le niveau de signal des métabolites quel que soit le TE théorique, même négatif.

Ainsi, pour chaque TE, l'ensemble des rapports d'intensités calculées (pour tous les individus et pour NAA/Eau, Choline/Eau, Créatine/Eau et (Lipides+Lactate)/Eau) a été utilisé pour un nouveau calcul en composantes principales.

Nous avons calculé, pour chaque TE, le centre de gravité des nuages de point de chacun des 4 groupes (volontaires, grade II, III et IV) et la distance entre les centres de gravité. Le TE le plus pertinent est celui qui montre la plus grande distance entre les différents centres de gravité.

Pour vérifier nos possibilités de prévision du niveau de signal pour chaque métabolite, à l'aide du S0 et du temps de relaxation T2, nous avons comparé les données acquises expérimentalement et les données simulées pour les quatre TE (30, 60, 135 et 270 ms). Cette comparaison a été faite visuellement sur la cartographie en analyse de composantes principales et avec un t-test apparié des coordonnées des deux cartographies ACP.

IV-2-2 Résultats

Table n° IV-4 : Rappel des Concentrations et du T2 des principaux métabolites et de l'eau pour les quatre groupes.

	[NAA]	[Creatine]	[Choline]	T2 NAA	T2 Cr	T2 Cho	T2 (Lip+Lac)	T2 eau
Volontaires	11,76 ± 1,06	5,53 ± 0,6	1,34 ± 0,3	256.22 ± 30.73	169.71 ± 21.18	277.05 ± 94.88	85.38 ± 35.89	85.11 ± 3.51
Grade II	7.65 ± 2.04	5.66 ± 1.14	6.08 ± 1.13	195.50 ± 73.61	152.34 ± 32.08	268.20 ± 87.27	102.75 ± 10.13	163.29 ± 35.75
Grade III	8.19 ± 2.31	5.66 ± 2.40	6.41 ± 3.39	165.84 ± 84.2	127.46 ± 36.91	334.30 ± 171.77	116.43 ± 37.01	141.56 ± 32.99
Grade IV	8.12 ± 3.13	2.12 ± 1.04	5.26 ± 1.46	94.57 ± 5.70	129.32 ± 39.37	194.40 ± 67.44	92.68 ± 13.52	157.76 ± 29.43

Table n° IV-5 : Résultats du t-test apparié entre les coordonnées des cartographies ACP sur les rapports de métabolites (NAA/eau, Cr/eau, Cho/eau, LIP+LAC/eau) expérimentaux (PRESS) et simulés, à partir des S0 et du T2, aux quatre TE.

TE (ms)	p
30	0.483
60	0.483
135	0.975
270	0.334

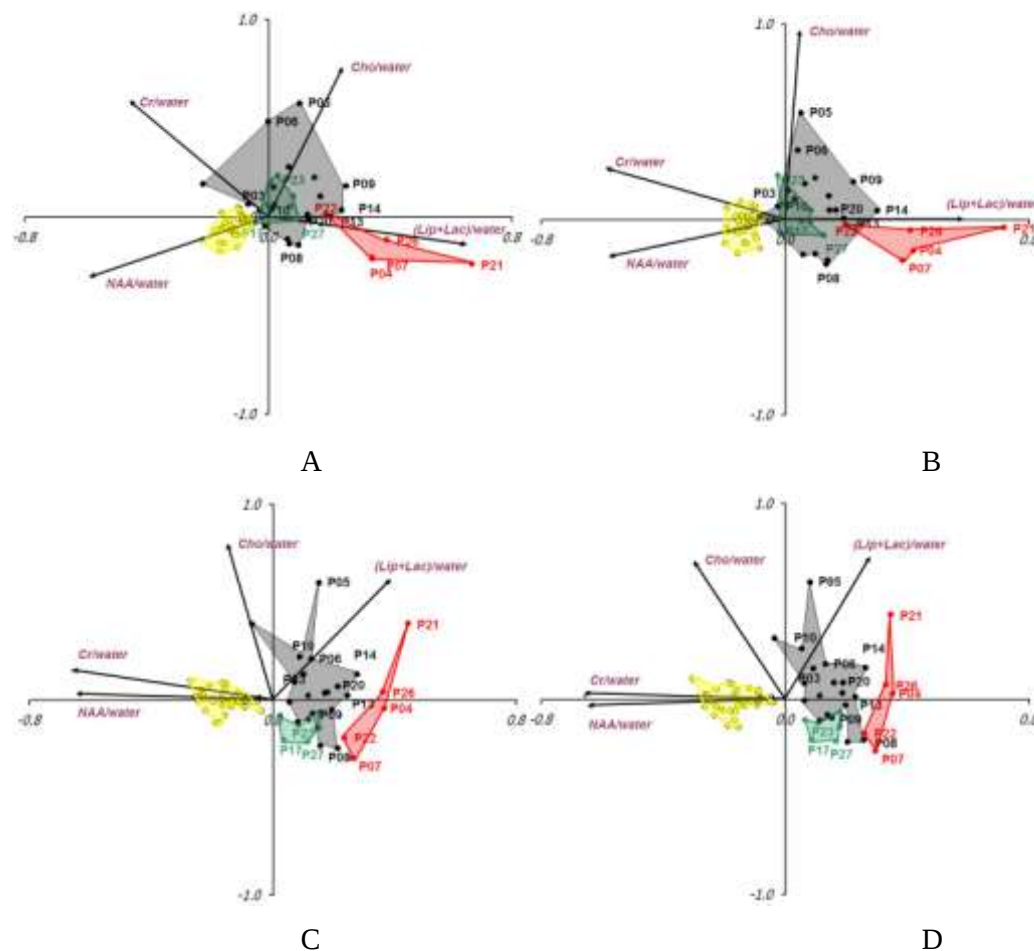
Dans le cas de STEAM, nous avons vérifié également que les graphes des valeurs expérimentales représentés à TM 50 ,200 et 400 ms étaient similaires aux graphes simulés, avec le même type de t-test que pour PRESS.

Table n° IV-6 : Résultats du t-test apparié entre les coordonnées des cartographies ACP sur les rapports de métabolites (NAA/eau, Cr/eau, Cho/eau, LIP+LAC/eau) expérimental (STEAM) et simulé, à partir des S0 et du T2.

TE/TM STEAM	p
TE 20/ TM 50	0,761
TE 20/ TM 200	0,713
TE 20/ TM 400	0,344
TE 60/ TM 50	0,837
TE 135/ TM 50	0,510
TE 270/ TM 50	0,630

Les résultats du t-test apparié ont donné des valeurs de p très supérieures à 0,05 (l'hypothèse étant : t-test pour des échantillons appariés. Les différences sont considérées comme significatives pour $p < 0,05$).

Figure n° IV-6 : Comparaison des graphes ACP PRESS (rapport des métabolites sur l'eau) expérimentaux et simulés. (A) et (B) sont les graphes à TE = 30ms. (C) et (D) sont les graphes à TE = 135 ms. La référentielle couleur de chaque groupe est identique au chapitre III.



Compte tenu de la grande similitude entre les résultats expérimentaux et les niveaux de signal calculés, nous avons simulé, à partir des T2 et des S0, le niveau de signal des métabolites à différents temps d'écho, y compris des temps d'écho négatifs. En Annexe n° 3, sont répertoriés l'ensemble des graphes ACP simulés (rapport de métabolites normalisé par l'eau) pour des TE de 0 à 400 msec. Les graphes simulés à TE négatifs ne sont pas illustrés.

Nous avons procédé à l'analyse en ACP à ces différents temps d'écho. Les distances entre les centres de gravité des nuages de points des quatre groupes nous ont permis de déterminer le temps d'écho optimum devant être appliqué pour différencier chaque type de tumeur (Tableau n°IV-6).

Tableau n° IV -7 : La distance maximale entre les centres de gravité des nuages de points des groupes d'individus est donnée ainsi que le temps d'écho avec lesquels ces distances sont obtenues. Les données ont été simulées grâce aux T2 et S0 calculés par ajustement exponentiel des mesures des métabolites aux TE (30, 60, 135 et 270 ms).

	Grade II	Grade III	Grade IV
Témoins	Dist = 0,415	Dist = 0,411	Dist = 0,582
	TE = 330 ms	TE = 400 ms	TE = 100 ms
Grade II		Dist = 0,166	Dist = 0,427
		TE = 150 ms	TE = 30 ms
Grade III			Dist = 0,413
			TE = 30 ms

IV-2-3 Discussion

De nombreuses controverses persistent sur l'existence d'un TE optimal permettant de donner une classification adéquate des processus pathologiques cérébraux (Devos 2004, Lukas 2004, Majos 2004). Notre méthodologie avec l'ACP nous a permis de tester différents TE pour visuellement et statistiquement différencier 4 groupes de patients. Nous avons trouvé une forte similitude entre les résultats expérimentaux et les données simulées grâce au S0 et au T2, ce qui renforce notre confiance dans l'interprétation des données simulées.

L'intérêt le plus pertinent cliniquement de cette évaluation serait de différencier les gliomes de type II des gliomes de type III, mais il s'agit également de la tâche la plus difficile.

L'ACP réalisée sur les résultats obtenus avec la séquence PRESS montre des résultats encourageants pour la classification des tumeurs cérébrales. Nous avons calculé les centres de gravité des nuages de points pour chaque groupe et grâce aux distances entre ces centres de gravité nous avons pu établir des TE optimum pour différencier les tumeurs cérébrales. Il n'existe pas de séparation claire entre le groupe des gliomes de bas grade et le groupe des

gliomes de grade III, mais les tumeurs de bas grade sont assez regroupées à l'intérieur du nuage des tumeurs intermédiaires.

L'utilisation de l'ACP nous montre que la plus grande distance séparant les centres de gravité des nuages de points des groupes II et III, est donnée à TE = 150 ms (0,166) mais que cette distance est très proche de celle obtenue à TE = 135 ms (0,164), dont l'avantage est la détection de lactate.

D'autre part, la meilleure séparation entre les grades II et III avec les glioblastomes (grade IV) est obtenue à TE = 30 ms. La distance entre les centres de gravité était la plus importante à ce TE (0,43 entre grade II et glioblastomes et 0,41 entre grade III et glioblastomes).

Les simulations des niveaux de signal, faites à partir des T2 et S0 calculés sont correctes, comme le démontrent les résultats du t-test. Il n'y a pas de différences significatives entre les deux types des graphes ACP (signaux mesurés et signaux simulés). Grâce à ces simulations, nous avons pu déterminer les temps d'écho les plus pertinents pour faire la séparation entre les différents groupes d'individus.

Ces constatations nous ont permis de simplifier notre protocole avec seulement trois TE (30, 60 et 135 msec) pour la mesure des niveaux de signaux des métabolites et le calcul des T2 et S0 et de rapports des métabolites sur le niveau du signal de l'eau. À partir de ces données, il sera possible de classer ces tumeurs en fonction de la zone où ils seront placés dans le graphe ACP.

En accord avec Majos *et al.* (2004), nous pensons que la complémentarité de TE court et de TE long améliore nos capacités de classer correctement les tumeurs gliales au sein d'un graphe ACP. L'originalité de notre travail est l'utilisation d'un TE intermédiaire à 60 msec qui permet une évaluation plus précise de la dynamique de la relaxation T2, et de disposer d'un spectre supplémentaire contenant la richesse des métabolites à T2 courts et d'une moindre contamination de la ligne de base. Toutefois, ce protocole nécessite une acquisition supplémentaire allongeant le temps d'examen, ce qui peut parfois être dommageable chez des patients perturbés et peu coopérants.

IV-2-4 Conclusion

Notre méthodologie de simulation appliquée pour la recherche d'un hypothétique TE optimum nous a permis de vérifier la validité des TE habituels dans la caractérisation des gliomes cérébraux. Nous sommes confortés dans l'utilisation en routine de 3 temps d'écho (30, 60 et 135 msec) permettant de recueillir une information plus riche sur l'évolution du signal des métabolites, et de renforcer la puissance et la pertinence de l'analyse en composante principale.

IV-3 Perspectives

Les immenses progrès de l'imagerie cérébrale par l'utilisation des multiples propriétés de la résonance magnétique nucléaire nous permettent de cumuler l'ensemble des informations physiologiques et biochimiques accessibles (Galanaud 2003, Cha 2006). Il n'est donc pas question de limiter l'exploration des tumeurs cérébrales à la seule spectroscopie protonique. Les protocoles d'IRM se doivent d'associer l'ensemble des techniques et séquences disponibles pour aboutir à une véritable exploration multimodale. La précision du diagnostic est améliorée par la confrontation des résultats des différentes séquences. Toutefois l'abondance des informations nécessite une analyse multiparamétrique performante pour définir des stratégies diagnostiques optimales. Le développement d'analyses spectrales automatisées comparées à des banques de données normalisées pour la région anatomique et l'âge du patient sont des voies encourageantes pour une application en clinique de routine.

Nous souhaitons poursuivre nos travaux dans deux directions principales:

1°- Dans le cadre d'une utilisation clinique dans notre service à court terme :

- Application de notre méthodologie de post-traitement en routine à l'imagerie spectroscopique (CSI) en la comparant aux données de l'imagerie fonctionnelle dans le cadre d'un protocole multimodalité et extension de notre méthodologie à d'autres pathologies.
- Poursuite de notre protocole d'application de la méthode ERETIC en sénologie, sur une population de 10 volontaires, dans le cadre de notre collaboration avec la société Siemens SA (**BRD 06/04-B**). Cette étude sera réalisée avec le service de radiologie du CRLCC de Nantes. Bien qu'éloigné de la neuroradiologie, la méthode ERETIC trouve un intérêt particulier en sénologie compte tenu de l'absence de référence interne et de l'utilisation d'une antenne de surface uniquement réceptrice.

2°- Dans le cadre d'une recherche plus fondamentale à long terme :

- Participation, au sein du laboratoire de recherche CEISAM, au projet ANR « MIMANSA », ayant pour objectif le développement de méthodologie interdisciplinaire de spectroscopie multidimensionnelle par résonance magnétique non invasive. Le laboratoire CEISAM (Nantes) est leader dans le développement des séquences de spectroscopie mutidimensionnelle (2D) ultra-rapide en haute résolution. L'ambition de ce projet multicentrique est de développer une méthodologie complète pour promouvoir les techniques de RMN 2D pour l'analyse non invasive du métabolisme cérébral.

La spectoscopie du proton dans son application médicale n'a pas encore épuisé toute ses « cartouches » ! Grâce à l'expertise des équipes de recherche fondamentale dans le monde de la biochimie, de la biophysique, de l'informatique et de la neurobiologie, une amélioration de nos performances diagnostiques doit être espérée à condition de développer une transdisciplinarité efficace et bien conduite.

À l'avenir, il nous faudra évaluer l'apport potentiel des hauts champs ($> 1,5$ T), permettant vraisemblablement d'atteindre une meilleure résolution spatiale $< 0,5 \text{ cm}^3$ (Barker 2001, Gruber 2007) avec 20% d'amélioration de la sensibilité par rapport à 1,5 T à TE court mais ce qui reste inférieur au 100% d'augmentation théoriquement. Les hauts champs toutefois comportent également des limites qui ne permettront probablement pas de résoudre l'ensemble des difficultés méthodologiques. À TE long, le rapport signal sur bruit est équivalent à 1,5 et à 3 Tesla. De plus, l'utilisation d'un très haut champ est responsable d'une mauvaise inversion du pic de Lactate à TE intermédiaire due à l'étroitesse de la bande passante de l'impulsion de refocalisation utilisée. De nouvelles techniques (BASING) sont à l'étude pour diminuer cet effet (Kelley 1999). Les hauts champ ouvrent des nouvelles voies d'exploration métabolique en permettant une imagerie du ^{23}Na (Bartha 2008) qui semble prometteuse dans la pathologie tumorale cérébrale.

CONCLUSION

Ce travail d'évaluation méthodologique nous a permis d'obtenir localement un référentiel d'utilisation de la SRM-¹H monovoxel en pratique neuroradiologique de routine. L'application clinique aux tumeurs gliales cérébrales reste un défi diagnostique et justifie la recherche d'outils performants et discriminants, facilement utilisables par les radiologues. Aujourd'hui, les neuroradiologues locaux se sont accaparés la technique qui ne nécessite pas de post-traitement déporté complexe et coûteux en temps.

Notre travail a abouti à la mise au point d'un post-traitement qui prend en compte toute la complexité des spectres SRM-¹H *in vivo* : J-modulation et effets de 2nd ordre compris. Ce post-traitement permet de façon reproductible et sans intervention manuelle d'obtenir une quantification fiable des principaux métabolites en réduisant par un facteur 5 l'erreur d'adaptation tout en gardant la convivialité du protocole proposé par le constructeur.

Nous avons évalué plusieurs méthodologies d'acquisition pour ne retenir que trois TE qui sont les plus informatifs dans la discrimination des processus gliaux cérébraux. Il est maintenant très classique dans la littérature de considérer le caractère complémentaire d'un TE court ($\leq$ à 30 ms) et d'un TE long (environ 135 ms) mais l'originalité de notre protocole d'acquisition est d'utiliser un TE intermédiaire à 60 ms qui s'affranchit de la complexité du spectre à TE court tout en gardant plus d'informations que le spectre à TE long lors de processus pathologique.

L'utilisation de l'analyse en composantes principales des signaux des métabolites normalisés par l'eau est l'outil le plus performant, selon nous, pour situer visuellement une tumeur gliale dans un graphe qui renseigne sur l'agressivité de la lésion. La séparation des différents grades est très nette entre les bas grades et les glioblastomes. Toutefois, la différenciation entre les grades II et III reste moins tranchée. Mais il faut garder à l'esprit qu'une classification est par nature arbitraire et que la réalité est en fait une évolution continue de ces tumeurs d'un grade à l'autre.

Le couplage de l'analyse en composantes principales et de la simulation des intensités à différents TE est une approche qui nous a permis de préciser et de rationaliser le choix des TE optimaux. Cette stratégie est transposable à d'autres pathologies et pourrait permettre de gagner un temps précieux dans la mise au point de protocoles d'acquisition.

Dans notre expérience, la correction des temps de relaxation et une approche semi-quantitative de premier niveau n'apporte pas une discrimination supplémentaire au sein des tumeurs gliales. Pour autant, nos développements en termes de quantification absolue avec la méthode ERETIC, dans le cadre d'un protocole de recherche clinique, sont très prometteurs et laissent entrevoir une approche nouvelle et originale pour accéder à une quantification absolue des métabolites et ce, quelle que soit la pathologie étudiée.

L'ensemble des développements que nous avons évalué, au niveau post-traitement des spectres ou analyse statistique des données, a été appliqué à la spectroscopie mono-voxel. Toutefois, les approches que nous proposons peuvent parfaitement être transposées en imagerie métabolite de type CSI.

Il est clair que notre travail comporte des facteurs limitants. En particulier, l'absence de prospective dans le recrutement des tumeurs gliales en dehors d'un protocole de recherche clinique est responsable de l'hétérogénéité de la population étudiée mais correspond à notre activité clinique au quotidien et au recrutement local. La plupart des patients de notre étude étaient soit en cours de traitement, soit surveillés après traitement. Il est aujourd'hui bien connu que la chimiothérapie et la radiothérapie sont responsables d'altérations du spectre y compris en controlatéral ce qui complique l'analyse. Par ailleurs, des tumeurs considérées en rémission ont été placées dans le même groupe que des lésions en récurrence puisque le critère de séparation était l'anatomopathologie. Pour autant, les résultats obtenus en ACP sont concordants et pertinents avec l'évolution clinique et pronostique des patients. Toutefois il apparaît indispensable d'inclure davantage de patients n'ayant reçu aucun traitement préalable et de procéder à une surveillance prospective par spectroscopie et par d'autres méthodes d'imagerie fonctionnelle.

La spectroscopie de façon isolée ne permettra que difficilement de classer parfaitement ces lésions au moment de leur analyse, mais donne sûrement une information pertinente sur leur potentiel évolutif. L'imagerie multi-modalité, associée aux données de la génomique et de la protéomique, sera la prochaine étape de la caractérisation tumorale en imagerie. La spectroscopie protonique basée sur une méthodologie fiable et reproductible devra analyser l'ensemble des compartiments tumoraux, de façon tridimensionnelle, pour participer à la classification tumorale.

La création de tumorothèque au sein de cancéro-pôle est très certainement un moyen pour développer cette transversalité et cette multi-modalité pour l'amélioration de nos connaissances des gliomes cérébraux et aider à l'élaboration d'une nouvelle classification

plus performante. Dans ce cadre, il est sans doute souhaitable de se conformer aux recommandations du réseau français de spectrométrie cérébrale clinique (Vion-Dury 1999) et aux règles de la « STARD guideline » (Bossuyt 2003) et si possible de s'intégrer au sein de groupes d'études multicentriques (« INTERPRET » et maintenant « eTUMOR »).

BIBLIOGRAPHIE

Ala-Korpella M, Usenius JP, Keisala J *et al.* Quantification of metabolites from single-voxel in vivo ^1H NMR data of normal human brain by means of time-domain data analysis. *MAGMA* 1995 ;3 :129-36.

Alimenti A, Delavelle J, Lazeyras F *et al.* Monovoxel ^1H magnetic resonance spectroscopy in the progression of gliomas. *Eur Neurol* 2007 ;58 :198-209.

Al-Okaili RN, Krejza Jn Woo JH *et al.* Intraaxial brain masses : MR imaging-based diagnostic strategy- initial experience. *Radiology* 2007 ;243(2) :539-50.

Anstett P , Namer I, Vilela D, Dietemann JL. La spectrométrie cérébrale du proton (^1H -SRM) en routine clinique : un mythe devenu réalité. 17^{ème} journées Francophones d'IRM – Paris 29 -30 mars 2003.

Bampoe JO, Bauman G, Cairncross JG, Bernstein M. Adult low grade gliomas. Natural history, prognosis factors and timing of treatment *In: The practical management of low-grade primary brain tumors*, Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, 1999.

Barantin L, Akoka S, Le Pape A. Dispositif d'analyse quantitative par Résonance Magnétique Nucléaire. Brevet Français CNRS 1995 (n° 95 07 651)

Barantin L, Le Pape A, Akoka S. A new method for absolute quantification of MRS metabolites. *Magnetic Resonance in Medicine* 1997 ; 38,179-82.

Barker PB, Hearshen DO, Boska MD. Single-voxel proton MRS of the human brain at 1.5T and 3.0T. *Magnetic Resonance in Medicine* 2001 ;45 :765-9.

Barker PB, Lin DDM. *In vivo* proton spectroscopy of the human brain. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 2006 ; 49 :99-128.

Barker FG 2nd, Chang SM, Huhn SL *et al.* Age and the risk of anaplasia in magnetic resonance-non-enhancing supratentorial cerebral tumors. *Cancer* 1997 ;80 :936-41.

Bartha R, Megyesi JF, Watling CJ. Low-grade glioma : correlation of short echo time ^1H -MR spectroscopy with ^{23}Na MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 2008 ;29 :464-70.

Behin A, Hoang-Xuan K, Carpentier AF, Delattre JY. Primary brain tumors in adults. *Lancet* 2003 ;361 :323-31.

Bénard F, Romsa J, Hustinx R. Imaging gliomas with positron emission tomography and single-photon emission computed tomography. *Seminars in nuclear medicine* 2003 ;33 :148-62.

Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE *et al.* Towards complete and accurate reporting of studies of diagnostic accuracy : the STARD initiative. *Radiology* 2003 ;226 :24-8.

Bottomley P. The trouble with spectroscopy papers. *Radiology* 1991 ;181 :344-50.

Bracard S, Taillandier L, Antoine V, Kremer S, Taillandier C, Schmitt E. Imagerie cérébrale des gliomes : diagnostic et suivi conventionnels. *J Radiol* 2006 ;87 :779-91.

Bruhn H, Frahm J, Gyngell ML *et al.* Noninvasive differentiation of tumors with use of localized H-1 MR spectroscopy in vivo : initial experience in patients with cerebral tumors. *Radiology* 1989;172:541-8.

