

ÉCOLE DOCTORALE
ENERGIE, MATERIAUX, SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

Laboratoire CEMHTI – UPR 3079 CNRS

THÈSE présentée par :
Maxime Yon

soutenue le : **24 Octobre 2017**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université d'Orléans**

Discipline/ Spécialité : Chimie

**Micro-imagerie par résonance magnétique
de matériaux solides
en rotation à l'angle magique**

THÈSE dirigée par :

Franck FAYON
Vincent SAROU-KANIAN

Directeur de Recherche, CNRS-CEMHTI
Ingénieur de Recherche, CNRS-CEMHTI

RAPPORTEURS :

Dimitrios SAKELLARIOU
Christian BONHOMME

Professeur, Université catholique de Leuven
Professeur, Université Pierre et Marie Curie

JURY :

Jean-Claude BELOEIL
Catherine BESSADA
Christian BONHOMME
Danielle LAURENCIN
Dominique MASSIOT
Dimitrios SAKELLARIOU

Directeur de Recherche émérite, CNRS-CBM
Directeur de Recherche, CNRS-CEMHTI
Professeur, Université Pierre et Marie Curie
Chargé de Recherche, Institut Charles Gerhardt
Directeur de Recherche, CNRS-CEMHTI
Professeur, Université catholique de Leuven

Remerciements

Tout d'abord je tiens à remercier mon directeur de thèse : **Franck Fayon** et mon encadrant de thèse : **Vincent Sarou-Kanian** pour leur mentorat complémentaire, toujours encourageant et avec exactement la bonne dose d'autonomie. C'est grâce à eux que j'ai pu travailler efficacement et vraiment apprécier ces trois années de thèse. Tout bien considéré je n'aurais fait ma thèse avec personne d'autre.

Je remercie aussi **Dominique Massiot** grâce à qui cette thèse a pu débuter et qui ensuite, a toujours prêté une oreille attentive à son avancement jusqu'à la toute fin.

Je remercie **Catherine Bessada** pour son accueil chaleureux au sein du laboratoire mais aussi pour son aide dans l'obtention de la bourse qui m'a permis d'effectuer ma thèse au CEMHTI.

Je remercie les membres de mon jury de thèse qui ont accepté d'évaluer ce travail : **Dimitrios Sakellariou**, **Christian Bonhomme**, **Danielle Laurencin**, **Jean-Claude Beloeil**, **Catherine Bessada** et **Dominique Massiot**.

Je souhaite aussi remercier vivement tous ceux qui ont apporté leur contribution à ma thèse :

- **Martine Decoville** source inépuisable « d'Oregon » mais aussi d'enthousiasme au vue de chaque résultat, ainsi que de campagnes de mesure sans limite indispensables à la statistique et toujours effectuées dans la bonne humeur malgré l'incertitude du résultat.
- Ma stagiaire de M1 en traitement du signal : **Lila Sbili** qui, par son travail acharné, a très fortement contribué au chapitre « Échantillonnage non uniforme ».
- **Ulrich Scheler** pour qui cette thèse a été un retour aux sources puisque l'imagerie en MAS a aussi été son sujet de thèse. Les discussions et désaccords sur ce sujet ont toujours été très enrichissants.
- **Serge Birman** et **Florence Savigny** qui m'ont permis d'obtenir les échantillons d'intérêt nécessaires à la validation des méthodes IRM et RMN développées.
- **Roman Shakhovoy** pour les nombreuses « new theory » et les discussions sur le cyclage de phase Cogwheel et ses applications à l'imagerie.
- **Frédéric Szeremeta** pour la fabrication d'une bobine d'imagerie sans ^1H permettant l'imagerie à temps d'écho nul en condition statique sans signal de sonde.

Je remercie aussi **Laetitia Rouger**, **Patrick Giraudeau** et **Jean-Nicolas Dumez** pour m'avoir donné l'occasion de réaliser de la spectroscopie RMN ultrarapide en rotation à l'angle magique et pour toutes les discussions sur les avantages et inconvénients de cette méthode.

Je remercie l'équipe RMN du CEMHTI : **Pierre Florian**, **Aydar Rakhamatullin**, **Sylvian Cadars**, **Élodie Salager**, **Michaël Deschamps**, **Valérie Montouillout** et **Nadia Pellerin** pour l'aide occasionnelle sur un spectromètre capricieux et les nombreuses discussions sur les applications ou la théorie de la RMN.

Je remercie les doctorants du CEMHTI de mon année : **Kelly Machado** alias « simulating Kelly » pour une conférence inoubliable à Lisbonne mais aussi pour ses qualités de leader dans tous les projets de groupe et les formalités de la thèse. **Alexey Novikov** : « le chat », pour sa bonne humeur permanente : en soirée, à l'escalade et dans la recherche d'emploi. **Eric Fotso Gueutue** pour sa compagnie lors des longues soirées dans l'open-space qui sinon n'auraient pas été aussi agréables. **Assia Mabrouk** pour sa joie de vivre durant ces trois ans malgré les difficultés qu'elle a traversées. Et je remercie aussi ceux qui sont arrivés après : **Ghenima Oukali, Babacar Diallo, Charles-Emmanuel Dutoit, Pierre Alexandre Martin...**

Je remercie les doctorants orléanais avec qui j'ai passé des moments inoubliables durant ces trois ans : **Clément Ferraina**, pour ton éternelle bonne humeur, tes nombreuses victoires à tout type de jeux de sociétés et bien sûr : l'expérience du rat. **Franck Octau**, dit « le président » pour ta joie de vivre et ta quête de l'amour aux nombreux rebondissements qui nous aura bien divertis et semble aujourd'hui achevée. **Dounia El Hamrani**, parce que l'on peut vraiment « discuter science » mais pas uniquement. **Francesco Stella** pour nos discussions sur la thèse ou la recherche en générale toujours très intéressantes, j'en retiendrai l'adage : « On ne travaille pas forcément sur des sujets importants, mais sur des sujets compliqués et ça suffit ! ». **Martin Weizmann** pour ta compagnie permanente et joyeuse (malgré ton grand âge) et nos nombreux covoiturages. **Chloé Cocaud** pour ta motivation sans faille pour sortir (et grimper) une fois convaincu que nous étions des gens bien... **Alba Casas** : pour ton humeur joyeuse communicative et pour te citer : « tu es très moche mais je t'aime beaucoup ! (avec l'accent espagnol) ». Il y a eu tant d'histoires et de rencontres que j'ai eu énormément de plaisir à vivre durant ces trois ans et je remercie pour tout cela : **Helène Ledru, Wilfried Badat, Anne-Aziliz Pelleter, Charlotte Rieux, Sophie Laine, Marina Boyer, Flavien Poinçot** et tous les autres.

Je remercie **Didier Zanghi**, pour sa motivation permanente pour aller à l'escalade.

Je remercie les copains de Chamma et plus, qui m'ont toujours soutenu par leur amitié sans limite et je nommerai particulièrement ceux qui, au prix de nombreuses bières (actuellement impayées), ont même relu ma thèse: **Léo Desilles, Anthony Coriton, Florian Mesnager, Maxime Perrigault, Antoine Gervais, Charlotte Bodin, Mélissa Burgevin, Joris Miseriaux, Chloé Chatton, Louison Méhu** et **Sophie Catanese**.

Je remercie tous ceux qui ont croisé ma route et l'ont orienté vers cette thèse en RMN & IRM de part leur gentillesse et leur passion : **Tangi Roussel, Frédéric Mentink-Vigier, Jean-Nicolas Dumez, Lucio Frydman, Patrick Giraudeau, Thomas Poumeyrol, Nicolas Malicki, et Mr. Philippe**.

Je remercie **mes parents** et **mes frères** qui m'ont toujours soutenu dans mes projets.

Je remercie **Anaëlle** bien sûr, pour son amour malgré la distance ainsi que pour le courage d'avoir relu même les passages les plus complexes de cette thèse.

Dans l'espoir de n'avoir oublié personne, je souhaite une bonne lecture à ceux qui vont plus loin.

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE	1
I) Références	4
ÉTAT DE L'ART	7
I) Résonance Magnétique Nucléaire	8
I.1. Grandeurs nucléaires	8
I.1.1 Spin et moment magnétique	8
I.2. Description du phénomène de résonance magnétique	9
I.2.1 Description classique	9
I.2.2 Polarisation nucléaire	10
I.2.3 Résonance	11
I.2.4 Aimantation transverse	12
I.2.5 Induction magnétique	13
I.2.6 Transformation de Fourier	14
I.3. Les interactions en résonance magnétique nucléaire	15
I.3.1 Temps de relaxation transversaux d'un ensemble de spin : T_2 et T_2^*	15
I.3.2 Description des interactions : méthode des perturbations	16
I.3.3 L'Hamiltonien Zeeman	18
I.3.4 Écrantage électronique	19
I.3.5 Déplacement chimique	21
I.3.6 Le couplage dipolaire direct	22
I.3.7 Interaction de couplage spin-spin indirect (J)	24
I.3.8 Interaction quadripolaire	25
I.3.9 Susceptibilité magnétique	26
I.3.10 Refocalisation des interactions, mesure de T_2	27
I.3.11 Spectre haute résolution solide par rotation de l'échantillon à l'angle magique	28
I.3.12 Conclusion	31
II) Imagerie par résonance magnétique	32
II.1. Principe	32
II.1.1 Gradient de Champ magnétique	32
II.1.2 Espace réciproque ou espace k	33
II.2. Les quatre types d'encodages spatial	34
II.2.1 L'encodage fréquentiel	34
II.2.2 L'encodage de phase	35
II.2.3 La sélection de tranche	35
II.2.4 L'encodage spatio-temporel	36
II.3. La résolution spatiale en IRM	37
II.3.1 Résolution et fonction de dispersion d'un point	37
II.3.2 Comparaison des résolutions	39
II.3.3 Complétion de zéros et taille de pixel	40
II.4. Le contraste en IRM	41
II.4.1 Le contraste T_2	41
II.4.2 Le contraste T_1	42

II.4.3	Autres sources de contrastes	42
III)	L'imagerie dans les solides	44
III.1.	Différentes approches	44
III.1.1	Imagerie multi-quanta	46
III.2.	Forts gradients et acquisition à temps court	47
III.2.1	Conclusion	49
III.3.	Line narrowing	49
III.3.1	Séquence multi-impulsions Radiofréquence	49
III.3.2	Magic Angle rotating Frame	52
III.4.	Rotation à l'angle magique	53
III.4.1	Champ magnétique en rotation à l'angle magique	53
III.4.2	Rotation à l'Angle Magique (MAS) de l'échantillon	53
III.4.3	Conclusion	54
IV)	Références	56
	 IMAGERIE EN ROTATION A L'ANGLE MAGIQUE	 61
I)	Imagerie et rotation à l'angle magique	62
I.1.	Dispositif expérimental	62
I.2.	Implémentation	62
I.2.1	Gradients tournants	62
I.2.2	Synchronisation des séquences d'imagerie en rotation à l'angle magique	65
I.2.3	Programme d'impulsions	67
I.2.4	Limitations expérimentales et fréquence de rotation	68
I.2.5	Images de bandes de rotation	69
I.2.6	Imagerie tridimensionnelle	70
I.2.7	Sélection de tranche	71
I.2.8	Séquences utilisées	71
II)	Imagerie par résonance magnétique en rotation à l'angle magique des tissus rigides	73
II.1.	Spectres de résonance magnétique nucléaire des tissus rigides	76
II.1.1	Tissus rigides et hydroxyapatite	76
II.1.2	Spectres RMN ^1H et ^{31}P en rotation à l'angle magique de l'hydroxyapatite et de tissus rigides	78
II.1.3	EFFET DE LA ROTATION A L'ANGLE MAGIQUE	81
II.1.4	Transfert de polarisation et gain de sensibilité	84
II.1.5	Homogénéité spatiale du transfert de polarisation	85
II.1.6	Effets de l'augmentation du champ magnétique	88
III)	Imagerie des tissus rigides	90
III.1.	Fantôme d'hydroxyapatite nanocristalline et autres orthophosphates de calcium	90
III.1.1	Fantôme d'hydroxyapatite	90
III.1.2	Sources de contraste	92
III.2.	Imagerie en mas des tissus biologiques : la dent de souris	94
III.2.1	Imagerie 3D ^{31}P CP MAS	94
III.2.2	Imagerie ^1H 3D MAS sélective chimiquement	96
III.2.3	Excitation sélective	98
IV)	Conclusion	99
V)	Références	100

ENCODAGE RADIAL ET FREQUENTIEL EN MAS	105
I) IRM de pur encodage fréquentiel	106
I.1. Séquences avec encodage fréquentiel pur	106
I.1.1 La séquence ZTE	106
I.1.2 ZTE et SPI	108
I.1.3 ZTE et UTE	109
I.1.4 ZTE et SWIFT	110
II) Implémentation	111
II.1.1 Programmation	111
II.1.2 Méthode MAS-ZTE	111
II.1.3 Méthode CPzMAS-ZTE	111
II.1.4 Méthode Sélective_MAS-ZTE	112
III) Résultats	114
III.1. Application à l'imagerie ^1H de polymères	114
III.1.1 Spectres ^1H en rotation à l'angle magique	114
III.1.2 Images ^1H tridimensionnelles en MAS	115
III.1.3 Imagerie sélective en déplacement chimique	116
III.2. Bandes de rotations	118
III.2.1 Bandes de rotation en imagerie MAS	118
III.2.2 Méthode de calibration des gradients	119
III.2.3 Imperfections résiduelles	119
III.2.4 Bandes de rotation et encodage radial	122
III.2.5 Sélection de tranche sous gradients tournants	123
III.2.6 Résolution limite pour le fantôme polymère	124
III.3. Imagerie des noyaux quadripolaires ^{27}Al et ^{51}V	127
III.3.1 Imagerie ZTE MAS de ^{27}Al	127
III.3.2 Résonance et résolution en ^{51}V	129
III.4. Images ^{31}P de tissus rigides calcifiés biologiques	131
III.4.1 Imagerie ^{31}P par excitation directe	131
III.4.2 Polarisation croisée (CP)	131
III.4.3 Interprétation du contraste CP	134
III.4.4 Limitations	135
III.5. Conclusion	136
IV) Références	137
 ÉCHANTILLONNAGE NON UNIFORME	 141
I) Espace réciproque	142
I.1. Échantillonnage partiel	142
I.1.1 Complétion de zéros	143
I.1.2 Maillage cubique	144
I.1.3 Maillage gaussien rapide (NUFFT)	144
I.1.4 La détection compressée (Compressed Sensing CS) ^{2,4}	144
I.1.5 Compressed sensing et Ondelette (Wavelet)	145
I.1.6 Échantillonnage pseudo aléatoire	146
II) simulation	148
II.1. Évaluation des performances	148
I.1.7 Images non bruitées	148

II.2.	Images bruitées	151
III)	Mise en application	152
III.1.	Création de la liste des points à acquérir	152
III.1.1	Paramètres TopSpin	152
III.2.	Reconstruction de l'espace réciproque sous échantillonné	154
IV)	Données réelles	155
IV.1.1	Images bidimensionnelles non bruitées	155
IV.1.2	Images bidimensionnelles bruitées	156
IV.1.3	Images tridimensionnelles	157
IV.2.	Image 3D d'une drosophile	159
IV.2.1	Signal sur bruit	163
V)	Conclusion	164
V.1.	Perspectives	165
VI)	Références	166
SPECTROSCOPIE LOCALISEE EN MAS		167
I)	RMN et métabolomique	168
I.1.	Contexte	168
I.1.1	Étude métabolomique de la drosophile	168
I.2.	RMN en rotation à l'angle magique de la drosophile	169
I.2.1	Spectre RMN haute résolution	169
I.2.2	Identification des métabolites	170
I.3.	Spectroscopie localisée in vivo de la drosophile	172
I.3.1	Positionnement et maintien de la drosophile	172
I.3.2	Localisation monodimensionnelle par encodage de phase	172
I.3.3	Segmentation biochimique de la drosophile	174
II)	Étude de modèles de maladies neurovégétatives	176
II.1.	Pathologies ciblées	176
II.2.	Méthode	178
II.2.1	Paramètres d'acquisition	178
II.2.2	Intégration localisée	179
II.3.	Résultats	181
II.3.1	Modèle de toxicité du glutamate	181
II.3.2	Représentation en tableau de points	182
II.3.3	Analyse de variance	183
II.3.4	Analyse multivariée supervisée	184
II.3.5	Conclusion	186
II.3.6	Résultats pour les trois modèles	186
III)	Conclusion et perspectives	191
IV)	Références	192
CONCLUSION GENERALE		195
ANNEXES		197
I)	Programme d'impulsion imXY_MAS_GC	197
II)	Au programme	200

Introduction générale

Depuis son invention en 1973 par les groupes de Lauterbur¹ et Mansfield², l'Imagerie par Résonance Magnétique Nucléaire (IRM) a été développée jusqu'à devenir une méthode incontournable de diagnostic médical avec aujourd'hui en France plus de 800 appareils IRM dédiés.³ Bien que le nom complet de l'IRM soit l'imagerie par (ou de) résonance magnétique nucléaire, la lettre N a été supprimée de l'acronyme très tôt afin d'éviter toute inquiétude injustifiée des patients.⁴ Le succès de l'IRM est attribuable à son caractère non invasif et non ionisant, mais aussi à la versatilité de contrastes permettant de mettre en évidence de nombreuses pathologies. En effet, l'IRM peut apporter plus que la simple description de l'anatomie de l'échantillon et l'emploi d'agents de contraste permet de mettre en évidence certains tissus par affinité chimique ou en raison de l'activité accrue de leur métabolisme.⁵ Parallèlement, l'utilisation de gradients de diffusion permet d'atténuer le signal des molécules mobiles et ainsi d'obtenir des informations sur les axes de mobilité des liquides dans les tissus ou les solides.⁶ L'imagerie fonctionnelle permet, quant à elle, de mettre en évidence les variations d'oxygénation sanguine par un changement de susceptibilité magnétique permettant ainsi de localiser l'activité neuronale *in vivo* dans le cerveau.⁷ Enfin, les changements du métabolisme au niveau de l'organe peuvent être mis en évidence par spectroscopie localisée.⁸⁻¹⁰ Parallèlement à son application chez l'homme, l'IRM est également largement appliquée à des organismes biologiques plus petits, notamment pour l'étude des modèles petits animaux (souris, rat, ...) en recherche médicale.^{11,12} En outre, la possibilité de caractériser les propriétés physico-chimiques et les mouvements des fluides a été utilisée pour obtenir des informations sur la physiologie des plantes¹³ mais aussi dans les industries pétrochimique et agroalimentaire.¹⁴

La plupart de ces applications requièrent une résolution spatiale de l'ordre du millimètre, compatible avec la relativement faible sensibilité inhérente aux méthodes de résonance magnétique. À partir de 1986, l'introduction de champs magnétiques plus élevés en imagerie (jusqu'à 9,5 T à l'époque), couplée à l'utilisation de petites bobines de détection, ont cependant permis l'avènement de la microscopie IRM avec des résolutions de l'ordre de la dizaine à la centaine de μm ¹⁵ avec l'objectif de parvenir à l'imagerie de la cellule unique.¹⁶⁻¹⁸ Aujourd'hui, la micro-imagerie à très haut champ magnétique est toujours développée pour obtenir des images d'arrangement de neurones dans le cerveau (11,7 T au centre NeuroSpin de Saclay en 2018).

