Université d'Aix-Marseille

Ecole Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé (*EDSVS*)

UFR Médecine

Centre de Résonance Magnétique Biologique et Médicale

(*CRMBM, AMU CNRS, UMR 7339*)

Thèse présentée pour l'obtention du grade de docteur de l'Université d'AMU

ED 62 – Sciences de la Vie et de la Santé

Spécialité : **Neurosciences**

Maxime DONADIEU

Spectroscopie par résonance magnétique à haut (3 Tesla) et très haut champ (7 Tesla) : Développements méthodologiques et applications à la Sclérose en Plaques.

Directeur de Thèse : **Pr. Jean-Philippe RANJEVA**

Soutenue le 13/12/2017

JURY

Pr. Jean Philippe RANJEVA	Professeur des Universités (Marseille)	Directeur de Thèse
Pr. Isabelle BERRY	Professeur des Universités (Toulouse)	Rapporteur
Dr. Julien VALETTE	Ingénieur/Chercheur CEA (Saclay)	Rapporteur
Dr. Hélène RATINEY	Chercheur CNRS (Lyon)	Examinatrice
Pr. Maxime GUYE	Professeur des Universités (Marseille)	Examinateur
Dr. Thomas TROALEN	Responsable Partenariat SIEMENS	Examinateur

A Suzanne et Edouard,

Table des matières

Résumé 5

Abstract 6

Remerciements 7

Introduction Générale 9

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE 12

CHAPITRE 1 : Métabolisme cérébral : de la physiologie à la pathologie, application à la Sclérose en Plaques. 13

1.1 : Métabolisme cérébral : quels sont les principaux acteurs ? 14

1.2 : Troubles métaboliques et sodiques dans les pathologies cérébrales : Cas de la Sclérose en Plaques. 23

1.2.1 : La SEP 23

1.2.2 : IRM et SEP 25

1.2.3 : Désordres métaboliques et SEP 29

1.2.4 : Désordres de l'homéostasie sodique et SEP 32

CHAPITRE 2 : Spectroscopie par Résonance Magnétique (SRM) et Imagerie du Sodium : Techniques de mesures non invasives du métabolisme et de l'homéostasie ionique du cerveau. 36

2.1 : La Spectroscopie par Résonance Magnétique : principes physique, acquisitions et traitement de données. 37

2.1.1 : Principe physique : 37

2.1.2 : Acquisitions du signal en SRM : 43

2.1.3 : Post-traitement en SRM : 49

2.1.4 : Difficultés rencontrées en SRM : 51

2.2 : L'IRM du sodium : principes physiques, acquisitions et traitement de données. 53

2.2.1 : Principe physique et acquisitions : 53

2.2.2 : Post-traitement en IRM du ^{23}Na: 56

2.2.3 : Difficultés rencontrées en IRM du ^{23}Na : 57

2.3 : Le très haut champ (7 Tesla) : avantages et inconvénients pour la SRM et l'imagerie du sodium. 57

2.4 : Objectifs de la thèse 61

DEUXIEME PARTIE : ETUDES EXPERIMENTALES 62

CHAPITRE 1 : Utilisation d'une technique d'ISRM 3D cerveau entier afin d'étudier la topographie des désordres métaboliques chez des patients atteints de SEP de forme Récurrente-Rémittente (RR). 63

3.1: Introduction 63

3.2: Metabolic voxel-based analysis of the complete human brain using fast 3D-MRSI: Proof of concept on Multiple Sclerosis 64
3.3: Conclusion 74
CHAPITRE 2 : Quels sont les substrats métaboliques des accumulations de sodium observés dans la SEP de forme Récurrente-Rémittente (RR) ? 75
4.1: Introduction 75
4.2: Metabolic counterparts of sodium accumulation in Multiple Sclerosis: A whole brain 23Na-MRI and fast 1H-MRSI study 76
4.3: Conclusion 87
CHAPITRE 3 : Intérêt de l'IRM 7T chez l'Homme. Profils métaboliques des différents noyaux thalamiques chez le sujet sain par ISRM 2D à ultra haute résolution 88
6.1: Introduction 88
6.2: Evidencing different neurochemical profiles between thalamic nuclei using high resolution 2D-PRESS semi-LASER 1H-MRSI at 7T 89
6.3: Conclusion 101
Synthèse et perspectives 102
Synthèse : 102
Perspectives : 103
Bibliographie 108
Publications et communications 120
Annexes 125
Annexe 1 : 125
Table des figures 136

Résumé

La Sclérose en Plaques (SEP) est une pathologie qui se caractérise notamment par trois grands processus physiopathologiques que sont l'inflammation, la démyélinisation et la neurodégénérescence associées chacune à différentes perturbations métaboliques. La spectroscopie par résonance magnétique ou SRM permet de manière non invasive, de caractériser et suivre l'évolution du métabolisme cérébral *in vivo* chez l'Homme. Néanmoins, cette technique continue à être difficilement transférable en clinique notamment en raison d'un faible rapport signal sur bruit et d'une faible couverture spatiale, qui ne permet pas, à l'heure actuelle, d'obtenir une caractérisation métabolique cérébrale complète, un prérequis essentiel pour mieux comprendre une pathologie diffuse comme la SEP.

Mon premier projet a donc consisté à transposer en recherche clinique, une technique de spectroscopie rapide en 3 dimensions, acquise dans deux orientations spatiales (CACP et CACP+15°), permettant une couverture totale de l'encéphale. Ainsi, 19 patients atteints d'une SEP de forme récurrente-rémittente (RR) et 19 témoins appariés en âge et en sexe ont été explorés et comparés voxel à voxel afin de mettre en évidence la topographie de leurs anomalies métaboliques. Cette comparaison a mis en évidence des diminutions de N-Acétyl Aspartate (NAA) et des Glutamate-Glutamine (Glx), métabolites reliés respectivement à la viabilité et à l'activité neuronale, dans des régions fonctionnelles motrices et cognitives, mais également des augmentations de myo-inositol, principal marqueur de l'activation gliale, dans les lésions de substance blanche ainsi qu'en dehors (Donadieu et al. JMRI 2016).

La deuxième étude a visé à caractériser d'un point de vue métabolique, les accumulations cérébrales de sodium observées chez les patients atteints de SEP par IRM du ^{23}Na. Nous avons combiné dans un même protocole clinique une exploration par imagerie spectroscopique 3D du proton (double orientations) et par IRM 3D du sodium couvrant l'ensemble du cerveau. Nous avons ainsi exploré 21 patients et 20 témoins appariés en âge et en sexe et évalué les corrélations entre les accumulations de sodium et les désordres métaboliques. Nous avons pu mettre en évidence des corrélations significatives entre les accumulations de sodium et les diminutions de NAA dans les trois compartiments (substance blanche, substance grise et lésions), mettant en lumière un lien fort entre les accumulations de sodium observées dans la SEP et les phénomènes de souffrance neuronale reflétés par les diminutions de NAA (Donadieu et al. MSJ 2017).

Enfin, le dernier projet a eu pour but d'améliorer la résolution spatiale de l'imagerie spectroscopique du proton en tirant partie des avantages d'un imageur clinique à très haut champ magnétique (7 Tesla). En effet le gain en rapport signal sur bruit offert par le 7T, nous a permis d'améliorer la résolution spatiale tout en gardant un temps d'acquisition compatible avec un examen clinique. Cette étude a été menée sur 13 sujets sains avec une séquence 2D semi-laser centrée sur le Thalamus et un volume de voxel inférieur à 0.3 ml. Après avoir corrigé les problèmes liés au très haut champ comme les inhomogénéités B_0 et B_1 ainsi que l'artefact de déplacement chimique, nous avons obtenu le profil du NAA, de la Choline et de la Créatine pour 4 gros noyaux thalamiques. L'analyse statistique a mis en évidence des différences métaboliques entre les noyaux d'un même hémisphère et des différences gauche/droite pour un même noyau (Donadieu et al. MAGMA 2016).

Abstract

Multiple Sclerosis is a chronic and diffuse pathology characterize by three main pathophysiological processes, the inflammation, the demyelination and the neurodegeneration, linked with different metabolic disruptions. Magnetic Resonance Spectroscopy (MRS) allows to characterize, *in vivo* and non-invasively, the cerebral metabolism in Human. Nevertheless, use MRS in clinical routine is marginal due to low signal to noise ratio and poor spatial coverage. Currently, it is impossible to obtain whole brain metabolic topography, mandatory step in order to understand diffuse pathology like MS.

First of all, we aimed to transpose, in a clinical protocol, a fast 3D-MRSI sequence acquired in two different orientations (AC-PC and AC-PC+15°), giving us a whole brain metabolic coverage. 19 relapsing-remitting (RR) MS patients and 19, matched in age and gender, healthy controls have been explored and compared using statistical mapping analysis, in order to highlight the topography of metabolic abnormalities in MS patients. We observed significant decrease in NAA and Glx, metabolites linked with neuronal health and activity, in important motor and cognitive areas, but also increase in Myo-Inositol, main biomarker of glial activation, inside white matter T_2 lesions and outside, in normal appearing white and grey matter (Donadieu et al. JMRI 2016).

Secondly, we aimed to characterize the metabolic counterpart of cerebral sodium accumulations observed, using ^{23}Na MRI, in RR-MS patients. We have combined, in a same clinical protocol, the fast 3D proton MRSI sequence with the double orientations and the ^{23}Na MRI sequence covering the whole brain previously develop in the laboratory. We explored 21 RR-MS patients and 20, matched in age and gender, healthy controls. We evaluated correlations between sodium accumulations and metabolic disorders using stepwise regression model. We observed significant correlations between sodium accumulations and decrease in NAA in the three main brain compartments (white matter, grey matter and T_2 lesions), highlighting a strong link between sodium accumulations observe in MS and neuronal suffering reflecting by decrease in NAA (Donadieu et al. MSJ).

Finally, we attempted to improve spatial resolution of proton MR spectroscopy using ultra high field clinical scanner (7 Tesla). Indeed, the benefit in signal to noise ratio offer by 7 Tesla, allow us to improve spatial resolution while maintaining a clinical compatible acquisition time. We explored 13 right handed healthy controls with a 2D semi-laser sequence focus on Thalamus with voxel size below 0.3 ml. We also addressed ultra-high field artifacts like B_0 and B_1 inhomogeneities as well as chemical shift displacement error. We obtained metabolic profiles of NAA, Choline and Creatine for 4 big thalamic nuclei (Pulvinar, Dorso-Medial, Ventro-Lateral and Anterior). Moreover, statistical analysis evidencing metabolic differences between nuclei in same hemisphere but also for some nuclei left/right differences (Donadieu et al. MAGMA 2016).

Remerciements

Je tiens à remercier tout d'abord le laboratoire du CRMBM et sa directrice le docteur Monique Bernard ainsi que la société Siemens S.A.S de m'avoir permis, via le dispositif CIFRE de l'ANRT, de réaliser cette thèse de neurosciences et d'être formé au monde de la recherche aussi bien académique qu'industriel. Ces trois années ont été énormément enrichissantes autant sur le plan professionnel qu'humain.

Mes premiers remerciements vont vers le Professeur Maxime Guye, directeur du CEMEREM. Merci pour ton accueil, tes conseils avisés, ton suivi paternaliste, ton humour et tes taquineries. Tout cela a été pour moi très précieux. Un énorme merci également au Professeur Jean-Philippe Ranjeva, pour ton encadrement sans faille et toujours au top, tes nombreux conseils, ton accessibilité à toutes heures, et aussi pour la façon dont tu m'as toujours poussé et permis de tirer le meilleur de moi-même. C'est en grande partie grâce à toi que j'ai pris goût à la recherche et que je souhaite continuer dans cette voie. Un merci aussi au docteur Yann Le Fur, pour ta patience face à un étudiant biologiste qui avait souvent du mal avec les subtilités de l'IRM et de la spectroscopie ! Merci aussi pour les conseils et les explications pointues sans lesquels je ne serais pas allez bien loin.

Une pensée plus qu'affectueuse aux gens qui ont fait partit de ce long périple (master + thèse) : Véro, Lolo, Fanelly et Soso, de vraies confidentes et un soutien sans faille depuis le tout début ! Merci pour toutes ces petites choses qui font notre quotidien et qui m'ont permis de traverser cette thèse avec le sourire. Zak, Sam, Manu, Val et Heni, partenaires de thèse, merci pour tous ces délires qu'on a pu partager, pour les allers-retours au casino, pour votre amitié, votre soutien de tous les jours et merci également d'avoir supporté mon caractère parfois plus que limite... Un merci également aux gars du 7 T (Guillaume, Olive, Ludo, Aurélien, Mark, Pierre et Alex) pour tous vos conseils toujours très utiles. Un merci particulier à Stan Rapacchi, pour ta patience, ton aide dans les moments difficiles et tes nombreuses explications. Un merci aussi à Elisabeth, Sylviane, Marie-Pierre et Patrick, pour m'avoir formé à l'IRM et à ses problématiques, vos nombreux conseils sont pour moi d'une aide précieuse au quotidien. Un merci à Wafaa

Zaaraoui pour ton accueil des premiers instants, ton aide, tes nombreux conseils (et pas que sur le sodium !!) et ta bonne humeur. Adil Maarouf et Arnaud Le Troter je ne vous oublie pas, merci pour toutes ces discussions souvent sportives mais pas que et pour tous les conseils du quotidien. Des remerciements également au Docteur Bertrand Audoin et au Professeur Jean Pelletier, pour vos nombreux conseils sur la Sclérose en Plaques et pour vos relectures de papiers.

Enfin un merci plus général aux gens qui ont suivi de plus loin cette thèse : Ben, Jonathan, Cyril, Farouk, Chloé, Clémence, Robin, Audrey, Manon, Magali, Elise, Claire, Lauréline, Mathieu, Natacha, Virginie, Thomas, Framboise, Danielle, Magatte, Victor, Katelyn, Angèle, Catherine, Katie, et tous ceux que j'ai pu oublier.

Un ENORME merci à ma famille, toujours là pour me pousser et me permettre de croire en moi dans les moments heureux et malheureux, pour tout ça et pour tout le reste je vous aime. Un grand merci aussi à mes amis, Ritch, Chris, Yannick, Yo, Benji, Rémy, Romain, Julien, Jérôme, pour votre soutien, nos délires et toutes ces choses qui m'ont aidé à avancer sereinement. Enfin, un merci particulier à mon Bibi, merci d'être là au quotidien, merci pour ton amour sans faille et pour tes conseils précieux. Pour tout cela et pour le reste je t'aime fort.

« Ad Astra Per Aspera »

Introduction Générale

L'Imagerie par Résonance Magnétique ou IRM est une technique utilisée en routine clinique depuis le milieu des années 80. Cette technique reposant sur la résonance magnétique des noyaux (notamment ceux de l'hydrogène de l'eau) permet le dépistage et le suivi de nombreuses pathologies notamment neurologiques comme la Sclérose en Plaques (SEP). Cependant l'IRM dite « conventionnelle » ne permet qu'une caractérisation anatomique des maladies, limitant donc la compréhension globale de celles-ci. Ce manque de spécificité a été compensé par la recherche fondamentale et clinique, qui a développé depuis plus de 30 ans, des techniques d'IRM dites « non-conventionnelles » comme l'IRM fonctionnelle permettant d'accéder à la réponse hémodynamique du cerveau à un stimulus, l'imagerie du tenseur de diffusion permettant de calculer la restriction de la diffusion des molécules d'eau dans un tissu, la spectroscopie par résonance magnétique (SRM) permettant d'étudier *in vivo* le métabolisme d'un tissu et encore l'IRM du sodium permettant d'évaluer la concentration en sodium dans différents organes de manière non invasive.

Hélas, malgré la forte valeur ajoutée de ces techniques, leur utilisation en routine clinique n'est pas encore triviale. En effet, de nombreuses limites comme le long temps d'acquisition, la difficulté technique de mise en place et de traitement des données ainsi que la faible reproductibilité de certaines techniques ne permettent pas encore leurs utilisations courantes dans le but de comprendre et traiter les pathologies.

Mes travaux de thèse s'inscrivent donc dans ce contexte et ont pour but de valider dans un premier temps des techniques d'imagerie SRM (ISRM) du proton et d'IRM du sodium « cerveau entier » afin d'accéder au métabolisme cérébral et à l'homéostasie ionique de sujets sains et de patients atteints de SEP explorés à haut champ magnétique (3 Tesla). Dans un deuxième temps, l'idée a été de développer des techniques d'ISRM exploitant les capacités des imageurs à ultra haut champ (7 Tesla). Ces travaux ont été réalisés dans le cadre d'une convention CIFRE entre l'entreprise SIEMENS Healthcare et le CRMBM

(Centre de Résonance Magnétique Biologique et Médicale), unité mixte de recherche UMR 7339-Aix Marseille Université-CNRS, au sein du service hospitalier CEMEREM (Centre d'Exploration Médicale par résonance Magnétique) du CHU Timone.

La première partie est constituée d'une étude bibliographique.

Elle se découpe en deux chapitres, le premier présente les bases du métabolisme cérébral et des échanges sodiques chez le sujet sain ainsi que leurs atteintes dans une pathologie neurodégénérative majeure touchant le jeune adulte : la Sclérose en Plaques.

Le deuxième chapitre introduit les principes et les limites de la SRM et de l'imagerie du sodium qui permettent d'appréhender ce métabolisme cérébral *in vivo* chez l'Homme. Nous parlerons également de l'intérêt et des limites du très haut champ (7 Tesla) pour ces deux techniques.

La deuxième partie décrit les études expérimentales et est organisée en trois chapitres.

Le chapitre 1 présente le premier travail expérimental. Cette première étude a visé à valider chez des patients atteints de SEP de forme Récurrente-Rémittente (RR), une technique d'ISRM en 3 dimensions couvrant l'ensemble du cerveau. L'utilisation de cette technique en recherche clinique est inédite et a permis d'accéder *in vivo* à la topographie cérébrale des anomalies métaboliques chez des patients SEP.

Le chapitre 2 présente l'association, dans un même temps d'examen, de l'imagerie du sodium cerveau entier, précédemment validée au laboratoire chez différentes cohortes de patients souffrant de SEP, avec l'imagerie SRM 3D couvrant l'ensemble du cerveau, validée par l'étude précédente. Cette étude est réalisée chez des patients souffrant de SEP de forme RR.

Enfin, le chapitre 3 présente l'intérêt d'utiliser un imageur à très haut champ (7 Tesla) en démontrant la faisabilité d'obtenir une acquisition d'imagerie SRM à très haute résolution spatiale avec une taille de voxel d'environ 0,3ml. Le but de cette étude a été d'obtenir la composition métabolique des plus gros noyaux du thalamus, structure cérébrale pivot du

cerveau, chez des sujets sains grâce à une technique d'imagerie SRM 2D hautement résolue spatialement.

Après une conclusion générale sur ce travail de thèse, nous énonçons diverses perspectives ouvertes par nos études, notamment les résultats préliminaires du suivi longitudinal des patients explorés dans la première étude, et des projets réalisables sur une période de 5 ans.

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1

Métabolisme cérébral : de la physiologie à la pathologie, application à la Sclérose en Plaques.

Depuis de nombreux siècles, le cerveau est un organe qui fascine l'Homme. Si son étude a, durant très longtemps, été uniquement basé sur des critères purement morphologiques et anatomiques, c'est à Ramon y Cajal et Camillo Golgi, au début du XX^{ème} siècle, que reviennent les premières descriptions précises des cellules du cerveau que sont les neurones et les cellules gliales.

Bien que le cerveau soit un organe faible en poids (entre 2 et 3 % de la masse corporelle totale) il n'en demeure pas moins le plus grand consommateur énergétique du corps humain (près de 30 % de l'énergie corporelle totale) et un des organes le plus consommateur d'oxygène (entre 20 et 25 % de la consommation corporelle totale). Cette consommation énergétique élevée permet de maintenir la viabilité du réseau complexe que forment les neurones et les cellules gliales.

Il est évident que le bon fonctionnement d'un tel réseau repose sur une perfusion cérébrale complexe et efficace permettant d'alimenter rapidement le cerveau en oxygène et en nutriments, mais aussi sur de nombreux mécanismes et cascades cellulaires permettant la transformation, l'utilisation et le recyclage des composés énergétiques, la communication entre les différents acteurs cérébraux et le maintien de leurs structures.

Etudier le métabolisme cérébral revient donc à s'intéresser aux différents composés jouant un ou plusieurs rôles dans les mécanismes et cascades cellulaires du cerveau. Historiquement, on commence à s'intéresser au métabolisme cérébral à partir de la deuxième partie du XX^{ème} siècle, tout d'abord *ex vivo* sur des échantillons biologiques puis *in vivo* chez l'animal grâce à l'évolution des techniques de microscopie et enfin *in vivo*

chez l'Homme grâce à des techniques de spectroscopie par résonance magnétique ou de tomographie par émission de positons (TEP).

1.1 : Métabolisme cérébral : quels sont les principaux acteurs ?

Les acteurs principaux du métabolisme cérébral sont appelés métabolites, ils ont des rôles très variables pouvant aller du simple constituant structurel comme la Choline, composé essentiel des membranes, à la principale source d'énergie dans le cerveau, le Glucose.

Sans être exhaustif, nous allons passer en revue ici les principaux métabolites cérébraux entrant dans les différentes voies cellulaires.

Le Glutamate (Glu) est un α-amino acide, qui est le métabolite le plus concentré dans le cerveau humain (≈12mM). Considéré comme le principal neurotransmetteur excitateur intra-cellulaire du cerveau [Bennett and Balcar, 1999; Fonnum, 1984; Zhou and Danbolt, 2014], il peut représenter jusqu'à 50% de la quantité de neurotransmetteurs dans certaines régions du cerveau. Lorsque le neurone est excité, il libère dans la fente synaptique du Glutamate, celui-ci peut être capté par trois types de récepteurs ionotropiques (NMDA, AMPA ou Kaïnate) ou par des récepteurs métabotropiques (mGluR) [Kew and Kemp, 2005] au niveau post-synaptique. Ce processus permet le passage de l'information (ici chimique) d'un neurone à un autre. Il est important de noter, qu'un excès de Glu dans la fente synaptique va entrainer un phénomène dit « d'excitotoxicité » entrainant à terme la mort du neurone post-synaptique [Zhang et al., 2015]. Afin de lutter contre ce phénomène, les astrocytes présents autour de la fente synaptique vont recapter le Glu en excès via des transporteurs membranaires sodium-dépendants et le transformer rapidement en Glutamine (Gln) via une Gln synthétase et de l'Adénosine Triphosphate (ATP) (**Figure 1.1**). Cette Gln est rendue au neurone pré-synaptique qui va la retransformer en Glu et l'inclure de nouveau dans des vésicules synaptiques. Ce processus important de recyclage nécessite une synergie parfaite entre

neurone et astrocyte et représente près de 85% de la consommation du glucose cérébral [Sibson et al., 1998].

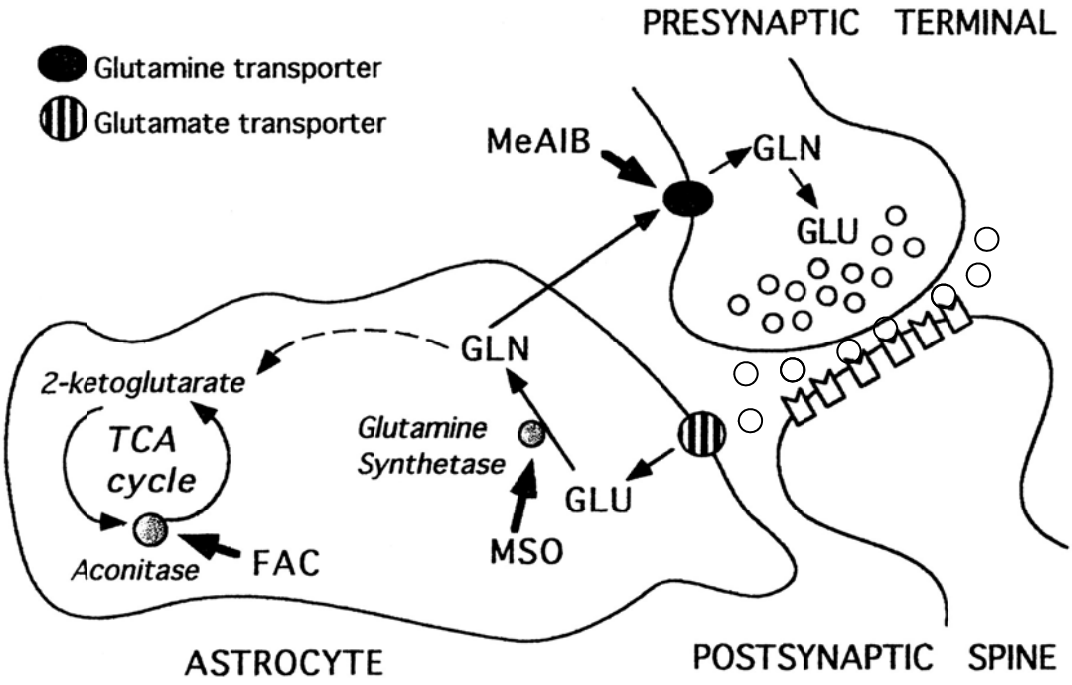

Figure 1.1 : *Schéma montrant le devenir du Glutamate (Glu) après sa libération dans la fente synaptique par le neurone pré-synaptique. Même si une partie se fixe à son récepteur post-synaptique, le Glu en surplus est recyclé par l'astrocyte en Glutamine et retransmis au neurone pré-synaptique pour générer à nouveau du Glu* [Rae, 2014].

Le N-Acétyl Aspartate (NAA), est le deuxième métabolite le plus concentré du cerveau (≈10 mM). Il est synthétisé uniquement au niveau du soma et du segment initial de l'axone, dans les mitochondries, à partir de pyruvate et d'aspartate [Moffett, 2006; Urenjak et al., 1993]. Cette caractéristique fait de lui un excellent marqueur de viabilité et de densité neuronale et son taux est largement affecté dans de nombreuses pathologies neurodégénératives de type SEP ou Alzheimer. De plus le NAA est en lien très étroit avec la consommation d'oxygène et la production d'ATP du neurone [Bates et al., 1996]. En effet lorsque la production d'ATP diminue la quantité de NAA diminue elle aussi. Si sa structure et sa localisation sont bien connues, sa fonction quant à elle reste méconnue. Les hypothèses récentes définissent le NAA comme une source énergétique neuronale, une réserve d'acétate pour les lipides myéliniques ou encore une pompe moléculaire [Moffett,

2006]. Enfin concernant son catabolisme, le NAA est dégradé par l'Aspartocyclase (ASPA) dans les cellules gliales de type oligodendrocytes ou astrocytes (**Figure 1.2**).

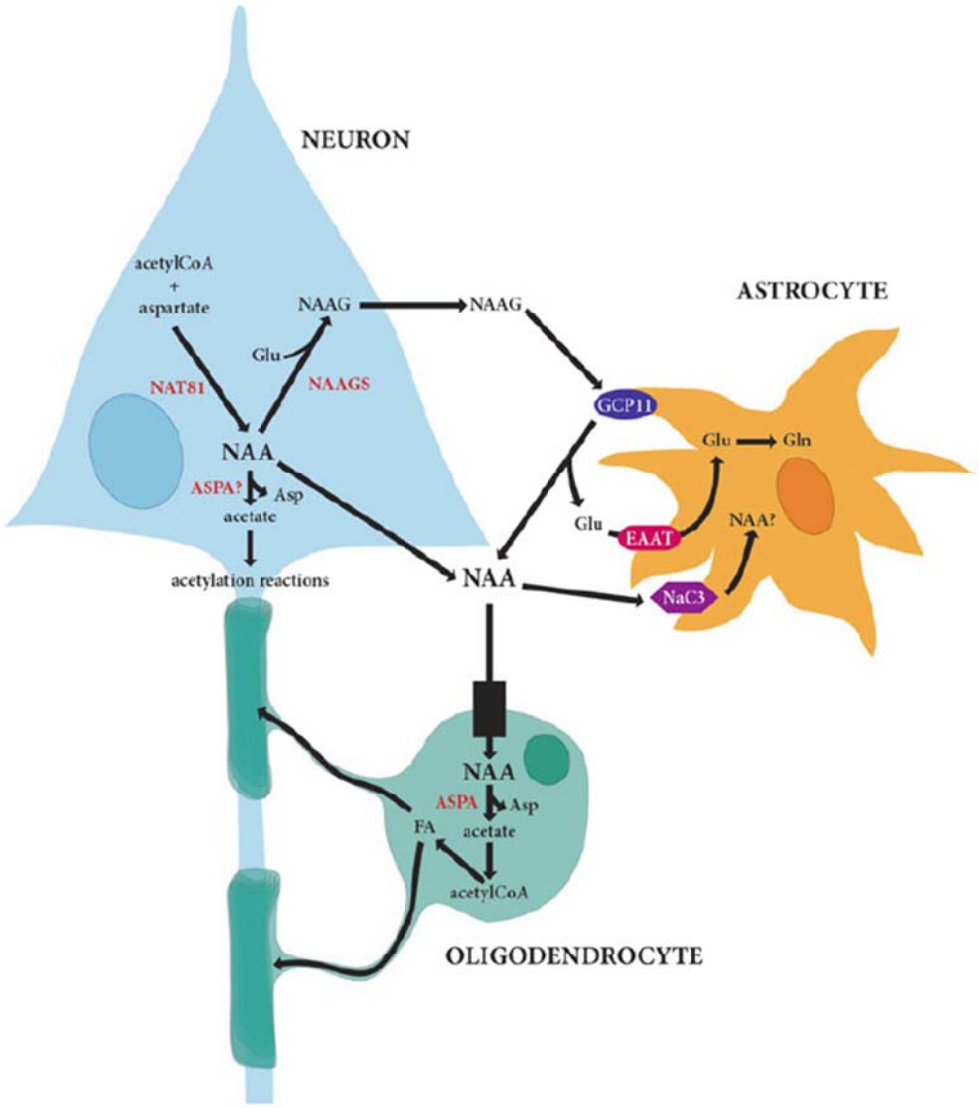

Figure 1.2 : *Schéma du devenir du NAA après sa synthèse dans la mitochondrie du neurone. Même si son rôle reste sujet à discussion, le NAA semble être dégradé par les 3 principales familles cellulaires du tissus cérébral : le neurone, l'astrocyte et l'oligodendrocyte par l'intermédiaire de l'ASPA* [Rae, 2014].

La Choline libre (Cho) à localisation plasmatique, impliquée dans la structure et le turn-over des membranes lipidiques [Rae, 2014; Urenjak et al., 1993], la Phosphorylcholine (Pcho) composant à 40 % la gaine de myéline [Laule et al., 2007] et la Glycérophosphocholine (GPC), sont des métabolites largement touchés dans les processus

de démyelinisation et d'inflammation [Praet et al., 2015]. La Cho libre est transportée dans les cellules via des transporteurs à faibles ou hautes affinités [Kuhar and Murrin, 1978; Yamamura and Snyder, 1972] pour être un précurseur de la Pcho et de la GPC.

La créatine (Cr) et sa forme phosphorylée, la phosphocréatine (PCr), jouent un rôle pivot dans l'homéostasie énergétique cérébrale et notamment dans la transformation de l'Adénosine Diphosphate (ADP) en ATP. On les retrouvent dans les neurones et les cellules gliales avec un ratio de 1:2 [Urenjak et al., 1993] et leur passage d'une forme à l'autre se fait dans le cytoplasme ou la mitochondrie par l'intermédiaire de la créatine kinase (CK) (**Figure 1.3**) [Wyss and Kaddurah-Daouk, 2000]. Le bon fonctionnement de cette enzyme est vital pour le cerveau, car elle permet de produire l'ATP nécessaire dans une multitude de cascades cellulaires et aussi pour le fonctionnement des pompes et canaux comme la Na^+/K^+ ATPase [Post et al., 1972]. Cette pompe permet le maintien du potentiel électrochimique des membranes neuronales et le déclenchement de potentiel d'action [Rae, 2014]. De manière plus triviale, Le couple Cr/PCr est considéré comme un bon marqueur de densité cellulaire. En effet on retrouve ces deux métabolites dans quasiment toutes les cellules cérébrales et leur taux semble être modulé par des phénomènes tels que l'inflammation ou la neurodégénérescence [Srinivasan, 2005].

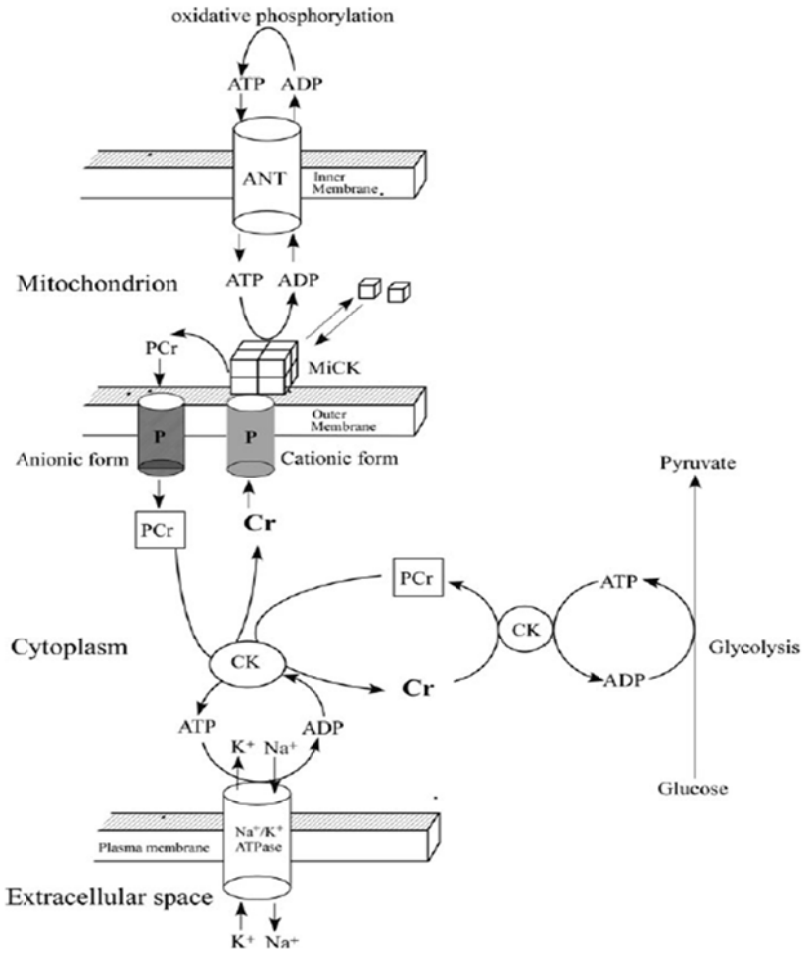

Figure 1.3 : *Schéma illustrant la synthèse et l'utilisation de la Créatine/Phosphocréatine dans les cellules cérébrales. Il est à noter le rôle central de la creatine kinase (CK) permettant le passage de la Cr en PCr et de l'ATP en ADP au niveau cytoplasmique et mitochondrial* [Rae, 2014].

L'acide γ-amino butyrique (GABA) est le principal neurotransmetteur inhibiteur du cerveau. On le retrouve en plus grandes concentrations dans la substance grise comparée à la substance blanche [Choi et al., 2006] et il semble décliner avec l'âge [Gao et al., 2013]. Il est synthétisé à partir du pool de Glutamine présent dans les astrocytes qui après leur transformation en Glutamate peuvent donner du GABA par l'intermédiaire d'une Glutamate Décarboxylase [Patel et al., 2001]. Le GABA est stocké dans les vésicules synaptiques, prêt à être libéré dans la fente synaptique, mais aussi au niveau du soma, permettant un turn-over rapide de celui-ci [Bak et al., 2006]. Le GABA est capté par deux

types de récepteurs, un ionotropique, le GABA(A), et un métabotropique, le GABA(B). Ces deux récepteurs ont des localisations post- et extra- synaptique [Nasrallah et al., 2007; Nasrallah et al., 2009]. Le système GABAergique module de nombreuses activités physiologiques comme le sommeil, la douleur, le système moteur ou encore l'anxiété et est dérégulé dans de nombreuses pathologies comme la schizophrénie ou l'épilepsie [Möhler, 2006].

Le Myo-Inositol (m-Ino) est un métabolite synthétisé principalement à partir du Glucose. Sa concentration varie énormément selon les régions cérébrales, de 2 à 15 mM avec une moyenne de 8 mM [Fisher et al., 2002]. Malgré le fait que le m-Ino soit présent dans certains neurones [Novak et al., 1999], il est considéré comme le principal marqueur des cellules gliales [Brand et al., 1993]. En plus d'être un marqueur inflammatoire, le m-Ino est aussi un constituant des lipides membranaires via les phosphoglycérides ou encore un second messager intracellulaire. Il est impliqué dans de nombreuses pathologies inflammatoires cérébrales comme la SEP ou les tumeurs [Bertholdo et al., 2013].

Le Glucose (Glc) est le principal substrat énergétique du cerveau, sa concentration est autour de 1 mM et sa régulation est un enjeu physiologique majeur. Il n'est pas synthétisé *de novo* dans le cerveau mais traverse la barrière hémato encéphalique (BHE) après avoir circulé dans le système vasculaire cérébral et est incorporé dans les neurones et les cellules gliales. Il entre dans le métabolisme oxydatif des cellules cérébrales et une concentration sanguine inférieure à 4 mM peut avoir de graves conséquences entrainant le coma puis la mort [Mitrakou et al., 1991]. Une fois à l'intérieur des cellules, par l'intermédiaire des transporteur GLUT1 pour les astrocytes et GLUT3 pour les neurones [Vannucci et al., 1997], le Glc est transformé en glucose-6-phosphate puis en lactate et en alanine, via une glucose-6-phosphatase, afin d'être le substrat énergétique majoritaire des neurones [Tabernero et al., 1996; Tyson et al., 2003]. Il est à noter que les cellules gliales sont capables de stocker le glucose sous forme de glycogène et donc de conserver une réserve énergétique disponible à tout moment pour le neurone [Cataldo and Broadwell, 1986].

Le lactate (Lac) est la deuxième source d'énergie du cerveau après le glucose (≈1mM), il peut être oxydé par les neurones mais aussi par les cellules gliales [Boumezbeur et al.,

2010; Bouzier-Sore et al., 2006; Zielke et al., 2009]. Le Lac provient du pyruvate par l'action de l'enzyme lactate déshydrogenase. Il constitue une alternative énergétique au glucose. En effet il peut être retransformé rapidement en pyruvate à tout moment et permettre son utilisation sous forme d'acétyl-CoA dans le cycle de Krebs [Rae, 2014] (**Figure 1.4**). Les deux principaux transporteurs du Lactate sont les Monocarboxylates (MCT et SMCT) [Deuticke et al., 1978; Gopal et al., 2007], ils permettent le transfert du Lac de l'astrocyte au neurone et inversement. Enfin, on retrouve des dérégulations des voies métaboliques du lactate en phase aigüe de SEP ou dans des phénomènes hypoxiques/ischémiques [Fonalledas Perelló et al., 2008].

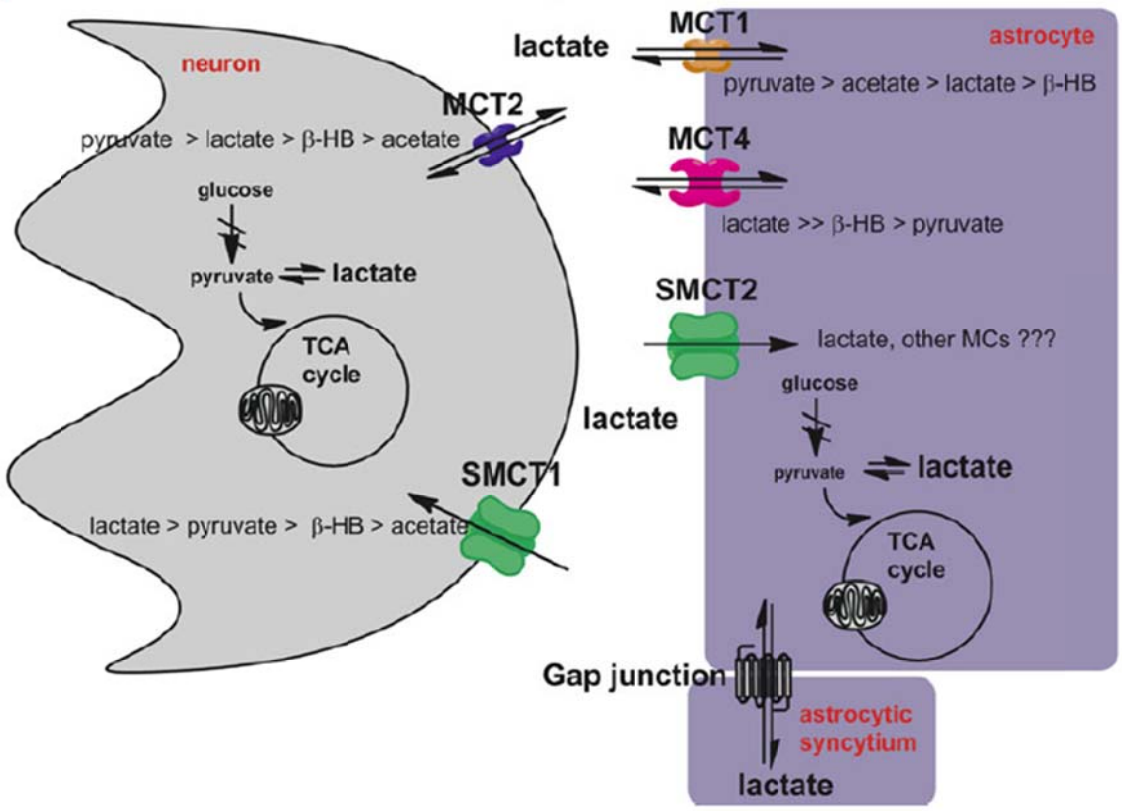

Figure 1.4 : *Schéma montrant la synthèse et l'utilisation du Lactate dans les neurones et les astrocytes ainsi que ses différents transporteurs membranaires. Après avoir été transformé en pyruvate, il est utilisé comme métabolite énergétique principal du cycle de Krebs mitochondrial* [Rae, 2014].

Le glutathion (GSH) est un tri peptide en concentrations assez élevées dans le cerveau (≈2-3 mM). Il est en général plus concentré dans la substance grise que dans la substance

blanche et plus concentré dans les cellules gliales que dans les neurones [Rice and Russo-Menna, 1998; Srinivasan et al., 2010]. Le GSH est formé à partir de glutamate, de cystéine et de glycine dans une réaction catalysée par la glutathion synthétase et nécessitant de l'ATP [Meister, 1974]. Il a un rôle essentiel dans la synthèse et la dégradation des protéines, dans la formation des déoxyribonucleotides, fragment de l'ADN mais également une influence protectrice vis-à-vis des radicaux libres de l'oxygène extrêmement toxiques pour les neurones [Rae, 2014]. Ce dernier rôle le relie aux mitochondries, en effet lorsque le GSH est réduit, la mitochondrie dysfonctionne et la production de NAA diminue fortement [Heales et al., 1995]. L'âge semble aussi avoir un effet sur les taux cérébraux de GSH [Maher, 2005].

Sodium et cerveau :

Bien que le sodium soit un ion et pas un métabolite, son rôle est central dans les processus physiologiques et pathologiques. En effet il entre, dans de nombreuses cascades cellulaires, dans le fonctionnement de nombreuses pompes et canaux transmembranaires et joue aussi un rôle principal dans le maintien du potentiel de membrane du neurone et le déclenchement et la propagation du potentiel d'action [Catterall and Swanson, 2015; Hille, 1978].

Le sodium se distribue en plusieurs compartiments distincts dans le cerveau humain. Dans le compartiment extracellulaire ainsi que dans le LCR la concentration de sodium est autour de 140 mM/L, dans le compartiment intracellulaire elle est beaucoup plus faible, aux alentours de 15 mM/L dans les cellules gliales et de 8 mM/L dans les neurones [Paling et al., 2013]. Cette différence de concentrations, créant un gradient, est maintenue par des pompes sodium-potassium nécéssitant une molécule d'ATP pour s'ouvrir (Na^+-K^+ ATPase) (**Figure 1.5**). Cette pompe permet donc le maintien du potentiel électrochimique de membrane.

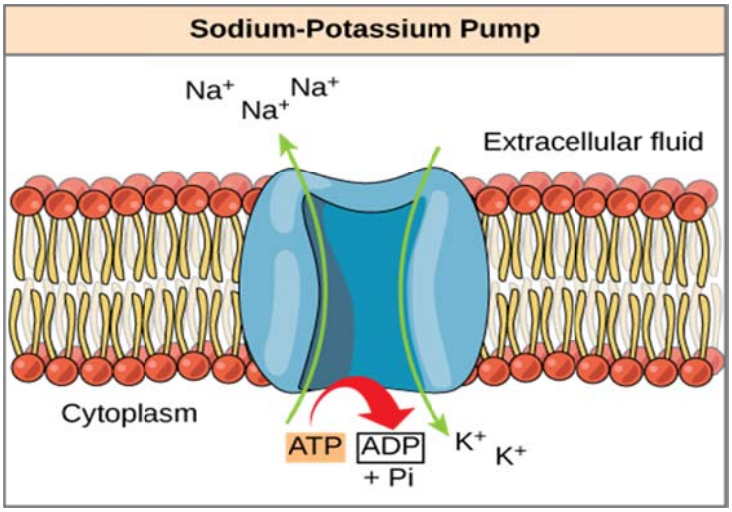

Figure 1.5 : *Schéma illustrant le fonctionnement de la pompe Na^{+}-K^{+} ATPase. Grace à l'action de l'ATP, les ions sodium sont expulsés à l'extérieur du neurone contre leur gradient de concentration [Inorganic Chemistry book].*

D'autre part lorsque le neurone est stimulé, on observe une entrée de sodium à l'intérieur du neurone par le biais de canaux sodiques voltage dépendants de type Na_v [Ahern et al., 2016]. Dans le cas d'un stimulus liminaire ou supra-liminaire, cela permet le déclenchement du potentiel d'action, permettant le passage de l'information de neurone en neurone (**Figure 1.6**).

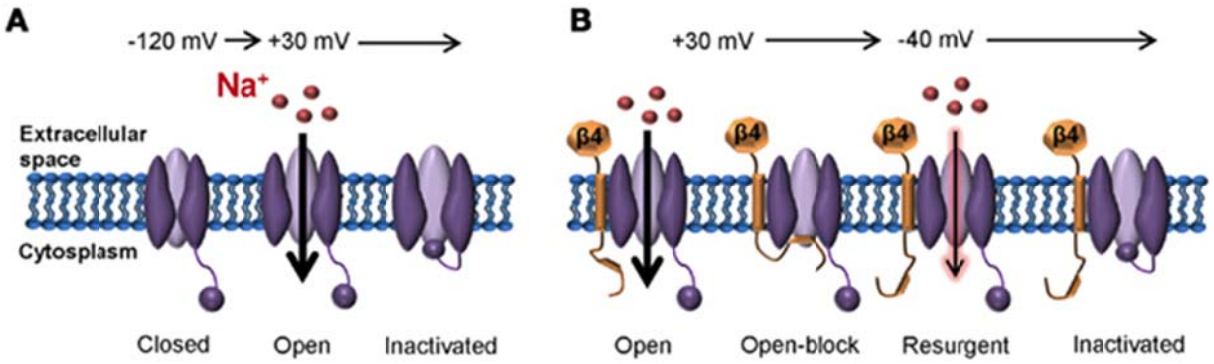

Figure 1.6 : *Schéma illustrant le fonctionnement des canaux sodium de type Na_v. En fonction du voltage, ces canaux vont s'ouvrir ou se fermer, laissant entrer à l'intérieur du neurone les ions sodium* [Ahern et al., 2016].

Une simple perturbation de ce système peut entrainer des conséquences graves au niveau glial et neuronal. L'accumulation de sodium intracellulaire peut être due à un

dysfonctionnement des pompes à voltage dépendant mais aussi à des troubles mitochondriaux entrainant une baisse de la production d'ATP et donc à une dérégulation de la pompe Na^{+}-K^{+} ATPase [Waxman, 2008]. Nous verrons par la suite que ce phénomène est à la base de grave troubles neuronaux dans de nombreuses pathologies cérébrales et notamment la SEP.

1.2 : Troubles métaboliques et sodiques dans les pathologies cérébrales : Cas de la Sclérose en Plaques.

1.2.1 : La SEP

La Sclérose en Plaques (SEP) est une pathologie chronique et diffuse du système nerveux central touchant le jeune adulte (entre 20 et 40 ans) avec une prévalence très variable selon les pays (en France elle est de 1/1000) [Fromont et al., 2010] mais fortement marquée par un gradient Nord/Sud (**Figure 1.7**) [Compston and Coles, 2008; Kurtzke, 1975]. Elle touche deux fois plus fréquemment les femmes que les hommes.

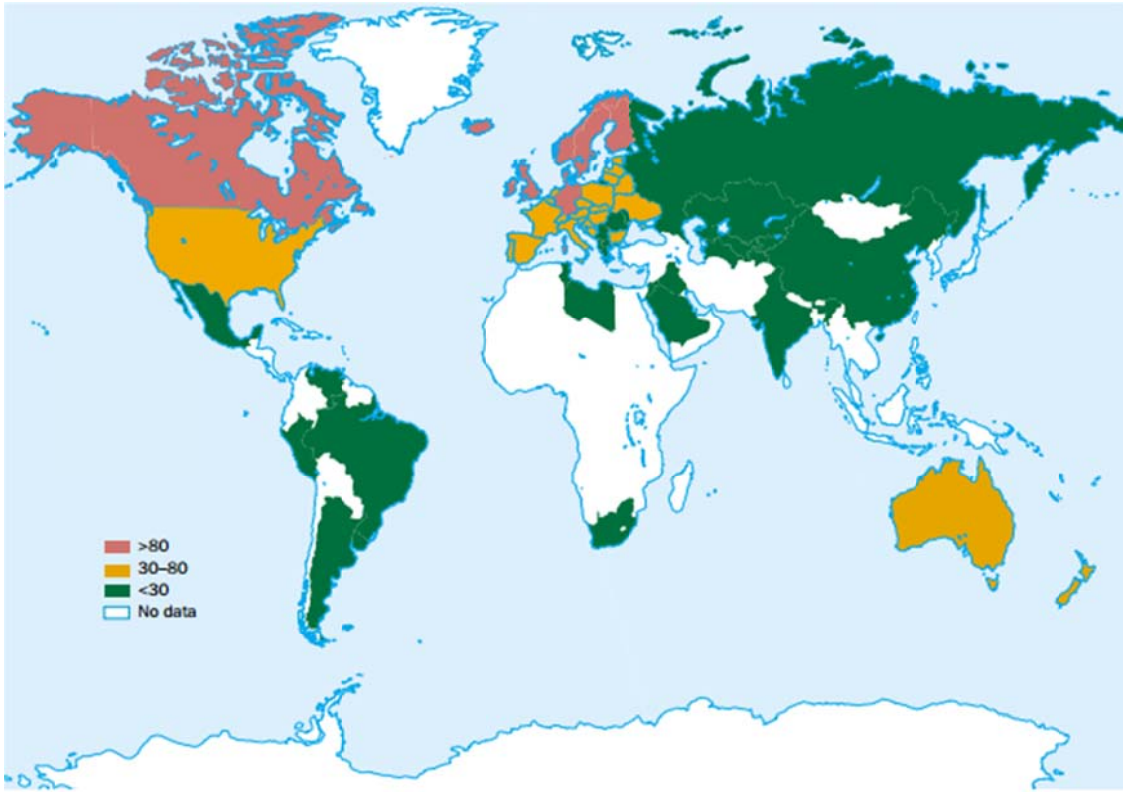

Figure 1.7 : *Prévalence de la Sclérose en Plaques dans le monde par tranche de 100 000 habitants* [Marrie, 2004].

L'étiologie de la SEP semble assez complexe et n'est pas parfaitement connue pour le moment. L'effet concomitant de facteurs génétiques et environnementaux semble être à la base du déclenchement de la pathologie. D'un point de vue environnemental, des facteurs comme les infections, le tabagisme, le stress physique et mental, le climat qui influence le taux de vitamine D [Ascherio et al., 2014] ou encore l'alimentation semblent être au centre du débat [Coo and Aronson, 2004; Marrie, 2004]. D'un point de vue génétique il existe plus de 200 gènes définis comme « à risque » pour le développement de la maladie, on pourra notamment citer le gène HLA, les gènes de types DR (2a et b) et le gène DQ6 [Hoppenbrouwers and Hintzen, 2011].

Sa première description clinique et histologique fut réalisée par le médecin français Jean Martin Charcot, au milieu du XIX^{ème} siècle (1868). La SEP est caractérisée par trois grands processus physiopathologiques, à savoir l'inflammation, décrite pour la première fois par Joseph Babinski en 1885, la démyélinisation et l'atteinte neuronale, décrite quant à elle en 1909 par Jules Déjerine [Compston and Coles, 2008; Kutzelnigg, 2005].

Dans 85 % des cas, la SEP est de forme récurrente-rémittente (RR), c'est-à-dire caractérisée par des poussées successives comprenant des symptômes neurologiques répétés, et touchant des fonctions variables (vision, motricité, sensibilité, etc.) entrecoupées par des phases de récupération [Polman et al., 2005]. Ces poussées peuvent parfois induire des séquelles non réversibles. Cette phase RR, qui peut durer de 5 à 25 ans, est généralement suivie par une phase secondaire progressive (SP) caractérisée par une évolution continue du handicap au fil du temps avec ou sans poussées [Leray et al., 2010]. Il existe une troisième forme de la pathologie, dite primairement progressive (PP), qui correspond à 15 % des patients, et qui est caractérisée par une évolution continue du handicap sans poussée ni phase de récupération [Lassmann et al., 2007] (**Figure 1.8**).