Bulakbasi N, Kocaoglu M, Örs F, Tayfun C, Üçöz T. Combination of single-voxel MR spectroscopy and apparent diffusion coefficient calculation in the evaluation of common brain tumors. *AJNR Am J Neuroradiol* 2003;23:225-33.

Burtscher IM, Holtas S. Proton magnetic resonance spectroscopy in brain tumors: clinical applications. *Neuroradiology* 2001;43:345-52.

Castillo M, Kwok L, Mukherji SK. Clinical application of MR spectroscopy. *AJNR Am J Neuroradiol* 1996;17:1-15.

Castillo M, Kwok L. Proton MR spectroscopy of common brain tumors. *Neuroimaging Clin North Am* 1998;8:733-52.

Castillo M, Smith JK, Kwok L. Correlation of myo-inositol levels and grading of cerebral astrocytomas. *AJNR Am J Neuroradiol* 2000;21:1645-9.

Cha S. Update on brain tumor imaging: from anatomy to physiology. *AJNR Am J Neuroradiol* 2006;27:475-87.

Cha S, Knopp EA, Johnson G *et al.* Intracranial mass lesions: dynamic contrast-enhanced susceptibility-weighted echo-planar perfusion MR imaging. *Radiology* 2002;223:11-29.

Chawla S, Wang S, Wolf RL *et al.* Arterial spin-labeling and MR spectroscopy in the differentiation of gliomas. *AJNR Am J Neuroradiol* 2007;28:1683-9.

Christiansen P, Henriksen O, Stubgaard M *et al.* *In vivo* quantification of brain metabolites by ¹H MRS using water as an internal standard. *Magnetic Resonance Imaging* 1993;11:107-18.

Coons SW, Johnson PC, Scheithauer BW, Yates AJ, Pearl DK. Improving diagnostic accuracy and interobserver concordance in the classification and grading of primary gliomas. *Cancer* 1997;79:1381-93.

Cousins JP. Clinical MR spectroscopy: fundamentals, current applications, and future potential. *AJR Am J Roentgenol.* 1995;164:1337-47.

Daumas-Duport C, Beuvon F, Varlet P, Fallet-Bianco C. Gliomas: WHO and Saint-Anne hospital classification. *Ann. Pathol.* 2000;20:413-28.

Daumas-Duport C, Koziak M, Miquel C, Nataf F, Jouvet A, Varlet P. Reappraisal of the Sainte-Anne hospital classification of oligodendrogliomas in view of retrospective studies. *Neurochirurgie* 2005;51:247-53.

De Angelis LM. Brain tumors. *N Engl J Med* 2001;2:114-23.

De Graff RA, Rothman D. *In vivo* detection and quantification of scalar coupled ¹H NMR resonances. *Concepts Magn Reson* 2001;13:32-76.

Devos A, Lukas L, Suykens JAK *et al.* Classification of brain tumours using short echo time ¹H MR spectra. *Journal of Magnetic Resonance JMR* 2004;170:164-75.

Di Costanzo A, Scarabino T, Trojsi F *et al.* Multiparametric 3T MR approach to assessment of cerebral gliomas: tumor extent and malignancy. *Neuroradiology* 2006;48:622-31.

Dietemann JL, Bogorin A. Tumeurs cranio-encéphaliques: tumeurs intra axiales *in Neuro-Imagerie Diagnostique*, Elsevier Masson SAS 2007;Chp 7:183-93.

Dowling C, Bollen AW, Noworolski SM *et al.* Preoperative MR spectroscopic imaging of brain tumors: correlation with histopathologic analysis of resection specimens. *AJNR Am J Neuroradiol* 2001;22:604-12.

Duc CO, Weber OM, Trabesinger AH, Meier D, Boesiger P. Quantitative ^1H MRS of human brain *in vivo* based on the stimulation phantom calibration strategy. *Magnetic Resonance in Medicine* 1998;39:491-6.

Ellika SK, Jain R, Patel SC *et al.* Role of perfusion CT in glioma grading and comparison with conventional MR imaging features. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2007;28:1981-7.

Engelhard HH, Stelea A, Cochran EJ. Oligodendroglioma: pathology and molecular biology. *Surg Neurol* 2002;58:111-7.

Engelhard HH, Stelea A, Mundt A. Oligodendroglioma and anaplastic oligodendroglioma: clinical features, treatment, and prognosis. *Surg Neurol* 2003;60:443-56.

Ernst TH, Hennig J. Coupling effects in volume selective ^1H spectroscopy of major brain metabolites. *Magnetic Resonance in Medicine.* 1991;21:82-96.

Fan G, Sun B, Wu Z, Guo Q, Guo Y. *In vivo* single voxel proton MR spectroscopy in the differentiation of high-grade gliomas and solitary metastases. *Clinical Radiology* 2004;59:77-85.

Fayed N, Morales H, Modrego PJ, Pina MA. Contrast/Noise ratio on conventional MRI and Choline/Creatine ratio on proton MRI spectroscopy accurately discriminate low-grade from high-grade cerebral gliomas. *Acad Radiol* 2006;13:728-37.

Fayed N, Modrego PJ. The contribution of magnetic resonance spectroscopy and echoplanar perfusion-weighted MRI in the initial assessment of brain tumours. *Journal of Neuro-Oncology* 2005;72:261-5.

Fisher PG, Buffler PA. Malignant glioma in 2005: where to go from here? *JAMA* 2005;293:615-7.

Floeth FW, Pauleit D, Witzack HJ *et al.* Multimodal metabolic imaging of cerebral gliomas: positron emission tomography with ^{18}F -fluoroethyl-L-tyrosine and magnetic resonance spectroscopy. *J Neurosurg* 2005;102:318-27.

Franconi F., Chapon C., Lemaire L., Lehmann V., Barantin L., Akoka S. Quantitative MRI Signal Intensity Changes Measurement using a Calibrated Internal Signal (ERETIC). *Magnetic Resonance Imaging* 2002;20:587-92.

Frahm J, Merboldt KD, Hänicke W. Localized proton spectroscopy using stimulated echos. *J. Magn. Reson.* 1987;6:239-54.

Galanaud D, Nicoli F, Le Fur Y *et al.* Contribution of magnetic resonance spectrometry to the diagnosis of intracranial tumors. *Ann Med Interne* 2002;153(8):491-8.

Galanaud D, Nicoli F, Le Fur Y *et al.* Multimodal magnetic resonance imaging of the central nervous system. *Biochimie* 2003;85:905-14.

Galanaud D, Nicoli F, Figarella-Branger D *et al.* Spectroscopie par résonance magnétique des tumeurs cérébrales. *J Radiol.* 2006;87:822-32.

Galanaud D, Nicoli F. Brain magnetic resonance spectroscopy. *J Radiol.* 2007;88:483-96.

Gomez-Rio M, Rodriguez-Fernandez A, Ramos-Font C, Lopez-Ramirez E, Llamas-Elvira JM. Diagnostic accuracy of ²⁰¹Thallium-SPECT and ¹⁸F-FDG-PET in the clinical assessment of glioma recurrence. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 2008;35(5):966-75.

Govindaraju V, Young K, Maudsley AA. Proton NMR chemical shifts and coupling constants for brain metabolites. *NMR in biomedicine* 2000;3:129-53.

Grand S, Esteve F, Remy C, Rubin C, Le Bas JF. La spectroscopie ¹H: une approche métabolique des tumeurs cérébrales et leur suivi après irradiation externe. *Rev Med Interne* 1997;18:865-75.

Grand S, Kremer S, Tropes I *et al.* Spectroscopie ¹H, perfusion, diffusion: quelle place pour ces techniques lors du diagnostic et du suivi des principales tumeurs cérébrales sustentorielles de l'adulte. *Rev Neurol (Paris)* 2006;162(12):1204-20.

Granot J. Selected volume excitation using stimulated echoes (VEST). Applications to spatially localized spectroscopy and imaging. *J Magn. Reson.* 1986;70:488-92.

Gruber S, Frey R, Mlynarik V *et al.* Quantification of metabolic differences in frontal brain of depressive patients and controls obtained by ¹H-MRS at 3 Tesla. *Investigative Radiology* 2003;38:403-8.

Gruber S, Pinker K, Riederer F *et al.* Metabolic changes in the normal ageing brain: consistent findings from short and long echo time proton spectroscopy. *European Journal of Radiology* 2007 ;24: Epub ahead of print.

Haase A, Frahm J, Hänicke W, Matthaei D. 1H NMR chemical shift selective (CHESS) imaging. *Phys. Med. Biol.* 1985;30:341-4.

Hagberg G. From magnetic resonance spectroscopy to classification of tumors. A review of pattern recognition methods. *NMR Biomed* 1998;11:148-56.

Hajek M, Burian M, Dezortova M. Application of LCModel for quality control and quantitative in vivo 1H MR spectroscopy by short echo time STEAM sequence. *Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine* 2000;10:6-10.

Harada M, Uno M, Hong F, Hisaoka S, Nishitani H, Matsuda T. Diffusion-weighted in vivo localized proton MR spectroscopy of human cerebral ischemia and tumor. *NMR Biomed* 2002;15:69-74.

Hoang-Xuan K, Idhah A, Mokhtari K, Sanson M. Towards a molecular classification of gliomas. *Bull Cancer* 2005;92(4):310-6.

Hobbs SK, Shi G, Homer R, Harsh G, Atlas SW, Bednarski MD. Magnetic resonance image-guided proteomics of human glioblastoma multiforme. *J Magn Reson Imaging* 2003;18:530-6.

Hollingworth W, Medina LS, Lenkinski RE *et al.* A systematic literature review of magnetic resonance spectroscopy for characterization of brain tumors. *Am J Neuroradiol.* AJNR Am J Neuroradiol 2006;27:1404-11.

Howe FA and Opstad KS. ^1H MR spectroscopy of brain tumours and masses. *NMR in Biomed.* 2003;16:123-31.

Howe FA, Barton SJ, Cudlip SA *et al.* Metabolic profiles of human brain tumors using quantitative *in vivo* ^1H magnetic resonance spectroscopy. *Magn. Reson. Med.* 2003;49(2): 223-32.

Inglese M, Brown S, Johnson G, Law M, Knopp E, Gonen O. Whole-brain N-acetylaspartate spectroscopy and diffusion tensor imaging in patients with newly diagnosed gliomas: a preliminary study. *AJNR Am J Neuroradiol* 2006;27:2137-40.

Isobe T, Matsumura A, Anno I *et al.* Quantification of cerebral metabolites in glioma patients with proton MR spectroscopy using T2 relaxation time correction. *Magnetic Resonance Imaging* 2002;20:343-9.

Jansen JFA, Backes WH, Nicolay K, Kooi ME. ^1H MR spectroscopy of the brain: absolute quantification of metabolites. *Radiology* 2006;240(2):318-32.

Jost G, Harting I, Heiland S. Quantitative single-voxel spectroscopy: the reciprocity principle for receive-only head coils. *J Magn Reson Imaging* 2005;21:66-71.

Kaminogo M, Ishimaru H, Morikawa M *et al.* Diagnostic potential of short echo time MR spectroscopy of gliomas with single-voxel and point-resolved spatially localised proton spectroscopy of brain. *Neuroradiology* 2001;5:353-63.

Kanowski M, Kaufmann J, Braun J, Bernarding J, Tempelmann C. Quantification of simulated short echo time ^1H human brain spectra by LCModel and AMARES. *Magnetic Resonance in Medicine* 2004;51:904-12.

Keevil SF, Barbirolli B, Brooks JCW *et al.* Absolute metabolite quantification by *in vivo* NMR spectroscopy: II. A multicentre trial of protocols for *in vivo* localized proton studies of human brain. *Magnetic Resonance Imaging* 1998;16:1093-106.

Kelley DAC, Wald LL, Star-Lack JM. Lactate detection at 3T: compensating J coupling effect with BASING. *J Magn Reson Imaging* 1999;9:732-7.

Kelly PJ, Dumas-Duport C, Kispert DB, *et al.* Imaging-based stereotaxic serial biopsies in untreated intracranial glial neoplasms. *J Neurosurg* 1987;66:865-74.

Kimura T, Sako K, Gotoh T, Tanaka K, Tanaka T. *In vivo* single-voxel proton MR spectroscopy in brain lesions with ring-like enhancement. *NMR Biomed* 2001;14:339-49.

Kim JH, Chang KH, Na DG *et al.* 3T ^1H -MR spectroscopy in grading of cerebral gliomas: comparison of short and intermediate echo time sequences. *AJNR Am J Neuroradiol* 2006;27:1412-8.

Kim JH, Chang KH, Na DG *et al.* Comparison of 1.5T and 3T ^1H MR spectroscopy for human brain tumors. *Korean Journal of Radiology* 2006;7(3):156-61.

- Kimmich R, Hoepfel D. Volume selected multipulse spin-echo spectroscopy. *J. Magn. Reson.* 1987;72:379-84.
- Kleihues P & Cavenee WK eds. Pathology and genetics: tumours of the nervous system. In: WHO classification of tumours. Lyon (France): IARC Press, 2000:56-61.
- Knopp EA, Cha S, Johnson G *et al.* Glial neoplasms: dynamic contrast-enhanced T2-weighted MR imaging. *Radiology* 1999;211:791-8.
- Kondziolka D, Lunsford LD, Martinez AJ. Unreliability of contemporary neurodiagnostic imaging in evaluating suspected adult supratentorial (low grade) astrocytome. *J Neurosurg* 1993;79:533-6.
- Kraus JA, Koopmann J, Kastel P *et al.* Shared allelic losses on chromosomes 1p and 19q suggest a common origin of oligodendroglioma and oligoastrocytoma. *J Neuropathol Exp Neurol* 1995;54:91-5.
- Kreis R, Ernst T, Ross D. Absolute Quantification of water and metabolites in the human brain. I. compartments and water. *J. Magn. Reson.* 1993;102 :1-8.
- Kreis R, Ernst T, Ross D. Absolute Quantification of water and metabolites in the human brain. II. metabolites concentrations. *J. Magn. Reson.* 1993 ; 102 : 9-19.
- Kreis R, Ernst T, Ross D. Development of human brain: in vivo quantification of metabolite and water content with proton magnetic resonance spectroscopy. *Magnetic Resonance in Medicine* 1993;30:1-14.
- Kreis R. Quantitative localized ¹H MR spectroscopy for clinical use. *Journal of progress in nuclear magnetic resonance spectroscopy* 1997 ;31 :155-95.
- Kreis R, Slotboom J, Hofmann L, Boesch C. Integrated data acquisition and processing to determine metabolite contents, relaxation times, and macromolecule baseline in single examinations of individual subjects. *Magn Reson Med* 2005 ;54(4) :761-8.
- Kremer S, Grand S, Remy C *et al.* Assessment of the interest of cerebral blood volume mapping by MRI in the initial evaluation of brain tumors. *J Neuroradiol.* 2002 ;29 :105-13.
- Kreth FW, Muacevic A, Medele R, Bise K, Meyer T, Reulen HJ. The risk of haemorrhage after image guided stereotactic biopsy of intra-axial brain tumors-a prospective study. *Acta Neurochir.* 2001;143:539-46.
- Kuznetsov YE, Caramanos Z, Antel SB *et al.* Proton magnetic resonance spectroscopic imaging can predict length of survival in patients with supratentorial gliomas. *Neurosurgery* 2003;53:563-76.
- Kwock L, Smith JK, Castillo M *et al.* Clinical role of proton magnetic resonance spectroscopy in oncology: brain, breast, and prostate cancer. *Lancet Oncol* 2006;7:859-68.
- Lai PH, Ho JT, Chen WL *et al.* Brain abscess and necrotic brain tumor: discrimination with proton MR spectroscopy and diffusion-weighted imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 2002;23:1369-77.
- Law M, Cha S, Knopp EA, Johnson G, Arnett J, Litt AW. High-grade gliomas and solitary metastases: differentiation by using perfusion and proton spectroscopic MR imaging. *Radiology* 2002;222:715-21.

Law M, Yang S, Wang H *et al.* Glioma grading: sensitivity, specificity, and predictive values of perfusion MR imaging and proton MR spectroscopy imaging compared with conventional MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 2003;24:1989-98.

Le Bas JF, Kremer S, Grand S *et al.* L'imagerie RMN de perfusion: applications à l'étude de l'angiogénèse tumorale en pathologie cérébrale. *Bull Acad Natl Med* 2000;184:535-92.

Le Bas JF, Grand S, Krainik A, Lefournier V, Tropes I, Remy C. IRM de perfusion des tumeurs cérébrales. *J Radiol* 2006;87:807-21.

Le Bas JF. L'imagerie de perfusion est-elle utile à la caractérisation des tumeurs cérébrales. *J of Neuroradiology* 2007;34:287-9.

Leclerc X, Huisman T, Sorensen AG. The potential of proton magnetic resonance spectroscopy (1H-MRS) in the diagnosis and management of patients with brain Tumors. *Current Opinion in Oncology* 2002;3:292-8.

Li BSY, Wang H, Gonen O. Metabolite ratios to assumed stable creatine level may confound the quantification of proton brain MR spectroscopy. *Magnetic Resonance Imaging* 2003;21:923-8.

Lin AP, Tran TT, Ross BD. Impact of evidence-based medicine on magnetic resonance spectroscopy. *NMR in Biomedicine* 2006;19:476-483.

Loiseau H. Glioblastomes et astrocytomes anaplasiques *In Tumeurs cérébrales : du diagnostic au traitement.* Masson, Paris, 2004.

Longo L, Vidimari R. *In vivo* localized ¹H NMR spectroscopy : an experimental characterization of the PRESS technique. *Phys. Med. Biol.* 1994 ;39 :207-15.

Lucas L, Devos A, Suykens JAK *et al.* Brain tumor classification based on long echo proton MRS signals. *Artificial Intelligence in Medicine* 2004 ;31 :73-89.

Maher EA, Furnari FB, Bachoo RM *et al.* Malignant gliomas :genetics and biology of a grave matter. *Genes & Development* 2001 ;15 :1311-33.

Majos C, Alonso J, Aguilera C *et al.* Proton magnetic resonance spectroscopy (¹H MRS) of human brain tumours: assessment of differences between tumour types and its applicability in brain tumour categorization. *Eur Radiol.*, 2003, 13(3), 582-91.

Majos C, Julia-Sape M, Alonso J *et al.* Brain tumor classification by proton MR spectroscopy : comparison of diagnostic accuracy at short and long TE. *AJNR Am J Neuroradiol* 2004;25:1696-1704.

Mark DH, Flamm CR, Aronson N, Zeigler K, Bonnel CJ, Gere MA. Magnetic resonance spectroscopy for evaluation of suspected brain tumor. TEC assessment program. 2005;18:1-26 at http://www.bcbs.com/tec/vol18/18_01.pdf

Matsumura A, Isobe T, Takano S, Kawamura H, Anno I. Non-invasive quantification of lactate by MR proton spectroscopy and its clinical applications. *Clinical neurology and Neurosurgery* 2005;107:379-84.

Matsumura A, Isobe T, Anno I, Tanako S, Kawamura H. Correlation between choline and MIB-1 in human gliomas. A quantitative in proton MR spectroscopy study. *Journal of Clinical Neuroscience* 2005;12:416-20.

Meyerand ME, Pipas JM, Mamourian A, Tosteson TD, Dunn JF. Classification of biopsy-confirmed brain tumors using single-voxel MR spectroscopy. *AJNR Am J Neuroradiol* 1999;20:117-23.

Michaelis T, Merboldt KD, Bruhn H, Hänicke W, Frahm J. Absolute concentrations of metabolites in the adult human brain in vivo: quantification of localized proton MR spectra. *Radiology* 1993;187:219-27.

Michel N, Akoka S. The application of the ERETIC method to 2D-NMR. *Journal of Magnetic Resonance* 2004;168:118-23.

Miller BL. A review of chemical issues in ^1H NMR spectroscopy: N-acetyl-L-aspartate, creatine, and choline. *NMR Biomed* 1991;4:47-52.

Mittler M, Walters BC, Stopa EG. Observer reliability in histological grading of astrocytoma stereotactic biopsies. *J Neurosurg* 1996;85:1091-4.

Miwa K, Shinoda J, Yano H, Iwama T. Relatively decreased ^{11}C -Methionine uptake within the anaplastic component of a mixed-grade oligodendroglioma. *AJNR Am J Neuroradiol* 2007;28:2005-7.

Moller-Hartmann W, Herminghaus S, Krings T *et al.* Clinical application of proton magnetic resonance spectroscopy in the diagnosis of intra cranial mass lesions. *Neuroradiology* 2002;44:371-8.

Moonen CT, von Kienlin M, van Zijl PC, Cohen J, Gillen J, Daly P, Wolf G. Comparison of single-shot localization methods (STEAM and PRESS) for in vivo proton NMR spectroscopy. *NMR biomed.* 1989;2:201-8.

Murphy PS, Leach MO, Rowland IJ. Signal modulation in ^1H magnetic resonance spectroscopy using contrast agents: proton relaxivities of choline, creatine, and N-acetylaspartate. *Magnetic Resonance in Medicine* 1999;42:1155-8.

Murphy PS, Dzik-Jurasz ASK, Leach MO, Rowland IJ. The effect of Gd-DTPA on T1-weighted choline signal in human brain tumours. *Magnetic Resonance Imaging* 2002;20:127-30.

Nutt CL, Mani DR, Betensky RA, *et al.* Gene expression-based classification of malignant gliomas correlates better with survival than histological classification. *Cancer research* 2003;63:1602-7.

Oshiro S, Tsugu H, Komatsu F *et al.* Quantitative assessment of gliomas by proton magnetic spectroscopy. *Anticancer Res* 2007;27:3757-63.

Oh J, Henry RG, Pirzkall A *et al.* Survival analysis in patients with glioblastoma multiforme: predictive value of choline-to-n-acetylaspartate index, apparent diffusion coefficient and relative cerebral blood volume. *J Magn Reson Imaging* 2004;19:546-54.

Pattany PM, Massand MG, Bowen BC, Quencer RM. Quantitative analysis of the effects of physiologic brain motion on point-resolved spectroscopy. *AJNR Am J Neuroradiol* 2006;27:1070-3.

Petrou M, Sundgren PC, Pang Y, Rohrer S, Foerster B, Chenevert TL. Manually adjusted versus vendor-preset definition of metabolite boundaries impact on proton metabolite ratios. *Academic Radiology* 2007;14(3):340-3.

Pineda-Alonso N, Desal H, Baguet E, Toulgoat F, Akoka S. Accurate Determination of concentrations by localized proton magnetic resonance spectroscopy. *Instrumentation Science and Technology* 2008;36:71-80.

Pirzkall A, Nelson SJ, McKnight TR *et al.* Metabolic imaging of low-grade gliomas with three dimensional magnetic resonance spectroscopy. *Int J radiation Oncology Biol. Phys.* 2002 ;53 :1254-64.

Philippon J. Gliomes hémisphériques de bas grade *In Tumeurs cérébrales : du diagnostic au traitement.* Masson, Paris, 2004.

Podo F, Henriksen O, Bovée WMMJ, Leach MO, Leibfritz D, de Certaines JD. Absolute metabolite quantification by in vivo NMR spectroscopy: I. Introduction, objectives and activities of a concerted action in biomedical research. *Magnetic Resonance Imaging* 1998;16:1085-92.

Poptani H, Kaartinen J, Gupta RK, Niemitz M, Hiltunen Y, Kauppinen RA. Diagnostic assessment of brain tumors and non-neoplastic brain disorders *in vivo* using proton nuclear magnetic resonance spectroscopy and artificial networks. *J Cancer Res Clin Oncol* 1999;125:343-9.

Preul MC, Caramanos Z, Kasrai R *et al.* Accurate, non invasive diagnosis of human brain tumors by using proton magnetic resonance spectroscopy. *Nat Med* 1996;2:323-5.

Preul MC, Caramanos Z, Villemure JG *et al.* Using proton magnetic resonance spectroscopic imaging to predict *in vivo* the response of recurrent malignant gliomas to tamoxifen chemotherapy. *Neurosurgery* 2000;46:306-18.