Pour toutes ces applications, l'IRM utilise le signal de résonance magnétique nucléaire de petites molécules en solution, et principalement celui des protons des molécules d'eau des tissus. Parallèlement, les développements et les applications de ces méthodes pour

l'imagerie des tissus rigides et des matériaux solides sont restés beaucoup plus marginaux. Cette différence s'explique par la difficulté accrue à obtenir des images de solides en raison des largeurs de raies de résonance beaucoup plus importantes et des temps de relaxation de l'aimantation transversale beaucoup plus courts que ceux des liquides dans les tissus mous. C'est la raison pour laquelle les tissus rigides du corps humain sont perçus comme des zones noires (sans signal) en IRM classique. De ce fait, même s'il est possible de juger de leur taille par inversion de l'image,¹⁹ obtenir des informations sur leurs propriétés physico-chimiques reste plus complexe. Les principales applications de l'IRM des solides concernent à ce jour l'étude de la microstructure de matériaux polymères²⁰ et de tissus biologiques calcifiés (os, dents...).^{21,22} Cette dernière application apparaît extrêmement intéressante en tant qu'alternative aux méthodes ionisantes de radiographie et de mesures de densités osseuses. Plusieurs études existent dans ce domaine, principalement par IRM de ^1H ,^{21,22} mais également par IRM du phosphore-31 pour lequel les résolutions spatiales pouvant être atteintes sont plus faibles et restent de l'ordre du millimètre.^{19,23-27}

L'objectif de cette thèse concerne la mise en œuvre et l'application de méthodes de micro-imagerie par résonance magnétique nucléaire dans le cas de matériaux solides et plus particulièrement de tissus calcifiés. Afin de pouvoir atteindre des résolutions spatiales de l'ordre de la centaine à la dizaine de micromètre, différentes méthodes d'IRM seront combinées à la rotation à l'angle magique, qui permet d'affiner les raies de résonances des solides et d'augmenter les temps de relaxation de l'aimantation transversale. Cette approche combinant les méthodes d'IRM et une rotation macroscopique rapide de l'échantillon fut introduite durant les années 1980^{28,29} mais a été très peu utilisée par la suite. Dans ce travail nous avons choisi de revisiter les méthodes d'IRM en rotation à l'angle magique et leurs potentialités, dans des conditions de très haut champ magnétiques (17,6 T). L'utilisation de la rotation à l'angle magique impose bien évidemment des contraintes concernant la taille et la fragilité de l'échantillon étudié.³⁰ Les développements présentés dans ce travail se situent donc dans un contexte d'étude *ex vivo* de tissus calcifiés (biopsies, échantillons cadavériques, ...) ou de matériaux inorganiques.

Le premier chapitre de ce manuscrit introduit les principes physiques sur lesquels sont basés la spectroscopie RMN et l'imagerie par résonance magnétique, ainsi que les interactions s'exprimant à l'état solide et leurs implications concernant l'acquisition de spectres ou d'images. Dans un second temps, les principales approches permettant d'améliorer la résolution et le rapport signal sur bruit des images IRM de matériaux solides sont présentées. L'étude et la mise en perspective de ces méthodes permettra la sélection d'une approche expérimentale adaptée en fonctions des caractéristiques intrinsèques du système étudié.

Le second chapitre détaille l'implémentation de méthodes d'imagerie par résonance magnétique dans des conditions de rotation à l'angle magique, basées sur l'application de gradients de champs magnétiques pulsés tournants, permettant d'obtenir des images statiques d'objets en rotation. Le potentiel de ces méthodes est démontré dans le cas de

l'imagerie *ex vivo* en rotation à l'angle magique de tissus rigides et de biomatériaux utilisés pour la reconstruction osseuse.

Le troisième chapitre présente des méthodes d'imagerie par encodage fréquentiel pur et échantillonnage radial avec la rotation à l'angle magique (MAS). Cette approche est applicable à une vaste gamme de noyaux observables et donc de matériaux. Elle permet souvent de réduire le temps d'acquisition des images par rapport aux méthodes d'écho de spin. La possibilité de réaliser de l'imagerie sélective chimiquement ou d'utiliser un contraste par polarisation croisée avec ce schéma d'encodage fréquentiel sont également démontrées.

Le quatrième chapitre introduit la possibilité d'utiliser des méthodes de sous échantillonnage et de reconstruction de l'espace réciproque, qui peuvent permettre de réduire les durées d'expérience nécessaires à l'obtention d'images IRM multidimensionnelles et constituent une alternative à un échantillonnage cartésien conventionnel.

Enfin, dans le cinquième chapitre, nous nous sommes intéressés à une autre grande application des gradients de champ magnétique pulsés, la spectroscopie localisée spatialement et sa combinaison avec la rotation à l'angle magique. Le potentiel de cette méthode sera illustré dans le cas de l'étude *in vivo* du métabolome de drosophiles modèles de pathologies neurodégénératives. Nous verrons que pour la drosophile, qui constitue un système semi-solide hétérogène, la rotation à l'angle magique apporte un gain de résolution spectral important qui, combiné avec des méthodes de spectroscopie localisée, rend possible la quantification *in vivo* de métabolites à l'échelle de l'organe chez la drosophile.

I) REFERENCES

1. Lauterbur, P. Image formation by induced local interactions: examples employing nuclear magnetic resonance. *Nature* (1973).
2. P Mansfield and P K Grannell. NMR 'diffraction' in solids? *J. Phys. C Solid State Phys.* **6**, 422–426 (1973).
3. Detournay, B. *LES INSUFFISANCES EN MATIERE D ' EQUIPEMENTS D ' IMAGERIE MEDICALE EN FRANCE : ETUDE SUR LES DELAIS D ' ATTENTE POUR UN RENDEZ -VOUS IRM 2015*. CemkaEval (2015).
4. Décorps, M. *Imagerie de résonance magnétique*. (EDP Sciences, 2012).
5. Carr, D. *et al.* Gadolinium-DTPA as a contrast agent in MRI: initial clinical experience in 20 patients. *Am. J. Roentgenol.* **143**, 215–224 (1984).
6. Le Bihan, D. Looking into the functional architecture of the brain with diffusion MRI. *Int. Congr. Ser.* **1290**, 1–24 (2006).
7. Biswal, B., Yetkin, F., Haughton, V. & Hyde, J. Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using. *Magn Reson Med* **34**, 537–541 (1995).
8. Frahm, J. *et al.* Localized high-resolution proton NMR spectroscopy using stimulated echoes: Initial applications to human brain in vivo. *Magn. Reson. Med.* **9**, 79–93 (1989).
9. Cresshull, I. D. *et al.* LOCALISATION OF METABOLITES IN ANIMAL AND HUMAN TISSUES USING 31P TOPICAL MAGNETIC RESONANCE. *Bull. Magn. Reson* **12**, 426–434 (1981).
10. Haase, A., Frahm, J., Hänicke, W. & Matthaei, D. 1H NMR chemical shift selective (CHESS) imaging. *Phys. Med. Biol.* **30**, 341–344 (1985).
11. Hansen, G. *et al.* In vivo imaging of the rat anatomy with nuclear magnetic resonance. *Radiology* **136**, 695–700 (1980).
12. Benveniste, H. & Blackband, S. MR microscopy and high resolution small animal MRI: Applications in neuroscience research. *Prog. Neurobiol.* **67**, 393–420 (2002).
13. Van As, H. Intact plant MRI for the study of cell water relations, membrane permeability, cell-to-cell and long distance water transport. *J. Exp. Bot.* **58**, 743–756 (2007).
14. Hills, B. Food-Processing - an Mri Perspective. *Trends Food Sci. Technol.* **6**, 111–117 (1995).
15. Hegers, B. *et al.* Magnetic Resonance Microscopy at 17 . 6-Tesla on Chicken Embryos In Vitro. **86**, 83–86 (2001).
16. Aguayo, J. B., Blackband, S. J., Schoeniger, J., Mattingly, M. A. & Hintermann, M. Nuclear magnetic resonance imaging of a single cell. *Nature* **322**, 190–1 (1986).
17. Ciobanu, L., Webb, A. G. & Pennington, C. H. Magnetic resonance imaging of biological cells. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **42**, 69–93 (2003).
18. Lee, S. C. *et al.* One micrometer resolution NMR microscopy. *J. Magn. Reson.* **150**, 207–13 (2001).
19. Wehrli, F. W., Song, H. K., Saha, P. K. & Wright, A. C. Quantitative MRI for the assessment of

- bone structure and function. *NMR Biomed.* **19**, 731–764 (2006).
20. Blumich, B. *NMR Imaging of Materials*. (OUP Oxford).
 21. Wehrli, F. W. Structural and functional assessment of trabecular and cortical bone by micro magnetic resonance imaging. *J. Magn. Reson. Imaging* **25**, 390–409 (2007).
 22. Du, J. & Bydder, G. M. Qualitative and quantitative ultrashort-TE MRI of cortical bone. *NMR Biomed.* **26**, 489–506 (2013).
 23. Wu, Y. *et al.* Multinuclear solid-state three-dimensional MRI of bone and synthetic calcium phosphates. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **96**, 1574–8 (1999).
 24. Wu, Y., Ackerman, J. L., Cheslert, D. A., Wang, J. & Glimcher, M. J. In vivo Solid State ³¹P MRI of Human Tibia at 1 . 5 T. **518**, 1998 (1998).
 25. Wu, Y. *et al.* Bone mineral imaged in vivo by ³¹P solid state MRI of human wrists. *J. Magn. Reson. Imaging* **34**, 623–33 (2011).
 26. Wurnig, M. C. *et al.* Characterization of trabecular bone density with ultra-short echo-time MRI at 1.5, 3.0 and 7.0T - comparison with micro-computed tomography. *NMR Biomed.* 1159–1166 (2014). doi:10.1002/nbm.3169
 27. Seifert, A. C. *et al.* ³¹P NMR relaxation of cortical bone mineral at multiple magnetic field strengths and levels of demineralization. *NMR Biomed.* **26**, 1158–1166 (2013).
 28. Wind, R. A. & Yannoni, C. S. United States Patent. (1981).
 29. Cory, D., Os, J. Van & Veeman, W. NMR images of rotating solids. *J. Magn. ...* **547**, 543–547 (1988).
 30. Wind, R. A., Hu, J. Z. & Rommereim, D. N. High-Resolution ¹H NMR Spectroscopy in a Live Mouse Subjected to 1.5 Hz Magic Angle Spinning. *Magn. Reson. Med.* **50**, 1113–1119 (2003).

Chapitre 1 :

État de l'art

L'objectif de ce travail est d'obtenir des images de matériaux solides, et notamment de biomatériaux osseux, à une échelle submillimétrique (de quelques dizaines à quelques centaines de μm), par la technique d'Imagerie de Résonance Magnétique nucléaire (IRM). Les signaux de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) de ces matériaux sont caractérisés par des largeurs de raies beaucoup plus importantes et des temps de relaxation de l'aimantation transversale beaucoup plus courts que ceux des tissus mous habituellement étudiés par imagerie de résonance magnétique. Ces raies larges proviennent de l'expression d'interactions caractéristiques de la RMN dans les matériaux solides. À travers l'explication des principes physiques sur lesquels sont basés la spectroscopie RMN et l'imagerie par résonance magnétique, ce chapitre présentera tout d'abord les sources de ces interactions ainsi que leurs conséquences sur l'acquisition de spectres ou d'images.

Dans un second temps, ce chapitre détaillera les principales approches permettant d'obtenir des images IRM de bonne qualité de matériaux solides. L'étude et la mise en perspective de ces méthodes permettra de choisir quelles méthodes adopter ou combiner pour effectuer la micro-imagerie de divers matériaux en fonction de leurs propriétés intrinsèques.

I) RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE

I.1. GRANDEURS NUCLEAIRES

I.1.1 Spin et moment magnétique

Le noyau d'un atome possède quatre propriétés fondamentales : la masse (m), la charge (q), le moment magnétique ($\vec{\mu}$) et le spin ($\vec{I}$).¹ Ces deux dernières donnent naissance au phénomène de résonance magnétique nucléaire.

L'appellation « spin » fait référence au moment angulaire ou cinétique intrinsèque de spin. C'est une grandeur vectorielle. Cependant, en pratique, la propriété de spin des noyaux est souvent qualifiée par un nombre (I) entier ou demi-entier : $\frac{1}{2}$, 1, $\frac{3}{2}$... Ce nombre, dit de spin, correspond au module du vecteur spin. Cette valeur est quantifiée et donne naissance à $2I+1$ états d'énergie pouvant varier par pas de 1 entre $+I$ et $-I$ et qui sont qualifiés par le nombre quantique magnétique (m_I).² Le spin nucléaire ainsi que le moment magnétique sont des propriétés intrinsèques du noyau et ne sont en aucun cas produits par la rotation de celui-ci.¹ En effet, la rotation du noyau ne peut expliquer ni les spins demi-entiers ni la valeur du spin.^{1,2} Le spin nucléaire est la somme vectorielle des spins des nucléons qui le composent : les protons et les neutrons. Ces deux particules possèdent un spin $\frac{1}{2}$. Il existe donc plusieurs états de spin pour un même isotope puisque les spins des nucléons peuvent adopter différentes conformations : parallèle ou anti parallèle. Cependant, ces différents états sont très différents en énergie (10^{11} kJ.mol⁻¹ par exemple, séparent les deux états du Deutérium : ^2H)¹ et seul l'état de plus basse énergie existe dans des conditions énergétiques classiques.

Il n'existe pas de règle générale pour prévoir la conformation des spins des nucléons et donc la valeur du spin nucléaire de plus basse énergie. Cependant, une règle empirique permet de différencier les isotopes de spin nul, demi-entier et entier :

- Un isotope comportant un nombre pair de protons et un nombre pair de neutrons possède un spin nul : ^{12}C , ^{16}O ...
- Un isotope comportant un nombre impair de protons et un nombre impair de neutrons possède un spin entier : ^2H , ^{14}N ...
- Un isotope comportant un nombre impair de nucléons possède un spin demi-entier : ^1H , ^{13}C ...

Le moment magnétique ($\vec{\mu}$) est lié au moment angulaire de spin ($\vec{I}$) par la relation : $\vec{\mu} = \gamma \hbar \vec{I}$ où γ est le rapport gyromagnétique et $\hbar$ la constante de Planck réduite ($= h/2\pi$). Le rapport gyromagnétique est une constante propre à chaque noyau, il est exprimé en rad.s⁻¹.T⁻¹.

Cette constante peut être positive ou négative. Le signe indique une orientation parallèle ou antiparallèle du moment magnétique par rapport au moment angulaire de spin.