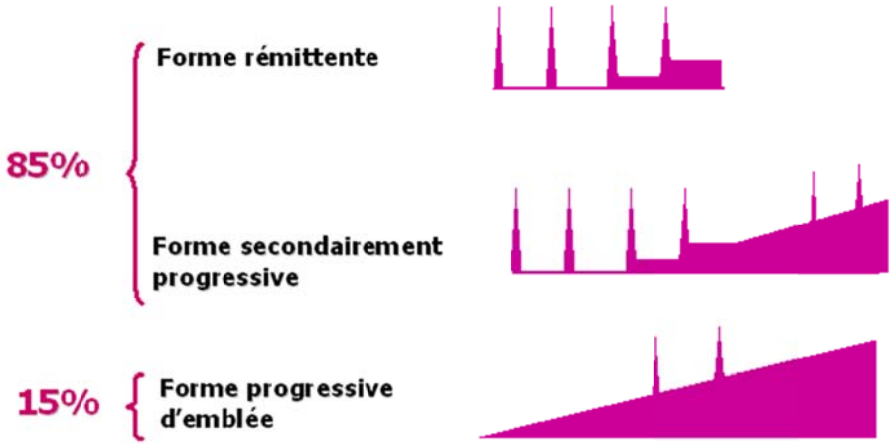

Figure 1.8 : *Les différentes formes de SEP et la répartition des patients dans les deux catégories.*

1.2.2 : IRM et SEP

L'IRM est une modalité fondamentale pour le diagnostic de la SEP. En effet la dissémination dans le temps et l'espace des lésions (ou plaques) de démyélinisation dans la substance blanche est à la base du diagnostic de la SEP et peut être directement authentifiée par l'IRM [Polman et al., 2005].

Bien que la charge totale des lésions observées en IRM soit fortement corrélée à l'atrophie cérébrale liée, au moins en partie, avec la densité et la viabilité neuronale [Popescu et al., 2015; Rudick et al., 2006], elle ne corrèle que très faiblement avec le handicap du patient. On appelle cela le paradoxe clinico-radiologique [Barkhof, 2002]. Ce constat est dû au fait que l'on a longtemps oublié, après les premières descriptions anatomopathologiques, que les différents processus pathologiques de la SEP n'étaient pas limités uniquement aux lésions. On a repris conscience aujourd'hui grâce à l'utilisation des techniques de microscopie, d'histologie et d'IRM non conventionnelle que la SEP est une pathologie diffuse, touchant l'ensemble du système nerveux central et que les lésions macroscopique de la substance blanche ne sont que la partie immergée de l'iceberg.

Les études histologiques nous montrent que, contrairement à d'autres pathologies neurodégénératives où l'inflammation est plutôt un processus secondaire (Alzheimer,

Parkinson), celle-ci joue un rôle central dans la SEP [Confavreux and Vukusic, 2006; Leray et al., 2010]. En effet cette inflammation implique des cellules variées du système immunitaire comme les lymphocytes de types B et T mais aussi les monocytes [Lassmann, 2013]. Chez des patients de type RR, lors de la phase inflammatoire aiguë, les cellules immunitaires pénètrent dans le parenchyme cérébral (généralement au niveau des grosses artères/veines) après une rupture franche de la Barrière Hémato-Encéphalique (BHE). Cette infiltration s'accompagne de l'activation de la microglie locale et des macrophages, mais aussi d'une production nocive de cytokine et chimiokines [Lassmann et al., 2007]. Cette cascade d'évènements entraine une démyélinisation massive de la substance blanche mais aussi de la substance grise [Kornek and Lassmann, 1999; Kutzelnigg, 2005] (**Figure 1.9**). Chez des patients en phase progressive primaire (PP) ou secondaire (SP), le pattern inflammatoire est différent. Il se traduit par une inflammation plus modérée, représentée majoritairement par les lymphocytes T [Lassmann et al., 2007]. Les plaques de la substance blanche et grise persistent et s'agrandissent, mais ne sont plus en phase inflammatoire aiguë. Un deuxième phénomène, déjà présent au stade RR, s'amplifie, il s'agit de l'activation microgliale profonde [Lucchinetti et al., 2011]. Elle est considérée comme un second type d'inflammation, ne prenant pas naissance à l'extérieur du cerveau mais bien à l'intérieur de celui-ci [Kutzelnigg, 2005]. Ce pattern ralentit le phénomène de démyélinisation mais entraine de grandes atteintes de la substance blanche et grise d'apparence normale (SBAN/SGAN) et conduit à une atteinte axonale majeure [Allen et al., 2001; Bø et al., 2003; Kutzelnigg, 2005].

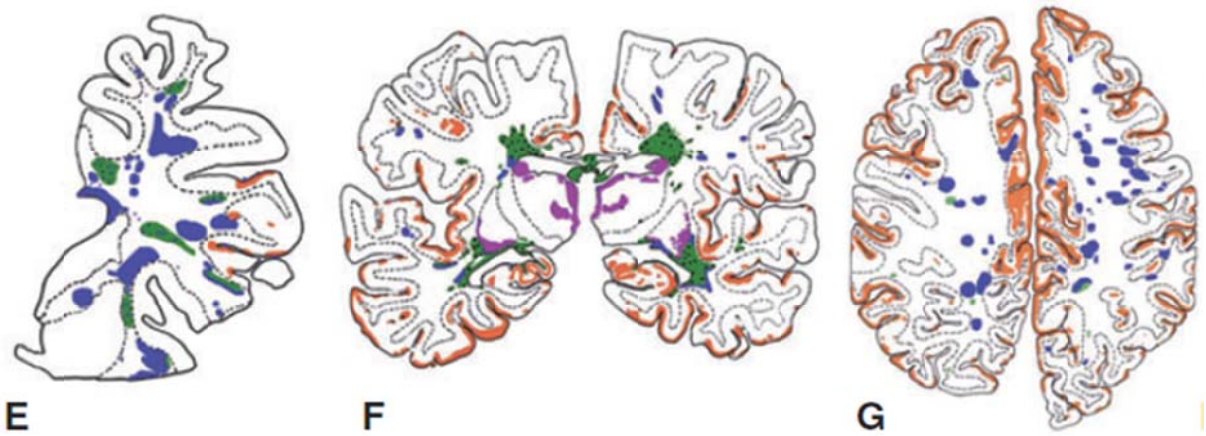

Figure 1.9 : *Physiopathologie de la Sclérose en plaques, localisation des zones de démyélinisation en fonction de la forme de la pathologie. E : SEP de type RR, la démyélinisation se localise majoritairement dans la substance blanche (vert) et légèrement dans la substance grise (orange), le phénomène de remyélinisation est important (bleu). F : SEP de type SP, démyélinisation massive dans le blanc (vert), le gris (orange) et les noyaux gris centraux (violet), le phénomène de remyélinisation est quasiment inexistant. G : SEP de type PP, la démyélinisation est majoritairement corticale (orange), plus faible dans le blanc (vert) et le phénomène de remyélinisation est cloisonné à la substance blanche (bleu) [Lassmann et al., 2007].*

La neurodégénérescence est donc un phénomène résultant de l'inflammation et/ou de la démyélinisation qui conduit à la mort neuronale. Elle est considérée comme le substrat majeur du handicap des patients [Bjartmar et al., 2003]. Comme dit précédemment elle ne se limite pas aux lésions et semble impacter l'ensemble du cerveau avec une prédominance et une précocité pour certaines régions comme le thalamus, le cortex pré-central, le cortex frontal et les grands faisceaux de substances blanches [Audoin et al., 2010; Calabrese et al., 2007]. Il est à noter que la neurodégénérescence n'est pas toujours liée à l'inflammation primaire infiltrant la BHE. En effet, dans des régions éloignées de tout infiltrat inflammatoire on observe une souffrance axonale majeure. Cette souffrance est expliquée par une atteinte mitochondriale due à une accumulation de fer et à la présence de radicaux libres produits à distance par la microglie [Campbell et al., 2014; Witte et al., 2014]. Cette dysfonction mitochondriale est à la base d'une accumulation de sodium intracellulaire, très nocive pour le neurone [Waxman, 2006; Waxman, 2008] (**Figure 1.10**).

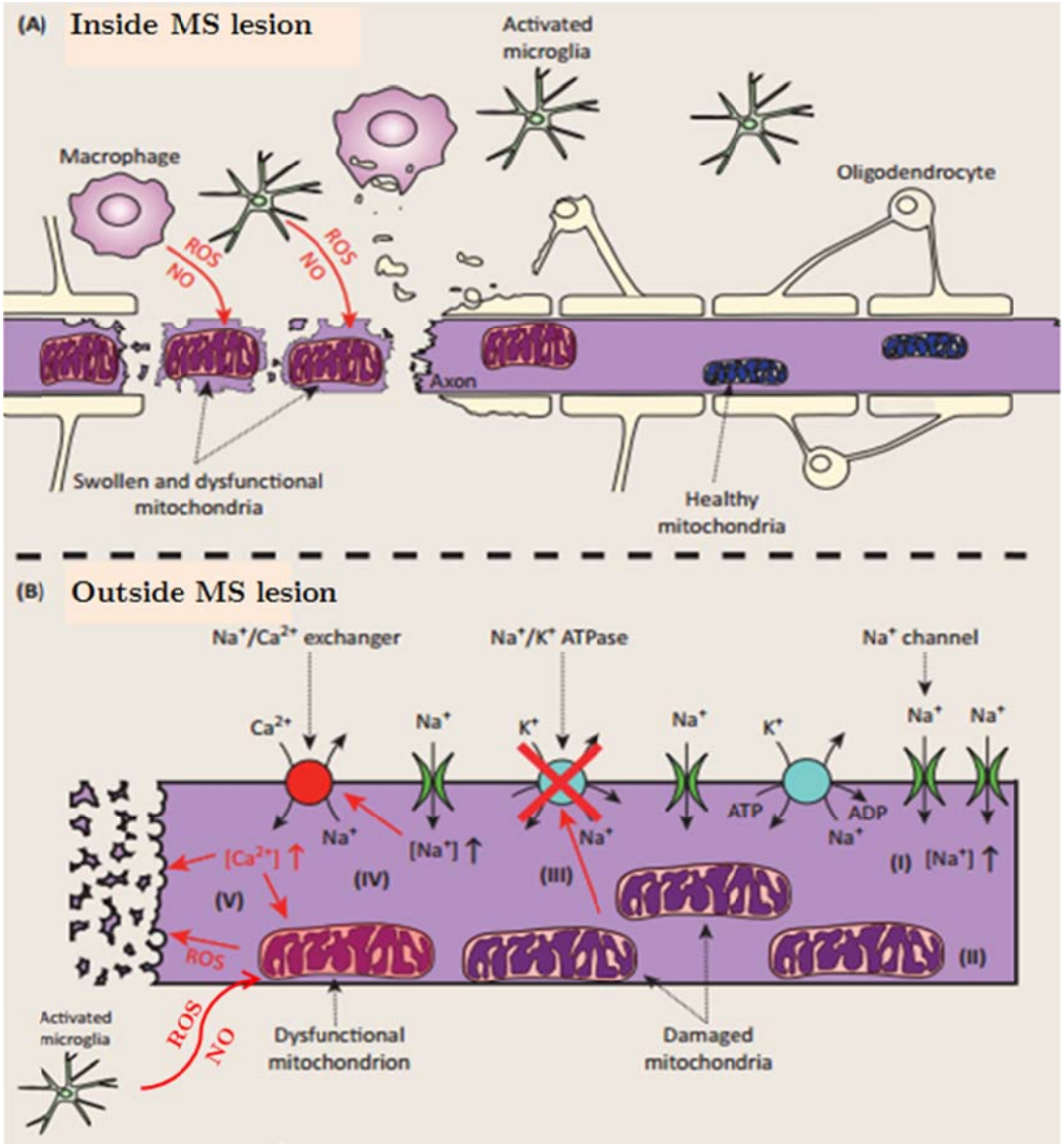

Figure 1.10 : *Schéma montrant l'impact de l'inflammation (A) à l'intérieur des lésions, avec une activation microgliale et macrophagique massive entrainant la destruction de la gaine de myéline et à terme de l'axone. (B) en dehors des lésions, avec une activité microgliale profonde agissant directement sur les mitochondries via les ROS. Cette dysfonction mitochondriale entraine un changement d'activité de la pompe Na^+-K^+ ATPase, point de départ d'une cascade d'évènements destructeurs pour le neurone [Witte et al., 2014].*

L'IRM conventionnelle ne permet d'observer que très partiellement ces trois phénomènes que sont l'inflammation, la démyélinisation et la neurodégénérescence. Nous avons vu dans le chapitre précédent que le métabolisme était le reflet des grands processus

cellulaires du neurone et de la cellule gliale. Grace à une technique d'imagerie non conventionnelle, la spectroscopie par résonance magnétique, que nous décrirons plus en détail dans la deuxième partie de ce manuscrit, ce métabolisme peut être étudié *in vivo* chez le sujet sain comme chez le sujet pathologique [Bertholdo et al., 2013].

1.2.3 : Désordres métaboliques et SEP

Les processus inflammatoires surtout à la phase précoce de maladie, se caractérisent métaboliquement par des hausses significatives de myo-inositol au niveau des lésions de substance blanche [Kapeller et al., 2001; Srinivasan, 2005]. Ces hausses reflétent l'activité microgliale et macrophagique intense dans ces régions. Chez des patients en phase de maladie plus avancée (RR supérieur à 5 ans ou SP) et à l'inverse des syndromes cliniquement isolés (SCI) [Fernando, 2004; Wattjes et al., 2008], on observe des hausses de m-Ino en dehors des lésions de substance blanche, dans la substance blanche d'apparence normale [Chard et al., 2002], dans la substance grise corticale ainsi que dans les noyaux gris centraux [Geurts et al., 2006; Kapeller et al., 2002] (**Figure 1.10**). Ces hausses semblent plutôt traduire l'activation microgliale profonde présente dans l'ensemble du cerveau. L'inflammation peut aussi se traduire par des hausses de signal au niveau du pic cholinique reflétant une hausse de Bétaine, composé connu pour son implication dans les phénomènes inflammatoires [Detopoulou et al., 2008; Zaaraoui et al., 2010]. On retrouve également des hausses du signal de Créatine principalement à l'intérieur des lésions de la substance blanche et plus rarement en dehors dans la SBAN et la substance grise [Caramanos et al., 2005; Hattingen et al., 2011]. Ces hausses peuvent être reliées à une augmentation de la densité cellulaire et donc à une augmentation du compartiment glial dans ces régions, reflétée par les lymphocytes, la microglie et les macrophages [Lassmann, 2014]. Enfin, il est possible de détecter du Lactate, généralement au niveau des lésions de la substance blanche et lors de phase de rechute [Lutz et al., 2007]. Ce lactate provenant de la dérégulation de la glycolyse mitochondriale va jouer un rôle inflammatoire puissant puisqu'il est à la base de la production d'autoanticorps cérébraux [Pucino et al., 2017].

La démyélinisation a elle aussi sa propre signature métabolique. En effet dans les lésions de la substance blanche, mais aussi dans la SBAN, on retrouve des hausses de Choline libre [Hattingen et al., 2011; Kirov et al., 2009; Kirov et al., 2013]. Cette Cho libre provient de l'éclatement de la gaine de myéline après l'attaque inflammatoire primaire (**Figure 1.10**). La littérature rend aussi compte d'augmentation de Cho dans la substance grise [Au Duong et al., 2007]. Cette hausse semble plus liée à la souffrance membranaire du soma des neurones [Kutzelnigg, 2005].

Concernant, la neurodégénérescence, de nombreuses études ont montré des baisses significative de NAA, marqueur de la dysfonction mitochondriale neuronale [Witte et al., 2014] dans les différents phénotypes de la maladie (SCI, RR, PP et SP) (**Figure 1.11**). Classiquement on retrouve ces diminutions au niveau des plaques [Caramanos et al., 2005; De Stefano and Filippi, 2007; Hattingen et al., 2011; Narayana et al., 1998; Rocca et al., 2003] mais aussi dans la SBAN [Brex et al., 1999; Vingara et al., 2013; Wattjes et al., 2008], la SG corticale [Chard et al., 2002; Tiberio et al., 2006], les noyaux gris centraux et l'hippocampe [Geurts et al., 2006; Tiberio et al., 2006], le cervelet [Zaaraoui et al., 2011], ainsi que la moelle épinière [Abdel-Aziz et al., 2015].

Cette diminution généralisée du NAA, qui semble associée aux processus de neurodégénérescence, a été confirmée par de nombreuses études histologiques *post-mortem* [Haider et al., 2014; Lassmann, 2013; Lassmann, 2014; Vercellino et al., 2009; Yao et al., 2014].

De manière concomitante, la littérature reporte des hausses de Glutamate (du moins du massif Glutamate+Glutamine) au niveau des lésions de substance blanche et aussi dans la SBAN chez des patients en début de maladie (SCI, RR inférieur à 5 ans) [Azevedo et al., 2014; Ciccarelli et al., 2014; Srinivasan, 2005]. Ce phénomène semble refléter « l'excitotoxicité » de l'accumulation de Glutamate, conduisant à la mort neuronale [Manev et al., 1989] mais aussi la dysfonction des échanges neuro-astrocytaires [Rothstein et al., 1994] (**Figure 1.11**). Avec l'avancée de la pathologie (RR supérieur à 5 ans, PP et SP), ces hausses de Glu ont tendance à se stabiliser, voire à s'inverser et donc diminuer dans la SBAN [Azevedo et al., 2014; Sastre-Garriga et al., 2005] mais aussi dans la SG

corticale [Muhlert et al., 2014; Sastre-Garriga et al., 2005], les noyaux gris centraux et l'hippocampe [Muhlert et al., 2014]. Cette diminution semble être due à la neurodégénérescence globale qui s'installe progressivement dans la SEP, et plus précisément à la réduction du nombre de synapses dans la SG [Moccia and Ciccarelli, 2017]. Cette hypothèse est validée par des études post-mortem mettant en évidence une réduction significative du nombre de neurones et de synapses au niveau cortical [Wegner et al., 2006].

La perte globale de densité cellulaire dans la SEP peut être détectée par des baisses de Créatine. On les retrouvent majoritairement au niveau de la SG corticale et des faisceaux cortico-spinaux chez des patients RR et PP [Ciccarelli et al., 2007; Tur et al., 2014]. Cette diminution globale peut être liée au moins en partie à la neurodégénérescence axonale mais aussi à une détérioration du métabolisme énergétique à ces niveaux.

De manière très récente, l'idée d'utiliser le GABA comme marqueur de la neurodégénérescence dans la SEP a émergé [Moccia and Ciccarelli, 2017]. Même si des variations de GABA n'ont jamais été mesurées dans les lésions de substance blanche et dans la SBAN, une étude montre une diminution significative de GABA dans l'hippocampe et le cortex sensorimoteur de patients SP [Cawley et al., 2015]. Ces baisses semblent être liées à la neurodégénérescence corticale de la SEP, et notamment celle des neurones GABAergique, révélée par les études *post-mortem* [Dutta et al., 2006].

Enfin, le Glutathion peut être un marqueur très précoce d'une future neurodégénérescence. Il a été montré chez des patients SEP de forme RR et SP une diminution de GSH au niveau du cortex frontal et du centre semi-ovale [Choi et al., 2011; Choi et al., 2016; Srinivasan et al., 2010]. Cette diminution du GSH semble liée à une augmentation des radicaux libres, composés impliqués dans la mise en place du stress oxydatif [Ferreira et al., 2013]. En effet, ils sont à l'origine de la perturbation de la balance oxydant/antioxydant présente au niveau mitochondrial. Cette dérégulation va conduire à la souffrance neuronale puis à plus long terme à la mort de ceux-ci [Witte et al., 2014] (**Figure 1.10**).

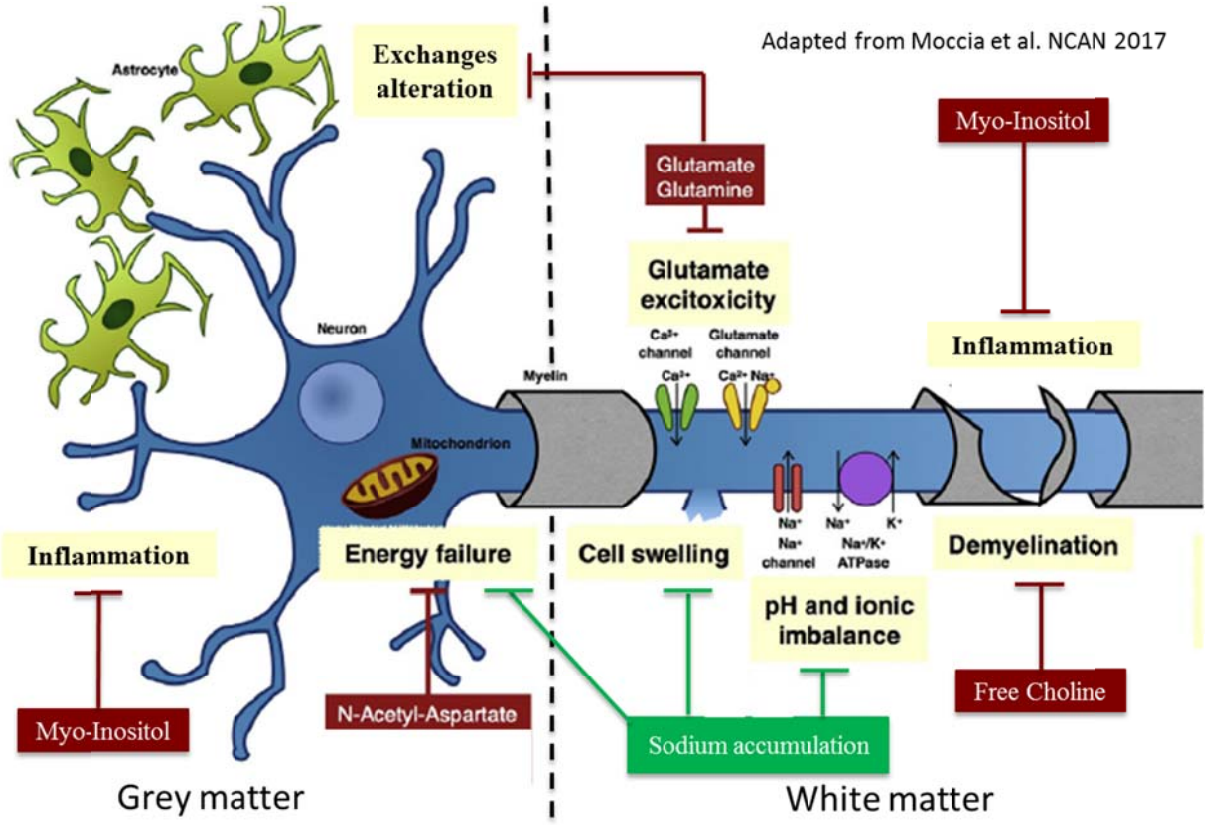

Figure 1.11 : *Schéma résumant les liens entre le métabolisme et la physiopathologie dans la SEP. En rouge les métabolites quantifiables par SRM, en vert les accumulations de sodium quantifiable par l'imagerie du Sodium (IRM du ^{23}Na) [Moccia and Ciccarelli, 2017].*

1.2.4 : Désordres de l'homéostasie sodique et SEP

Depuis une quinzaine d'années, plusieurs travaux de recherche sont centrés sur les dysfonctions des flux de sodium neuronaux dans la SEP. Ces dysfonctions sont à la base d'accumulation de sodium au niveau intracellulaire, entraînant, par le biais d'enzymes et de cascades cellulaires, la dégénérescence axonale [Craner et al., 2004; Freeman et al., 2016; Stys, 2005; Waxman, 2006].

De nombreuses études *in situ* et histologiques ont montré que cette accumulation de sodium pouvait survenir de deux manières :

- Suite à un phénomène de démyélinisation où la gaine de myéline est partiellement détruite, les canaux sodiques de type Na_v 1.6 vont se réorganiser sur la membrane

de l'axone afin de maintenir la vitesse de conduction de l'information le long de celui-ci [Freeman et al., 2016]. Ce phénomène va entraîner une accumulation de Na^+ au niveau intracellulaire, modifiant le fonctionnement de l'échangeur Na^+/Ca^{2+} transmembranaire [Arancibia-Carcamo and Attwell, 2014; Desmazières et al., 2012; Susuki, 2013]. Cette importante accumulation de calcium intracellulaire entraîne à son tour l'activation de nombreuses enzymes de dégradation calcium-dépendantes de types calpaïnes, phospholipases ou NO synthétase [Smith, 2007; Stys, 2005; Waxman, 2008]. Ces enzymes conduisent à des dysfonctions structurelles et fonctionnelles des neurones et à plus long terme à leur mort [Lassmann, 2010] (**Figure 1.10 et 1.11**).

- L'inflammation massive connue dans la SEP va activer la microglie qui va produire à son tour cytokines et radicaux libres [Lucchinetti et al., 2011]. Ces composés vont agir sur les mitochondries neuronales et engendrer une défaillance énergétique cellulaire [Witte et al., 2014]. Le manque d'ATP qui suit cette défaillance va entrainer une dysfonction des pompes Na^+/K^+ ATPase, laissant donc le sodium s'accumuler dans le neurone [Bechtold and Smith, 2005; Waxman, 2006; Waxman, 2008] (**Figure 1.11 et 1.12**). Après cette épisode, la cascade d'évènements est la même que décrite précédemment, à savoir : accumulation de calcium, activation d'enzymes et mort neuronale.

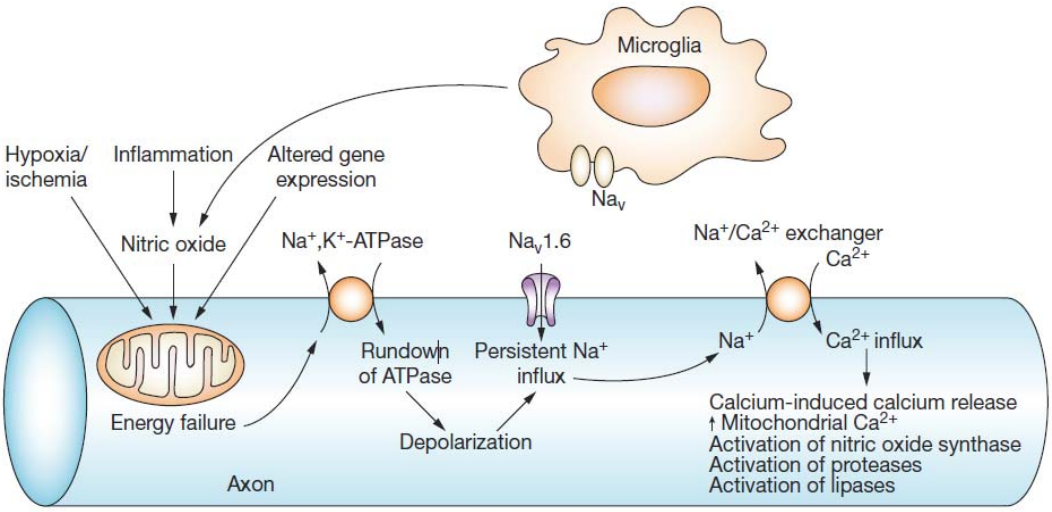

Figure 1.12 : *Schéma résumant la perturbation des flux ioniques le long de l'axone à la suite d'inflammation et/ou de démyélinisation conduisant à la mort neuronale [Waxman, 2008].*

l'IRM du sodium *in vivo* chez le sujet humain existe depuis plus de 30 ans [Hilal et al., 1985] mais sa difficulté technique (chaine de radiofréquence adaptée) et sa très faible sensibilité (signal du ^{23}Na 20 000 plus faible que celui du ^{1}H) ont limité son utilisation jusqu'à tout récemment [Nielles-Vallespin et al., 2007; Ouwerkerk, 2011; Stobbe and Beaulieu, 2005].

Depuis plus de 5 ans, l'IRM du sodium est étudiée chez plusieurs cohortes de patients atteints de SEP (SCI, RR, SP et PP) dans le but de détecter les accumulations pathologiques de sodium et leurs liens avec les processus physiopathologiques de la SEP et les déficits cliniques connus [Inglese et al., 2010; Maarouf et al., 2013; Maarouf et al., 2016; Paling et al., 2013; Zaaraoui et al., 2011; Zaaraoui et al., 2012a; Zaaraoui et al., 2012b].

On retrouve notamment des hausses de la concentration totale de sodium aux niveau des lésions, mais aussi de la SBAN et de la SG corticale chez plusieurs types de patients SEP [Paling et al., 2013]. Il est intéressant de noter que plus l'accumulation totale de sodium est élevée plus le déficit clinique du patient est important. Il existe donc un lien important entre les accumulations de sodium et les dommages neuro-axonaux, base du déficit clinique, confirmant ainsi les nombreuses études *in situ*.

Une étude menée chez des patients RR en phase très précoce (durée de la maladie inférieure à 5 ans) a montré une accumulation totale de sodium dans certaines régions spécifiques comme le tronc cérébral, le cervelet, le thalamus ou encore le cortex temporal [Zaaraoui et al., 2012a] confirmant une atteinte ciblée de certaines régions en tout début de pathologie [Audoin et al., 2010; Calabrese et al., 2007].

Jusqu'à présent il était impossible de discriminer, *in vivo* chez l'Homme, le sodium intracellulaire de l'extracellulaire et une mesure totale du sodium était effectuée. Des études récentes ont montré qu'il était possible de séparer ces deux composantes grâce à

des motifs IRM particuliers comme les séquences Triple Quantum Filtering ou les séquences à temps d'échos multiples [Madelin et al., 2015; Petracca et al., 2016]. Les premiers résultats chez 19 patients SEP RR montrent une augmentation du sodium en intracellulaire dans la SBAN et la SG corticale et une diminution du sodium extracellulaire dans ces mêmes régions comparé à des sujets sains [Petracca et al., 2016]. Ces résultats vont dans le sens des observations *in situ* montrant une accumulation de sodium en dehors des zones démyélinisées, résultant du dysfonctionnement des mitochondries [Moccia and Ciccarelli, 2017].

Ce premier grand chapitre a permis d'identifier les différents acteurs métaboliques et ioniques du cerveau détectable grâce à l'IRM et leurs dérégulations dans la Sclérose En Plaques. Nous avons aussi passé en revue les nombreux liens existants entre ces dérégulations métaboliques et ioniques et la physiopathologie connue de la SEP.

Le deuxième chapitre bibliographique aborde les principes des techniques d'IRM capables d'étudier le métabolisme cérébral, leurs intérêts et leurs inconvénients ainsi que la façon dont les données obtenues sont post-traitées puis analysées. Enfin, les avantages et les problèmes liés à l'utilisation d'aimants à très haut champ (7 Tesla) sont abordés.

CHAPITRE 2

Spectroscopie par Résonance Magnétique (SRM) et Imagerie du Sodium : Techniques de mesures non invasives du métabolisme et de l'homéostasie ionique du cerveau.

Actuellement, il existe peu de méthodes qui permettent d'étudier le métabolisme cérébral *in vivo* chez l'Homme afin de caractériser les processus moléculaires et cellulaires anormaux associés à différentes pathologies neurologiques. En opposition à la Tomographie par Emission de Positron (TEP) qui nécessite l'injection d'un radio traceur et de rayons ionisants pour étudier le fonctionnement métabolique d'un organe ou détecter la présence d'une seule cible moléculaire, la SRM est une technique dérivée de la résonance magnétique nucléaire (RMN) [Andrew, 1992], appliquée pour la première fois chez l'Homme au milieu des années 80. Elle est complètement non invasive et permet d'obtenir la composition métabolique d'un tissu sans risque pour le sujet. Elle permet, selon le champ magnétique et le temps d'écho (TE) utilisé, d'obtenir la quantification de 3 à plus de 20 métabolites, qui sont liés à diverses fonctions cellulaires [Bertholdo et al., 2013].

Parallèlement, l'arrivée d'imageurs à haut champ magnétique a permis le développement de techniques d'imagerie pouvant détecter le signal d'autres noyaux tels que le sodium ou le phosphore [Bottomley, 2012]. L'imagerie du sodium (^{23}Na) permet aujourd'hui d'appréhender l'homéostasie ionique du cerveau, paramètre essentiel de l'intégrité

cellulaire et de la transmission de l'information, propriétés qui sont affectées couramment dans de nombreuses pathologies cérébrales [Madelin et al., 2014].

2.1 : La Spectroscopie par Résonance Magnétique : principes physique, acquisitions et traitement de données.

2.1.1 : Principe physique :

La SRM est applicable à plusieurs noyaux, celle du proton (^{1}H) est la plus courante et la seule utilisée en clinique aujourd'hui. De manière non exhaustive on peut également citer la spectroscopie du Phosphore (^{31}P), du Carbone 13 (^{13}C) ou encore du Sodium (^{23}Na) (**Tableau 2.1**).

Nucleus	Frequency (MHz @1.5T)	Spin	Natural abundance (%)
Proton (^{1}H)	63.9	1/2	99.98
Phosphorus (^{31}P)	25.9	1/2	100.00
Sodium (^{23}Na)	16.9	3/2	100.00
Carbon (^{13}C)	16.1	1/2	1.10
Deuterium (^{2}D)	9.8	1	0.02
Nitrogen (^{15}N)	6.5	1/2	0.37
Oxygen (^{17}O)	8.7	5/2	0.04
Fluorine (^{19}F)	59.8	1/2	100.00
Lithium (^{7}Li)	24.9	3/2	92.50

Tableau 2.1 : *Propriétés magnétiques des différents noyaux quantifiables in vivo en SRM*

Ces travaux de thèse portent exclusivement sur la SRM du ^{1}H et par souci de clarté et de simplicité nous ne détaillerons que celle-ci.

La SRM repose sur les mêmes principes que l'IRM conventionnelle, à savoir qu'un noyau atomique (le proton) placé dans un champ magnétique B_0 et soumis à une onde de radiofréquence B_1 va renvoyer de l'énergie sous forme d'onde de radiofréquence appelée signal de précession libre ou free induction decay (FID). Cette onde de radiofréquence, variable en fonction du champ magnétique et de l'environnement chimique de l'atome

d'hydrogène, va être à la base du signal enregistré en IRM et SRM. Les protons de l'eau, de la graisse et des métabolites cérébraux, soumis au même B_0, ne vont donc pas avoir la même fréquence de résonance à cause de leurs environnements chimiques différents, c'est ce que l'on appelle le déplacement chimique, qui s'exprime en partie par millions ou ppm (**Figure 2.1**).

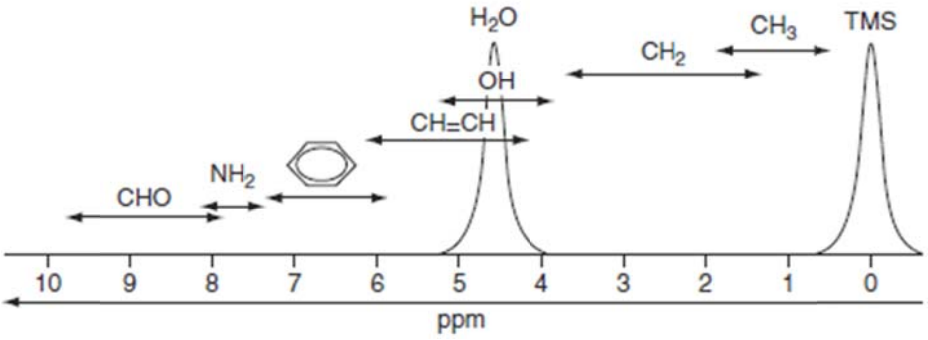

Figure 2.1 : *Illustration du déplacement chimique pour les différents groupes fonctionnels comprenant des protons. Il est à noter que les protons de l'eau résonnent à 4.7 ppm et ceux du NAA (possédant un groupement CH2) résonnent à 2.02 ppm* [Barker, 2010].

A la différence de l'IRM conventionnelle qui ne considère que les protons de l'eau, la SRM va utiliser ces différences en terme de fréquence de résonance afin de quantifier, à la suite d'une transformée de Fourier (TF), les différents métabolites cérébraux que nous avons détaillés dans le chapitre précédent (**Figure 2.2**).

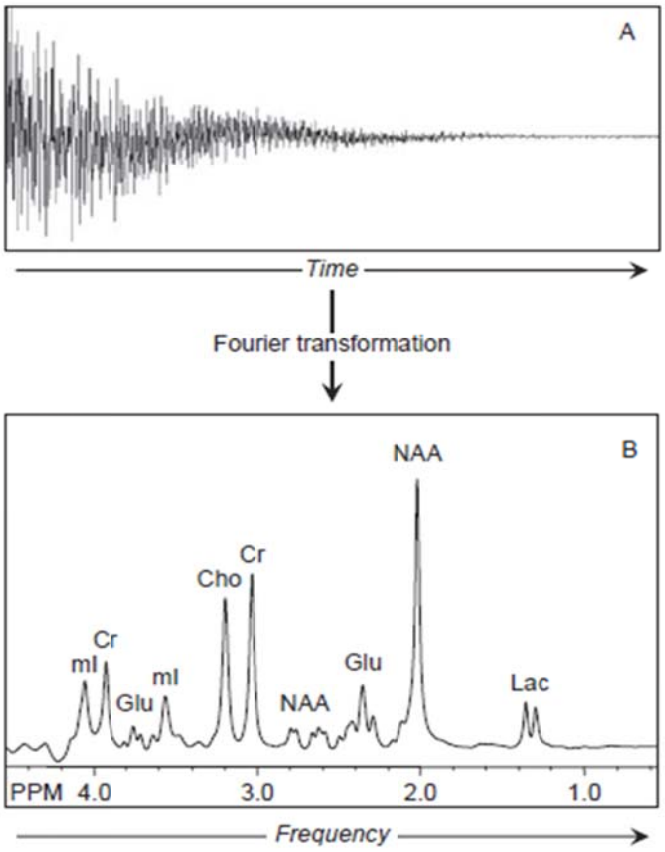

Figure 2.2 : *Exemple d'une FID complexe (enregistrée dans le domaine temporel) contenant le signal de nombreux métabolites. Après transformée de Fourier dans le domaine fréquentiel, les métabolites sont séparés selon leur fréquence de résonance [Barker, 2010].*

La taille des molécules d'intérêts est aussi un paramètre à prendre en compte. En effet les métabolites de petite taille comme la choline ou le lactate vont posséder un temps de relaxation plus long que les métabolites de grandes tailles comme les macromolécules. En fonction du Temps d'Echo (TE) choisi, le nombre de molécules observables va varier (**Figure 2.3**).

- A TE long (>135 ms), les métabolites à T_2 courts et très courts comme le Glutamate, la Glutamine, le Myo-Inositol ou encore la Taurine ne vont pas pouvoir être détectés. Ce TE permet uniquement de quantifier des métabolites à T_2 long, c'est-à-dire le NAA, la Choline, la Créatine (et le lactate sous condition

pathologique). Utiliser un TE long permet de simplifier le spectre et la quantification mais limite l'information apportée par la SRM.

- A TE court (<35 ms), les métabolites à T_2 court peuvent être détectés. Cela augmente considérablement l'information physiologique et pathologique offerte par la SRM mais rend la séquence sensible aux graisses sous-cutanées et complexifie grandement le spectre (superposition des pics) et le traitement des données.

Selon les métabolites que l'on veut quantifier, il est parfois préférable de sélectionner un TE long afin de faciliter le traitement des données et leurs interprétations.

La principale limite de la SRM reste son faible rapport signal sur bruit. En effet, il faut garder à l'esprit que les métabolites observés sont 10 000 à 100 000 fois moins concentrés que l'eau et 10 000 fois moins concentrés que les lipides. Ceci limite la quantification des métabolites qui se retrouvent masqués par le pic de l'eau et le pic des lipides (**Figure 2.4**).

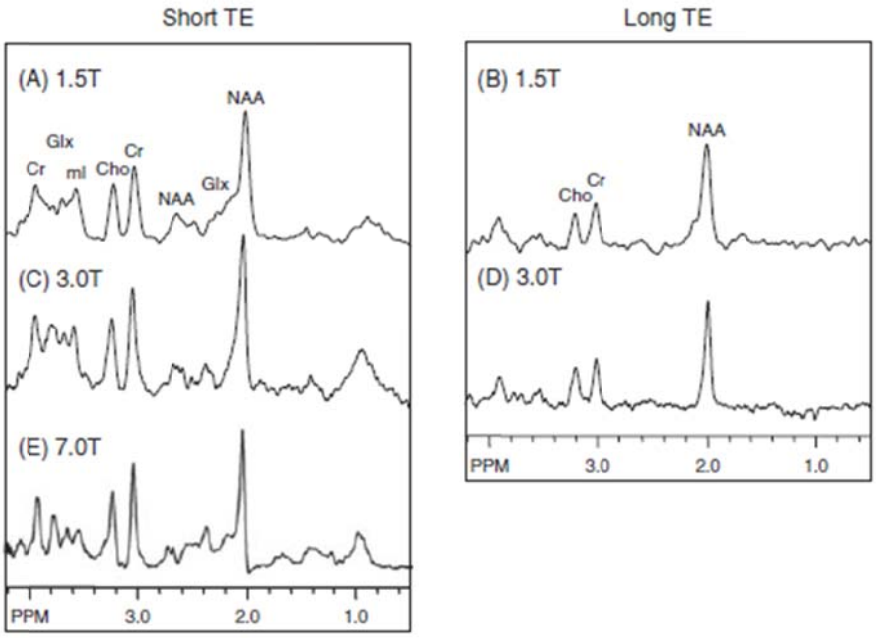

Figure 2.3 : *Exemples de spectres obtenus à TE court et long et à différents champ magnétique pour un voxel placé dans la substance blanche pariétale chez l'Homme* [Barker, 2010].

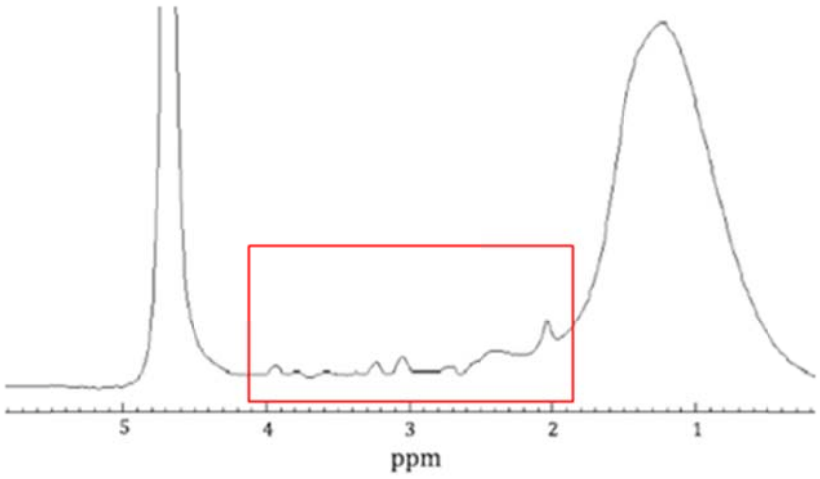

Figure 2.4 : *Spectre réalisé sans suppression du signal de l'eau et de la graisse. Les métabolites d'intérêt (carré rouge) se retrouvent « noyés » dans le signal de l'eau et de la graisse* [Bertholdo et al., 2013].

Il est donc très important de supprimer le signal de l'eau afin d'optimiser la quantification des métabolites. Il existe plusieurs techniques pour supprimer l'eau, CHESS (« CHEmical

Shift Selection ») est la plus utilisée [Haase et al., 1985], elle consiste à appliquer une fréquence sélective sur le signal de l'eau afin de le supprimer. Des dérivés de CHESS comme VAPOR (« Variable Pulse power and Optimized Relaxation delays ») [Tkác et al., 1999] et WET (« Water suppression Enhanced Through T_1 effects ») [Ogg et al., 1994] sont aussi couramment utilisées. Néanmoins, il est intéressant d'acquérir le signal de l'eau en parallèle de l'acquisition de nos métabolites. Ce signal peut servir de référence pour la quantification absolue ou de normalisation pour comparer différents examens.

Supprimer les lipides permet également d'optimiser substantiellement la quantification des métabolites. Il existe de nombreuses méthodes pour les supprimer :

- Prendre un volume d'intérêt (VOI) entièrement intra-cranien afin d'éliminer les lipides peri-cranien.
- Prendre un TE long (135 ms) afin de limiter le signal des lipides.
- Utiliser un pulse d'inversion afin d'éliminer le signal des lipides. Cette technique joue sur la différence de T_1 entre les lipides et les métabolites [Spielman et al., 1992]. Cette technique a le désavantage de diminuer aussi le rapport signal sur bruit des métabolites.
- L'utilisation de bandes de saturation ou OVS placées autour de l'encéphale afin de supprimer le signal des lipides crâniens [Duyn et al., 1993] (**Figure 2.5**).

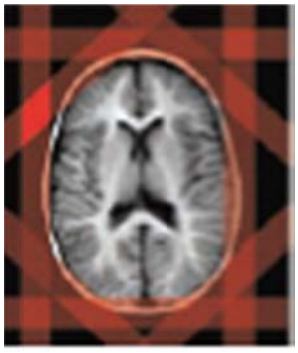

Figure 2.5 : *Placement des bandes de saturation (en rouge) afin d'éliminer le signal des lipides.*

Pour faire de la SRM il faut également des séquences spécifiques, qui diffèrent de celles utilisées en IRM classique et que nous allons détailler.

2.1.2 : Acquisitions du signal en SRM :

Historiquement la SRM a d'abord été développée de manière non localisée, avec uniquement une bobine de surface placée au contact du tissu, puis sous forme de monovoxel (acquisition d'un spectre correspondant à un seul voxel positionné dans le tissu), avant d'être adaptée dans plusieurs dimensions (1D, 2D, 3D) avec plusieurs voxels dans chaque direction de l'espace [Duijn et al., 1992; Duyn et al., 1993; Ebel et al., 2001; Frahm et al., 1989; Luyten et al., 1990; Spielman et al., 1991].

SRM monovoxel (Single Voxel Spectroscopy: SVS):

L'acquisition d'un monovoxel consiste à appliquer orthogonalement dans les 3 plans de l'espace trois impulsions de sélection de coupe afin de recueillir l'écho uniquement à l'endroit où ces 3 coupes se croisent (**Figure 2.6**). Afin d'éliminer le signal provenant de l'extérieur du voxel, on peut utiliser des gradients de type « crusher ». Les pulses d'excitation avec un profil adapté permettent aussi de minimiser ce signal extérieur [van Zijl et al., 1989].

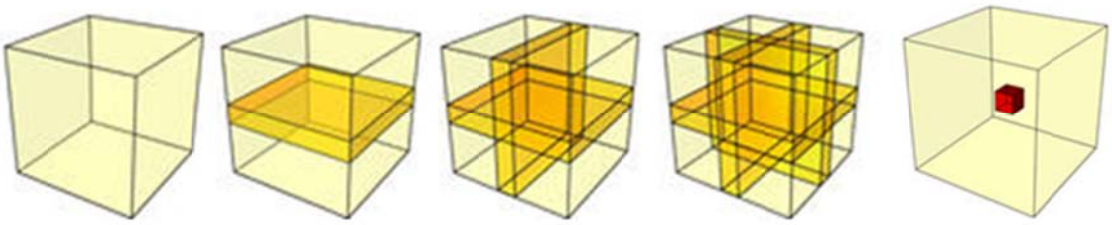

Figure 2.6 : *Le signal recueilli (en rouge) se trouve à l'intersection des 3 coupes orthogonales* [Barker, 2010].

Ce type d'acquisition est généralement rapide (2 à 3 minutes) et les tailles de voxel peuvent varier entre 1 et 3 cm^3. STEAM et PRESS sont les deux principales séquences utilisées de manière routinière [Moonen et al., 1989] :

- STimulated Echo Acquisition Mode (STEAM) comporte 3 impulsions RF de 90° à la suite desquelles l'écho stimulé est recueilli. Il est à noter que le crusher gradient

est appliqué durant le TE. Cette séquence est particulièrement adaptée pour des TE courts (≈ 30 ms) et très courts (<20 ms) (**Figure 2.7**) [Frahm et al., 1989].

- Point RESolved Spectroscopy (PRESS) comporte une impulsion de 90° suivi de deux impulsions de refocalisation à 180° (échos de spin). Le crusher gradient est ici appliqué autour des impulsions de refocalisation. Cette séquence ne permet pas d'avoir des TE très courts (**Figure 2.7**) [Bottomley, 1987].

Figure 2.7 : *Chronogramme des deux séquences (B) STEAM et (C) PRESS* [Barker, 2010].

STEAM est adapté au TE court, nécessite moins d'énergie et possède un meilleur profil de coupe que PRESS. Inversement, à paramètres identiques, PRESS offre un SNR deux fois supérieur à STEAM [Moonen et al., 1989].

Malheureusement, la très faible couverture cérébrale en monovoxel limite son utilisation pour la compréhension globale du métabolisme cérébral et des pathologies neurologiques diffuses.

SRM multi-voxels (Imagerie Spectroscopique: ISRM):

L'ISRM consiste à acquérir le signal de plusieurs voxels de spectroscopie dans un (1D) [Petroff et al., 1992] ou deux (2D) [Luyten et al., 1990] plans de l'espace ou même sur un volume (3D) [Duijn et al., 1992]. Il faut donc appliquer un codage de phase dans 1, 2 ou 3 dimensions. Le temps d'acquisition dépend donc du Temps de Répétition (TR) mais aussi du nombre de pas de codage :

- 1D : TR x nombre de voxels (NV) dans la direction X
- 2D : TR x NV X x NV Y

- 3D : TR x NV X x NV Y x NV Z

L'ISRM est donc une technique de choix pour explorer le métabolisme provenant de plusieurs types de tissus cérébraux mais le temps d'acquisition va être le principal facteur limitant pour explorer le cerveau dans sa globalité.

PRESS-ISRM : Cette séquence consiste à réaliser un codage spatial d'une coupe ou d'un volume sélectionné par un motif PRESS [Moonen, 1992]. De manière générale le champ de vue est restreint à l'intérieur du cerveau afin de limiter le nombre de pas de codage d'une part, et la contamination des lipides péri-cranien d'autre part (**Figure 2.8**). La boite de shim est elle aussi limitée à l'intérieur de l'encéphale ce qui permet d'homogénéiser le champ B_0 plus facilement. L'utilisation de bandes OVS pour éliminer les lipides a aussi montré son efficacité [Duyn et al., 1993].

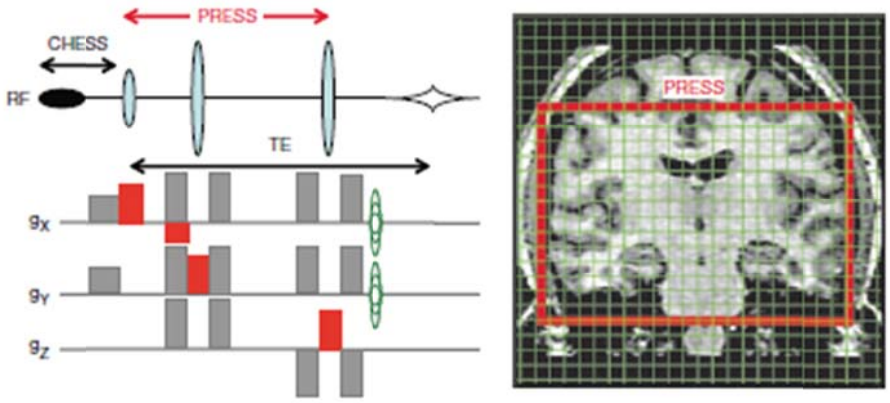

Figure 2.8 : *Chronogramme de la séquence 2D PRESS ISRM comprenant un motif CHESS pour la suppression d'eau (gauche). Placement de la boite PRESS sur une coupe sagittale. Elle permet une large couverture cérébrale tout en s'affranchissant des lipides péri-craniens (droite)* [Nelson, 2001].

Malheureusement, en plus du temps d'acquisition relativement long, le profil irrégulier des impulsions de refocalisation ainsi que leurs faibles largeurs de bandes entrainent une excitation non uniforme des métabolites sur l'ensemble de la boite avec l'apparition de différences gauche/droite non physiologique [Nelson, 2001].

Afin de limiter le temps d'acquisition et d'augmenter la couverture spatiale cérébrale, de nombreuses techniques d'accélération ont été développées à partir des années 1990.

L'ISRM multi-coupes **:** Cette technique couramment utilisée en IRM classique consiste à utiliser le temps mort entre la fin d'une excitation et le début d'une nouvelle afin d'échantillonner une ou plusieurs autres coupes dans un même TR. On applique donc dans cet intervalle de temps des couples d'impulsions sélectives de 90°-180° avec des fréquences adéquates, correspondant aux autres niveaux de coupe. Ce principe est largement utilisé en SRM dans la littérature [Duyn et al., 1993; Meyerhoff et al., 1999; Skoch et al., 2008] (**Figure 2.9**).

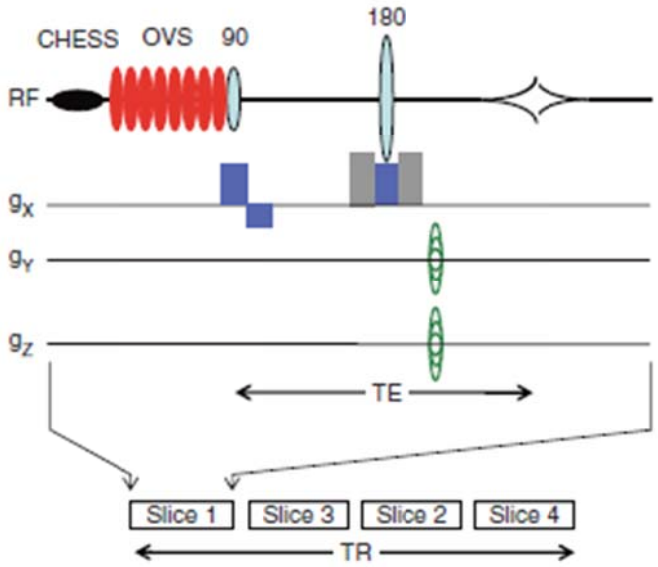

Figure 2.9 : *Chronogramme de la séquence 2D ISRM multi-coupes. Rajouté a cette séquence un module CHESS pour la suppression d'eau et 8 bandes OVS pour la suppression des lipides peri-craniens* [Barker, 2010].

Zero Filling : Il consiste en un échantillonnage partiel de l'espace des k [Maudsley et al., 1994]. Comme l'espace des k est rectangulaire, les propriétés de la transformée de Fourier permettent de n'acquérir qu'une partie de celui-ci pour obtenir une résolution spatiale maximale. Le zero filling consiste donc en un encodage de phase, généralement circulaire, de l'espace des k, le reste des points étant remplacés par des 0. Cette technique est

généralement combinée avec des FOV de petites tailles, en adéquation avec les dimensions du cerveau [Barker, 2010] (**Figure 2.10**).