Provencher SW. Estimation of metabolite concentrations from localized *in vivo* proton NMR spectra. *Magnetic Resonance in Medicine* 1993;30:672-9.

Provencher SW. Automatic quantitation of localized *in vivo* ^1H spectra with LCModel. *NMR in Biomedicine* 2001;4:260-4.

Pruel MC. Accurate non-invasive diagnosis of human brain tumors by using proton magnetic resonance spectroscopy. *Nature Med* 1996;2:323-5.

Rabinov JD, Lee PL, Barker FG *et al.* In vivo 3-T MR spectroscopy in the distinction of recurrent glioma versus radiation effects: initial experience. *Radiology* 2002;225:871-879.

Ratney H, Mitri F, Conradie Y, Cavassila S, van Ormondt D, Graveron-Demilly D. Time domain quantification with a metabolite basis set. In Proc. International Society of Magnetic Resonance in Medicine, 11th Scientific Meeting and Exhibition, Toronto. 1161, 2003.

Ricci R, Bacci A, Tugnoli V *et al.* Metabolic findings on 3T ^1H -MR spectroscopy in peritumoral brain edema. *AJNR Am J Neuroradiol* 2007;28:1287-91.

Rijpkema M, Schuurin J, Van der Meulen Y *et al.* Characterization of oligodendroglioma using short echo time ^1H MR spectroscopy imaging. *NMR Biomed* 2003;16:12-8.

Roser W, Hagberg G, Mader I *et al.* Assignment of glial brain tumors in humans by *in vivo* ¹H-magnetic resonance spectroscopy and multidimensional metabolic classification. *MAGMA* 1997;3:179-83.

Ross B, Bluml S. Magnetic resonance spectroscopy of the human brain. *The Anatomical Record* 2001;265:54-84.

Sabatier J, Ibarrola D, Malet-Martino M, Berry I. Brain tumors: interest of magnetic resonance spectroscopy for the diagnosis and the prognosis. *Rev Neurol (Paris)* 2001;8-9:858-62.

Sadeghi N, D'Haene N, Decaestecker C *et al.* Apparent diffusion coefficient and cerebral blood volume in brain gliomas: relation to tumor cell density and tumor microvessel density based on stereotactic biopsies. *AJNR Am J Neuroradiol* 2008;29:475-82.

Schlemmer HP, Bachert P, Herfarth KK, Zuna I, Debus J, van Kaick G. Proton MR spectroscopy evaluation of suspicious brain lesions after stereotactic radiotherapy. *AJNR Am J Neuroradiol* 2001;22:1316-24.

Schlemmer HP, Bachert P, Henze M *et al.* Differentiation of radiation necrosis from tumor progression using proton magnetic resonance spectroscopy. *Neuroradiology* 2002;44:216-22.

Segebarth CM, Balériaux DF, Luyten PR, den Hollander JA. Detection of metabolic heterogeneity of human intracranial tumors *in vivo* by H-1 NMR spectroscopy imaging. *Magnetic Resonance in Medicine* 1990;13:62-76.

Sibtain NA, Howe FA, Saunders DE. The clinical value of proton magnetic resonance spectroscopy in adult brain tumors. *Clinical Radiology* 2007;62:109-19.

Sijens PE, Oudkerk M. ¹H chemical shift imaging characterization of human brain tumor and edema. *Eur Radiol* 2002;12:2056-61.

Silvestre V, Gouptry S, Trierweiler M, Robins R, Akoka S. Determination of substrate and product concentrations in lactic acid bacterial fermentations by proton NMR using the ERETIC method. *Analytical Chemistry* 2001;73:1862-8.

Simonetti AW, Melssen WJ, Szabo de Edelenyi F, van Asten JAJ, Heerschap A, Buydens LMC. Combination of feature-reduced MR-spectroscopic and MR imaging data for improved brain tumor classification. *NMR Biomed* 2005;18:34-43.

Shimizu H, Kumabe T, Shirane R, Yoshimoto T. Correlation between choline level measured by proton MR spectroscopy and Ki-67 labeling index in gliomas. *AJNR Am J Neuroradiol* 2000;21:659-65.

Shukla-Dave A, Gupta RK, Roy R *et al.* Prospective evaluation of *in vivo* MR spectroscopy in differentiation of similar appearing intracranial cystic lesions. *Magnetic Resonance Imaging* 2001;19:103-10.

Smith JK, Castillo M, Kwok L. MR spectroscopy of brain tumors. *Magn Reson Imaging Clin N Am* 2003;11:415-29.

Smith JK, Kwok L, Castillo M. Effects of contrast material on single-volume proton MR spectroscopy. *AJNR Am J Neuroradiol* 2000;21:1084-9.

Soo TM, Bernstein M, Provias J, Tasker, Lozano A, Guha A. Failed stereotactic biopsy in a series of 518 cases. *Stereotac Funct Neurosurg*. 1995;64:183-96.

Stadlbauer A, Moser E, Gruber S *et al*. Improved delineation of brain tumors: an automated method for segmentation based on pathologic changes of ^1H -MRSI metabolites in gliomas. *Neuroimage* 2004;4:454-61.

Stadlbauer A, Gruber S, Nimsky C *et al*. Preoperative grading of gliomas by using metabolite quantification with high-spatial-resolution proton MR spectroscopic imaging. *Radiology* 2006;3:958-69.

Standards, options et recommandations 2002 (SOR 2002) pour la prise en charge des adultes atteints de gliomes intracrâniens (<http://www.fnclcc.fr>)

Talos IF, Mian AZ, Zou KH *et al*. Magnetic resonance and the human brain: anatomy, function and metabolism. *Cell Mol Life Sci* 2006;63:1106-24.

Tarnawski R, Sokol M, Pieniazek P *et al*. ^1H -MRS *in vivo* predicts the early treatment outcome of postoperative radiotherapy for malignant gliomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002;52:1271-6.

Tate AR, Majos C, Moreno A *et al*. Automated classification of short echo time *in vivo* ^1H brain tumor spectra: a multicenter study. *Magnetic Resonance in Medicine* 2003, 49(1), 29-36.

Technology Evaluation Center (TEC) assessment program. Magnetic resonance spectroscopy for evaluation of suspected brain tumor. Vol 18, n°1 June 2003.

Tedeschi G, Bertolino G, Campbell AS *et al*. Reproducibility of proton MR spectroscopic imaging finding. *J Neurosurg* 1996;17:1871-9.

Tedeschi G, Lundbom N, Raman R *et al*. Increased choline signal coinciding with malignant degeneration of cerebral gliomas: a serial proton magnetic resonance spectroscopy imaging study. *J Neurosurg* 1997;87:516-24.

Tong Z, Yamaki T, Harada K, Houkin K. *In vivo* quantification of the metabolites in normal brain and brain tumors by proton MR spectroscopy using water as an internal standard. *Magnetic Resonance Imaging* 2004;22:735-42.

Tugnoli V, Tosi MR, Bertoluzza A, Barbarella G, Ricci R, Fini G. *In vitro* magnetic resonance spectroscopy of healthy and neoplastic brain tissues. *Journal of molecular structure* 1999;482(3):365-9.

Usenius JP, Kauppinen RA, Vainio PA *et al*. Quantitative metabolite patterns of human brain tumours: detection by ^1H NMR spectroscopy *in vivo* and *in vitro*. *J Comput Assist Tomogr* 1994;18:705-13.

Usenius JP, Tuohimetsa S, Vainio P, Ala-Korpela M, Hiltunen Y, Kauppinen R. Automated classification of human brain tumors by neural network analysis using *in vivo* ^1H magnetic resonance metabolites phenotypes. *Neuroreport* 1996;7:1597-600.

Vanhamme L, van den Boogaart A, van Huffel S. Improved method for accurate and efficient quantification of MRS data with the use of prior Knowledge. *Journal of Magnetic Resonance* 1997;129:35-43.

Varlet P, Jouvet A, Miquel C, Saint-Pierre G, Beuvon F, Daumas-Duport C. Criteria of diagnosis and grading of oligodendrogliomas or oligo-astrocytomas according to the WHO and Sainte-Anne classifications. *Neurochirurgie* 2005;51:239-46.

Vion-Dury J, Salvan AM, Confort-Gouny S, Cozzzone PJ. Atlas of brain proton magnetic resonance spectra. Part I: General and methodological considerations. *J Neuroradiol* 1998;25:207-12.

Vion-Dury J *pour le réseau français de spectrométrie cérébrale clinique*. Recommandation pour le contrôle de qualité en spectrométrie de résonance magnétique cérébrale: sequences, qualité des spectres et populations témoins. *J Neuroradiol*. 1999;9:711-6.

Vion-Dury J, Michotey P. Single-voxel proton spectroscopy using a press sequence with a 135ms echo time : normal values. *J Neuroradiol* 2005;32:239-46.

Vuori K, Kankaanranta L, Häkkinen AM *et al*. Low-grade gliomas and focal cortical developmental malformations: differentiation with proton MR spectroscopy. *Radiology* 2004;230:703-8.

White ML, Zhang Y, Kirby P, Ryken TC. Can tumor contrast enhancement be used as a criterion for differentiating tumor grades of oligodendrogliomas? *AJNR Am J Neuroradiol* 2005;26:784-90.

World Health Organization. Tumours of the nervous system, pathology and genetics classification of tumours. Kleihues P, Cavenee WK editors. IARC Press, Lyon 2000.

Xu M, See SJ, Ng WH *et al*. Comparison of magnetic resonance spectroscopy and perfusion-weighted imaging in presurgical grading of oligodendroglial tumors. *Neurosurgery* 2005;56:919-26.

Yerli H, Agildere AM, Özlem Ö, Geyik E, Atalay B, Elhan AH. Evaluation of cerebral glioma grade by using normal side creatine as an internal reference in multi-voxel ¹H-MR spectroscopy. *Diagn Interv Radiol* 2007;13:3-9.

Yin H, Parmar HE, Yeo TT, Tan SH, Tchoyoson Lim CC. Malignant transformation of oligodendroglioma: MR spectroscopy and diffusion-weighted MR imaging features. *European Journal of Radiology* 2004;49:1-6.

Yongbi NM, Payne GS, Collins DJ, Leach MO. Quantification of signal selection efficiency, extra volume suppression and contamination for ISIS, STEAM and PRESS localized ¹H NMR spectroscopy using an EEC localization test object. *Phys. Med. Biol.* 1995;40:1293-303.

Yu X, Liu Z, Tian Z *et al*. Stereotactic biopsy for intracranial space-occupying lesions: clinical analysis of 550 cases. *Stereotact. Funct. Neurosurg.* 2000;75:103-8.

Annexe n°1 :

Pineda-Alonso N, Desal H, Baguet E, Toulgoat F, Akoka S.

Accurate Determination of concentrations by localized proton magnetic resonance spectroscopy.

Instrumentation Science and technology 2008;36:71-80.

Instrumentation Science and Technology, 36: 71–80, 2008

Copyright © Taylor & Francis Group, LLC

ISSN 1073-9149 print/1525-6030 online

DOI: 10.1080/10739140701749997



Taylor & Francis
Taylor & Francis Group

Accurate Determination of Concentrations by Localized Proton Magnetic Resonance Spectroscopy

Nashiely Pineda Alonso,¹ Hubert Desal,² Evelyne Baguet,¹
Frederique Toulgoat,² and Serge Akoka¹

¹LAIEM. UMR 6006 Nantes Atlantique Universités, Université de
Nantes, CNRS, France

²Service de Neuroradiologie Diagnostique et Interventionnelle, Hôpital
G & R Laënnec, Saint-Herblain, France

Abstract: Data processing is proposed for accurate quantification of localized proton spectra. Localized proton NMR spectra from phantoms and 30 healthy volunteers were acquired. Scalar coupled spin systems were simulated, allowing for the J-modulation and second order effects. Curve fitting was carried out by a linear combination of the simulated multiplets. The error in curve fitting is approximately 5 times lower than that attained using the standard protocol proposed by the manufacturer. The curve-fitting protocol eliminates the operator-dependent tasks, facilitating and accelerating the quantification of the major metabolite concentrations.

Keywords: ¹H-NMR, Concentrations, Brain, Quantification

INTRODUCTION

In vivo magnetic resonance (MR) spectroscopy of the brain is a powerful tool for the non-invasive analysis of cerebral metabolite concentrations. Defining quantitative changes in the concentrations of known metabolites provides valuable data to aid the radiologist in diagnosing brain pathologies.^[1] Although the literature contains a wide range of options for exploiting and processing the information in MR spectroscopy,^[2,3] in vivo MR spectroscopy

Correspondence: Serge Akoka, LAIEM. UMR 6006 Nantes Atlantique Universités, Université de Nantes, CNRS, 44322 Nantes Cedex 3, France. E-mail: serge.akoka@univ-nantes.fr

is currently mainly used in clinical applications as a qualitative or, at best, a semi-quantitative method.

However, for MR spectroscopy to be a reliable and reproducible technique, a more sophisticated approach is needed. The accurate quantification of peak areas will facilitate inter-sample comparison. Unfortunately, it often requires powerful programs that are not amenable to routine use in clinical radiology, or are only integrated in some recent commercial systems.

To overcome this serious limitation to the usefulness of *in vivo* MR spectroscopy as a diagnostic tool, we have developed an approach that can be set up on an MRI scanner that has spectroscopy post-processing software and that allows peak declaration on a local library. Within this environment, we have simulated each of the fourteen most concentrated brain metabolites. For the simulation, we have taken into account all the modulations of an *in vivo* NMR spectrum. Each scalar coupled spin system was simulated considering the J-modulation, inhomogeneity, and second order effects due to J-coupling under a low magnetic field. The post-processing was entirely performed with the MRS software within the user interface for image and spectrum review provided by the manufacturer. We have compared our protocol to that proposed as routine by the manufacturer.

EXPERIMENTAL

Reference Solutions

Reference solutions were prepared by dissolving each main brain metabolite in 50 mM phosphate buffer ($\text{pH} = 7.05 \pm 0.02$) with NaN_3 (0.1%) for sterility and a reference compound to provide a better phasing and frequency calibration. The analyzed metabolites were alanine, aspartate, choline, creatine, ethanolamine, GABA, glutamate, glutamine, glutathione, *myo*-inositol, *scyllo*-inositol, NAA, lactate, and taurine. The concentration of each metabolite was 30 mM, with the exception of glutamate (40 mM), NAA (10 mM), and taurine (20 mM). Two reference compounds were used for phasing the spectra: 2,5 methyl-hexan-2,5-diol for the general case, and acetate for those metabolites having chemical shifts between 0.7 and 2 ppm (alanine and lactate). These solutions were contained within a spherical phantom (2.5 L) for spectral acquisitions.

We also designed a 50 mL phantom containing 5 metabolites (NAA, creatine, choline, glutamate and *myo*-inositol) in concentrations close to those of the human brain, as listed in Ref. [4]. DOTA-Gd 0.5 M (Dotarem, Guerbet, Paris) was added (1%) in order to obtain relaxation times close to those of the human brain. The pH was adjusted to 7.05 ± 0.02 . For this phantom, concentrations were measured with a high accuracy using a 500 MHz high-resolution spectrometer (DRX 500, Bruker SA, Wissembourg). The obtained values are given in Table 1 as “HR concentration.”

Concentrations Determination by MR Spectroscopy**73****Table 1.** Measured concentrations of NAA, creatine and choline obtained from the phantom. Results are expressed in mM (Mean $\pm$ standard deviations over five spectra)

	HR concentration	Quantified concentration by P-protocol	Quantified concentration by M-protocol
NAA	11.55 $\pm$ 0.09	12.7 $\pm$ 0.2	13.2 $\pm$ 0.3
Cho	2.52 $\pm$ 0.01	2.4 $\pm$ 0.1	3.1 $\pm$ 0.2
Cr	8.32 $\pm$ 0.05	8.4 $\pm$ 0.2	8.1 $\pm$ 0.3

Volunteers

Thirty healthy volunteers (17 women and 13 men) were examined during a period of one year. Their ages ranged from 19 to 59 (mean 29.5) years. These individuals had no history of central nervous system disease and their magnetic resonance imaging did not reveal any cerebral disorder.

Spectral Acquisition

All measurements were carried out using a whole-body MR system (Sonata, Siemens AG, Erlangen) operating at 1.5 Tesla using a CP-head coil. Images for localization were acquired with TrueFisp 2D sequences.

Water-suppressed and water signal ^1H -MRS measurements were performed using PRESS sequences, TE = 30, 60, 135, and 270 ms, TR = 2000 ms. The number of signal accumulations was 96 for the water-suppressed volunteer spectra, 32 for the water-suppressed phantom spectra, and 2 for the water spectra for volunteers and phantoms. The sampling frequency was 1100 Hz and 1024 complex sample points were acquired. The voxel size was 20 $\times$ 20 $\times$ 20 mm, located in the white matter in the left frontal region of the volunteers. The magnetic field was shimmed with the automatic shimming option of the MRI scanner. The width at half the maximum height of the water resonance line was always less than 5 Hz after line broadening. For phantoms, five successive spectra were acquired.

Post-Processing

Two post-processing protocols were used, both performed entirely in the SyngoTM platform of the MRI scanner. The former, proposed by the manufacturer, is designated the M-Protocol. The latter – the new protocol that we propose – is designated the P-Protocol. The MRS software of SyngoTM works in the frequency domain and possesses an iterative least squares fitting algorithm that finds the optimum value for the position, intensity, and linewidth of metabolites in order to obtain the minimum curve-fitting error.

In both protocols, the following operations were applied: elimination of the residual water signal, zero filling to 2048 before Fourier Transform, and an automatic phase correction at order 0. The signals of lipids were defined as broad Gaussian frequency peaks. A manual frequency shift correction was used as a supplementary operation in order to avoid any frequency shift between different spectra.

In the M-protocol, a Hanning filter with a width of 700 ms was applied, centered at 0 ms. The baseline correction was obtained by the subtraction of a sixth-degree polynomial function calculated by fitting on five regions of the spectrum selected by the operator. Five metabolites were declared with their singlets and multiplets (NAA, creatine, choline, *myo*-inositol, glutamate complex).

In the P-protocol, an exponential filter with a width of 200 ms, centered at 0 ms, was applied. The baseline was corrected at first-order. All multiplets of each metabolite within our analysis set were declared in the library for the automatic frequency domain curve fitting. The curve fitting is described in the *Simulation of Spectrum* section.

The concentrations were calculated using spectra acquired at TE = 30 ms, water as the internal reference (3, 5) and 35 mol/kg wet weight as water concentration.^[5]

Simulation of the Spectrum

For the simulation of brain metabolites, the proton chemical shifts and J-coupling constants were taken from Govindaraju et al.^[4] Each metabolite spectrum was predicted using the Perch software (PERCH NMR softwareTM, University of Kuopio, Finland). Each multiplet corresponding to a chemical shift was then simulated, for each echo time, taking into consideration the relative phase difference of each peak (J-modulation). Because of the low dispersion in frequency of all these peaks, many overlaps were observed in the spectrum. Therefore, we declared a limiting number of peaks resulting from these overlaps. The relative phases were obtained by averaging the relative phases of all the superimposed peaks, and the intensities were added. Tables showing relative amplitudes, line widths, phase, and frequencies for each multiplet are available on line.^[6]

Once thus defined, each multiplet was declared in the peak library of the post-processing software of the review console as one chemical shift, with a limited number of peaks with fixed frequency and phase, both relative to the chemical shift of the multiplet. The main intermediate results of this procedure were plotted and compared with the experimental spectra for glutamate and NAA (Figure 1).

Then, the curve fitting was performed in the same way as in the LC-Model method.^[7] However, while the LC-Model uses a linear combination of metabolite spectra, the approach we proposed uses a linear combination of simulated

Concentrations Determination by MR Spectroscopy

75

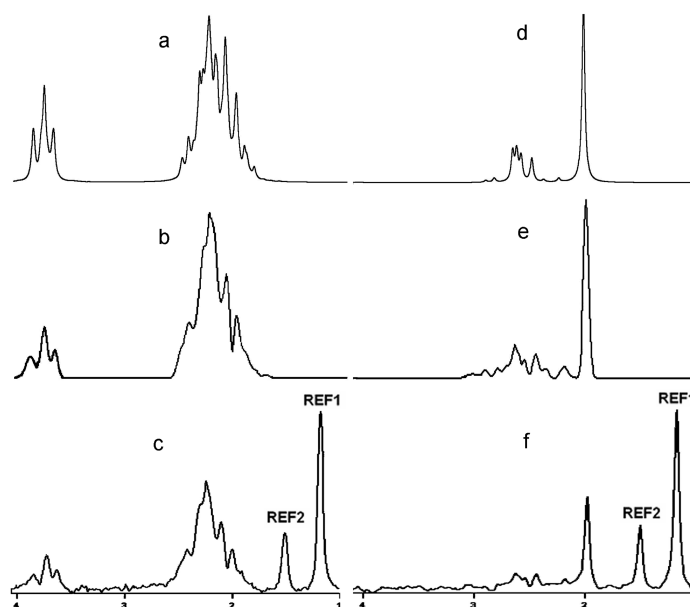


Figure 1. Simulated 63.6 MHz proton NMR spectra, for glutamate (left) and NAA (right), at the second order (a and d), and at the second order considering the J-modulation effect (b and e). Experimental spectra obtained on reference solutions are given for comparison (c and f). Lines REF1 and REF2 come from 2,5 methyl-hexan-2,5-diol, which was used as a reference for phasing. The X-axis is the chemical shift in ppm.

multiplets. The spectral position of each multiplet coming from a given metabolite could, therefore, be adjusted independently.

RESULTS**Post-Processing Protocol Applied to Metabolite Solution Spectra**

When the P-protocol was applied to a pure metabolite spectrum, the protocol found the correct spectrum for the metabolite that was being analyzed and no signal for the other metabolites (Figure 2).

Post-Processing Protocol Applied to a Phantom with Known Metabolite Concentrations

The measurements that were carried out for volunteers were also performed on the phantom containing NAA, creatine, choline, glutamate, and myo-inositol in known concentrations. The results were analyzed by both the P- and

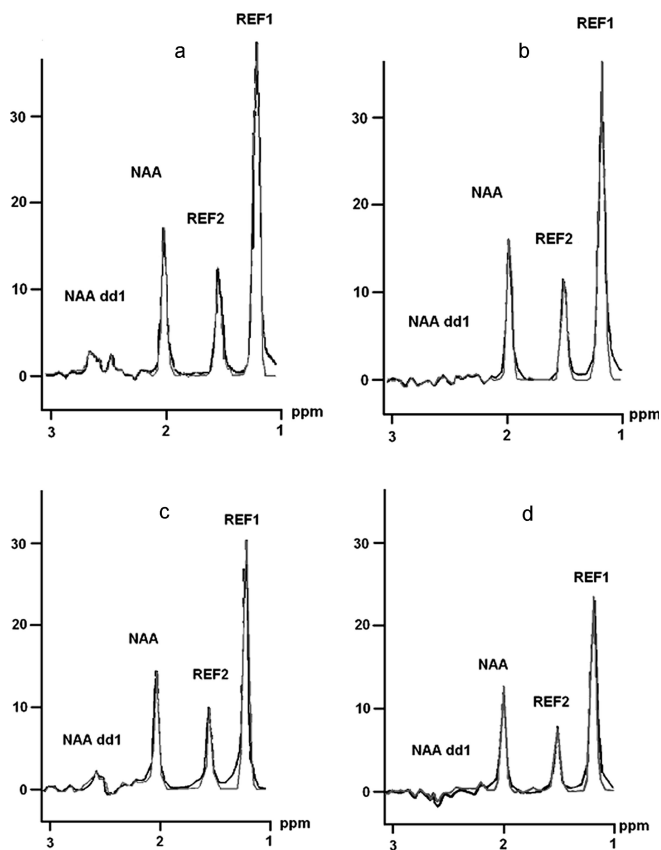


Figure 2. Spectrum of a phantom containing NAA at a concentration of 30 mM. Experimental (grey line) and simulated (black line) spectra at 4 different TE (a. 30, b. 60, c. 135, and d. 270 ms), TR 2000 ms and 32 accumulations. Lines REF1 and REF2 come from hexane-2,5-diol methyl ester, which was used as a reference for phasing. The X-axis is the chemical shift in ppm and the Y-axis is the intensity of peaks in arbitrary units.