C'est l'interaction du moment magnétique avec un champ magnétique externe et la présence du moment cinétique de spin qui donne naissance au phénomène de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).¹

I.2. DESCRIPTION DU PHENOMENE DE RESONANCE MAGNETIQUE

Depuis son observation dans la matière condensée (F. Bloch et E. M. Purcell, 1945),^{3,4} la Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) a toujours été décrite par deux modèles : le modèle classique introduit par F. Bloch⁵ et le modèle quantique proposé par E. M. Purcell.⁴ La RMN étant basée sur l'étude du spin qui est une propriété quantique, elle devrait théoriquement être décrite de façon quantique. Cependant, le principe de correspondance (Niels Bohr, 1923) permet d'utiliser la mécanique classique si le nombre de particules considéré est grand. C'est le cas dans la plupart des expériences de RMN : le comportement de l'aimantation macroscopique nucléaire dans les expériences basiques de RMN peut donc être décrit de façon classique puisque la mécanique quantique est dominée par la statistique.

L'avantage principal du formalisme classique est de fournir une approche intuitive et donc facilement extrapolable des séquences RMN et IRM de base : simple impulsion, écho de spin, écho de gradients... Cependant, pour la description de certaines interactions, notamment le couplage spin-spin indirect (J), ou certaines expériences RMN multi-impulsionnelle, le formalisme quantique est plus simple et donc préférable.

I.2.1 Description classique

Le comportement magnétique d'un ensemble de noyaux de spin non nul sera décrit ici de manière classique. Ce modèle permet de décrire le mouvement de précession d'un ensemble de spins non nul dans un champ magnétique ce qui est aujourd'hui à la base de la détection du signal RMN.

Considérons un ensemble de noyaux atomiques possédant un moment magnétique nucléaire $\vec{\mu}$ et un moment angulaire de spin $\vec{I}$ plongé dans un champ magnétique homogène $\vec{B}_0$. Le champ magnétique $\vec{B}_0$ exerce une force de torsion sur le moment magnétique $\vec{\mu}$ proportionnel à la vitesse angulaire du moment angulaire de spin $\vec{I}$.⁶

$$\hbar \frac{d\vec{I}}{dt} = \vec{\mu} \wedge \vec{B}_0$$

Et puisque $\vec{\mu} = \gamma \hbar \vec{I}$ on obtient :

$$\frac{d\vec{\mu}}{dt} = \gamma \vec{\mu} \wedge \vec{B}_0$$

Cette équation met en évidence que le mouvement du moment magnétique $\vec{\mu}$ est perpendiculaire au plan défini par $\vec{\mu}$ et $\vec{B}_0$. Ceci induit que la projection de $\vec{\mu}$ sur l'axe de $\vec{B}_0$

est constante et que son mouvement est une précession autour de $\vec{B}_0$. La fréquence associée à cette précession est nommée fréquence de précession ou fréquence de Larmor (ν_0) et est égale à :

$$\nu_0 = -\gamma B_0 / 2\pi \text{ (en Hz)}$$

Le signe moins de l'équation induit une fréquence de précession négative (pour un rapport gyromagnétique positif) ce qui correspond à une précession dans le sens horaire regardée dans le sens inverse au champ magnétique. Un ensemble de moments magnétiques nucléaires $\vec{\mu}$ associés à des moments angulaires de spin $\vec{I}$ et plongé dans un champ magnétique homogène $\vec{B}_0$ va donc adopter un mouvement de précession. Ce mouvement est créé par la force qui incite le moment magnétique à s'aligner dans la direction du champ magnétique externe et le moment cinétique de spin qui s'oppose à ce changement d'orientation.

1.2.2 Polarisation nucléaire

Dans le cas d'un ensemble de noyaux de spin non nul en présence d'un champ magnétique externe, les spins nucléaires ont tendance à s'orienter dans la direction du champ magnétique. Cependant, dans des conditions normales de température et pour les valeurs actuelles de champ magnétique utilisés en RMN (≤ 36 Teslas en 2017), l'énergie associée à cette réorientation est bien inférieure à l'énergie d'agitation thermique. Les spins nucléaires ont donc seulement une légère tendance à pointer dans la direction du champ (et aucune tendance à pointer dans la direction opposée). Cette tendance induit l'émergence d'une aimantation macroscopique nucléaire ($\vec{M}_0$) dans le sens du champ magnétique, définit par convention selon l'axe Z avec $\vec{i}_z$ le vecteur unitaire correspondant : $\vec{B}_0 = B_0 \vec{i}_z$.

Dans des conditions classiques de RMN ($B_0 = 11,4$ T et $T = 25^\circ\text{C}$, $\frac{\gamma \hbar B_0}{kT} \approx 10^{-4}$), la norme de l'aimantation macroscopique dans le sens du champ magnétique ($\vec{M}_0 = M_0 \vec{i}_z$), à l'équilibre thermique, peut être approximée à partir de la loi de distribution de Boltzman :⁶

$$M_0 = \frac{N \gamma^2 \hbar^2 I(I+1) B_0}{3kT}$$

où N est le nombre de noyaux du système, $\hbar$ est la constante de Planck réduite ($/2\pi$), I est le nombre de spin, B_0 est l'intensité du champ magnétique externe, k est la constante de Boltzmann, et T est la température.

À partir de l'application du champ magnétique externe, l'aimantation M(t) est créée progressivement suivant l'équation :

$$M(t) = M_0 (1 - e^{-t/T_1})$$

La constante de temps T_1 est appelée temps de relaxation longitudinal ou spin-réseau.

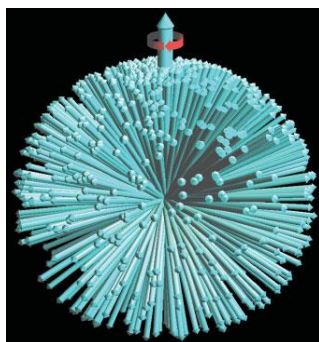


Figure 1: représentation de la distribution d'orientations des spins nucléaires en présence d'un champ magnétique. Une aimantation macroscopique (large flèche verticale) se forme progressivement avec une constante de temps T_1 (temps de relaxation longitudinal). Les spins précessent dans le sens de la flèche rouge (pour un rapport gyromagnétique positif). Figure extraite de Concept in Magnetic Resonance part A Vol 32A 329-340 de Lars G. Hanson.

Cette représentation de la polarisation nucléaire peut paraître en désaccord avec le modèle quantique car elle ne fait pas apparaître deux états d'énergie distincts. En réalité, la mécanique quantique indique que même les états propres du système ($|\alpha\rangle$ et $|\beta\rangle$ pour un spin $1/2$) possèdent une composante transversale indéterminée.¹ De plus, les spins d'une particule ne sont pas restreints à l'un des états propres, mais peuvent exister dans une superposition d'états.^{1,7,8} Ainsi, un spin, même sous l'influence d'un champ magnétique externe, peut pointer dans n'importe quelle direction de l'espace. Bien que les états propres du système soient une base de calcul importante, ils n'ont pas de réalité physique en RMN.¹

I.2.3 Résonance

Pour obtenir un signal facilement détectable, la méthode la plus utilisée actuellement est de basculer l'aimantation macroscopique produite par les moments magnétiques des noyaux perpendiculairement au champ magnétique externe.

Pour ce faire, un second champ magnétique $\vec{B}_1$ perpendiculaire à $\vec{B}_0$ est transitoirement appliqué. Pour basculer l'aimantation macroscopique en présence de $\vec{B}_0$, le champ $\vec{B}_1$ (intrinsèquement faible par rapport à $\vec{B}_0$) doit être résonant. Cela signifie qu'il doit être tournant à une fréquence proche de la fréquence de Larmor des spins sous l'effet de $\vec{B}_0$.

Dans ces conditions, le champ effectif $\vec{B}_{eff}$ formé par la combinaison de $\vec{B}_0$ et $\vec{B}_1$ forme un angle θ avec le champ $\vec{B}_0$ tel que :⁶

$$\tan \theta = \frac{B_1}{2\pi \nu/\gamma + B_0} = \frac{\nu_1}{\nu_0 - \nu}$$

Où $\nu_1 = \gamma \cdot B_1 / 2\pi$ est la fréquence de précession sous l'effet de $\vec{B}_1$; $\nu_0 = \gamma \cdot B_0 / 2\pi$ est la fréquence de précession sous l'effet de $\vec{B}_0$ et ν est la fréquence du champ tournant $\vec{B}_1$. L'angle θ n'est important que si la différence $\nu_0 - \nu$ est faible (au maximum de l'ordre de ν_1).

Pendant l'application de $\vec{B}_1$, les moments magnétiques vont précesser autour de $\vec{B}_{eff}$ et la distribution d'orientations de ces moments conduisant à l'aimantation macroscopique

originellement dirigée parallèlement à $\vec{B}_0$ va adopter un mouvement de nutation autour de $\vec{B}_{eff}$. La réorientation des moments magnétiques sous l'effet d'un champ magnétique tournant à leurs fréquences de Larmor est appelée résonance.

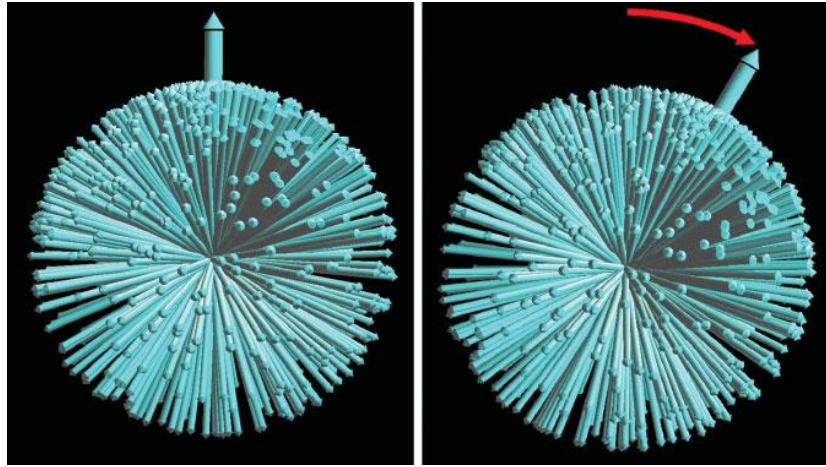


Figure 2: Nutation globale de la distribution des moments magnétiques des spins sous l'effet de B_1 conduisant à l'apparition d'une composante transversale de magnétisation. Figure extraite de Concept in Magnetic Resonance part A Vol 32A 329-340 de Lars G. Hanson.

En pratique, le champ $\vec{B}_1$ est un champ oscillant et non un champ tournant. Un champ oscillant polarisé linéairement peut être considéré comme la somme de deux champs tournants d'amplitudes égales tournant en sens opposés aux fréquences $+\nu$ et $-\nu$. Seul le champ tournant dans le sens de précession des moments magnétiques est efficace, le second champ n'a pas d'effet.

1.2.4 Aimantation transverse

Après l'application du champ $\vec{B}_1$ pendant une durée τ , ce qui correspond à l'application d'une impulsion radiofréquence (RF), la distribution des moments magnétiques et donc l'aimantation macroscopique ont dévié d'un angle α avec $\cos(\alpha) = \cos^2(\theta) + \sin^2(\theta) \cos(-\gamma B_{eff}\tau)$ par rapport à $\vec{B}_0$.⁶ Toujours sous l'influence de $\vec{B}_0$ les moments magnétiques gardent leur mouvement de précession à la fréquence de Larmor ν_0 . Cela provoque la précession des composantes transversales de l'aimantation macroscopique : $M_x(t)$ et $M_y(t)$ qui peuvent être décrite par :⁹

$$M_x(t) = M_0 \sin(\alpha) \cos(2\pi \cdot \nu_0 t) \exp(-t/T_2)$$

$$M_y(t) = M_0 \sin(\alpha) \sin(2\pi \cdot \nu_0 t) \exp(-t/T_2)$$

Avec T_2 la constante de temps avec laquelle les spins déphasent dues aux petites fluctuations locales de champ magnétique. Cette constante de temps (T_2) est nommée temps de relaxation transversale ou temps de déphasage de la cohérence.¹

1.2.5 Induction magnétique

La précession des composantes transversales de l'aimantation macroscopique génère un champ magnétique tournant associé à un champ électrique.¹ Si une bobine est placée autour de l'échantillon, le champ électrique va provoquer un déplacement d'électrons dans la bobine et donc un courant. Pour une bobine de réception orientée parallèlement à l'axe Ox, le courant produit est proportionnel à la composante M_x de l'aimantation transversale. L'enregistrement de ce courant oscillant permet d'obtenir le signal de précession libre, ou Free Induction Decay (FID) en anglais.

Le champ électrique qui donne naissance au signal RMN par induction magnétique Faraday peut être décomposé en deux types : le champ proche et le champ lointain. L'intensité relative de ces deux champs est définie par :^{10,11}

$$\frac{\text{Champ proche}}{\text{Champ lointain}} = \frac{c}{2\pi \cdot \nu r} = \frac{\lambda}{2\pi \cdot r}$$

Avec c : la célérité de la lumière, ν la fréquence du champ électrique, ici égale à la fréquence de Larmor, r : le rayon de la bobine et λ la longueur d'onde.

Dans la plupart des expériences RMN et IRM, la longueur d'onde est bien plus grande que le rayon de la bobine multiplié par 2π , c'est donc l'induction dite de champ proche qui est responsable de l'essentiel du signal RMN car la mesure de ce signal est effectuée très proche de l'échantillon. Il est intéressant de noter que les propagations dans l'espace du champ électrique proche et lointain sont différentes. L'intensité du champ électrique proche évolue en $2\pi \cdot \nu / r^2$ alors que celle du champ lointain évolue en $4\pi^2 \cdot \nu^2 / cr$.¹⁰ Si le champ électrique lointain est associé à une émission d'énergie à la vitesse de la lumière (c) ce n'est pas le cas du champ proche. Celui-ci ne peut donc pas être considéré comme une onde électromagnétique. La nature exacte de l'induction Faraday en champ proche est toujours en discussion, et certains auteurs la définissent comme des « photons virtuels ».^{10,11}

Avec l'émergence des appareils IRM corps entier à très haut champ, l'induction en champ lointain peut devenir non négligeable et être utilisée pour obtenir des images avec une homogénéité meilleure que celle obtenue avec des méthodes de réception de signal basées sur l'induction en champ proche.¹²



Figure 3: image d'une jambe par IRM in vivo avec : a) une détection en champ lointain b) une détection classique en champ proche. Image extraite de Travelling-wave nuclear magnetic resonance de D. O. Brunner, N. De Zanche, J. Frohlich, J. Paska, K. P. Pruessmann. Nature Letters 2009.

1.2.6 Transformation de Fourier

La précession des moments magnétiques d'un échantillon contenant différents environnements magnétiques conduit à l'obtention d'un FID contenant différentes fréquences d'oscillation. Ce signal temporel est difficilement interprétable. La transformation de Fourier est utilisée pour passer du domaine temporel au domaine fréquentiel et ainsi en séparer les différentes composantes.

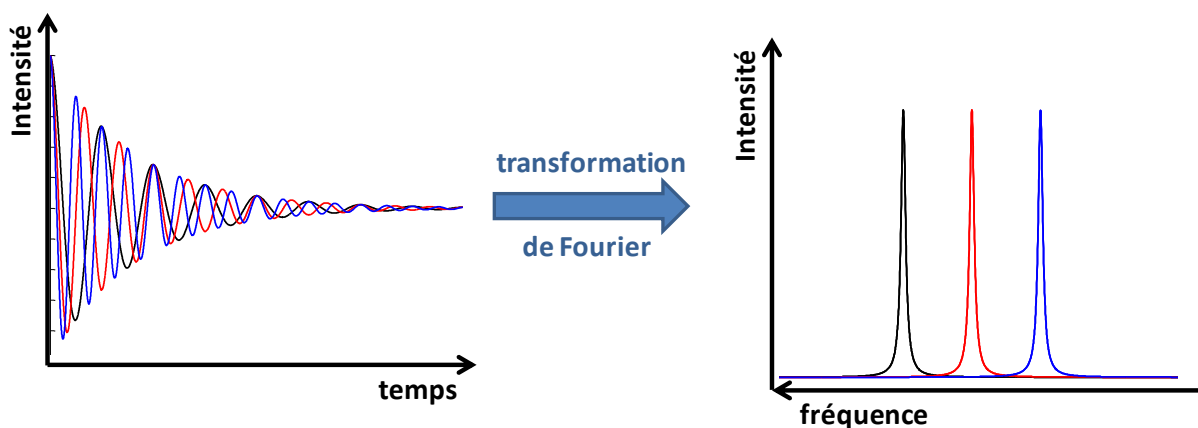


Figure 4 : Illustration d'un signal de précession libre contenant 3 fréquences (en réalité, le signal enregistré correspond à la somme des fréquences et donc à la somme des trois courbes) et du spectre correspondant obtenu par transformation de Fourier. Le nombre de fréquences présentes dans le FID est beaucoup plus lisible sur le spectre. La forme Lorentzienne des raies correspondantes aux différentes fréquences est due à l'atténuation du signal en exponentielle décroissante. Par convention, les fréquences de résonances sur le spectre sont décroissantes de gauche à droite.