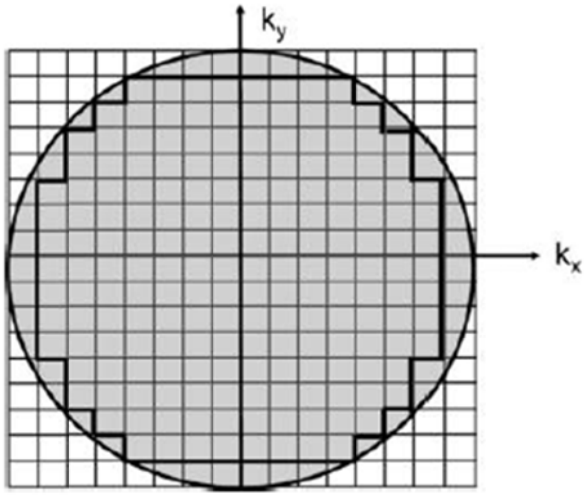

Figure 2.10 : *Remplissage circulaire de l'espace des k dans la méthode du zero filling. Les cases hors du cercle sont égales à 0.*

Multiple spin-echo (ou turbo ISRM) : Cette technique dérivée de l'IRM (turbo spin-echo) consiste à acquérir plusieurs échos avec une seule excitation de 90°. Elle permet d'accélérer grandement l'acquisition en évitant d'attendre la repousse totale de la composante T_1 [Duyn et al., 1993; Skoch et al., 2008].

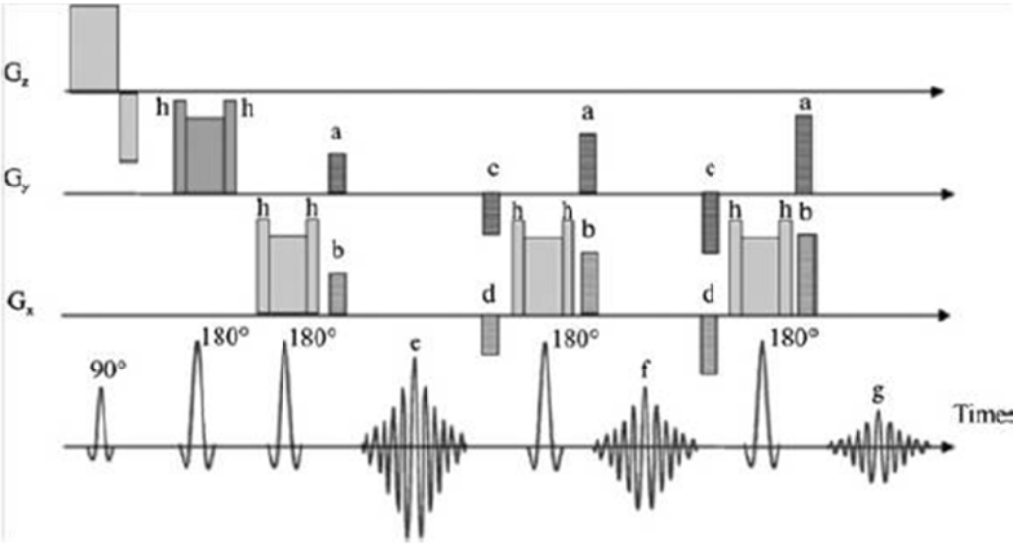

Figure 2.11 : *Chronogramme de la séquence turbo ISRM* [Skoch et al., 2008].

Il faut tout de même prendre en compte la faible résolution spectrale due au module de lecture plus court ainsi que le « blurring spatial ».

Echo time shifting : Cette technique consiste à dé-corréler le module de lecture et l'écho de spin en deux acquisitions distinctes. Combinée à des techniques d'imagerie rapide 2D et 3D telles que RARE (Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement) [Posse et al., 2013] ou l'IRM spirale [Adalsteinsson et al., 1998; Norris and Dreher, 1993], cette technique permet d'obtenir rapidement une cartographie cérébrale des métabolites. Malheureusement, la résolution spectrale de cette technique est plutôt faible et nécessite de larges bandes passantes pour être améliorée.

Echo Planar Spectroscopic Imaging (EPSI): Cette technique a été implémentée à la fin des années 90, début des années 2000 [Ebel et al., 2001; Posse et al., 1997]. Elle est maintenant largement utilisée du fait de sa large couverture spatiale, sa bonne localisation spatiale et sa rapidité. Elle repose sur plusieurs échos de spins, avec un codage de phase en 2 dimensions et un gradient de lecture Echo Planar (gradient oscillant) (**Figure 2.12**). On réalise également un « switch » (ou inversion) périodique des gradients afin d'obtenir à la fois des informations spatiales et temporelles en une seule excitation [Doyle and Mansfield, 1987]. Il est possible d'acquérir de manière entrelacé le signal de l'eau dans les mêmes dimensions que celui des métabolites. Ce signal va servir de référence pour la quantification des métabolites [Ebel and Maudsley, 2005]. Enfin, il est possible d'utiliser une bande OVS placée sur la région de l'œil afin de limiter les artefacts de mouvements de celui-ci.

Cette liste n'étant pas exhaustive, on pourra également citer l'ISRM-SSFP (Steady-State Free Precession) [Schuster et al., 2007], l'encodage HADAMARD [Goelman et al., 2007] ou encore l'ISRM SPICE [Lam et al., 2016]. Toutes ces techniques visant à accélérer l'acquisition spectroscopique présentent toutes leurs avantages et leurs limites qu'il faut connaitre et minimiser.

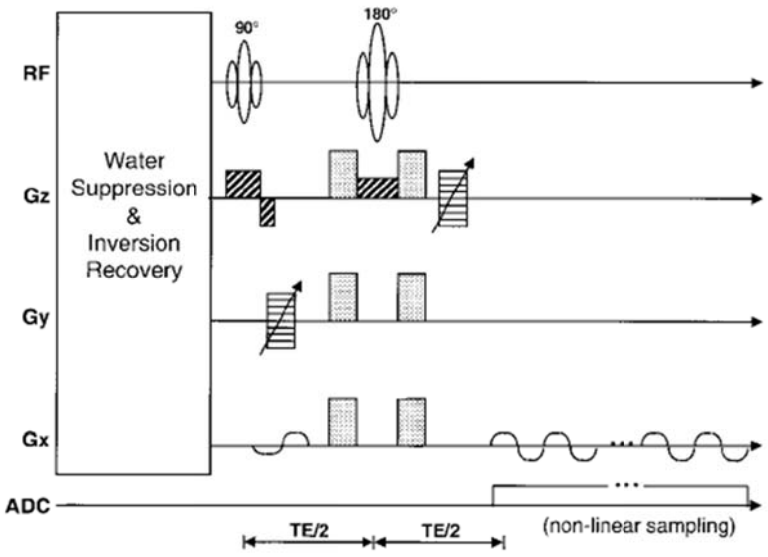

Figure 2.12 : *Chronogramme de la séquence 3D-EPSI [Ebel et al., 2001]. Elle contient une préparation contenant un module CHESS supprimant le signal de l'eau et une inversion récupération permettant de supprimer le signal des lipides sans utiliser de bandes OVS.*

L'ISRM avec acquisition parallèle : Cette technique consiste à utiliser des antennes avec plusieurs canaux afin d'accélérer considérablement l'encodage spatial et d'augmenter la sensibilité du signal acquis avec les séquences d'ISRM classiques [Dydak et al., 2001] ou rapides [Posse et al., 2009]. Il faut tout de même garder à l'esprit que la diminution du temps d'acquisition va entrainer ici une augmentation du bruit, et les erreurs de reconstruction vont diminuer la qualité et la localisation des spectres [Posse et al., 2013].

2.1.3 : Post-traitement en SRM :

L'obtention des spectres ou des images métaboliques nécessitent l'application d'une série de traitement. Ainsi ces chaînes intègrent différentes procédures comme entre autres:

- Zero Filling [Maudsley et al., 1994].
- Filtrage du signal par des filtres de type Lorentzien ou de Hanning [de Graaf et al., 1990].
- Correction des offsets en fréquence, correction des courants de Foucault.

- Elimination des signaux résiduels d'eau et des lipides par des filtres de convolution [Marion et al., 1989].
- Transformée de Fourier.
- Correction de phase.
- Correction de la ligne de base.

Ces étapes peuvent être faites manuellement ou automatiquement par l'intermédiaire de logiciels tel que CSIAPO [Le Fur et al., 2009] développé au laboratoire par le docteur Yann le Fur. CSIAPO contient également deux bases de données permettant d'intégrer le signal des différents métabolites. Il s'agit de QUEST et AMARES :

- QUEST (Quantitation based on QUantum ESTimation) : C'est un modèle basé sur des connaissances a priori, soit acquises soit simulées, qui permet de prendre en compte les contraintes liées aux amplitudes et aux fréquences relatives des différents métabolites. Cette méthode est efficace pour n'importe quelle durée de TE [Ratiney et al., 2005].
- AMARES (Advanced Method for Accurate, Robust and Efficient Spectral) : Ce modèle est basé sur l'algorithme non linéaire des moindres carrés. Il est plus adapté pour des TE intermédiaires et longs [Vanhamme et al., 1997].

Le LCModel (linear combination model) est aussi une méthode de quantification des spectres très utilisée dans la littérature [Provencher, 1993]. En plus de corriger la phase et la ligne de base, il permet d'obtenir rapidement, avec certains paramètres donnés, une quantification absolue des métabolites de manière automatique avec une estimation du taux d'erreur via les Cramer-Rao.
Le logiciel MIDAS est quant à lui dédié uniquement au traitement des donnée EPSI 3 dimensions [Soher et al., 1998]. Il permet d'effectuer l'ensemble des ajustements précédemment cités et de créer des cartographies 3 dimensions pseudo-relative pour chacun des métabolites [Maudsley et al., 2006].
Les quantifications relatives (ratios de métabolites avec un métabolite de référence au numérateur, généralement la créatine), ou semi-relatives (en utilisant le signal de l'eau

comme normalisation) sont généralement plus ambiguës à interpréter que la quantification absolue mais demande moins de contraintes techniques.

En plus de pouvoir utiliser des références internes comme l'eau ou le LCR pour pouvoir faire de la quantification absolue [Christiansen et al., 1993], il est possible d'utiliser des références externes comme des fantômes contenant des concentrations connues de métabolites scannés en même temps que le sujet ou bien avant celui-ci. Cependant, ajouter un fantôme proche de la tête du sujet augmente les distorsions de champ B_0 ce qui a pour effet de diminuer le SNR et rendre plus délicates les étapes de shimming et de suppression d'eau. Scanner le fantôme avant le sujet ne garantit pas d'obtenir le même profil de B_1 pour les deux scans [Alger et al., 1993; Kreis et al., 1993].
L'utilisation de référence électronique de type ERETIC (Electronic REference To access In vivo Concentrations), est une troisième alternative pour faire de la quantification absolue [Barantin et al., 1997]. Les paramètres de type magnitude, phase et T_2 sont contrôlés par le système électronique et lu simultanément avec le signal SRM du sujet.

2.1.4 : Difficultés rencontrées en SRM :

- Homogénéité du champ magnétique B_0.

  Les inhomogénéités du champ magnétique B_0 sont généralement liées à la présence de matériel paramagnétique dans le sujet ou encore aux interfaces air/tissus conduisant à des effets de susceptibilité magnétique. Ce genre d'artefact va entrainer une diminution du T_2* des métabolites, un étalement des pics dans le bruit, et une baisse du rapport signal sur bruit rendant la quantification impossible des différents métabolites (**Figure 2.13**). Il faut donc veiller à avoir le meilleur shim possible sur la région d'intérêt.

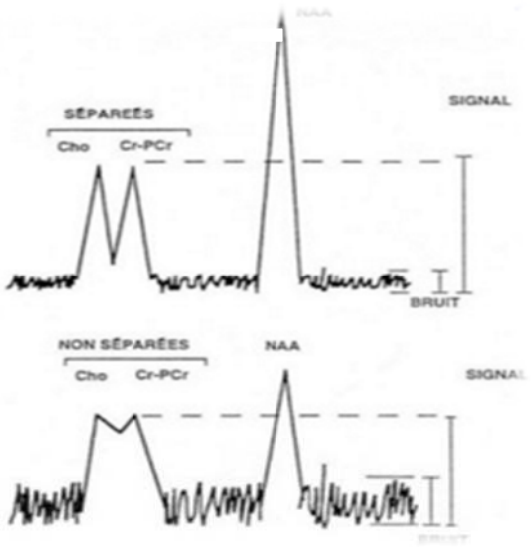

Figure 2.13 : *Effet des inhomogénéités de champ B_0 sur les pics de résonance des métabolites.*

- Suppression du signal de l'eau :

La suppression du signal de l'eau permet de maximiser suffisamment le signal afin d'observer les métabolites faiblement concentrés et limiter les distorsions de la ligne de base spectrale. Une mauvaise saturation peut également faire persister certains résidus qui peuvent venir se superposer aux pics des métabolites et perturber leur quantification. Ces résidus peuvent apparaitre lorsque l'angle de l'impulsion de saturation n'est pas optimal ou au niveau de zones où le champ magnétique n'est pas assez homogène [Barker, 2010].

- Suppression du signal de la graisse :

Le signal des lipides est 2 à 3 fois plus important que celui des métabolites. Une mauvaise suppression de ceux-ci va entrainer un recouvrement avec les pics de NAA et de lactate au niveau des voxels proches du crâne, empêchant leur quantification. Il est donc important de supprimer le signal de la graisse via des bandes OVS et d'éviter que le sujet ne bouge la tête. Certaines séquences intègrent également un motif d'inversion avec un TI permettant de supprimer ce signal de la graisse grâce à la sélection T1.

- Artefact de déplacement chimique (CSD):

Le CSD (**Figure 2.14**) qui existe entre deux espèces chimiques dépend du décalage en fréquence entre ces deux espèces (δ) mais aussi de l'épaisseur de coupe et de la bande passante selon la formule suivante [Edden et al., 2006] :

$$CSD = \frac{(\delta 1 - \delta 2) * épaisseur\ de\ coupe}{largeur\ de\ la\ bande\ passante}$$

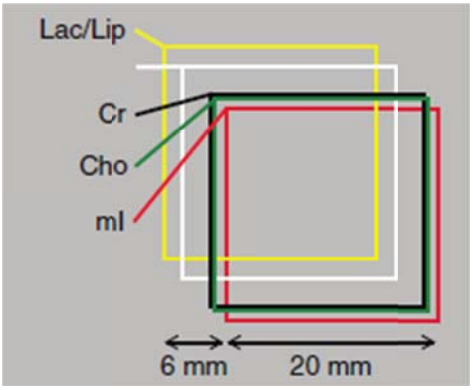

Figure 2.14 : *Calcul du déplacement chimique pour différentes espèces à 3 Tesla pour un voxel de 20 mm^3. On observe un décalage de 6 mm entre le myo-Inositol (en rouge) et le lactate (en jaune).*

Une des façons de limiter cet artefact est d'utiliser une large bande passante, mais ceci augmente le taux d'absorption spécifique (ou SAR) et limite les acquisitions surtout à ultra haut champ. L'autre solution est de diminuer l'épaisseur de coupe [Edden et al., 2006; Tran et al., 2000].

2.2 : L'IRM du sodium : principes physiques, acquisitions et traitement de données.

2.2.1 : Principe physique et acquisitions :

L'IRM du sodium (IRM du ^{23}Na) permet de déterminer *in vivo* la concentration totale de sodium (CTS) dans un organe donné tel que le cerveau, le muscle ou le cœur (**Figure 2.15**) [Nielles-Vallespin et al., 2007; Ouwerkerk et al., 2005; Sandstede et al., 2004; Stobbe and Beaulieu, 2005]. Le noyau d'intérêt ici est le noyau sodique (spin 3/2 et rapport gyromagnétique $\gamma = 11.26$ MHz/T) et non le proton [Bottomley, 2012].

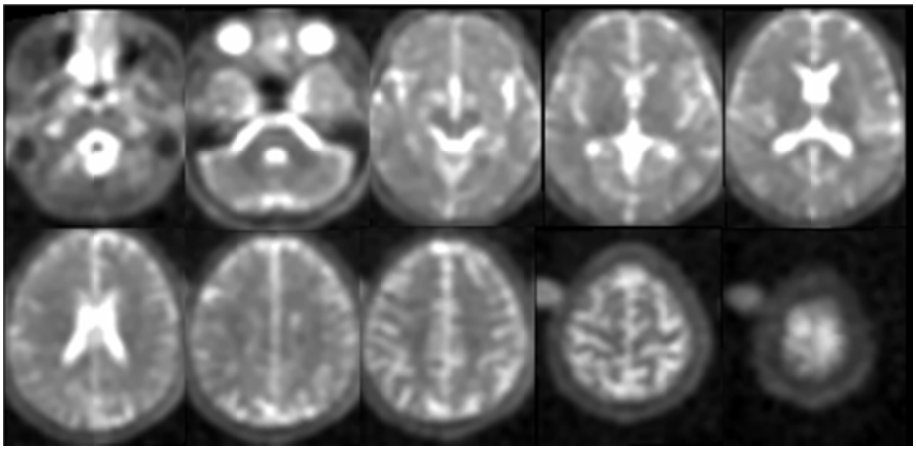

Figure 2.15 : *Imagerie du Sodium à 3 Tesla en coupes axiales recouvrant l'ensemble du cerveau d'un sujet sain.*

Malgré des premières acquisitions datant de 1985 [Hilal et al., 1985], l'IRM du ^{23}Na n'a été réellement développée que récemment. L'arrivée des IRM à haut champ et très haut champ (3 T et 7 T) ont permis de surpasser le problème du faible signal du sodium comparé à celui du proton (20 000 fois inférieur, un rapport signal sur bruit 5000 fois plus faible). De plus la commercialisation d'antennes de type « birdcage » avec des chaines de radiofréquences adaptées et le développement de nouvelles méthodes ont permis de rendre utilisable l'imagerie du sodium en recherche clinique.

Il est aussi important de noter que dans les tissus sains, le signal RMN du sodium est caractérisée par une décroissance transversale bi-exponentielle, avec une composante rapide (T_2f) et une composante lente (T_2s) correspondant aux temps de relaxation spin-spin [Berendsen and Edzes, 1973]. Les valeurs pour le T_2f vont de 0.5 à 2 ms, et sont supérieures à 20 ms pour le T_2s dans le cerveau humain. Pour accéder à la composante rapide et s'affranchir de la relaxation transversale, des TE très courts (ou ultra courts ≈ 200 µs) sont nécessaires [Ouwerkerk, 2011].

Afin de lutter contre ce faible SNR, la taille des voxels ainsi que le temps d'acquisition vont augmenter par rapport à l'imagerie du proton. On retrouve, à 3 Tesla, des tailles de voxels allant de 5x5x5 mm^3 à 3.5x3.5x3.5 mm^3 [Inglese et al., 2010; Paling et al., 2013; Zaaraoui et al., 2012b]. En ce qui concerne le temps d'acquisition, il faut compter prêt de 40 minutes à 3 Tesla. Ce temps comprend le processus de shimming, qui est essentiel comme en SRM afin de maximiser le signal par rapport au bruit.

Les séquences à TE très courts (UTE) les plus utilisées en IRM cérébrale du ^{23}Na sont les séquences radiales pondérées en densité [Nagel et al., 2009] et TPI (Twisted Projection Imaging) [Lu et al., 2010] (**Figure 2.16**). En plus d'acquérir l'espace des k de façon radiale ou spiralée, ces séquences possèdent une densité de points plus importante le long des trajectoires afin de remplir de manière plus homogène l'espace des k et d'améliorer le SNR.

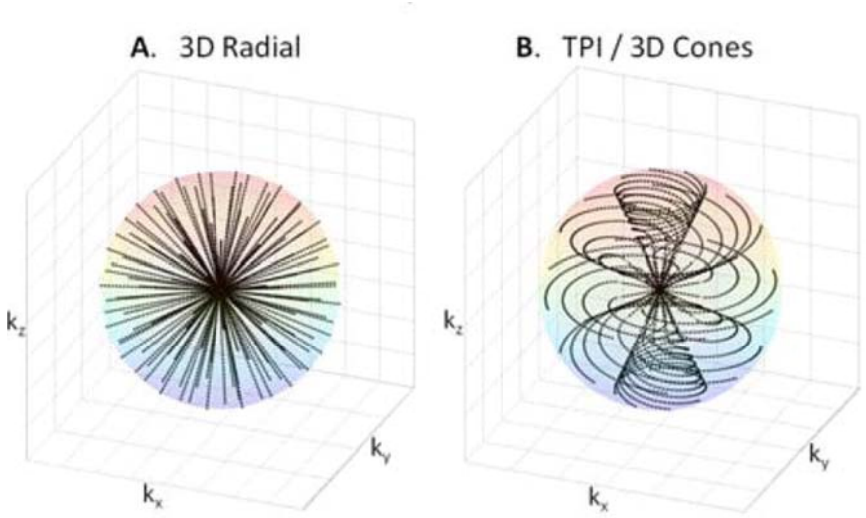

Figure 2.16 : *Trajectoires dans l'espace des k pour les deux séquences [A] 3D radiale en densité adaptée [B] Twisted Projection Imaging* [Madelin et al., 2014].

Ces séquences permettent d'obtenir des TE inférieurs à 1 ms à 3 Tesla et donc de pouvoir avoir accès à la composante T_2f.

Il existe d'autres séquences UTE afin de réaliser de l'IRM du ^{23}Na comme SPRITE [Romanzetti et al., 2006], SWIFT [Idiyatullin et al., 2006], ZTE [Weiger et al., 2011] et

PETRA [Grodzki et al., 2012], mais ces séquences demandent encore du développement afin de pouvoir être appliquées en routine clinique.

Il est également important de s'affranchir de la relaxation longitudinale T_1, en utilisant un temps de répétition (TR) suffisamment long (≈120 ms) afin d'être au moins cinq fois plus grand que le T_1 du sodium dans le cerveau humain (≈20 ms).

2.2.2 : Post-traitement en IRM du ^{23}Na:

Les images sodium obtenues sont souvent bruitées du fait de leur faible signal. Il est donc important, en premier lieu, de corriger ces images afin de pourvoir les exploiter. Il existe différents filtres qui permettent de débruiter les images en prenant en compte la distribution du bruit, comme le filtre de Hanning [Nagel et al., 2009] ou le filtre Ricien [Coupe et al., 2008] utilisables indépendamment ou simultanément.

Le recalage des images cérébrales de sodium vers des images anatomiques acquises en proton est une autre étape majeure du post-traitement. Ce recalage va permettre la superposition des images sodiques avec les régions de substances blanches et grises, définies grâce à l'imagerie du proton, mais aussi avec les lésions que l'on va retrouver dans les pathologies démyélinisantes comme la SEP. Cette étape va donc permettre une évaluation précise des variations de sodium dans diverses régions du cerveau.

Enfin, la quantification des données issues de l'imagerie du ^{23}Na est la dernière étape importante du post-traitement. Il est possible de faire un ratio entre l'intensité du signal de sodium dans une région d'intérêt choisie chez le sujet et une région d'intérêt de volume identique placée dans un fantôme scanné auparavant dans les mêmes conditions et rempli en quantité connue de sodium [Constantinides et al., 2000; Ouwerkerk et al., 2005]. Il est également possible de calculer la CTS en plaçant directement dans le champ du vue, proche de l'organe étudié, des fantômes de concentrations de sodium et de temps de relaxation connus. A titre d'exemple pour le cerveau, les fantômes sont remplis avec des concentrations allant de 10 à 150 mM (concentrations correspondantes aux niveaux intra- et extra- cellulaires) [Madelin et al., 2014].

2.2.3 : Difficultés rencontrées en IRM du ^{23}Na :

La très faible concentration du sodium par rapport à la concentration de l'eau dans les tissus humains ainsi que son temps de relaxation transversal très court font de sa détection un réel challenge. Son faible rapport signal sur bruit (entre 20 et 40), sa faible résolution (entre 3 et 10 mm) et son long temps d'acquisition (>20 minutes) ne permettent pas encore son application routinière en clinique.

L'arrivée du très haut champ (7 Tesla et plus), de l'imagerie parallèle [Ying and Liang, 2010], des procédures de shimming de 3eme ordre [Hetherington et al., 2010] et de l'utilisation du Compressed Sensing [Lustig et al., 2007] vont permettre d'améliorer drastiquement le différents points faibles de l'imagerie du ^{23}Na précédemment listés.

2.3 : Le très haut champ (7 Tesla) : avantages et inconvénients pour la SRM et l'imagerie du sodium.

Chez le petit animal, la SRM à 7 Tesla est réalisable depuis le début des années 1990. Le constat est différent chez l'Homme puisque la première étude *in vivo* de SRM à 7 Tesla date de 2001 [Tkác et al., 2001] et malgré de nombreux développement méthodologiques ces 15 dernières années, on ne recense que très peu d'applications cliniques à 7 T dans la littérature [Bogner et al., 2012; Moser et al., 2012; Posse et al., 2013].

SRM/ISRM à 7T

En SRM et ISRM, l'augmentation du champ magnétique de 3 à 7 Tesla va entrainer un gain linéaire en rapport signal sur bruit [Uğurbil et al., 2003] et l'augmentation de la résolution spectrale grâce à une plus forte dispersion du déplacement chimique, mais aussi à la diminution des effets de couplage [Hetherington et al., 1997]. Ceci permet d'augmenter considérablement le nombre de métabolites détectés, passant de 10 à presque 20 [Posse et al., 2013]. Il est donc possible de détecter des métabolites comme la sérine [Choi et al., 2009], le lactate en condition physiologique [Schaller et al., 2014] ou la

taurine [Xin et al., 2013]. Il est également plus facile de dissocier des métabolites couplés comme le Glutamate et la Glutamine [Schaller et al., 2014; Singh et al., 2013; Yang et al., 2008] ou le NAA et le NAAG [Edden et al., 2007] à 7 Tesla qu'a 3 Tesla (**Figure 2.17**).

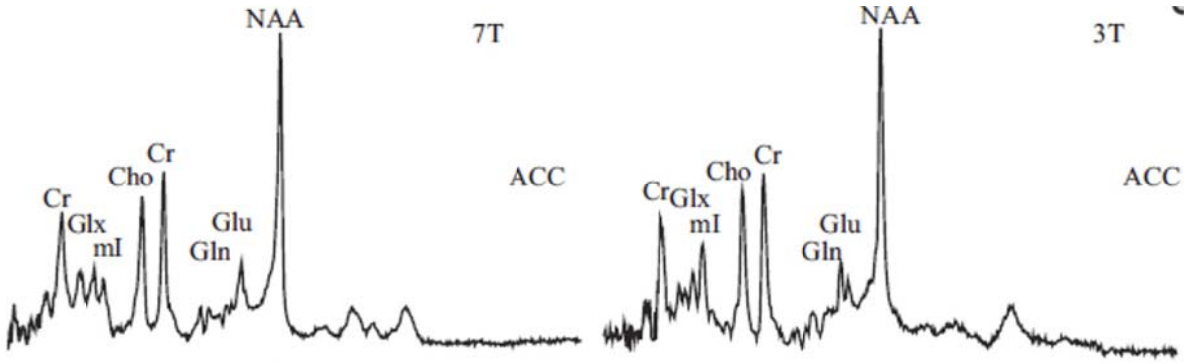

Figure 2.17 : *Comparaison de spectres obtenus à 7 T (à gauche) et à 3 T (à droite) pour un même voxel placé au niveau cingulaire antérieur* [Pradhan et al., 2015].

Ce gain en rapport signal sur bruit permet une meilleure quantification des métabolites, mais peut également être utilisé pour gagner en temps d'acquisition ou en résolution spatiale [Posse et al., 2013].

Malheureusement l'ultra haut champ présente aussi son lot de désavantages. On notera comme principal verrou apparaissant en SRM à 7 T, l'allongement des temps de relaxation T_1 des métabolites, l'élargissement des raies dû à l'augmentation de l'effet de susceptibilité magnétique ainsi que la diminution des temps de relaxation T_2 des métabolites qui va nécessiter des TE plus courts pour maintenir une sensibilité correcte. L'augmentation des inhomogénéités B_1 va aussi être un enjeu majeur à prendre en compte. Ces inhomogénéités vont limiter l'amplitude B_1 disponible et donc tendre à augmenter le SAR [Van de Moortele et al., 2005]. Ceci va avoir un impact direct sur l'efficacité des impulsions d'excitations et rallonger les TE et TR minimum disponibles. Enfin, l'augmentation des inhomogénéités de champ B_0 à ultra haut champ augmente la difficulté d'obtenir un bon shim [Van de Moortele et al., 2005].

Des solutions technologiques ont été ainsi mises en œuvre pour lever certains verrous, comme l'optimisation d'impulsions de radiofréquence adiabatiques pour la meilleure

sélection du volume [Balchandani et al., 2008; Kinchesh and Ordidge, 2005; Scheenen et al., 2008], l'optimisation de la suppression des lipides [Balchandani and Spielman, 2008], l'utilisation de shims adaptatifs B_0 et B_1 en fonction de la coupe choisie [Boer et al., 2012], ainsi que l'optimisation en temps réel du shim durant l'acquisition pour corriger des mouvements liés à la respiration [van Gelderen et al., 2007].

Néanmoins, malgré l'ensemble de ces avancées, la technique nécessite encore de nombreux développements technologiques afin que le transfert clinique de la SRM et de l'ISRM à 7 Tesla puisse devenir effectif.

IRM du ^{23}Na à 7T

La qualité des images sodium profite grandement du très haut champ (**Figure 2.18**). En effet, l'IRM 7 Tesla permet de descendre à des résolutions spatiales de 0.85 mm dans le plan avec une épaisseur de coupe de 4 mm [Qian et al., 2012]. Ce type de résolution spatiale permet d'évaluer les accumulations de sodium dans les petites lésions cérébrales observées dans la SEP [Filippi et al., 2014] ou les tumeurs [Nagel et al., 2011].

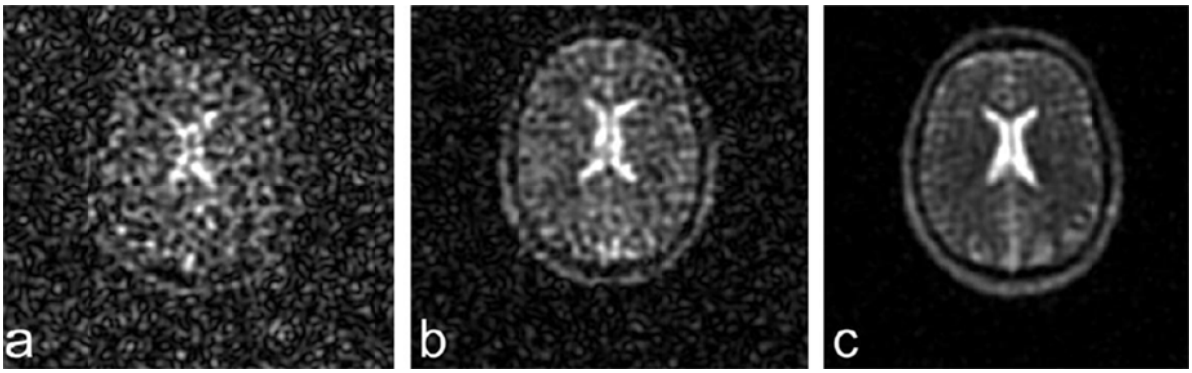

Figure 2.18 : *Images sodium acquises à 1.5 (A), 3 (B) et 7 (C) Tesla avec la séquence radiale en densité adaptée. Les paramètres sont les mêmes pour les 3 machines : TE = 0.2 ms, TR = 50 ms, Tacq = 11 minutes, Projections = 13 000.*

L'enjeu majeur à 7 Tesla reste de pouvoir différencier le sodium intracellulaire de l'extracellulaire. En effet, les variations intracellulaires de sodium sont critiques pour comprendre le fonctionnement et la dérégulation de divers mécanismes cellulaires dans des pathologies cérébrales [Boada et al., 2005; Smith, 2007] et musculaires [Lehmann-Horn

and Jurkat-Rott, 1999]. Il existe plusieurs approches pour détecter le signal du sodium intracellulaire ou du moins pour supprimer partiellement le signal du sodium extracellulaire. Chez l'Homme, les deux techniques les plus abouties sont l'inversion récupération (IR) [Nagel et al., 2011; Stobbe and Beaulieu, 2005] et le Triple Quantum Filtering (TQF) [Petracca et al., 2016]. L'IR consiste à appliquer un temps d'inversion proche de celui du temps de relaxation T_1 du sodium dans le LCR afin de supprimer le signal du sodium extracellulaire. Le TQF se base sur les propriétés de relaxation différente du sodium pour le compartiment intra et extracellulaire. Ces propriétés donnent à la décroissance du signal du sodium une forme mono ou bi exponentielle selon le compartiment, ce qui va permettre de les différencier [Borthakur et al., 1999; Hancu et al., 1999; Petracca et al., 2016]. Il faut tout de même prendre en compte les limites de SAR, souvent atteintes à cause des multiples impulsions d'excitation composant cette séquence [Stobbe and Beaulieu, 2008]. Enfin, il est à noter que ces deux séquences diminuent sensiblement le rapport signal sur bruit, ce qui les rend utilisable uniquement à 7 Tesla.

Cette première grande partie nous a permis de passer en revue les différents acteurs du métabolisme cérébral chez l'Homme et leurs dérégulations dans une pathologie diffuse du cerveau qu'est la Sclérose en Plaques. De plus nous avons vu qu'il existait deux modalités d'imagerie *in vivo* et non invasive, la spectroscopie par résonance magnétique et l'imagerie du sodium, permettant de détecter ce métabolisme cérébral en physiologie et en pathologie. Ces deux techniques nous fournissent des informations importantes et uniques afin de comprendre la physiopathologie complexe de la Sclérose en Plaques. Malheureusement, la faible couverture spatiale de la spectroscopie et le long temps d'acquisition de l'imagerie du sodium limitent leurs utilisations pour la compréhension d'une maladie très diffuse comme la SEP.

2.4 : Objectifs de la thèse

- Le premier objectif de cette thèse a été d'étudier la topographie des anomalies métaboliques sur l'ensemble du cerveau des patients atteints de SEP de forme RR par l'optimisation d'une séquence d'imagerie spectroscopique 3D-EPSI double orientations développée et mise au point précédemment chez des sujets contrôles .

- Le deuxième objectif a été de déterminer les substrats métaboliques des accumulations de sodium cérébral observées dans la SEP. Ainsi nous avons combiné dans un même protocole clinique notre séquence 3D-EPSI double orientations et l'imagerie du sodium cerveau entier également développée au laboratoire.

- Le troisième objectif a été d'implémenter à 7 Tesla une séquence d'ISRM à très haute résolution spatiale basée sur un motif 2D semi-laser ayant une taille de voxel inférieure à 0.3 ml. La preuve de concept de l'utilité de cette séquence a consisté à différencier les profils métaboliques de quatre noyaux thalamiques. Ce travail nous a permis de mettre en place différentes procédures permettant de corriger les artefacts majorés à ultra haut champ comme les inhomogénéités de champs B_0 et B_1, et les artéfacts de déplacement chimique.

DEUXIEME PARTIE : ETUDES EXPERIMENTALES

CHAPITRE 1

Utilisation d'une technique d'ISRM 3D cerveau entier afin d'étudier la topographie des désordres métaboliques chez des patients atteints de SEP de forme Récurrente-Rémittente (RR).

3.1: Introduction

Comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, la SRM est une technique de choix pour évaluer le métabolisme en physiologie et en pathologie mais souffre grandement de sa faible couverture spatiale.

Cette faible couverture spatiale a longtemps limité l'étude globale du métabolisme physiologique cérébral mais aussi de pathologies touchant l'ensemble de l'encéphale comme la Sclérose en Plaques. Ces 20 dernières années, de nombreuses avancées technologiques ont permis de passer d'un simple monovoxel à plusieurs coupes de cerveau, voir même à des volumes couvrant jusqu'au 50 % du cerveau [Kirov et al., 2013]. Ce n'est que relativement récemment, avec la combinaison de la SRM et de l'imagerie rapide de type Echo Planar [Ebel et al., 2001; Maudsley et al., 2006], que de grandes couvertures spatiales ont pu être atteintes chez des patients souffrant de SEP [Mathiesen et al., 2005]. Malheureusement, certaines zones cérébrales, notamment au niveau du vertex et du cervelet, ne sont pas totalement couvertes, ce qui limite l'étude de la pathologie pour ces régions.

Afin de pallier à ce problème, une technique a été développée au laboratoire et en collaboration avec l'Université de Floride, afin de récupérer le signal de ces deux régions. Cette technique consiste à acquérir deux acquisitions 3D-EPSI dans deux orientations différentes (CACP et CACP basculé d'un angle de 15°) accédant respectivement au vertex et au cervelet, puis de les combiner afin de récupérer le signal de ces 2 régions habituellement non-explorées, et donc d'obtenir des cartes métaboliques de l'ensemble du cerveau. Cette méthode a été testée et validée chez des sujets sains et publiée récemment [Lecocq et al., 2015].

L'objet de cette première étude expérimentale a été de valider la faisabilité et prouver l'intérêt clinique de cette méthode pour caractériser la topographie des atteintes métaboliques chez des patients souffrant de SEP de forme Récurrente-Rémittente.

Cette étude a fait l'objet de la publication suivante.

3.2: Metabolic voxel-based analysis of the complete human brain using fast 3D-MRSI: Proof of concept on Multiple Sclerosis

Metabolic Voxel-Based Analysis of the Complete Human Brain Using Fast 3D-MRSI: Proof of Concept in Multiple Sclerosis

Maxime Donadieu, MS,[1,2]* Yann Le Fur, PhD,[1,2] Angèle Lecocq, PhD,[1,2] Andrew A. Maudsley, PhD,[4] Soraya Gherib, MS,[1,2,3] Elisabeth Soulier, BS,[1,2] Sylviane Confort-Gouny, PhD,[1,2] Fanelly Pariollaud, PhD,[1,2,3] Marie-Pierre Ranjeva, PhD,[1,2,3] Jean Pelletier, MD, PhD,[1,3] Maxime Guye, MD, PhD,[1,2] Wafaa Zaaraoui, PhD,[1,2] Bertrand Audoin, MD, PhD,[1,3] and Jean-Philippe Ranjeva, PhD[1,2]

Purpose: To detect local metabolic abnormalities over the complete human brain in multiple sclerosis (MS) patients, we used optimized fast volumic echo planar spectroscopic imaging (3D-EPSI).

Materials and Methods: Weighted mean combination of two 3D-EPSI covering the whole brain acquired at 3T in AC-PC and AC-PC+15° axial planes was performed to obtain high-quality metabolite maps for five metabolites: N-acetyl aspartate (NAA), glutamate+glutamine (Glx), choline (Cho), myo-inositol (m-Ins), and creatine+phosphocreatine (tCr). After spatial normalization, maps from 19 patients suffering from relapsing-remitting MS were compared to 19 matched controls using statistical mapping analyses to determine the topography of metabolic abnormalities. Probabilistic white matter (WM) T_2 lesion maps and gray matter (GM) atrophy maps were also generated.

Results: Two-group analysis of variance (ANOVA) (SPM8, $P < 0.005$, false discovery rate [FDR]-corrected $P < 0.05$ at the cluster level with age and sex as confounding covariates) comparing patients and controls matched for age and sex showed clusters of abnormal metabolite levels with 1) decreased NAA (around –15%) and Glx (around 20%) predominantly in GM within prefrontal cortices, motor cortices, bilateral thalami, and mesial temporal cortices in line with neuronal/neuro-astrocytic dysfunction; 2) increased m-Ins (around + 20%) inside WM T_2 lesions and in the normal-appearing WM of temporal-occipital lobes, suggesting glial activation.

Conclusion: We demonstrate the ability to noninvasively map over the complete brain—from vertex to cerebellum—with a validated sequence, the metabolic abnormalities associated with MS, for characterizing the topography of pathological processes affecting widespread areas of WM and GM and its functional impact.

J. MAGN. RESON. IMAGING 2016;00:000–000.

Magnetic Resonance Spectroscopic Imaging (MRSI) is a way to study in vivo brain metabolism in a noninvasive manner.[1] Nevertheless, MRSI suffers from several limitations including poor signal-to-noise ratio (SNR), strong susceptibility to B_0 inhomogeneity, limited spatial coverage, and long acquisition times. For the metabolic characterization of diffuse neurological pathologies such as multiple sclerosis (MS), whole brain coverage is useful to obtain a good overview of the topography of the various pathophysiological processes. Global approaches have also been

View this article online at wileyonlinelibrary.com. DOI: 10.1002/jmri.25139

Received Oct 14, 2015, Accepted for publication Dec 8, 2015.

*Address reprint requests to: M.D., Centre de Résonance Magnétique Biologique et Médicale (CRMBM, UMR CNRS-AMU 7339), Faculté de Médecine de la Timone, 23, Boulevard Jean Moulin, F-13385 Marseille cedex 05, France. E-mail: maxime.donadieu@etu.univ-amu.fr

From the [1]Aix Marseille Université, CNRS, CRMBM UMR 7339, Medical School of Marseille, Marseille, France; [2]AP-HM, CHU Timone, Pôle d'Imagerie, CEMEREM, Marseille, France; [3]AP-HM, CHU Timone, Pôle de Neurosciences Cliniques, Department of Neurology, Marseille, France; and [4]Miller School of Medicine, University of Miami, Department of Radiology, Miami, Florida, USA

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article.

© 2016 Wiley Periodicals, Inc.

proposed to obtain whole brain NAA with nonlocalized magnetic resonance spectroscopy (MRS) techniques with the major advantages of good SNR and good reproducibility,[2] but because of radiofrequency (RF) field inhomogeneity over the whole brain and regional B_0 inhomogeneities at tissue interfaces, up to 30% of brain tissue signals were not covered.[3]

Methodological improvements have been proposed based on fast volumic echo planar spectroscopic imaging (3D-EPSI), interleaved water and metabolite acquisitions, and automatic spectral fitting.[4,5] While these methods provide improved spatial coverage, there remain limitations for sampling of the entire brain.[6] Nevertheless, partial brain sampling has been reported to be sufficient to conduct statistical mapping analyses comparing metabolic maps between different groups of healthy subjects.[7] Concurrently, a combination of two fast short TE MRSI acquired in two different orientations (AC-PC and AC-PC + 15°) has been used to obtain high-quality cerebral metabolite maps covering the whole brain of healthy controls in about 45 minutes.[8] These complete brain metabolite maps may be of value to determine the brain topography of metabolic abnormalities associated with various brain diseases such as MS. Indeed, MRS and MRSI have evidenced abnormalities in brain metabolism associated with MS within white matter (WM) T_2 lesions,[9] normal-appearing white matter (NAWM), cortical gray matter (GM),[10] hippocampus, and thalamus.[11] MRS/MRSI has also helped to characterize the metabolic profiles of different stages and/or forms of MS, from the earliest stage of the disease in radiological isolated syndromes[12] and clinically isolated syndromes,[10] classical forms,[13] or benign forms of relapsing remitting MS (RRMS),[14] to the progressive forms of MS.[13] Nevertheless, so far the topographical dimension has either not been or only partially been assessed using single voxel spectroscopy (SVS) or 2D/3D-MRSI, respectively.[15] Indeed, so far SVS,[16] 2D-MRSI,[17] or 3D-MRSI[15] have permitted the exploration of only one limited predefined brain region, one brain slice, or one brain volume, respectively, limited to 60% of the entire brain.[18]

Using optimized fast volumic echo planar spectroscopic imaging (3D-EPSI), we aimed to detect local metabolic abnormalities over the complete human brain in MS patients.

MATERIALS AND METHODS

Subjects

Nineteen healthy volunteers (mean age = 29.8 years ± 9.5, range = 20–60, 10 women, 9 men) and 19 RRMS patients (mean age = 36 years ± 10.9, range = 23–59, 12 women, 7 men) were included in this study. The two groups were not different for sex ($P > 0.05$) or age ($P > 0.05$). All subjects gave their written consent to participate to the study, which was approved by the local Ethics Committee.

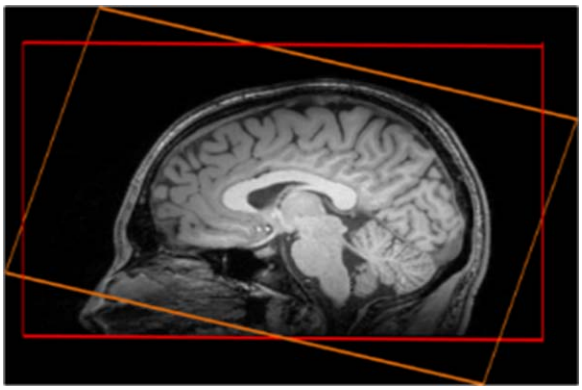

FIGURE 1: Positions of the two whole-brain short TE 3D-EPSI sequences acquired in the AC-PC (red) and AC-PC+15° (orange) axial planes.

MRI

Imaging was performed on a 3T Magnetom Verio system (Siemens, Erlangen, Germany) using a standard 32-channel receiver head coil. The imaging protocol included localizer images (3 planes, 5 slices), sagittal T_1-weighted Flash, and high-resolution axial 3D T_1-weighted magnetization prepared rapid gradient echo (MPRAGE) sequence (TE/TR/TI = 3.44/2150/1100 msec; flip angle = 8°; voxel size = $1 \times 1 \times 1$ mm^3, field of view [FOV] = 256 mm; matrix = 256^2; partitions = 176, TA = 5 min). Axial T_2-weighted ($TE_1/TE_2/TR$ = 11/90/8500 msec; 49 contiguous slices; thickness = 3 mm; flip angle = 150°; FOV = 250 mm; matrix = 256^2; TA = 4:08 min) and sagittal fluid attenuated inversion recovery (FLAIR) (TE/TR = 395/5000 msec; flip angle = 70°; voxel size = $1 \times 1 \times 1$ mm^3; FOV = 250 mm; matrix = 256^2; partitions = 160; TA = 5:52 min) sequences were additionally performed in the patient cohort to evaluate T_2 lesion load. After the MRSI acquisitions, T_1-weighted images were acquired pre- and postgadolinium injection (TE/TR = 8.4/500 msec; 45 contiguous slices; thickness = 3 mm; flip angle = 70°; FOV = 250 mm; matrix = 256^2; TA = 4:22 min) to identify active lesions (blood–brain barrier disruption).

MRSI

Two axial fast 3D-EPSI[4] were included with two different orientations, first in the AC-PC plane and secondly in the AC-PC + 15° plane (Fig. 1).[8] RF power settings and head position were identical to the MRI protocol, with the addition of CHESS water suppression (40 Hz), lipid inversion nulling with TI = 198 msec, TE/TR = 20/1710 msec, flip angle = 73°, 50*50*18 *k*-space points, voxel size = $1 \times 1 \times 1$ cm^3, FOV = 280*280*180mm^3, acquisition time = 17:48 minutes.

The shim was adjusted (first- and second-order) using the automatic 3D mapshim procedure (performed at least twice to get a stable phase map) for each orientation. Then, manual shimming (procedure duration about 5 min) was performed until a water line width below 30 Hz was obtained in the acquisition volume. Frequency was adjusted before each acquisition.

Data Processing

Metabolite maps were obtained for each subject (for both patients and controls), each orientation (AC-PC and AC-PC + 15°) and each metabolite (NAA, Glx, Cho, m-Ins, tCr). As explained in detail by Lecocq et al,[8] the two angles of MRSI orientations were chosen in order to get sufficient differences in acquisition planning between the two orientations to obtain good quality spectra on as large a brain area as possible (optimally whole brain) on at least one acquisition, but also keeping a reasonable angulation to allow accurate automatic normalization procedure for the two orientations (SPM8, Wellcome Trust Center for Neuroimaging at University College, London). The postprocessing pipeline described in Fig. 2 used the metabolite imaging and data analyses system (MIDAS) software[19] including B_0 map correction, lipid suppression, tissue volume fraction through T_1 segmentation, spectral fitting, exclusion of outlier voxels based on Cramer–Rao bounds (CRB), and signal normalization with the interleaved water signal acquired.[5]

In order to give an estimate of the absolute concentrations of metabolites, we used as reference the GM concentration of NAA of 10 mM obtained[8] using the same 3D-EPSI sequence. The correction factor from the arbitrary unit (AU) to mM was then derived from mean GM NAA value of controls and applied to all metabolite maps first expressed in AU, a unit already normalized by the water signal and the number of protons.

All the following steps were performed with SPM8. First, metabolic maps of controls were spatially normalized using the EPI template of SPM8. Second, a new metabolic template was built based on the average of normalized maps of the entire control group. Maps of coefficient of variation (standard deviation divided by average, CV = [SD/AV]) were also created from all control data. Third, all subjects' maps (patients and controls) were spatially normalized onto the new metabolic templates (one for each metabolite). Finally, a combination image was created using the weighted average of the normalized maps derived from each of the two orientations, calculated using:

$$\text{Weighted average} = \text{Metabolite subject map ACPC} * \left(1 - \left(\frac{\text{CV(ACPC)}}{\text{CV(ACPC)} + \text{CV(ACPC15}^\circ\text{)}}\right)\right) + \text{Metabolite subject map ACPC15}^\circ * \left(1 - \left(\frac{\text{CV(ACPC15}^\circ\text{)}}{\text{CV(ACPC)} + \text{CV(ACPC15}^\circ\text{)}}\right)\right)$$

With SD and AV the standard deviation and the average over the control group of the voxel value, respectively, for the AC-PC or the AC-PC+15° orientations.

T_2-weighted axial imaging performed on RRMS patients allowed localization and manual delineation of white matter lesions by an experimented neurologist (B.A.) with MRIcro software (Center for Brain Imaging, Columbia, USA). After normalization on the T_2 template in SPM8, lesions masks were averaged in order to obtain probabilistic maps thresholded at 30%.

GM/WM/CSF segmentation was generated in all subjects using the VBM8 (SPM8 toolbox to provide voxel based morphometry). GM masks of patients and controls were compared using voxelwise two-group analysis of variance (ANOVA) (SPM8, $P < 0.005$, false discovery rate [FDR]-corrected $P < 0.05$ at the cluster level with age and sex as confounding covariates) in order to create GM atrophy maps.

Clinical Score Assessment

The multiple sclerosis functional composite (MSFC), including time 25-foot walk (TFW), 9-hole peg test (9HPT), and paced auditory serial addition test (PASAT) was determined for the patient group on the day of the MR exam.

Statistical Analyses

Metabolite concentrations between RRMS patients and controls were compared using voxelwise two-group ANOVA (SPM8, $P < 0.005$, FDR-corrected $P < 0.05$ at the cluster level with age and sex as confounding covariates). Identical statistical mapping analyses were performed for each metabolite: N-acetyl aspartate (NAA), glutamate + glutamine (Glx), choline (Cho), myo-inositol (m-Ins), and creatine (tCr) as independent tests. For each metabolite, an inclusive brain mask was used to exclude all the voxels outside the brain. Labeling of significant clusters was performed using the WFU PickAtlas toolkit (SPM8).

To determine the potential relationship between metabolite abnormalities and clinical deficits assessed by MSFC in RRMS patients, voxelwise multiple regression analyses were performed (SPM8, $P < 0.005$, age and sex as confounding covariates) using masks of metabolite abnormalities.

RESULTS

Clinical Features of RRMS Patients

Median disease duration was 4.8 years ranging from 2.8 to 19 years. Median EDSS was 1 ranging from 0 to 4. Median MSFC was −0.12 ranging from −5.82 to 1.58. Fifteen out of the 19 patients (79%) were under immunosuppressive or modulator treatments but all subjects were in a stable stage of the disease (no relapse and no gadolinium-enhancing lesions).

Metabolic templates, macroscopic WM T_2 lesions, and GM atrophy

According to the pipeline described in Fig. 2, templates of each metabolite (NAA, Glx, Cho, m-Ins, and tCr) were built with MRSI data from all controls for each metabolite. An example of the qualities of the templates is shown in Fig. 3 for NAA and Glx. Examples of spectra obtained from healthy control and RRMS patient for WM, cortical GM, and cerebellum are shown in Fig. 4.

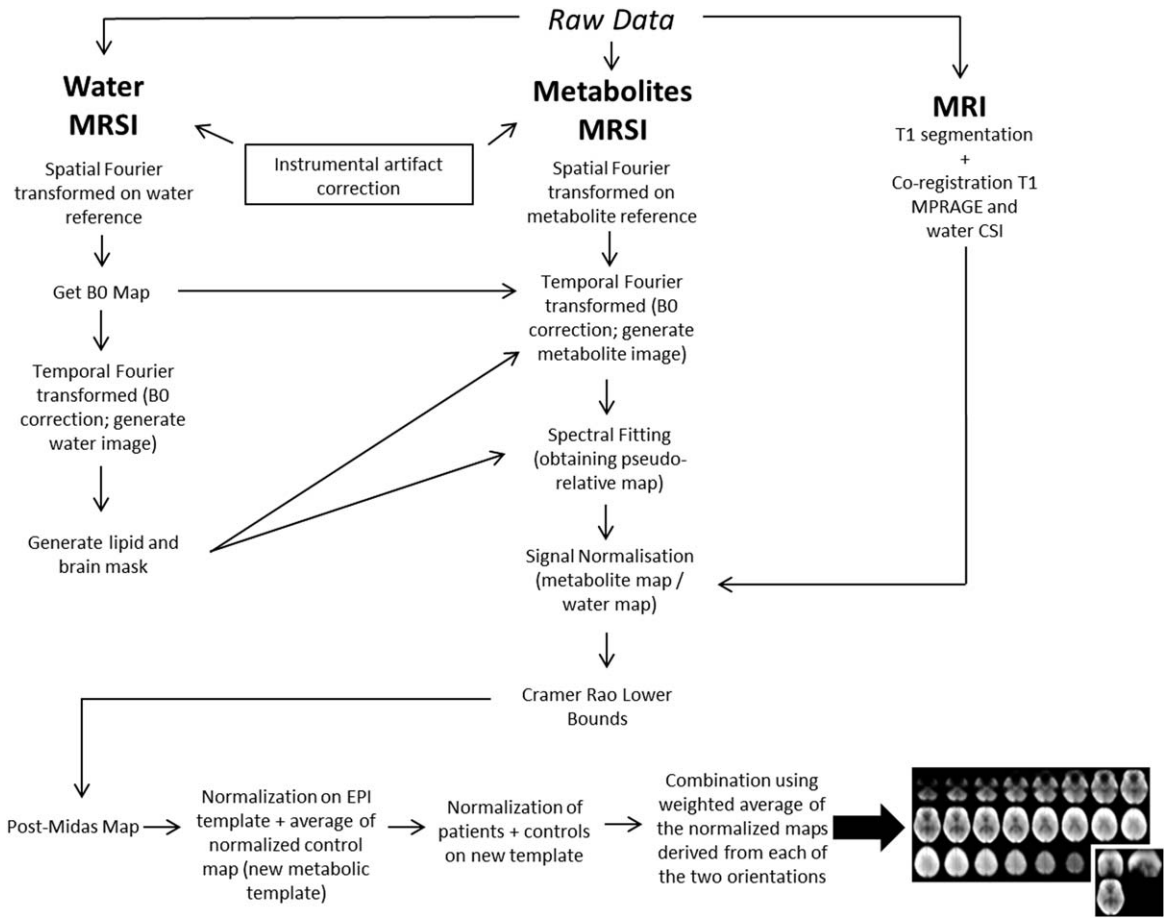

FIGURE 2: Pipeline used to obtain the optimized metabolite maps. MRI, magnetic resonance imaging; MRSI, magnetic resonance spectroscopic imaging; MPRAGE, magnetization prepared rapid gradient echo; CSI, chemical shift imaging.