M-protocols (Table 1). Although both protocols gave satisfactory results for quantification, the P-protocol was significantly more accurate for the determination metabolite concentrations.

Post-Processing of Volunteer Spectra

Each of the in vivo MR spectra obtained for the brain metabolites of the 30 volunteers was fitted by a simulated spectrum that consisted of the best-fit linear combination of the different simulated multiplets of the 14 target metabolites

Concentrations Determination by MR Spectroscopy

77

(Figure 3). For each raw data set analyzed, the P-protocol gave a curve-fitting error (fit accuracy calculated by the syngo software) between 5 and 10 times lower than the curve-fitting error of the manufacturer's protocol (M-protocol).

The resonances that were quantified were the CH_3 of NAA, the total creatine (t-Cr), and the choline (Cho). We used the areas under the curves of these metabolites to calculate their concentrations; the other groups were only used to simulate the baseline in this study. Mean concentrations obtained on volunteers are summarized in Table 2 and compared to the ranges of values found in the literature for normal human white matter.^[8]

DISCUSSION

Baseline Correction

The P-protocol only needs a first order correction, since the baseline is well described by the metabolites present in the brain. The baseline, as previously mentioned, is the linear combination of the complex multiplets of simulated metabolites. The baseline correction can, therefore, be automatic. This improvement simplifies the quantification of the main metabolite peaks and makes a major contribution to the improved accuracy.

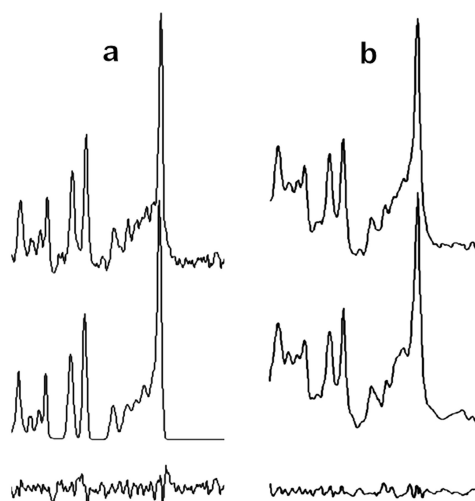


Figure 3. A typical normal volunteer brain spectrum (TE = 30 ms) after data processing by the M-Protocol (a) and by the P-Protocol (b). Experimental spectra (top), fitted spectra (middle) and difference spectra (bottom). The curve-fitting error is 85.0 a.u. and 11.5 a.u. for the M-protocol and P-protocol respectively. The difference in appearance between (a) and (b) is due to the application of the two different post-processing protocols to the same raw data set.

Table 2. Comparison of the concentration values calculated by the P- and M-protocols and found in the literature for normal human white matter.^[8] The mmol/kg_{ww} abbreviation is millimol/kilogram wet weight

	Metabolite	P-protocol	M-protocol	Literature
Concentration (mmol/kg _{ww})	NAA	13.6 ± 1.9	9.5 ± 1.3	(6 – 14.7)
	t-Cr	6.2 ± 1.0	5.1 ± 0.3	(5.5 – 8.9)
	Cho	1.8 ± 0.3	1.4 ± 0.3	(1.3 – 2.5)

Filtering

One of the differences between the M-protocol and the P-protocol is that the filtering is not the same, leading to different signal-to-noise ratio and full width at half maximum. This also impacts the baseline correction.

In order to put into evidence the influence of the change in filtering, volunteers' spectra were also processed with a modified P-protocol with the same filter as the M-protocol. Concentration mean values were about 20% higher and standard deviations were very close to those found with the P-protocol. However, the curve-fitting error values were about 70% higher when the hanning filter of 700 ms was used.

It can be, therefore, concluded that, while the change in filtering between the M-protocol and the P-protocol play a role in the quantification improvement, it is not the main factor.

Curve Fitting

Currently, there are two approaches to analyzing brain metabolites in clinical practice. The simpler of these is the measurement of the ratios between metabolites (NAA/creatine, NAA/choline, choline/creatine, etc.). This approach does not give access to global variations^[3] and can be misleading for interpretation since the concentration of creatine can vary.^[9] The other, more complete, approach is the determination of metabolite concentrations exploiting specialized software – such as LCModel, VARPRO and JMRUI^[7,10,11] – which are not systematically implemented in the post-processing platform of MRI systems.

The protocol that we describe in this communication is an approach based on a multiplet database. It is transposable to any kind of MRI scanner having post-processing MRS software that allows the declaration of multiplets. The calculation of the metabolite database could be done for different field strengths. Furthermore, the P-protocol is relatively simple to apply compared to other curve-fitting methods currently available.

The newly-proposed P-protocol is based on multiplet simulation. It has only one manual operation, i.e., a frequency shift, which is not operator-

Concentrations Determination by MR Spectroscopy**79**

dependent since the optimal frequency shift seeks the minimal value of curve-fitting error, a simple criterion of evaluation. The baseline correction is made without any manual intervention. Our experience has shown that, when a fitting in the frequency domain is carried out, the choice of spectral regions for the baseline correction considerably influences the final results. Determining the spectral regions to correct the baseline increases the time of post-processing and is an operator-dependent step.

A particular strength of this strategy (based on simulated multiplets rather than experimental spectra) is that it makes it possible to take into account, for each multiplet independently, the chemical shift variation induced by pH change. This variation is observed because the exchange of both the carboxylic acid and amine functions between the protonated or de-protonated forms is very fast and the chemical shift of the molecular sites close to these functions is governed by the pH of the solution. The observed spectrum is an average spectrum that depends on the concentration of both forms, intrinsically dependent on pH.^[12] It is essential to take this modification of chemical shifts into account, given that it is well known that some pathologies induce significant changes in intracellular pH.^[13] To vary all resonances of a metabolite at the same time is not sufficient because the influence of pH change is different on each multiplet of a spectrum.

Clinical Application

Metabolites such as lactate, alanine, acetate, and lipids, for which the variation in concentration can become significant in many brain pathologies, are already registered in our multiplet database.^[6] Hence, our protocol can be applied to any kind of oncological brain pathology.

CONCLUSION

The main advantage of the methodology we propose is that it can easily be implemented on modern MRI scanner consoles having MRS software to post-process the spectral data and in which a metabolite database can be declared. The data obtained from the scanner can be processed on the same measurement console and the analysis of data during routine clinical investigation should be straightforward. Once the metabolite database is declared, it is virtually operator-independent and gives reliable results for the quantification of the three main metabolites (NAA, creatine, and choline). This approach reduces both the additional cost involved in setting up the processing environment and the requirement to train operators (typically medical technicians) in the use of powerful, but usually not very user-friendly, data processing software.

Finally, we have used this method on single voxel spectroscopy (SVS) applications, but it could be transposable to Chemical Shift Imaging (CSI) as well.

REFERENCES

1. Howe, F.A.; Opstad, K.S. ^1H MR spectroscopy of brain tumors and masses. *NMR Biomed.* **2003**, *16*, 123–131.
2. Kreis, R. Quantitative localized ^1H MR spectroscopy for clinical use. *J. Prog. Nucl. Magn. Reson. Spec.* **1997**, *31*, 155–195.
3. Gruber, S.; Frey, R.; Mlynarik, V.; Stadlbauer, A.; Heiden, A.; Kasper, S.; Kemp, G.J.; Moser, E. Quantification of metabolic differences in the frontal brain of depressive patients and controls obtained by ^1H -MRS at 3. Tesla. *Invest. Radiol.* **2003**, *38*, 403–408.
4. Govindaraju, V.; Young, K.; Maudsley, A. Proton NMR chemical shifts and coupling constants for brain metabolites. *NMR Biomed.* **2000**, *3*, 129–153.
5. Tomonori, I.; Akira, M.; Izumi, A.; Takashi, Y.; Yasushi, N.; Yuji, I.; Tadao, N. Quantification of cerebral metabolites in glioma patients with proton MR spectroscopy using T2 relaxation time correction. *Magn. Reson. Imaging.* **2002**, *20*, 343–349.
6. <http://www.sciences.univ-nantes.fr/laiem/irmquant.html>.
7. Provencher, S.W. Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. *Magn. Reson. Med.* **1993**, *30*, 672–679.
8. De Graaf, R.A.; Douglas, L.R. In vivo detection and quantification of scalar coupled ^1H NMR resonances. *Concept. Magn. Reson.* **2001**, *13*, 32–76.
9. Li, B.; Wang, H.; Gonene, O. Metabolite ratios to assume stable creatine level may confound the quantification of proton brain MR spectroscopy. *Magn. Reson. Imaging* **2003**, *21*, 923–928.
10. van der Veen, J.W.C.; de Beer, R.; Luyten, R.R.; van Ormondt, D. Accurate quantification of in vivo ^3P NMR signals using the variable projection method and prior knowledge. *Magn. Reson. Med.* **1998**, *6*, 92–98.
11. Vanhamme, L.; van den Boogaart, A.; Van Huffel, S. Improved method for accurate and efficient quantification of MRS data with use of prior knowledge. *J. Magn. Reson.* **1997**, *129*, 35–43.
12. Szakacs, S.; Hägele, G. Accurate determination of low pK values by ^1H NMR titration. *Talanta* **2004**, *62*, 819–825.
13. Cadoux-Hudson, T.A.; Blackledge, M.J.; Rajagopalan, B.; Taylor, D.J.; Radda, G.K. Human primary brain tumour metabolism in vivo: a phosphorus magnetic resonance spectroscopy study. *Brit. J. Cancer* **1989**, *60* (3), 430–436.

Received July 31, 2007

Accepted September 11, 2007

Manuscript 1661

Annexe n°2 : Déclaration des pics

Annexe n°2 : Déclaration des pics

	TE	Nom	Position ppm	Ampli	Largeur Hz	Pic	Phase
--	----	-----	--------------	-------	------------	-----	-------

	TE	Nom	Position ppm	Ampli	Largeur Hz	Pic	Phase
1		Lip CH3b	0- 0.7	0-100	10-35	Gauss	
2		Lip CH3	0.7-1.07	0-100	10-35	Gauss	
3		Lip CH2	1.19-1.6	0-100	10-35	Gauss	
4		Lactate I	1.25-1.35	0-100	1-12	Couplage J	
	30ms	Lac 1 Lac 2	-2.9 3.1	1.2 1.1	0.6 0.7	Gauss Gauss	-60 65
	60ms	Lac 1 Lac 2	-2.9 3.1	2.5 1.9	0.45 0.4	Gauss Gauss	-85 80
	135ms	Lac 1 Lac 2	-2.9 3.1	1.3 1.4	0.9 0.8	Gauss Gauss	170 210
	270ms	Lac 1 Lac 2	-2.9 3.1	1.4 1.6	0.7 0.7	Gauss Gauss	15 15

	TE	Nom	Position ppm	Ampli	Largeur Hz	Pic	Phase
5		Alanine I	1.41-1.51	0-100	2-8	Couplage J	
	30ms	Ala 1 Ala 2	-3.1 3.5	0.65 0.55	0.7 0.8	Gauss Gauss	-55 50
	60ms	Ala 1 Ala 2	-3.1 3.5	0.65 0.55	0.7 0.7	Gauss Gauss	-80 90
	135ms	Ala 1 Ala 2	-3.1 3.5	0.8 0.8	0.9 0.7	Gauss Gauss	135 150
	270ms	Ala 1 Ala 2	-3.1 3.5	0.95 1.1	0.7 0.7	Gauss Gauss	-30 -30
6		Acetate	1.85-1.95	0-100	1-12	Gauss	Seulement pour 30ms
7		GABA I	1.98-2.08	0-100	1-12	Couplage J	

	TE	Nom	Position ppm	Ampli	Largeur Hz	Pic	Phase
	30ms	Gaba 1	-21	0.5	0.6	Gauss	0
		Gaba 2	-13	1	0.7	Gauss	0
		Gaba 3	-3	0.8	0.7	Gauss	0
		Gaba 4	-3.7	0.6	0.5	Gauss	0
		Gaba 5	7.5	1.8	0.5	Gauss	0
		Gaba 6	15	2.85	0.5	Gauss	-30
		Gaba 7	23	0.9	0.8	Gauss	-25
	60ms	Gaba 1	-21	0.1	0.5	Gauss	-125
		Gaba 2	-13	0.1	0.5	Gauss	-40
		Gaba 3	-3	0.4	0.65	Gauss	90
		Gaba 4	-3.7	0.1	1	Gauss	90
		Gaba 5	7.5	0.6	0.5	Gauss	-110
		Gaba 6	15	0.6	0.4	Gauss	-60
		Gaba 7	23	0.3	0.6	Gauss	110
	135ms	Gaba 1	-21	1	0.3	Gauss	-80
		Gaba 2	-13	0.9	0.8	Gauss	-30
		Gaba 3	-3	1	0.5	Gauss	-35
		Gaba 4	-3.7	0.3	0.3	Gauss	180
		Gaba 5	7.5	5	0.4	Gauss	60
		Gaba 6	15	6	0.35	Gauss	-35
		Gaba 7	23	1.9	1	Gauss	60

	TE	Nom	Position ppm	Ampli	Largeur Hz	Pic	Phase
	270ms	Gaba 1 Gaba 2 Gaba 3 Gaba 4 Gaba 5 Gaba 6 Gaba 7	-21 -13 -3 -3.7 7.5 15 23	0.05 0.25 0.25 0.04 2.8 2. 0.3	0.5 0.8 1 0.5 0.8 0.8 1	Gauss Gauss Gauss Gauss Gauss Gauss Gauss	0 40 -80 80 60 -10 -90
8		NAA	1.98-2.05	0-100	4-12	Lorentz	
9		NAAG	2.00-2.1	0-100	4-20	Gauss	

	TE	Nom	Position ppm	Ampli	Largeur Hz	Pic	Phase
1 0		Glux I	2.05-2.15	0-100	1-12	Couplage J	
	30ms	Glux 1	-21.6	0.03	1	Gauss	-70
		Glux 2	-17.2	0.05	1	Gauss	0
		Glux 3	-12.7	0.1	1	Gauss	20
		Glux 4	-9.5	0.11	1	Gauss	0
		Glux 5	-5.7	0.4	0.8	Gauss	-25
		Glux 6	-1.9	0.54	0.8	Gauss	45
		Glux 7	-0.6	0.25	0.9	Gauss	40
		Glux 8	3.2	0.43	0.8	Gauss	0
		Glux 9	5.1	0.65	0.75	Gauss	53
		Glux 10	6.4	0.14	1	Gauss	20
		Glux 11	8.9	0.98	0.9	Gauss	20
		Glux 12	12.1	0.57	0.7	Gauss	40
		Glux 13	15.3	0.35	0.8	Gauss	-20
		Glux 14	17.8	0.21	1	Gauss	0
		Glux 15	21.6	0.28	0.9	Gauss	-20
		Glux 16	25.4	0.18	1	Gauss	0
	60ms	Glux 1	-21.6	0.58	0.8	Gauss	-30
		Glux 2	-17.2	0.2	0.4	Gauss	-180
		Glux 3	-12.7	1.25	0.43	Gauss	-70
		Glux 4	-9.5	1.5	0.39	Gauss	-75
		Glux 5	-5.7	2.2	0.42	Gauss	-95
		Glux 6	-1.9	0.6	0.47	Gauss	18
		Glux 7	-0.6	1.22	0.5	Gauss	88
		Glux 8	3.2	0.34	0.5	Gauss	130
		Glux 9	5.1	0.55	0.5	Gauss	247
		Glux 10	6.4	1.01	0.6	Gauss	-75
		Glux 11	8.9	3.87	0.5	Gauss	70
		Glux 12	12.1	2.7	0.47	Gauss	100
		Glux 13	15.3	2.7	0.6	Gauss	230
		Glux 14	17.8	3	0.55	Gauss	290
		Glux 15	21.6	1.8	0.27	Gauss	340
		Glux 16	25.4	0.85	1	Gauss	62

	TE	Nom	Position ppm	Ampli	Largeur Hz	Pic	Phase
	135ms	Glux 1	-21.6	0.8	1	Gauss	90
		Glux 2	-17.2	0.5	1	Gauss	-150
		Glux 3	-12.7	1.8	0.8	Gauss	-180
		Glux 4	-9.5	0.5	1	Gauss	60
		Glux 5	-5.7	0.1	0.9	Gauss	-200
		Glux 6	-1.9	6	0.9	Gauss	190
		Glux 7	-0.6	6	0.9	Gauss	-100
		Glux 8	3.2	2	0.9	Gauss	-180
		Glux 9	5.1	8	0.9	Gauss	245
		Glux 10	6.4	0.7	1	Gauss	-40
		Glux 11	8.9	3	0.9	Gauss	0
		Glux 12	12.1	3	0.8	Gauss	-50
		Glux 13	15.3	0.3	0.6	Gauss	0
		Glux 14	17.8	1.1	0.5	Gauss	-38
		Glux 15	21.6	1	0.1	Gauss	80
		Glux 16	25.4	0.5	1	Gauss	-45
	270ms	Glux 1	-21.6	0.6	1	Gauss	-180
		Glux 2	-17.2	0.5	0.8	Gauss	50
		Glux 3	-12.7	0.5	1	Gauss	-50
		Glux 4	-9.5	1.6	0.8	Gauss	80
		Glux 5	-5.7	2	0.7	Gauss	-20
		Glux 6	-1.9	1.6	1	Gauss	20
		Glux 7	-0.6	1	0.8	Gauss	-170
		Glux 8	3.2	1.2	0.7	Gauss	-180
		Glux 9	5.1	0.4	0.7	Gauss	150
		Glux 10	6.4	0.9	0.5	Gauss	110
		Glux 11	8.9	0.95	0.7	Gauss	70
		Glux 12	12.1	1.15	0.9	Gauss	-130
		Glux 13	15.3	1	1	Gauss	-20
		Glux 14	17.8	1.2	0.5	Gauss	30
		Glux 15	21.6	1	0.6	Gauss	260
		Glux 16	25.4	2.6	1	Gauss	-60
1		NAA dd	2.53-2.63	0-100	4-12	Couplage J	

	TE	Nom	Position ppm	Ampli	Largeur Hz	Pic	Phase
1	30ms	N1	-25.5	1.2	0.6	Gauss	0
		N2	-21	0.1	0.4	Gauss	-150
		N3	-16	1.2	0.7	Gauss	50
		N4	-10	2.8	0.45	Gauss	40
		N5	-6.3	0.3	0.5	Gauss	80
		N6	-2.5	1.9	0.3	Gauss	-10
		N7	0	1	0.2	Gauss	0
		N8	1.9	3.7	0.5	Gauss	30
		N9	8	1.2	0.5	Gauss	-20
		N10	13	1	0.45	Gauss	-10
		N11	20	0.8	0.4	Gauss	-15
		N12	27	0.4	1	Gauss	0
	60ms	N1	-25.5	0.15	0.4	Gauss	220
		N2	-21	0.25	0.8	Gauss	15
		N3	-16	0.25	0.8	Gauss	0
		N4	-10	0.32	0.7	Gauss	0
		N5	-6.3	0.43	0.7	Gauss	118
		N6	-2.5	0.2	0.4	Gauss	-30
		N7	0	0.2	0.3	Gauss	0
		N8	1.9	0.22	0.7	Gauss	-160
		N9	8	0.1	1	Gauss	-230
		N10	13	0.4	1	Gauss	120
		N11	20.08	0.5	0.9	Gauss	120
		N12	27.04	0.1	0.8	Gauss	90

	TE	Nom	Position ppm	Ampli	Largeur Hz	Pic	Phase
	135ms	N1	-25.5	0.1	1	Gauss	-30
		N2	-21	0.2	0.8	Gauss	70
		N3	-16	0.2	0.6	Gauss	-70
		N4	-10	2	1	Gauss	160
		N5	-6.3	0.9	0.6	Gauss	0
		N6	-2.5	1.2	0.7	Gauss	-50
		N7	0	0.7	0.5	Gauss	-40
		N8	1.9	0.5	0.5	Gauss	-20
		N9	8	0.1	0.5	Gauss	-50
		N10	13	0.45	1	Gauss	-130
		N11	20.08	0.2	1	Gauss	-300
		N12	27.04	0.2	0.5	Gauss	-100
	270ms	N1	-25.5	0.2	1	Gauss	0
		N2	-21	0.1	1	Gauss	-180
		N3	-16	0.2	1	Gauss	180
		N4	-10	0.2	0.7	Gauss	80
		N5	-6.3	0.2	0.5	Gauss	-180
		N6	-2.5	0.5	1	Gauss	-140
		N7	0	1.2	0.8	Gauss	-200
		N8	1.9	2.5	0.8	Gauss	-90
		N9	8	0.5	1	Gauss	90
		N10	13	0.5	1	Gauss	100
		N11	20.08	0.15	0.8	Gauss	60
		N12	27.04	0.1	0.5	Gauss	50
1		Asp I	2.67-2.77	0-100	4-12	Couplage J	

	TE	Nom	Position ppm	Ampli	Largeur Hz	Pic	Phase
2	30ms	A1	-33.5	0.3	0.7	Gauss	0
		A2	-25	0.05	0.7	Gauss	0
		A3	-15	0.1	1	Gauss	0
		A4	-6.3	1.4	0.9	Gauss	0
		A5	-2.5	1	0.5	Gauss	0
		A6	1.9	3.2	1	Gauss	55
		A7	8	0.65	1	Gauss	0
		A8	15	0.4	1	Gauss	0
		A9	21	0.35	1	Gauss	0
		A10	27	0.2	1	Gauss	0
	60ms	A1	-33.5	0.7	0.9	Gauss	0
		A2	-25	0.6	1	Gauss	-145
		A3	-15	1	1	Gauss	-80
		A4	-6.3	1.4	0.9	Gauss	-60
		A5	-2.5	0.5	0.5	Gauss	-105
		A6	1.9	5	1	Gauss	90
		A7	8	1	1	Gauss	340
		A8	15	1	1	Gauss	70
		A9	21	1	1	Gauss	-70
		A10	27	0.2	1	Gauss	0

	TE	Nom	Position ppm	Ampli	Largeur Hz	Pic	Phase
	135ms	A1	-33.5	0.5	0.7	Gauss	10
		A2	-25	0.5	1	Gauss	-30
		A3	-15	1	1	Gauss	-90
		A4	-6.3	4	0.8	Gauss	-120
		A5	-2.5	5	0.7	Gauss	-50
		A6	1.9	5	1	Gauss	180
		A7	8	1	1	Gauss	180
		A8	15	1	1	Gauss	180
		A9	21	1	1	Gauss	180
		A10	27	0.3	1	Gauss	180
	270ms	A1	-33.5	2.3	0.5	Gauss	0
		A2	-25	1.5	0.7	Gauss	-40
		A3	-15	1	1	Gauss	200
		A4	-6.3	3	0.8	Gauss	0
		A5	-2.5	0.5	0.7	Gauss	180
		A6	1.9	6	0.7	Gauss	120
		A7	8	1	1	Gauss	-60
		A8	15	2	0.8	Gauss	240
		A9	21	1	0.5	Gauss	-30
		A10	27	0.3	0.5	Gauss	0
1 3		GABA II	2.93-3.03	0-100	1-12	Couplage J	
	30ms	Gaba 1	-7.5	2	0.9	Gauss	
		Gaba 2	-0.3	1.3	0.7	Gauss	
		Gaba 3	7.02	1.4	0.9	Gauss	-80 0 85