En pratique, le signal électrique continu induit par la précession de l'aimantation est digitalisé, c'est-à-dire qu'il est converti en une suite de points. L'intervalle de temps entre ces points est nommé intervalle d'échantillonnage ou « dwell time (dw) ». L'inverse de cet intervalle définit la gamme spectrale du spectre RMN ou « spectral width (Swh) ». La transformation de Fourier préserve l'information de quantification car l'aire de la raie, obtenue dans le domaine fréquentiel, est proportionnelle à l'intensité de la composante temporelle qu'elle représente, et donc à l'aimantation macroscopique qui l'a créée.

Le nombre de points est aussi conservé pendant le passage du domaine temporel au domaine fréquentiel. Pour augmenter le nombre de points qui définissent le spectre RMN, il est possible d'ajouter des points à zéro à la fin de l'acquisition. Cette opération est appelée complétion de zéros de l'anglais « zero filling ».

La transformation de Fourier est effectuée sur des données complexes ce qui permet de différencier les fréquences positives et négatives après démodulation (soustraction de ν_{01} : la fréquence du centre de la fenêtre d'acquisition). La partie complexe du FID est obtenue par démodulation du signal avec une phase décalée de 90° .¹ Ce mode de détection est appelé détection en quadrature et permet d'obtenir des spectres asymétriques par rapport à ν_{01} .

I.3. LES INTERACTIONS EN RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE

Jusqu'ici, nous avons décrit le comportement d'un spin ou d'un ensemble de spins isolés et uniquement en interaction avec un champ magnétique externe homogène. En pratique, les spins des noyaux sont en interaction avec les champs électriques et magnétiques locaux qui les environnent. Les électrons qui entourent le noyau sont à l'origine de l'interaction de déplacement chimique. Les spins nucléaires voisins sont à l'origine du couplage dipolaire spin-spin direct à travers l'espace, et du couplage spin-spin indirect (J) à travers les liaisons chimiques. Si le noyau possède un moment quadripolaire électrique, ce qui est le cas des noyaux de spin $> 1/2$, il interagit aussi avec les champs électriques locaux (principalement dus aux électrons) par l'interaction quadripolaire. Les parties statiques de ces interactions modifient la fréquence de précession et les fluctuations, associées à des mouvements locaux dans la matière, contribuent aux phénomènes de relaxation T_1 et T_2 . De plus, ces interactions sont anisotropes, i.e dépendantes de l'orientation par rapport à $\vec{B}_0$.

Les objets complexes et hétérogènes, i.e. constitués de multiples matériaux ayant potentiellement des phases différentes (solide, liquide, gaz/porosité...) de susceptibilités magnétiques différentes. Les variations aux interfaces (gradients de susceptibilité) induisent des inhomogénéités de susceptibilité magnétique qui modifient localement le champ magnétique externe et altèrent la résolution spectrale.

I.3.1 Temps de relaxation transversaux d'un ensemble de spin : T_2 et T_2^*

En pratique, lors de l'observation d'un ensemble de spins, les variations de champ magnétique ressenties au sein de l'ensemble de spins vont induire une distribution de fréquences de précession et donc une défocalisation du signal de l'ensemble de spins avec une constante de temps T_2^* (cf. Figure 5) appelé temps de déphasage et induisant une largeur à mi-hauteur de la résonance RMN de l'ensemble des spins $\nu_{1/2} = \frac{1}{\pi T_2^*}$. Cette distribution de fréquences de précession est visible sur le spectre RMN sous forme d'un

élargissement de la résonance : la largeur à mi-hauteur de la résonance d'un seul spin est égale à $\frac{1}{\pi T_2}$ avec T_2 la constante de temps de relaxation transversale (en Hertz) alors que celle de l'ensemble de spin est égale à $\frac{1}{\pi T_2^*}$ avec T_2^* la constante de temps de déphasage.

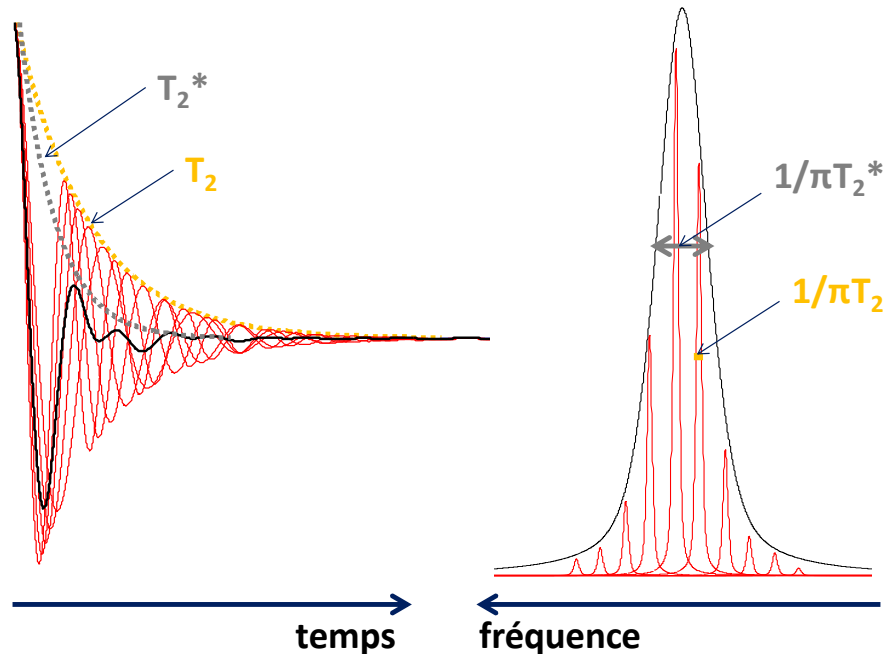
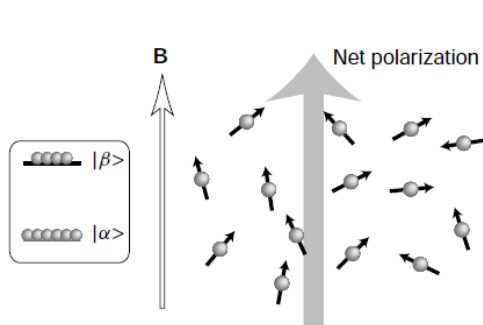


Figure 5 : Schéma de la décroissance exponentielle du signal d'un seul spin (en rouge) et d'un ensemble de spin dans des conditions réelles avec un champ magnétique légèrement inhomogène (en noir).

Ces variations de champ magnétiques peuvent être induites par des imperfections expérimentales, comme un champ magnétique légèrement inhomogène ou par l'expression d'interactions non équivalentes pour l'ensemble des spins, notamment les interactions anisotropes dans le cas de l'observation d'une poudre présentant une distribution d'orientations.

1.3.2 Description des interactions : méthode des perturbations

La description quantique du phénomène de résonance magnétique est souvent utilisée pour décrire les interactions, elle s'appuie sur la définition d'états d'énergie (états propres) du système de spin, et chaque interaction peut être vue comme une perturbation de l'énergie de ces états. Il est toutefois important de noter que la mécanique quantique ne force pas le spin à adopter l'un de ses états propres, et le spin est donc toujours dans une superposition d'états.^{1,7}



The population of a state does not indicate the fraction of spins that are 'in' that state. In the drawings given above, there are no individual spins that are polarized exactly along or against the external field and, therefore, no spins which are exactly in the states $|\alpha\rangle$ and $|\beta\rangle$. Under ordinary circumstances, the majority of spins are always in superpositions of the two energy eigenstates, and point in an arbitrary direction.

Figure 6 : Figure et citation extraite de *Spin Dynamics* de Malcom Levitt, second édition page 265.

Cette superposition d'états est rarement prise en compte pour la description des autres spectroscopies notamment vibrationnelle ou électronique. En effet, les superpositions d'états impliquées dans ces spectroscopies ont des temps de vie bien plus courts que les superpositions d'états de spins en raison de l'agitation thermique qui génère de fréquents échanges d'énergies entre les états électroniques ou vibrationnels. À l'inverse, le spin nucléaire est relativement peu sensible à ces mouvements rapides d'électrons, et la superposition d'états de spin peut donc avoir un temps de vie relativement important. De plus, les états de spin sont facilement manipulables par des impulsions radiofréquence alors qu'une manipulation équivalente des états électroniques et vibrationnels est beaucoup plus complexe.⁸

Cependant, même si les spins nucléaires sont dans une superposition d'états, les états propres et leurs valeurs propres associées peuvent servir de base de calcul pour prévoir les fréquences de résonance RMN.

En effet, la mécanique quantique définit que lors de la mesure d'une observable, le résultat sera toujours l'une des valeurs propres de l'opérateur correspondant à la mesure. La RMN peut être vue comme une double mesure d'énergie car elle mesure l'énergie de transition entre deux états. L'opérateur associé à la quantité d'énergie du système de spin va donc permettre de calculer l'énergie des états propres du système de spin et ainsi l'énergie de transition entre ces états. Cet opérateur est appelé Hamiltonien ($\hat{H}$).⁸

Cet Hamiltonien peut être décomposé en une somme des Hamiltoniens de chaque interaction.¹³ Ces interactions peuvent être classées dans deux catégories : les interactions externes et les interactions internes. Les interactions externes induites par les champs magnétiques B_0 et B_1 appliqués, sont respectivement l'interaction Zeeman et l'interaction avec le champ radiofréquence. Les interactions internes à l'échantillon induites par les champs magnétique et électrique locaux sont : le couplage quadripolaire, le déplacement chimique, les couplages dipolaires direct et indirect.

$$\hat{\mathcal{H}} = \hat{\mathcal{H}}_z + \hat{\mathcal{H}}_Q + \hat{\mathcal{H}}_{rf} + \hat{\mathcal{H}}_D + \hat{\mathcal{H}}_{CS} + \hat{\mathcal{H}}_j$$

100 MHz 250 kHz 100 kHz 50 kHz 1 kHz 10 Hz

$\hat{\mathcal{H}}_z$: l'Hamiltonien Zeeman correspondant à l'interaction avec le champ magnétique principal.

$\hat{\mathcal{H}}_Q$: l'Hamiltonien correspondant à l'interaction quadripolaire.

$\hat{\mathcal{H}}_{rf}$: l'Hamiltonien correspondant à l'interaction avec le champ radiofréquence.

$\hat{\mathcal{H}}_D$: l'Hamiltonien correspondant à l'interaction dipolaire directe.

$\hat{\mathcal{H}}_{CS}$: l'Hamiltonien correspondant à l'interaction de déplacement chimique.

$\hat{\mathcal{H}}_j$: l'Hamiltonien correspondant au couplage spin-spin ou dipolaire indirect ou couplage J.

Ici, les ordres de grandeur de chaque interaction sont donnés sous l'Hamiltonien correspondant.

1.3.3 L'Hamiltonien Zeeman

Pour un moment magnétique nucléaire $\vec{\mu}_1$ plongé dans un champ magnétique homogène $\vec{B}_0$ l'énergie du système peut être décrite par l'Hamiltonien Zeeman qui définit l'interaction entre le champ magnétique $\vec{B}_0$ et le moment magnétique $\vec{\mu}_1$ et s'écrit :

$$\hat{\mathcal{H}}_z = -\vec{\mu}_1 \cdot \vec{B}_0 = -\gamma B_0 \hat{I}_z$$

Où $\hat{I}_z$ est un opérateur qui représente la composante du moment cinétique de spin suivant l'axe Z parallèle au champ magnétique $\vec{B}_0$. L'opérateur $\hat{I}_z$ possède $(2I+1)$ fonctions propres (associées à des valeurs propres) caractérisées par le nombre quantique magnétique m_I . Celui-ci adopte des valeurs variant de $-I$ à $+I$ par pas de 1. Si l'on considère un spin avec $I = \frac{1}{2}$ cela induit l'existence de deux états propres d'énergies du système (les valeurs propres de $\hat{\mathcal{H}}$) définis par :

$$E_\alpha = -\frac{1}{2}\gamma B_0 \text{ et } E_\beta = \frac{1}{2}\gamma B_0$$

Il existe une transition permise ($\Delta m_I = 1$) entre ces deux états d'énergie :

$$E_\beta - E_\alpha = -\gamma B_0 / 2\pi = \nu_0$$

L'énergie associée à cette transition est égale à $-\gamma B_0$ et donc à ν_0 : la fréquence de Larmor prédite par les équations de mouvement de la mécanique classique.

Ce modèle permet d'expliquer l'absorption d'une onde radiofréquence à la fréquence de résonance. Toutefois il est faux d'en conclure que le signal RMN provient de l'émission spontanée ou stimulée d'une onde radiofréquence.¹¹

1.3.4 Écrantage électronique

Sous l'effet du champ magnétique principal, la circulation des électrons du nuage électronique autour du noyau produit un champ magnétique induit ($\vec{B}_{\text{induit}}$). Le champ magnétique ressenti par le noyau s'écrit :

$$\vec{B}_{\text{noyau}} = \vec{B}_0 + \vec{B}_{\text{induit}}$$

L'amplitude du champ induit est linéairement dépendante de l'amplitude du champ B_0 et le champ ressenti peut donc être défini par : $B_{\text{noyau}} = B_0 \cdot (1 - \sigma)$ avec σ la constante d'écrantage électronique ou constante d'écran.

L'Hamiltonien de l'interaction de déplacement chimique $\hat{\mathcal{H}}_{\text{CS}}$ s'écrit donc :

$$\hat{\mathcal{H}}_{\text{CS}} = -\hat{\gamma} \hat{\sigma} \vec{B}_0$$

Dans les solides, l'interaction de déplacement chimique peut être fortement anisotrope, ce qui signifie que sa valeur dépend de l'orientation dans l'espace du nuage électronique. Cette interaction est décrite par un tenseur de rang 2 de façon à en modéliser l'anisotropie.^{1,14}

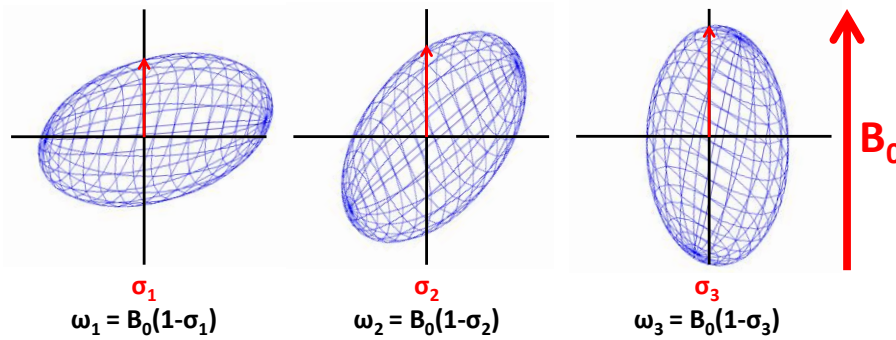


Figure 7 : représentation d'une interaction de déplacement chimique ellipsoïdale pour trois orientations différentes du tenseur d'écrantage électronique, la valeur de la constante d'écran dirigée parallèlement au champ magnétique est représentée par la flèche rouge.

Seule la composante parallèle au champ magnétique $\vec{B}_0$ définit la valeur de la constante d'écran et donc la fréquence de résonance. Pour un même environnement, la valeur de la fréquence de résonance est donc dépendante de l'orientation par rapport à $\vec{B}_0$. L'Hamiltonien séculaire s'écrit :

$$\hat{\mathcal{H}}_{\text{CS}} = -\hat{\gamma} \hat{\sigma}_z \vec{B}_0$$

Avec σ_z la composante du tenseur suivant l'axe de $\vec{B}_0$, ici Z.

L'interaction de déplacement chimique anisotrope est caractérisée dans son référentiel propre ici défini par les axes XX, YY et ZZ. Dans ce référentiel, le tenseur de rang 2 est caractérisé par 3 valeurs propre σ_{xx} , σ_{yy} et σ_{zz} avec $\sigma_{zz} > \sigma_{xx} > \sigma_{yy}$. Ce référentiel est représenté en Figure 8.

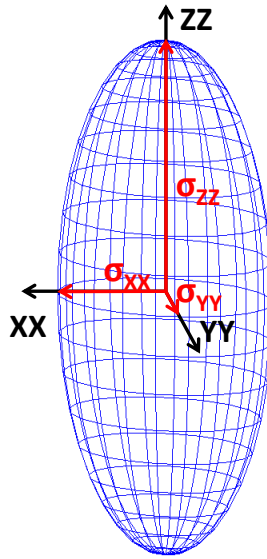


Figure 8 : Représentation du tenseur de rang 2 de l'interaction de déplacement chimique dans son référentiel propre.

Ces trois valeurs propres permettent de calculer :

Le terme isotrope du tenseur d'écran : $\sigma_{iso} = \frac{1}{3} \cdot (\sigma_{XX} + \sigma_{YY} + \sigma_{ZZ})$

L'anisotropie d'écrantage : $\sigma_{CSA} = \sigma_{ZZ} - \sigma_{iso}$ (si $\sigma_{CSA} = 0$, le tenseur est de symétrie sphérique)

L'asymétrie du tenseur : $\eta_{CSA} = \frac{\sigma_{YY} - \sigma_{XX}}{\sigma_{ZZ} - \sigma_{iso}}$ (compris entre 0 et 1 si $\eta_{CSA} = 0$ le tenseur est de symétrie axiale.)