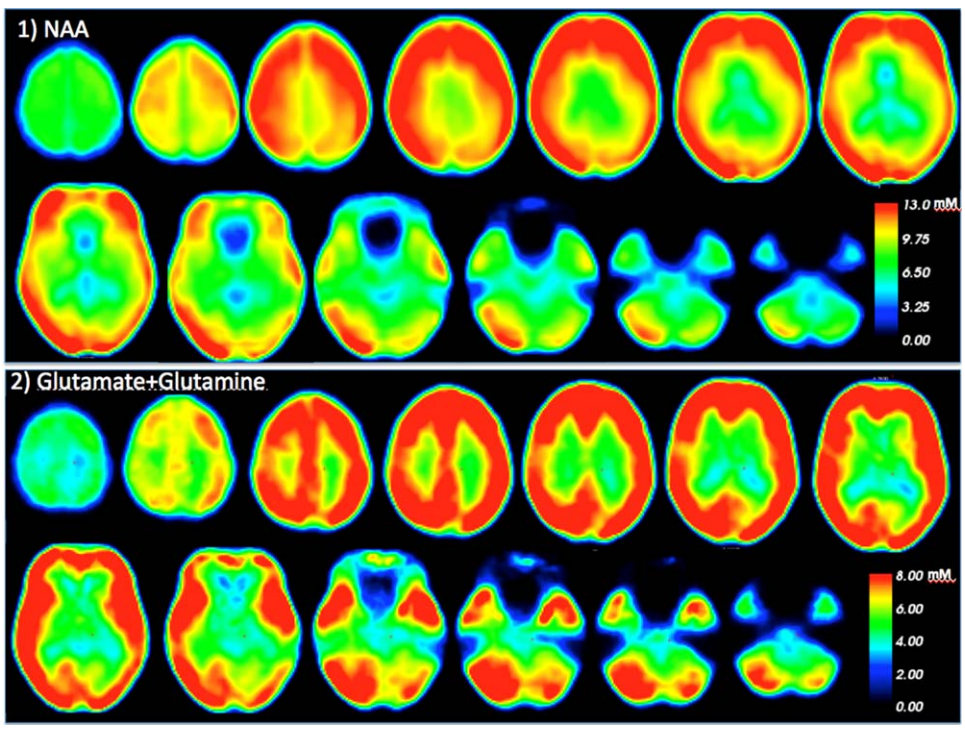

FIGURE 3: Whole brain quantitative 1) NAA and 2) Glx maps obtained from controls.

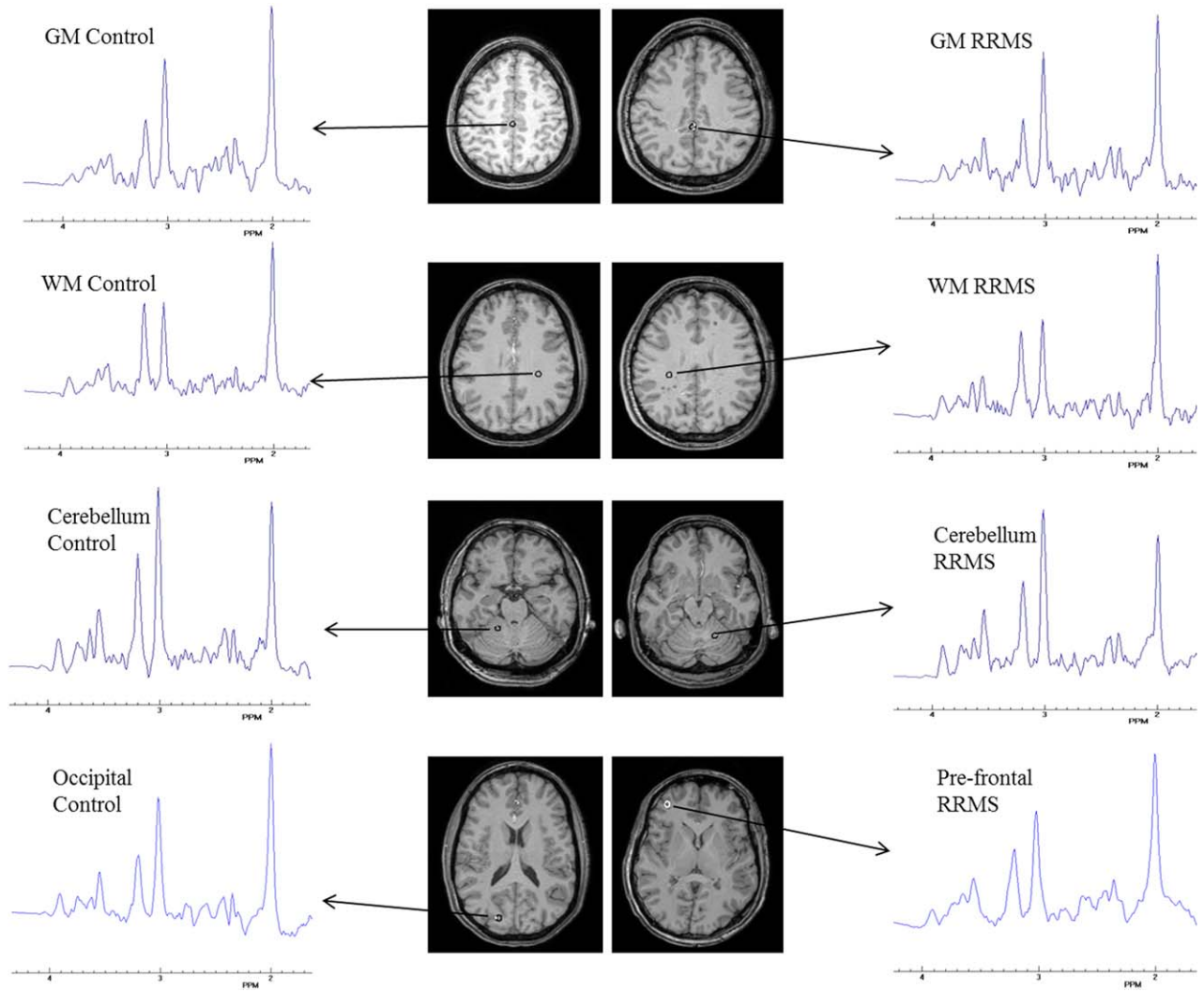

FIGURE 4: Sample spectra from a healthy control and an RR patient from central WM, cortical GM, cerebellum, occipital, and pre-frontal areas for highlighting the spectra quality in the whole brain.

The probabilistic map of WM T_2 lesions (purple map in Fig. 5.1) showed macroscopic demyelinated areas in bilateral periventricular regions, anterior and posterior corpus callosum, optic radiations, and centrum semiovale areas in the group of patients with RRMS.

GM atrophy (green map Fig. 5.1) was observed in RRMS patients relative to controls (ANOVA, $P < 0.005$, FDR-corrected at the cluster level $P < 0.05$, age and sex as confounding covariates) within the median and superior temporal gyri, the pre- and postcentral gyri, the anterior and posterior cingulate gyri, and the median frontal gyrus. GM atrophy was also observed within bilateral thalami, hippocampal, and parahippocampal gyri as well as in the anterior and medial cerebellum (Supplemental Table 1).

Topography of Metabolic Abnormalities in the Group of RRMS Patients

Statistical mapping of NAA decreases in RRMS showed significant clusters ($P < 0.005$, FDR-corrected $P < 0.05$ at the cluster level) within the superior and medial frontal gyri, the pre- and postcentral gyri, the anterior cingulate, the hippocampus, the putamen, and the thalamus (Fig. 5.1 and Supplemental Table 2). NAA was also decreased within WM close to the frontal, paracentral, and cingulate gyri, and inside the corpus callosum (Supplemental Table 2). From a quantitative point of view, in the mask defined by the significant clusters of NAA decreases in RRMS patients, NAA concentrations were 8.50 ± 1.00mM for MS patients compared to 10.00 ± 0.85 mM for controls (-15%).

Statistical mapping of Glx decreases in RRMS (Fig. 5.2) showed significant clusters ($P < 0.005$, FDR-corrected $P < 0.05$ at the cluster level) within the medial and inferior frontal gyri, the supplementary motor area, the medial cingulate, the caudate nucleus, the accumbens nuclei, the putamen, the thalamus, and the parahippocampal gyrus. Decreases in Glx were also observed within the WM inside the frontal, the cingulate, and the postcentral brain areas and in the corpus callosum (Supplemental Table 3). In the mask defined by

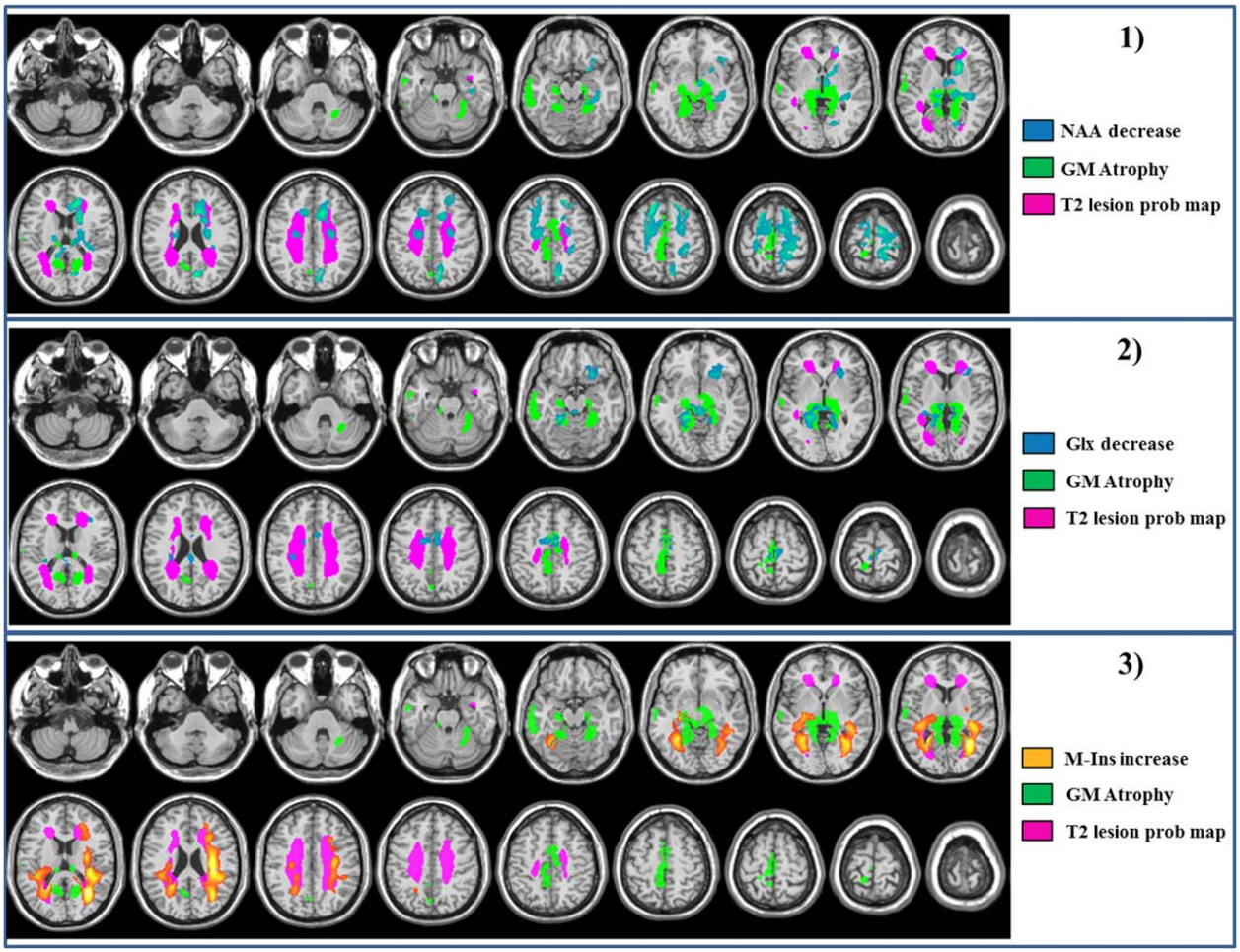

FIGURE 5: Topography of metabolic abnormalities, macroscopic WM lesions on T_2 and GM atrophy of RRMS patients relative to controls. Maps of GM atrophy (green) and WM T_2 lesion probability map (purple) are overlaid with maps of 1) NAA decreases, 2) Glx decreases (decreases represented in blue), and 3) m-Ins increases (increases represented in orange). (ANOVA $P<0.005$, FDR-corrected at the cluster level $P<0.05$ with age and sex as confounding covariates.)

the significant clusters of Glx decreases in RRMS patients, Glx concentrations were 5.20 ± 0.70 mM for MS patients compared to 6.5 ± 1.1 mM for controls (-20%).

Statistical mapping of m-Ins increases showed significant clusters in RRMS (Fig. 5.3) within the WM in bilateral temporal, postcentral, cingulate and frontal brain areas, inside the corpus callosum as well as within the left thalamus and the superior temporal gyrus (Supplemental Table 4).

At the same statistical threshold ($P<0.005$, FDR-corrected $P<0.05$ at the cluster level) we did not find any significant increases or decreases for Cho and tCr between patients and controls. In the mask defined by the significant clusters of m-Ins increases in RRMS patients, m-Ins concentrations were 5.30 ± 0.41 mM for MS patients compared to 4.30 ± 0.60 mM for controls ($+22\%$).

Colocalization of Metabolic Abnormalities, WM T_2 Lesions, and GM Atrophy

Decreases in NAA and Glx levels were observed in regions spared by atrophy except for thalamus, and pre- and post-central gyri where metabolite decreases were partially colocalized with GM atrophy maps (Fig. 5.1-2).

Increases of m-Ins were observed within WM T_2 lesions especially in periventricular lesional areas but were also present in the NAWM and GM areas (Fig. 5.3).

Correlations Between Topography of Metabolic Abnormalities and MSFC in RRMS

Statistical mapping analysis (multiple regression $P<0.005$, with age and sex as confounding covariates, masked with the metabolites patients abnormalities (Fig. 5.1-3)) looking at significant correlations between local NAA levels and MSFC showed significant clusters of positive correlation within bilateral thalamus, bilateral caudate nucleus, the right medial part of the corpus callosum, and bilateral WM close to precentral gyrus (Fig. 6 and Supplemental Table 5).

We did not find significant cluster (multiple regression $P<0.005$) between MSFC and the others metabolite abnormalities (Glx and m-Ins).

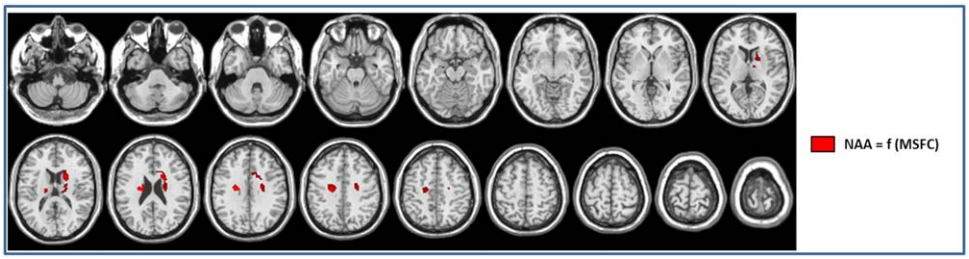

FIGURE 6: Clusters of significant correlations between NAA levels and MSFC scores (SPM8, multiple regression $P < 0.005$, k = 5).

DISCUSSION

The present MR spectroscopic imaging study reports the topography over the brain, from vertex to cerebellum, of the alteration of five metabolites (NAA, Glx, Cho, m-Ins, and tCr) associated with a diffuse brain disease, RRMS. It also showed the predominant impact of NAA decrease within the motor and the prefrontal systems onto the clinical deficit assessed by the MSFC score in RRMS patients.

Using the technique presented above, we succeeded in providing a voxel-by-voxel comparison between patients and controls, permitting the assessment of the whole brain topography of metabolic disorders associated with MS processes. To this end, we used a combination of an optimized acquisition protocol with a fast MRSI technique (3D-EPSI),[4] combining EPI and spectroscopy with an automated postprocessing pipeline (MIDAS + SPM8) allowing us to obtain high-quality whole-brain 3D metabolite maps.[5] Quality assurance of metabolite maps obtained in each orientation was assessed by Cramer–Rao bounds included in the MIDAS software.[19] The first step used in order to improve reliability of large brain coverage with 3D-MRSI at high field was to correct for RF field inhomogeneities and B_0 inhomogeneities responsible for spatial variations in contrast and sensitivity. To optimize the sampling of distal regions, a combination of two 3D-MRSI acquisitions acquired in two different orientation planes (ie, anterior commissure–posterior commissure [AC-PC] and AC-PC + 15°) benefited from the best spectrum quality of each acquisition.[8] The choice of these orientations was dominated by the need to get sufficiently different brain coverage with the two MRSI volumes provided by a large difference in the orientation tilt, but also to enable the coregistration step to be accurately performed to get the two volumes aligned according to the MNI template, required for statistical mapping analysis.

Increase in m-Ins has been related to glia proliferation[1,20] present in WM T_2 lesions, both in NAWM[21] and in cortical GM[22] as well as in the thalamus.[11] In line with these previous reports derived from restricted sampling of predetermined brain regions, the whole-brain approach using statistical mapping analysis without any a priori assumptions such as the location of metabolic abnormalities showed in patients concordant significant increases in m-Ins mainly located in the WM within the periventricular NAWM,[10,21] the demyelinated periventricular WM regions within bilateral temporal and frontal lobes,[23] and within the left thalamus and the superior temporal gyrus.[11]

These observations support the potential of whole-brain 3D-EPSI to depict and locate encapsulated inflammatory processes accompanying MS, which are difficult to observe in SVS or 2D/3D MRSI.

Biochemical and histological studies performed on animal models of MS and/or human brain slices[24] have highlighted the large extent of neuronal damage driven by mitochondrial dysfunction leading to energy deficiency.[25] These neurodegenerative processes have been observed in WM T_2 lesions,[26] NAWM,[27] cortical GM,[27] thalamus,[28] hypothalamus, caudate nucleus,[29] and cerebellum.[30] MRS/MRSI enables characterization of the extent of mitochondrial neuronal dysfunction occurring as a result of energy depletion through the in vivo quantification of NAA levels, a metabolite synthesized specifically in neuronal mitochondria.[25] In MS, a decrease in NAA has been reported in WM T_2 lesions[17] but also in the NAWM[31] and the subcortical GM.[32] Likewise, we also observed decreased levels of glutamate+glutamine (Glx) that have been shown to play a role in neuro-astrocyte exchanges, in excitotoxicity (glutamate) and in NH_3 metabolism regulation (glutamine)[33] in agreement with animal models[24] and human biochemical and histological studies.[34]

The present statistical mapping analyses evidenced the preferential location of NAA and Glx alterations throughout the entire brain. Such metabolic changes were mainly located in the GM, more precisely within the limbic system (cingulate gyrus, hippocampus, parahippocampal gyrus), the motor system (central and precentral gyri, putamen, supplementary motor area), and in the prefrontal areas (inferior, medial, and superior frontal gyri). These results are in line with previous MR studies evidencing structural, functional, or metabolic damage 1) within the hippocampus, the entorhinal cortex, and the cingulate gyrus,[35] areas involved in working memory, attention, and speed of information processing; and 2) within the precentral gyrus and the prefrontal areas involved in motor control and executive functions.[36] Interestingly, in most of these regions, decreases in NAA and Glx occurred without any regional GM atrophy or

WM T_2 lesions, suggesting early neuronal dysfunctions before appearance of any macroscopic lesions. Therefore, as noted before, MRSI appears to be a powerful noninvasive method to show and monitor neuroaxonal dysfunction over the entire brain.

Unlike some previous literature,[37] we did not observe, with short TE 3D-EPSI, Cho or tCr abnormalities in patients compared voxel-by-voxel with controls. This lack of Cho increase can be linked to the random distribution of Cho increase undetectable in this voxelwise between group analysis.

Using as a reference the GM NAA concentrations (10 mM) observed by Lecocq et al in controls using the same 3D-EPSI sequence with B_1 correction and absolute water concentration correction,[8] we observed a drop of −15% in NAA concentrations and a drop −20% in Glx concentrations of GM of RRMS patients, as well as a 22% increase of m-Ins within the WM of patients relative to controls. These variations were in the same range as those observed by Vingara et al comparing controls and RRMS patients.[31]

The MSFC score is a composite score testing both motor capacities of leg and arm and cognitive performances. MSFC provides continuous values sensitive to low clinical deficits that could affect patients even at the early stage of MS. The voxelwise multiple regression analysis looking at positive correlations between local NAA levels and MSFC, but not with Glx and m-Ins, demonstrated in patients significant clusters of positive correlation within prefrontal WM regions likely to correspond to tracts linking frontal, parietal, and occipital lobes and in thalamus. These regions are known to be involved in the working memory network, affected early in MS.[38] Correlations between NAA levels and MSFC were also present in bilateral caudate nucleus and in corpus callosum, areas engaged in movement control and already described as being affected in MS.[39,40] Striking is the fact that, among the different pathophysiological processes characterized by this multiple metabolic mapping technique, the mitochondrial neuronal dysfunction within areas belonging to the working memory and the motor systems reflected by NAA decrease appeared as the predominant factor associated with clinical deficit. Glial proliferation observed within NAWM and demyelinated lesions (increased m-Ins), and neuro-axonal exchange dysfunction (decreased Glx) were shown here to play a limited role in the clinical deficit in this group of RRMS patients.

The main limitation of this study is the relatively limited sample size. Nevertheless, all patients were in RR phase, with a low clinical deficit (median EDSS = 1 [0-4]), and in a stable stage of the disease distant from inflammatory episodes, and well-matched with the control group in terms of age and sex.

Although metabolite maps were not expressed in absolute concentrations, due to the requirement that this would greatly increase acquisition times, our approach provides normalized maps of individual metabolites using the interleaved water signal acquired during the 3D-EPSI sequence[8] as a reference that can be implemented across multiple sites.[6] As a proof of concept, this study has validated statistical mapping analysis as applied to whole-brain 3D-EPSI as an in vivo and noninvasive means to characterize the topography of metabolic disorders in neurological diseases and its relationship with clinical deficit. This opens a new era for the characterization of brain metabolic alteration associated with neurological/neuropsychiatric diseases, and to study its impact on function, especially through the topography of NAA decrease.

ACKNOWLEDGMENT

Contract grant sponsor: Siemens France and the French Association Nationale Recherche et Technologie (ANRT) PhD Grant (CIFRE) to M.D; Contract grant sponsor: National Institutes of Health (NIH); contract grant number: R01EB016064 (to A.A.M.)
The authors thank Ben Ridley for help in editing the English version of the article.

REFERENCES

1. Bertholdo D, Watcharakorn A, Castillo M. Brain proton magnetic resonance spectroscopy: introduction and overview. Neuroimaging Clin N Am 2013;23:359–380.
2. Gonen O, Catalaa I, Babb JS, et al. Total brain N-acetylaspartate: a new measure of disease load in MS. Neurology 2000;54:15–19.
3. Truong T-K, Clymer BD, Chakeres DW, Schmalbrock P. Three-dimensional numerical simulations of susceptibility-induced magnetic field inhomogeneities in the human head. Magn Reson Imaging 2002;20: 759–770.
4. Ebel A, Soher BJ, Maudsley AA. Assessment of 3D proton MR echo-planar spectroscopic imaging using automated spectral analysis. Magn Reson Med 2001;46:1072–1078.
5. Maudsley AA, Darkazanli A, Alger JR, et al. Comprehensive processing, display and analysis for in vivo MR spectroscopic imaging. NMR Biomed 2006;19:492–503.
6. Sabati M, Sheriff S, Gu M, et al. Multivendor implementation and comparison of volumetric whole-brain echo-planar MR spectroscopic imaging: standardization of MRSI. Magn Reson Med 2015;74:1209–1220.
7. Niddam DM, Tsai S-Y, Lin Y-R. Statistical mapping of metabolites in the medial wall of the brain: a proton echo planar spectroscopic imaging study: statistical mapping of brain metabolites. Hum Brain Mapp 2015;36:852–861.
8. Lecocq A, Le Fur Y, Maudsley AA, et al. Whole-brain quantitative mapping of metabolites using short echo three-dimensional proton MRSI. J Magn Reson Imaging 2015;42:280–289.
9. Davie CA, Hawkins CP, Barker GJ, et al. Serial proton magnetic resonance spectroscopy in acute multiple sclerosis lesions. Brain 1994; 117:49–58.

10. Fernando KT, McLean MA, Chard DT, et al. Elevated white matter myo-inositol in clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis. Brain 2004;127:1361–1369.
11. Geurts JJG, Reuling IEW, Vrenken H, et al. MR spectroscopic evidence for thalamic and hippocampal, but not cortical, damage in multiple sclerosis. Magn Reson Med 2006;55:478–483.
12. Stromillo ML, Giorgio A, Rossi F, et al. Brain metabolic changes suggestive of axonal damage in radiologically isolated syndrome. Neurology 2013;80:2090–2094.
13. Tur C, Wheeler-Kingshott CA, Altmann DR, Miller DH, Thompson AJ, Ciccarelli O. Spatial variability and changes of metabolite concentrations in the cortico-spinal tract in multiple sclerosis using coronal CSI: characterization metabolic changes along the CST. Hum Brain Mapp 2014;35:993–1003.
14. Benedetti B, Rovaris M, Rocca M, et al. In-vivo evidence for stable neuroaxonal damage in the brain of patients with benign multiple sclerosis. Mult Scler 2009;15:789–794.
15. Kirov II, Tal A, Babb JS, Herbert J, Gonen O. Serial proton MR spectroscopy of gray and white matter in relapsing-remitting MS. Neurology 2013;80:39–46.
16. Muhlert N, Atzori M, De Vita E, et al. Memory in multiple sclerosis is linked to glutamate concentration in grey matter regions. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2014;85:833–839
17. Hattingen E, Magerkurth J, Pilatus U, Hübers A, Wahl M, Ziemann U. Combined 1H and 31P spectroscopy provides new insights into the pathobiochemistry of brain damage in multiple sclerosis. NMR Biomed 2011;24:536–546.
18. Mathiesen HK, Tscherning T, Sorensen PS, et al. Multi-slice echo-planar spectroscopic MR imaging provides both global and local metabolite measures in multiple sclerosis. Magn Reson Med 2005;53:750–759.
19. Soher BJ, Young K, Govindaraju V, Maudsley AA. Automated spectral analysis III: application to in vivo proton MR spectroscopy and spectroscopic imaging. Magn Reson Med 1998;40:822–831.
20. Lassmann H. Mechanisms of white matter damage in multiple sclerosis: mechanisms of white matter damage in multiple sclerosis. Glia 2014;62:1816–1830.
21. Chard DT, Griffin CM, McLean MA, et al. Brain metabolite changes in cortical grey and normal-appearing white matter in clinically early relapsing-remitting multiple sclerosis. Brain 2002;125:2342–2352.
22. Kapeller P, Brex P, Chard D, et al. Quantitative H MRS imaging 14 years after presenting with a clinically isolated syndrome suggestive of multiple sclerosis. Mult Scler 2002;8:207–210.
23. Vrenken H, Barkhof F, Uitdehaag BMJ, Castelijns JA, Polman CH, Pouwels PJW. MR spectroscopic evidence for glial increase but not for neuro-axonal damage in MS normal-appearing white matter. Magn Reson Med 2005;53:256–266.
24. Lassmann H. Axonal and neuronal pathology in multiple sclerosis: what have we learnt from animal models. Exp Neurol 2010;225:2–8.
25. Witte ME, Mahad DJ, Lassmann H, van Horssen J. Mitochondrial dysfunction contributes to neurodegeneration in multiple sclerosis. Trends Mol Med 2014;20:179–187.
26. Lassmann H. The architecture of inflammatory demyelinating lesions: implications for studies on pathogenesis: Active lesions in multiple sclerosis. Neuropathol Appl Neurobiol 2011;37:698–710.
27. Kutzelnigg A, Lucchinetti CF, Stadelmann C, et al. Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. Brain 2005; 128:2705–2712.
28. Minagar A, Barnett MH, Benedict RH, et al. The thalamus and multiple sclerosis Modern views on pathologic, imaging, and clinical aspects. Neurology 2013;80:210–219.
29. Haider L, Simeonidou C, Steinberger G, et al. Multiple sclerosis deep grey matter: the relation between demyelination, neurodegeneration, inflammation and iron. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2014;85:1386–1395.
30. Weier K, Banwell B, Cerasa A, et al. The role of the cerebellum in multiple sclerosis. Cerebellum 2015;14:364–374.
31. Vingara LK, Yu HJ, Wagshul ME, et al. Metabolomic approach to human brain spectroscopy identifies associations between clinical features and the frontal lobe metabolome in multiple sclerosis. NeuroImage 2013;82:586–594.
32. De Stefano N, Filippi M. MR spectroscopy in multiple sclerosis. J Neuroimaging 2007;17:31S–35S.
33. Rothstein JD, Martin L, Levey AI, et al. Localization of neuronal and glial glutamate transporters. Neuron 1994;13:713–725.
34. Lassmann H. Multiple sclerosis: lessons from molecular neuropathology. Exp Neurol 2014;262:2–7.
35. Audoin B, Zaaraoui W, Reuter F, et al. Atrophy mainly affects the limbic system and the deep grey matter at the first stage of multiple sclerosis. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2010;81:690–695.
36. Calabrese M, Atzori M, Bernardi V, et al. Cortical atrophy is relevant in multiple sclerosis at clinical onset. J Neurol 2007;254:1212–1220.
37. Srinivasan R, Sailasuta N, Hurd R, Nelson S, Pelletier D. Evidence of elevated glutamate in multiple sclerosis using magnetic resonance spectroscopy at 3 T. Brain 2005;128:1016–1025.
38. Audoin B, Guye M, Reuter F, et al. Structure of WM bundles constituting the working memory system in early multiple sclerosis: a quantitative DTI tractography study. NeuroImage 2007;36:1324–1330.
39. Cavallari M, Ceccarelli A, Wang G-Y, et al. Microstructural changes in the striatum and their impact on motor and neuropsychological performance in patients with multiple sclerosis. PLoS ONE 2014;9: e101199.
40. Kern KC, Sarcona J, Montag M, Giesser BS, Sicotte NL. Corpus callosal diffusivity predicts motor impairment in relapsing-remitting multiple sclerosis: a TBSS and tractography study. NeuroImage 2011;55: 1169–1177.

3.3: Conclusion

Cette première étude permet de valider en clinique, chez des patients atteints de SEP de forme RR, notre technique permettant d'obtenir une couverture métabolique totale du cerveau grâce à une séquence mélangeant Echo Planar et Spectroscopie en 3 Dimensions avec deux angulations différentes recombinées.

Outre la preuve de faisabilité clinique de notre technique, ce travail a permis d'obtenir la topographie des anomalies métaboliques chez des patients ayant une durée de pathologie allant de 5 à 10 ans par le biais d'une comparaison voxel à voxel avec des sujets contrôles. Cette analyse complète voxel par voxel sans précédent dans la littérature offre une alternative avantageuse par rapport aux analyses par régions d'intérêts utilisées jusqu'à présent en ISRM.

Ce premier travail met en évidence des diminutions de NAA, marqueur privilégié de l'intégrité neuronale et des Glx, marqueurs des échanges neuro-astrocytaires, non seulement dans les lésions de substance blanche et les régions atrophiées, mais aussi au-delà, dans la substance grise corticale, les noyaux gris centraux et la substance blanche d'apparence normale (SBAN). Nous observons également des hausses de myo-inositol, marqueur principal de l'activité gliale, dans les lésions de substance blanche et dans la SBAN. Nous retrouvons aussi des corrélations significatives dans la substance grise et la SBAN entre un des principaux tests cliniques utilisés dans la SEP, le MSFC, et les diminutions de NAA. Ce résultat met en lumière l'impact clinique important d'une dysfonction neuronale diffuse.

Ce travail met donc en lumière la topographie des anomalies métabolique chez des patients atteints de SEP de forme RR à un moment donné de la pathologie. La prochaine étape de notre projet sera de déterminer le corrélat métabolique, grâce à notre séquence 3D-EPSI double orientations, des accumulations de sodium observées précédemment au laboratoire chez des patients atteints de SEP de forme RR [Zaaraoui et al., 2012a]. Nous pensons que l'utilisation concomitante de ces deux techniques permettra d'affiner nos connaissances sur les processus cellulaires conduisant à la mort neuronale.

CHAPITRE 2

Quels sont les substrats métaboliques des accumulations de sodium observés dans la SEP de forme Récurrente-Rémittente (RR) ?

4.1: Introduction

Des approches in vitro, précliniques et cliniques ont récemment montré un lien évident entre les phénomènes neuro-dégénératifs de la SEP et l'accumulation anormale de sodium dans les lésions de substances blanches mais aussi dans la substance blanche et grise d'apparence normale [Freeman et al., 2016; Waxman, 2006; Zaaraoui et al., 2012a]. L'IRM du sodium 23 permet de quantifier le sodium cérébral de manière non invasive et pourrait devenir un outil majeur pour la quantification de l'atteinte neuronale dans les maladies neurologiques comme la SEP. Néanmoins, la spécificité de ces accumulations de sodium reste pour le moment indéterminée [Thulborn, 2016].

Cette étude a donc visée à caractériser d'un point de vue métabolique, les accumulations cérébrales de sodium observées chez les patients atteints de SEP par IRM du ^{23}Na. Pour ce faire, nous avons combiné dans un même protocole clinique une exploration par imagerie spectroscopique 3D-EPSI du proton (double orientations) et par IRM 3D du sodium 23 pondérée en densité couvrant l'ensemble du cerveau.

Cette étude a fait l'objet de la publication suivante.

4.2: Metabolic counterparts of sodium accumulation in Multiple Sclerosis: A whole brain 23Na-MRI and fast 1H-MRSI study

Page Proof Instructions and Queries

Journal Title: Multiple Sclerosis Journal

Article Number: 736146

Thank you for choosing to publish with us. This is your final opportunity to ensure your article will be accurate at publication. Please review your proof carefully and respond to the queries using the circled tools in the image below, which are available **by clicking "Comment"** from the right-side menu in Adobe Reader DC.*

Please use *only* the tools circled in the image, as edits via other tools/methods can be lost during file conversion. For comments, questions, or formatting requests, please use T. Please do *not* use comment bubbles/sticky notes.

*If you do not see these tools, please ensure you have opened this file with **Adobe Reader DC**, available for free at get.adobe.com/reader or by going to Help > Check for Updates within other versions of Reader. For more detailed instructions, please see us.sagepub.com/ReaderXProofs.

No.	Query
	Please confirm that all author information, including names, affiliations, sequence, and contact details, is correct.
	Please review the entire document for typographical errors, mathematical errors, and any other necessary corrections; check headings, tables, and figures.
	Please ensure that you have obtained and enclosed all necessary permissions for the reproduction of artworks (e.g. illustrations, photographs, charts, maps, other visual material, etc.) not owned by yourself. Please refer to your publishing agreement for further information.
	Please note that this proof represents your final opportunity to review your article prior to publication, so please do send all of your changes now.
	Please confirm that the Funding and Conflict of Interest statements are accurate.
1	Please provide an expansion for 'GRAPPA', if appropriate.

MULTIPLE SCLEROSIS JOURNAL | MSJ

Original Research Paper

Metabolic counterparts of sodium accumulation in multiple sclerosis: A whole brain ^{23}Na-MRI and fast ^{1}H-MRSI study

Maxime Donadieu, Yann Le Fur, Adil Maarouf, Soraya Gherib, Ben Ridley, Lauriane Pini, Stanislas Rapacchi, Sylviane Confort-Gouny, Maxime Guye, Lothar R Schad, Andrew A Maudsley, Jean Pelletier, Bertrand Audoin, Wafaa Zaaraoui and Jean-Philippe Ranjeva

Multiple Sclerosis Journal

1–9

DOI: 10.1177/1352458517736146

© The Author(s), 2017.
Reprints and permissions:
http://www.sagepub.co.uk/journalsPermissions.nav

Abstract

Background: Increase of brain total sodium concentrations (TSC) is present in multiple sclerosis (MS), but its pathological involvement has not been assessed yet.

Objective: To determine in vivo the metabolic counterpart of brain sodium accumulation.

Materials/methods: Whole brain ^{23}Na-MR imaging and 3D-^{1}H-EPSI data were collected in 21 relapsing-remitting multiple sclerosis (RRMS) patients and 20 volunteers. Metabolites and sodium levels were extracted from several regions of grey matter (GM), normal-appearing white matter (NAWM) and white matter (WM) T_2 lesions. Metabolic and ionic levels expressed as *Z*-scores have been averaged over the different compartments and used to explain sodium accumulations through stepwise regression models.

Results: MS patients showed significant ^{23}Na accumulations with lower choline and glutamate–glutamine (Glx) levels in GM; ^{23}Na accumulations with lower *N*-acetyl aspartate (NAA), Glx levels and higher Myo-Inositol (m-Ins) in NAWM; and higher ^{23}Na, m-Ins levels with lower NAA in WM T_2 lesions. Regression models showed associations of TSC increase with reduced NAA in GM, NAWM and T_2 lesions, as well as higher total-creatine, and smaller decrease of m-Ins in T_2 lesions. GM Glx levels were associated with clinical scores.

Conclusion: Increase of TSC in RRMS is mainly related to neuronal mitochondrial dysfunction while dysfunction of neuro-glial interactions within GM is linked to clinical scores.

Keywords: ^{23}Na-MRI, MRSI, multiple sclerosis, stepwise regression, neurodegeneration, demyelination

Date received: 9 May 2017; revised: 30 August 2017; accepted: 18 September 2017

Correspondence to:
M Donadieu
CNRS, CRMBM UMR 7339, Medical School of Marseille, Aix-Marseille University, 27, boulevard Jean Moulin, 13385 Marseille, France.
maxime.donadieu@etu.univ-amu.fr

Maxime Donadieu
CNRS, CRMBM UMR 7339, Medical School of Marseille, Aix-Marseille University, Marseille, France/AP-HM, CHU Timone, Department of Imaging, CEMEREM, Marseille, France; Siemens Healthineers, Saint-Denis, France

Yann Le Fur
Soraya Gherib
Ben Ridley
Lauriane Pini
Stanislas Rapacchi
Sylviane Confort-Gouny
Maxime Guye
Wafaa Zaaraoui
Jean-Philippe Ranjeva
CNRS, CRMBM UMR 7339, Medical School of Marseille, Aix-Marseille University, Marseille, France/AP-HM, CHU Timone, Department of Imaging, CEMEREM, Marseille, France

Adil Maarouf
CNRS, CRMBM UMR 7339, Medical School of Marseille, Aix-Marseille University, Marseille, France/AP-HM, CHU Timone, Department of Imaging, CEMEREM, Marseille, France/AP-HM, CHU Timone, Pole de Neurosciences Cliniques, Department of Neurology, Marseille, France

Lothar R Schad
Computer Assisted Clinical Medicine, Mannheim University Hospital, Heidelberg University, Mannheim, Germany

Andrew A Maudsley
Department of Radiology, University of Miami School of Medicine, Miami, FL, USA

Introduction

Multiple sclerosis (MS) is a multifocal autoimmune pathology of the central nervous system (CNS) affecting young adults, which is characterized by acute and chronic inflammation, demyelination and neurodegeneration.[1] Although neurodegeneration is considered to be the main substrate of irreversible disability in MS, this phenomenon is complex to characterize in vivo.[2] Mechanistic approaches have provided evidence that sodium accumulation is involved in neurodegenerative processes,[3,4] suggesting that measurement of in vivo brain sodium accumulation may be a relevant marker of neurodegeneration. Sodium (^{23}Na) MR imaging is a unique in vivo and non-invasive technique that enables quantification of total sodium concentrations (TSC) in the human brain.[5] Recently, clinical ^{23}Na-MRI studies have focused on MS, reporting abnormal increases of TSC in demyelinated white matter (WM) T_2 lesions, gadolinium-enhancing lesions,[6] normal-appearing white matter (NAWM) and grey matter (GM) of patients with different phenotypes of the disease including relapsing-remitting multiple sclerosis (RRMS)[7–9] and progressive multiple sclerosis (PMS) forms.[10,11] Nevertheless, as noted in a recent review, the meaning of observed brain sodium accumulations is unknown.[12] To refine information provided by ^{23}Na-MRI, the use of new MR contrasts have been proposed such as Triple Quantum Filtering (TQF)[13] and/or inversion recovery at high (3T) and ultra-high field (7T)[14] in

Jean Pelletier
Bertrand Audoin
CNRS, CRMBM UMR 7339, Medical School of Marseille, Aix-Marseille University, Marseille, France/ AP-HM, CHU Timone, Pole de Neurosciences Cliniques, Department of Neurology, Marseille, France

order to separate sodium signals from the intra- and the extra-cellular compartments. Petracca et al.[13] used TQF to demonstrate decreases in intracellular volume fraction and increase in intracellular sodium concentrations in MS patients. However, these techniques not only suffer from very poor sensitivity requiring long acquisition times and leading to poor spatial resolution but also did not solve the interpretation of ^{23}Na-MRI.

Concurrently, complementary information on physiological and pathological processes can be obtained from metabolites detected using proton MR spectroscopic imaging, including (1) *N*-acetyl aspartate (NAA), which is synthesized in neuronal mitochondria[15] and considered to be highly linked to neuronal mitochondrial activity; (2) glutamate–glutamine (Glx), which provides a probe of neuro-astrocytic exchanges;[16] (3) total creatine (tCr), designating the signals of phosphocreatine and creatine, which is present in all cell types and considered to be an index of cellularity; (4) choline containing compounds (Cho), signals mainly detected in oligodendrocytes and astrocytes[17] and mostly associated with membrane (glycerophosphorylcholine), demyelination processes (free choline) and inflammation (Betaine); and (5) myo-inositol (m-Ins), a metabolite associated with glial cells, microglial activation and glial scar processes.[18]

The aim of this study was to better characterize the metabolic counterpart of total sodium accumulations within the different brain compartments (T_2 lesions, NAWM, GM) of RRMS patients in order to add specific cellular information to increase of TSC. To do so, we have examined the relationships between TSC derived from quantitative ^{23}Na-MRI and the corresponding metabolic maps of NAA, Glx, tCr, Cho and m-Ins assessed by volumetric proton echo planar spectroscopic imaging (3D ^{1}H-EPSI) optimized to sample the entire brain.[19]

Materials and methods

Subjects

This study was approved by the local Institutional Review Board (Marseille Provence 2) in accordance with the guidelines outlined in the Declaration of Helsinki. All subjects gave their written consent. For this exploratory study and according to previous studies providing significant results using similar techniques,[8,20] 21 RRMS patients (mean age = 37 ± 10.7 years, range = 23–59, 13 women, 8 men) and 20 healthy volunteers (mean age = 33.2 ± 10.2 years, range = 22–60, 12 women, 8 men) matched for age and sex ($p > 0.05$) were included in this study between February 2014 and July 2015.

^{1}H-MRI

MRI studies were performed on a 3-Tesla Magnetom Verio MR scanner (Siemens, Erlangen, Germany) using a 32-channel receiver head coil. The imaging protocol included sagittal T_1-weighted FLASH, axial 3D-T_1-weighted Magnetization Prepared RApid Gradient Echo (MPRAGE) (TE/TR/TI = 3.44/2150/1100 ms, voxel size = 1 × 1 × 1 mm^3, FOV = 256 mm, flip angle = 8°, matrix = 256^2, partitions = 176, acquisition time ≈ 5 minutes), axial T_2-weighted (TE_1/TE_2/TR = 11/90/8500 ms, FOV = 250 mm, flip angle = 150°, matrix = 256^2, thickness = 3 mm, 49 slices, acquisition time ≈ 4 minutes) sequences and sagittal fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) sequence (TE/TR/TI = 395/5000/1800 ms, voxel size = 1 × 1 × 1 mm^3, FOV = 250 mm, flip angle = 70°; matrix = 256^2, partitions = 160; acquisition time ≈ 6 minutes). Patients had also pre- and post-gadolinium injection T_1-weighted acquisitions to determine the presence of active lesions (TE/TR = 8.4/500 ms, FOV = 250 mm, flip angle = 70°, matrix = 256^2, thickness = 3 mm, 45 slices, acquisition time ≈ 4 minutes).

^{1}H-MRSI

Whole brain 3D-^{1}H-EPSI was acquired as described in Lecocq and colleagues,[19,20] using two axial acquisitions with two different orientations, one in the AC-PC plane and the other in the AC-PC + 15° plane (TE/TR/TI = 20/1710/198 ms, nominal voxel size = 1 × 1 × 1 cm^3, FOV = 280 × 280 × 180 mm^3, flip angle = 73°, 50 × 50 × 18 k-space points, GRAPPA factor = 2, acquisition time ≈ 17 minutes) and the same 32-channel receiver head coil. **[AQ: 1]** Examples of spectra obtained across the brain are illustrated in Figure 1.

^{23}Na-MRI

^{23}Na-MR imaging was performed using a double tuned ^{23}Na-^{1}H volume head coil (Rapid Biomedical, Rimpar, Germany). The protocol, as described in Zaaraoui et al.,[8] included a density-adapted 3D radial projection reconstruction pulse sequence (TE/TR = 0.2/120 ms, 17,000 projections and 369 samples per projection, readout time per spoke = 20 ms, flip angle = 87°, nominal voxel size = 3.6 × 3.6 × 3.6 mm^3, acquisition time ≈ 34 min). External references (two tubes filled with 2% agarose doped with a sodium concentration of 50 mmol/L) were placed on either

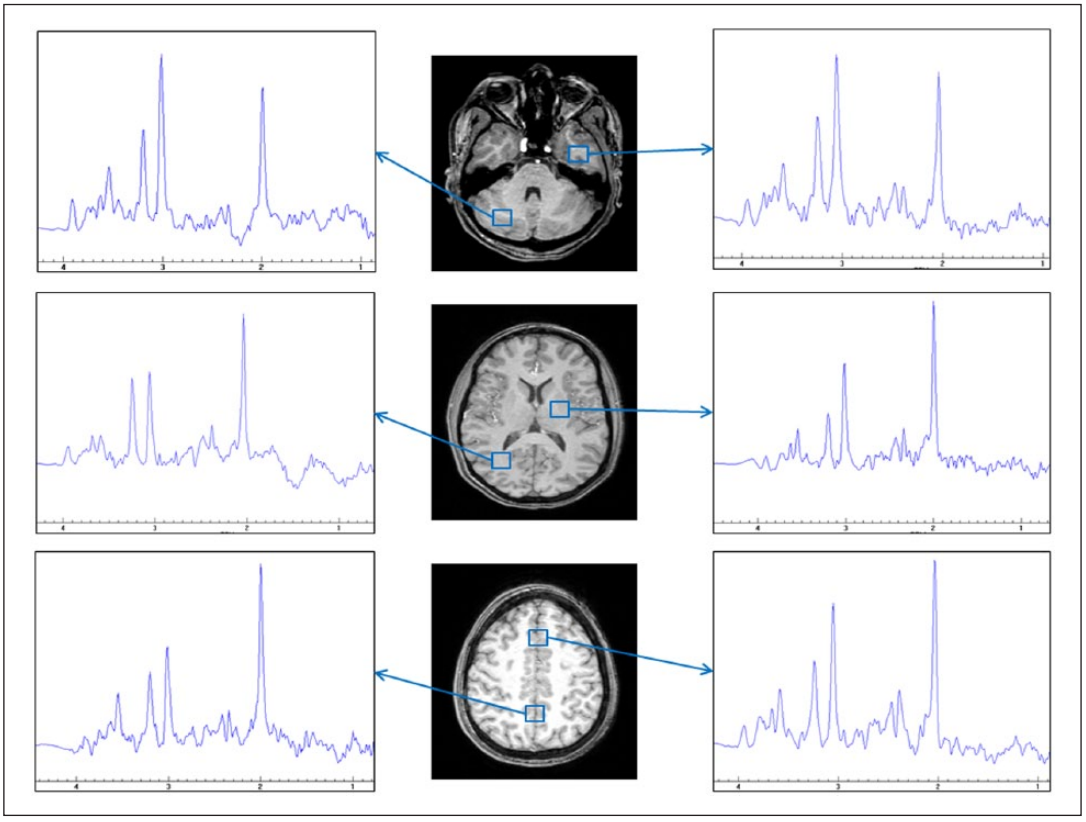

Figure 1. Examples of quality of spectra obtained over the whole brain using the 3D-^{1}H-EPSI sequence (male, 31 years old). The horizontal scale is shown in ppm.

side of the subject's head, in the field of view, for absolute sodium quantification.

The full acquisition time was approximately 1½ hours. After ^{23}Na-MRI acquisition performed with the double tuned ^{23}Na-^{1}H volume head coil, patient was repositioned in the scanner to perform the ^{1}H-MRI and ^{1}H-MRSI protocol using the 32-channel receiver ^{1}H head coil.

Data processing

Metabolic maps (Figure 2) obtained for each subject were post-processed and combined (AC-PC + AC-PC 15°) using the Metabolite Imaging and Data Analyses System (MIDAS, Trac, MRIR, Miami) software and SPM12 (Welcome Trust Centre for Neuroimaging at University College, London) following procedure described in Donadieu et al.[20]

Radial ^{23}Na acquisitions were reconstructed via an in-house MATLAB (R 2011b, MathWorks Inc., Natick, MA) procedure.[21] Quantitative 3D ^{23}Na concentration maps (Figure 2) were obtained using the procedure described in Zaaraoui et al.[8] with SPM12.

WM T_2-lesion masks were delineated on T_2-weighted images by the same expert (S.G., with 4 years of experience) using a semi-automated method (interactive thresholding technique written on the Interactive Data Language platform, version 7.0; Exelis Visual Information Solutions, Inc.).[10]

All maps were spatially normalized in the same MNI space (SPM12). Segmentation of MPRAGE was performed using SPM12 and GM, WM, cerebrospinal fluid (CSF) density probability maps were spatially normalized in the MNI space.

For each patient, the transformation matrix obtained during the MNI spatial normalization of the T_2-weighted images was applied to its corresponding WM T_2 lesion mask to obtain the individual normalized WM T_2 lesion mask. Then, this mask was used as region of interest (ROI) to extract metabolic and ionic values from the normalized maps of the given patient and all controls. The procedure was redone for each patient to account for potential metabolic and ionic regional normal physiological variations in controls among the different spatial distributions matching the T_2 WM lesions in patients.

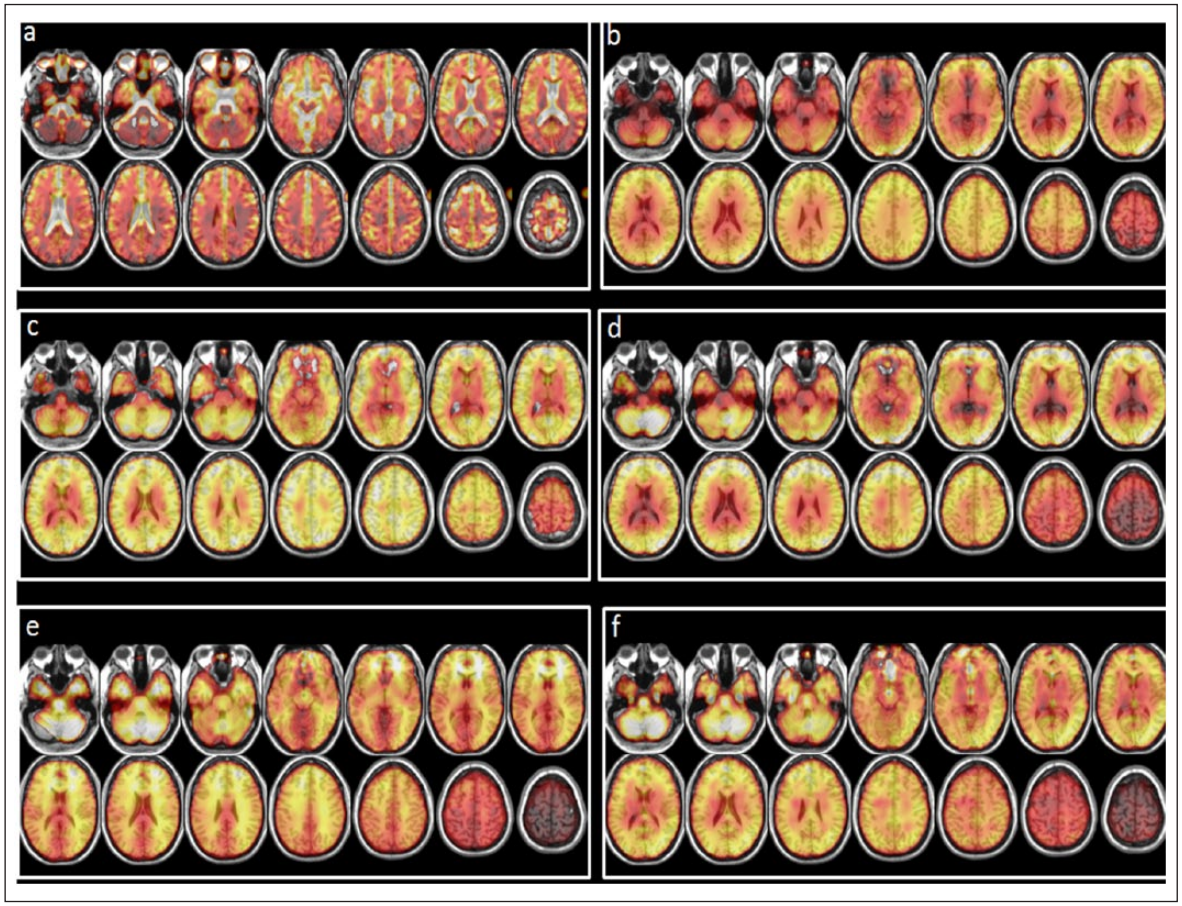

Figure 2. Examples of maps obtained from one subject (female, 29 years old) projected on MNI T_1 template: (a) sodium, (b) *N*-acetyl aspartate, (c) glutamate–glutamine, (d) total creatine, (e) choline and (f) myo-inositol.

To characterize metabolic and ionic profiles of MS patients within GM, spatially normalized ionic and metabolic maps were masked by the normalized GM probability density maps thresholded at 75% before extracting parameters from 90 GM ROIs (note that those including less than 20 voxels were not used) of the Automated Anatomical Labelling 2 (AAL 2) atlas.