	TE	Nom	Position ppm	Ampli	Largeur Hz	Pic	Phase
	60ms	Gaba 1 Gaba 2 Gaba 3	-7.5 -0.3 7.02	0.22 0.12 0.1	0.8 0.8 0.7	Gauss Gauss Gauss	-120 0 150
	135ms	Gaba 1 Gaba 2 Gaba 3	-7.5 -0.3 7.02	3 2 2.2	0.4 0.4 0.3	Gauss Gauss Gauss	70 30 0
	270ms	Gaba 1 Gaba 2 Gaba 3	-7.5 -0.3 7.02	1.8 1.2 1.1	0.5 0.5 0.5	Gauss Gauss Gauss	45 20 -30
1 4		Cr	3.00-3.1	0-100	4-12	Lorentz	
1 5		Cho	3.18-3.28	0-100	4-12	Lorentz	
1		Tau I	3.17-3.27	0-100 (0-0.1 pour 135ms et 270ms)	1-12	Couplage J	

	TE	Nom	Position ppm	Ampli	Largeur Hz	Pic	Phase
6	30ms	T1	-12	0.05	1	Gauss	-10
		T2	-5.92	0.08	1	Gauss	-32
		T3	0	0.6	1	Gauss	0
		T4	3	1	1	Gauss	22
	60ms	T1	-12	0.005	1	Gauss	0
		T2	-5.92	0.04	1	Gauss	-90
		T3	0	0.055	1	Gauss	10
		T4	3	0.07	1	Gauss	20
	135ms	T1	-12	0.6	1	Gauss	150
		T2	-5.92	0.8	1	Gauss	140
		T3	0	1.5	1	Gauss	40
		T4	3	1.5	0.8	Gauss	0
	270ms	T1	-12	0.15	0.6	Gauss	160
		T2	-5.92	0.7	1	Gauss	240
		T3	0	2.3	1	Gauss	30
		T4	3	2.3	0.8	Gauss	190
17		Scyllo-Inositol	3.32-3.39	0.01-10	4-12	Lorentz	
18		Tau II	3.33-3.43	0-5	1-12	Couplage J	

	TE	Nom	Position ppm	Ampli	Largeur Hz	Pic	Phase
	30ms	T1	-3.5	0.73	0.6	Gauss	-22
		T2	0	0.58	0.8	Gauss	20
		T3	5.92	0.24	0.7	Gauss	20
		T4	9.67	0.18	0.8	Gauss	40
	60ms	T1	-3.5	0.68	0.65	Gauss	-50
		T2	0	0.73	1	Gauss	0
		T3	5.92	0.52	0.8	Gauss	55
		T4	9.67	0.42	1	Gauss	90
	135ms	T1	-3.5	0.7	0.5	Gauss	100
		T2	0	1	1	Gauss	35
		T3	5.92	0.4	0.7	Gauss	-40
		T4	9.67	0.15	0.8	Gauss	10
	270ms	T1	-3.5	1.9	1	Gauss	130
		T2	0	1.3	1	Gauss	30
		T3	5.92	0.2	0.7	Gauss	-150
		T4	9.67	0.3	0.8	Gauss	90
19		Cho I	3.42-3.52	0-100	1-12	Couplage J	
	30ms	C 1	-4.5	1.2	0.2	Gauss	
		C 2	0.5	2.2	0.5	Gauss	
		C 3	5	1.3	0.3	Gauss	0 0 0

	TE	Nom	Position ppm	Ampli	Largeur Hz	Pic	Phase
	60ms	C 1 C 2 C 3	-4.5 0.5 5	3 1 5	0.3 0.5 0.3	Gauss Gauss Gauss	-75 0 70
	135ms	C 1 C 2 C 3	-4.5 0.5 5	0.8 0.7 1	0.5 1 1	Gauss Gauss Gauss	-180 0 230
	270ms	C 1 C 2 C 3	-4.5 0.5 5	8 1.5 2	1 0.5 1	Gauss Gauss Gauss	-100 -90 120
20		Glyci ne	3.53-3.62	0-100	4-12	Lorentz	
21		Myo-Ins I	3.61-3.71	0-100	1-12	Couplage J	

	TE	Nom	Position ppm	Ampli	Largeur Hz	Pic	Phase
	30ms	M1	-29.2	0.08	0.5	Gauss	
		M2	-19.5	0.1	1	Gauss	
		M3	-15	0.07	1	Gauss	0
		M4	-8.9	1.15	1	Gauss	0
		M5	-5.2	0.26	1	Gauss	0
		M6	-2.4	0.5	0.5	Gauss	-30
		M7	-0.9	0.16	1	Gauss	0
		7		0.08	1	Gauss	-18
	60ms	M8					0
		M1	-29.2	0.2	0.5	Gauss	
		M2	-19.5	0.2	1	Gauss	
		M3	-15	0.1	1	Gauss	-70
		M4	-8.9	1.6	1	Gauss	-170
		M5	-5.2	0.3	1	Gauss	-110
		M6	-2.4	0.2	1	Gauss	-60
		M7	-0.9	0.3	1	Gauss	-30
	135ms	7		0.1	1	Gauss	30
		M8					40
		M1	-29.2	0.1	0.4	Gauss	
		M2	-19.5	0.38	0.6	Gauss	
		M3	-15	0.2	0.5	Gauss	100
		M4	-8.9	1.07	0.4	Gauss	-240
		M5	-5.2	0.15	0.4	Gauss	230
		M6	-2.4	0.09	0.06	Gauss	20
		M7	-0.9	0.25	0.4	Gauss	-50
		7		0.25	0.6	Gauss	-40
							130
		M8					100

	TE	Nom	Position ppm	Ampli	Largeur Hz	Pic	Phase
	270ms	M1 M2 M3 M4 M5 M6 M7 M8	-29.2 -19.5 -15 -8.9 -5.2 -2.4 -0.9 7	0.1 0.15 0.3 1.15 0.2 0.3 0.1 0.1	0.5 0.5 0.5 0.9 0.5 1 1 0.6	Gauss Gauss Gauss Gauss Gauss Gauss Gauss Gauss	-30 -260 70 -10 110 -60 330 50
22		Glux II	3.69-3.79	0-100	3-15	Couplage J	
	30ms	G1 G2 G3	-5.7 -1.2 5.7	0.7 0.97 0.47	0.7 0.8 1	Gauss Gauss Gauss	-63 0 45
	60ms	G1 G2 G3	-5.7 -1.2 5.7	0.4 1.1 0.65	0.5 0.5 0.7	Gauss Gauss Gauss	-130 0 90
	135ms	G1 G2 G3	-5.7 -1.2 5.7	1 1 1	1 0.8 1	Gauss Gauss Gauss	100 0 -50
	270ms	G1 G2 G3	-5.7 -1.2 5.7	0.5 1.1 0.55	1 1 1	Gauss Gauss Gauss	-200 0 120
		Ala II	3.71-3.81	0-100	1-12	Couplage J	

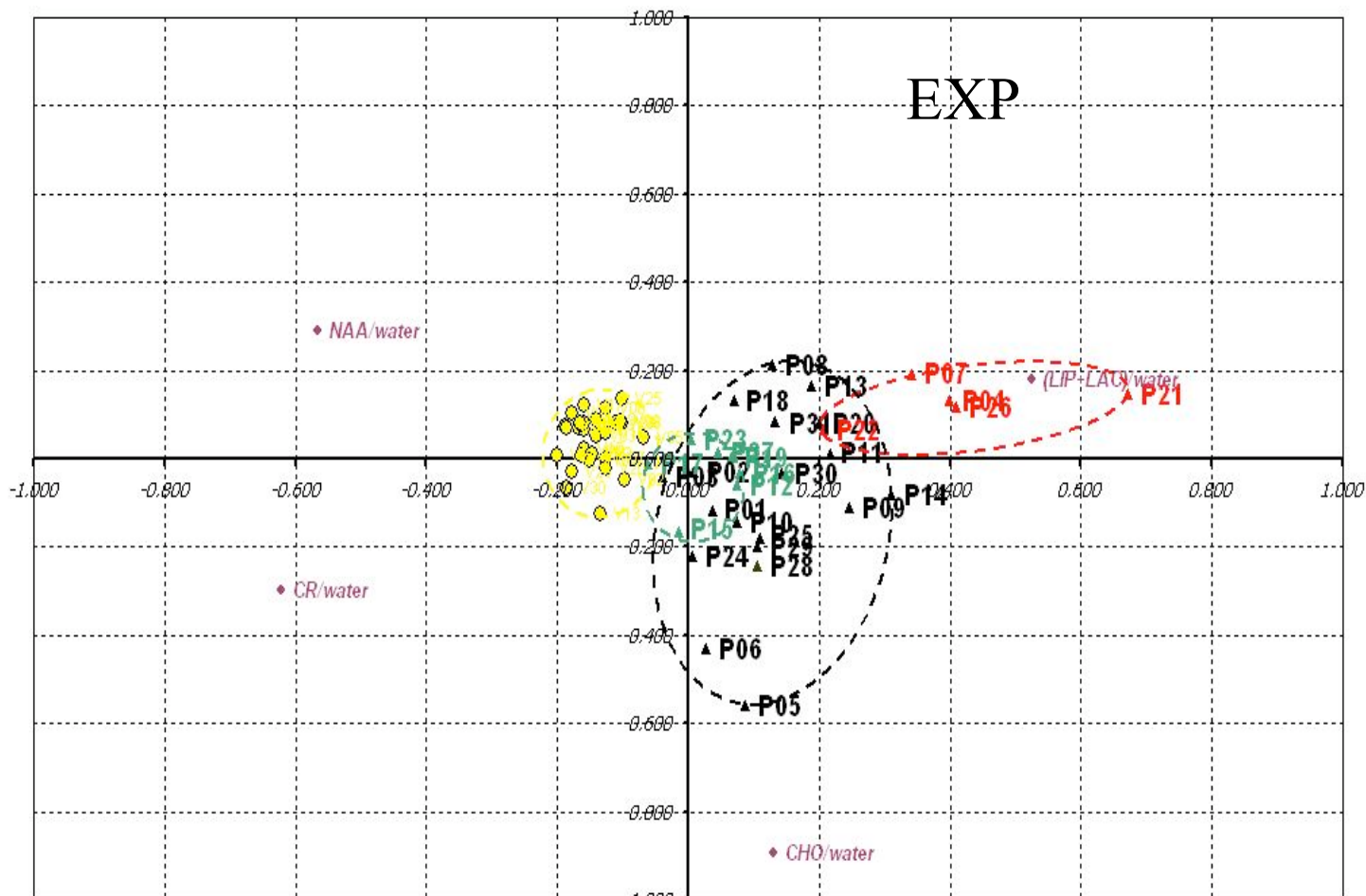
	TE	Nom	Position ppm	Ampli	Largeur Hz	Pic	Phase
	30ms	A1	-10.35	0.2	0.8	Gauss	
		A2	-3.45	1.1	0.7	Gauss	
		A3	3.45	1.5	0.7	Gauss	-100
		A4	10.35	0.5	1	Gauss	-50 60 60
	60ms	A1	-10.35	1	0.5	Gauss	
		A2	-3.45	1.87	0.5	Gauss	
		A3	3.45	3.7	0.6	Gauss	-220
		A4	10.35	1	0.5	Gauss	-50 100 280
	135ms	A1	-10.35	0.5	0.5	Gauss	
		A2	-3.45	1.6	0.7	Gauss	
		A3	3.45	1.1	0.5	Gauss	-220
		A4	10.35	1.1	0.8	Gauss	-120 180 180
	270ms	A1	-10.35	0.3	0.4	Gauss	
		A2	-3.45	2.3	0.7	Gauss	
		A3	3.45	2.3	0.6	Gauss	-20
		A4	10.35	0.7	0.5	Gauss	55 10 -100
24		Asp II	3.80-3.90	0.1-100	1-12	Couplage J	
	30ms	A1	-11.5	0.3	1	Gauss	
		A2	-6	2.1	1	Gauss	
		A3	-1	0.9	0.8	Gauss	0
		A4	1	1.2	0.8	Gauss	-70
		A5	6.4	1.4	1	Gauss	-30
		A6	12	0.5	1	Gauss	30
		A7	18	0.4	1	Gauss	70 0 0

	TE	Nom	Position ppm	Ampli	Largeur Hz	Pic	Phase
	60ms	A1	-11.5	1	1	Gauss	
		A2	-6	5	1	Gauss	
		A3	-1	1	1	Gauss	-10
		A4	1	2.8	1	Gauss	-100
		A5	6.4	1.4	0.8	Gauss	70
		A6	12	0.3	1	Gauss	50
		A7	18	0.4	1	Gauss	180
	135ms	A1	-11.5	0.4	0.8	Gauss	70
		A2	-6	1	0.5	Gauss	-90
		A3	-1	0.3	1	Gauss	
		A4	1	0.6	0.7	Gauss	180
		A5	6.4	0.82	0.6	Gauss	180
		A6	12	0.2	0.6	Gauss	30
		A7	18	0.18	1	Gauss	30
	270ms	A1	-11.5	4	0.8	Gauss	0
		A2	-6	10	0.5	Gauss	0
		A3	-1	3	1	Gauss	-40
		A4	1	8	0.7	Gauss	230
		A5	6.4	10	0.6	Gauss	
		A6	12	3	1	Gauss	
		A7	18	1.8	1	Gauss	
25		Cr2	3.88-3.95	0-100	4-12	Lorentz	
26		Myo-Ins II	3.98-4.08	0-100	3-12	Couplage J	

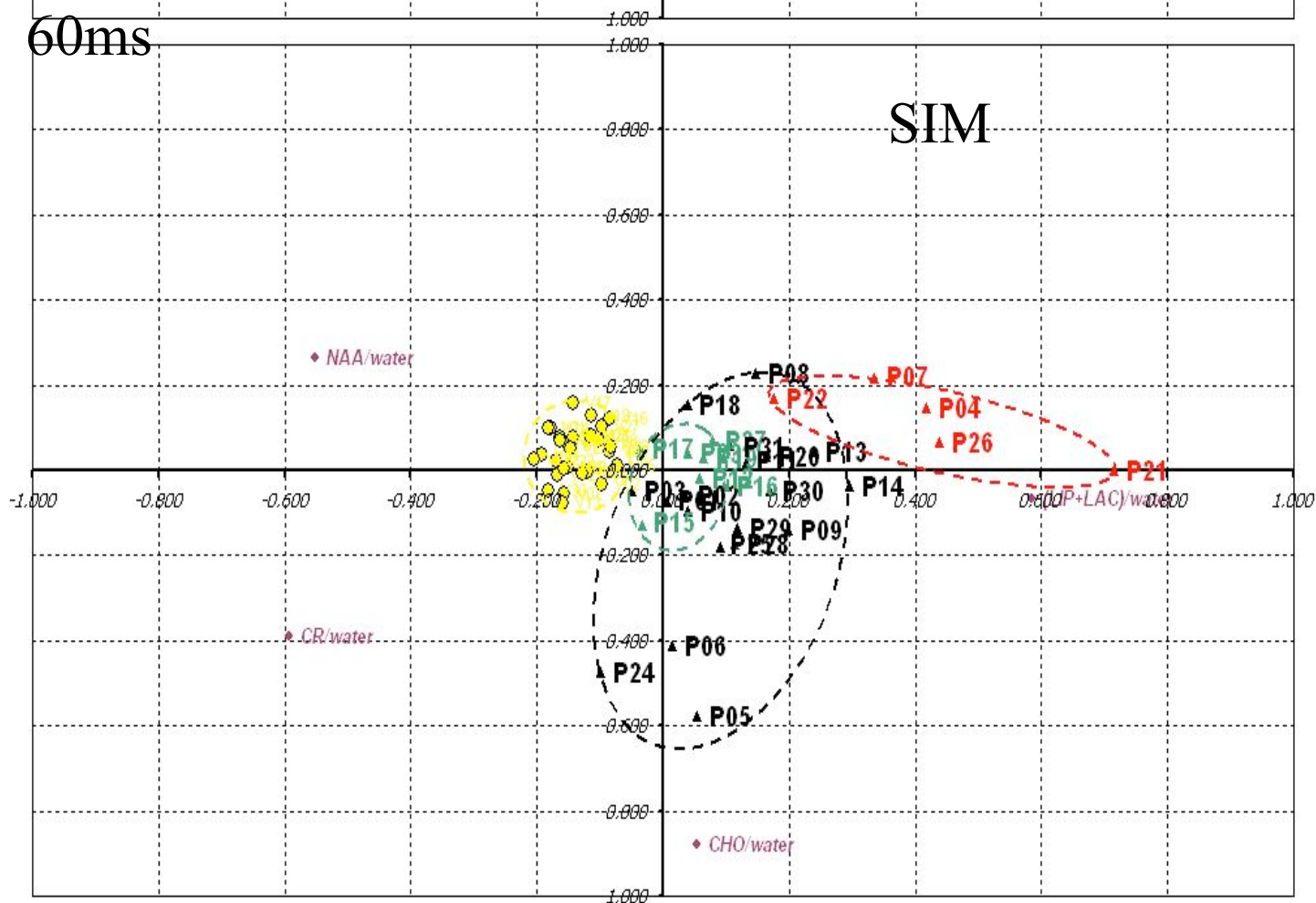
a

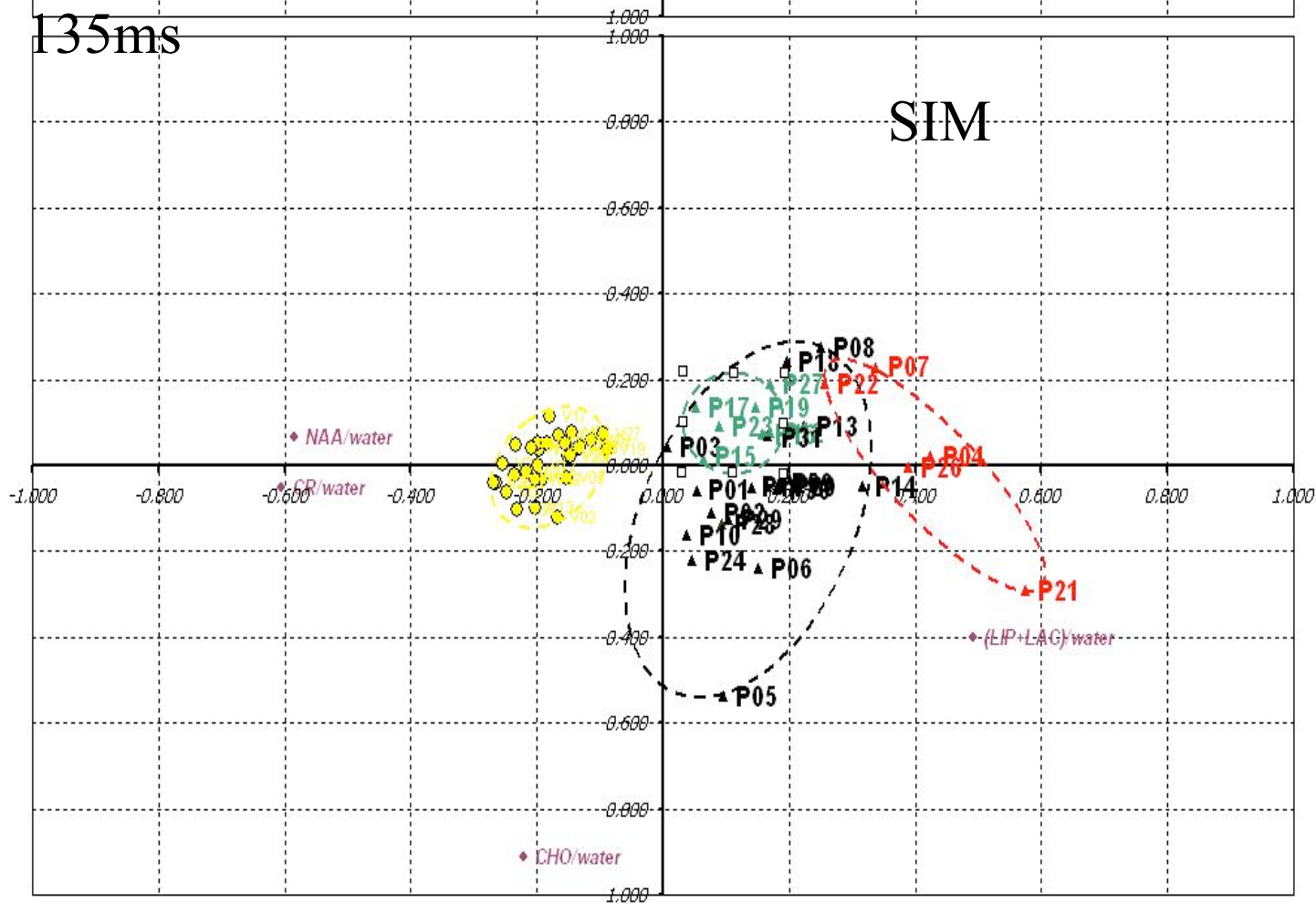
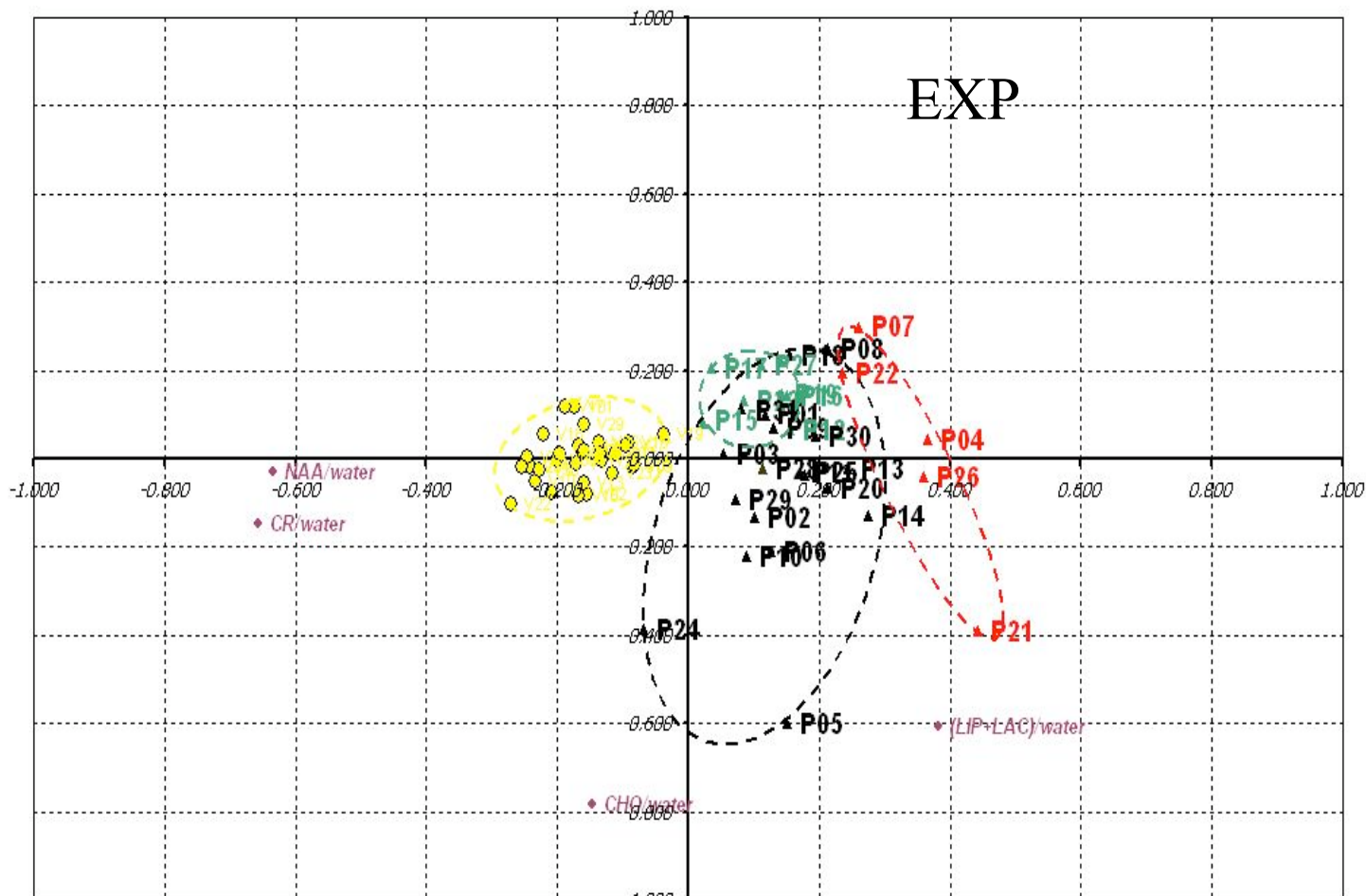
	TE	Nom	Position ppm	Ampli	Largeur Hz	Pic	Phase
	30ms	M1	-1.8	0.8	1	Gauss	
		M2	0	1	0.5	Gauss	
		M3	-1.9	0.7	1	Gauss	-9.72 0 10.26
	60ms	M1	-1.8	0.6	1	Gauss	
		M2	0	1	1	Gauss	
		M3	-1.9	0.4	1	Gauss	-19.44 0 20.52
	135ms	M1	-1.8	0.3	0.6	Gauss	
		M2	0	1	1	Gauss	
		M3	-1.9	0.8	1	Gauss	-70 0 70
	270ms	M1	-1.8	1.7	0.8	Gauss	
		M2	0	1	1	Gauss	
		M3	-1.9	0.5	1	Gauss	50 -30 50