Selon la convention de Haeberlen¹⁵, le changement de fréquence dû à l'interaction de déplacement chimique peut être calculé en fonction des angles α et β qui sont les angles d'Euler appliqués respectivement autour de l'axe ZZ puis YY' et qui permettent de passer du référentiel propre de l'interaction au référentiel du champ magnétique $\vec{B}_0$.¹ La fréquence de résonance est définie par :

$$\nu_{(\alpha, \beta)} = -\nu_0 \cdot (\sigma_{iso} + \frac{1}{2} \sigma_{CSA} (3 \cdot \cos^2 \beta - 1 - \eta_{CSA} \sin^2 \beta \cos 2\alpha))$$

L'anisotropie de cette interaction va dépendre des orbitales électroniques qui entourent le noyau. Elle est donc relativement faible pour le ^1H entouré d'une orbitale 1s sphérique, elle devient plus importante pour le ^{13}C et le ^{19}F entourés d'orbitales 2p beaucoup moins symétriques et peut être extrêmement forte pour des éléments lourds fortement polarisables tels que le ^{119}Hg ou le ^{207}Pb .

La forme théorique d'une résonance RMN d'un monocristal et d'une poudre pour une anisotropie de déplacement chimique $\sigma_{CSA} = -2000$ Hz et un paramètre d'asymétrie $\eta_{CSA} = 0,5$ sont présentés en Figure 9.

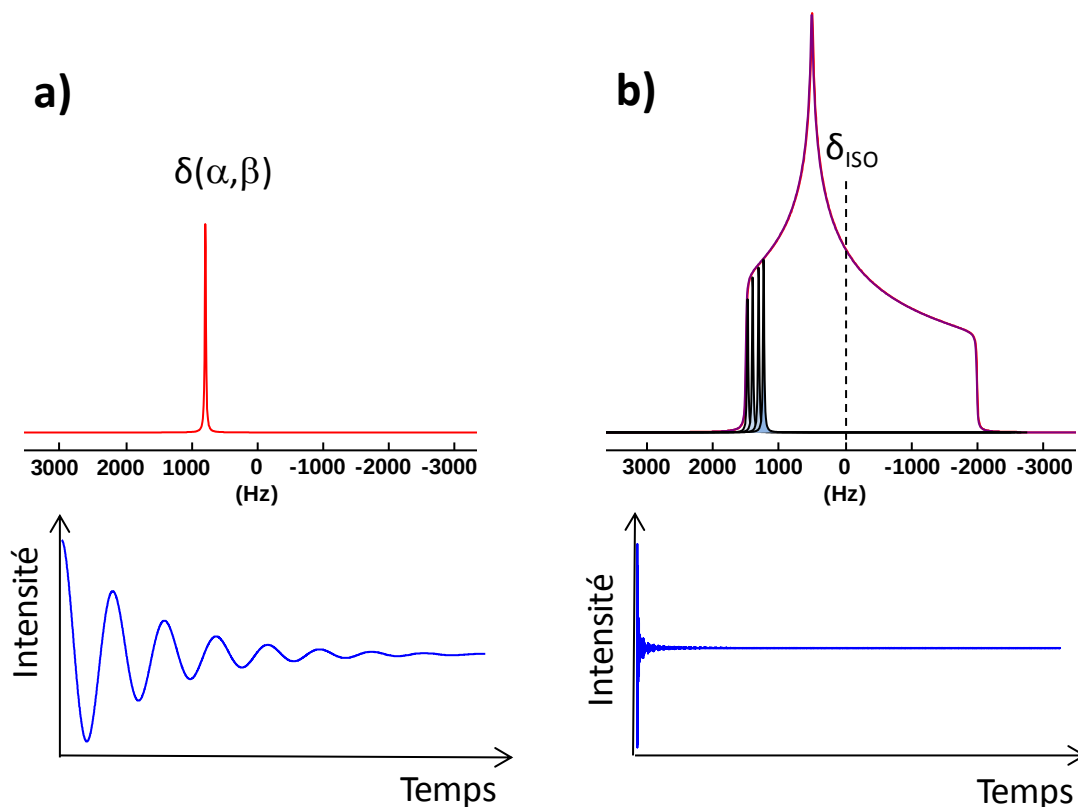


Figure 9 : Exemples de spectres RMN théoriques d'un noyau de spin $\frac{1}{2}$ en considérant uniquement l'interaction de déplacement chimique (avec un seul environnement) : (a) dans le cas d'un monocristal avec une orientation (α, β) par rapport à $\vec{B}_0$ et (b) d'une poudre pour une anisotropie de déplacement chimique $\sigma_{CSA} = -2000$ Hz et un paramètre d'asymétrie $\eta_{CSA} = 0,5$. Les signaux de précession libre associés à ces spectres sont schématisés en dessous.

Dans le cas du monocristal (idéal), on observe une raie fine dont la largeur est liée à la constante de temps de relaxation transversale T_2 . Dans le cas de la poudre, la présence d'une distribution de fréquences liée à la distribution d'orientations induit une défocalisation du signal plus rapide en T_2^* : la constante de temps de défocalisation.

1.3.5 Déplacement chimique

La fréquence de Larmor et l'interaction de déplacement chimique isotrope et anisotrope sont linéairement proportionnelles au champ magnétique B_0 appliqué. Pour s'affranchir de la dépendance au champ magnétique externe et pouvoir comparer des spectres enregistrés à différents champs, le déplacement chimique (δ) exprimé en partie par million (ppm) est introduit :

$$\delta = \frac{\nu_0 - \nu_{ref}}{\nu_{ref}} * 10^6$$

Avec ν_{ref} la fréquence d'un composé de référence au même champ magnétique.

1.3.6 Le couplage dipolaire direct

Les noyaux atomiques de spin non nul sont magnétiques et génèrent donc un champ magnétique. Le couplage dipolaire direct est l'interaction à travers l'espace entre le moment magnétique d'un noyau et le champ magnétique généré par le moment magnétique d'un noyau voisin. Cette interaction est mutuelle car si le moment magnétique d'un noyau I interagit avec le moment magnétique d'un noyau S alors l'inverse est vrai aussi. Comme cette interaction se propage à travers l'espace, elle peut être intramoléculaire ou intermoléculaire.

La constante de couplage dipolaire entre deux spins I et S est notée b_{IS} et peut être calculée par :

$$b_{IS} = \frac{-\mu_0 \gamma_I \gamma_S \hbar}{4\pi r_{IS}^3}$$

Où γ_I et γ_S sont les rapports gyromagnétiques des deux noyaux ; r la distance entre les deux noyaux et μ_0 la constante magnétique ($4\pi \cdot 10^{-7} \text{ H.m}^{-1}$).

La constante de couplage dipolaire n'est pas dépendante de l'orientation par rapport au champ magnétique $\vec{B}_0$. Cependant, l'Hamiltonien dipolaire ($\hat{\mathcal{H}}_D$) qui permet de calculer la modification énergétique des états propres de spin est dépendant de l'orientation et peut être décrite par :

$$\hat{\mathcal{H}}_D = \frac{\mu_0}{4\pi} \gamma_I \gamma_S \hbar \left(\frac{\vec{I} \cdot \vec{S}}{r_{IS}^3} - 3 \frac{(\vec{I} \cdot \vec{r}_{IS})(\vec{S} \cdot \vec{r}_{IS})}{r_{IS}^5} \right)$$

Dans le cas d'un couplage dipolaire hétéronucléaire entre deux spins I et S, cet Hamiltonien peut être simplifié en :

$$\hat{\mathcal{H}}_D = \frac{\mu_0}{4\pi} \frac{\gamma_I \gamma_S \hbar}{r_{IS}^3} (1 - 3\cos^2\theta) \hat{I}_z \cdot \hat{S}_z$$

Dans le cas d'un couplage homonucléaire entre deux spins « I », il s'écrit sous forme plus complexe :

$$\hat{\mathcal{H}}_D = \frac{\mu_0}{4\pi} \frac{\gamma_I^2 \hbar}{r_{II}^3} (1 - 3\cos^2\theta) \left\{ \hat{I}_{1z} \hat{I}_{2z} - \frac{1}{4} (\hat{I}_{1+} \hat{I}_{2-} + \hat{I}_{1-} \hat{I}_{2+}) \right\}$$

Avec θ l'angle entre le champ magnétique externe et le vecteur dipolaire entre les deux noyaux.

Dans le cas d'une poudre et pour une paire de spins isolée de même déplacement chimique, une anisotropie de symétrie axiale de l'interaction de couplage dipolaire induit une distribution de fréquences de forme caractéristique de doublet de Pake, représentée en rouge en Figure 10a. Ce doublet de Pake est issu de la distribution de fréquences de résonances fines induite par la distribution d'orientations présente dans la poudre. Cette situation correspond à un élargissement inhomogène (comme pour l'anisotropie de déplacement chimique).

Le temps de défocalisation T_2^* proportionnel à la largeur à mi-hauteur du doublet de Pake est court mais le temps de relaxation transversale T_2 de chacune des orientations est beaucoup plus long.

En revanche, dans le cas d'une poudre contenant des noyaux de spins $\vec{I}$ abondants et possédant un rapport gyromagnétique (γ) élevé (ex : ^1H , ^{19}F ...) formant un ensemble de spins homonucléaire fortement couplé, les interactions dipolaires créent aussi des élargissements homogènes, indépendants de l'orientation qui conduisent à des largeurs de raies importantes pour chacune des orientations. Cette situation est présentée en Figure 10 b. Le temps de défocalisation T_2^* proportionnel à la largeur à mi-hauteur de la distribution d'orientation est court et le temps de relaxation transversale T_2 correspondant à chacune des orientations l'est aussi.

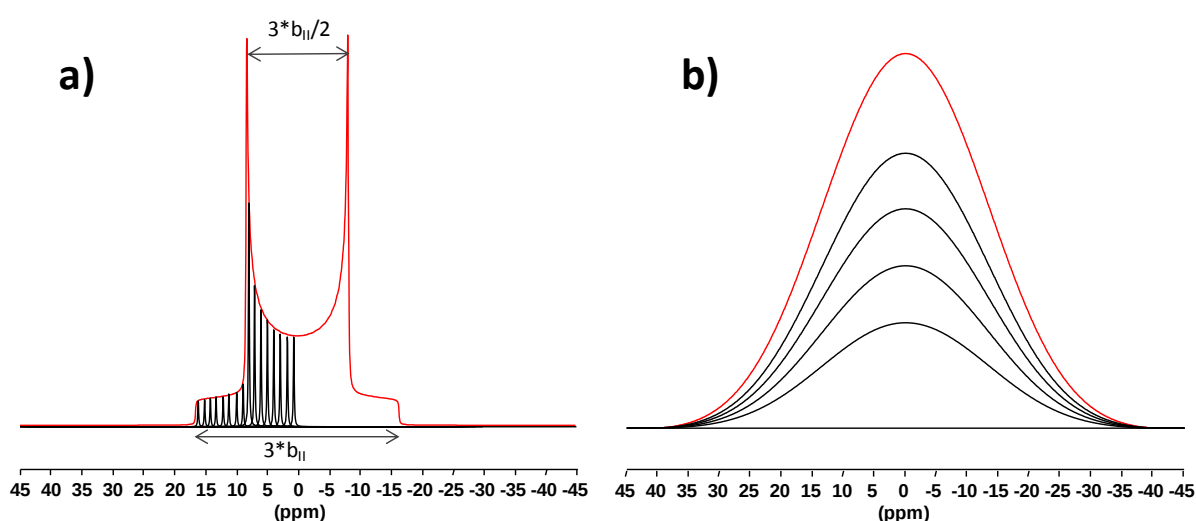


Figure 10 : Exemple de spectres RMN théoriques de noyaux de spin $\frac{1}{2}$ dans le cas d'une poudre en considérant uniquement l'interaction de couplage dipolaire homonucléaire de symétrie axiale entre (a) une paire de spins I de même déplacement chimique (ici 0 ppm) avec une constante dipolaire b_{IS} de 2000 Hz (b) un réseau de noyaux de spin I abondants et à γ élevé formant un ensemble de spins homonucléaires fortement couplé et conduisant à un élargissement homogène.

Il est à noter que le terme de dépendance angulaire au champ magnétique $\vec{B}_0$: $1-3\cos^2\theta$ s'annule pour un angle θ égal à $54,74^\circ$ appelé l'angle magique. Les noyaux à haut rapport gyromagnétique (^1H , ^{19}F ...) souvent utilisés en imagerie en raison de leur sensibilité sont souvent sujets à l'élargissement dipolaire homogène, et ce proportionnellement à la densité et à la rigidité du réseau nucléaire. En phase liquide, le mouvement brownien moyenne la partie séculaire du couplage dipolaire direct. En raison de ses fluctuations l'interaction dipolaire directe est alors l'une des principales sources de relaxation en RMN liquide.

1.3.7 Interaction de couplage spin-spin indirect (J)

L'interaction d'un moment magnétique nucléaire avec le champ magnétique issu d'un moment magnétique voisin peut aussi être transmise à travers les liaisons chimiques. Contrairement aux interactions précédentes, le couplage spin-spin indirect est difficilement conceptualisable avec une approche de mécanique classique. À l'inverse, avec une approche basée sur les états énergétiques où chaque spin est considéré comme étant dans l'un des états propres du système, son existence peut être facilement expliquée.

Si l'on considère un spin $\frac{1}{2}$, « I » relié par une liaison chimique à second spin $\frac{1}{2}$ « S », le spin I peut avoir comme voisin un spin S dans l'état α ou dans l'état β . Le spin S produit un petit champ magnétique transmis au spin I par l'intermédiaire des électrons de liaison possédant eux aussi un spin et donc des propriétés magnétiques. Ceci va modifier la fréquence de résonance du spin I de $\pm \frac{1}{2} J$ en fonction de l'orientation relative de I et S : pour des spins parallèles la constante J est positive et pour des spins antiparallèles elle est négative. Le spectre du spin I sera donc un doublet de résonances centrées sur le déplacement chimique de I et distantes de $2 \times \frac{1}{2} J$ soit J. Comme le spin S interagit avec le spin I l'inverse est vrai aussi et le spectre du spin S sera donc aussi un doublet avec la même constante de couplage J.

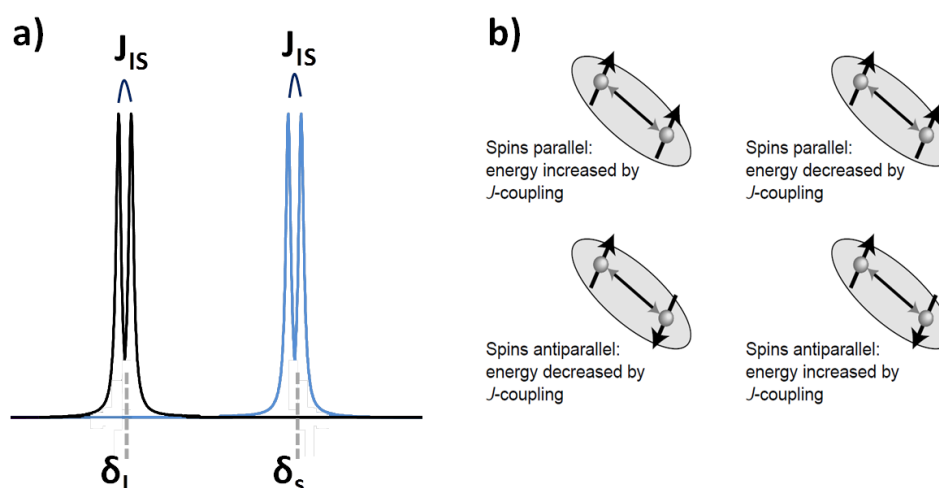


Figure 11 : a) doublet formé par l'existence d'un couplage dipolaire indirect entre deux spins I et S. b) Conformation induisant des valeurs de J positives ou négatives. Ce raisonnement ne fonctionne que pour des couplages à travers une unique liaison chimique. Image extraite de Spin Dynamics de M. Levitt.

L'Hamiltonien de cette interaction $\hat{\mathcal{H}}_J$ s'écrit :

$$\hat{\mathcal{H}}_J = 2\pi J_{IS} \hat{I}_I \cdot \hat{I}_S$$

Avec J_{IS} un tenseur de rang deux.

Cette interaction est indépendante du champ magnétique B_0 et peut être homonucléaire ou hétéronucléaire. Cela en fait un outil indispensable pour sonder les connectivités chimiques entre noyaux ainsi que les angles de liaisons car ils modulent la valeur de ce couplage.¹⁶

Comme la valeur de cette interaction est petite (dizaines de Hz), l'élargissement qu'elle induit n'est généralement pas considéré comme problématique en IRM.