To characterize metabolic and ionic profiles within the normal-appearing WM, all spatially normalized ionic and metabolic maps were masked by the normalized WM probability density maps thresholded at 75% (after subtraction of the normalized WM T_2 lesion masks) before extraction of parameters from the 12 WM regions corresponding to different lobes (frontal, parietal, limbic, temporal and occipital) (WFU pick atlas toolbox, SPM12).

These procedures were automated through a pipeline written in MATLAB (Figure 3). All ionic and metabolic values for each ROI were normalized using *Z*-scores based on the mean and standard deviation values obtained for the control group from the corresponding ROIs

$$\text{For each ROI: } Z\text{-score} = \frac{X - \mu}{\sigma}$$

where X = value of [^{23}Na], NAA, Cho, tCr, Glx, m-Ins for each subject; μ = mean value of [^{23}Na], NAA, Cho, tCr, Glx, m-Ins for the control group; and σ = standard deviation value of [^{23}Na], NAA, Cho, tCr, Glx, m-Ins for the control group.

For each parameter and each subject, the *Z*-scores were averaged across regions belonging to the same compartment to obtain *Z*-scores of GM, NAWM and WM T_2 lesions.

Z-score allows us to calculate the standard deviation of a score compared to a control group and enables us to compare two scores that are from different normal distributions. *Z*-scores of ROIs belonging to each compartment (GM, NAWM) were averaged for each

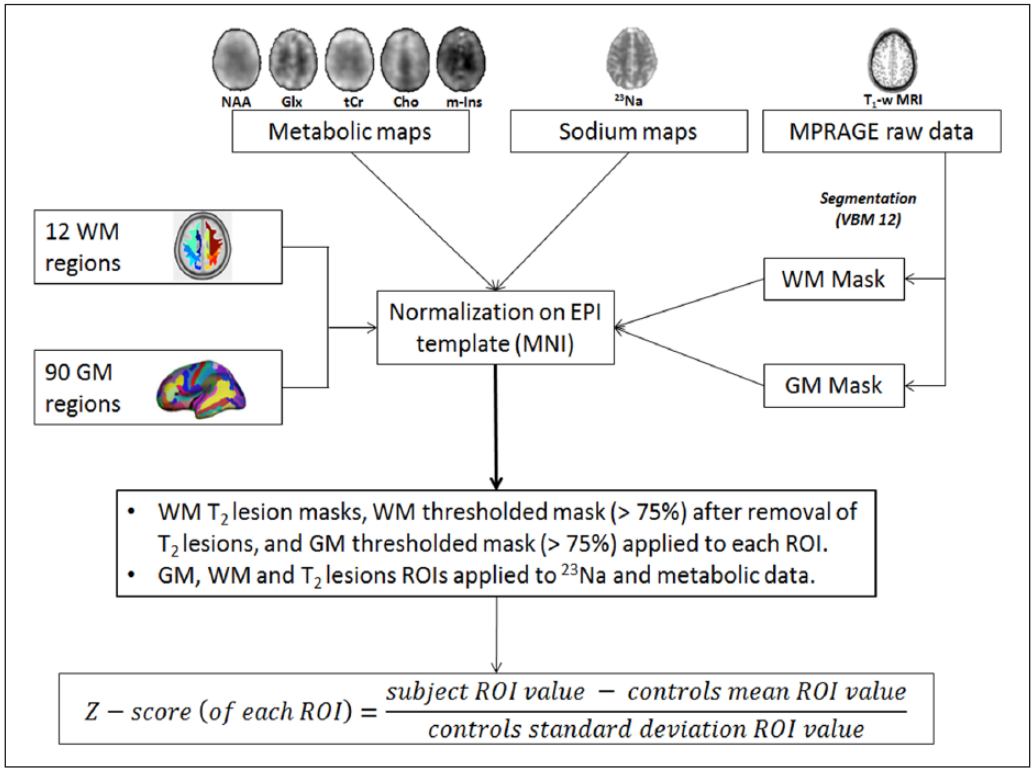

Figure 3. Post-processing pipeline including normalization in the MNI EPI spatial space, ^{23}Na and metabolites values extraction for each ROI of GM, WM and T_2 lesions and *Z*-scores computation.

subject and each metabolic/ionic map. Note that for the computation of *Z*-scores corresponding to WM T_2 lesions, for each patient, control data values were obtained from ROIs defined as the individual spatially normalized WM T_2 lesion mask built for each patient and applied to the spatially normalized maps of all controls to extract mean and SD.

Clinical score assessment

Clinical status was assessed on the day of the MR examination using the Kurtzke Expanded Disability Status Scale (EDSS) and the Multiple Sclerosis Functional Composite (MSFC) score, which is composed of the paced auditory serial additional test (PASAT), the timed 25-foot walk (TFW) and the 9-hole peg test (9HPT).

Statistical analyses

Statistical analyses were performed with JMP 9 software (Version 13, September 2016, SAS institute). Wilcoxon rank tests were used to compare ionic and metabolic parameters observed between RRMS and controls within each independent compartment (GM, NAWM and WM T_2 lesions). The multiple comparison procedure considered the three compartments as independent leading to a Bonferroni correction factor of 6 ($p_{corr} < 0.008$).

To test the relationships between TSC and metabolite levels in RRMS patients, a stepwise regression model (forward) was performed for each compartment with $Z_{\text{-TSC}}$ as the dependent variable and $Z_{\text{-NAA}}$, $Z_{\text{-Glx}}$, $Z_{\text{-tCr}}$, $Z_{\text{-Cho}}$, $Z_{\text{-mIns}}$, GM%, WM% and CSF% as factors.

Correlations between average *Z*-scores ^{23}Na and *Z*-scores of metabolic parameters for each independent compartment were assessed using Spearman rank tests ($p < 0.05$, corrected by Bonferroni procedure with a Bonferroni factor of 5 $p_{corr} < 0.01$).

Finally, stepwise regression models (forward) were built to explain MSFC and EDSS with $Z_{\text{-NAA}}$, $Z_{\text{-Glx}}$, $Z_{\text{-tCr}}$, $Z_{\text{-Cho}}$, $Z_{\text{-mIns}}$, GM%, WM%, CSF% and T_2 lesion load as factors.

Results

On the day of the MR study, all patients were stable, exhibiting no gadolinium-enhancing lesions or relapses. In all, 81% of patients (17 out of 21) were

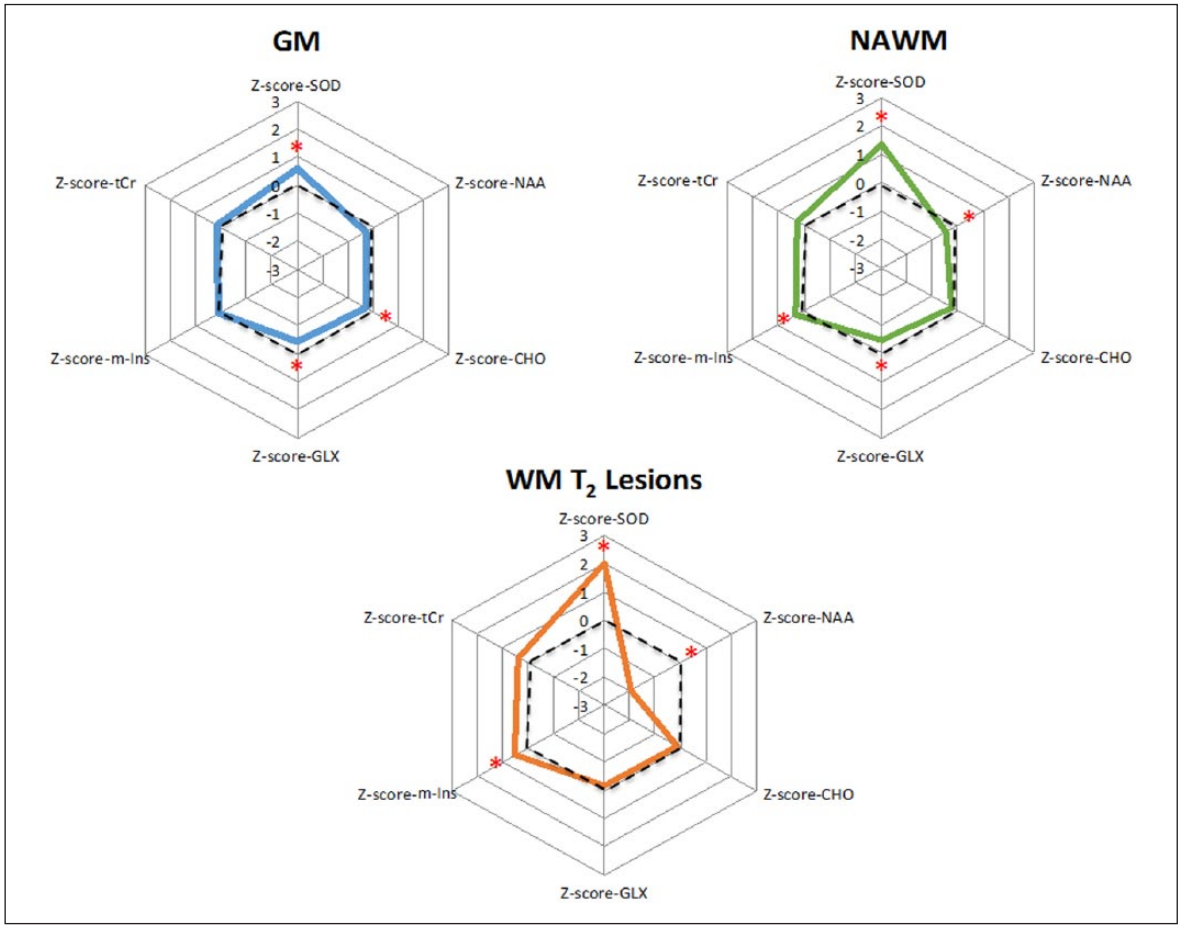

Figure 4. Radar plot of mean *Z*-scores of sodium and metabolites observed in RRMS patients within the three compartments (GM, NAWM, T_2 lesions). The asterisks indicate significant differences between patients and healthy controls (Wilcoxon test $p<0.05$ corrected by the Bonferroni procedure). Dotted lines represent the mean *Z*-scores of healthy controls (*Z*-score = 0).

under immunosuppressive or immunomodulatory disease-modified treatments. Median EDSS was 1, ranging from 0 to 4, median MSFC was −0.28, ranging from −5.82 to 1.58, and median disease duration was 5.6 years, ranging from 2.8 to 34.5 years.

Ionic and metabolic profiles of RRMS patients

All results are summarized in the radar plots shown in Figure 4. In GM, when compared to controls, RRMS patients showed significant increases in TSC ($p=0.0061$), with decreases in Cho ($p=0.0070$) and Glx ($p=0.0011$) and a trend of decreased NAA ($p=0.0610$) (Wilcoxon rank test).

In NAWM, RRMS had significant increases in TSC ($p=0.0002$) and m-Ins ($p=0.0053$), with decreases in NAA ($p=0.0232$) and Glx ($p=0.0167$).

Within T_2 WM lesions, RRMS showed significant increases in TSC ($p<0.0001$) and m-Ins ($p=0.0053$) and decreases in NAA ($p<0.0001$).

Association between total sodium accumulations and metabolite concentrations within the different brain compartments

Pairwise tests ($p<0.005$) show significant correlations between ^{23}Na *Z*-score and metabolites *Z*-score in the three compartments, especially between TSC and NAA. All the results are summarized in Supplemental Table 1.

For the GM compartment of RRMS patients, the stepwise regression model showed significant association between increases in TSC and decreases in NAA ($\beta=-0.831$; $p<0.0032$) (adjusted $R^2=0.341$, $p<0.0032$).

In NAWM, the stepwise regression model showed a significant association between increases in TSC and decreases in NAA ($\beta = -1.069$; $p < 0.0047$) (adjusted $R^2 = 0.346$, $p = 0.0085$).

Within WM T_2 lesions, increase in TSC was associated with decrease in NAA ($\beta = -1.261$; $p < 0.0001$) and smaller decrease in m-Ins ($\beta = -2.693$; $p = 0.0030$) and increase in tCr ($\beta = 2.822$; $p = 0.0017$) (adjusted $R^2 = 0.574$, $p = 0.0005$).

Correlation between clinical scores (EDSS, MSFC) and ionic or metabolic profiles

The stepwise regression model including all ionic and metabolic parameters and T_2 lesion load retained only the association between EDSS and decreased GM Glx ($\beta = -1.288$, $p = 0.0288$) (adjusted $R^2 = 0.187$, $p = 0.0288$).

Concurrently, MSFC was positively associated with GM Glx ($\beta = 1.066$, $p = 0.0123$) (adjusted $R^2 = 0.249$, $p = 0.0123$).

Discussion

We provide here, for the first time, the metabolic counterparts of total sodium accumulations observed in brain compartments of RRMS patients. A major challenge reached by this study is the assessment of whole brain ionic and metabolic samplings in vivo using ^{23}Na-MRI and fast 3D ^{1}H-EPSI acquisitions during the same clinical examination. In agreement with previous studies, we first confirmed the presence of abnormal cerebral increases of TSC in MS patients,[7,8,11] concomitant to decreased NAA within NAWM and T_2 WM lesions (trend for GM), decreased Glx within GM and NAWM, decreased Cho within GM, and increased m-Ins within NAWM and WM T_2 lesions.[20,22,23]

NAA decrease has been widely reported in RRMS patients within different brain regions including T_2 lesions,[24] NAWM,[24] deep GM[25] and cortical GM.[20] This decrease has been interpreted as both neuro-axonal damage and loss based on post-mortem histological studies.[18] The main result of this study was that the stepwise regression models accounting for tissue content mainly showed a negative correlation between total sodium accumulations and NAA levels. This is the first in vivo evidence that chronic brain increases of TSC are significantly related to mitochondrial neuronal dysfunction in all compartments. Previous in situ studies have proposed that sodium accumulations are related to neurodegenerative processes in MS.[3,4] Neuronal mitochondrial energy failure coupled with demyelination leads to Na^+/K^+ ATPase pump dysfunction and reorganization of sodium channels along axons.[4,26] Such dysfunction drives ^{23}Na accumulation inside the neurons and reverses Na^+/Ca^{2+} exchange activity. Ca^{2+} inflow stimulates a large array of Ca^{2+}-dependent enzymes like calpains, phospholipases or nitric oxide synthases, driving structural and functional axonal injury.[3,4]

While increase in glutamate has been observed in acute and active WM lesions reflecting excitotoxicity[27] and considered as a promising biomarker for MS disease progression,[28] the present decrease in Glx may reflect neuro-astrocytic metabolic dysfunctions within GM and NAWM.[16] Interestingly, the largest ionic/metabolic impact on global functional scores (EDSS and MSFC) was related to the GM Glx levels, in accordance with the fact that neuro-glial interactions occur preferentially in GM nearby synapses.[29] Whenever not surviving the stepwise regression model, paired correlations showed significant negative association between TSC and GM Glx levels, in line with the major role of sodium in neuro-glial interactions.[30] Study on experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) animal model highlights the major role of cytokines and glutamate on synaptic transmission deregulation and thereby on neurodegeneration, main substrate of irreversible disabilities in MS.[31]

Decrease of Cho in GM appears conflicting with previous literature reporting increase of Cho in T_2 lesions,[32] NAWM and GM.[17] This apparent discrepancy with the majority of MRS works related to MS may be explained by the different metabolites included in the Cho peak having opposite behaviour during demyelination and demyelination-inflammation processes. Decreased Cho has been reported in inflammatory and non-inflammatory Cuprizone models of MS and interpreted as a decrease in glycerophosphatidylcholine (GPC).[33] Considering the whole group of patients relative to controls, the significant decrease of Cho levels could be interpreted as a large decrease of GPC reflecting mitochondrial dysfunction.[33] This lack of Cho increase can be linked to the random distribution of Cho increase undetectable in this group analysis or with decrease of GPC signal reflecting mitochondrial dysfunction.[33]

Increase of m-Ins in NAWM and T_2 lesions are also widely reported in the literature.[34] Indeed, m-Ins is involved in brain inflammation throughout glial activation (mostly astrocytes)[34] especially in the WM T_2 lesions at the early stage of MS (CIS, RR < 5 years),[22]

with spread to NAWM after 5 years.[34] Increased m-Ins in NAWM and especially in WM T_2 lesions may reflect enhanced glial processes (scars and/or activation).

This exploratory study has some limitations. First, the sample size ($n=21$ patients) is relatively limited. Second, both imaging modalities suffer from relatively low signal to noise, which impacts spatial resolution and increases partial volume effects. We tried to minimize this effect by first applying WM and GM mask threshold of 75% on ^{23}Na and ^{1}H-MRSI data. In addition to the masking procedure, we have included in the regression analyses the tissue content of ROIs characterized by WM%, GM%, CSF% and by removing ROIs composed by less than 20 voxels after masking. We proposed a clinically compatible MR protocol that provided acquisition of whole brain ^{23}Na-MRI and ^{1}H-MRSI, enabling metabolic and sodium brain concentrations to be measured within the same subjects in vivo and non-invasively. Even if the volumic images were easily spatially normalized in the common MNI template, these multimodal (multicontrast) images may suffer from registration errors that may impact the correlation measurements. Finally, even if metabolite maps were not expressed in absolute concentrations, metabolite signals were normalized by the interleaved water signal acquired during the same acquisition,[19] a procedure shown to be adequate even for multi-centre studies[35] but not accounting for potential changes in T_1 relaxation rates of water and metabolites.

In conclusion, a clinically compatible MR protocol was developed that provided acquisition of whole brain ^{23}Na-MRI and ^{1}H-MRSI, enabling metabolic and sodium brain concentrations to be measured within the same subjects in vivo and non-invasively. This study showed for the first time that the metabolic counterpart of total sodium accumulations observed in MS patients was related to neuronal mitochondrial dysfunction.

Future work will aim at deciphering the association between intracellular ^{23}Na concentrations and metabolic profiles using more specific methods of brain compartmentalization at ultra-high field (7T) such as TQF[13] or multi-TE sequences[14] allowing the separation of the contribution of restricted and free pools of sodium to the ^{23}Na-MRI signal.

Declaration of Conflicting Interests

The author(s) declared the following potential conflicts of interest with respect to the research, authorship and/or publication of this article: A.M., B.A. and J.P. received travel grants from commercial pharmaceutical companies: Biogen, Genzyme, Novartis, Merck Serono, MedDay, Roche and Teva. M.D., Y.L.F., S.G., B.R., L.P., S.R., S.C.-G., M.G., L.R.S., A.A.M., W.Z. and J.-P.R. have no relevant financial interest or relationship to disclose.

Funding

The author(s) disclosed receipt of the following financial support for the research, authorship and/or publication of this article: This study was supported by ARSEP Fondation, Association SEP Pays d'Aix, Agence Nationale de la Recherche (ANR-09-MNPS-025-SODIUMS, for the healthy control group). The first author is the recipient of a PhD Grant (CIFRE) supported by Siemens France and the French 'Association Nationale Recherche et Technologie' (ANRT).

References

1. Kutzelnigg A. Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. *Brain* 2005; 128(11): 2705–2712.
2. Smith KJ. Sodium channels and multiple sclerosis: Roles in symptom production, damage and therapy. *Brain Pathol* 2007; 17(2): 230–242.
3. Freeman SA, Desmazières A, Fricker D, et al. Mechanisms of sodium channel clustering and its influence on axonal impulse conduction. *Cell Mol Life Sci* 2016; 73(4): 723–735.
4. Waxman SG. Axonal conduction and injury in multiple sclerosis: The role of sodium channels. *Nat Rev Neurosci* 2006; 7(12): 932–941.
5. Hilal SK, Maudsley AA, Ra JB, et al. In vivo NMR imaging of sodium-23 in the human head. *J Comput Assist Tomogr* 1985; 9(1): 1–7.
6. Eisele P, Konstandin S, Griebe M, et al. Heterogeneity of acute multiple sclerosis lesions on sodium (23Na) MRI. *Mult Scler* 2016; 22(8): 1040–1047.
7. Inglese M, Madelin G, Oesingmann N, et al. Brain tissue sodium concentration in multiple sclerosis: A sodium imaging study at 3 tesla. *Brain* 2010; 133(3): 847–857.
8. Zaaraoui W, Konstandin S, Audoin B, et al. Distribution of brain sodium accumulation correlates with disability in multiple sclerosis: A cross-sectional 23Na MR imaging study. *Radiology* 2012; 264(3): 859–867.
9. Maarouf A, Audoin B, Pariollaud F, et al. Increased total sodium concentration in gray matter better explains cognition than atrophy in MS. *Neurology* 2017; 88(3): 289–295.

10. Maarouf A, Audoin B, Konstandin S, et al. Topography of brain sodium accumulation in progressive multiple sclerosis. *Magn Reson Mater Phys Biol Med* 2013; 27(1): 53–62.

11. Paling D, Solanky BS, Riemer F, et al. Sodium accumulation is associated with disability and a progressive course in multiple sclerosis. *Brain* 2013; 136(7): 2305–2317.

12. Thulborn KR. Quantitative Sodium MR Imaging: A review of its evolving role in medicine. *Neuroimage* 2016; pii: S1053–8119(16)30674–30677.

13. Petracca M, Vancea RO, Fleysher L, et al. Brain intra- and extracellular sodium concentration in multiple sclerosis: A 7 T MRI study. *Brain* 2016; 139(3): 795–806.

14. Madelin G, Babb J, Xia D, et al. Repeatability of quantitative sodium magnetic resonance imaging for estimating pseudo-intracellular sodium concentration and pseudo-extracellular volume fraction in brain at 3 T. *Plos One* 2015; 10(3): e0118692.

15. Moffett JR, Ross B, Arun P, et al. N-Acetylaspartate in the CNS: From neurodiagnostics to neurobiology. *Prog Neurobiol* 2007; 81(2): 89–131.

16. Rae CD. A guide to the metabolic pathways and function of metabolites observed in human brain 1H magnetic resonance spectra. *Neurochem Res* 2014; 39(1): 1–36.

17. Kirov II, Tal A, Babb JS, et al. Serial proton MR spectroscopy of gray and white matter in relapsing-remitting MS. *Neurology* 2013; 80(1): 39–46.

18. Lassmann H. Mechanisms of white matter damage in multiple sclerosis. *Glia* 2014; 62(11): 1816–1830.

19. Lecocq A, Le Fur Y, Maudsley AA, et al. Whole-brain quantitative mapping of metabolites using short echo three-dimensional proton MRSI. *J Magn Reson Imaging* 2015; 42(2): 280–289.

20. Donadieu M, Le Fur Y, Lecocq A, et al. Metabolic voxel-based analysis of the complete human brain using fast 3D-MRSI: Proof of concept in multiple sclerosis. *J Magn Reson Imaging* 2016; 44(2): 411–419.

21. Nagel AM, Laun FB, Weber M-A, et al. Sodium MRI using a density-adapted 3D radial acquisition technique. *Magn Reson Med* 2009; 62(6): 1565–1573.

22. Fernando KTM, McLean MA, Chard DT, et al. Elevated white matter myo-inositol in clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis. *Brain* 2004; 127(6): 1361–1369.

23. Vingara LK, Yu HJ, Wagshul ME, et al. Metabolomic approach to human brain spectroscopy identifies associations between clinical features and the frontal lobe metabolome in multiple sclerosis. *Neuroimage* 2013; 82: 586–594.

24. Hattingen E, Magerkurth J, Pilatus U, et al. Combined 1H and 31P spectroscopy provides new insights into the pathobiochemistry of brain damage in multiple sclerosis. *NMR Biomed* 2011; 24(5): 536–546.

25. Geurts JJG, Reuling IEW, Vrenken H, et al. MR spectroscopic evidence for thalamic and hippocampal, but not cortical, damage in multiple sclerosis. *Magn Reson Med* 2006; 55(3): 478–483.

26. Witte ME, Mahad DJ, Lassmann H, et al. Mitochondrial dysfunction contributes to neurodegeneration in multiple sclerosis. *Trends Mol Med* 2014; 20(3): 179–187.

27. Srinivasan R. Evidence of elevated glutamate in multiple sclerosis using magnetic resonance spectroscopy at 3 T. *Brain* 2005; 128(5): 1016–1025.

28. MacMillan EL, Tam R, Zhao Y, et al. Progressive multiple sclerosis exhibits decreasing glutamate and glutamine over two years. *Mult Scler* 2016; 22(1): 112–116.

29. Kirischuk S, Héja L, Kardos J, et al. Astrocyte sodium signaling and the regulation of neurotransmission. *Glia* 2016; 64(10): 1655–1666.

30. Boscia F, Begum G, Pignataro G, et al. Glial Na(+) -dependent ion transporters in pathophysiological conditions. *Glia* 2016; 64(10): 1677–1697.

31. Centonze D, Muzio L, Rossi S, et al. The link between inflammation, synaptic transmission and neurodegeneration in multiple sclerosis. *Cell Death Differ* 2010; 17(7): 1083–1091.

32. Klauser AM, Wiebenga OT, Eijlers AJ, et al. Metabolites predict lesion formation and severity in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler*. Epub ahead of print 1 April 2017. DOI: 10.1177/1352458517702534.

33. Praet J, Orije J, Kara F, et al. Cuprizone-induced demyelination and demyelination-associated inflammation result in different proton magnetic resonance metabolite spectra. *NMR Biomed* 2015; 28(4): 505–513.

34. Fleischer V, Kolb R, Groppa S, et al. Metabolic patterns in chronic multiple sclerosis lesions and normal-appearing white matter: Intraindividual comparison by using 2D MR spectroscopic imaging. *Radiology* 2016; 281(2): 536–543.

35. Sabati M, Sheriff S, Gu M, et al. Multivendor implementation and comparison of volumetric whole-brain echo-planar MR spectroscopic imaging. *Magn Reson Med* 2015; 74(5): 1209–1220.

Visit SAGE journals online journals.sagepub.com/home/msj

SAGE journals

4.3: Conclusion

Cette deuxième étude démontre la possibilité d'obtenir, dans un même examen clinique, une cartographie métabolique totale du cerveau et une quantification absolue du sodium sur l'ensemble du cerveau de patients SEP et de sujets sains dans le but de mieux comprendre la physiopathologie de cette maladie.

En accord avec d'autres études, nous retrouvons des accumulations de sodium et des baisses de NAA, de Cho et de Glx chez les patients atteints de SEP de forme RR, au niveau des lésions de substance blanche mais aussi en dehors, dans la substance blanche et grise d'apparence normale [Fernando, 2004; Paling et al., 2013; Zaaraoui et al., 2012a].

Nous avons mis également en évidence, via une l'analyse statistique pas à pas, des corrélations significatives, chez les patients SEP, entre les accumulations de sodium et les troubles mitochondriaux neuronaux reflétés par les baisses de NAA de manière diffuse dans le cerveau, mais également avec la dysfonction des échanges neuro-astrocytaires, reflétés par les baisses de Glx, au niveau des synapses dans la substance grise corticale. Ces résultats corroborent l'idée d'associer ces métriques afin de mieux comprendre les phénomènes neuro-dégénératifs et les dysfonctions neuro-gliales agissant dans la SEP.

Néanmoins, certaines limites persistent encore comme la taille des cohortes (21 patients et 20 témoins), la faible résolution spatiale des deux techniques empêchant une analyse voxel par voxel et augmentant les effets de volume partiel ou encore le fait que les concentrations métaboliques ne soient que semi-relatives et pas absolues.

A l'instar de l'étude précédente, il sera important de suivre nos patients longitudinalement afin de valider la robustesse de nos techniques mais aussi d'évaluer l'évolution des atteintes sodiques et métaboliques dans le temps et leurs liens avec les phénomènes neuro-dégénératifs et les scores cliniques.

CHAPITRE 3

Intérêt de l'IRM 7T chez l'Homme.

Profils métaboliques des différents noyaux thalamiques chez le sujet sain par ISRM 2D à ultra haute résolution.

6.1: Introduction

L'imagerie à très haut champ (7 Tesla) permet d'améliorer la SRM et l'ISRM en termes de rapport signal sur bruit, mais aussi en termes de résolution spatiale et spectrale [Bogner et al., 2012; Považan et al., 2015]. Nous avons tenté d'utiliser ce gain en résolution spatiale afin de caractériser les profils métaboliques de différents noyaux majeurs d'une structure cérébrale pivot chez l'Homme : le Thalamus.

Le Thalamus est constitué de plus de 30 noyaux fonctionnellement importants, de taille variable (allant de moins d'un millimètre à plus de 5 millimètres) et partageant de nombreuses connexions avec le cortex et la moelle épinière [Morel et al., 1997]. Notre but ici a été de caractériser métaboliquement, grâce à une séquence 2D-ISRM semi-laser [Scheenen et al., 2008], les 4 plus gros noyaux du Thalamus, à savoir le Pulvinar, le Dorso-Médian, le Ventral-Latéral et l'Antérieur chez des sujets sains droitiers.

Cette étude préliminaire nous a donné des informations physiologiques importantes sur les noyaux thalamiques et une base solide pour la compréhension des processus pathologiques pouvant les affecter.

De plus, le deuxième point clef de cette étude a été la prise en compte et la gestion des artéfacts apparaissant à très haut champ, comme les inhomogénéités B_0, B_1, ou encore les artefacts de susceptibilité magnétique et de déplacement chimique [Bertholdo et al., 2013].

Cette étude a fait l'objet de la publication suivante.

6.2: Evidencing different neurochemical profiles between thalamic nuclei using high resolution 2D-PRESS semi-LASER 1H-MRSI at 7T.

Magn Reson Mater Phy
DOI 10.1007/s10334-016-0556-1

RESEARCH ARTICLE

Evidencing different neurochemical profiles between thalamic nuclei using high resolution 2D-PRESS semi-LASER ^{1}H-MRSI at 7 T

Maxime Donadieu[1,2,3] · Yann Le Fur[1,2] · Sylviane Confort-Gouny[1,2] · Arnaud Le Troter[1,2] · Maxime Guye[1,2] · Jean-Philippe Ranjeva[1,2]

Received: 30 November 2015 / Revised: 25 March 2016 / Accepted: 29 March 2016
© ESMRMB 2016

Abstract
Objective To demonstrate that high resolution ^{1}H semi-LASER MRSI acquired at 7 T permits discrimination of metabolic patterns of different thalamic nuclei.
Materials and methods Thirteen right-handed healthy volunteers were explored at 7 T using a high-resolution 2D-semi-LASER ^{1}H-MRSI sequence to determine the relative levels of *N*-Acetyl Aspartate (NAA), choline (Cho) and creatine-phosphocreatine (Cr) in eight VOIs (volume <0.3 ml) centered on four different thalamic nuclei located on the Oxford thalamic connectivity atlas. Post-processing was done using the CSIAPO software. Chemical shift displacement of metabolites was evaluated on a phantom and correction factors were applied to in vivo data.
Results The global assessment (ANOVA $p < 0.05$) of the neurochemical profiles (NAA, Cho and Cr levels) with thalamic nuclei and hemispheres as factors showed a significant global effect ($F = 11.98$, $p < 0.0001$), with significant effect of nucleus type ($p < 0.0001$) and hemisphere ($p < 0.0001$). Post hoc analyses showed differences in neurochemical profiles between the left and the right hemisphere ($p < 0.05$), and differences in neurochemical profiles between nuclei within each hemisphere ($p < 0.05$).
Conclusion For the first time, using high resolution 2D-PRESS semi-LASER ^{1}H-MRSI acquired at 7 T, we demonstrated that the neurochemical profiles were different between thalamic nuclei, and that these profiles were dependent on the brain hemisphere.

Keywords Ultra high field · ^{1}H-MRSI · Thalamic nuclei · Neurochemical profiles · Connectivity atlas

Introduction

The thalamus is one of the most pivotal structures in the brain, composed of more than 30 functional nuclei with a very complex organization [1]. It shares a huge number of connections with subcortical and cortical areas, constituting a "hub" with involvement in a wide range of functions such as motor, memory, attention and emotion [2]. This pivotal network role of the thalamus makes it a vulnerable key structure prone to various pathophysiological processes such as neurodegeneration, demyelination, and/or hyper excitability associated with different neurological and neuropsychiatric diseases including Alzheimer's Disease [3], schizophrenia [4], multiple sclerosis [5–7] and epilepsy [8]. Recently, advances in diffusion-weighted magnetic resonance imaging (MRI), tractography algorithms [9] and functional MRI (fMRI) [3] have allowed better characterization of structural and functional connectivity between the thalami and cortical areas, providing new insights into the discrimination and better assessment of the specificity of each thalamic sub-part. More recently, ultra-high resolution

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s10334-016-0556-1) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Maxime Donadieu
maxime.donadieu@etu.univ-amu.fr

[1] Faculté de Médecine de la Timone, Centre de Résonance Magnétique Biologique et Médicale (CRMBM, UMR CNRS-AMU 7339), Medical School of Marseille, Aix Marseille Université, 27, Boulevard Jean Moulin, 13385 Marseille Cedex 05, France

[2] AP-HM, CHU Timone, Pôle d'Imagerie, CEMEREM, 13385 Marseille, France

[3] Siemens Healthcare, St-Denis, France

Published online: 08 April 2016

quantitative T_1 relaxometry acquired at 7 T using Magnetization-Prepared 2 Rapid Acquisition Gradient Echo (MP2RAGE) has demonstrated differences in absolute T_1 values between thalamic nuclei, highlighting the variability in structural organization between nuclei [10].

From a metabolic point of view, ^{1}H-magnetic resonance spectroscopy (MRS) and magnetic resonance spectroscopic imaging (MRSI) have been widely used to characterize the neurochemical profiles of the whole thalami in controls [11, 12], as well as in various diseases [13–15]. Unfortunately, until now, characterizing the potential specific neurochemical profiles of thalamic nuclei has been jeopardized by the low signal to noise ratio (SNR) of ^{1}H-MRSI obtained at 1.5 or 3 T, limiting spatial resolution to a minimum voxel size of about 1 cm^3 [16], next to the dimension of the whole unilateral thalamus [10, 17]. However, boosting the SNR is now possible with the use of 7 T MR scanners that allow scan times compatible with a clinical exam and 2D-^{1}H-MRSI acquisitions with a voxel size close to 0.3 cm^3 [18, 19]. This spatial resolution is sufficient to characterize the neurochemistry of the largest thalamic nuclei, such as the pulvinar or the dorsal-medial nuclei.

However, ^{1}H-MRSI at ultra-high field ($\geq$7 T) also appears more sensitive to numerous artifacts such as B_1 and B_0 inhomogeneities, magnetic susceptibility or chemical shift dispersion artifacts [16].

By studying one relatively small structure such as the thalamus (3 to 5 cm^3) located in the central part of the brain without any major air/tissue/bone interfaces nearby, B_0 inhomogeneity can be minimized by the use of an automatic third order B_0 shimming procedure [20]. In order to minimize B_1 inhomogeneity, especially for refocusing pulses, adiabatic approaches, namely semi-LASER (semi-localized by adiabatic selective refocusing) MRSI have been proposed [21] and validated at 7 T [22]. Proton MR spectroscopic imaging (MRSI) at higher magnetic fields (B_0) suffers from metabolite localization errors related to different chemical-shift displacements (CSDs) if spatially selective excitation is used. This phenomenon is exacerbated by the decreasing radiofrequency (RF) field strength, B_1, at higher B_0, precluding its suppression with stronger gradients [23]. Semi-LASER MRSI limits but does not totally prevent chemical shift dispersion artefact in the three spatial directions.

Benefiting from advantages and accounting for pitfalls of UHF 7 T MR acquisitions, we aimed to use ^{1}H-semi-LASER 2D-MRSI [22, 24] to characterize the potential differences in neurochemical profiles observed in four different thalamic nuclei. For that, we compared in a population of 13 right-handed healthy volunteers, the relative NAA, Cr and Cho levels of left and right pulvinar, ventral-lateral, dorsal-medial and anterior nuclei. We hypothesized that the metabolic profiles of the various thalamic nuclei should differ in relation to their functional specificity.

Materials and methods

Subjects

Thirteen healthy volunteers (mean age = 23 years ± 2.6, range = 20–29, four women, nine men, all right handed) were included in this study. Inclusion criteria were: (a) age between 18 and 65 years old, (b) no neurological disorders or known major medical disorders, (c) no dental fillings or tattoos. A pregnancy test was performed to exclude pregnant women. Informed consent was obtained from all participants.

MRI

Imaging was performed on a 7 T Magnetom Step 2 system (Siemens, Erlangen, Germany), using a volumic transceiver/32-channel receiver proton head coil (Nova Medical Inc, Wilmington, MA, USA).

After a localizer, an automatic map shim procedure was used to perform third order B_0 shimming on the whole brain and B_1 calibration, and a high resolution sagittal T_1-weighted 3D Magnetization-Prepared 2 Rapid Acquisition Gradient Echo (MP2RAGE) sequence was acquired (TE/TR = 3.13/5000 ms, $TI_{1/2}$ = 900 ms/2750 ms, FOV = 240 mm, voxel size = 0.6 × 0.6 × 0.6 mm^3, flip angle$_{1/2}$ = 6°/5°, partitions = 256, TA = 10:12 min) and used as anatomical reference for MRSI.

MRSI

MRSI on subjects

After the automatic map shim procedure used to perform third order B_0 shimming (performed at least four times to get a stable phase map), manual shimming optimization was performed until a water line width below 40 Hz was obtained in the MRSI acquisition volume.

One axial 2D-PRESS semi-LASER ^{1}H-MRSI was then acquired in the axial AC-PC plane, in order to sample the whole bilateral thalami (VAPOR water suppression, TE/TR = 59/2820 ms, flip angle = 90°, excitation pulse (Hanning-sinc shape) applied in the left–right direction with a duration of 8960 µs, frequency offset of −1.7 ppm (centered on the Cr peak), four adiabatic refocusing pulses (AFP) duration = 8960 µs, voxel size = 3.1 × 3.1 × 10 mm^3, FOV = 50 × 50 × 10 mm^3, VOI = 40 × 40 × 10 mm^3, acquisition apodization with six averaging at the center of k-space, Bandwidth = 4000 Hz,

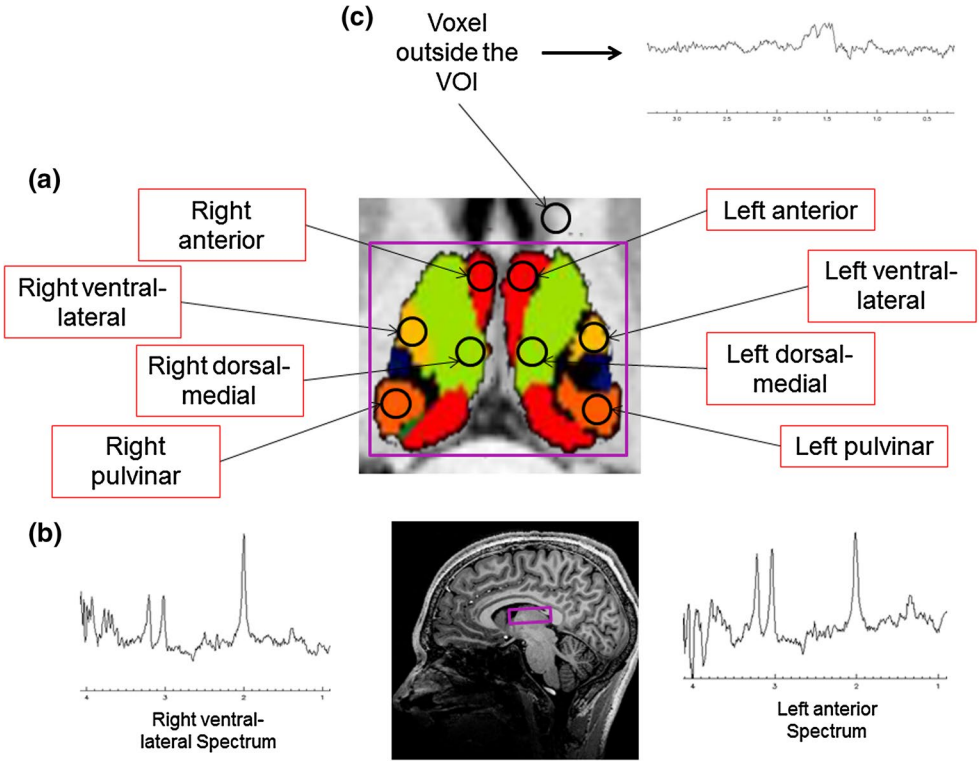

Fig. 1 **a** Oxford thalamic connectivity atlas back-projected onto the T_1 weighted images for localization of the eight voxels representing bilateral pulvinar, dorsal-medial, ventral-lateral and anterior nuclei. **b** Examples of optimized spectra for right ventral-lateral and left anterior nuclei. **c** Example of one out-of-VOI spectrum showing the specificity of the excitation volume

Matrix = 16 × 16, Tacq = 21:42 min) (Fig. 1). TR value was a compromise between acquisition time, T_1 saturation and SAR limits, with SAR values ranging from 93 to 99 % of the limit. This sequence was applied in ten subjects. To determine the impact of the excitation pulse duration on chemical shift displacement, we used the same sequence but a shorter excitation pulse duration of 2400 μs in four subjects. One subject had both acquisitions. The real voxel size defined by the real point spread function (PSF) accounting for the acquisition weighting has an in-plane diameter of 6 mm (at FWHM) and a thickness of 10 mm, leading to a real cylindrical voxel volume of 0.282 ml that is included in a parallelepiped voxel of 0.360 ml if considering the conventional voxel size definition. RF power settings and head position were identical to the MRI protocol. The total acquisition time (MRI + MRSI) was around 40 min.

MRSI on oil phantom

The correction procedure aimed to correct first for in-plane CSD for each metabolite according to measurements performed on a specific oil phantom insensitive to B_1 inhomogeneity (Supplementary Figure 1). The CSD that occurs between two species only depends on the chemical shift (δ) between these two species, the bandwidth of the pulses (BW) and the slice thickness (ST) following the equation CSD = (δ) × (ST)/(BW), and is independent of B_1 [25]. Using the same semi-LASER MRSI sequences, we performed three consecutive acquisitions on this oil phantom to obtain oil phantom signal (PS) maps with a frequency shift corresponding to 0 ppm (PS_{Cr}), mimicking the on-frequency condition for Cr, a frequency shift of +1 ppm (PS_{NAA}) to mimic condition of NAA acquisition, and a frequency shift of −0.2 ppm (PS_{Cho}) to mimic condition of Cho acquisition. Phantom data were obtained for the two excitation pulse durations (2400 and 8960 μs) to determine the impact of the pulse duration on CSD.

MRSI on spectroscopy phantom

To determine the homogeneity of the metabolic maps, an MRSI acquisition protocol similar to the one performed on subjects was done on a homogenous water phantom containing NAA, Cr and Cho. Corrected metabolic ratios were determined within eight ROIs corresponding to the relative positions of the thalamic nuclei sampled in subjects (supplementary Table 1).

Data processing

To locate the subparts of thalami more accurately, the Oxford thalamic connectivity [9] atlas was back-projected onto the T_1 weighted images of each subject using FSL software [26] (Fig. 1).

Using the CSIAPO software described in [27], the anatomical reference and the MRSI true voxel shape and size, computed taking into account the real PSF, are displayed concurrently. Eight voxels, each totally included in one region composed by a single type of cortical projection according to the atlas, were selected and labeled as left or right (1) pulvinar (projecting toward parietotemporo-occipital cortex) (2) ventral-lateral nuclei (projecting toward precentral cortex), (3) dorsal-medial nuclei (projecting toward frontal cortex) and (4) anterior nuclei (projecting toward cingulate cortex).

Using CSIAPO, the metabolite peak areas were obtained with AMARES [28], after removal of the water resonance using HLSVD tool [29] (Fig. 1). *N*-acetyl aspartate (NAA), Creatine (Cr) and Choline (Cho) peak areas were obtained for each nucleus and each subject.

Each metabolite peak area was first corrected for in plane CSD through the following procedure. On phantom data, areas under the curves obtained with frequency shifted to the NAA, Cr and Cho frequencies were determined using the CSIAPO software for each map in each of the i ROI_i, similar to those used to sample the thalami in subjects in order to obtain $PS_{(NAA,ROIi)}$, $PS_{(Cr,ROIi)}$ and $PS_{(Cho,ROIi)}$. These values were used to normalize the corresponding signals recorded in each subject for each metabolite and each ROI to correct for CSD using the following formula:

$$\begin{aligned} NAA_{corr\ (ROIi)} &= NAA_{(ROIi)}/PS_{(NAA,\ ROIi)} \\ Cr_{corr\ (ROIi)} &= Cr_{(ROIi)}/PS_{(Cr,\ ROIi)} \\ Cho_{corr\ (ROIi)} &= Cho_{(ROIi)}/PS_{(Cho,\ ROIi)} \end{aligned}$$

Finally, in order to correct for potential B_1 heterogeneities within subjects and/or coil loading effects between subjects, each of the corrected metabolite peak areas determined in each subject was expressed in relative metabolite levels by dividing each corrected metabolite peak area by the sum of the three corrected metabolite peak areas:

$$\begin{aligned} rNAA_{(ROIi)} &= NAA_{corr(ROIi)}/ \\ &\quad \left(NAA_{corr(ROIi)} + Cr_{corr(ROIi)} + Cho_{corr(ROIi)}\right) \\ rCr_{(ROIi)} &= Cr_{corr(ROIi)}/ \\ &\quad \left(NAA_{corr(ROIi)} + Cr_{corr(ROIi)} + Cho_{corr(ROIi)}\right) \\ rCho_{(ROIi)} &= Cho_{corr(ROIi)}/ \\ &\quad \left(NAA_{corr(ROIi)} + Cr_{corr(ROIi)} + Cho_{corr(ROIi)}\right) \end{aligned}$$

Statistical analysis

All statistical analyses were done using JMP 9.

To evaluate the validity of the correction procedure, a regression between relative metabolite levels obtained with the short and the long excitation pulses was performed including data for all metabolites and all ROIs from the subject having the two acquisitions.

The global assessment of differences in neurochemical profiles (rNAA, rCho and rCr levels) between thalamic nuclei and between hemispheres was performed using a paired ANOVA with type of nuclei and hemisphere as covariates ($p < 0.05$).

Post-hoc Kruskall Wallis tests ($p < 0.05$ corrected by Steel–Dwass) were performed to compare the relative levels of metabolites between nuclei for each hemisphere.

Post-hoc Wilcoxon tests ($p < 0.05$, corrected for multiple comparisons) were performed to directly compare the relative levels of metabolites between left and right hemispheres for each nucleus.

Results

For all subjects, we obtained ($n = 13$) high quality spectra for all regions selected within the sub-parts of thalami (example in Fig. 1).

Calibration of the flip angle allowed us to obtain a nominal 90° within the excited volume (Fig. 2). To minimize inter-subject differences, ratios of metabolites over the sum of metabolites (rNAA, rCr, rCho) have been used for statistical assessments (Fig. 2).

Evaluation of CSD on phantom

The impact of chemical shift displacement is illustrated in Fig. 3a–i. The correction procedure explained in the method section (normalization of each metabolite peak area by $PS_{(metab,ROIi)}$) was applied in the axial plane for each location and each metabolite to correct for CSD. Shortening the excitation pulse duration from 8960 µs down to 2400 µs drastically reduced the CSD artifact in the left–right direction to a value of 3.4 mm for NAA. In the other directions, the adiabatic refocusing pulses permitted minimal CSD for NAA in the cranial-caudal direction (1.3 mm) which was not corrected, and 5.4 mm in the anterior-posterior direction accounted for by the correction procedure. All in all, the regression between data obtained using the two different excitation pulses showed a very high correlation in metabolite levels derived from the two sequences in the same subject ($r^2 = 0.820$, $p < 0.001$) (Fig. 4a). The Bland–Altman plot showed no bias according to increasing values (Fig. 4b).

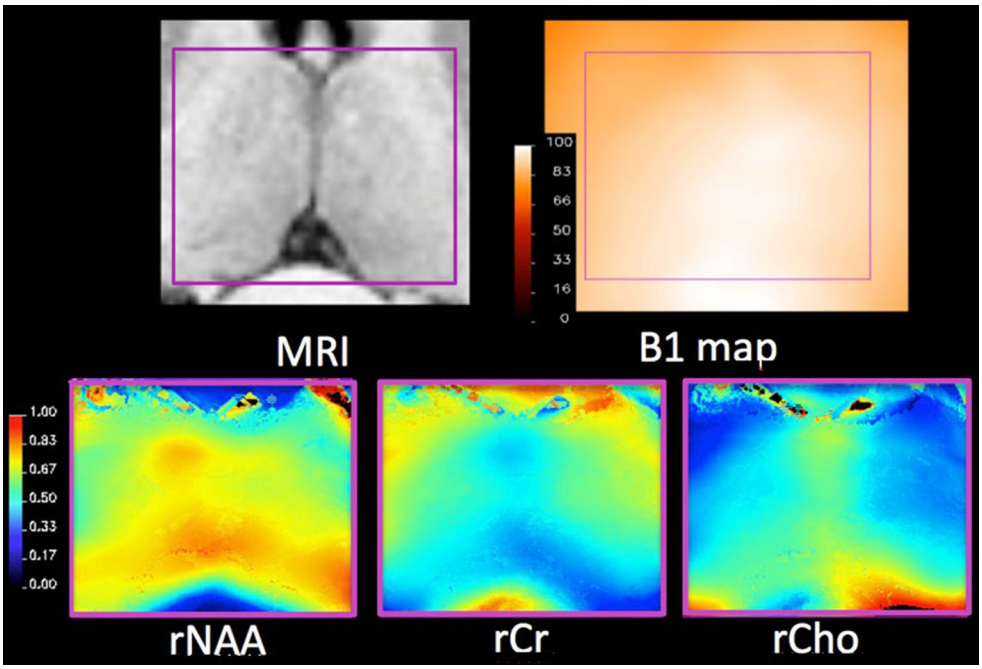

Fig. 2 Example of VOI localization, and B1, rNAA, rCr and rCho maps obtained in a subject

Global differences in neurochemical profiles between thalamic nuclei

The paired ANOVA with the neurochemical profiles including relative NAA, Cho and Cr levels as paired variables and types of nuclei and hemispheres as covariates showed a global significant effect ($F = 11.98$; $p < 0.0001$) with a significant (neurochemical profile × type of nuclei) interaction ($p < 0.0001$) and a significant (neurochemical profile × hemisphere) interaction ($p < 0.0001$).

Post-hoc Wilcoxon tests ($p < 0.05$ corrected for multiple comparisons) comparing the left hemisphere and the right hemisphere for each nucleus (Fig. 5a–c) showed (1) higher relative NAA levels for the left ventral lateral nucleus ($rNAA_{L\text{-}VL} = 0.54 \pm 0.05$, $rNAA_{R\text{-}VL} = 0.49 \pm 0.05$; $p = 0.004$) and the left anterior nucleus ($rNAA_{L\text{-}Ant} = 0.47 \pm 0.04$, $rNAA_{R\text{-}Ant} = 0.42 \pm 0.04$; $p = 0.011$), (2) lower relative Cho levels for the left pulvinar ($rCho_{L\text{-}pulvinar} = 0.29 \pm 0.08$, $rCho_{R\text{-}pulvinar} = 0.24 \pm 0.05$; $p = 0.016$), and (3) lower relative Cr levels for the left pulvinar ($rCr_{L\text{-}pulvinar} = 0.27 \pm 0.04$, $rCr_{R\text{-}pulvinar} = 0.35 \pm 0.05$; $p = 0.0009$), the left ventral lateral nucleus ($rCr_{L\text{-}VL} = 0.24 \pm 0.04$, $rCr_{R\text{-}VL} = 0.29 \pm 0.05$; $p = 0.001$) and the left anterior nucleus ($rCr_{L\text{-}Ant} = 0.25 \pm 0.04$, $rCr_{R\text{-}Ant} = 0.26 \pm 0.04$; $p = 0.034$).

Within each hemisphere (Fig. 6a–f), post hoc testing (Kruskall Wallis test $p < 0.05$ corrected by the Steel–Dwass procedure) showed significant differences in the neurochemical profiles between thalamic nuclei.

In the left hemisphere, the relative NAA levels in the left ventral lateral nucleus ($rNAA_{L\text{-}VL} = 0.54 \pm 0.05$) was higher than relative NAA levels in the left pulvinar ($rNAA_{L\text{-}pulvinar} = 0.44 \pm 0.06$, $p = 0.003$), in the left dorsal medial nucleus ($rNAA_{L\text{-}DM} = 0.45 \pm 0.05$, $p = 0.005$) and in the left anterior nucleus ($rNAA_{L\text{-}Ant}$ 0.47 ± 0.04, $p = 0.018$). Concurrently, the relative Cho levels within the left ventral lateral nucleus ($rCho_{L\text{-}VL} = 0.23 \pm 0.03$) were significantly lower compared to the rCho within the left pulvinar ($rCho_{L\text{-}pulvinar} = 0.29 \pm 0.08$, $p = 0.044$), the left dorsal medial nucleus ($rCho_{L\text{-}DM} = 0.28 \pm 0.04$, $p = 0.01$) and the left anterior nucleus ($rCho_{L\text{-}Ant} = 0.28 \pm 0.04$, $p = 0.006$).

Within the right hemisphere, the relative NAA levels in the right ventral lateral nucleus ($rNAA_{R\text{-}VL} = 0.49 \pm 0.05$) were higher than NAA levels in the right pulvinar ($rNAA_{R\text{-}pulvinar} = 0.41 \pm 0.05$, $p = 0.016$), in the dorsal medial nucleus ($rNAA_{R\text{-}DM} = 0.42 \pm 0.05$, $p = 0.016$) and in the anterior nucleus ($rNAA_{R\text{-}Ant}$ 0.42 ± 0.04, $p = 0.025$). The relative Cr levels in the right pulvinar ($rCr_{R\text{-}pulvinar} = 0.35 \pm 0.05$) were higher compared to the relative Cr levels in the right dorsal Medial nucleus ($rCr_{R\text{-}DM} = 0.28 \pm 0.04$, $p = 0.016$) and to the right anterior nucleus ($rCr_{R\text{-}ant} = 0.26 \pm 0.04$, $p = 0.006$). The relative Cho levels within the right ventral lateral nucleus ($rCho_{R\text{-}VL} = 0.22 \pm 0.04$) were lower than those observed in the right dorsal medial nucleus ($rCho_{R\text{-}DM} = 0.30 \pm 0.05$, $p = 0.004$) and in the right anterior nucleus ($rCho_{R\text{-}Ant} = 0.32 \pm 0.08$, $p = 0.008$).