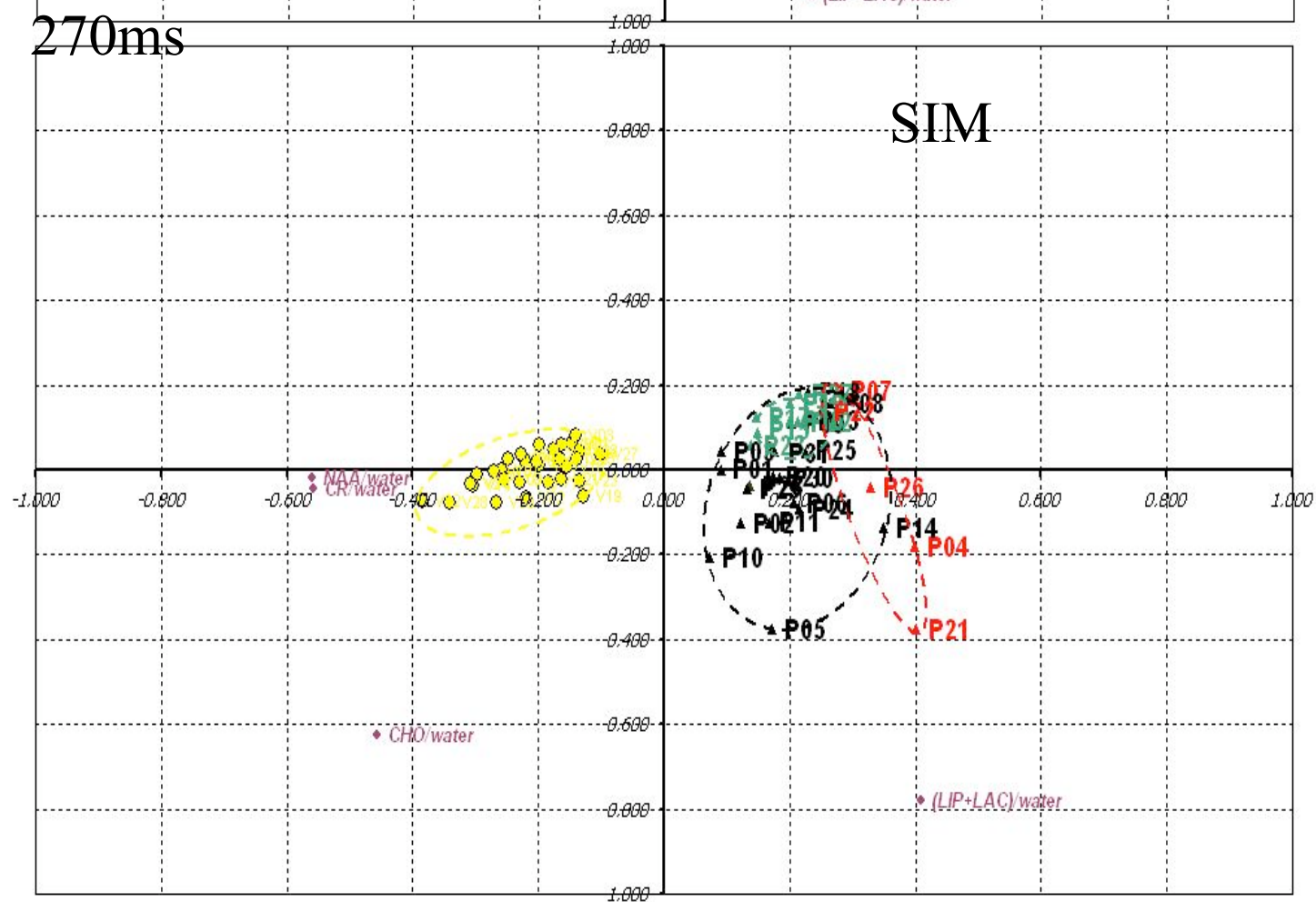
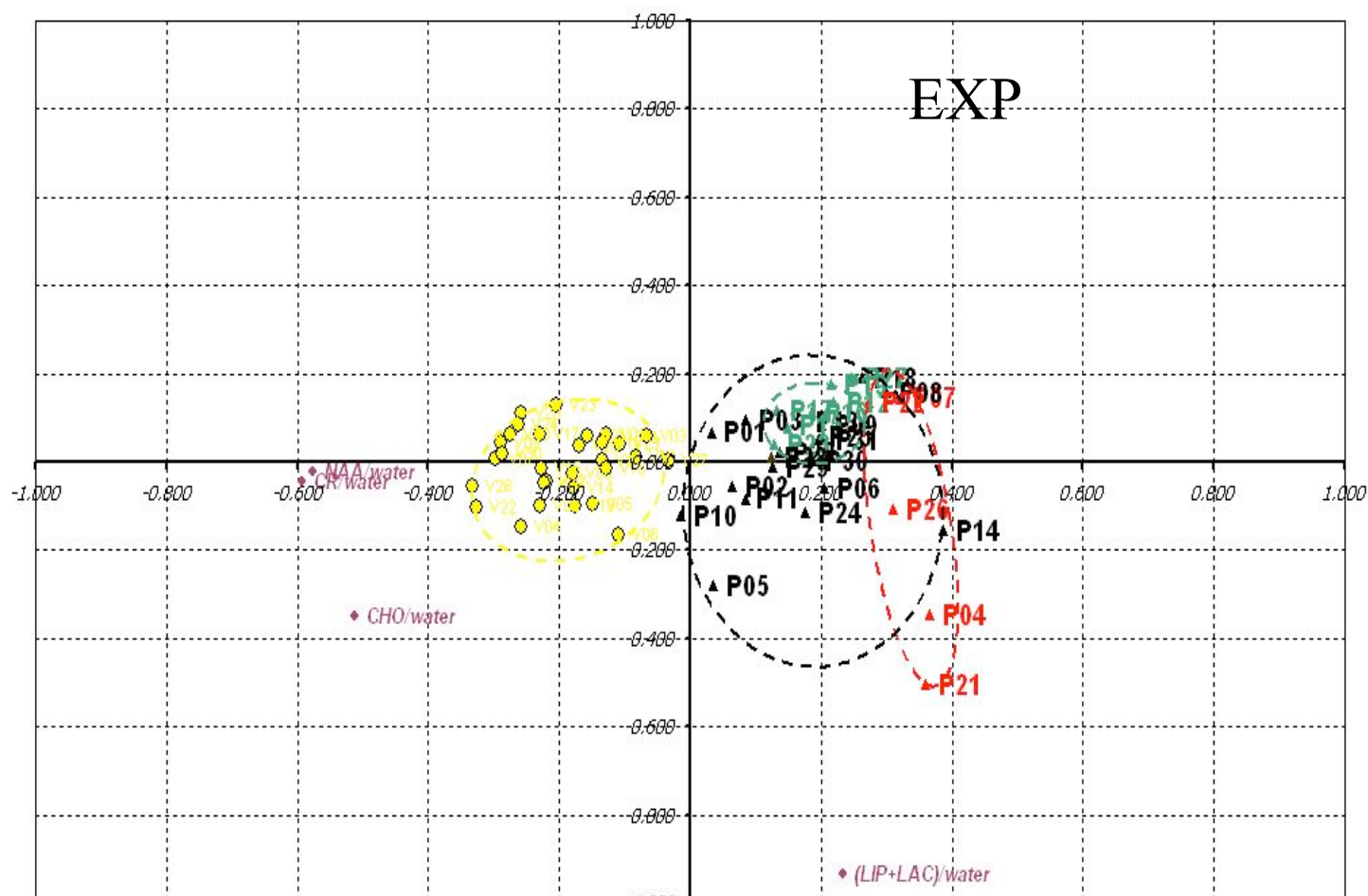
Annexe n°3 : Graphes de l'Analyse en Composante Principale à TE variable (simulation entre TE = 0ms et 300ms)



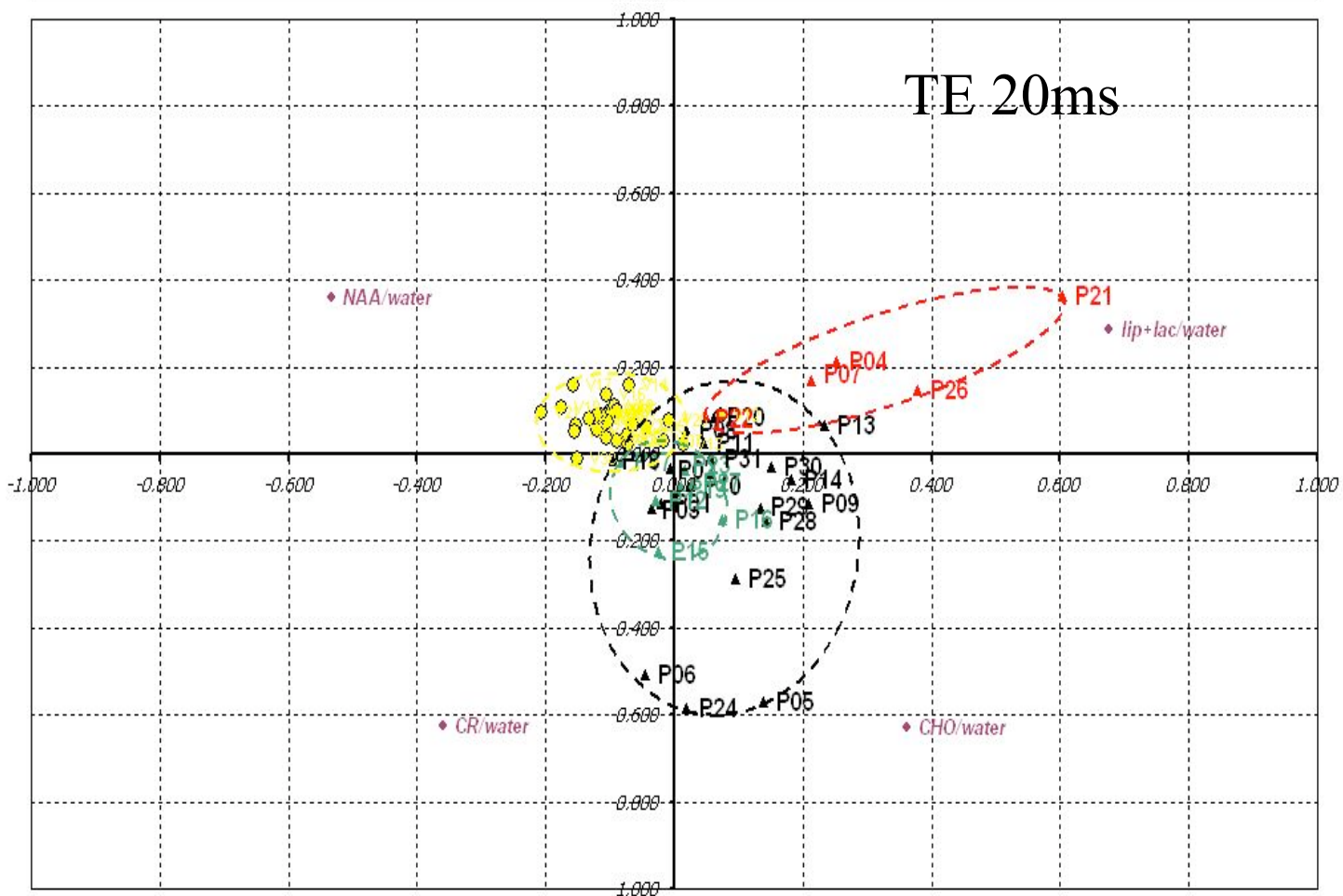
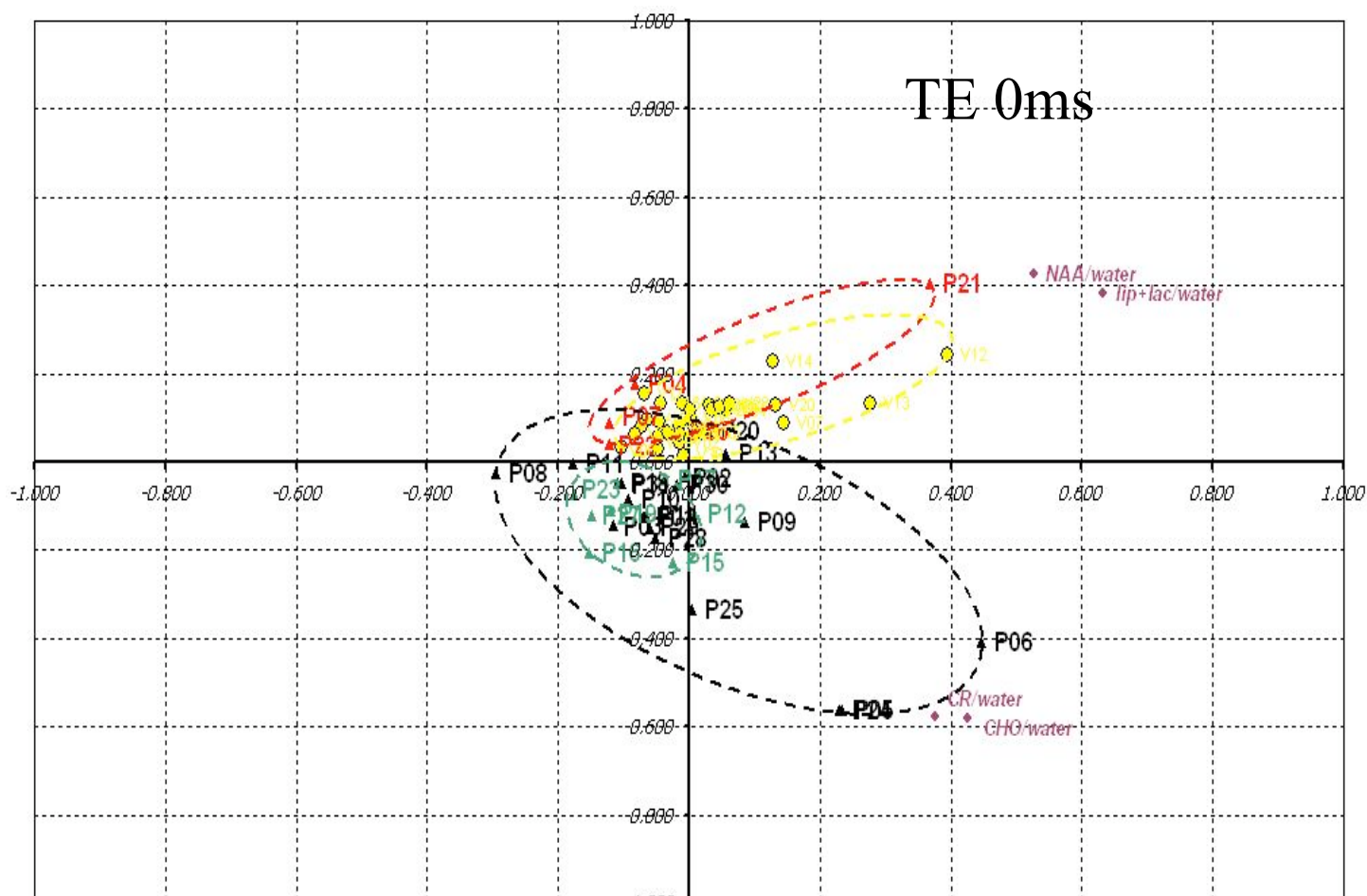
60ms

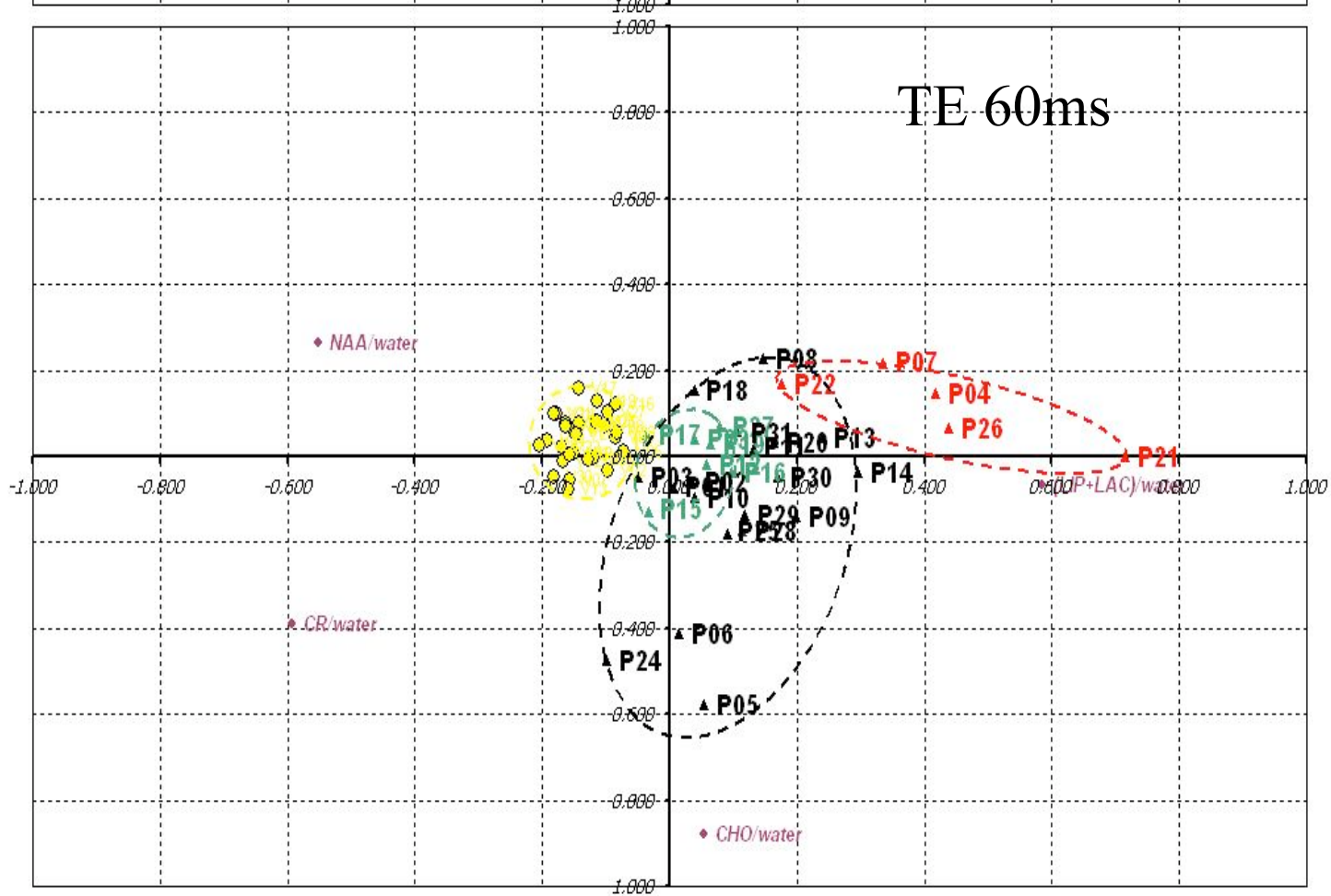
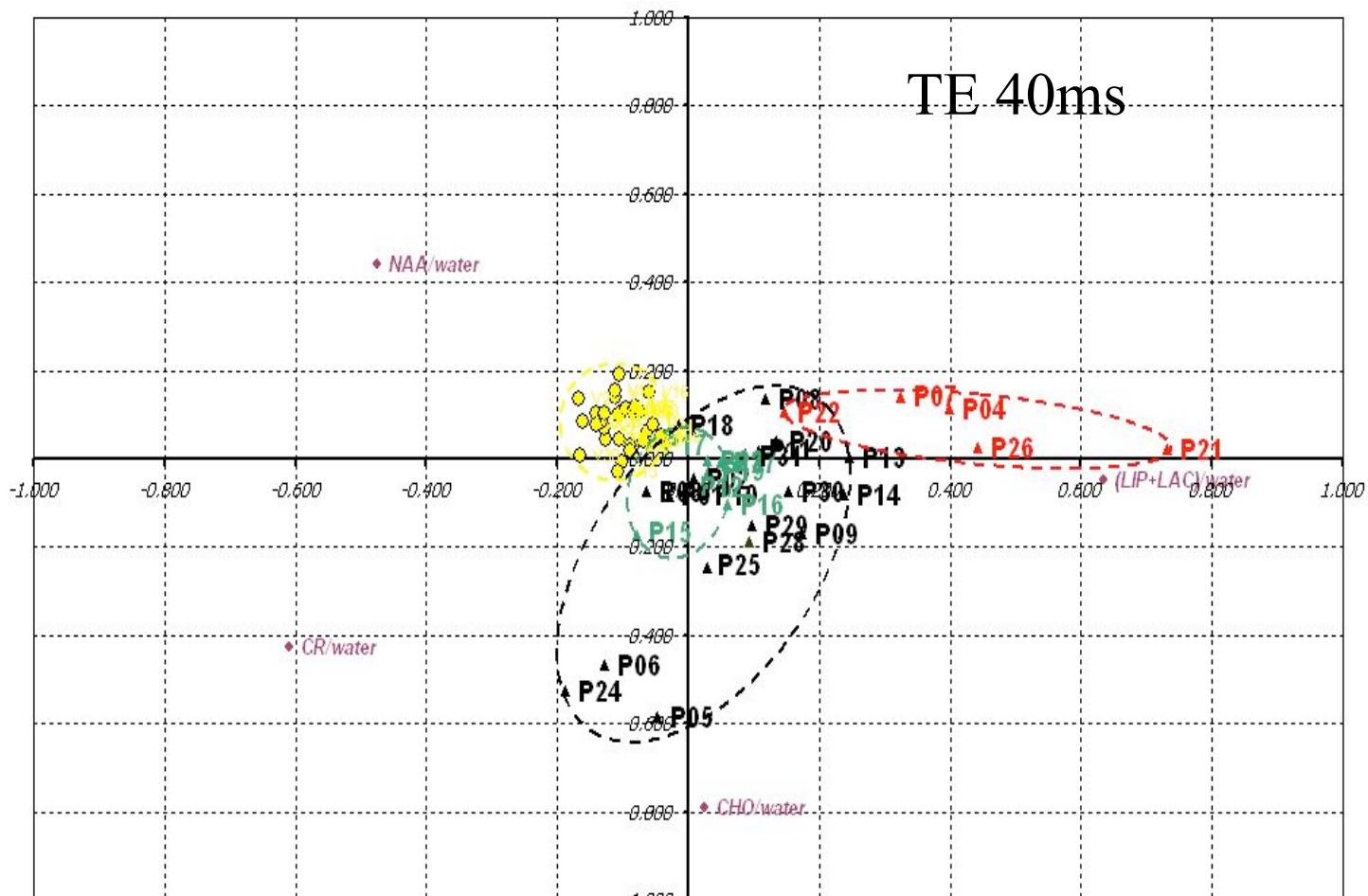