En revanche, cette interaction est connue pour moduler l'intensité obtenue par des séquences de multi-échos de spin notamment du signal de la graisse.^{17,18}

1.3.8 Interaction quadripolaire

Les noyaux dont le nombre quantique de spin est supérieur à ½ comptent plusieurs transitions permises ($\Delta m = 1$), et possèdent une distribution des charges nucléaires non sphérique qui induit l'existence d'un moment quadripolaire électrique (eQ). Ce moment quadripolaire électrique interagit avec les gradients de champ électrique locaux présents autour du noyau. Cette interaction est appelée interaction quadripolaire, elle peut être très intense (> plusieurs kHz), anisotrope, et affecte différemment les différentes transitions nucléaires. Elle induit des formes de raies complexes, mais riches en information sur la structure locale de l'échantillon solide. En phase liquide, la partie séculaire de l'interaction quadripolaire est moyennée mais la partie non séculaire est une source importante de relaxation.

L'Hamiltonien quadripolaire ($\hat{\mathcal{H}}_Q$) s'écrit :¹

$$\hat{\mathcal{H}}_Q = \frac{eQ}{2I(2I-1)\hbar} \hat{I} \cdot \bar{V} \cdot \hat{I}$$

Avec eQ le moment quadripolaire électrique qui est une propriété intrinsèque du noyau, et $\bar{V}$ le tenseur de rang 2 du gradient de champ électrique. Dans le repère propre de l'interaction, ce tenseur est défini par trois valeurs propres (V_{xx} , V_{yy} et V_{zz}) avec $|V_{yy}| \leq |V_{xx}| \leq |V_{zz}|$ et $|V_{yy}| + |V_{xx}| + |V_{zz}| = 0$ car ce tenseur est de trace nulle.

En RMN, le couplage quadripolaire est défini à l'aide de la constante de couplage quadripolaire C_Q et de son asymétrie η_q .

$$C_Q = \frac{eQV_{zz}}{h} \quad \eta_q = \frac{(V_{xx} - V_{yy})}{V_{zz}}$$

L'Hamiltonien du premier ordre de l'interaction quadripolaire s'écrit :

$$\hat{\mathcal{H}}_Q^1 = \omega_Q^{(1)} \times \frac{1}{6} (3\hat{I}_Z^2 - I(I+1)\hat{1})$$

Pour un tenseur de symétrie axiale ($\eta_q = 0$), $\omega_Q^{(1)}$ s'écrit :

$$\omega_Q^{(1)} = \frac{3\pi C_Q}{I(2I-1)} \times \frac{1}{2} (3 \cos^2 \theta_Q - 1)$$

Avec θ_Q l'angle entre l'axe principal du repère propre de l'interaction et le champ magnétique $\vec{B}_0$.

Comme cette interaction est souvent très intense, un traitement perturbatif au premier ordre est insuffisant, et la composante de l'interaction au second ordre est souvent nécessaire pour décrire pleinement les effets du couplage quadripolaire sur le spectre. L'expression de cette composante au second ordre est très complexe¹⁹ et ne sera pas détaillée ici.

Le spectre RMN d'un noyau de spin $5/2$ en présence d'un couplage quadripolaire avec un tenseur de champ électrique de symétrie axiale ($\eta_q = 0$) est présenté en Figure 12.

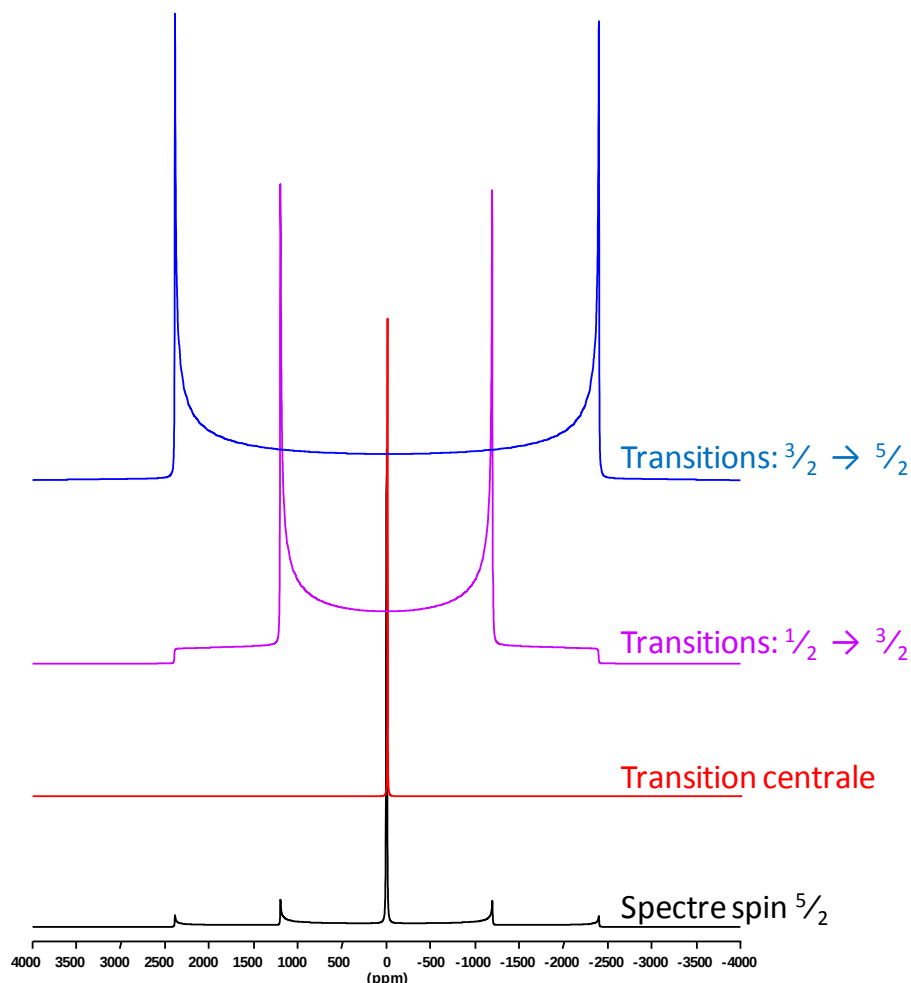


Figure 12 : Spectre RMN théorique obtenu avec DMfit d'un noyau de spin $5/2$ avec un déplacement chimique isotrope de 0 ppm et un $C_Q = 1,66$ MHz à 9,4 T (en noir), les spectres normalisés des différentes transitions sont représentés séparément au-dessus en rouge, violet et bleu pour les transitions : centrale, $1/2 \rightarrow 3/2$ et $3/2 \rightarrow 5/2$ respectivement.

La transition centrale n'est pas affectée par le premier ordre quadripolaire, et sera donc la moins élargie par l'interaction. Elle est cependant affectée par les ordres supérieurs de l'interaction, notamment le terme de second ordre. Le second ordre de l'interaction quadripolaire est inversement proportionnel au champ magnétique B_0 et sera donc réduit à très haut champ magnétique.

1.3.9 Susceptibilité magnétique

Les objets étudiés couramment en SRM et en IRM sont amagnétiques, c'est-à-dire qu'ils ne possèdent pas de moments magnétiques permanents. Par contre, la plupart des matériaux présentent un comportement magnétique induit, c'est-à-dire que sous l'influence d'un champ magnétique ils acquièrent un moment magnétique.

Celui-ci peut être calculé par :¹

$$\mu_{\text{induit}} = \mu_0^{-1} V \chi B_0$$

Avec $\mu_0 = 4\pi \cdot 10^{-7} \text{ H.m}^{-1}$ la constante magnétique, V le volume de l'objet, B_0 le champ magnétique externe, et χ la susceptibilité magnétique du matériau (sans dimension).

Les matériaux avec une susceptibilité magnétique positive sont appelés paramagnétiques et vont avoir tendance à déformer les lignes de champ magnétique vers l'intérieur de l'objet. À l'inverse, les matériaux avec un $\chi < 0$ sont appelés diamagnétiques et déforment les lignes de champ vers l'extérieur de l'objet. Il est à noter que le magnétisme induit n'est pas immédiat, mais a besoin de temps pour apparaître.

On constate enfin que le moment magnétique induit est proportionnel au champ magnétique B_0 . Ceci signifie que le gradient de susceptibilité magnétique qui s'établit à l'interface entre deux milieux magnétiquement différents est lui-même proportionnel à B_0 . Les inhomogénéités de champ magnétique locales vont donc s'accroître avec l'augmentation du champ principal, altérant par là même la résolution spectrale.

I.3.10 Refocalisation des interactions, mesure de T_2

Dans certaines conditions, la défocalisation des aimantations due à l'effet de la partie statique des interactions peut être refocalisée par des séquences multi-impulsionnelles. Ces séquences sont appelées échos, la plus célèbre est l'écho de spin ou écho de Hahn qui permet de refocaliser l'effet des interactions linéaires en $\hat{I}_z$, présenté en Figure 13.

Le principe de cette séquence est facilement conceptualisable : après la première impulsion radiofréquence, le système de spins évolue sous l'influence de toutes les interactions, et les spins se défocalisent donc avec la constante de temps T_2^* nommée temps de défocalisation. Cependant, après un temps d'évolution de $\tau/2$, une impulsion radiofréquence d'un angle de π est appliquée, elle inverse l'aimantation, ce qui correspond à une inversion du signe des Hamiltoniens linéaire en $\hat{I}_z$. Les spins vont alors évoluer dans le sens opposé et se refocaliser après un second temps d'évolution de $\tau/2$ pour former un écho de spin.

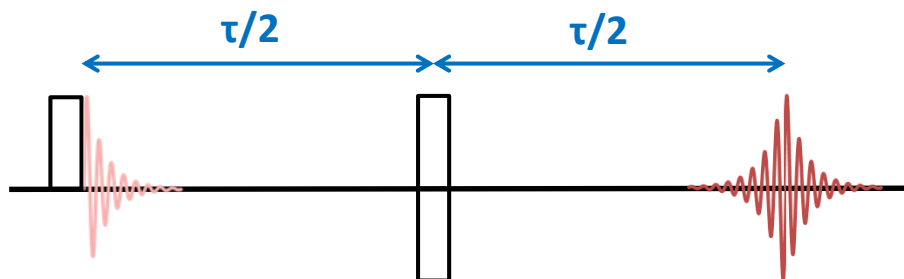


Figure 13 : Séquence d'écho de spin

Cette séquence est utilisée pour mesurer le temps de relaxation transversale en incrémentant le temps τ , et en mesurant la décroissance du signal au sommet de l'écho.

Cependant, comme la séquence d'écho de spin ne refocalise pas toutes les interactions, mais uniquement celles linéaires en $\hat{I}_z$, la constante de décroissance mesurée ne correspond pas à celle du temps de relaxation transversale T_2 théorique ; elle sera donc appelée T_2' . Le T_2' correspond à la constante de décroissance du signal pour une séquence donnée, elle est toujours inférieure ou égale à T_2 . D'autres séquences ont été mises au point pour refocaliser les interactions bilinéaires en $\hat{I}_z$, dont notamment la séquence d'écho magique²⁰ pour refocaliser l'interaction dipolaire homonucléaire, ou l'écho solide²¹ pour refocaliser le premier ordre de l'interaction quadripolaire.

En effectuant l'acquisition du signal RMN de manière indirecte, c'est-à-dire en incrémentant le temps d'écho et en enregistrant un point de la FID au sommet de l'écho à chaque expérience, il est possible d'obtenir un spectre RMN découplé des interactions refocalisées par l'écho. Cependant, cette méthode est intrinsèquement longue car l'acquisition indirecte du FID nécessite de répéter la séquence de nombreuses fois. D'autres méthodes ont donc été développées pour permettre l'acquisition de spectres RMN de haute résolution.

1.3.11 Spectre haute résolution solide par rotation de l'échantillon à l'angle magique

Dans les solides, la plupart des échantillons présentent une distribution d'orientation de leurs motifs moléculaires ce qui induit un élargissement important des résonances RMN par les interactions anisotropes. La technique de rotation à l'angle magique^{22,23} (communément désignée MAS pour « Magic Angle Spinning ») permet, par une rotation mécanique de l'échantillon, de moyenner la dépendance angulaire de la composante spatiale de certaines interactions anisotropes. En effet, les interactions anisotropes de déplacement chimique, de couplage dipolaire, ainsi que le premier ordre du couplage quadripolaire, présentent une dépendance angulaire à l'orientation par rapport au champ magnétique $\vec{B}_0$. Cette dépendance angulaire se traduit par la modulation de la modification de fréquence due à l'interaction par le terme $1-3\cos^2\theta$ où θ est l'angle entre l'un des axes propres de l'interaction et le champ magnétique $\vec{B}_0$. Une rotation macroscopique de l'échantillon ou du champ magnétique principal à un angle $\theta_{MAS} = 54,74^\circ$ permet de moyenner ce terme à zéro sur une période de rotation.²⁴ Si la fréquence de rotation de l'échantillon est très supérieure à la fréquence de l'interaction, celle-ci est moyennée et l'on obtient le spectre isotrope, sinon elle est modulée par la fréquence de rotation ce qui se traduit par l'apparition sur le spectre RMN d'un peigne de bandes de rotation aux multiples de la fréquence de rotation.

Sous l'effet de la rotation à l'angle magique, les résonances élargies par des interactions inhomogènes telles que l'anisotropie de déplacement chimique ou le couplage dipolaire de spins dilués vont éclater en fines bandes de rotations même à faible vitesse de rotation. En revanche, les spectres élargis par un couplage dipolaire fort présentant un élargissement homogène vont être décomposés en bandes de rotation larges qui s'affineront avec l'augmentation de la fréquence de rotation comme présenté en Figure 14.

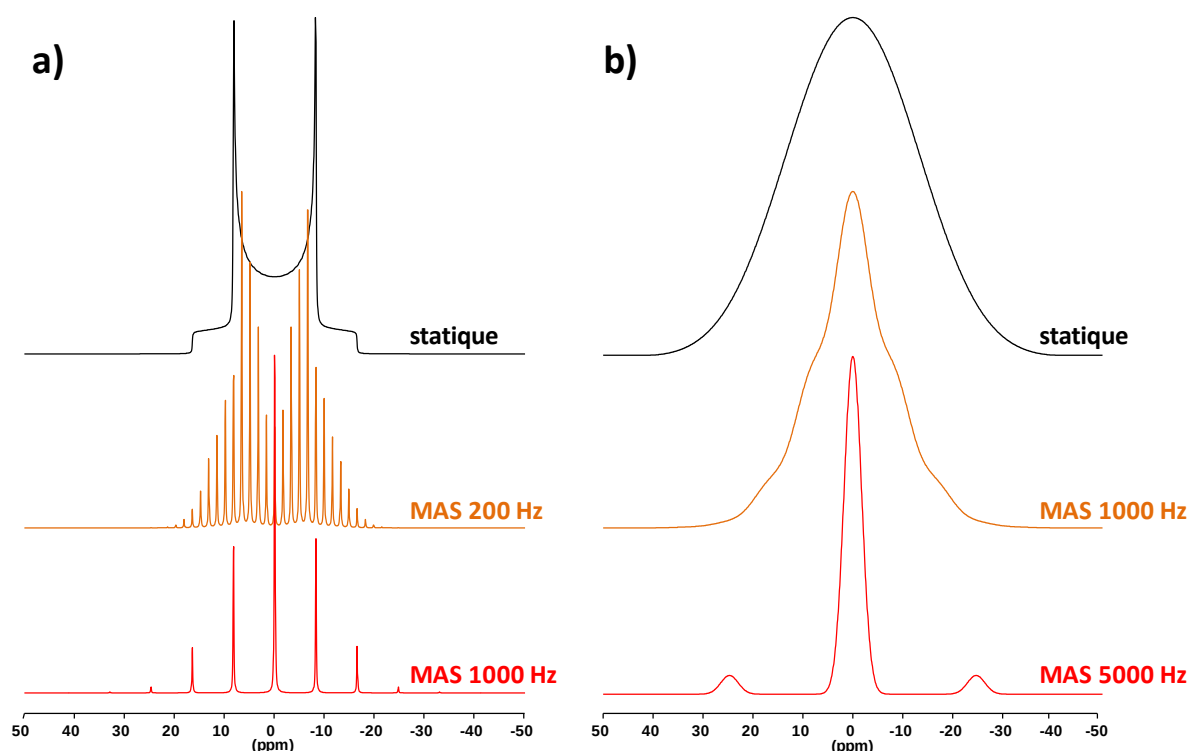


Figure 14 : Spectres théoriques en conditions statique et MAS à différentes vitesses d'une poudre de noyaux de spin $\frac{1}{2}$ sous l'effet d'un couplage dipolaire : (a) inhomogène, (b) homogène.

Dans le cas de l'interaction quadripolaire, le premier ordre est moyenné par la rotation à l'angle magique de la même façon que les autres couplages inhomogènes car il présente une dépendance angulaire définie par un polynôme de Legendre d'ordre 2 qui s'annule à l'angle magique. Le second ordre en revanche est dépendant d'un polynôme de Legendre d'ordre 4 qui ne s'annule pas à l'angle magique mais est seulement réduit. Les bandes de rotation et la transition centrale sont donc toujours élargies par le second ordre quadripolaire, et ce même à vitesse de rotation infinie comme présenté en Figure 15.