Discussion

Leveraging the ^{1}H-semi-LASER 2D-PRESS MRSI sequence [22, 24] and the drastic increase in SNR offered

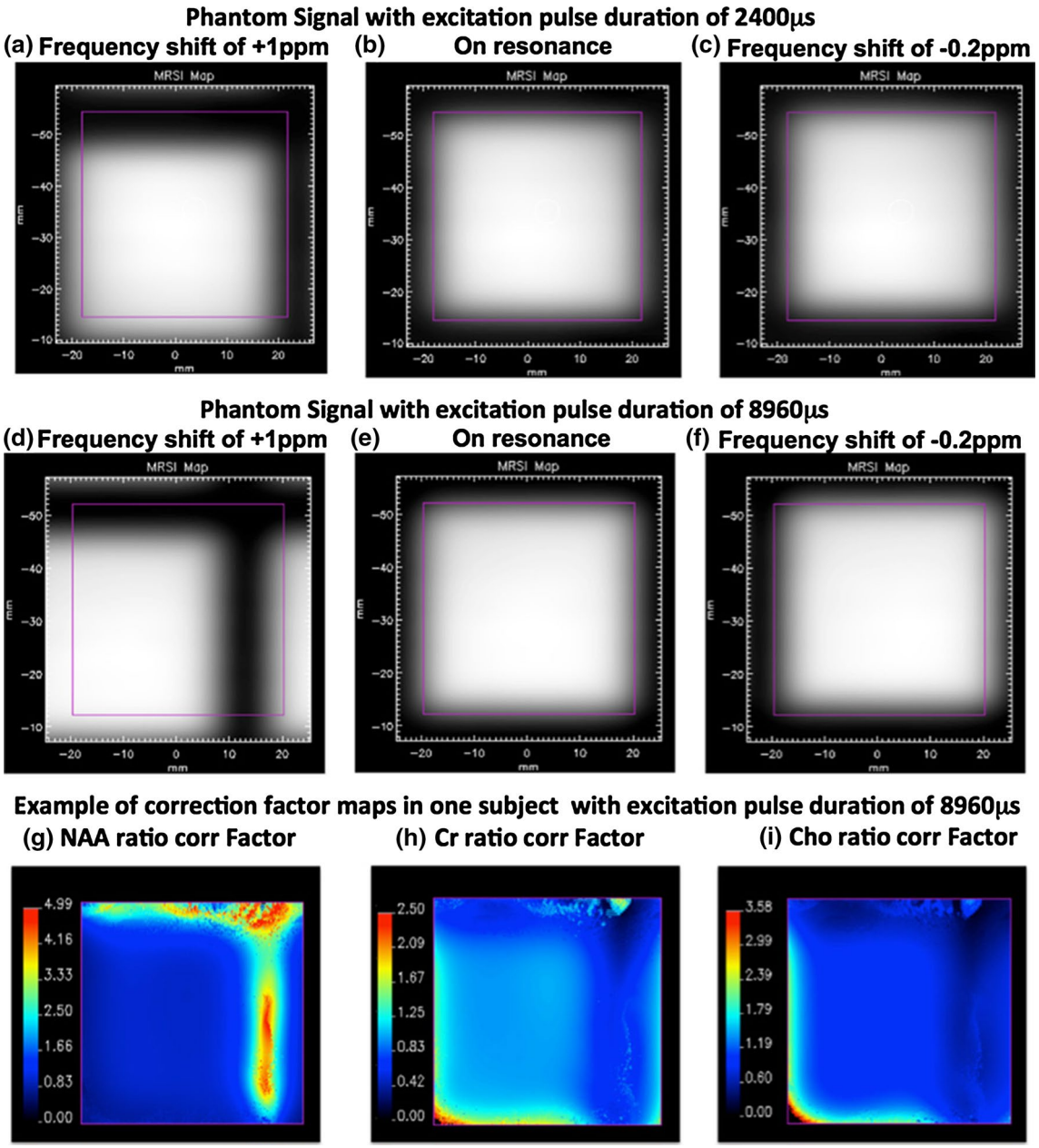

Fig. 3 Impact of chemical shift displacement artefact observed in the phantom signal with a frequency shift of +1 ppm corresponding to NAA frequency (**a**, **d**), 0 ppm (on resonance) corresponding to Cr frequency (**b**, **e**) and −0.2 ppm corresponding to Cho frequency (**c**, **f**) for the 2D-semi-LASER 1H-MRSI acquired with a short excitation pulse duration of 2400 µs (**a**–**c**) and a long excitation pulse duration of 8690 µs (**d**–**f**). Correction factor maps for NAA, Cr and Cho obtained in one subject using the long pulse duration: **g** [rNAA/(NAA/(NAA + Cr + Cho)], **h** [rCr/(Cr/(NAA + Cr + Cho)] and **i** [rCho/(Cho/(NAA + Cr + Cho)]

by a 7 T MR scanner, the present study demonstrates for the first time the possibility of acquiring high quality spectra with a voxel size below 0.3 cm^3. This allows us to characterize the neurochemical profiles of four large thalamic nuclei in both hemispheres; namely, the left and right anterior nuclei, the dorsal-medial nuclei, the pulvinar and the ventral-lateral nuclei.

Methodological issues

From a technical point of view, in order to account for the pitfalls encountered at 7 T for MRSI acquisitions, we have applied a procedure including: (1) third order shimming in order to minimize B_0 inhomogeneities [20, 30], (2) B_1 calibration, (3) adiabatic approaches for pulse refocusing (^{1}H

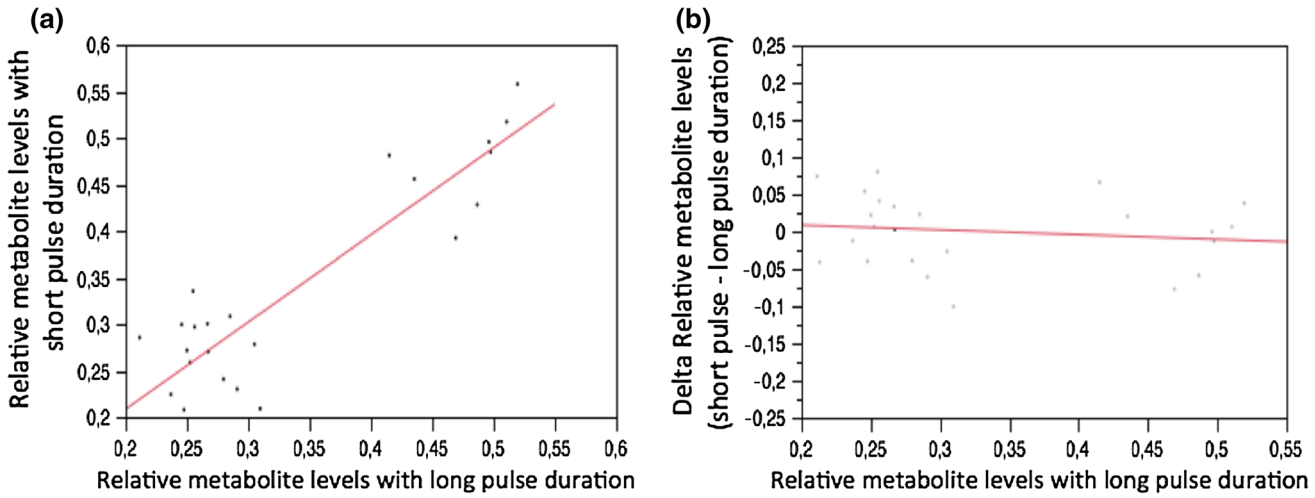

Fig. 4 **a** Regression between all metabolite levels obtained with a long excitation pulse duration sequence (*X*-axis) and a short excitation pulse duration sequence (*Y*-axis) in the same subject. **b** Blank–Altmann plot of these data showing no bias according to increasing metabolite levels

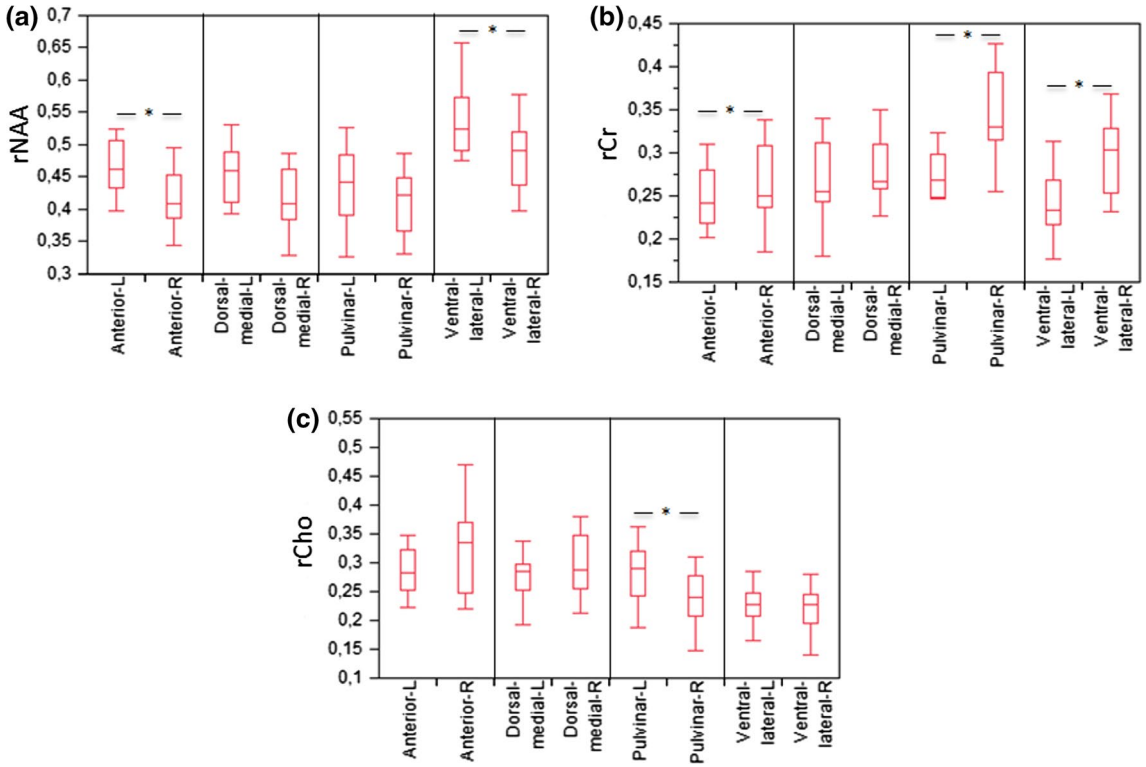

Fig. 5 Normalized relative values of **a** NAA, **b** Cr and **c** Cho for each bilateral nucleus. *Asterisk* represents significative left/right neurochemical differences for each nucleus [Post-hoc Wilcoxon test ($p < 0.05$ corrected for multiple comparisons)]

semi-LASER MRSI sequence [22]) in order to minimize B_1 inhomogeneities, and (4) a correction procedure for chemical shift dispersion artifacts [31] based on phantom acquisitions tested using two different excitation pulse durations. Consequently, we obtained high quality spectra for eight voxels with a size less than 0.3 ml, allowing us to sample four large thalamic nuclei in each hemisphere with minimal partial volume effects and unbiased relative metabolite levels. Within each sampled region, no significant inter-subject effect was observed on the neurochemical profiles including relative levels of NAA, Cr and Cho, showing the reliability of the method.

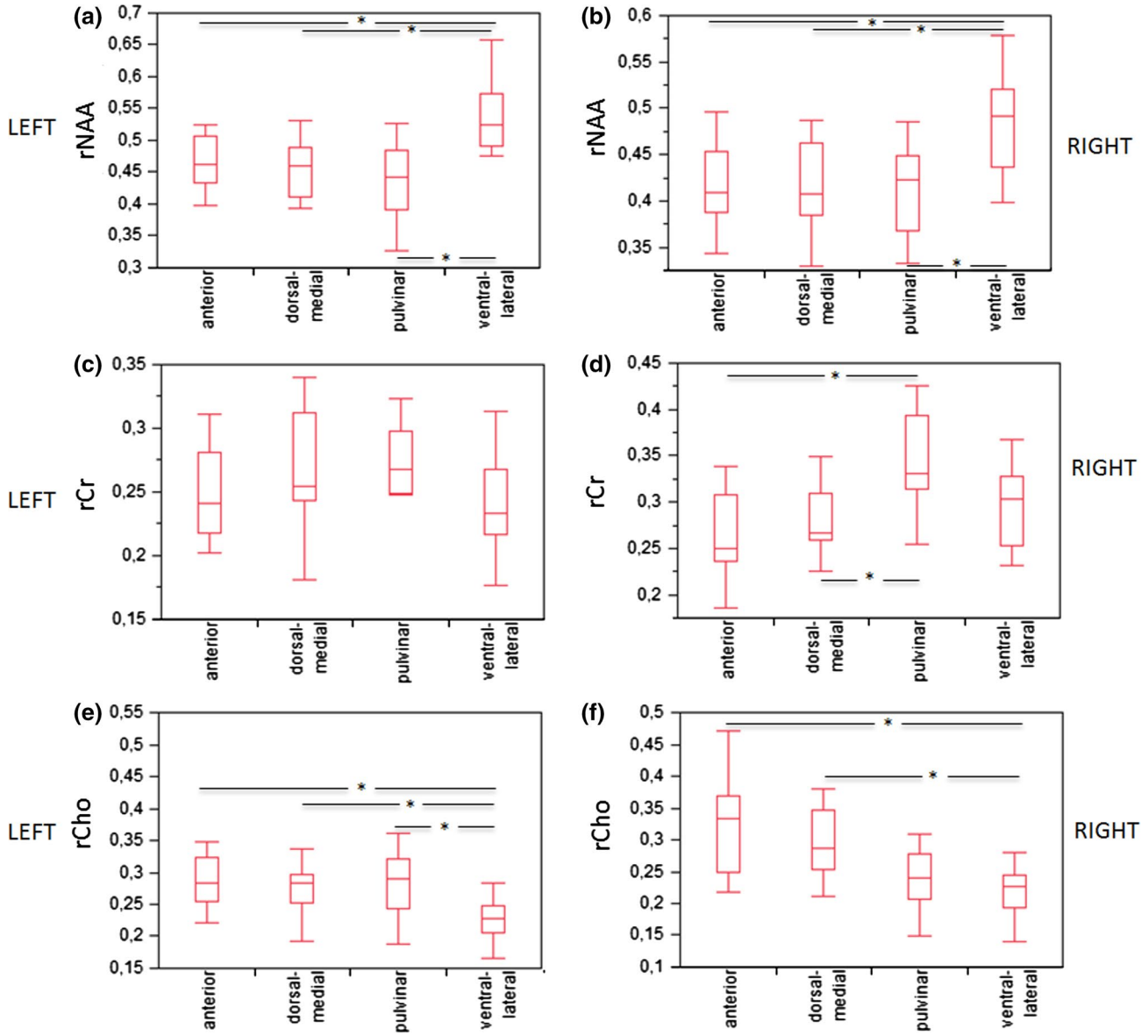

Fig. 6 Normalized relative values of **a** NAA in left nuclei, **b** NAA in right nuclei, **c** Cr in left nuclei, **d** Cr in right nuclei, **e** Cho in left nuclei and **f** Cho in right nuclei. *Asterisk* represents significative neurochemical differences between nuclei in each hemisphere (Kruskall–Wallis $p < 0.05$ corrected by Steel–Dwass)

Differences in neurochemical profiles of thalamic nuclei

This robust acquisition scheme and the drastic increase in spatial resolution provided by the 7 T MR scanner allowed us to observe different metabolic profiles between thalamic nuclei. This result is in line with the structural differences observed between thalamic nuclei in humans using quantitative mapping of water absolute T_1 values [10]. Tourdias et al. [10] reported that the pulvinar and dorsal-medial nuclei had the highest T_1 values (around 1800 ms), followed by the anterior nuclei (around 1500 ms) and the ventral lateral nuclei (around 1300 ms) at 7 T. In the present study, while no differences in an homogenous phantom were found (Suppl Table 1), we observed that the largest differences in the neurochemical profiles between thalamic nuclei were mostly related to differences in the neurochemical profiles of the ventral-lateral nuclei showing: (1) higher relative NAA levels, a metabolite only synthesized in neuronal mitochondria and considered a marker of axonal density and neuronal energetic expense [32], (2) lower relative Cho levels, a marker for membrane/phospholipid turnover and total membrane content and (3) higher relative Cr levels, reflecting higher cellularity [33]. Each of these thalamic nuclei have heterogeneous cortical afferent

profiles, as reported in a macaque study [34]. In humans, DTI studies have also demonstrated the specificity of structural connectivity of thalamic nuclei with very different cortical areas whose activity and structure are different [18, 35]. According to these results, we proposed that the specific metabolic fingerprints of each thalamic nucleus could be related to their different cellular, functional and structural characteristics [36].

Finally, we found a left/right difference in neurochemical profiles for three out of the four nuclei explored (pulvinar, anterior and ventral lateral nuclei). Interestingly, results showed a predominant left NAA lateralization for the ventral lateral nucleus known to be mostly connected to the left lateralized prefrontal cortices. Relative Cho and Cr levels differences between the left/right nuclei might suggest cellular and anatomical differences between the two hemispheres. Very few data concerning hemispheric difference between thalamic nuclei have been reported. Goldschmidt et al. [37] showed significant differences in mast cells numbers between the left and right thalami of the rat [38]. Moreover, the present data showing different metabolic profiles between homologous thalamic nuclei might be related to their hemispheric functional specificities [39, 40] and potentially sharing common functional and metabolic patterns with the cortical areas to which they are strongly connected [35, 41, 42].

Limitations

The small sample size and the use of relative metabolic levels are the main limitations of our study. Further work without saturation of water signal to access more quantitative data by using internal water reference will aim at confirming these results through the exploration of a larger cohort of healthy subjects accounting for age and sex, before studying specific metabolic alterations of sub-parts of thalami in various neurodegenerative diseases such Alzheimer's Disease [3] or multiple sclerosis [5, 43]. The use of long duration refocusing adiabatic pulses (≈9000 µs) limits the possibility of obtaining short TEs (typical TE of 60 ms), restricting the analyses to the three main metabolites with long T_2 (NAA, Cr and Cho). The optimal approach to correct for in-plane CSD would be to acquire as many metabolite maps as number of metabolites of interest, with acquisition centered on the resonance frequency of each metabolite. Nevertheless, this approach is time consuming and cannot be used for a clinical exam. The proposed approach using a phantom that is not prone to B_1 heterogeneity allowed us to obtain robust data with small inter-subject variance relative to corrected metabolite ratios. While to date MRSI neurochemical profiles have been provided for the whole thalamus [4, 5, 44], the present protocol may help to characterize metabolic dysfunction within specific thalamic nuclei demonstrated to be preferentially affected in various diseases [45], such as the medial-dorsal nucleus in Down syndrome [46] or the pulvinar in schizophrenia [47].

Conclusion

^{1}H-semi-LASER 2D-PRESS MRSI at 7 T enabled the acquisition of high quality spectra with a voxel size below 0.3 ml. For the first time, we demonstrated that neurochemical profiles are different between thalamic nuclei and between hemispheres. This preliminary work opens new perspectives for the metabolic characterization of small cortical and subcortical structures in physiology, but also in various neurodegenerative diseases.

Acknowledgments The authors thank Dr. Malgorzata Marjanska from the CMRR (MI, USA) for the distribution of the semi-LASER sequence. We would like to thank Ben Ridley for useful suggestions on the manuscript. The first author is the recipient of a Ph.D. Grant (CIFRE) supported by Siemens France and the French 'Association Nationale Recherche et Technologie' (ANRT). This project is supported by the French IA Equipex 7T-AMI (2011) program *ANR-11-EQPX-0001* and the A*MIDEX 7T-AMISTART (2013) through the *ANR-11-IDEX-0001-02* program.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare that they have no conflict of interest.

Ethical standards All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

Informed consent Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

References

1. Morel A, Magnin M, Jeanmonod D (1997) Multiarchitectonic and stereotactic atlas of the human thalamus. J Comput Neurol 387:588–630
2. Minagar A, Barnett MH, Benedict RH, Pelletier D, Pirko I, Sahraian MA, Frohman E, Zivadinov R (2013) The thalamus and multiple sclerosis Modern views on pathologic, imaging, and clinical aspects. Neurology 80:210–219
3. Ryan NS, Keihaninejad S, Shakespeare TJ, Lehmann M, Crutch SJ, Malone IB, Thornton JS, Mancini L, Hyare H, Yousry T, Ridgway GR, Zhang H, Modat M, Alexander DC, Rossor MN, Ourselin S, Fox NC (2013) Magnetic resonance imaging evidence for presymptomatic change in thalamus and caudate in familial Alzheimer's disease. Brain 136:1399–1414
4. Gan J-L, Cheng Z-X, Duan H-F, Yang J-M, Zhu X-Q, Gao C-Y (2014) Atypical antipsychotic drug treatment for 6 months restores *N*-acetylaspartate in left prefrontal cortex and left thalamus of first-episode patients with early onset schizophrenia: a

magnetic resonance spectroscopy study. Psychiatry Res Neuroimaging 223:23–27
5. Cifelli A, Arridge M, Jezzard P, Esiri MM, Palace J, Matthews PM (2002) Thalamic neurodegeneration in multiple sclerosis. Ann Neurol 52:650–653
6. Houtchens MK, Benedict RHB, Killiany R, Sharma J, Jaisani Z, Singh B, Weinstock-Guttman B, Guttmann CRG, Bakshi R (2007) Thalamic atrophy and cognition in multiple sclerosis. Neurology 69:1213–1223
7. Audoin B, Ranjeva J-P, Au Duong MV, Ibarrola D, Malikova I, Confort-Gouny S, Soulier E, Viout P, Ali-Chérif A, Pelletier J, Cozzone PJ (2004) Voxel-based analysis of MTR images: a method to locate gray matter abnormalities in patients at the earliest stage of multiple sclerosis. J Magn Reson Imaging JMRI 20:765–771
8. Guye M, Régis J, Tamura M, Wendling F, McGonigal A, Chauvel P, Bartolomei F (2006) The role of corticothalamic coupling in human temporal lobe epilepsy. Brain J Neurol 129:1917–1928
9. Behrens TEJ, Johansen-Berg H, Woolrich MW, Smith SM, Wheeler-Kingshott CAM, Boulby PA, Barker GJ, Sillery EL, Sheehan K, Ciccarelli O, Thompson AJ, Brady JM, Matthews PM (2003) Non-invasive mapping of connections between human thalamus and cortex using diffusion imaging. Nat Neurosci 6:750–757
10. Tourdias T, Saranathan M, Levesque IR, Su J, Rutt BK (2014) Visualization of intra-thalamic nuclei with optimized white-matter-nulled MPRAGE at 7 T. NeuroImage 84:534–545
11. Cross NE, Lagopoulos J, Duffy SL, Cockayne NL, Hickie IB, Lewis SJG, Naismith SL (2013) Sleep quality in healthy older people: relationship with ^{1}H magnetic resonance spectroscopy markers of glial and neuronal integrity. Behav Neurosci 127:803–810
12. Yang Z-Y, Yue Q, Xing H-Y, Tan Q-Y, Sun H-Q, Gong Q-Y, Tan Z-J, Quan H (2015) A quantitative analysis of (1)H-MR spectroscopy at 3.0 T of three brain regions from childhood to middle age. Br J Radiol 88:1052
13. Fojtiková D, Brázdil M, Horký J, Mikl M, Kuba R, Krupa P, Rektor I (2006) Magnetic resonance spectroscopy of the thalamus in patients with typical absence epilepsy. Seizure 15:533–540
14. Geurts JJG, Reuling IEW, Vrenken H, Uitdehaag BMJ, Polman CH, Castelijns JA, Barkhof F, Pouwels PJW (2006) MR spectroscopic evidence for thalamic and hippocampal, but not cortical, damage in multiple sclerosis. Magn Reson Med 55:478–483
15. Van Au Duong M, Audoin B, Le Fur Y, Confort-Gouny S, Malikova I, Soulier E, Viout P, Ali-Cherif A, Pelletier J, Cozzone PJ, Ranjeva J-P (2007) Relationships between gray matter metabolic abnormalities and white matter inflammation in patients at the very early stage of MS: a MRSI study. J Neurol 254:914–923
16. Bertholdo D, Watcharakorn A, Castillo M (2013) Brain proton magnetic resonance spectroscopy: introduction and overview. Neuroimaging Clin N Am 23:359–380
17. Sen F, Ulubay H, Ozeksi P, Sargon MF, Tascioglu AB (2005) Morphometric measurements of the thalamus and interthalamic adhesion by MR imaging. Neuroanatomy 4:10–12
18. Bogner W, Gruber S, Trattnig S, Chmelik M (2012) High-resolution mapping of human brain metabolites by free induction decay 1H MRSI at 7 T. NMR Biomed 25:873–882
19. Považan M, Hangel G, Strasser B, Gruber S, Chmelik M, Trattnig S, Bogner W (2015) Mapping of brain macromolecules and their use for spectral processing of 1H-MRSI data with an ultra-short acquisition delay at 7 T. NeuroImage 121:126–135
20. Kim D-H, Adalsteinsson E, Glover GH, Spielman DM (2002) Regularized higher-order in vivo shimming. Magn Reson Med 48:715–722
21. Scheenen TWJ, Klomp DWJ, Wijnen JP, Heerschap A (2008) Short echo time1H-MRSI of the human brain at 3 T with minimal chemical shift displacement errors using adiabatic refocusing pulses. Magn Reson Med 59:1–6
22. Scheenen TWJ, Heerschap A, Klomp DWJ (2008) Towards 1H-MRSI of the human brain at 7T with slice-selective adiabatic refocusing pulses. Magn Reson Mater Phy Biol Med 21:95–101
23. Goelman G, Liu S, Fleysher R, Fleysher L, Grossman RI, Gonen O (2007) Chemical-shift artifact reduction in hadamard-encoded MR spectroscopic imaging at high (3 T and 7 T) magnetic fields. Magn Reson Med 58:167–173
24. Marjańska M, Auerbach EJ, Valabrègue R, Van de Moortele P-F, Adriany G, Garwood M (2012) Localized 1H NMR spectroscopy in different regions of human brain in vivo at 7 T: T_2 relaxation times and concentrations of cerebral metabolites. NMR Biomed 25:332–339
25. Edden RAE, Schär M, Hillis AE, Barker PB (2006) Optimized detection of lactate at high fields using inner volume saturation. Magn Reson Med 56:912–917
26. Jenkinson M, Beckmann CF, Behrens TEJ, Woolrich MW, Smith SM (2012) FSL. NeuroImage 62:782–790
27. Le Fur Y, Nicoli F, Guye M, Confort-Gouny S, Cozzone PJ, Kober F (2009) Grid-free interactive and automated data processing for MR chemical shift imaging data. Magn Reson Mater Phy Biol Med 23:23–30
28. Vanhamme L, van den Boogaart A, Van Huffel S (1997) Improved method for accurate and efficient quantification of MRS data with use of prior knowledge. J Magn Reson 129:35–43
29. de Beer R, van den Boogaart A, van Ormondt D, Pijnappel WW, den Hollander JA, Marien AJ, Luyten PR (1992) Application of time-domain fitting in the quantification of in vivo 1H spectroscopic imaging data sets. NMR Biomed 5:171–178
30. Pan JW, Lo K-M, Hetherington HP (2012) Role of very high order and degree B_0 shimming for spectroscopic imaging of the human brain at 7 tesla. Magn Reson Med 68:1007–1017
31. Boer VO, Siero JCW, Hoogduin H, van Gorp JS, Luijten PR, Klomp DWJ (2011) High-field MRS of the human brain at short TE and TR. NMR Biomed 24:1081–1088
32. Witte ME, Mahad DJ, Lassmann H, van Horssen J (2014) Mitochondrial dysfunction contributes to neurodegeneration in multiple sclerosis. Trends Mol Med 20:179–187
33. Rae CD (2014) A guide to the metabolic pathways and function of metabolites observed in human brain 1H magnetic resonance spectra. Neurochem Res 39:1–36
34. Rovo Z, Ulbert I, Acsady L (2012) Drivers of the primate thalamus. J Neurosci 32:17894–17908
35. Bracken BK, Jensen JE, Prescot AP, Cohen BM, Renshaw PF, Öngür D (2011) Brain metabolite concentrations across cortical regions in healthy adults. Brain Res 1369:89–94
36. Steriade M, Deschenes M (1984) The thalamus as a neuronal oscillator. Brain Res 320:1–63
37. Goldschmidt RC, Hough LB, Glick SD, Padawer J (1984) Mast cells in rat thalamus: nuclear localization, sex difference and left–right asymmetry. Brain Res 323:209–217
38. Kovács P, Hernádi I, Wilhelm M (2006) Mast cells modulate maintained neuronal activity in the thalamus in vivo. J Neuroimmunol 171:1–7
39. Ojemann GA (1977) Asymmetric function of the thalamus in man. Ann N Y Acad Sci 299:380–396
40. Eidelberg D, Galaburda AM (1982) Symmetry and asymmetry in the human posterior thalamus. I. Cytoarchitectonic analysis in normal persons. Arch Neurol 39:325–332
41. Guillery RW (1995) Anatomical evidence concerning the role of the thalamus in corticocortical communication: a brief review. J Anat 187:583
42. Haber SN, Calzavara R (2009) The cortico-basal ganglia integrative network: the role of the thalamus. Brain Res Bull 78:69–74

43. Kipp M, Wagenknecht N, Beyer C, Samer S, Wuerfel J, Nikoubashman O (2015) Thalamus pathology in multiple sclerosis: from biology to clinical application. Cell Mol Life Sci 72:1127–1147
44. Wylezinska M, Cifelli A, Jezzard P, Palace J, Alecci M, Matthews PM (2003) Thalamic neurodegeneration in relapsing-remitting multiple sclerosis. Neurology 60:1949–1954
45. Power BD, Looi JC (2015) The thalamus as a putative biomarker in neurodegenerative disorders. Aust N Z J Psychiatry 49:502–518
46. Karlsen AS, Korbo S, Uylings HBM, Pakkenberg B (2014) A stereological study of the mediodorsal thalamic nucleus in Down syndrome. Neuroscience 279:253–259
47. Byne W, Fernandes J, Haroutunian V, Huacon D, Kidkardnee S, Kim J, Tatusov A, Thakur U, Yiannoulos G (2007) Reduction of right medial pulvinar volume and neuron number in schizophrenia. Schizophr Res 90:71–75

6.3: Conclusion

Grâce à l'augmentation importante du rapport signal sur bruit offert par le 7T et à la résolution spatiale élevée (moins de 5 mm dans le plan) donnée par la séquence semi-laser, nous avons pu caractériser pour la première fois chez nos sujets contrôles, les taux de NAA, de tCr et de Cho dans les 4 plus gros noyaux du Thalamus.

Dans le but d'obtenir des spectres de bonne qualité, nous avons mis en place différentes solutions afin de lutter contre les différents artefacts apparaissant à très haut champ :

- Un shimming de troisième ordre pour lutter contre les inhomogénéités B_0.
- De la calibration B_1 ainsi qu'une approche par pulses adiabatiques pour lutter contre les inhomogénéités B_1.
- Une procédure de correction de l'artefact de déplacement chimique basée sur des acquisitions sur fantôme.

Notre travail met également en évidence des différences de métabolisme entre les noyaux d'un même hémisphère mais aussi des différences gauche/droite pour un même noyau.
Ce travail préliminaire ouvre la porte à une caractérisation métabolique plus précise de petites structures corticales et sous corticales, aussi bien en physiologie que dans de nombreuses pathologies neurodégénératives comme la SEP ou d'autres maladies neurodégénératives.
Il persiste néanmoins des pistes d'améliorations comme réduire le TE afin de pouvoir caractériser d'autres métabolites ou augmenter encore la résolution spatiale afin d'augmenter le nombre de noyaux quantifiables.

Synthèse et perspectives

Synthèse :

Ce travail de thèse a permis de développer des séquences de spectroscopie par résonance magnétique à haut champ (3 Tesla) et très haut champ (7 Tesla) en 2 et 3 dimensions et de les valider tout d'abord sur des sujets contrôles puis sur des patients atteints de Sclérose en Plaques.

La première partie de cette thèse est dans la continuité de travaux initiés dans le laboratoire (cf. thèse d'Angèle Lecocq). Nous avons validé dans un premier temps à 3 Tesla, chez des patients atteints de SEP de forme RR, notre séquence 3D-EPSI deux orientations, permettant de couvrir l'ensemble du cerveau et ainsi d'obtenir une topographie cérébrale des anomalies métaboliques. Cette étude a mis en lumière de nombreuses altérations métaboliques chez nos patients comparés à des sujets sains et notamment des diminutions de NAA, métabolite exclusivement neuronal, dans de nombreuses régions fonctionnellement importantes du cerveau. Il est intéressant de noter que ces diminutions se retrouvent dans les zones atrophiées et lésées mais aussi en dehors, plaçant donc le NAA comme un marqueur privilégié de la souffrance neuronale.

La deuxième étape, toujours à 3 Tesla, a été de combiner, dans un même protocole clinique, notre imagerie 3D-EPSI deux orientations et l'imagerie du sodium, développée au laboratoire par le Docteur Wafaa Zaaraoui et le Professeur Jean-Philippe Ranjeva. Ce protocole a, par la suite, été appliqué à des sujets sains et des patients SEP de forme RR. L'analyse des résultats démontre des liens significatifs entre les hausses de sodium et les baisses de NAA et de Glx chez les patients atteints de SEP, corroborant l'idée d'associer ces métriques afin de mieux comprendre les phénomènes neuro-dégénératifs de la SEP.

La deuxième partie de cette thèse correspond au développement de séquences de SRM à 7 Tesla. Avec l'aide du docteur Yann Le Fur, nous avons pu optimiser la séquence 2D ISRM semi-laser afin de pouvoir imager de petites structures corticales et sous-corticales

inférieures à 5 mm^3, comme les plus gros noyaux du Thalamus. Ce travail nous a permis d'appréhender et de faire face aux divers artefacts apparaissant à très haut champ comme les inhomogénéités B_0, B_1 et le déplacement chimique. Nous avons donc pu cartographier les taux de NAA, de Créatine et de Choline dans les 4 plus gros noyaux thalamiques de sujets contrôles.

L'ensemble des autres développements effectués à 7 Tesla, comme l'adaptation des séquences 3D-EPSI et CSI 2-OVS ne sont pas encore assez avancés pour faire l'objet de publications et demeurent pour le moment des perspectives d'avenir.

Perspectives :

Ce travail de thèse a ouvert de nombreuses perspectives tant sur le plan du développement de séquences de SRM à 3 et 7 Tesla que sur le versant des applications cliniques dans les maladies neurologiques.

Perspective 1: Suivi de la progression des processus neurodégénératifs dans la SEP.

Le premier travail initié dans la continuité de ces travaux de thèse consiste à effectuer un suivi longitudinal permettant d'étudier la progression des atteintes métaboliques dans la population de patients SEP étudiés dans la première étude sur une période de 2 ans, en se focalisant sur les marqueurs de neurodégénérescence que sont le NAA et le massif Glx.

Quinze patients inclus dans la première étude (âge moyen 38 ans ($\pm$ 9.5 ans), durée moyenne de maladie 9.5 ans ($\pm$ 7.5 ans) et EDSS moyen 2) ont bénéficié de deux explorations à M0 et M24. Tous les patients sont sous traitements immuno-modulateurs ou suppresseurs. Il n'y a pas de différence significative en termes d'âge et de sexe entre ce groupe de patients et le groupe de 21 témoins (âge moyen = 32 ans $\pm$ 10.5 ans) scanné uniquement à M0 (Wilcoxon, $p>0.05$).

L'ensemble des acquisitions IRM/ISRM ont été réalisées sur le même imageur à 3 Tesla (Magnetom Verio, Siemens Erlangen, Allemagne), avec un traitement des données similaire à celui décrit dans la première étude [Donadieu et al., 2016].

Afin de déterminer l'évolution de la topographie des anomalies métaboliques chez les patients, une analyse voxel à voxel a été réalisée entre les deux points de passages (M0 et M24) avec un test t de Student apparié ($p<0.005$, comparaisons multiples, corrigé du FDR, $p<0.05$), masquée par la cartographie des anomalies métaboliques obtenues par la comparaison avec le groupe témoins à M0 (test t de Student à variance inégale, $p<0.005$, comparaisons multiples, corrigé du FDR, $p<0.05$).

La topographie de la progression des anomalies métaboliques durant la période de deux ans chez les patients souffrant de SEP de forme RR est illustrée sur la figure ci-dessous.

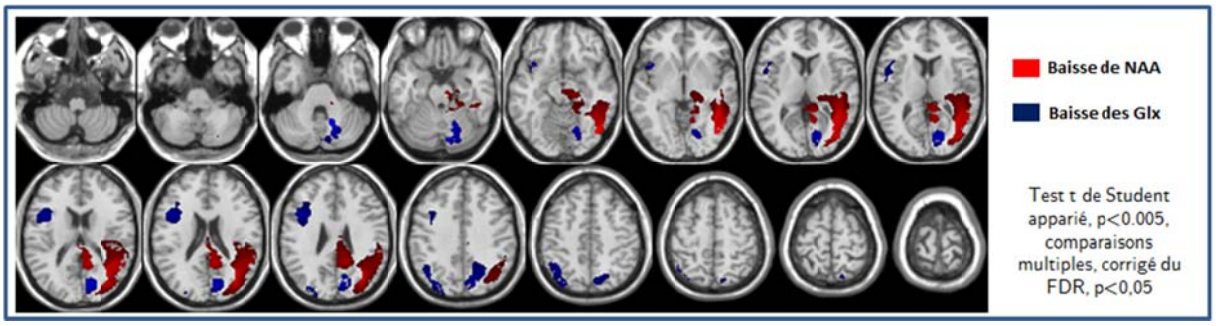

Figure 1 : *Topographie des baisses de NAA (Rouge) et des Glx (Bleu) sur l'ensemble du cerveau chez les patients SEP-RR à M24 comparé à M0.*

Nous observons une progression des baisses de NAA au niveau du thalamus gauche, du gyrus temporal supérieur, médian et inférieur gauche, du gyrus angulaire gauche, du Splénium, et du tronc cérébral.

De plus nous observons une progression de la baisse des Glx au niveau du cervelet gauche du cunéus et du précunéus gauche, du cortex précentral droit, de l'insula droite et du cortex frontal inférieur et médian droit.

Aucunes augmentations de NAA ou de Glx ne sont observées entre M0 et M24.

Cette étude préliminaire permet de montrer la progression des atteintes métaboliques reliées à la progression des processus neurodégénératifs et de dysfonction neuro-axonale sur une période de deux ans suivant le début de la maladie. La plupart de ces régions sont des régions fonctionnelles associatives ou considérées comme des hubs, régions fortement connectées et précocement altérées dans la SEP [Audoin et al., 2006].

Ces résultats préliminaires doivent être complétés par des analyses supplémentaires permettant d'étudier durant la période de suivi:

- la reproductibilité de la méthode par le suivi des contrôles
- les évolutions cliniques des patients
- l'existence ou non de corrélations entre les variations métaboliques et les variations cliniques chez ces patients
- les aspects prédictifs de la topographie des anomalies métaboliques sur le devenir clinique des patients

Perspective 2: optimisation de la séquence 3D-EPSI

A 3 Tesla, l'objectif majeur, en termes de développement, sera de diminuer le temps d'acquisition de notre séquence 3D-EPSI double orientations afin de faciliter sa transposition en routine clinique. L'acquisition de l'espace des k de manière ellipsoïdale est l'une des pistes les plus intéressantes pour réduire le temps d'acquisition de prêt de 7 minutes. Améliorer la résolution spatiale est aussi un objectif intéressant en vue de déterminer les atteintes métaboliques de petites structures corticales ou sous-corticales mais devra se faire au détriment du rapport signal sur bruit.

Perspective 3: élargissement du transfert clinique de la séquence 3D-EPSI

L'ouverture de notre séquence 3D-EPSI double orientations à d'autres pathologies affectant l'ensemble du cerveau comme la Phénylcétonurie, la maladie d'Alzheimer, de Parkinson ou l'Epilepsie est l'enjeu de recherche clinique important des années à venir en SRM. Il n'existe pour le moment aucun article dans la littérature faisant état des atteintes métaboliques sur l'ensemble du cerveau pour ces pathologies et les informations données par la SRM peuvent être utiles à la compréhension des phénomènes physiopathologiques.

En plus de l'association avec l'imagerie du sodium chez les patients SEP, il parait fondamental de réfléchir à un protocole clinique complet, comprenant en plus de l'imagerie métabolique et ionique, de l'imagerie morphologique de type imagerie de diffusion ainsi que de l'imagerie fonctionnelle. Cette somme d'informations complémentaires permettrait la mise en place de bases de données importantes et réutilisables pour une meilleure compréhension globale de la pathologie.

Perspective 4: séquence CSI 2D-OVS à 7T

Nous travaillons sur la transposition à 7 Tesla de la séquence CSI 2D-OVS, validée précédemment à 1.5 et 3 Tesla au laboratoire par le docteur Yann le Fur. L'idée ici est de développer une séquence rapide, utilisable à TE court et long, complètement insensible au signal des lipides péri-crâniens et suffisamment résolue pour quantifier des petites structures cérébrales. Les premiers résultats obtenus à TE long sur une cohorte de 10 sujets sains sont très positifs concernant la qualité des spectres au niveau de la région du centre semi-ovale. Il reste néanmoins des efforts à faire sur le post-traitement et notamment sur le « fitting » et la quantification des métabolites.

Perspective 5: vers une acquisition 3D-EPSI à 7T

A 7 Tesla, le projet majeur à venir sera la transposition de la séquence 3D-EPSI. En effet, les premiers tests réalisés sur fantômes et sur sujets sains ont montré des résultats encourageants avec un temps d'acquisition autour de 10 minutes pour un rapport signal

sur bruit et une résolution spatiale identique au 3 Tesla. Il réside néanmoins des problèmes de bande passante et de suppression des lipides qu'il faudra résoudre afin d'obtenir des spectres de qualité suffisante. Il faudra également adapter les outils de post-processing afin de pouvoir interpréter les spectres obtenus à très haut champ.

Bibliographie

Abdel-Aziz K, Schneider T, Solanky BS, Yiannakas MC, Altmann DR, Wheeler-Kingshott CAM, Peters AL, Day BL, Thompson AJ, Ciccarelli O (2015): Evidence for early neurodegeneration in the cervical cord of patients with primary progressive multiple sclerosis. Brain J Neurol 138:1568–1582.

Adalsteinsson E, Irarrazabal P, Topp S, Meyer C, Macovski A, Spielman DM (1998): Volumetric spectroscopic imaging with spiral-based k-space trajectories. Magn Reson Med 39:889–898.

Ahern CA, Payandeh J, Bosmans F, Chanda B (2016): The hitchhiker's guide to the voltage-gated sodium channel galaxy. J Gen Physiol 147:1–24.

Alger JR, Symko SC, Bizzi A, Posse S, DesPres DJ, Armstrong MR (1993): Absolute quantitation of short TE brain 1H-MR spectra and spectroscopic imaging data. J Comput Assist Tomogr 17:191–199.

Allen IV, McQuaid S, Mirakhur M, Nevin G (2001): Pathological abnormalities in the normal-appearing white matter in multiple sclerosis. Neurol Sci Off J Ital Neurol Soc Ital Soc Clin Neurophysiol 22:141–144.

Andrew ER (1992): Nuclear magnetic resonance and the brain. Brain Topogr 5:129–133.

Arancibia-Carcamo IL, Attwell D (2014): The node of Ranvier in CNS pathology. Acta Neuropathol (Berl) 128:161–175.

Ascherio A, Munger KL, White R, Köchert K, Simon KC, Polman CH, Freedman MS, Hartung H-P, Miller DH, Montalbán X, Edan G, Barkhof F, Pleimes D, Radü E-W, Sandbrink R, Kappos L, Pohl C (2014): Vitamin D as an Early Predictor of Multiple Sclerosis Activity and Progression. JAMA Neurol 71:306.

Audoin B, Malikova I, Confort-Gouny S, Ibarrola D, Cozzone PJ, Pelletier J, Ranjeva J-P (2006): Functional magnetic resonance imaging and cognition at the very early stage of MS. J Neurol Sci 245:87–91.

Audoin B, Zaaraoui W, Reuter F, Rico A, Malikova I, Confort-Gouny S, Cozzone PJ, Pelletier J, Ranjeva J-P (2010): Atrophy mainly affects the limbic system and the deep grey matter at the first stage of multiple sclerosis. J Neurol Neurosurg Psychiatry 81:690–695.

Azevedo CJ, Kornak J, Chu P, Sampat M, Okuda DT, Cree BA, Nelson SJ, Hauser SL, Pelletier D (2014): In vivo evidence of glutamate toxicity in multiple sclerosis. Ann Neurol 76:269–278.

Bak LK, Schousboe A, Waagepetersen HS (2006): The glutamate/GABA-glutamine cycle: aspects of transport, neurotransmitter homeostasis and ammonia transfer. J Neurochem 98:641–653.

Balchandani P, Pauly J, Spielman D (2008): Interleaved narrow-band PRESS sequence with adiabatic spatial-spectral refocusing pulses for 1H MRSI at 7T. Magn Reson Med 59:973–979.

Balchandani P, Spielman D (2008): Fat suppression for1H MRSI at 7T using spectrally selective adiabatic inversion recovery. Magn Reson Med 59:980–988.

Barantin L, Le Pape A, Akoka S (1997): A new method for absolute quantitation of MRS metabolites. Magn Reson Med 38:179–182.

Barker PB ed. (2010): Clinical MR spectroscopy: techniques and applications. Cambridge: Cambridge University Press.

Barkhof F (2002): The clinico-radiological paradox in multiple sclerosis revisited. Curr Opin Neurol 15:239–245.

Bates TE, Strangward M, Keelan J, Davey GP, Munro PM, Clark JB (1996): Inhibition of N-acetylaspartate production: implications for 1H MRS studies in vivo. Neuroreport 7:1397–1400.

Bechtold DA, Smith KJ (2005): Sodium-mediated axonal degeneration in inflammatory demyelinating disease. J Neurol Sci 233:27–35.

Bennett MR, Balcar VJ (1999): Forty years of amino acid transmission in the brain. Neurochem Int 35:269–280.
Berendsen HJ, Edzes HT (1973): The observation and general interpretation of sodium magnetic resonance in biological material. Ann N Y Acad Sci 204:459–485.
Bertholdo D, Watcharakorn A, Castillo M (2013): Brain proton magnetic resonance spectroscopy: introduction and overview. Neuroimaging Clin N Am 23:359–380.
Bjartmar C, Wujek JR, Trapp BD (2003): Axonal loss in the pathology of MS: consequences for understanding the progressive phase of the disease. J Neurol Sci 206:165–171.
Bø L, Vedeler CA, Nyland HI, Trapp BD, Mørk SJ (2003): Subpial demyelination in the cerebral cortex of multiple sclerosis patients. J Neuropathol Exp Neurol 62:723–732.
Boada FE, LaVerde G, Jungreis C, Nemoto E, Tanase C, Hancu I (2005): Loss of cell ion homeostasis and cell viability in the brain: what sodium MRI can tell us. Curr Top Dev Biol 70:77–101.
Boer VO, Klomp DWJ, Juchem C, Luijten PR, de Graaf RA (2012): Multislice ^{1}H MRSI of the human brain at 7 T using dynamic B_0 and B_1 shimming. Magn Reson Med 68:662–670.
Bogner W, Gruber S, Trattnig S, Chmelik M (2012): High-resolution mapping of human brain metabolites by free induction decay 1H MRSI at 7 T: 1H FID MRSI IN THE HUMAN BRAIN AT 7 T. NMR Biomed 25:873–882.
Borthakur A, Hancu I, Boada FE, Shen GX, Shapiro EM, Reddy R (1999): In vivo triple quantum filtered twisted projection sodium MRI of human articular cartilage. J Magn Reson San Diego Calif 1997 141:286–290.
Bottomley PA (1987): Spatial localization in NMR spectroscopy in vivo. Ann N Y Acad Sci 508:333–348.
Bottomley PA (2012): Sodium MRI in Man: Technique and Findings. In: Harris, RK, editor. Encyclopedia of Magnetic Resonance. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd. http://doi.wiley.com/10.1002/9780470034590.emrstm1252.
Boumezbeur F, Petersen KF, Cline GW, Mason GF, Behar KL, Shulman GI, Rothman DL (2010): The contribution of blood lactate to brain energy metabolism in humans measured by dynamic 13C nuclear magnetic resonance spectroscopy. J Neurosci Off J Soc Neurosci 30:13983–13991.
Bouzier-Sore A-K, Voisin P, Bouchaud V, Bezancon E, Franconi J-M, Pellerin L (2006): Competition between glucose and lactate as oxidative energy substrates in both neurons and astrocytes: a comparative NMR study. Eur J Neurosci 24:1687–1694.
Brand A, Richter-Landsberg C, Leibfritz D (1993): Multinuclear NMR studies on the energy metabolism of glial and neuronal cells. Dev Neurosci 15:289–298.
Brex PA, Gomez-Anson B, Parker GJ, Molyneux PD, Miszkiel KA, Barker GJ, MacManus DG, Davie CA, Plant GT, Miller DH (1999): Proton MR spectroscopy in clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis. J Neurol Sci 166:16–22.
Calabrese M, Atzori M, Bernardi V, Morra A, Romualdi C, Rinaldi L, McAuliffe MJM, Barachino L, Perini P, Fischl B, Battistin L, Gallo P (2007): Cortical atrophy is relevant in multiple sclerosis at clinical onset. J Neurol 254:1212–1220.
Campbell GR, Worrall JT, Mahad DJ (2014): The central role of mitochondria in axonal degeneration in multiple sclerosis. Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl 20:1806–1813.
Caramanos Z, Narayanan S, Arnold DL (2005): 1H-MRS quantification of tNA and tCr in patients with multiple sclerosis: a meta-analytic review. Brain J Neurol 128:2483–2506.
Cataldo AM, Broadwell RD (1986): Cytochemical identification of cerebral glycogen and glucose-6-phosphatase activity under normal and experimental conditions. II. Choroid plexus and ependymal epithelia, endothelia and pericytes. J Neurocytol 15:511–524.
Catterall WA, Swanson TM (2015): Structural Basis for Pharmacology of Voltage-Gated Sodium and Calcium Channels. Mol Pharmacol 88:141–150.
Cawley N, Solanky BS, Muhlert N, Tur C, Edden RAE, Wheeler-Kingshott CAM, Miller DH, Thompson AJ, Ciccarelli O (2015): Reduced gamma-aminobutyric acid concentration is associated with physical disability in progressive multiple sclerosis. Brain J Neurol 138:2584–2595.

Chard DT, Griffin CM, McLean MA, Kapeller P, Kapoor R, Thompson AJ, Miller DH (2002): Brain metabolite changes in cortical grey and normal-appearing white matter in clinically early relapsing–remitting multiple sclerosis. Brain 125:2342–2352.

Choi C, Dimitrov I, Douglas D, Zhao C, Hawesa H, Ghose S, Tamminga CA (2009): In vivo detection of serine in the human brain by proton magnetic resonance spectroscopy (^{1}H-MRS) at 7 Tesla. Magn Reson Med 62:1042–1046.

Choi I-Y, Lee P, Hughes AJ, Denney DR, Lynch SG (2016): Longitudinal changes of cerebral glutathione (GSH) levels associated with the clinical course of disease progression in patients with secondary progressive multiple sclerosis. Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl:1352458516669441.

Choi I-Y, Lee S-P, Merkle H, Shen J (2006): In vivo detection of gray and white matter differences in GABA concentration in the human brain. NeuroImage 33:85–93.

Choi I-Y, Lee S-P, Denney DR, Lynch SG (2011): Lower levels of glutathione in the brains of secondary progressive multiple sclerosis patients measured by 1H magnetic resonance chemical shift imaging at 3 T. Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl 17:289–296.

Christiansen P, Henriksen O, Stubgaard M, Gideon P, Larsson HB (1993): In vivo quantification of brain metabolites by 1H-MRS using water as an internal standard. Magn Reson Imaging 11:107–118.

Ciccarelli O, Wheeler-Kingshott CA, McLean MA, Cercignani M, Wimpey K, Miller DH, Thompson AJ (2007): Spinal cord spectroscopy and diffusion-based tractography to assess acute disability in multiple sclerosis. Brain J Neurol 130:2220–2231.

Ciccarelli O, Barkhof F, Bodini B, De Stefano N, Golay X, Nicolay K, Pelletier D, Pouwels PJ, Smith SA, Wheeler-Kingshott CA, others (2014): Pathogenesis of multiple sclerosis: insights from molecular and metabolic imaging. Lancet Neurol 13:807–822.

Compston A, Coles A (2008): Multiple sclerosis. The Lancet 372:1502–1517.

Confavreux C, Vukusic S (2006): Age at disability milestones in multiple sclerosis. Brain J Neurol 129:595–605.

Constantinides CD, Gillen JS, Boada FE, Pomper MG, Bottomley PA (2000): Human skeletal muscle: sodium MR imaging and quantification-potential applications in exercise and disease. Radiology 216:559–568.

Coo H, Aronson KJ (2004): A systematic review of several potential non-genetic risk factors for multiple sclerosis. Neuroepidemiology 23:1–12.

Coupe P, Yger P, Prima S, Hellier P, Kervrann C, Barillot C (2008): An optimized blockwise nonlocal means denoising filter for 3-D magnetic resonance images. IEEE Trans Med Imaging 27:425–441.

Craner MJ, Hains BC, Lo AC, Black JA, Waxman SG (2004): Co-localization of sodium channel Nav1.6 and the sodium-calcium exchanger at sites of axonal injury in the spinal cord in EAE. Brain J Neurol 127:294–303.

De Stefano N, Filippi M (2007): MR Spectroscopy in Multiple Sclerosis. J Neuroimaging 17:31S–35S.

Desmazières A, Sol-Foulon N, Lubetzki C (2012): Changes at the nodal and perinodal axonal domains: a basis for multiple sclerosis pathology? Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl 18:133–137.

Detopoulou P, Panagiotakos DB, Antonopoulou S, Pitsavos C, Stefanadis C (2008): Dietary choline and betaine intakes in relation to concentrations of inflammatory markers in healthy adults: the ATTICA study. Am J Clin Nutr 87:424–430.

Deuticke B, Rickert I, Beyer E (1978): Stereoselective, SH-dependent transfer of lactate in mammalian erythrocytes. Biochim Biophys Acta 507:137–155.