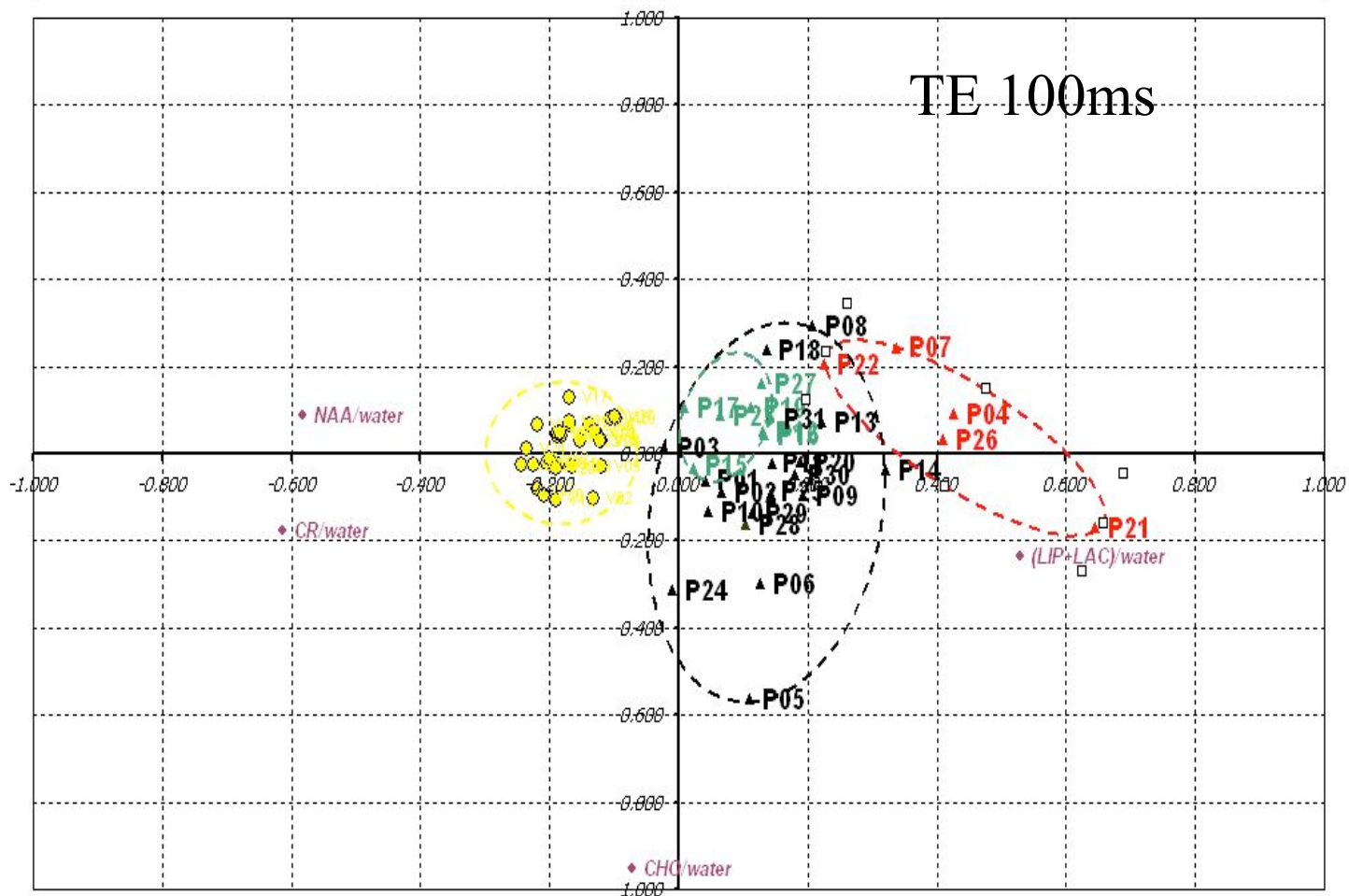
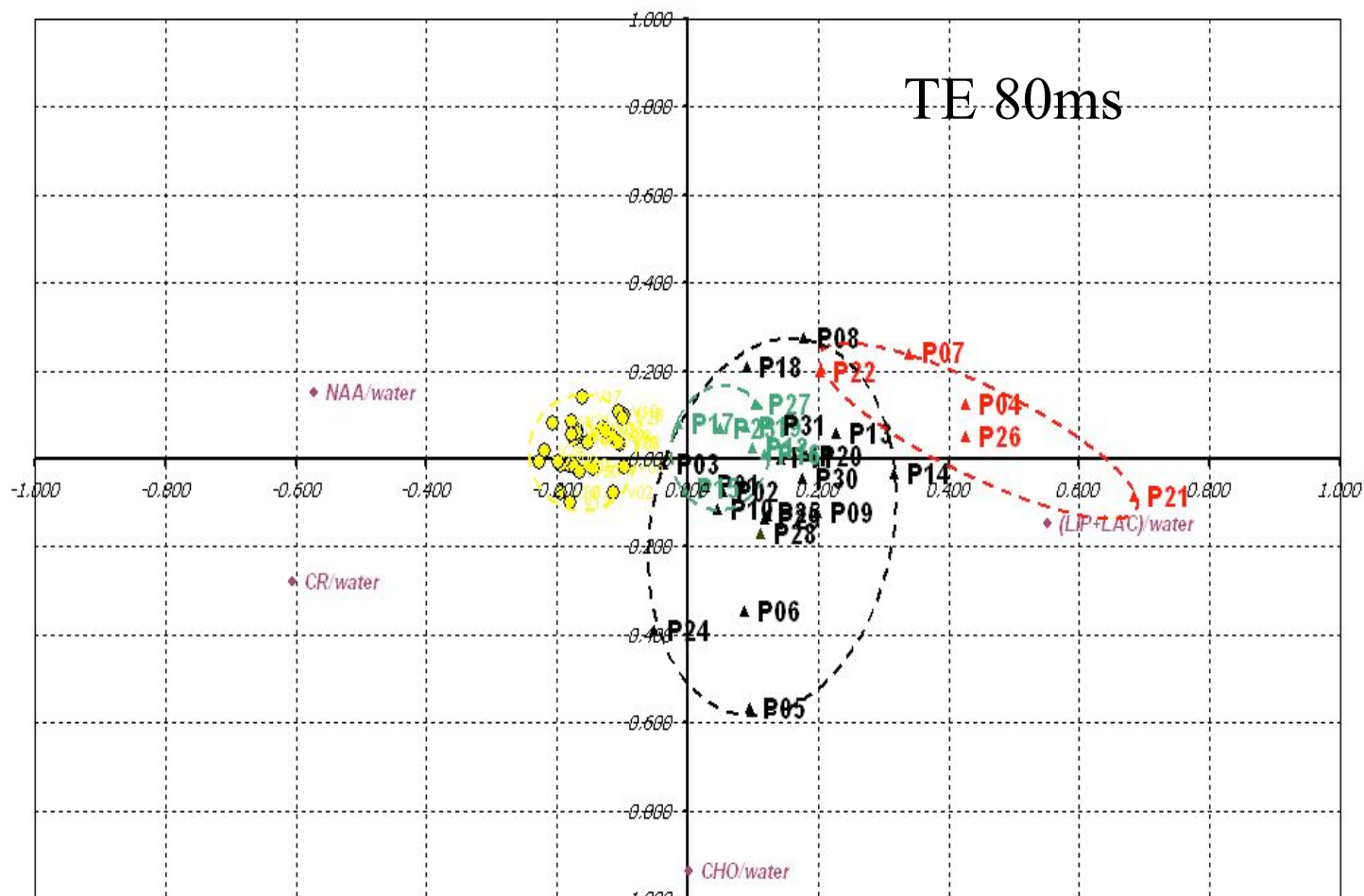


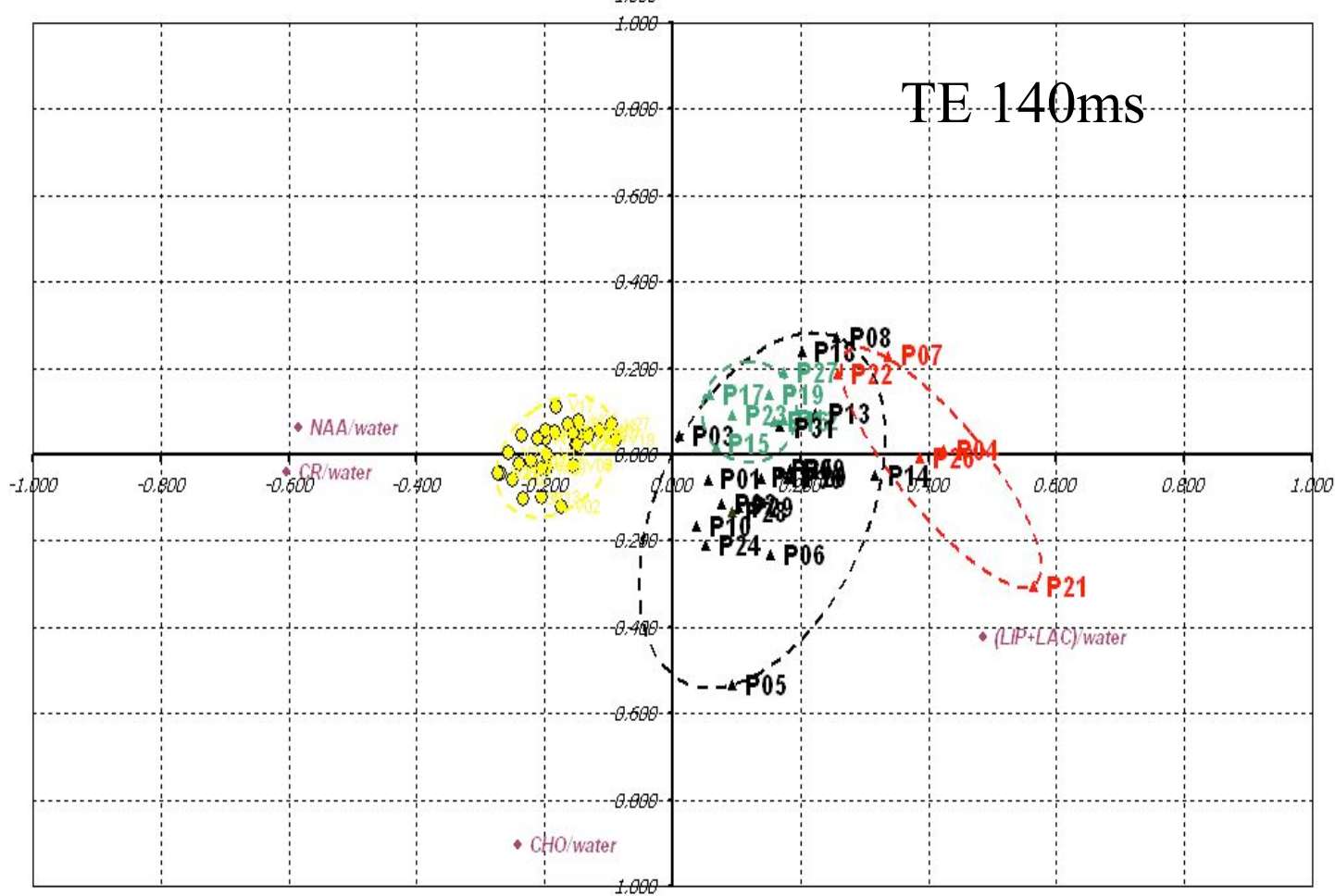
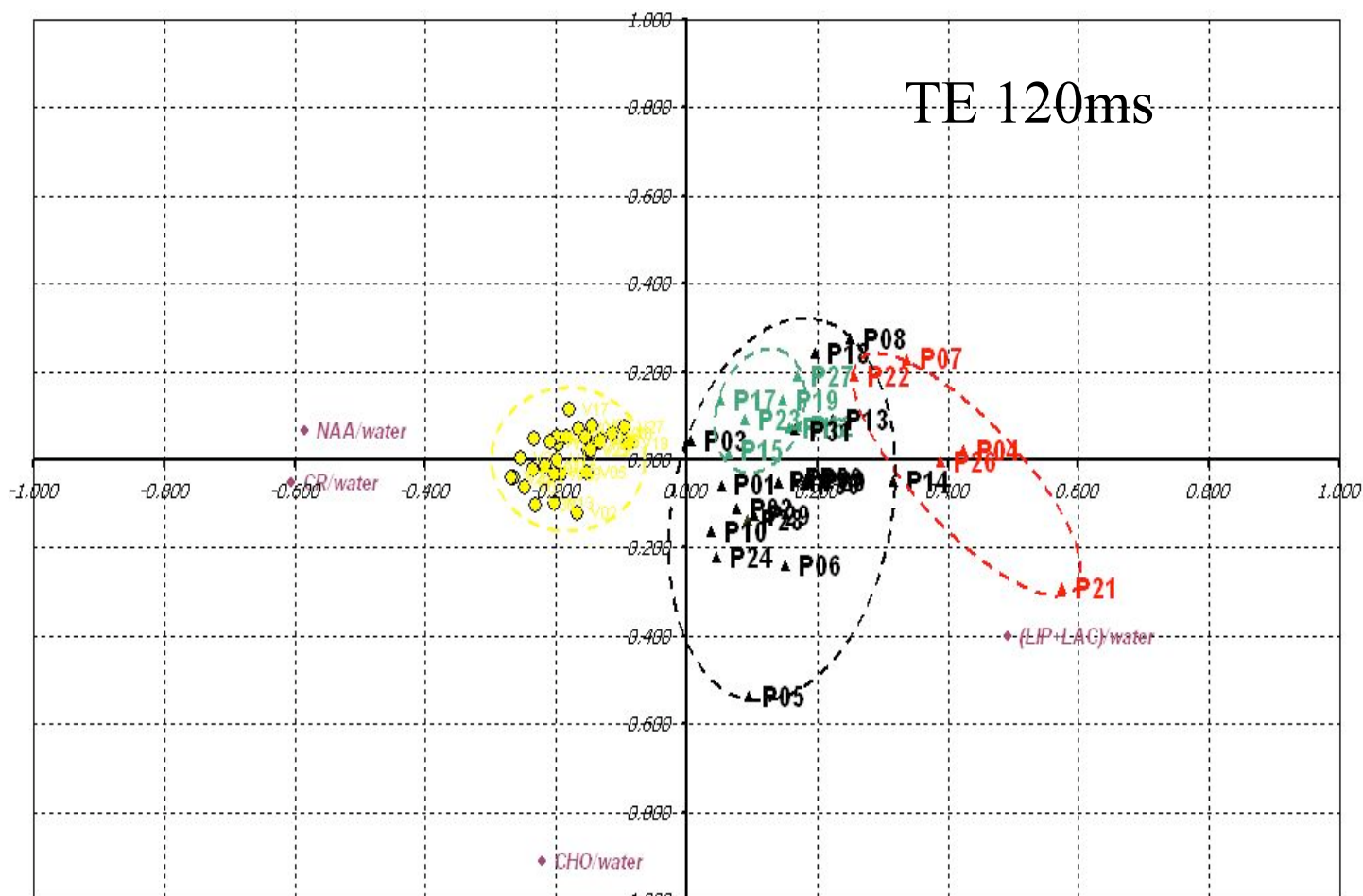


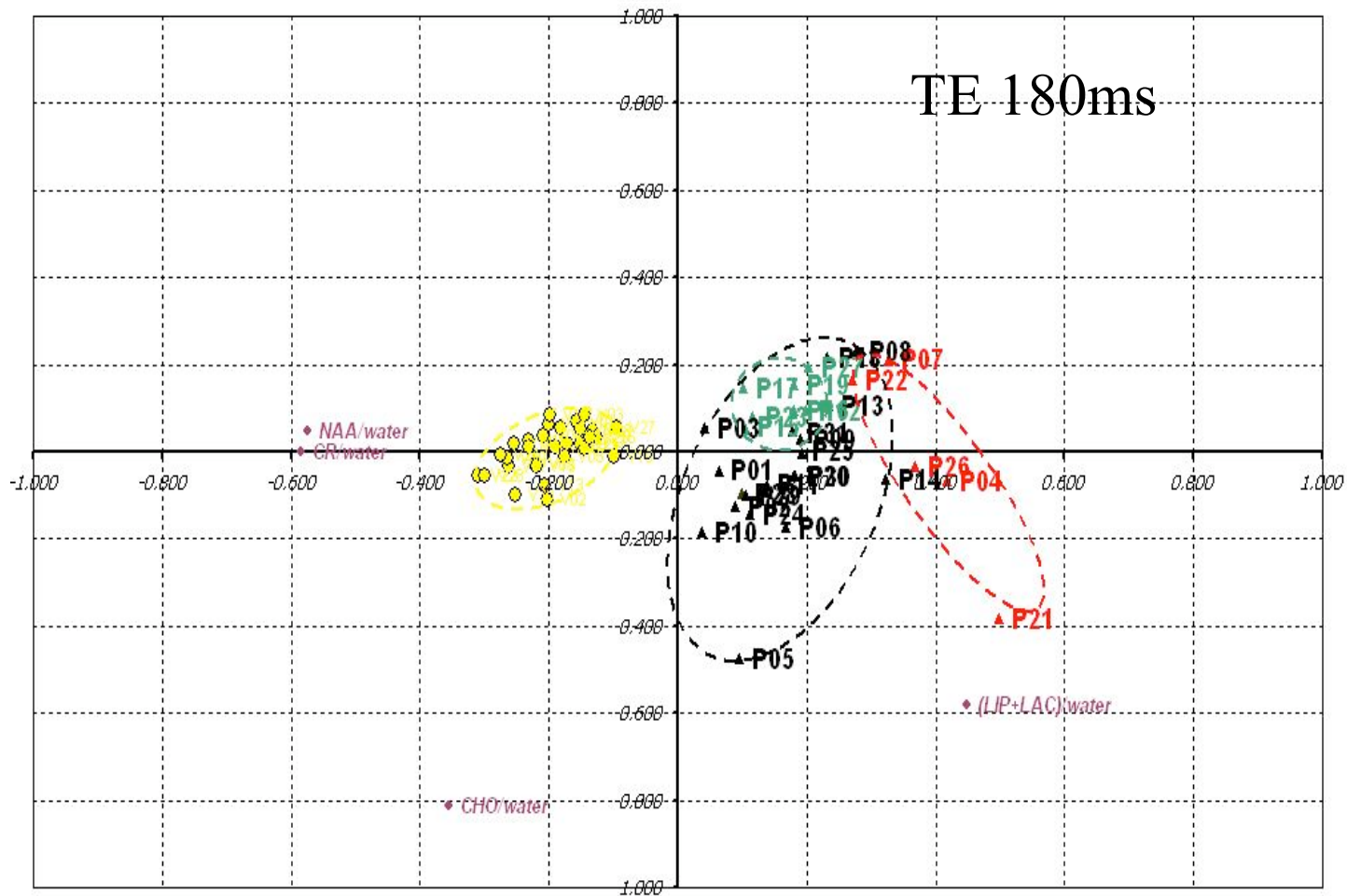
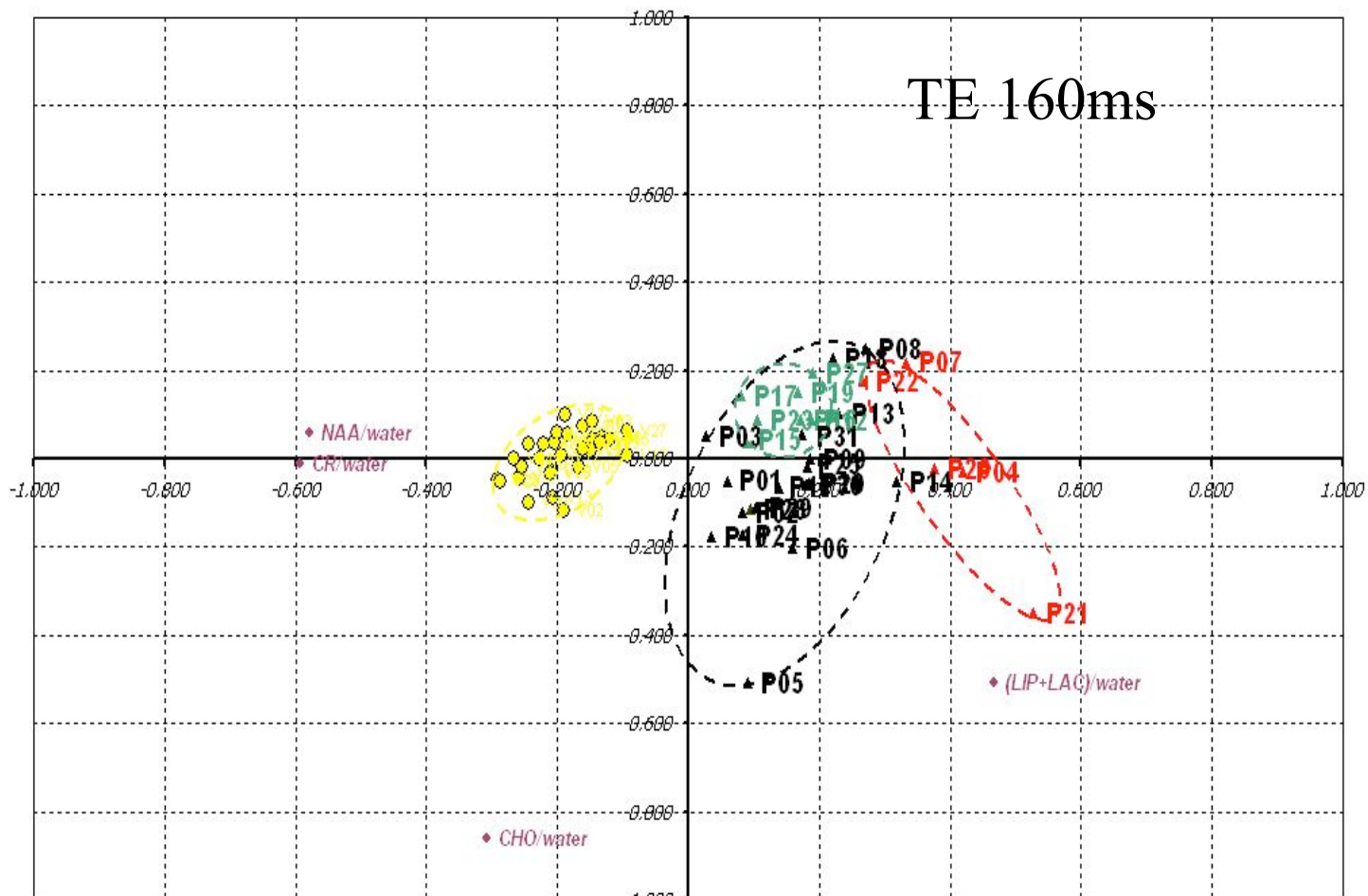
TE VAR