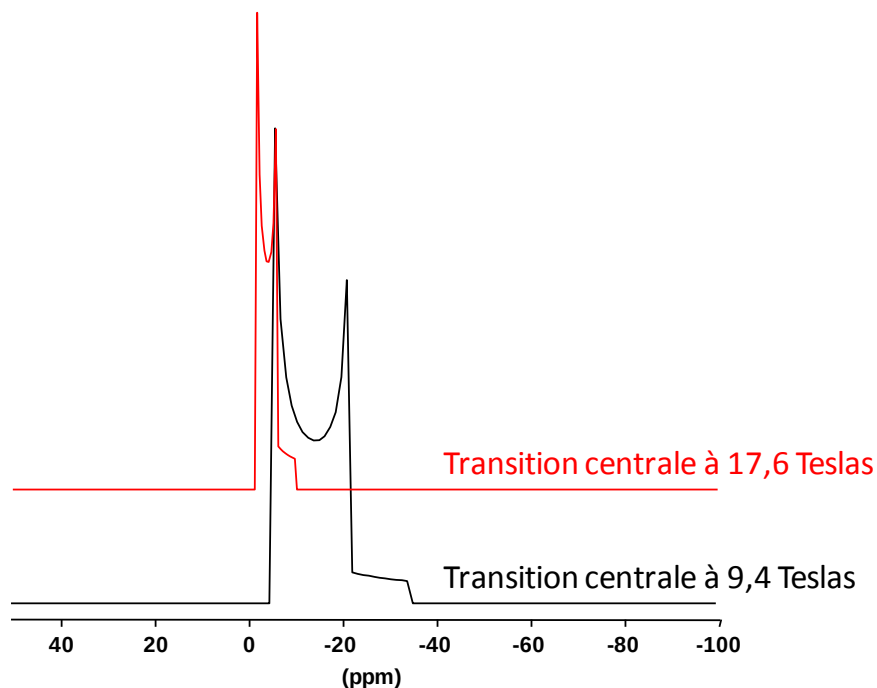


Figure 15 : spectres RMN théoriques de la transition centrale d'un spin $5/2$ à fréquence de rotation MAS infinie élargie uniquement par le second ordre du couplage quadripolaire non moyenné par la rotation avec un déplacement chimique isotrope de 0 ppm et un $\eta_Q = 750$ kHz, $\text{éta}Q = 0$, à 9,4 Teslas en noir et 17,6 Teslas en rouge.

A vitesse de rotation infinie, la largeur résiduelle de la transition centrale est attribuable à la partie non moyennée du second ordre quadripolaire. Comme cette interaction est inversement proportionnelle au champ magnétique B_0 , une augmentation du champ va avoir pour effet de réduire la largeur de cette transition. L'amélioration de la résolution spectrale est l'une des raisons principales pour laquelle les noyaux à fort moment quadripolaires (ex : ^{27}Al , ^{35}Cl , ^{71}Ga , ^{87}Rb ...) nécessitent généralement l'utilisation de spectromètres à très haut champ magnétique (> 17 T).

I.3.12 Conclusion

Les interactions qui s'expriment en RMN modifient la forme et/ou la position des résonances RMN, et peuvent ainsi moduler ou flouter les images IRM. Leurs propriétés de linéarité ou bilinéarité par rapport à l'opérateur $\hat{I}_z$, ainsi que leur dépendance angulaire en $(1-3\cos^2\theta)$, et d'effet du champ magnétique principal B_0 sont récapitulées dans le tableau ci-dessous.

Ces propriétés permettent d'identifier quels moyens seront efficaces pour moyenner ou refocaliser l'effet de ces interactions afin de supprimer leur contribution en imagerie par résonance magnétique.

	Linéaire en $\hat{I}_z$	Bilinéaire en $\hat{I}_z$	Dépendance en $(1-3\cos^2\theta)$	Effet de B_0
Déplacement chimique isotrope	oui	non	non	$\propto B_0$
Déplacement chimique anisotrope	oui	non	oui	$\propto B_0$
Couplage dipolaire hétéronucléaire	oui	non	oui	non
Couplage dipolaire homonucléaire	non	oui	oui	non
Couplage spin-spin indirect homonucléaire	non	oui	non	non
1 ^{er} Ordre quadripolaire	non	oui	oui	non
2 ^{ème} ordre quadripolaire	oui	non	non (réduit)	$1/B_0$
Inhomogénéités de B_0	oui	non	oui	$\propto B_0$

II) IMAGERIE PAR RESONANCE MAGNETIQUE

II.1. PRINCIPE

L'imagerie par résonance magnétique s'appuie sur les mêmes principes physiques que la spectroscopie RMN. Sa spécificité est d'ajouter une localisation spatiale du signal. En effet, dans un champ magnétique homogène, les moments magnétiques d'un noyau donné et dans un environnement magnétique donné ont tous la même fréquence de résonance. En revanche, dans un champ magnétique inhomogène spatialement, ces moments magnétiques ont des fréquences de résonance différentes en fonction de leurs positions spatiales et en fonction de la valeur du champ magnétique qu'ils perçoivent. Par conséquent, l'application d'un gradient de champ magnétique dans une direction de l'échantillon permet l'encodage spatial de la fréquence de résonance des moments magnétiques de l'échantillon.

II.1.1 Gradient de Champ magnétique

Un champ magnétique gradient (ou gradient) peut être statique ou pulsé. Ce gradient est dit statique s'il est appliqué de façon permanente : c'est le cas s'il est créé par une inhomogénéité du champ magnétique B_0 . Un champ magnétique gradient pulsé est créé temporairement par l'application d'un courant dans une bobine de gradient. Les gradients, formés par les bobines de gradients commerciales utilisées dans ce travail, sont centrosymétriques, c'est-à-dire que le champ magnétique additionnel est de valeur nulle au centre magnétique du gradient et de valeur opposées de part et d'autre du centre magnétique comme présenté en Figure 16.

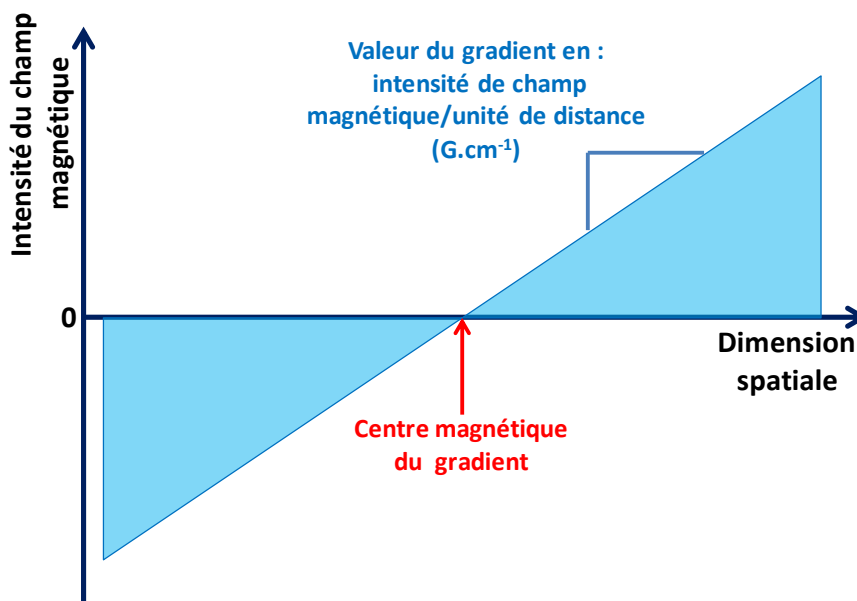


Figure 16 : schéma de l'intensité d'un champ magnétique gradient centrosymétrique.

Lorsqu'un gradient est modulé en amplitude ou incrémenté, c'est la valeur de la pente du champ magnétique additionnel qui est modifiée. La position du centre magnétique du gradient reste fixe.

II.1.2 Espace réciproque ou espace k

En spectroscopie RMN, le signal enregistré est temporel et nécessite l'utilisation d'une transformation de Fourier pour obtenir le spectre RMN qui lui est défini dans le domaine fréquentiel. Avec la majorité des méthodes d'encodage spatial utilisées en IRM c'est la même chose : l'image IRM encodée en fréquence est enregistrée dans le domaine temporel et nécessite une transformation de Fourier dans chacune de ses dimensions pour être décodée. Cet espace, dans lequel est effectuée l'acquisition IRM, lié à l'espace fréquentiel par une ou plusieurs transformations de Fourier est appelé espace réciproque ou espace k.

Une image tridimensionnelle décrite dans un espace fréquentiel de vecteur propre X, Y et Z et définie par une fonction $f(X, Y, Z)$ sera décrite dans l'espace réciproque par une fonction $F(k_x, k_y, k_z)$ liée à $f(X, Y, Z)$ par une triple transformation de Fourier dans chacune des dimensions de l'espace :

$$F(k) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} f(r) \exp(-2\pi i k \cdot r) dX dY dZ$$

Avec r et k les vecteurs de composantes respective de l'espace de l'image (X, Y, Z) et de l'espace réciproque (k_x, k_y, k_z) où k est défini par :

$$k = \int_0^t \gamma G(t') dt'$$

Une image dans l'espace direct (fréquentiel en IRM) et dans l'espace réciproque est présentée en Figure 17.

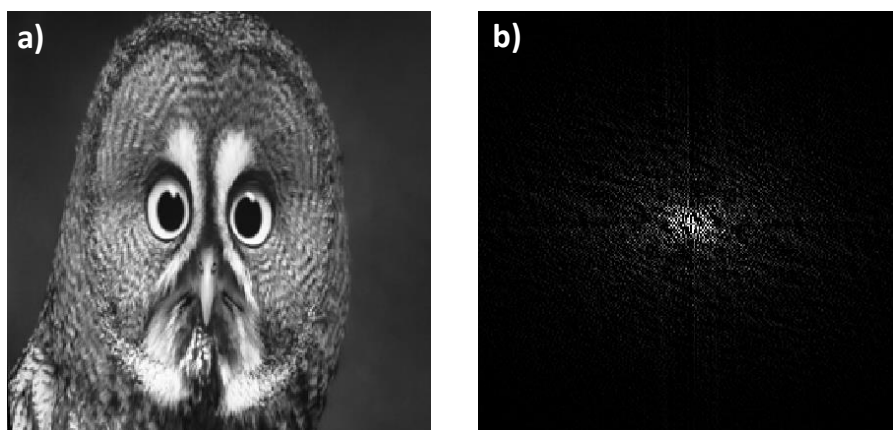


Figure 17 : a) image dans le domaine direct (ou fréquentiel en IRM) b) image dans l'espace réciproque ou espace k. Les deux domaines sont liés par une double transformation de Fourier.

II.2. LES QUATRE TYPES D'ENCODAGES SPATIAL

II.2.1 L'encodage fréquentiel

L'encodage fréquentiel est effectué en appliquant un gradient de champ magnétique pendant la détection du signal RMN. Le gradient d'encodage fréquentiel est nommé gradient de lecture (Read) dans la nomenclature de l'imagerie. La fréquence de Larmor du noyau observé varie linéairement dans la direction du gradient de champ magnétique. La fréquence d'un spin à une position spatiale « x » est définie selon la formule :²⁵

$$\nu(x) = \gamma \cdot (B_0 + G \cdot x)$$

Avec G le gradient de champ magnétique appliqué. Le signal RMN enregistré correspond à la somme de toutes les fréquences dans la direction spatiale du gradient pondérées par leurs densités de spin. Ce signal correspond à l'espace réciproque (ou espace k) du profil de densité de spins dans la direction du gradient. La transformation de Fourier de ce signal donne le profil de l'objet dans la direction du gradient. L'intensité du profil est proportionnelle au nombre de spins excités de l'objet. Si l'objet est homogène, l'intensité apporte une information supplémentaire sur la profondeur ou la hauteur de l'objet.

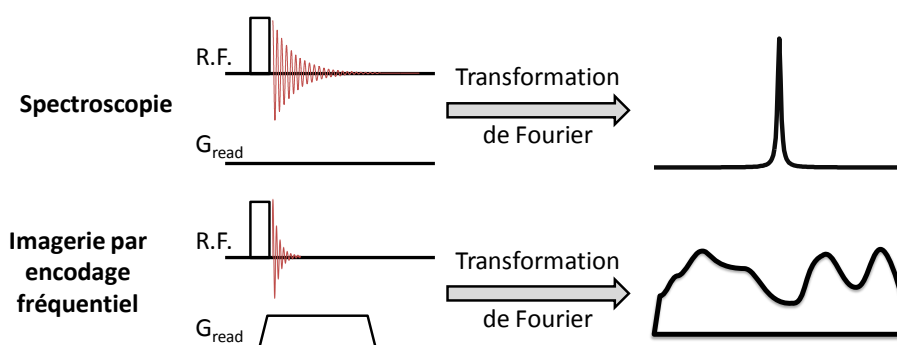


Figure 18 : Schéma de la séquence la plus simple d'acquisition d'un profil spatial par encodage fréquentiel.

Le signal obtenu en encodage fréquentiel s'écrit (en négligeant les phénomènes de relaxation) :

$$S(t) \propto e^{i(2\pi\gamma Gx + \omega)t}$$

L'encodage fréquentiel mélange donc la dimension spectrale (ω) de la résonance imagée et la dimension spatiale ($2\pi\gamma Gx$) de l'objet décrite par le gradient. L'image obtenue après transformation de Fourier du signal temporel est donc la convolution de la raie RMN et de la forme de l'objet décrite par le gradient. Cette convolution peut limiter la résolution ou déformer l'image si la largeur de la résonance observée est non négligeable par rapport à l'élargissement dû au gradient. De plus, la fréquence de résonance dépend également de l'environnement chimique du noyau observé. La position d'une image sera donc proportionnelle à sa position spatiale, mais aussi au déplacement chimique de la résonance utilisée pour constituer l'image. Cela est problématique dans le cas d'un objet complexe composé comportant plusieurs résonances RMN à des déplacements chimiques très différents.

II.2.2 L'encodage de phase

L'encodage de phase est effectué en appliquant un gradient avant l'acquisition du signal RMN dont l'aire est incrémentée au cours de plusieurs expériences. Ce gradient est nommé gradient de Phase dans la nomenclature de l'imagerie. Sous l'effet du gradient, la fréquence de Larmor des spins est modifiée en fonction du gradient ressenti et donc de leur position dans l'espace. L'évolution des spins à cette fréquence de Larmor modifiée pendant la durée du gradient (δ) produit un déphasage du signal fonction des positions des spins nucléaires dans l'axe du gradient et de son intensité.

Le signal obtenu dans l'expérience illustrée Figure 19, s'écrit (en négligeant les phénomènes de relaxation) :

$$S(t) \propto e^{i(2\pi\gamma Gx\delta)} \cdot e^{i\omega t}$$

En incrémentant linéairement l'intensité du gradient (G) au cours des expériences, on obtient une série de FID dont la transformation de Fourier dans la dimension indirecte donne le profil dans la direction du gradient.

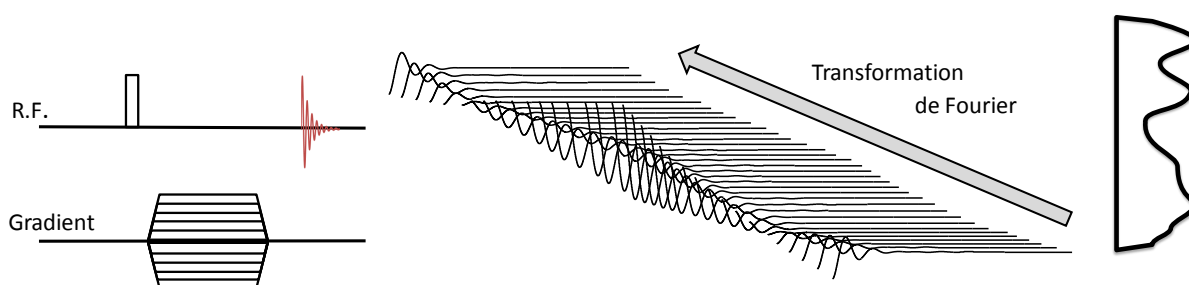


Figure 19 : Schéma de la séquence la plus simple d'encodage de phase.

Cet encodage ne mélange pas les dimensions spectrale et spatiale car l'acquisition est réalisée à temps constant et n'est donc pas modulée par les interactions RMN. Comme le FID est acquis sans la présence de gradient, la transformation de Fourier dans la dimension directe de chaque FID donne le spectre RMN en champ homogène. Cet encodage permet de combiner l'information spatiale et l'information de déplacement chimique et donc de réaliser de la spectroscopie localisée. Il est aussi possible d'incrémenter plusieurs gradients dans plusieurs directions de l'espace afin d'obtenir des images à plusieurs dimensions tout en gardant le spectre RMN dans une dimension supplémentaire. Le temps d'acquisition est cependant fonction du temps d'expérience 1D à la puissance du nombre de dimensions acquises.