Donadieu M, Le Fur Y, Lecocq A, Maudsley AA, Gherib S, Soulier E, Confort-Gouny S, Pariollaud F, Ranjeva M-P, Pelletier J, Guye M, Zaaraoui W, Audoin B, Ranjeva J-P (2016): Metabolic voxel-based analysis of the complete human brain using fast 3D-MRSI: Proof of concept in multiple sclerosis. J Magn Reson Imaging JMRI 44:411–419.

Doyle M, Mansfield P (1987): Chemical-shift imaging: a hybrid approach. Magn Reson Med 5:255–261.

Duijn JH, Matson GB, Maudsley AA, Weiner MW (1992): 3D phase encoding 1H spectroscopic imaging of human brain. Magn Reson Imaging 10:315–319.
Dutta R, McDonough J, Yin X, Peterson J, Chang A, Torres T, Gudz T, Macklin WB, Lewis DA, Fox RJ, Rudick R, Mirnics K, Trapp BD (2006): Mitochondrial dysfunction as a cause of axonal degeneration in multiple sclerosis patients. Ann Neurol 59:478–489.
Duyn JH, Gillen J, Sobering G, van Zijl PC, Moonen CT (1993): Multisection proton MR spectroscopic imaging of the brain. Radiology 188:277–282.
Dydak U, Weiger M, Pruessmann KP, Meier D, Boesiger P (2001): Sensitivity-encoded spectroscopic imaging. Magn Reson Med 46:713–722.
Ebel A, Maudsley AA (2005): Detection and correction of frequency instabilities for volumetric 1H echo-planar spectroscopic imaging. Magn Reson Med 53:465–469.
Ebel A, Soher BJ, Maudsley AA (2001): Assessment of 3D proton MR echo-planar spectroscopic imaging using automated spectral analysis. Magn Reson Med 46:1072–1078.
Edden RAE, Pomper MG, Barker PB (2007): In vivo differentiation of N-acetyl aspartyl glutamate from N-acetyl aspartate at 3 Tesla. Magn Reson Med 57:977–982.
Edden RAE, Schär M, Hillis AE, Barker PB (2006): Optimized detection of lactate at high fields using inner volume saturation. Magn Reson Med 56:912–917.
Fernando KTM (2004): Elevated white matter myo-inositol in clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis. Brain 127:1361–1369.
Ferreira B, Mendes F, Osório N, Caseiro A, Gabriel A, Valado A (2013): Glutathione in multiple sclerosis. Br J Biomed Sci 70:75–79.
Filippi M, Evangelou N, Kangarlu A, Inglese M, Mainero C, Horsfield MA, Rocca MA (2014): Ultra-high-field MR imaging in multiple sclerosis. J Neurol Neurosurg Psychiatry 85:60–66.
Fisher SK, Novak JE, Agranoff BW (2002): Inositol and higher inositol phosphates in neural tissues: homeostasis, metabolism and functional significance. J Neurochem 82:736–754.
Fonalledas Perelló MA, Politi JV, Dallo Lizarraga MA, Cardona RS (2008): The cerebrospinal fluid lactate is decreased in early stages of multiple sclerosis. P R Health Sci J 27:171–174.
Fonnum F (1984): Glutamate: a neurotransmitter in mammalian brain. J Neurochem 42:1–11.
Frahm J, Bruhn H, Gyngell ML, Merboldt KD, Hänicke W, Sauter R (1989): Localized proton NMR spectroscopy in different regions of the human brain in vivo. Relaxation times and concentrations of cerebral metabolites. Magn Reson Med 11:47–63.
Freeman SA, Desmazières A, Fricker D, Lubetzki C, Sol-Foulon N (2016): Mechanisms of sodium channel clustering and its influence on axonal impulse conduction. Cell Mol Life Sci 73:723–735.
Fromont A, Binquet C, Sauleau EA, Fournel I, Bellisario A, Adnet J, Weill A, Vukusic S, Confavreux C, Debouverie M, Clerc L, Bonithon-Kopp C, Moreau T (2010): Geographic variations of multiple sclerosis in France. Brain J Neurol 133:1889–1899.
Gao F, Edden RAE, Li M, Puts NAJ, Wang G, Liu C, Zhao B, Wang H, Bai X, Zhao C, Wang X, Barker PB (2013): Edited magnetic resonance spectroscopy detects an age-related decline in brain GABA levels. NeuroImage 78:75–82.
van Gelderen P, de Zwart JA, Starewicz P, Hinks RS, Duyn JH (2007): Real-time shimming to compensate for respiration-inducedB0 fluctuations. Magn Reson Med 57:362–368.
Geurts JJG, Reuling IEW, Vrenken H, Uitdehaag BMJ, Polman CH, Castelijns JA, Barkhof F, Pouwels PJW (2006): MR spectroscopic evidence for thalamic and hippocampal, but not cortical, damage in multiple sclerosis. Magn Reson Med 55:478–483.
Goelman G, Liu S, Fleysher R, Fleysher L, Grossman RI, Gonen O (2007): Chemical-shift artifact reduction in hadamard-encoded MR spectroscopic imaging at high (3T and 7T) magnetic fields. Magn Reson Med 58:167–173.
Gopal E, Umapathy NS, Martin PM, Ananth S, Gnana-Prakasam JP, Becker H, Wagner CA, Ganapathy V, Prasad PD (2007): Cloning and functional characterization of human SMCT2 (SLC5A12) and expression pattern of the transporter in kidney. Biochim Biophys Acta 1768:2690–2697.

de Graaf AA, van Dijk JE, Bovée WM (1990): QUALITY: quantification improvement by converting lineshapes to the Lorentzian type. Magn Reson Med 13:343–357.
Grodzki DM, Jakob PM, Heismann B (2012): Ultrashort echo time imaging using pointwise encoding time reduction with radial acquisition (PETRA). Magn Reson Med 67:510–518.
Haase A, Frahm J, Hänicke W, Matthaei D (1985): 1H NMR chemical shift selective (CHESS) imaging. Phys Med Biol 30:341–344.
Haider L, Simeonidou C, Steinberger G, Hametner S, Grigoriadis N, Deretzi G, Kovacs GG, Kutzelnigg A, Lassmann H, Frischer JM (2014): Multiple sclerosis deep grey matter: the relation between demyelination, neurodegeneration, inflammation and iron. J Neurol Neurosurg Psychiatry 85:1386–1395.
Hancu I, Boada FE, Shen GX (1999): Three-dimensional triple-quantum-filtered (23)Na imaging of in vivo human brain. Magn Reson Med 42:1146–1154.
Hattingen E, Magerkurth J, Pilatus U, Hübers A, Wahl M, Ziemann U (2011): Combined 1H and 31P spectroscopy provides new insights into the pathobiochemistry of brain damage in multiple sclerosis. NMR Biomed 24:536–546.
Heales SJ, Davies SE, Bates TE, Clark JB (1995): Depletion of brain glutathione is accompanied by impaired mitochondrial function and decreased N-acetyl aspartate concentration. Neurochem Res 20:31–38.
Hetherington HP, Pan JW, Chu WJ, Mason GF, Newcomer BR (1997): Biological and clinical MRS at ultra-high field. NMR Biomed 10:360–371.
Hetherington HP, Avdievich NI, Kuznetsov AM, Pan JW (2010): RF shimming for spectroscopic localization in the human brain at 7 T. Magn Reson Med 63:9–19.
Hilal SK, Maudsley AA, Ra JB, Simon HE, Roschmann P, Wittekoek S, Cho ZH, Mun SK (1985): In vivo NMR imaging of sodium-23 in the human head. J Comput Assist Tomogr 9:1–7.
Hille B (1978): Ionic channels in excitable membranes. Current problems and biophysical approaches. Biophys J 22:283–294.
Hoppenbrouwers IA, Hintzen RQ (2011): Genetics of multiple sclerosis. Biochim Biophys Acta 1812:194–201.
Idiyatullin D, Corum C, Park J-Y, Garwood M (2006): Fast and quiet MRI using a swept radiofrequency. J Magn Reson San Diego Calif 1997 181:342–349.
Inglese M, Madelin G, Oesingmann N, Babb JS, Wu W, Stoeckel B, Herbert J, Johnson G (2010): Brain tissue sodium concentration in multiple sclerosis: a sodium imaging study at 3 tesla. Brain 133:847–857.
Kapeller P, Brex P, Chard D, Dalton C, Griffin C, McLean M, Parker G, Thompson A, Miller D (2002): Quantitative ¹H MRS imaging 14 years after presenting with a clinically isolated syndrome suggestive of multiple sclerosis. Mult Scler 8:207–210.
Kapeller P, McLean MA, Griffin CM, Chard D, Parker GJ, Barker GJ, Thompson AJ, Miller DH (2001): Preliminary evidence for neuronal damage in cortical grey matter and normal appearing white matter in short duration relapsing-remitting multiple sclerosis: a quantitative MR spectroscopic imaging study. J Neurol 248:131–138.
Kew JNC, Kemp JA (2005): Ionotropic and metabotropic glutamate receptor structure and pharmacology. Psychopharmacology (Berl) 179:4–29.
Kinchesh P, Ordidge RJ (2005): Spin-echo MRS in humans at high field: LASER localisation using FOCI pulses. J Magn Reson 175:30–43.
Kirov II, Patil V, Babb JS, Rusinek H, Herbert J, Gonen O (2009): MR spectroscopy indicates diffuse multiple sclerosis activity during remission. J Neurol Neurosurg Psychiatry 80:1330–1336.
Kirov II, Tal A, Babb JS, Herbert J, Gonen O (2013): Serial proton MR spectroscopy of gray and white matter in relapsing-remitting MS. Neurology 80:39–46.
Kornek B, Lassmann H (1999): Axonal pathology in multiple sclerosis. A historical note. Brain Pathol Zurich Switz 9:651–656.

Kreis R, Ernst T, Ross BD (1993): Development of the human brain: in vivo quantification of metabolite and water content with proton magnetic resonance spectroscopy. Magn Reson Med 30:424–437.
Kuhar MJ, Murrin LC (1978): Sodium-dependent, high affinity choline uptake. J Neurochem 30:15–21.
Kurtzke JF (1975): A reassessment of the distribution of multiple sclerosis. Acta Neurol Scand 51:137–157.
Kutzelnigg A (2005): Cortical demyelination and diffuse white matter injury in multiple sclerosis. Brain 128:2705–2712.
Lam F, Ma C, Clifford B, Johnson CL, Liang Z-P (2016): High-resolution (1) H-MRSI of the brain using SPICE: Data acquisition and image reconstruction. Magn Reson Med 76:1059–1070.
Lassmann H (2010): Axonal and neuronal pathology in multiple sclerosis: What have we learnt from animal models. Exp Neurol 225:2–8.
Lassmann H (2013): Multiple sclerosis: Lessons from molecular neuropathology. Exp Neurol. http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0014488613003610.
Lassmann H (2014): Mechanisms of white matter damage in multiple sclerosis: Mechanisms of White Matter Damage in Multiple Sclerosis. Glia:n/a-n/a.
Lassmann H, Brück W, Lucchinetti CF (2007): The Immunopathology of Multiple Sclerosis: An Overview. Brain Pathol 17:210–218.
Laule C, Vavasour IM, Kolind SH, Li DKB, Traboulsee TL, Moore GRW, MacKay AL (2007): Magnetic resonance imaging of myelin. Neurother J Am Soc Exp Neurother 4:460–484.
Le Fur Y, Nicoli F, Guye M, Confort-Gouny S, Cozzone PJ, Kober F (2009): Grid-free interactive and automated data processing for MR chemical shift imaging data. Magn Reson Mater Phys Biol Med 23:23–30.
Lecocq A, Le Fur Y, Maudsley AA, Le Troter A, Sheriff S, Sabati M, Donadieu M, Confort-Gouny S, Cozzone PJ, Guye M, Ranjeva J-P (2015): Whole-brain quantitative mapping of metabolites using short echo three-dimensional proton MRSI. J Magn Reson Imaging JMRI 42:280–289.
Lehmann-Horn F, Jurkat-Rott K (1999): Voltage-gated ion channels and hereditary disease. Physiol Rev 79:1317–1372.
Leray E, Yaouanq J, Le Page E, Coustans M, Laplaud D, Oger J, Edan G (2010): Evidence for a two-stage disability progression in multiple sclerosis. Brain 133:1900–1913.
Lu A, Atkinson IC, Claiborne TC, Damen FC, Thulborn KR (2010): Quantitative sodium imaging with a flexible twisted projection pulse sequence. Magn Reson Med 63:1583–1593.
Lucchinetti CF, Popescu BFG, Bunyan RF, Moll NM, Roemer SF, Lassmann H, Brück W, Parisi JE, Scheithauer BW, Giannini C, Weigand SD, Mandrekar J, Ransohoff RM (2011): Inflammatory cortical demyelination in early multiple sclerosis. N Engl J Med 365:2188–2197.
Lustig M, Donoho D, Pauly JM (2007): Sparse MRI: The application of compressed sensing for rapid MR imaging. Magn Reson Med 58:1182–1195.
Lutz NW, Viola A, Malikova I, Confort-Gouny S, Audoin B, Ranjeva J-P, Pelletier J, Cozzone PJ (2007): Inflammatory multiple-sclerosis plaques generate characteristic metabolic profiles in cerebrospinal fluid. PloS One 2:e595.
Luyten PR, Marien AJ, Heindel W, van Gerwen PH, Herholz K, den Hollander JA, Friedmann G, Heiss WD (1990): Metabolic imaging of patients with intracranial tumors: H-1 MR spectroscopic imaging and PET. Radiology 176:791–799.
Maarouf A, Audoin B, Konstandin S, Rico A, Soulier E, Reuter F, Troter A, Confort-Gouny S, Cozzone PJ, Guye M, Schad LR, Pelletier J, Ranjeva J-P, Zaaraoui W (2013): Topography of brain sodium accumulation in progressive multiple sclerosis. Magn Reson Mater Phys Biol Med 27:53–62.
Maarouf A, Audoin B, Pariollaud F, Gherib S, Rico A, Soulier E, Confort-Gouny S, Guye M, Schad L, Pelletier J, Ranjeva J-P, Zaaraoui W (2016): Increased total sodium concentration in gray matter better explains cognition than atrophy in MS. Neurology:10.1212/WNL.0000000000003511.

Madelin G, Babb J, Xia D, Regatte RR (2015): Repeatability of quantitative sodium magnetic resonance imaging for estimating pseudo-intracellular sodium concentration and pseudo-extracellular volume fraction in brain at 3 T. PloS One 10:e0118692.
Madelin G, Lee J-S, Regatte RR, Jerschow A (2014): Sodium MRI: methods and applications. Prog Nucl Magn Reson Spectrosc 79:14–47.
Maher P (2005): The effects of stress and aging on glutathione metabolism. Ageing Res Rev 4:288–314.
Manev H, Favaron M, Guidotti A, Costa E (1989): Delayed increase of Ca2+ influx elicited by glutamate: role in neuronal death. Mol Pharmacol 36:106–112.
Marion D, Ikura M, Bax A (1989): Improved solvent suppression in one-and two-dimensional NMR spectra by convolution of time-domain data. J Magn Reson 1969 84:425–430.
Marrie RA (2004): Environmental risk factors in multiple sclerosis aetiology. Lancet Neurol 3:709–718.
Mathiesen HK, Tscherning T, Sorensen PS, Larsson HBW, Rostrup E, Paulson OB, Hanson LG (2005): Multi-slice echo-planar spectroscopic MR imaging provides both global and local metabolite measures in multiple sclerosis. Magn Reson Med 53:750–759.
Maudsley AA, Darkazanli A, Alger JR, Hall LO, Schuff N, Studholme C, Yu Y, Ebel A, Frew A, Goldgof D, Gu Y, Pagare R, Rousseau F, Sivasankaran K, Soher BJ, Weber P, Young K, Zhu X (2006): Comprehensive processing, display and analysis forin vivo MR spectroscopic imaging. NMR Biomed 19:492–503.
Maudsley AA, Matson GB, Hugg JW, Weiner MW (1994): Reduced phase encoding in spectroscopic imaging. Magn Reson Med 31:645–651.
Meister A (1974): Glutathione, metabolism and function via the gamma-glutamyl cycle. Life Sci 15:177–190.
Meyerhoff DJ, Bloomer C, Schuff N, Ezekiel F, Norman D, Clark W, Weiner MW, Fein G (1999): Cortical metabolite alterations in abstinent cocaine and cocaine/alcohol-dependent subjects: proton magnetic resonance spectroscopic imaging. Addict Biol 4:405–419.
Mitrakou A, Ryan C, Veneman T, Mokan M, Jenssen T, Kiss I, Durrant J, Cryer P, Gerich J (1991): Hierarchy of glycemic thresholds for counterregulatory hormone secretion, symptoms, and cerebral dysfunction. Am J Physiol 260:E67-74.
Moccia M, Ciccarelli O (2017): Molecular and Metabolic Imaging in Multiple Sclerosis. Neuroimaging Clin N Am 27:343–356.
Moffett JR ed. (2006): N-acetylaspartate: a unique neuronal molecule in the central nervous system. New York: Springer. Advances in experimental medicine and biology v. 576.
Möhler H (2006): GABA(A) receptor diversity and pharmacology. Cell Tissue Res 326:505–516.
Moonen CT (1992): Proton spectroscopic imaging of human brain.
Moonen CT, von Kienlin M, van Zijl PC, Cohen J, Gillen J, Daly P, Wolf G (1989): Comparison of single-shot localization methods (STEAM and PRESS) for in vivo proton NMR spectroscopy. NMR Biomed 2:201–208.
Morel A, Magnin M, Jeanmonod D (1997): Multiarchitectonic and stereotactic atlas of the human thalamus. J Comp Neurol 387:588–630.
Moser E, Stahlberg F, Ladd ME, Trattnig S (2012): 7-T MR--from research to clinical applications? NMR Biomed 25:695–716.
Muhlert N, Atzori M, De Vita E, Thomas DL, Samson RS, Wheeler-Kingshott CAM, Geurts JJG, Miller DH, Thompson AJ, Ciccarelli O (2014): Memory in multiple sclerosis is linked to glutamate concentration in grey matter regions. J Neurol Neurosurg Psychiatry. http://jnnp.bmj.com/cgi/doi/10.1136/jnnp-2013-306662.
Nagel AM, Laun FB, Weber M-A, Matthies C, Semmler W, Schad LR (2009): Sodium MRI using a density-adapted 3D radial acquisition technique. Magn Reson Med 62:1565–1573.
Nagel AM, Bock M, Hartmann C, Gerigk L, Neumann J-O, Weber M-A, Bendszus M, Radbruch A, Wick W, Schlemmer H-P, Semmler W, Biller A (2011): The potential of relaxation-weighted sodium magnetic resonance imaging as demonstrated on brain tumors. Invest Radiol 46:539–547.

Narayana PA, Doyle TJ, Lai D, Wolinsky JS (1998): Serial proton magnetic resonance spectroscopic imaging, contrast-enhanced magnetic resonance imaging, and quantitative lesion volumetry in multiple sclerosis. Ann Neurol 43:56–71.

Nasrallah FA, Griffin JL, Balcar VJ, Rae C (2007): Understanding your inhibitions: modulation of brain cortical metabolism by GABA(B) receptors. J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab 27:1510–1520.

Nasrallah FA, Griffin JL, Balcar VJ, Rae C (2009): Understanding your inhibitions: effects of GABA and GABAA receptor modulation on brain cortical metabolism. J Neurochem 108:57–71.

Nelson SJ (2001): Analysis of volume MRI and MR spectroscopic imaging data for the evaluation of patients with brain tumors. Magn Reson Med 46:228–239.

Nielles-Vallespin S, Weber M-A, Bock M, Bongers A, Speier P, Combs SE, Wöhrle J, Lehmann-Horn F, Essig M, Schad LR (2007): 3D radial projection technique with ultrashort echo times for sodium MRI: clinical applications in human brain and skeletal muscle. Magn Reson Med 57:74–81.

Norris DG, Dreher W (1993): Fast proton spectroscopic imaging using the sliced k-space method. Magn Reson Med 30:641–645.

Novak JE, Turner RS, Agranoff BW, Fisher SK (1999): Differentiated human NT2-N neurons possess a high intracellular content of myo-inositol. J Neurochem 72:1431–1440.

Ogg RJ, Kingsley PB, Taylor JS (1994): WET, a T1- and B1-insensitive water-suppression method for in vivo localized 1H NMR spectroscopy. J Magn Reson B 104:1–10.

Ouwerkerk R (2011): Sodium MRI. Methods Mol Biol Clifton NJ 711:175–201.

Ouwerkerk R, Weiss RG, Bottomley PA (2005): Measuring human cardiac tissue sodium concentrations using surface coils, adiabatic excitation, and twisted projection imaging with minimal T2 losses. J Magn Reson Imaging JMRI 21:546–555.

Paling D, Solanky BS, Riemer F, Tozer DJ, Wheeler-Kingshott CAM, Kapoor R, Golay X, Miller DH (2013): Sodium accumulation is associated with disability and a progressive course in multiple sclerosis. Brain 136:2305–2317.

Patel AB, Rothman DL, Cline GW, Behar KL (2001): Glutamine is the major precursor for GABA synthesis in rat neocortex in vivo following acute GABA-transaminase inhibition. Brain Res 919:207–220.

Petracca M, Vancea RO, Fleysher L, Jonkman LE, Oesingmann N, Inglese M (2016): Brain intra- and extracellular sodium concentration in multiple sclerosis: a 7 T MRI study. Brain 139:795–806.

Petroff OA, Graham GD, Blamire AM, al-Rayess M, Rothman DL, Fayad PB, Brass LM, Shulman RG, Prichard JW (1992): Spectroscopic imaging of stroke in humans: histopathology correlates of spectral changes. Neurology 42:1349–1354.

Polman CH, Reingold SC, Edan G, Filippi M, Hartung H-P, Kappos L, Lublin FD, Metz LM, McFarland HF, O'Connor PW, Sandberg-Wollheim M, Thompson AJ, Weinshenker BG, Wolinsky JS (2005): Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria." Ann Neurol 58:840–846.

Popescu V, Klaver R, Voorn P, Galis-de Graaf Y, Knol DL, Twisk JWR, Versteeg A, Schenk GJ, Van der Valk P, Barkhof F, others (2015): What drives MRI-measured cortical atrophy in multiple sclerosis? Mult Scler J:1352458514562440.

Posse S, Dager SR, Richards TL, Yuan C, Ogg R, Artru AA, Müller-Gärtner HW, Hayes C (1997): In vivo measurement of regional brain metabolic response to hyperventilation using magnetic resonance: proton echo planar spectroscopic imaging (PEPSI). Magn Reson Med 37:858–865.

Posse S, Otazo R, Dager SR, Alger J (2013): MR spectroscopic imaging: Principles and recent advances. J Magn Reson Imaging 37:1301–1325.

Posse S, Otazo R, Tsai S-Y, Yoshimoto AE, Lin F-H (2009): Single-shot magnetic resonance spectroscopic imaging with partial parallel imaging. Magn Reson Med 61:541–547.

Post RL, Hegyvary C, Kume S (1972): Activation by adenosine triphosphate in the phosphorylation kinetics of sodium and potassium ion transport adenosine triphosphatase. J Biol Chem 247:6530–6540.

Považan M, Hangel G, Strasser B, Gruber S, Chmelik M, Trattnig S, Bogner W (2015): Mapping of brain macromolecules and their use for spectral processing of 1H-MRSI data with an ultra-short acquisition delay at 7T. NeuroImage 121:126–135.

Pradhan S, Bonekamp S, Gillen JS, Rowland LM, Wijtenburg SA, Edden RAE, Barker PB (2015): Comparison of single voxel brain MRS AT 3T and 7T using 32-channel head coils. Magn Reson Imaging 33:1013–1018.

Praet J, Orije J, Kara F, Guglielmetti C, Santermans E, Daans J, Hens N, Verhoye M, Berneman Z, Ponsaerts P, Van der Linden A (2015): Cuprizone-induced demyelination and demyelination-associated inflammation result in different proton magnetic resonance metabolite spectra: 1H-MRS Descriminates Demyelination from its Associated Inflammation. NMR Biomed 28:505–513.

Provencher SW (1993): Estimation of metabolite concentrations from localized in vivo proton NMR spectra. Magn Reson Med 30:672–679.

Pucino V, Bombardieri M, Pitzalis C, Mauro C (2017): Lactate at the crossroads of metabolism, inflammation, and autoimmunity. Eur J Immunol 47:14–21.

Qian Y, Zhao T, Zheng H, Weimer J, Boada FE (2012): High-resolution sodium imaging of human brain at 7 T. Magn Reson Med 68:227–233.

Rae CD (2014): A Guide to the Metabolic Pathways and Function of Metabolites Observed in Human Brain 1H Magnetic Resonance Spectra. Neurochem Res 39:1–36.

Ratiney H, Sdika M, Coenradie Y, Cavassila S, van Ormondt D, Graveron-Demilly D (2005): Time-domain semi-parametric estimation based on a metabolite basis set. NMR Biomed 18:1–13.

Rice ME, Russo-Menna I (1998): Differential compartmentalization of brain ascorbate and glutathione between neurons and glia. Neuroscience 82:1213–1223.

Rocca MA, Mezzapesa DM, Falini A, Ghezzi A, Martinelli V, Scotti G, Comi G, Filippi M (2003): Evidence for axonal pathology and adaptive cortical reorganization in patients at presentation with clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis. NeuroImage 18:847–855.

Romanzetti S, Halse M, Kaffanke J, Zilles K, Balcom BJ, Shah NJ (2006): A comparison of three SPRITE techniques for the quantitative 3D imaging of the 23Na spin density on a 4T whole-body machine. J Magn Reson San Diego Calif 1997 179:64–72.

Rothstein JD, Martin L, Levey AI, Dykes-Hoberg M, Jin L, Wu D, Nash N, Kuncl RW (1994): Localization of neuronal and glial glutamate transporters. Neuron 13:713–725.

Rudick RA, Lee J-C, Simon J, Fisher E (2006): Significance of T2 lesions in multiple sclerosis: A 13-year longitudinal study. Ann Neurol 60:236–242.

Sandstede JJW, Hillenbrand H, Beer M, Pabst T, Butter F, Machann W, Bauer W, Hahn D, Neubauer S (2004): Time course of 23Na signal intensity after myocardial infarction in humans. Magn Reson Med 52:545–551.

Sastre-Garriga J, Ingle GT, Chard DT, Ramió-Torrentà L, McLean MA, Miller DH, Thompson AJ (2005): Metabolite changes in normal-appearing gray and white matter are linked with disability in early primary progressive multiple sclerosis. Arch Neurol 62:569–573.

Schaller B, Xin L, O'Brien K, Magill AW, Gruetter R (2014): Are glutamate and lactate increases ubiquitous to physiological activation? A 1H functional MR spectroscopy study during motor activation in human brain at 7Tesla. NeuroImage 93:138–145.

Scheenen TWJ, Heerschap A, Klomp DWJ (2008): Towards 1H-MRSI of the human brain at 7T with slice-selective adiabatic refocusing pulses. Magn Reson Mater Phys Biol Med 21:95–101.

Schuster C, Dreher W, Geppert C, Leibfritz D (2007): Fast 3D 1H spectroscopic imaging at 3 Tesla using spectroscopic missing-pulse SSFP with 3D spatial preselection. Magn Reson Med 57:82–89.

Sibson NR, Dhankhar A, Mason GF, Rothman DL, Behar KL, Shulman RG (1998): Stoichiometric coupling of brain glucose metabolism and glutamatergic neuronal activity. Proc Natl Acad Sci U S A 95:316–321.

Singh A, Cai K, Haris M, Hariharan H, Reddy R (2013): On B1 inhomogeneity correction of in vivo human brain glutamate chemical exchange saturation transfer contrast at 7T. Magn Reson Med Off J Soc Magn Reson Med Soc Magn Reson Med 69:818–824.
Skoch A, Jiru F, Bunke J (2008): Spectroscopic imaging: basic principles. Eur J Radiol 67:230–239.
Smith KJ (2007): Sodium channels and multiple sclerosis: roles in symptom production, damage and therapy. Brain Pathol Zurich Switz 17:230–242.
Soher BJ, Young K, Govindaraju V, Maudsley AA (1998): Automated spectral analysis III: application to in vivo proton MR spectroscopy and spectroscopic imaging. Magn Reson Med Off J Soc Magn Reson Med Soc Magn Reson Med 40:822–831.
Spielman DM, Pauly JM, Macovski A, Glover GH, Enzmann DR (1992): Lipid-suppressed single- and multisection proton spectroscopic imaging of the human brain. J Magn Reson Imaging JMRI 2:253–262.
Spielman D, Meyer C, Macovski A, Enzmann D (1991): 1H spectroscopic imaging using a spectral-spatial excitation pulse. Magn Reson Med 18:269–279.
Srinivasan R (2005): Evidence of elevated glutamate in multiple sclerosis using magnetic resonance spectroscopy at 3 T. Brain 128:1016–1025.
Srinivasan R, Ratiney H, Hammond-Rosenbluth KE, Pelletier D, Nelson SJ (2010): MR spectroscopic imaging of glutathione in the white and gray matter at 7 T with an application to multiple sclerosis. Magn Reson Imaging 28:163–170.
Stobbe R, Beaulieu C (2005): In vivo sodium magnetic resonance imaging of the human brain using soft inversion recovery fluid attenuation. Magn Reson Med 54:1305–1310.
Stobbe R, Beaulieu C (2008): Sodium imaging optimization under specific absorption rate constraint. Magn Reson Med 59:345–355.
Stys PK (2005): General mechanisms of axonal damage and its prevention. J Neurol Sci 233:3–13.
Susuki K (2013): Node of Ranvier disruption as a cause of neurological diseases. ASN Neuro 5:209–219.
Tabernero A, Vicario C, Medina JM (1996): Lactate spares glucose as a metabolic fuel in neurons and astrocytes from primary culture. Neurosci Res 26:369–376.
Thulborn KR (2016): Quantitative Sodium MR Imaging: A Review of its Evolving Role in Medicine. NeuroImage. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1053811916306747.
Tiberio M, Chard DT, Altmann DR, Davies G, Griffin CM, McLean MA, Rashid W, Sastre–Garriga J, Thompson AJ, Miller DH (2006): Metabolite changes in early relapsing–remitting multiple sclerosis: A two year follow–up study. J Neurol 253:224–230.
Tkác I, Andersen P, Adriany G, Merkle H, Ugurbil K, Gruetter R (2001): In vivo 1H NMR spectroscopy of the human brain at 7 T. Magn Reson Med 46:451–456.
Tkác I, Starcuk Z, Choi IY, Gruetter R (1999): In vivo 1H NMR spectroscopy of rat brain at 1 ms echo time. Magn Reson Med 41:649–656.
Tran TK, Vigneron DB, Sailasuta N, Tropp J, Le Roux P, Kurhanewicz J, Nelson S, Hurd R (2000): Very selective suppression pulses for clinical MRSI studies of brain and prostate cancer. Magn Reson Med 43:23–33.
Tur C, Wheeler-Kingshott CAM, Altmann DR, Miller DH, Thompson AJ, Ciccarelli O (2014): Spatial variability and changes of metabolite concentrations in the cortico-spinal tract in multiple sclerosis using coronal CSI: Characterization Metabolic Changes Along the CST. Hum Brain Mapp 35:993–1003.
Tyson RL, Gallagher C, Sutherland GR (2003): 13C-Labeled substrates and the cerebral metabolic compartmentalization of acetate and lactate. Brain Res 992:43–52.
Uğurbil K, Adriany G, Andersen P, Chen W, Garwood M, Gruetter R, Henry P-G, Kim S-G, Lieu H, Tkac I, Vaughan T, Van De Moortele P-F, Yacoub E, Zhu X-H (2003): Ultrahigh field magnetic resonance imaging and spectroscopy. Magn Reson Imaging 21:1263–1281.
Urenjak J, Williams SR, Gadian DG, Noble M (1993): Proton nuclear magnetic resonance spectroscopy unambiguously identifies different neural cell types. J Neurosci Off J Soc Neurosci 13:981–989.

Van Au Duong M, Audoin B, Le Fur Y, Confort-Gouny S, Malikova I, Soulier E, Viout P, Ali-Cherif A, Pelletier J, Cozzone PJ, Ranjeva J-P (2007): Relationships between gray matter metabolic abnormalities and white matter inflammation in patients at the very early stage of MS : a MRSI study. J Neurol 254:914–923.

Van de Moortele P-F, Akgun C, Adriany G, Moeller S, Ritter J, Collins CM, Smith MB, Vaughan JT, Uğurbil K (2005): B1 destructive interferences and spatial phase patterns at 7 T with a head transceiver array coil. Magn Reson Med 54:1503–1518.

Vanhamme null, van den Boogaart A null, Van Huffel S null (1997): Improved method for accurate and efficient quantification of MRS data with use of prior knowledge. J Magn Reson San Diego Calif 1997 129:35–43.

Vannucci SJ, Maher F, Simpson IA (1997): Glucose transporter proteins in brain: delivery of glucose to neurons and glia. Glia 21:2–21.

Vercellino M, Masera S, Lorenzatti M, Condello C, Merola A, Mattioda A, Tribolo A, Capello E, Mancardi GL, Mutani R (2009): Demyelination, inflammation, and neurodegeneration in multiple sclerosis deep gray matter. J Neuropathol Exp Neurol 68:489–502.

Vingara LK, Yu HJ, Wagshul ME, Serafin D, Christodoulou C, Pelczer I, Krupp LB, Maletić-Savatić M (2013): Metabolomic approach to human brain spectroscopy identifies associations between clinical features and the frontal lobe metabolome in multiple sclerosis. NeuroImage 82:586–594.

Wattjes MP, Harzheim M, Lutterbey GG, Bogdanow M, Schmidt S, Schild HH, Träber F (2008): Prognostic value of high-field proton magnetic resonance spectroscopy in patients presenting with clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis. Neuroradiology 50:123–129.

Waxman SG (2006): Axonal conduction and injury in multiple sclerosis: the role of sodium channels. Nat Rev Neurosci 7:932–941.

Waxman SG (2008): Mechanisms of Disease: sodium channels and neuroprotection in multiple sclerosis—current status. Nat Clin Pract Neurol 4:159–169.

Wegner C, Esiri MM, Chance SA, Palace J, Matthews PM (2006): Neocortical neuronal, synaptic, and glial loss in multiple sclerosis. Neurology 67:960–967.

Weiger M, Pruessmann KP, Hennel F (2011): MRI with zero echo time: hard versus sweep pulse excitation. Magn Reson Med 66:379–389.

Witte ME, Mahad DJ, Lassmann H, van Horssen J (2014): Mitochondrial dysfunction contributes to neurodegeneration in multiple sclerosis. Trends Mol Med 20:179–187.

Wyss M, Kaddurah-Daouk R (2000): Creatine and creatinine metabolism. Physiol Rev 80:1107–1213.

Xin L, Schaller B, Mlynarik V, Lu H, Gruetter R (2013): Proton T1 relaxation times of metabolites in human occipital white and gray matter at 7 T. Magn Reson Med 69:931–936.

Yamamura HI, Snyder SH (1972): Choline: high-affinity uptake by rat brain synaptosomes. Science 178:626–628.

Yang S, Hu J, Kou Z, Yang Y (2008): Spectral simplification for resolved glutamate and glutamine measurement using a standard STEAM sequence with optimized timing parameters at 3, 4, 4.7, 7, and 9.4T. Magn Reson Med 59:236–244.

Yao B, Hametner S, van Gelderen P, Merkle H, Chen C, Lassmann H, Duyn JH, Bagnato F (2014): 7 Tesla Magnetic Resonance Imaging to Detect Cortical Pathology in Multiple Sclerosis. Ed. Andrea Antal. PLoS ONE 9:e108863.

Ying L, Liang Z-P (2010): Parallel MRI Using Phased Array Coils. IEEE Signal Process Mag 27:90–98.

Zaaraoui W, Audoin B, Pelletier J, Cozzone PJ, Ranjeva J-P (2010): Advanced magnetic resonance imaging techniques to better understand multiple sclerosis. Biophys Rev 2:83–90.

Zaaraoui W, Konstandin S, Audoin B, Nagel AM, Rico A, Malikova I, Soulier E, Viout P, Confort-Gouny S, Cozzone PJ, Pelletier J, Schad LR, Ranjeva J-P (2012a): Distribution of Brain Sodium Accumulation Correlates with Disability in Multiple Sclerosis: A Cross-sectional 23Na MR Imaging Study. Radiology 264:859–867.

Zaaraoui W, Pelletier J, Cozzone PJ, Ranjeva J-P (2012b): What can sodium MRI reveal about sodium accumulation in the brain: implications for multiple sclerosis. Imaging Med 4:585–587.

Zaaraoui W, Reuter F, Rico A, Faivre A, Crespy L, Malikova I, Soulier E, Viout P, Fur Y, Confort-Gouny S, Cozzone PJ, Pelletier J, Ranjeva J-P, Audoin B (2011): Occurrence of neuronal dysfunction during the first 5 years of multiple sclerosis is associated with cognitive deterioration. J Neurol 258:811–819.

Zhang L-N, Hao L, Wang H-Y, Su H-N, Sun Y-J, Yang X-Y, Che B, Xue J, Gao ZB (2015): Neuroprotective effect of resveratrol against glutamate-induced excitotoxicity. Adv Clin Exp Med Off Organ Wroclaw Med Univ 24:161–165.

Zhou Y, Danbolt NC (2014): Glutamate as a neurotransmitter in the healthy brain. J Neural Transm Vienna Austria 1996 121:799–817.

Zielke HR, Zielke CL, Baab PJ (2009): Direct measurement of oxidative metabolism in the living brain by microdialysis: a review. J Neurochem 109 Suppl 1:24–29.

van Zijl PC, Moonen CT, Alger JR, Cohen JS, Chesnick SA (1989): High field localized proton spectroscopy in small volumes: greatly improved localization and shimming using shielded strong gradients. Magn Reson Med 10:256–265.

Publications et communications

Publications dans des revues internationales à comité de lecture :

1- Whole-Brain quantitative mapping of metabolites using short echo three-dimensional proton MRSI.

Angele Lecocq, Yann Le Fur, Andrew A. Maudsley, Arnaud Le Troter, Sulaiman Sheriff, Mohamad Sabati, Maxime Donadieu, Sylviane Confort-Gouny, Patrick J. Cozzone, Maxime Guye, Jean-Philippe Ranjeva.

Dans Journal of Magnetic Resonance Imaging en 2015.

2- Metabolic Voxel-Based analysis of the complete human brain using fast 3D-MRSI: proof of concept in Multiple Sclerosis.

Maxime Donadieu, Yann Le Fur, Angèle Lecocq, Andrew A. Maudsley, Soraya Gherib, Elisabeth Soulier, Sylviane Confort-Gouny, Fanelly Pariollaud, Marie-Pierre Ranjeva, Jean Pelletier, Maxime Guye, Wafaa Zaaraoui, Bertrand Audoin, Jean-Philippe Ranjeva.

Dans Journal of Magnetic Resonance Imaging en 2016.

3- Evidencing different neurochemical profiles between thalamic nuclei using high resolution 2D-PRESS semi-LASER 1H-MRSI at 7T.

Maxime Donadieu, Yann Le Fur, Sylviane Confort-Gouny, Arnaud Le Troter, Maxime Guye, Jean-Philippe Ranjeva.

Dans Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medecine journal en 2016.

4- Metabolic counterparts of sodium accumulation in Multiple Sclerosis: A whole brain 23Na-MRI and fast 1H-MRSI study.

Maxime Donadieu, Yann Le Fur, Adil Maarouf , Soraya Gherib, Ben Ridley, Lauriane Pini, Stanislas Rapacchi, Sylviane Confort-Gouny, Maxime Guye, Lothar Schad, Andrew Maudsley, Jean Pelletier, Bertrand Audoin, Wafaa Zaaraoui, Jean-Philippe Ranjeva.

Dans Multiple Sclerosis Journal en 2017.

Communications scientifiques Internationales :

1- Whole brain multi-metabolite statistical mapping analyses to characterize metabolic disorders in Multiple Sclerosis using combination of two tilted 3D-EPSI acquisitions.

Maxime Donadieu, Yann Le Fur, Andrew A. Maudsley, Angèle Lecocq, Wafaa Zaaraoui, Elisabeth Soulier, Marie-Liesse Lesage, Sulaiman Sheriff, Mohamad Sabati, Sylviane Confort-Gouny, Maxime Guye, Jean Pelletier, Bertrand Audoin, Jean-Philippe Ranjeva.

E-Poster – Toronto, Canada – ISMRM 2015 (International Society for Magnetic Resonance in Medicine).

2- Topography of metabolic abnormalities over the entire brain using voxel-wise statistical mapping of fast 3D-MRSI: Proof of concept on Multiple Sclerosis.

Maxime Donadieu, Yann Le Fur, Andrew A. Maudsley, Angèle Lecocq, Soraya Gherib, Elisabeth Soulier, Sylviane Confort-Gouny, Fanelly Pariollaud, Marie-Pierre Ranjeva, Jean Pelletier, Maxime Guye, Wafaa Zaaraoui, Bertrand Audoin, Jean-Philippe Ranjeva.

Poster – Barcelona, Spain – ECTRIMS 2015 (European Comitee for Treatment and Research In Multiple Sclerosis).

3- Evidencing different neurochemical profiles between thalamic nuclei using 2D-semilaser ^{1}H-MRSI at 7T.

Maxime Donadieu, Yann Le Fur, Sylviane Confort-Gouny, Arnaud Le Troter, Maxime Guye, Jean-Philippe Ranjeva.

Oral – Singapore, Republic of Singapore – ISMRM 2016

4- Evidencing different neurochemical profiles between thalamic nuclei using high resolution 2D-semi-LASER ^{1}H-MRSI at 7T.

Maxime Donadieu, Yann Le Fur, Sylviane Confort-Gouny, Arnaud Le Troter, Maxime Guye, Jean-Philippe Ranjeva.

Poster – Konstanz, Germany – ISMRM Spectroscopy Workshop 2016.

5- Metabolic counterparts of sodium accumulation in Multiple Sclerosis: A whole brain ^{1}H-MRSI and ^{23}Na-MRI study.

Maxime Donadieu, Adil Maarouf, Yann Le Fur, Soraya Gherib, Ben Ridley, Elisabeth Soulier, Lauriane Pini, Patrick Viout, Stanislas Rapacchi, Sylviane Confort-Gouny, Maxime Guye, Jean Pelletier, Bertrand Audoin, Wafaa Zaaraoui, Jean-Philippe Ranjeva.

Oral – Honolulu, Hawaii, USA – ISMRM 2017.

6- Two years progression of neurodegeneration in RRMS: metabolic abnormalities topography using 3D MRSI.

Maxime Donadieu, Yann Le Fur, Andrew Maudsley, Lauriane Pini, Patrick Viout, Sylviane Confort-Gouny, Jean Pelletier, Maxime Guye, Bertrand Audoin, Jean-Philippe Ranjeva.

Oral – Paris, France – ECTRIMS 2017.

Communications scientifiques nationales :

1- Topographie des désordres métaboliques dans la SEP observés par cartographie statistique cerveau entier de données d'imagerie spectroscopique RMN 3D.

Maxime Donadieu, Angèle Lecocq, Yann Le Fur, Andrew A. Maudsley, Wafaa Zaaraoui, Elisabeth Soulier, Marie-Liesse Lesage, Sulaiman Sheriff, Mohamad Sabati, Sylviane Confort-Gouny, Maxime Guye, Jean Pelletier, Bertrand Audoin, Jean-Philippe Ranjeva.

Oral – Grenoble, France – SFRMBM 2015 (Société Française de Résonance Magnétique en Biologie et Médecine).

2- Metabolic voxel-based analysis of the complete human brain using fast 3D-MRSI: Proof of concept on Multiple Sclerosis.

Maxime Donadieu, Yann Le Fur, Andrew A. Maudsley, Angèle Lecocq, Soraya Gherib, Elisabeth Soulier, Sylviane Confort-Gouny, Fanelly Pariollaud, Marie-Pierre Ranjeva, Jean Pelletier, Maxime Guye, Wafaa Zaaraoui, Bertrand Audoin, Jean-Philippe Ranjeva.
Oral – Paris, France – ARSEP annual meeting 2016 (Association pour la Recherche contre la Sclérose En Plaques).

3- Topography of metabolic abnormalities over the entire brain using voxel-wise statistical mapping of fast 3D-MRSI: proof of concept on Multiple Sclerosis.

Maxime Donadieu, Yann Le Fur, Andrew A. Maudsley, Angèle Lecocq, Soraya Gherib, Elisabeth Soulier, Sylviane Confort-Gouny, Fanelly Pariollaud, Marie-Pierre Ranjeva, Jean Pelletier, Maxime Guye, Wafaa Zaaraoui, Bertrand Audoin, Jean-Philippe Ranjeva.
Oral – Marseille, France – Colloque de l'EDSVS 2016 (Ecole Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé)

4- Metabolic counterparts of sodium accumulation in Multiple Sclerosis: A whole brain ^{1}H-MRSI and ^{23}Na-MRI study.

Maxime Donadieu, Adil Maarouf, Yann Le Fur, Soraya Gherib, Elisabeth Soulier, Lauriane Pini, Stanislas Rapacchi, Sylviane Confort-Gouny, Maxime Guye, Jean Pelletier, Bertrand Audoin, Wafaa Zaaraoui, Jean-Philippe Ranjeva.
Oral – Bordeaux, France – SFRMBM 2017.

Publications hors thèse dans des revues internationales à comité de lecture :

1- SMA selectively codes the active accumulation of temporal, not spatial, magnitude.

Jennifer Coull, Pom Charras, Maxime Donadieu, Sylvie Droit-Volet, Franck Vidal.
Dans Journal of Cognitive Neurosciences en 2015.

Bourse de Mérite et Prix :

- Prix de la meilleure communication orale (SFRMBM Grenoble 2015).
- 3eme prix du White Matter Study Group (ISMRM Toronto 2015).

- Bourse de mérite de l'ECTRIMS (ECTRIMS Barcelona 2015 et Paris 2017).
- Bourse de mérite et de voyage de la SFRMBM (ISMRM Singapore 2016 et Hawaii 2017).
- Bourse étudiante de l'ISMRM (ISMRM Toronto 2015 et Hawaii 2017).
- *Summa Cum Laude* pour présentation orale (ISMRM Hawaii 2017).

Annexes

Ce travail de thèse s'inscrit dans un projet plus large visant à développer, en collaboration avec Siemens Healthcare, des séquences de spectroscopie en 2 et 3 dimensions, couvrant une grande surface tissulaire et présentant de faible résolution spatiale.

Ces séquences sont optimisées pour du haut champ (3 Tesla) et du très haut champ (7 Tesla) et vise à être appliquées dans un futur plus ou moins proche à diverses pathologies cérébrales.

J'ai participé activement à l'optimisation du travail présenté en annexe 1 correspondant à une partie des travaux de thèse d'Angèle Lecocq, ancienne doctorante CIFRE Siemens au CRMBM-CEMEREM. Ce travail a abouti à une publication dans le journal jMRI.

Cette étude se place avant le chapitre 3 et correspond au développement de la séquence 3D-EPSI acquise dans 2 orientations différentes afin d'obtenir une couverture cérébrale totale en SRM. Ce travail est donc à la base de toutes les applications cliniques qui constituent une grande partie de ma thèse.

Annexe 1 :

Whole-Brain Quantitative Mapping of Metabolites Using Short Echo Three-Dimensional Proton MRSI

Angèle Lecocq, PhD,[1,2] Yann Le Fur, PhD,[1,2] Andrew A. Maudsley, PhD,[3] Arnaud Le Troter, PhD,[1,2] Sulaiman Sheriff, MS,[3] Mohamad Sabati, PhD,[3,4] Maxime Donnadieu, MS,[1,2] Sylviane Confort-Gouny, PhD,[1,2] Patrick J. Cozzone, PhD,[1,2] Maxime Guye, MD, PhD,[1,2] and Jean-Philippe Ranjeva, PhD[1,2]*

Background: To improve the extent over which whole brain quantitative three-dimensional (3D) magnetic resonance spectroscopic imaging (MRSI) maps can be obtained and be used to explore brain metabolism in a population of healthy volunteers.

Methods: Two short echo time (20 ms) acquisitions of 3D echo planar spectroscopic imaging at two orientations, one in the anterior commissure–posterior commissure (AC-PC) plane and the second tilted in the AC-PC $+15^\circ$ plane were obtained at 3 Tesla in a group of 10 healthy volunteers. B_1^+, B_1^-, and B_0 correction procedures and normalization of metabolite signals with quantitative water proton density measurements were performed. A combination of the two spatially normalized 3D-MRSI, using a weighted mean based on the pixel wise standard deviation metabolic maps of each orientation obtained from the whole group, provided metabolite maps for each subject allowing regional metabolic profiles of all parcels of the automated anatomical labeling (AAL) atlas to be obtained.

Results: The combined metabolite maps derived from the two acquisitions reduced the regional intersubject variance. The numbers of AAL regions showing N-acetyl aspartate (NAA) SD/Mean ratios lower than 30% increased from 17 in the AC-PC orientation and 41 in the AC-PC$+15^\circ$ orientation, to a value of 76 regions of 116 for the combined NAA maps. Quantitatively, regional differences in absolute metabolite concentrations (mM) over the whole brain were depicted such as in the GM of frontal lobes ($c_{NAA} = 10.03 + 1.71$; $c_{Cho} = 1.78 \pm 0.55$; $c_{Cr} = 7.29 \pm 1.69$; $c_{mIns} = 5.30 \pm 2.67$) and in cerebellum ($c_{NAA} = 5.28 \pm 1.77$; $c_{Cho} = 1.60 \pm 0.41$; $c_{Cr} = 6.95 \pm 2.15$; $c_{mIns} = 3.60 \pm 0.74$).

Conclusion: A double-angulation acquisition enables improved metabolic characterization over a wide volume of the brain.

J. MAGN. RESON. IMAGING 2014;00:000–000.

Fast proton magnetic resonance spectroscopic imaging (MRSI) enables mapping of MR-observable metabolites within the brain in a time compatible with clinical exams.[1–4] The feasibility of whole-brain three-dimensional (3D) -MRSI has been demonstrated[5,6] and reproducibility evaluated,[7,8] indicating the value of this technique for studies of physiology[9] or for clinical applications, such as studies of Parkinson's disease,[10] traumatic brain injury,[11] or epilepsy.[12]

The requirement to obtain information over a wide region of the brain increased demands on the quality of B_0 shimming and RF pulse profiles. First, susceptibility variations cause local B_0 distortions that cannot be corrected for using the commonly available shim terms, resulting in both

View this article online at wileyonlinelibrary.com. DOI: 10.1002/jmri.24809

Received Aug 25, 2014, Accepted for publication Nov 4, 2014.

*Address reprint requests to: R.J.-P., Centre de Résonance Magnétique Biologique et Médicale, CRMBM, UMR 7339, AMU-CNRS, Faculté de Médecine de la Timone, 27, Boulevard Jean Moulin, 13385 Marseille cedex 05 France. E-mail: jean-philippe.ranjeva@univ-amu.fr

From the [1]CRMBM, Aix-Marseille Université, CNRS 7339, Marseille, France; [2]APHM, CHU Timone, Pôle d'Imagerie, CEMEREM, Marseille, France; [3]Department of radiology, Miller School of Medicine, University of Miami, Miami, Florida, USA; and [4]Department of Radiology, University of Calgary, Calgary, AB, Canada

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article.

© 2014 Wiley Periodicals, Inc.

local (intra-voxel) inhomogeneities, which degrade the MRS signal quality, as well as regions with incomplete water suppression as a result of more global and slowly-varying inhomogeneities. The magnitude and distribution of the residual field inhomogeneity is influenced by the B_0 shimming capabilities, the region over which shimming is performed, and the shape of structures within the head relative to the B_0 field.[13] The effect of the local inhomogeneity can be partially reduced by using spatial oversampling methods to obtain smaller nominal voxel volumes, although at the expense of some loss in the signal-to-noise ratio and increase in the spatial sampling requirements. Several orientations of the imaging volume relative to the brain have been used, with alignment in the anterior commissure–posterior commissure (AC-PC) plane,[11,14] in the AC-PC $+10°$ plane[5,15] or in the AC-PC$+15°$ plane[11] to minimize B_0 inhomogeneity; however, an analysis of the relative performance of these differences has not been presented. An additional factor that affects spectral quality is nonideal RF pulse profiles and inhomogeneities, particularly at higher field strengths, combined with the effect of chemical-shift differences, which lead to variable signal intensity and loss of signal in distal parts of the excited region. Large brain coverage, therefore, requires correction for inhomogeneities of the transmit (B_1+) and receive (B_1-) radiofrequency fields.[16–18]

A second limitation to the wider use of volumetric MRSI is the influence of strong signals from subcutaneous lipids that can contaminate voxels within the brain, which can occur even with the implementation of lipid suppression methods. To lessen the impact of these lipid signals, most previous clinical applications[6,11,14] have used medium to long TEs ($\geq$70 ms), which limits the observed metabolites to N-acetyl aspartate (NAA), total creatine (Cr), and total choline (Cho) levels and incurs some T2 signal loss.

Finally, for comparative measurements of single metabolites the normalization procedures remain an important consideration. Accurate quantification methods are time consuming and complex, and therefore several semiquantitative methods have been proposed[19–22] of which the most time efficient and robust uses normalization of spectroscopic data with tissue water density derived from a MRI measurement.[19,20,23,24]

In this study, acquisition and postprocessing procedures have been developed to optimize the quality of quantitative metabolite maps covering a wide region of the brain, within a time that is compatible with a clinical exam.

Materials and Methods

Subjects

Ten healthy volunteers (mean age = 26.2 ± 4.7 years; age range = 20–36; five women and five men) were included in this protocol. All subjects gave their consent to participate to the study, which was approved by the local committee on ethics.

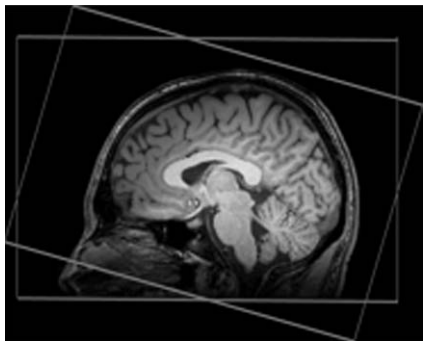

FIGURE 1: Slab selection positions: AC-PC and AC-PC+15°.

MRI

Data were acquired on a 3 Tesla (T) Magnetom Verio system (Siemens SA, Erlangen, Germany) using a 32-channel receiver head coil.