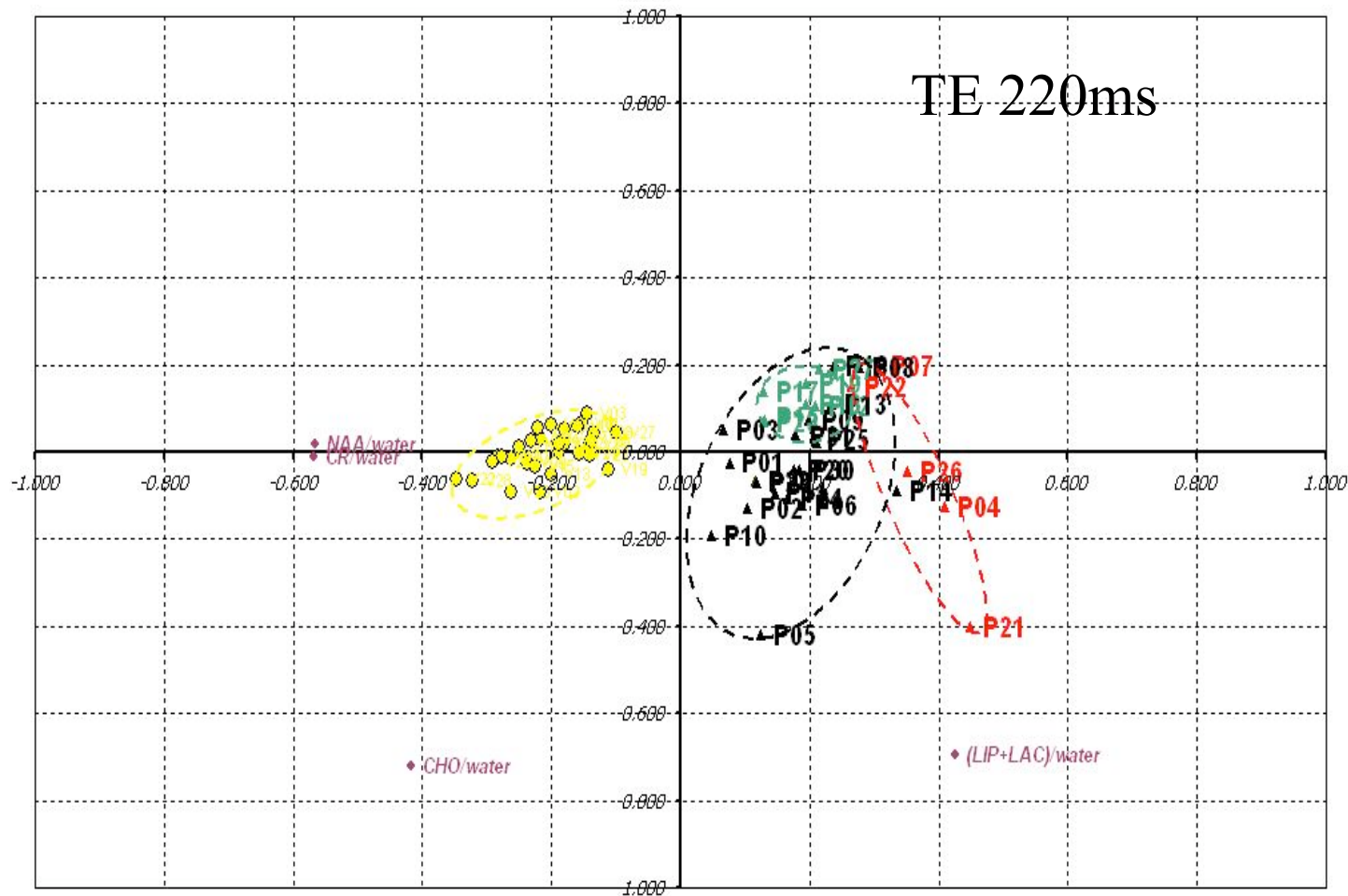
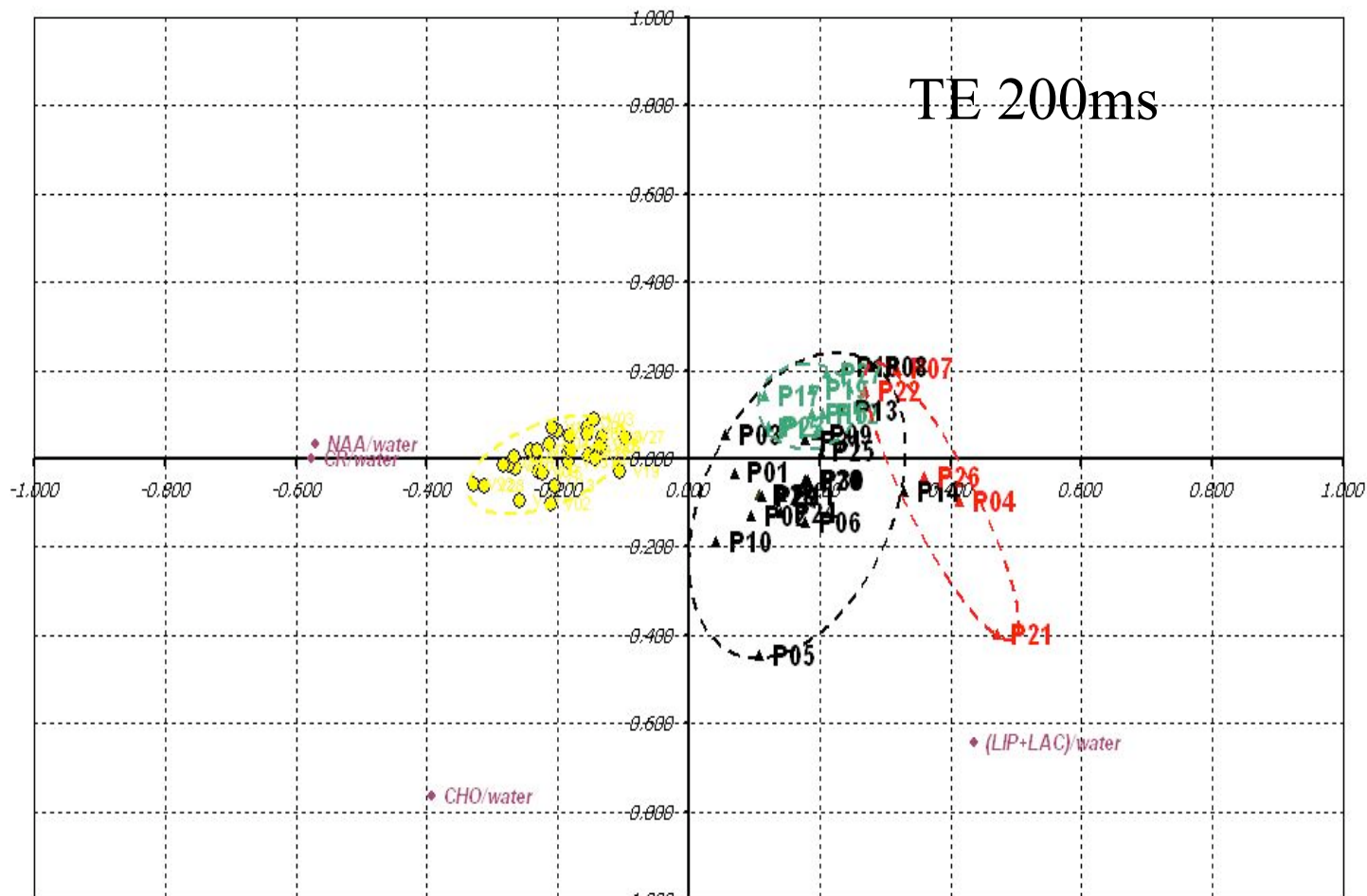


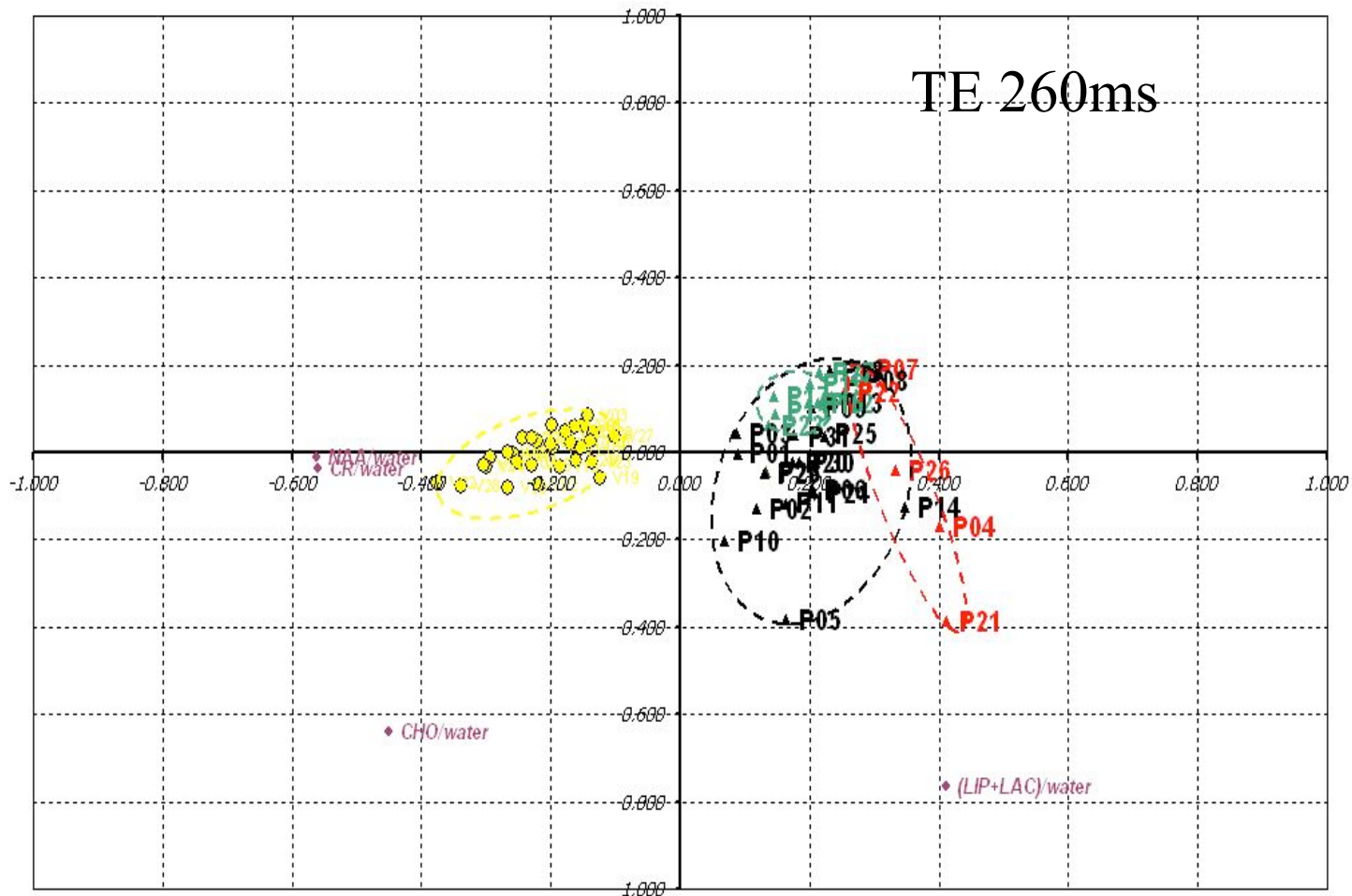
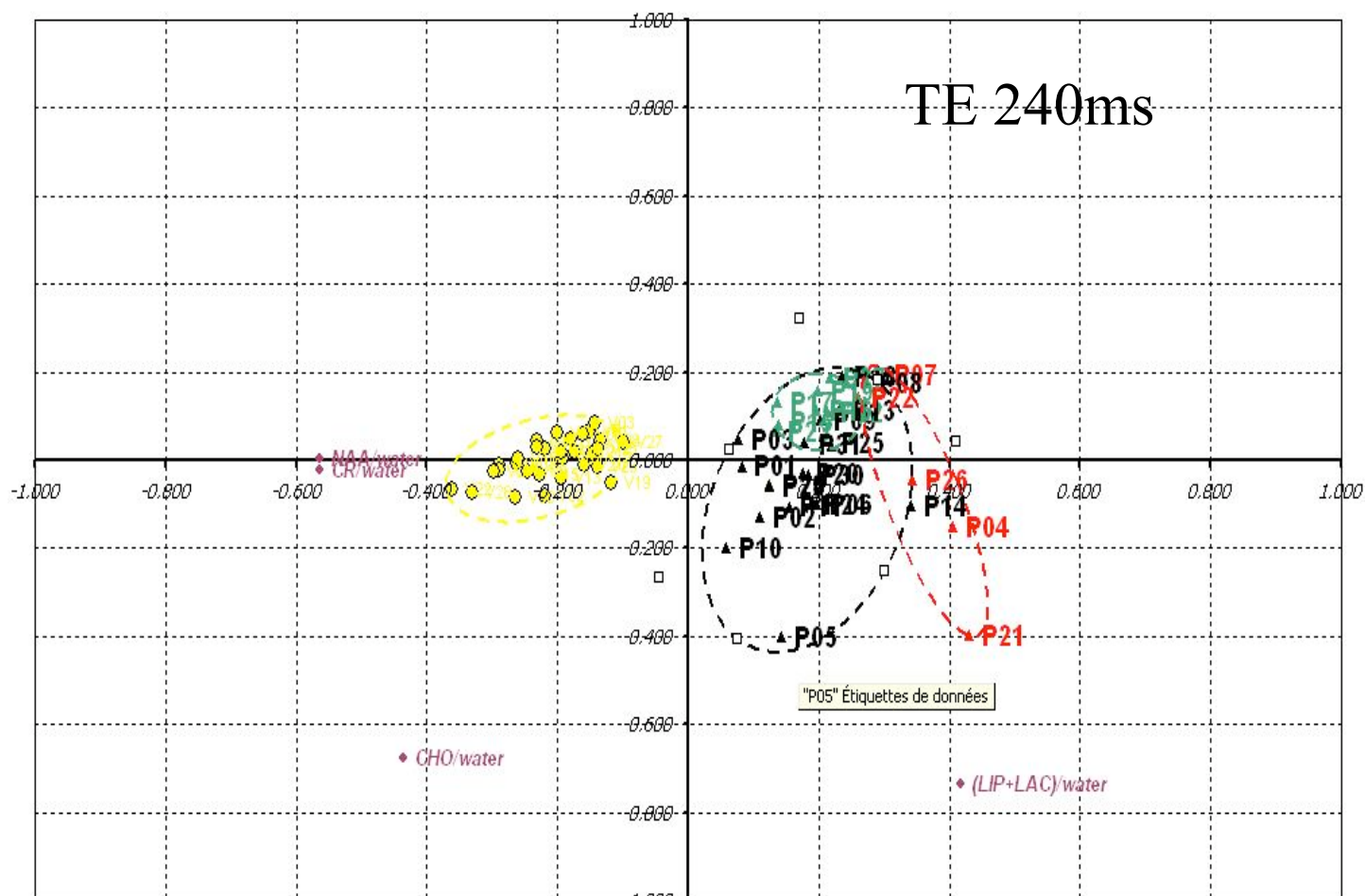


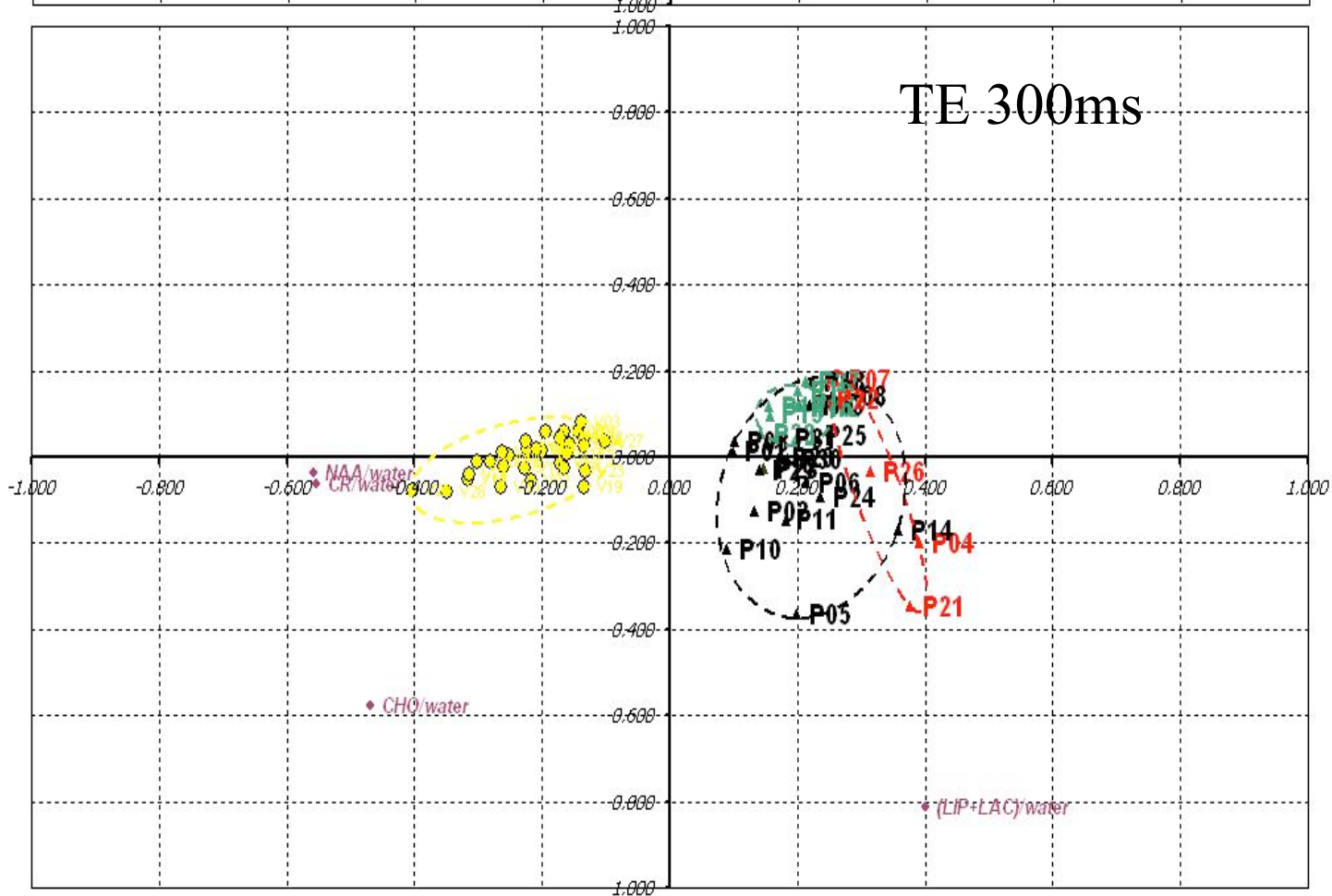
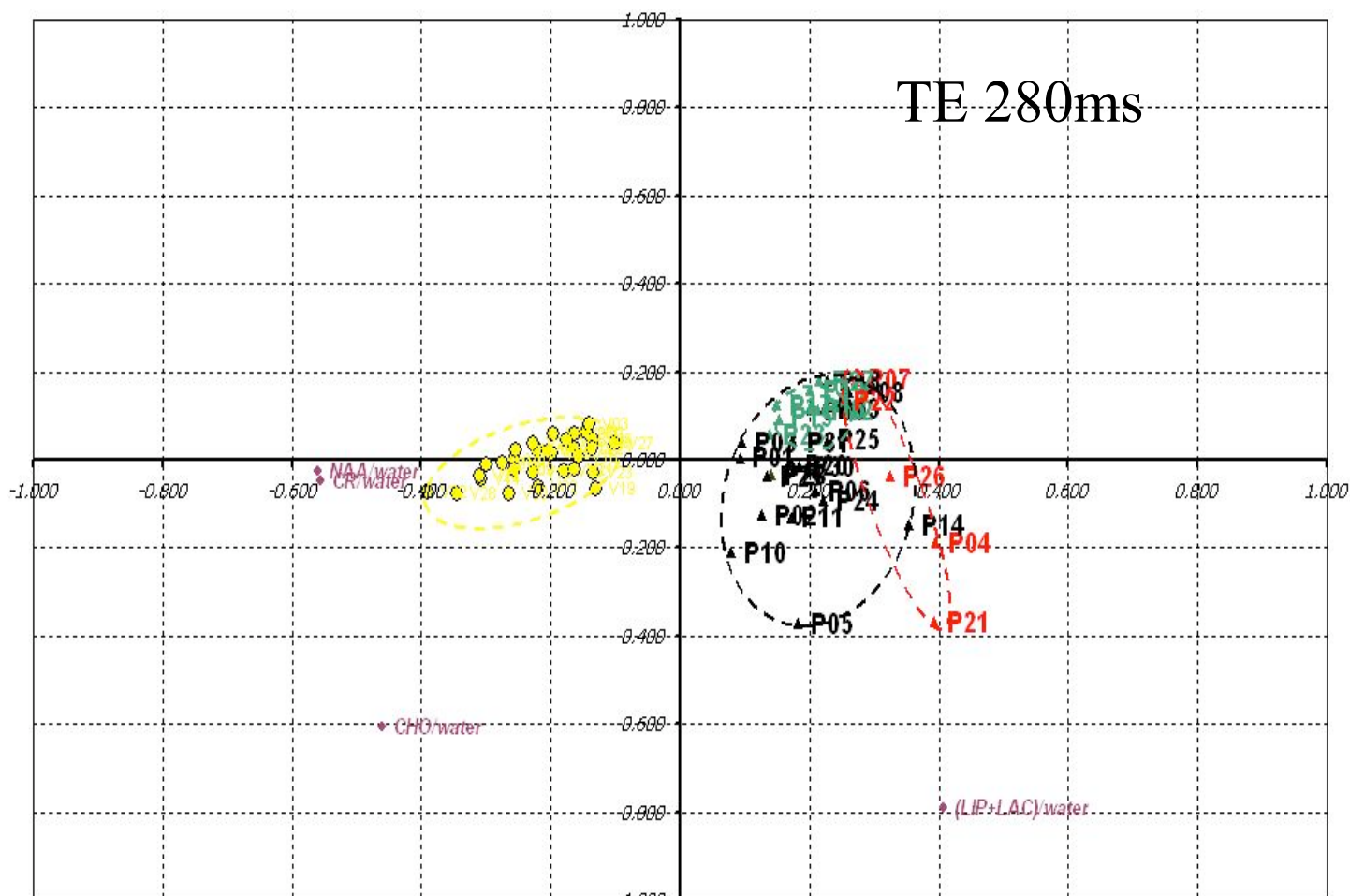












Titre: Développements Méthodologiques en Spectroscopie RMN *in vivo* pour l'étude des tumeurs cérébrales

Dans un premier temps, les développements méthodologiques ont porté sur l'évaluation des séquences de localisation (PRESS & STEAM) et des paramètres d'acquisitions (TE & TR) pour obtenir la meilleure reproductibilité et fiabilité sur une population témoin. Un protocole de post-traitement, opérationnel directement sur la console de l'imageur, a été mis au point afin de prendre en compte toute la complexité des spectres SRM- ^1H *in vivo*, tout en gardant la convivialité du protocole proposé par le constructeur. Dans une seconde étape, ce protocole a été appliqué aux tumeurs gliales. Nous avons ainsi pu déterminer la meilleure méthodologie pour obtenir des données pertinentes lors de l'analyse en composantes principales (ACP). Cette approche nous a permis de montrer que l'ACP est un outil simple et efficace pour situer visuellement une tumeur gliale dans un graphe qui renseigne sur l'agressivité de la lésion. Dans une dernière étape, deux études plus exploratoires ont été menées. Nous avons évalué une nouvelle stratégie d'optimisation et de rationalisation du choix des TE : le couplage de l'ACP et de la simulation des intensités à différents TE. Enfin, nous avons démontré la faisabilité de la méthode ERETIC pour la détermination des concentrations absolues des métabolites sur un imageur corps entier commercial.

Mots-clés: SRM- ^1H , Tumeurs cérébrales, Post-traitement, ERETIC

Title: Methodologic development in *in vivo* magnetic resonance spectroscopy for brain tumors

The first step of our work was the evaluation of the reproducibility and the reliability of different methodological development of localized spectroscopy sequences (PRESS & STEAM) and parameters (TE & TR) on normal volunteers. We have proposed a "home-made" post-processing protocol, which is easily and directly available on the MRI unit. The second step was the application of this protocol to patients with glial brain tumors. We were now able to assess the better methodology using Principal Components Analysis (PCA). PCA has showed to be simple and efficient to visually determine the aggressiveness of the tumor in a graph. Two further preliminary studies were conducted, one evaluating a new strategy to determine the best echo time based on simulated intensity and PCA, the second considering a new and original method (ERETIC) for absolute quantification on a commercial MR unit.

Key-words: ^1H -MRS, Brain tumors, Post-processing, ERETIC