For each acquisition orientation, the MRI protocol included: (i) high resolution structural axial T_1-weighted magnetization prepared rapid gradient echo (MPRAGE) sequence (repetition time/echo time/inversion time [TR/TE/TI] = 2151 ms/3.4 ms/1100 ms; $\alpha = 8°$; pixel size = 1 × 1 × 1 mm^3, filed of view [FOV] = 256 × 256 mm^2; matrix = 256 × 256; number of partitions = 176, TA = 5 min); (ii) multiple gradient echo (MGE) sequence for T_2* mapping (TR/TE1/TE2/TE3/TE4/TE5 = 4000 ms/3.36 ms/10 ms/20 ms/40 ms/80 ms; $\alpha = 17°$; 44 contiguous slices; thickness = 3 mm, FOV = 220 × 220 mm^2; matrix = 256 × 256; TA = 3.6 min), driven equilibrium single pulse observation of T1 (DESPOT1) [25] sequence (TR/TE = 20/4.9 ms; $\alpha_1/\alpha_2 = 2°/13°$; 44 contiguous slices; thickness = 3 mm, FOV = 200 × 200 mm^2; matrix = 256 × 256; TA = 4.1 min), and B_1^+ mapping 3D-EPI (XEP)[26] sequence (TR/TE = 20000/21 ms; 22 slices; thickness = 3.43 mm; slice gap = 2.57 mm; FOV = 220 × 220 mm^2; matrix = 64 × 64; TA = 0.7 min) used to generate quantitative water proton density maps.

The protocol was used for both orientations to minimize realignment errors, but a rigid registration of the MRSI to the T1 MPRAGE could also have been used.

MRSI

The MRSI protocol included two axial fast 3D-echo-planar spectroscopic imaging (EPSI) sequences[15] with two different angulations of slabs aligned along the AC-PC and the AC-PC$+15°$ planes. The EPSI data were acquired with chemical shift-selective (CHESS) water suppression, lipid inversion nulling with TI = 198 ms, and the following parameters (spin-echo acquisition TR/TE = 1710 ms/20 ms; $\alpha = 73°$; 50 × 50 × 18 *k*-space points; FOV = 280 × 280 × 180 mm^3; GRAPPA factor = 2; TA = 18 min. The slab selection width was 140 mm and slab selections were positioned as shown in Figure 1. An interleaved water reference acquisition was also obtained during the TR using a gradient-echo acquisition (TE = 6.3 ms; $\alpha = 20°$).

For each orientation, the shim was first adjusted (1st order) using the automatic 3D mapshim procedure (performed at least two times to get a stable phase map). Then, manual shimming was

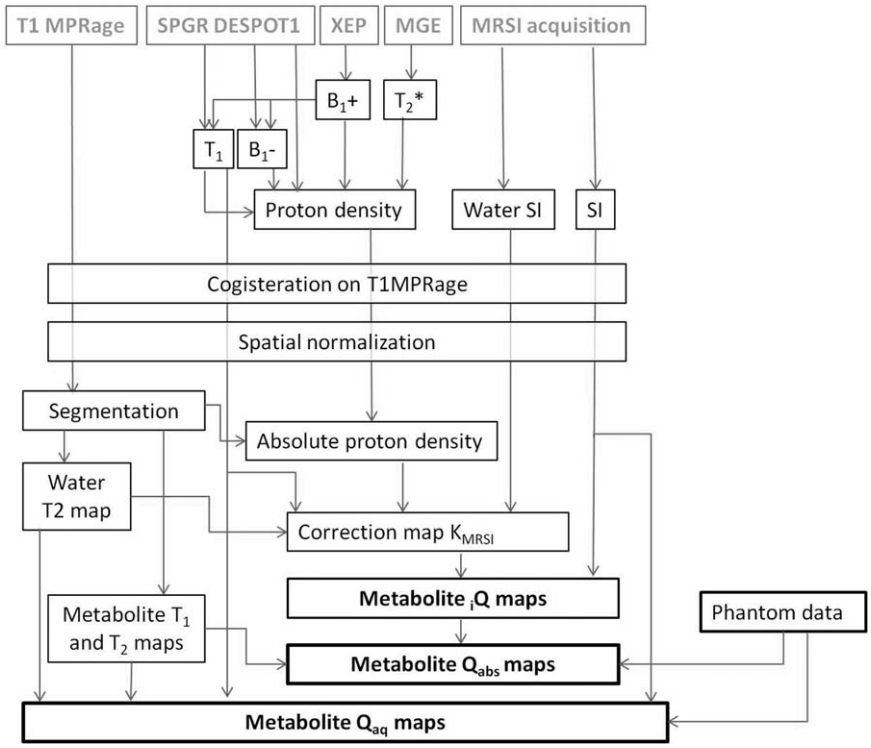

FIGURE 2: Postprocessing pipeline used to generate the metabolite maps.

performed until obtaining a water linewidth in the volume of adjustment below 30 Hz. Frequency was adjusted before each acquisition. The FWHM of the water signal were checked for the two angulations to verify that the B_0 shimming over the whole slabs were equivalent for both acquisitions. In addition, RF power settings remained unchanged for both acquisitions. The protocol was first conducted on an external phantom filled with NaCl (0.9%) and NAA solution (40 mM). Data from the phantom was used to external reference for metabolite quantifications.

Data Processing

In Figure 2 is shown the postprocessing pipeline. Maps of T_2*, T_1, B_1^+, B_1^-, and the proton density ρ were generated using the CSIAPO software [27] developed using IDL (Exelis, Rochester, NY). The water T_2* map was assessed using a voxel-based least square fitting algorithm using five different TEs. B_1^+ mapping was generated using XEP data. T_1, B_1^-, and relative ρ maps were calculated using data acquired using the SPGR DESPOT1 sequence.[25] The acquired multichannel MRSI data were processed with the MIDAS (Metabolic Imaging and Data Analysis System) software package[14] to generate maps of water, NAA, Cr, Cho, and *m*Ins. Spectral fitting and image reconstruction were based on the procedure described by Soher et al[28] consisting in a parametric spectral modeling using acquisition specific, a priori information combined with a wavelet-based, nonparametric characterization of baseline signals.[28] For image reconstruction, the initial fit estimates were additionally modified according to similarity with results in neighboring voxels from a previous iteration. Calculated ρ maps and water SI maps acquired at each angulation were co-registered and re-sliced on their respective T1-weighted MPRAGE (orientation AC-PC or AC-PC+15°) using SPM8 (Welcome Trust Institute, London, UK).

The angulations of the two MRSI studies were chosen so as to be sufficiently large to enable good quality spectra to be obtained in all brain regions on at least one of the acquisitions, while also allowing accurate automatic spatial normalization using the SPM8 procedure. The transformation matrices of the SI maps onto the T_1 images were applied to all metabolite maps for each acquisition, respectively. The two MPRAGE volumes were then normalized in the Montreal Neurological Institute (MNI) template by a nonlinear transformation. MPRAGE was also used to obtain GM and WM density through segmentation conducted using the VBM8 procedure (SPM8 toolbox). The transformation matrix was then applied on the coregistered ρ and metabolites maps.

The water concentration map was scaled using a region located in white matter (WM density mask thresholded at 75%) and assumed to be composed of 70% of water.[17,29,30] Institutional metabolite quantification (iQ), metabolite quantification relative to absolute water concentration (Q_{abs}) and metabolite quantification relative to aqueous water concentration (Q_{aq}) maps were then generated as described below:

IQ MAPS. The unsuppressed water MRSI $S_{H2O,MRSI}$ was pixel-wise corrected by water relaxation effects R_{H2O} (T_{1,H_2O} and T_{2,H_2O} effects) and by the absolute water proton-density map $S_{\rho,abs}$ which was down-sampled to the MRSI resolution. To correct for the effects of B1 inhomogeneities and slice selection profiles a correction factor, $K_{MRSI,i}$, for each voxel i was derived from Eq. [1]:

$$S_{\rho,abs,i} = S_{H_2O,MRSI,i}.K_{MRSI,i}.R_{H_2O}(T_{1,H_2O},\ T_{2,H_2O}). \quad (1)$$

Metabolite maps $S_{met,MRSI,i}$ were then multiplied by this previously calculating scaling factor $K_{MRSI,i}$, to obtain normalized

metabolite maps (Eq. [2]) which corresponded to the institutional quantification ($iQ_{met,i}$) expressed in institutional units.

$$iQ_{met,i} = S_{met,MRSI,i}.K_{MRSI,i}. \quad (2)$$

Q_{ABS} MAPS. Subject metabolite quantification maps $Q_{abs,met_subj,i}$ relative to absolute ρ maps were obtained from subject i,Q metabolite maps $iQ_{met_subj,i}$ corrected from relaxation effects of subject metabolites $R(T_{1,met_subj},T_{2,met_subj})$[31,32] and from the extra acquisition on the reference phantom containing known metabolite concentration Q_{abs,met_ref} that was performed before or after the subject scans. Metabolite quantification Q_{abs,met_subj} maps expressed in mM were generated using Eq. [3] and Eq. [4].

$$Q_{abs,met_subj,i} = iQ_{met_subj,i}.K_{abs,met_subj,ref,i}. \quad (3)$$

The term $K_{abs,met_subj,ref,i}$ took into account the metabolite and relaxation effects for both subjects and external phantom (Eq. 4).

$$K_{abs,met_subj,ref,i} = R(T_{1,met_subj}, T_{2,met_subj}).\ Q_{abs,met_ref}/iQ_{met_ref}.R(T_{1,met_ref}, T_{2,met_ref}). \quad (4)$$

Q_{AQ} MAPS. Metabolite quantification maps relative to aqueous water concentration, in other words relative to the volume of the cellular water,[22] were also generated using the phantom acquisition. Metabolite aqueous quantification maps were obtained using Eq. [5].

$$Q_{aq,met,i} = S_{met,MRSI,i}.R_{H_2O,i}.R_{met,i}(T_{1,met_subj}, T_{2,met_subj}).K_{aq}. \quad (5)$$

Where R_{H2O} and R_{met} accounted for T_1 and T_2 effects in the phantom and subject data and K_{aq} for the NAA concentration in the phantom and the signal intensity of NAA in the phantom. While the brain water concentration was determined quantitatively using water acquisition interleaved with metabolite MRSI, the metabolite/water signals ratio were not corrected for coil loading and receiver gain.

Water T_1 maps were reconstructed from the SPGR acquisition. Subjects water T_2 maps used to calculate correction factors were generated from density probability maps of the three compartments, i.e., gray matter (GM), white matter (WM), and cerebrospinal fluid (CSF), assuming a priori values of 69 ms for WM, 88 ms for GM, and 200 ms for CSF[33] Mono-exponential spin-lattice[34] and spin-spin relaxation times[35] were assumed to be 1470 ms and 236 ms for NAA, 1300 ms and 227 ms for Cho, and 1460 ms and 156 ms for Cr, respectively in GM and 1350 ms and 290 ms for NAA, 1080 ms and 216 ms for Cho and 1240 ms and 153 ms for Cr, respectively in WM. Metabolite iQ, Q_{abs}, and Q_{aq} maps were generated for NAA, Cho, Cr, and *m*Ins for each volunteer and each orientation plane.

Means (M) and normalized standard deviations $nSD = \sigma/\text{mean}$ with $\sigma = \sqrt{\text{variance}}$ across subjects were generated for all metabolites and both orientations. The quality criterion to include a pixel in the metabolic map consisted in applying a threshold of 1 SD on the group nSD maps to generate a robust metabolic template at the group level without numerous sparse excluded pixels. These global masks were then applied to the subject maps for each metabolite, respectively.

A weighted mean wM as defined in Eq. [6] was used to combine the both oriented EPSI to generate optimized metabolite maps that favored the most reliable measurement. The generation of the combination map used AC-PC and AC-PC+15° metabolite maps before application of the quality criterion to preserve maximum information of both acquisitions. The threshold of 1 SD was applied on the map defined by the minimum between AC-PC and AC-PC+15° nSD across subjects.

$$wM = M_{AC-PC}\left(1 - \frac{nSD_{AC-PC}}{nSD_{AC-PC}+nSD_{AC-PC+15°}}\right) + M_{AC-PC+15°}\left(1 - \frac{nSD_{AC-PC+15°}}{nSD_{AC-PC}+nSD_{AC-PC+15°}}\right) \quad (6)$$

To assess regional differences of brain metabolite levels, the mean values of the concentrations and SD maps were obtained in regions of interest as defined by the AAL atlas, which were obtained using Brain VISA (http://www.brainvisa.info), and from four external lobes, using WFU Pickatlas toolbox were applied.

Statistics

Spectral differences in terms of signal-to-noise ratio (SNR), linewidth, and areas under the spectral curve were assessed in two extreme regions, the cerebellum and the fronto-parietal region, between AC-PC and AC-PC+15° data on all subjects using non parametric Wilcoxon test ($P < 0.05$).

Statistical mapping (SPM8, paired two sample t-tests $P < 0.05$, $k = 5$, FDR corrected) was used to compare on a voxel-by-voxel basis the metabolite levels between the two orientations of the 3D-MRSI (AC-PC plane and AC-PC +15°, respectively).

At the regional level, the AAL parcels were used to determine the metabolic levels in each brain regions.

Metabolic dependences of brain regions, hemisphere sides and subjects were assessed using one-way analysis of variance (ANOVA) (jmp9, http://www.jmp.com/).

Results

Effect of 3D-MRSI Orientations on Spectral Quality

The impact of orientation on the water linewidth maps as well as statistical mapping of the differences are illustrated in Supplementary Figure S1, which is available online. Examples of metabolite spectra obtained at short TE with the two 3D-MRSI studies are presented in Figure 3 for 10 cerebral structures from a healthy subject. Comparing spectra acquired according the two orientations in two extreme regions (the cerebellum and the fronto-parietal region) a significant between-group difference in SNR and NAA area were observed in the cerebellum ($P = 0.022$ and $P = 0.050$, respectively) (Fig. 3). Moreover, a linewidth significant difference was seen in the upper region ($P = 0.011$). In Figure

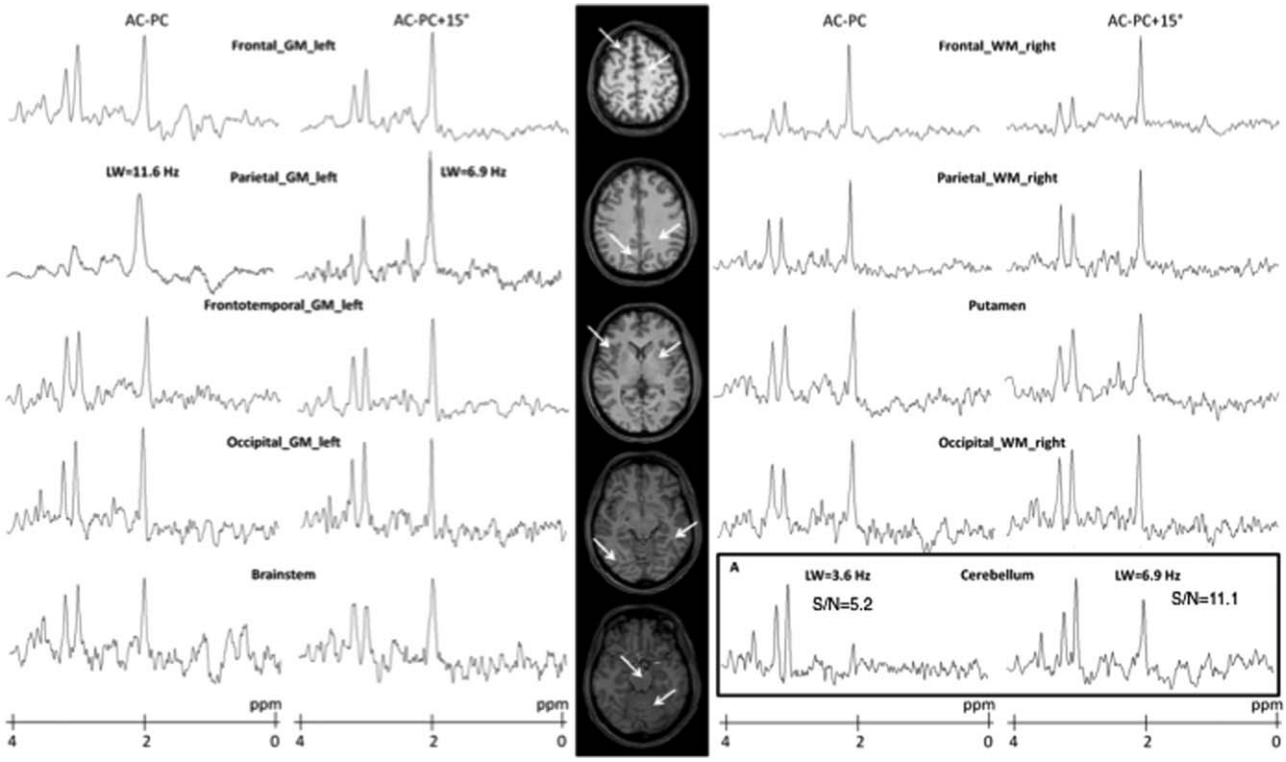

FIGURE 3: Spectra obtained at short TE acquisition (20 ms) acquired along AC-PC and AC-PC+15° line from five slices of one healthy volunteer. Examples are shown for data obtained in different areas for the two orientations. On the bottom right is shown a case where NAA signal has disappeared on the AC-PC MRSI while it is easily observed in the AC-PC +15° MRSI.

3A, the NAA peak was significantly decreased in AC-PC plane compared with AC-PC+15° plane.

Differences in Metabolite Levels According to the 3D MRSI Orientation

Spatially normalized Q_{abs} NAA concentration maps reconstructed from the 3D-EPSI data are presented in Figure 4a (AC-PC plane), and in Figure 4b (AC-PC+15° plane). The statistical mapping analyses comparing the two maps are presented in Figure 4c. Significant differences in NAA values were seen in the cerebellum, with lower values for the AC-PC acquisition (Fig. 4c and Fig. 5 in blue), and in upper slices, with lower values for AC-PC+15° acquisition (Fig. 4c and Fig. 5 in orange). These regional differences matched with nSD maps from the 10 volunteers acquired in the AC-PC plane (Fig. 4d) and in the AC-PC+15° plane (Fig. 4e) from which the largest SD were found in the cerebellum in the AC-PC plane (Fig. 4d) while in the AC-PC+15° plane the largest SD were observed in the upper slices (Fig. 4e) bilaterally.

Pixel-wise 3D-displays of significant differences in metabolite concentrations between the two orientations (Fig. 5) showed comparable patterns for NAA, Cr, Cho, and *m*Ins, with larger differences in the cerebellum for NAA and Cr and larger differences in the medial prefrontal cortex for Cho and *m*Ins.

Combination of the Two 3D-MRSI Acquisitions With Different Orientations

Pixel-based weighted mean were performed for each metabolite. As shown in Figures 4a, 4b, and 4f and in Figures 4d, 4e, and 4g, respectively, the combination provided more homogeneous metabolic maps and SD maps with lower values for all metabolites

Regional Metabolite Concentrations Using the AAL Atlas

Using the AAL parcellation, metabolite concentrations from the spatially normalized metabolic maps were extracted from each brain regions (Fig. 6) for the two orientations and the combined maps.

At the regional level, metabolic mean and SD values across subjects derived from the weighted combination maps were found to be more homogeneous compared with single orientation maps. The numbers of regions with the NAA SD/Mean ratios lower than 30% were 17 and 41 for single AC-PC and AC-PC+15° oriented 3D-MRSI, respectively, while the combination showed up to 76 of the 116 regions with NAA SD/mean ratios below 30%. NAA SD/Mean ratios in the range of 30–50% were observed in 94, 64, and 38 regions for the AC-PC-oriented, ACPC+15°-oriented and combined 3D-MRSI, respectively. NAA SD/mean ratios above 50% were observed in five regions of the AC-PC oriented MRSI (L/R paracentral lobules, L/R cerebellum, L

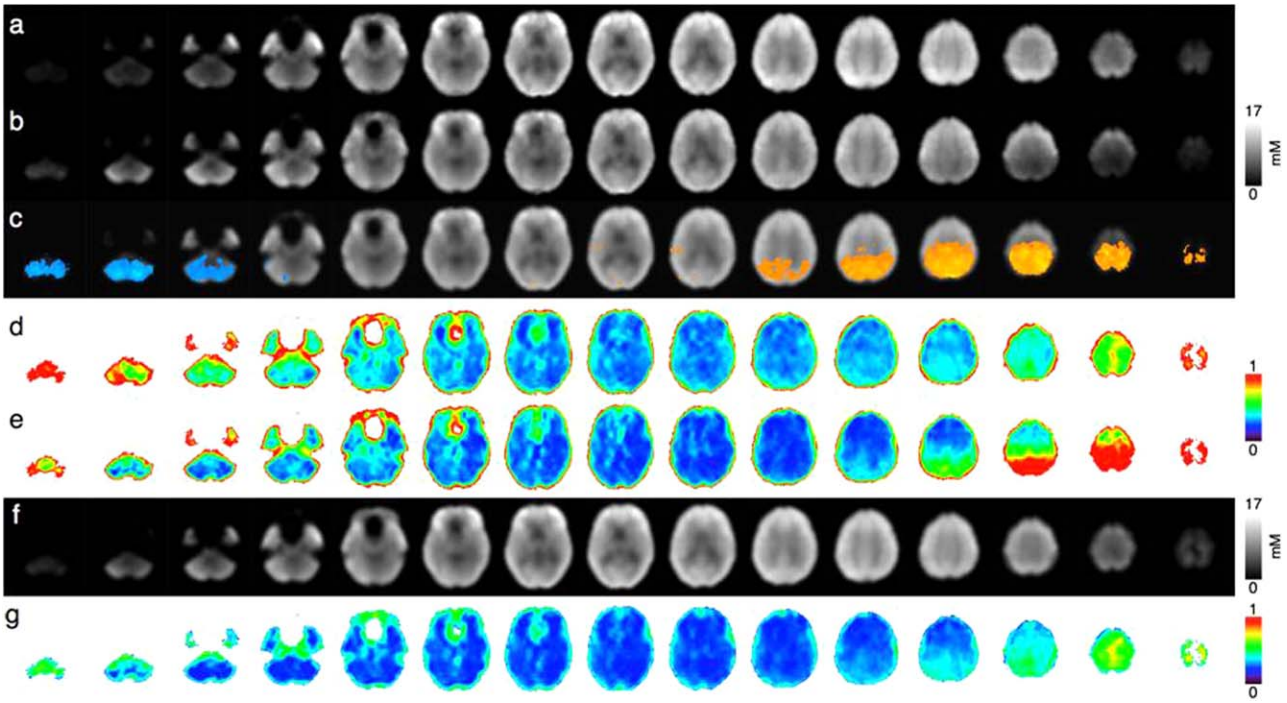

FIGURE 4: Mean NAA concentration maps (Q_{abs}) across 10 subjects for AC-PC (**a**) and AC-PC+15° (**b**) orientation lines, mean maps with regions where AC-PC values are significantly higher (in orange) and lower (in blue) than AC-PC+15° values ($P < 0.05$) (**c**), nSD maps across subjects for AC-PC (**d**) and AC-PC+15° (**e**) orientations, weighted NAA mean (**g**), and SD across subjects of weighted NAA means (**f**).

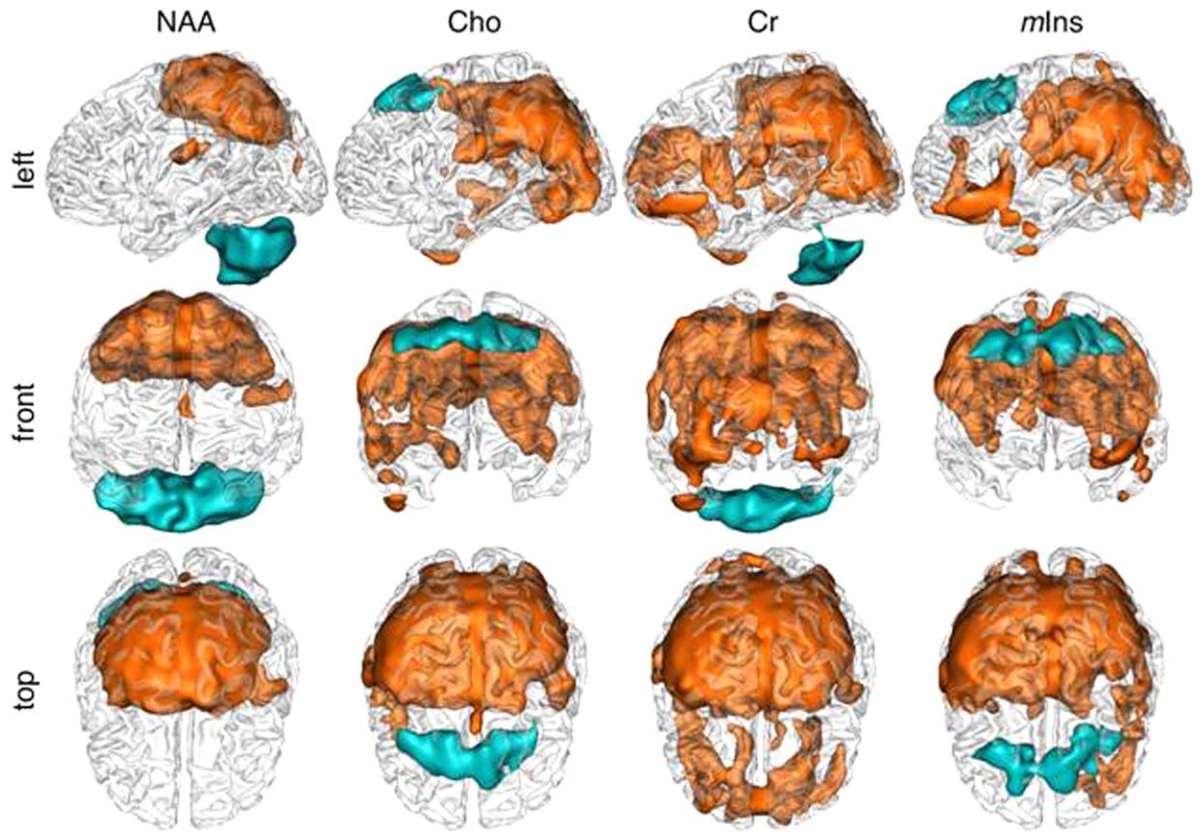

FIGURE 5: Spatial representations (left [top row], front [middle row], and top [bottom row] views) of significant differences between AC-PC and AC-PC+15° Q_{abs} mean values for NAA, Cho, Cr, and mIns: mean AC-PC values significantly higher than AC-PC+15° values ($P < 0.05$, k = 5, FDR corrected) in orange and lower in blue.

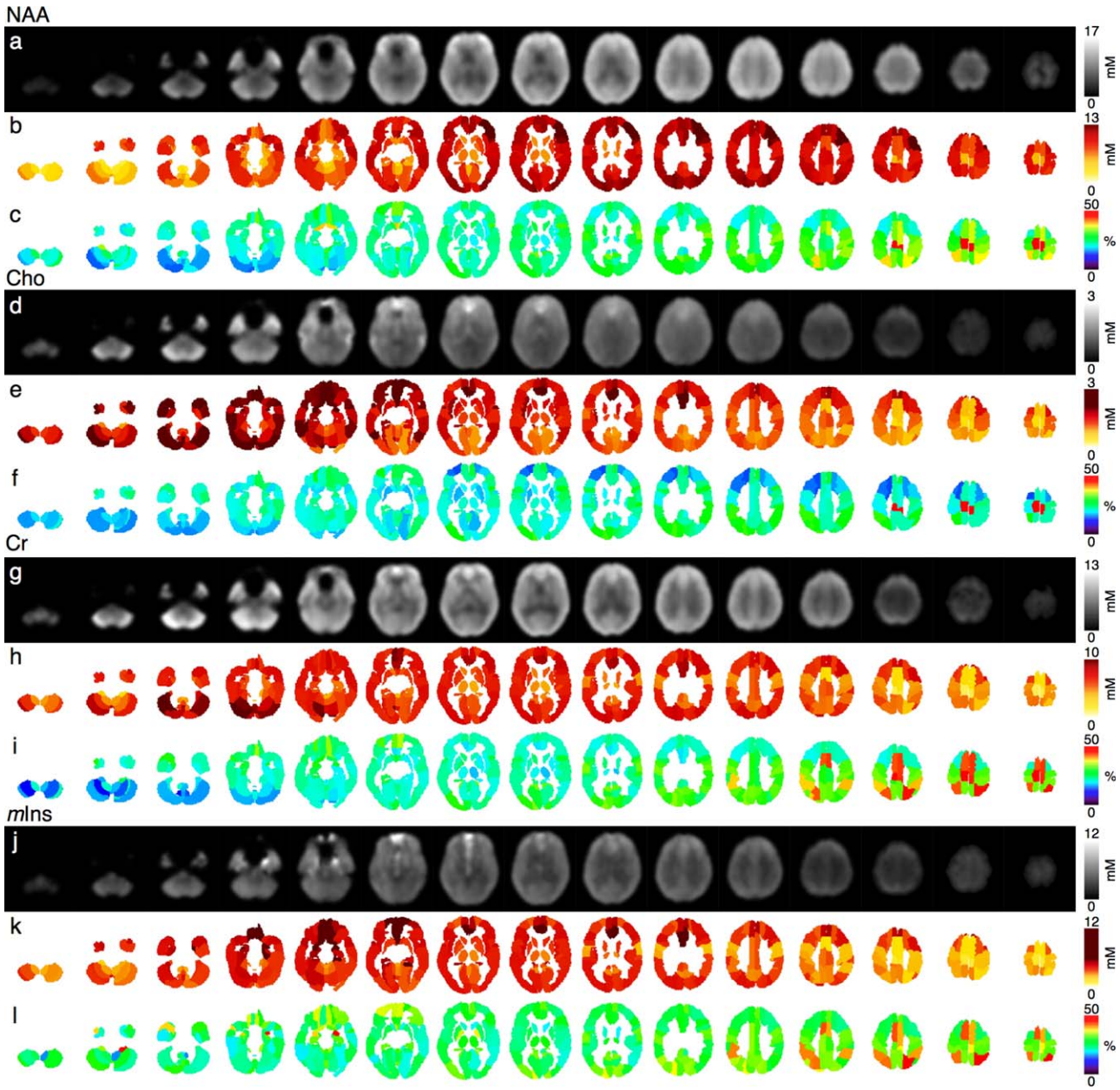

FIGURE 6: Pixel-based weighted mean (a,d,g,j), averaged weighted mean (b,e,h,k), and SD (% of the mean) (c,f,i,l) in AAL regions for NAA, Cho, Cr, and mIns Q_{abs}, averaged for10 healthy volunteers, respectively.

olfactory cortex), in 11 of the AC-PC+15° oriented MRSI (L/R paracentral lobules, L/R superior parietal cortices, L/R cerebellum, L/R orbital medium frontal cortices, R olfactory cortex, R inferior parietal lobule, and L middle temporal lobe) but only in two regions for the combination (L/R paracentral lobules). For the other metabolites, regional inter-subject SD/mean below 30% were observed for the combination within 95 regions for Cho, 79 regions for Cr, and 41 regions for *m*Ins, within 119 regions for Cho, 31 for Cr, and 71 for *m*Ins in the range of 30–50% and within 2 regions for Cho (L/R paracentral lobule), 6 for Cr (L/R paracentral lobule, L/R superior parietal, L/R supplementary motor area) and 4 for *m*Ins (R amygdala, R cerebellum, R superior parietal lobule, L supplementary motor area) for SD/mean >50% (Fig. 6c).

Metabolite concentrations (relative and absolute) of AAL regions are reported in Supplementary Table S1. Based on these data, it is possible to determine for example the average absolute GM metabolite concentrations (mM) in the frontal lobes ($c_{NAA} = 10.03+1.71$, $c_{Cho} = 1.78 \pm 0.55$, $c_{Cr} = 7.29 \pm 1.69$; $c_{mIns} = 5.30 \pm 2.67$), in the temporal lobes ($c_{NAA} = 9.84 \pm 0.77$, $c_{Cho} = 1.94 \pm 0.36$, $c_{Cr} = 8.01 \pm 0.43$; $c_{mIns} = 4.75 \pm 0.40$) or in the cerebellum ($c_{NAA} = 5.28 \pm 1.77$, $c_{Cho} = 1.60 \pm 0.41$, $c_{Cr} = 6.95 \pm 2.15$; $c_{mIns} = 3.60 \pm 0.74$).

The ANOVA analysis applied to determine the impact on metabolic concentrations of brain regions (AAL parcels,

left and right laterality) and of subjects showed a significant global effect ($F < 0.0001$) with significant subject effect ($P < 0.0001$), regional area effect ($P < 0.0001$) and hemispheric side effect ($P < 0.0001$) except for *m*Ins, which did not show significant laterality effect ($P = 0.081$).

Discussion

This study has demonstrated the advantage of combining two axial 3D-MRSI acquisitions with a relative tilt of 15° to improve accuracy and reliability of whole-brain metabolic maps. Inhomogeneity field corrections and signal normalization also allowed us to provide quantitative measures of NAA, Cho, Cr, and *m*Ins measured at short echo times (TE = 20 ms).

The first step used to improve reliability of large brain coverage with 3D-MRSI at high field was to correct for radiofrequency field inhomogeneities and B_0 inhomogeneities responsible for spatial variations in contrast and sensitivity. The protocol used to calculate proton density allowed correcting for the different parameters such as B_1^-, B_1^+, T_1, and T_2* within a reasonable clinical scan time. Various methods have been proposed to map B_1^+ inhomogeneities such as DREAM sequence (Dual Refocusing Echo Acquisition Mode)[16] or the XEP sequence presently used that has the advantage to be robust and sufficiently short compared with the conventional in vivo AFI (Actual Flip Angle) method[18] due to reduced acquisition times.

To optimize the sampling of distal regions, we adopted an original approach that combined two 3D-MRSI acquisitions acquired in two different orientation planes to benefit from the best spectrum quality of each acquisition. Optimizing the orientation of 3D-MRSI has already been proposed to improve the spectral quality of SI in clinically relevant regions leading to the authors to choose 3D-MRSI volumes aligned in the AC-PC,[11,14] the AC-PC+10°,[5,15] or the AC-PC+15°[11] planes. But, to our knowledge, combination of two different 3D-MRSI volumes has not yet been reported. The current choice of AC-PC and AC-PC +15° planes was dominated by the need to get sufficiently different brain coverage with the two MRSI volumes provided by a large difference in the orientation tilt but also to enable the coregistration step to be accurately performed to get the two volumes transferred in the MNI template. After spatial normalization and alignment in the MNI template, it was possible to compare the SD maps of the two acquisitions. The AC-PC aligned 3D-MRSI was better for the superior slices, while the AC-PC+15° performance was better for the cerebellum and inferior slices. These observations were in line with the B_0 homogeneity profiles of each orientation as assessed by the water linewidth maps. The combination of the two minimized local SD and provided more reliable metabolite concentrations than a single orientation acquisition.

MRSI signal normalization was also implemented to make full use of the available information, to convert metabolite signal into absolute or relative concentrations and permit comparisons with normative values. Among the different techniques proposed in the literature used to standardize metabolite signal such as electronic reference (ERETIC),[36] internal water standard,[37] and external standard with compartmental analysis.[19] Of these, the use of internal tissue water as a reference[20,21] is relatively convenient to implement, and was used in this study. Moreover, this technique allowed us to correct for RF pulse profiles. Using optimal post-processing and fitting procedures developed in the MIDAS software, it was possible to accurately fit the spectra even in the presence of macromolecules and residual unsuppressed water signal.[14] This study has also presented normative values of metabolites evaluated at short TE with a wide sampling of the brain, whereas previously-reported values were obtained at short TE's were derived from single-voxel spectroscopy [22,24,32] or MRSI covering only part of the brain.[37]

For voxel-based comparisons between or within subjects, or atlas-based ROI measurement, it is necessary to apply spatial registration to a standard reference. The AAL atlas is a widely used manual macroanatomical division of the single subject MNI-space template brain.

The ROI analyses of whole brain metabolite maps using the AAL atlas demonstrates that metabolite distributions are spatially dependent. We were able to report the average values and SD of metabolite concentrations (absolute, aqueous, relative) in the 116 regions of AAL obtained from the ten healthy controls that could be used to evaluate regional metabolic abnormalities in a given subject.

From a qualitative point of view, the combination of the two 3D-MRSI acquisitions improved the robustness of the metabolite measurements, with lower SD/Mean ratios in the final combined metabolite maps. Only 2 of the 116 AAL regions showed inter-subject NAA SD/mean above 50% (in the SMA and PCC), The poor accuracy in these regions has to be taken into account during regional or pixel-wise group analyses.

The primary cause of signal variations in the superior and inferior brain regions was due to the effect of the RF pulse profiles, which covered a 14 cm full-width-half-maximum slab, and the chemical shift artifact. Despite RF pulse profile correction by means of SI normalization, the signal-to-noise (SNR) ratios in these regions were low, which impacted spectral fitting and introduced high inter-subject variability. The combination of the two maps with different orientations compensated for this effect and improved homogeneity of the MRSI signal across the volume. Alternatively, the use of RF adiabatic pulses and a wider selection profile should alleviate this artifact, although may introduce additional concerns due to the effects of unsuppressed water and lipid signals. It should also be noted that improved performance can be obtained in either one of the distal regions by moving the slab selection; however, the aim of this study was to sample a wide region of the brain

and therefore a more centrally-located slab selection was used.

The present results were derived from a limited sample of subjects (n = 10) that cannot be considered as a sufficient population to provide normative values. Increasing the numbers of healthy subjects and accounting for age, gender[22,38–40] are prerequisite for moving to real clinical application of this method. Moreover, concentration values in this study were not corrected from CSF contribution which can be expected to lead to an underestimation of metabolite concentrations in cortical and ventricular regions. As a result, the standard deviation/mean expressed in % determined in this study are larger than those presented in a previous study[6] using a longer TE of 70 ms and a group of 44 subjects, where values were largely under 10%. An additional limitation of this study is that the effect of B_0 inhomogeneity on the spectral quality was not directly analyzed. Previous studies have shown that angulation of the head relative to the B0 direction can impact whole-brain B_0 field maps[13] although the impact of the volume selected for B_0 shimming has not been specifically investigated. To improve robustness of the metabolic maps supplementary exclusion criteria should be included to exclude voxels based on Cramer Rao bounds (CRB) and linewidth values. Moreover, the use of the EPSI sequence, though allowing fast acquisition time, makes the data sensitive to spatial distortion that can lead to some extent to misregistration with the AAL atlas derived from high resolution T_1-weighted images. Finally, strategies to combine the two 3D-MRSI at the individual level without considering the whole group of controls would be of interest in cases when statistical mapping analyses would not be the main goal.

In conclusion, the combination of two short-TE 3D-MRSI acquisitions with different orientations coupled with procedures for inhomogeneity corrections and signal normalization enabled generation of high quality metabolite maps of the whole brain, with improved inter-subject variation. These results indicated improved methods for future statistical mapping analyses of 3D-MRSI derived metabolic data.

Acknowledgments

The first author (A.L.) is the recipient of a PhD grant (CIFRE) supported by Siemens France and the French Ministry of Research (ANRT). A.A.M. was funded by the NIH.

Contract grant sponsor: NIH; Contract grant number: R01EB000822.

References

1. Cunningham CH, Vigneron DB, Chen AP, et al. Design of flyback echo-planar readout gradients for magnetic resonance spectroscopic imaging. Magn Reson Med 2005;54:1286–1289.
2. Hanson LG, Schaumburg K, Paulson OB. Reconstruction strategy for echo planar spectroscopy and its application to partially undersampled imaging. Magn Reson Med 2000;44:412–417.
3. Otazo R, Tsai SY, Lin FH, Posse S. Accelerated short-TE 3D proton echo-planar spectroscopic imaging using 2D-SENSE with a 32-channel array coil. Magn Reson Med 2007;58:1107–1116.
4. Posse S, DeCarli C, Le Bihan D. Three-dimensional echo-planar MR spectroscopic imaging at short echo times in the human brain. Radiology 1994;192:733–738.
5. Ebel A, Soher BJ, Maudsley AA. Assessment of 3D proton MR echo-planar spectroscopic imaging using automated spectral analysis. Magn Reson Med 2001;46:1072–1078.
6. Maudsley AA, Domenig C, Govind V, et al. Mapping of brain metabolite distributions by volumetric proton MR spectroscopic imaging (MRSI). Magn Reson Med 2009;61:548–559.
7. Maudsley AA, Domenig C, Sheriff S. Reproducibility of serial whole-brain MR spectroscopic imaging. NMR Biomed 2010;23:251–256.
8. Gu M, Kim DH, Mayer D, Sullivan EV, Pfefferbaum A, Spielman DM. Reproducibility study of whole-brain 1H spectroscopic imaging with automated quantification. Magn Reson Med 2008;60:542–547.
9. Posse S, Olthoff U, Weckesser M, Jancke L, Muller-Gartner HW, Dager SR. Regional dynamic signal changes during controlled hyperventilation assessed with blood oxygen level-dependent functional MR imaging. AJNR Am J Neuroradiol 1997;18:1763–1770.
10. Levin BE, Katzen HL, Maudsley A, et al. Whole-brain proton MR spectroscopic imaging in Parkinson's disease. J Neuroimaging 2014;24:39–44.
11. Govind V, Gold S, Kaliannan K, et al. Whole-brain proton MR spectroscopic imaging of mild-to-moderate traumatic brain injury and correlation with neuropsychological deficits. J Neurotrauma 2010;27:483–496.
12. Maudsley AA, Domenig C, Ramsay RE, Bowen BC. Application of volumetric MR spectroscopic imaging for localization of neocortical epilepsy. Epilepsy Res 2010;88:127–138.
13. Tyszka JM, Mamelak AN. Quantification of B0 homogeneity variation with head pitch by registered three-dimensional field mapping. J Magn Reson 2002;159:213–218.
14. Maudsley AA, Darkazanli A, Alger JR, et al. Comprehensive processing, display and analysis for in vivo MR spectroscopic imaging. NMR Biomed 2006;19:492–503.
15. Ebel A, Maudsley AA. Improved spectral quality for 3D MR spectroscopic imaging using a high spatial resolution acquisition strategy. Magn Reson Imaging 2003;21:113–120.
16. Nehrke K, Versluis MJ, Webb A, Bornert P. Volumetric B1 (+) mapping of the brain at 7T using DREAM. Magn Reson Med 2014;71:246–256.
17. Volz S, Noth U, Rotarska-Jagiela A, Deichmann R. A fast B1-mapping method for the correction and normalization of magnetization transfer ratio maps at 3 T. Neuroimage 2010;49:3015–3026.
18. Yarnykh VL. Actual flip-angle imaging in the pulsed steady state: a method for rapid three-dimensional mapping of the transmitted radiofrequency field. Magn Reson Med 2007;57:192–200.
19. Ernst T, Kreis R, Ross BD. Absolute quantitation of water and metabolites in the human brain. I. Compartments and water. J Magn Reson 1993;102:1–8.
20. Gasparovic C, Song T, Devier D, et al. Use of tissue water as a concentration reference for proton spectroscopic imaging. Magn Reson Med 2006;55:1219–1226.
21. Kreis R, Ernst T, Ross BD. Absolute quantitation of water and metabolites in the human brain. II. Metabolite concentrations. J Magn Reson 1993;102:9–19.
22. Tisell A, Leinhard OD, Warntjes JB, Lundberg P. Procedure for quantitative (1)H magnetic resonance spectroscopy and tissue characterization of human brain tissue based on the use of quantitative magnetic resonance imaging. Magn Reson Med 2013;70:905–915.

23. Barker PB, Soher BJ, Blackband SJ, Chatham JC, Mathews VP, Bryan RN. Quantitation of proton NMR spectra of the human brain using tissue water as an internal concentration reference. NMR Biomed 1993;6:89–94.

24. Kreis R, Ernst T, Ross BD. Development of the human brain: in vivo quantification of metabolite and water content with proton magnetic resonance spectroscopy. Magn Reson Med 1993;30:424–437.

25. Deoni SC, Rutt BK, Peters TM. Rapid combined T1 and T2 mapping using gradient recalled acquisition in the steady state. Magn Reson Med 2003;49:515–526.

26. Lecocq A, Le Fur Y, Amadon A, et al. Fast water concentration mapping to normalize H MR spectroscopic imaging. MAGMA 2014. [Epub ahead of print].

27. Le Fur Y, Nicoli F, Guye M, Confort-Gouny S, Cozzone PJ, Kober F. Grid-free interactive and automated data processing for MR chemical shift imaging data. MAGMA 2010;23:23–30.

28. Soher BJ, Young K, Govindaraju V, Maudsley AA. Automated spectral analysis III: application to in vivo proton MR spectroscopy and spectroscopic imaging. Magn Reson Med 1998;40:822–831.

29. Gasparovic C, Neeb H, Feis DL, et al. Quantitative spectroscopic imaging with in situ measurements of tissue water T1, T2, and density. Magn Reson Med 2009;62:583–590.

30. Neeb H, Ermer V, Stocker T, Shah NJ. Fast quantitative mapping of absolute water content with full brain coverage. Neuroimage 2008;42: 1094–1109.

31. Christiansen P, Henriksen O, Stubgaard M, Gideon P, Larsson HB. In vivo quantification of brain metabolites by 1H-MRS using water as an internal standard. Magn Reson Imaging 1993;11:107–118.

32. Brief EE, Moll R, Li DK, Mackay AL. Absolute metabolite concentrations calibrated using the total water signal in brain (1)H MRS. NMR Biomed 2009;22:349–354.

33. Lu H, Nagae-Poetscher LM, Golay X, Lin D, Pomper M, van Zijl PC. Routine clinical brain MRI sequences for use at 3.0 Tesla. J Magn Reson Imaging 2005;22:13–22.

34. Mlynarik V, Gruber S, Moser E. Proton T (1) and T (2) relaxation times of human brain metabolites at 3 Tesla. NMR Biomed 2001;14:325–331.

35. Tsai SY, Posse S, Lin YR, et al. Fast mapping of the T2 relaxation time of cerebral metabolites using proton echo-planar spectroscopic imaging (PEPSI). Magn Reson Med 2007;57:859–865.

36. Barantin L, Le Pape A, Akoka S. A new method for absolute quantitation of MRS metabolites. Magn Reson Med 1997;38:179–182.

37. Tal A, Kirov II, Grossman RI, Gonen O. The role of gray and white matter segmentation in quantitative proton MR spectroscopic imaging. NMR Biomed 2012;25:1392–1400.

38. Charles HC, Lazeyras F, Krishnan KR, et al. Proton spectroscopy of human brain: effects of age and sex. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 1994;18:995–1004.

39. Leary SM, Brex PA, MacManus DG, et al. A (1)H magnetic resonance spectroscopy study of aging in parietal white matter: implications for trials in multiple sclerosis. Magn Reson Imaging 2000;18: 455–459.

40. Maudsley AA, Govind V, Arheart KL. Associations of age, gender and body mass with 1H MR-observed brain metabolites and tissue distributions. NMR Biomed 2012;25:580–593.

Table des figures

Figure 1.1 : *Schéma montrant le devenir du Glutamate (Glu) après sa libération dans la fente synaptique par le neurone pré-synaptique. Même si une partie se fixe à son récepteur post-synaptique, le Glu en surplus est recyclé par l'astrocyte en Glutamine et retransmis au neurone pré-synaptique pour générer à nouveau du Glu* [Rae, 2014].....**17**

Figure 1.2 : *Schéma du devenir du NAA après sa synthèse dans la mitochondrie du neurone. Même si son rôle reste sujet à discussion, le NAA semble être dégradé par les 3 principales familles cellulaires du tissus cérébral : le neurone, l'astrocyte et l'oligodendrocyte par l'intermédiaire de l'ASPA* [Rae, 2014].....**18**

Figure 1.3 : *Schéma illustrant la synthèse et l'utilisation de la Créatine/Phosphocréatine dans les cellules cérébrales. Il est à noter le rôle central de la creatine kinase (CK) permettant le passage de la Cr en PCr et de l'ATP en ADP au niveau cytoplasmique et mitochondrial* [Rae, 2014].....**20**

Figure 1.4 : *Schéma montrant la synthèse et l'utilisation du Lactate dans les neurones et les astrocytes ainsi que ses différents transporteurs membranaires. Après avoir été transformé en pyruvate, il est utilisé comme métabolite énergétique principal du cycle de Krebs mitochondrial* [Rae, 2014].....**22**

Figure 1.5 : *Schéma illustrant le fonctionnement de la pompe Na^+-K^+ ATPase. Grace à l'action de l'ATP, les ions sodium sont expulsés à l'extérieur du neurone contre leur gradient de concentration [Inorganic Chemistry book]*.....**24**

Figure 1.6 : *Schéma illustrant le fonctionnement des canaux sodium de type Na_V. En fonction du voltage, ces canaux vont s'ouvrir ou se fermer, laissant entrer à l'intérieur du neurone les ions sodium* [Ahern et al., 2016].....**24**

Figure 1.7 : *Prévalence de la Sclérose en Plaques dans le monde par tranche de 100 000 habitants* [Marrie, 2004].....**25**

Figure 1.8 : *Les différentes formes de SEP et la répartition des patients dans les deux catégories*.....**27**

Figure 1.9 : *Physiopathologie de la Sclérose en plaques, localisation des zones de démyélinisation en fonction de la forme de la pathologie. E : SEP de type RR, la démyélinisation se localise majoritairement dans la substance blanche (vert) et légèrement dans la substance grise (orange), le phénomène de remyélinisation est important (bleu). F : SEP de type SP, démyélinisation massive dans le blanc (vert), le gris (orange) et les noyaux gris centraux (violet), le phénomène de remyélinisation est quasiment inexistant. G : SEP de type PP, la démyélinisation est majoritairement corticale (orange), plus faible dans le blanc (vert) et le phénomène de remyélinisation est cloisonné à la substance blanche (bleu) [Lassmann et al., 2007]*.....**28**

Figure 1.10 : *Schéma montrant l'impact de l'inflammation (A) à l'intérieur des lésions, avec une activation microgliale et macrophagique massive entrainant la destruction de la gaine de myéline et à terme de l'axone. (B) en dehors des lésions, avec une activité microgliale profonde agissant directement sur les mitochondries via les ROS. Cette dysfonction mitochondriale entraine un changement d'activité de la pompe Na^+-K^+ ATPase, point de départ d'une cascade d'évènements destructeurs pour le neurone [Witte et al., 2014]*.....**30**

Figure 1.11 : *Schéma résumant les liens entre le métabolisme et la physiopathologie dans la SEP. En rouge les métabolites quantifiables par SRM, en vert les accumulations de sodium quantifiable par l'imagerie du Sodium (IRM du ^{23}Na) [Moccia and Ciccarelli, 2017]*.....**34**

Figure 1.12 : *Schéma résumant la perturbation des flux ioniques le long de l'axone à la suite d'inflammation et/ou de démyélinisation conduisant à la mort neuronale [Waxman, 2008]*.....**35**

Figure 2.1 : *Illustration du déplacement chimique pour les différents groupes fonctionnels comprenant des protons. Il est à noter que les protons de l'eau résonnent à 4.7 ppm et ceux du NAA (possédant un groupement CH2) résonnent à 2.02 ppm* [Barker, 2010]....**40**

Figure 2.2 : *Exemple d'une FID complexe (enregistrée dans le domaine temporel) contenant le signal de nombreux métabolites. Après transformée de Fourier dans le domaine fréquentiel, les métabolites sont séparés selon leur fréquence de résonance [Barker, 2010]*.....**41**

Figure 2.3 : *Exemples de spectres obtenus à TE court et long et à différents champ magnétique pour un voxel placé dans la substance blanche pariétale chez l'Homme* [Barker, 2010].....**43**

Figure 2.4 : *Spectre réalisé sans suppression du signal de l'eau et de la graisse. Les métabolites d'intérêt (carré rouge) se retrouvent « noyés » dans le signal de l'eau et de la graisse* [Bertholdo et al., 2013]. **43**

Figure 2.5 : *Placement des bandes de saturation (en rouge) afin d'éliminer le signal des lipides*.....**44**

Figure 2.6 : *Le signal recueilli (en rouge) se trouve à l'intersection des 3 coupes orthogonales* [Barker, 2010].....**45**

Figure 2.7 : *Chronogramme des deux séquences (B) STEAM et (C) PRESS* [Barker, 2010].....**46**

Figure 2.8 : *Chronogramme de la séquence 2D PRESS ISRM comprenant un motif CHESS pour la suppression d'eau (gauche). Placement de la boite PRESS sur une coupe sagittale. Elle permet une large couverture cérébrale tout en s'affranchissant des lipides péri-craniens (droite)* [Nelson, 2001].....**47**

Figure 2.9 : *Chronogramme de la séquence 2D ISRM multi-coupes. Rajouté a cette séquence un module CHESS pour la suppression d'eau et 8 bandes OVS pour la suppression des lipides peri-craniens* [Barker, 2010].....**48**

Figure 2.10 : *Remplissage circulaire de l'espace des k dans la méthode du zero filling. Les cases hors du cercle sont égales à 0*.....**49**

Figure 2.11 : *Chronogramme de la séquence turbo ISRM* [Skoch et al., 2008].....**49**

Figure 2.12 : *Chronogramme de la séquence 3D-EPSI [Ebel et al., 2001]. Elle contient une préparation contenant un module CHESS supprimant le signal de l'eau et une inversion récupération permettant de supprimer le signal des lipides sans utiliser de bandes OVS*.....**51**

Figure 2.13 : *Effet des inhomogénéités de champ B_0 sur les pics de résonance des métabolites*.....**54**

Figure 2.14 : *Calcul du déplacement chimique pour différentes espèces à 3 Tesla pour un voxel de 20 mm^3. On observe un décalage de 6 mm entre le myo-Inositol (en rouge) et le lactate (en jaune)*.....**55**

Figure 2.15 : *Imagerie du Sodium à 3 Tesla en coupes axiales recouvrant l'ensemble du cerveau d'un sujet sain*.....**56**

Figure 2.16 : *Trajectoires dans l'espace des k pour les deux séquences [A] 3D radiale en densité adaptée [B] Twisted Projection Imaging* [Madelin et al., 2014].....**57**

Figure 2.17 : *Comparaison de spectres obtenus à 7 T (à gauche) et à 3 T (à droite) pour un même voxel placé au niveau cingulaire antérieur* [Pradhan et al., 2015].....**60**

Figure 2.18 : *Images sodium acquises à 1.5 (A), 3 (B) et 7 (C) Tesla avec la séquence radiale en densité adaptée. Les paramètres sont les mêmes pour les 3 machines : TE = 0.2 ms, TR = 50 ms, Tacq = 11 minutes, Projections = 13 000*.....**61**

Figure 1 : *Topographie des baisses de NAA (Rouge) et des Glx (Bleu) sur l'ensemble du cerveau chez les patients SEP-RR à M24 comparé à M0*.....**106**