II.2.3 La sélection de tranche

Une autre façon d'obtenir un spectre RMN localisé dans l'espace est d'exciter seulement la zone spatiale d'intérêt. Cela peut être fait en appliquant simultanément une impulsion radiofréquence d'excitation sélective et un gradient dit de sélection de tranche ou gradient de « slice » en anglais. Le gradient va disperser en fréquence les spins en fonction de leurs

positions spatiales, et l'impulsion sélective ne va toucher que les spins d'une gamme de fréquences définie, le reste des spins ne contribuera pas au signal RMN et donc au spectre.

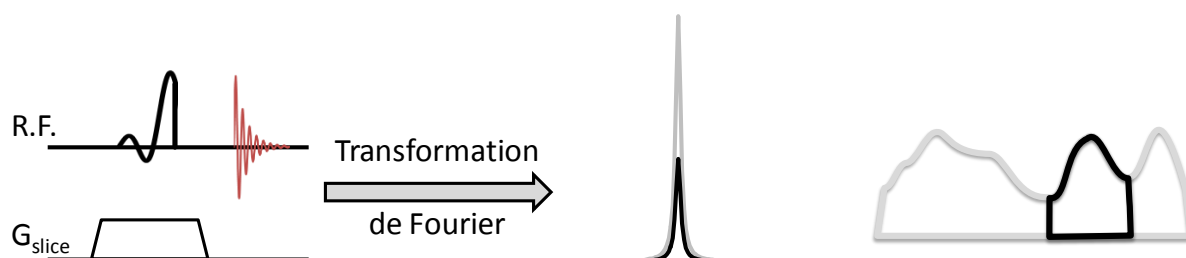


Figure 20 : Schéma de la séquence la plus simple pour obtenir un spectre RMN localisé dans une dimension par sélection de tranche.

II.2.4 L'encodage spatio-temporel

L'encodage spatio-temporel²⁶ est effectué en appliquant une impulsion radiofréquence de balayage simultanément avec un gradient. Cette combinaison va avoir pour effet d'exciter les spins à des instants différents en fonction de leurs fréquences et donc de leurs positions. Il suffit alors d'appliquer un gradient inverse pour refocaliser le mouvement de précession des spins sous gradient. Le temps auquel va se former l'écho est proportionnel à l'instant auquel le spin a été excité et donc à sa position dans l'espace. Ici, l'amplitude du signal RMN représente directement le profil de l'objet et aucune transformation de Fourier n'est nécessaire.

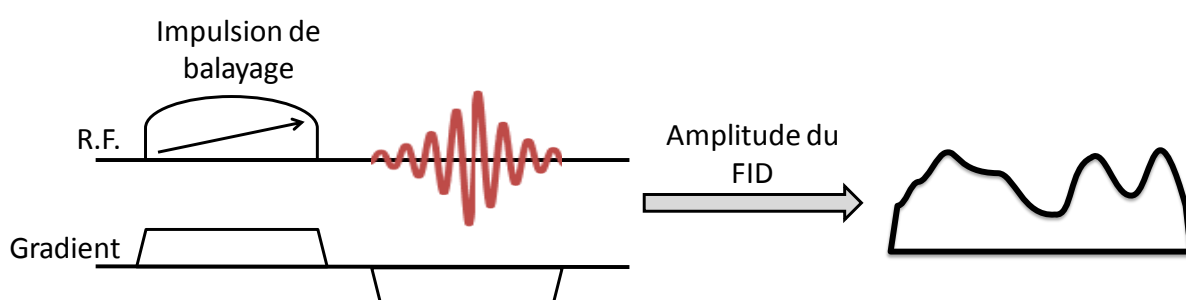


Figure 21 : Schéma de la séquence la plus simple permettant d'obtenir un profil par encodage spatio-temporel.

Ce type d'encodage ne sera pas plus détaillé ici car il requiert l'utilisation d'impulsions de balayage intrinsèquement longues, et ne peut donc s'appliquer que sur des matériaux à T_2' ou T_2^* long. En effet, les applications de cet encodage pour de la spectroscopie multidimensionnelle ultrarapide²⁷ ou de l'imagerie dans les solides sont rares et réservées à des échantillons à T_2 longs.^{28,29}

II.3. LA RESOLUTION SPATIALE EN IRM

Rigoureusement, le mot résolution fait référence à la grandeur $1/\Delta x$ avec Δx la taille du plus petit détail observable.¹³ Cependant, l'unité de cette grandeur est l'inverse d'une mesure de distance ce qui n'est pas facilement concevable. Dans ce manuscrit, le terme résolution sera associé directement à la grandeur Δx .

II.3.1 Résolution et fonction de dispersion d'un point

En IRM, la résolution (Δx) est calculée par la largeur à mi-hauteur de la fonction de dispersion du point (de l'anglais : Point Spread Function : PSF).³⁰⁻³³ Cette fonction de dispersion correspond à la réponse dans l'espace de l'image d'un point objet, qui est modélisé par une fonction de Dirac. La fonction de dispersion du point totale est la convolution de trois fonctions de dispersion du point qui sont : la réponse due à la taille de l'espace réciproque échantillonné ($PSF_{\Delta k}$), l'élargissement dû aux interactions qui provoquent la variation de l'intensité du signal pendant l'acquisition de l'espace réciproque de l'image (PSF_t) et l'élargissement dû à la diffusion de spin ou moléculaire (PSF_D).³²

Il faut rajouter à cela le rapport signal sur bruit qui, si insuffisant, va encore dégrader cette résolution. En effet, deux points de même intensité de l'image vont pouvoir être distingués si une variation d'intensité est visible entre ces deux points. Cependant, si cette variation d'intensité est de l'ordre de l'intensité du bruit, des deux points ne pourront pas être distingués de manière certaine. Il en est de même pour l'observation d'un détail dont l'intensité est du même ordre de grandeur que le bruit. L'amplitude du bruit peut donc nuire à la résolution de l'image.

L'impact de ces différentes fonctions de dispersion du point sur la résolution est dépendant de l'échantillon, mais aussi du type d'encodage spatial utilisé. Dans le cas de l'IRM des solides, l'élargissement dû à la diffusion (PSF_D) peut être négligé et les termes dominants sont PSF_t ou $PSF_{\Delta k}$. Le terme PSF_t est important lors de l'utilisation de l'encodage fréquentiel puisqu'il correspond à la largeur à mi-hauteur de la résonance imagée. À l'inverse, pour les méthodes dites à temps constant que sont les méthodes de pur encodage de phase le terme PSF_t est une fonction de Dirac et la résolution est donc limitée uniquement par le terme $PSF_{\Delta k}$.

Cette définition permet de remonter aux équations définissant la résolution pour l'encodage fréquentiel et l'encodage de phase cartésien.

Encodage fréquentiel

$$\Delta x = \frac{\nu_{1/2}}{\gamma \cdot G}$$

Avec Δx : largeur à mi-hauteur de la fonction de dispersion en cm, $\nu_{1/2}$: largeur à mi-hauteur de la résonance RMN en champ homogène et en évitant tout élargissement lié à la troncature du signal (en Hz), γ : rapport gyromagnétique du noyau observé en Hz/G et G : puissance du gradient en G/cm.

Encodage de phase

$$\Delta x = \frac{1,21}{\gamma \cdot G \cdot \delta}$$

Avec Δx : largeur à mi-hauteur de la fonction de dispersion en cm, γ : rapport gyromagnétique du noyau observé en Hz/G, G : puissance du gradient en G/cm et δ : équivalent carré de la durée du gradient en seconde. Le facteur 1,21 au numérateur provient de la description cartésienne de l'espace réciproque.^{30,32}

Ces formules donnent le Δx dû à PSF_t pour l'encodage fréquentiel et $\text{PSF}_{\Delta k}$ pour l'encodage de phase cartésien. Dans le cas de l'encodage de phase, l'acquisition est réalisée à temps constant, PSF_t est donc une fonction de Dirac et n'a aucune influence sur la résolution. En revanche, pour l'encodage fréquentiel, en fonction de la durée de l'acquisition et donc du nombre de points acquis, la fonction $\text{PSF}_{\Delta k}$ peut être non négligeable et limiter la résolution. Rigoureusement, la résolution limite obtenue en encodage fréquentiel doit être définie par la convolution de $\text{PSF}_{\Delta k}$ et PSF_t . En pratique, seule la fonction dominante est utilisée pour définir cette résolution.

En effet, en encodage fréquentiel, sachant que $\nu_{1/2} = \frac{1}{\pi T_2^*}$ pour une résonance Lorentzienne, les deux fonctions de dispersion du point PSF_t et $\text{PSF}_{\Delta k}$ sont équivalentes pour une durée d'acquisition de $1,21 \times \pi T_2^*$. En dessous de cette durée d'acquisition, c'est la troncature de l'espace réciproque et donc $\text{PSF}_{\Delta k}$ qui limite la résolution de l'image. En IRM classique (biomédicale), les largeurs des résonances imagées sont faibles, et le temps d'acquisition du signal très souvent bien inférieur à $1,21 \times \pi T_2^*$, c'est donc la résolution due à la troncature de l'espace réciproque ($\text{PSF}_{\Delta k}$) qui est limitante. C'est cette grandeur qui est calculée par les logiciels d'acquisition d'image IRM comme Paravision® de Bruker.

En IRM des matériaux solides, les résonances imagées sont plus larges et cette condition n'est plus forcément respectée, particulièrement pour l'acquisition d'images de haute résolution avec des intensités de gradient faibles où la contribution de PSF_t peut être dominante. En micro-imagerie, les deux situations existent puisque si la sensibilité est faible, la durée de l'acquisition peut être réduite car l'acquisition de points au-delà de $1,26 \times T_2^*$ diminue le rapport signal sur bruit.³⁴

Dans le cas de la sélection de tranche par impulsion sélective en présence de gradient, la résolution spatiale est calculée de la même façon que la résolution en encodage fréquentiel avec $\nu_{1/2}$ la largeur à mi-hauteur du signal excité par l'impulsion RF sélective et sans influence de $\text{PSF}_{\Delta k}$.

II.3.2 Comparaison des résolutions

Il est intéressant de comparer le mode de calcul de la résolution en IRM et en imagerie par méthodes optiques. En IRM, la résolution correspond à la largeur à mi-hauteur de la fonction de dispersion d'un point. En imagerie optique, la résolution correspond à la capacité à distinguer deux points séparés d'une distance minimale Δx . Le critère le plus utilisé pour affirmer ou infirmer la résolution de deux détails est le critère de Rayleigh, qui définit que la distance minimale entre deux sources lumineuses qui permet de les résoudre est celle qui correspond à un changement d'intensité de 18,94 % par rapport au maximum. Ce qui correspond au cas b) de la Figure 22.

The brightness (corresponding to B) midway between the two central points A, A' is 0.8106 of the brightness at the central points themselves. We may consider this to be about the limit of closeness at which there could be any decided appearance of resolution. Extracted from Investigations in optics, with special reference to the spectroscope, Lord Rayleigh 1879

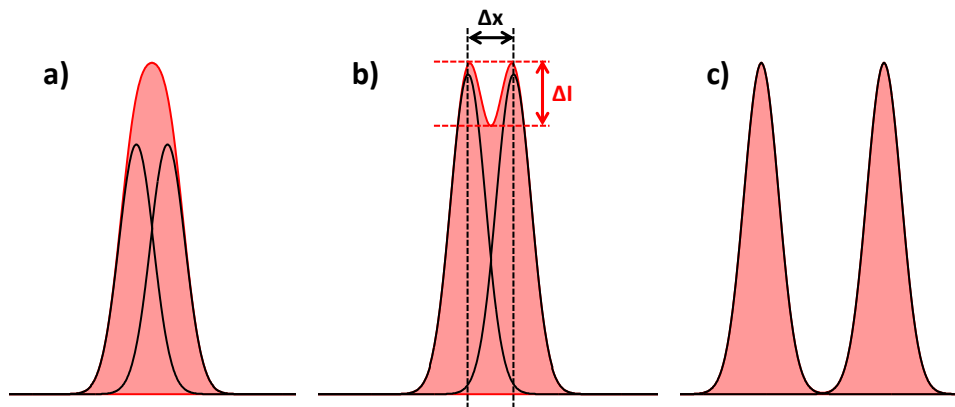


Figure 22 : a) pics non résolus b) condition de Rayleigh : les deux pics peuvent être distingués car l'intensité ΔI varie de 18,94 % cela fixe le Δx minimum du critère de Rayleigh. c) Les deux pics sont complètement séparés : $\Delta I = 100$ %.

Le Δx calculé par la fonction de dispersion d'un point en IRM peut être comparé au critère de Rayleigh. Pour cela, la résolution (au sens de Rayleigh) est calculée pour un espacement Δx égale à la largeur à mi-hauteur (FWHM) de la fonction utilisée. Cette comparaison est dépendante de la forme de la fonction de dispersion et sera illustrée Figure 23 pour trois fonctions caractéristiques.

La fonction de dispersion sinus cardinal qui peut être obtenue par encodage de phase fortement tronqué ne présente aucune résolution à $\Delta x = \text{FWHM}$. Il faut multiplier Δx par 1,242 pour obtenir le critère de Rayleigh ($\Delta I = 18,94$ %)

La fonction Gaussienne présente une variation d'intensité de 7,27 % à $\Delta x = \text{FWHM}$. Le critère de Rayleigh peut être obtenu en multipliant Δx par 1,12.

La fonction Lorentzienne caractéristique d'une décroissance mono exponentielle du signal RMN dans le domaine temporel présente une variation d'intensité de 17,16 % à $\Delta x = \text{FWHM}$. Le critère de Rayleigh peut être obtenu en multipliant Δx par 1,03.

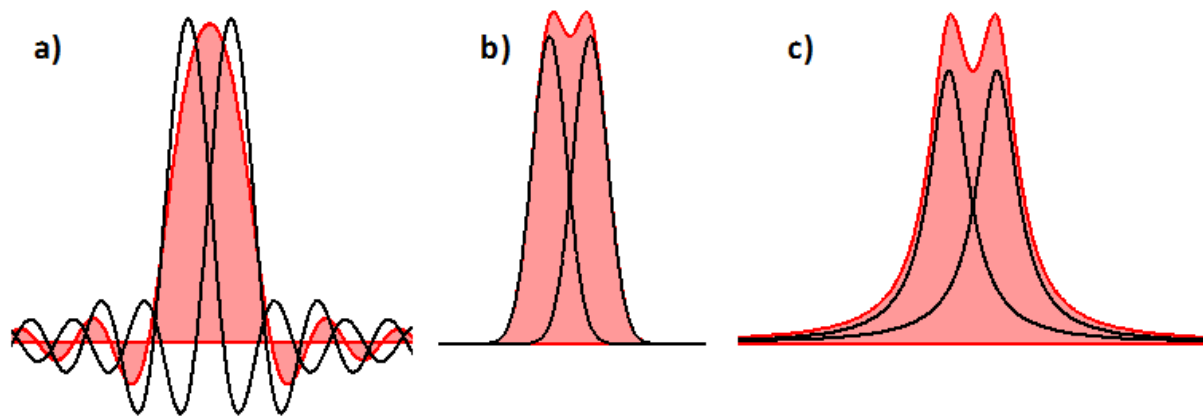


Figure 23 : Résolutions visuelles pour différentes formes de fonctions de dispersion PSF. L'écart entre les sommets des deux courbes noires (Δx) est égal à la largeur à mi-hauteur de chaque fonction de dispersion. a) Fonction sinus cardinal, $\Delta l = 0$, Δx doit être multiplié par 1,242 pour atteindre le critère de Rayleigh. b) Fonction Gaussienne $\Delta l = 7,27$, Δx doit être multiplié par 1,12 pour atteindre le critère de Rayleigh. c) Fonction Lorentzienne $\Delta l = 17,16$, Δx doit être multiplié par 1,03 pour atteindre le critère de Rayleigh.

II.3.3 Complétion de zéros et taille de pixel

La taille de pixel de l'image finale (la résolution digitale) est aussi un paramètre important en IRM. Cette taille est définie par le nombre de pixels et la taille du champ de vue (de l'anglais : Field of View (FoV)) utilisée. Comme la plupart des méthodes d'imagerie moderne enregistrent le signal dans le domaine temporel et font appel à la transformation de Fourier pour obtenir l'image, le nombre de pixels de l'image peut être augmenté simplement (et donc leurs tailles diminuées) en augmentant le nombre de points du signal RMN. Cela peut être fait en ajoutant des points à zéro à la fin du FID ou avant et après dans le cas de l'acquisition d'un écho. Cette opération est appelée complétion de zéros. La diminution de la taille du pixel n'augmente pas la résolution nominale de l'image car elle ne change ni la troncature de l'espace réciproque ni l'information enregistrée. En revanche, la complétion de zéros améliore la présentation de l'image et il peut donc être très important de l'utiliser (Figure 24). En effet, ce n'est pas parce qu'un ordinateur est capable de reconstruire par interpolation l'image de toutes les fréquences échantillonnées que l'œil humain le peut aussi.³⁰

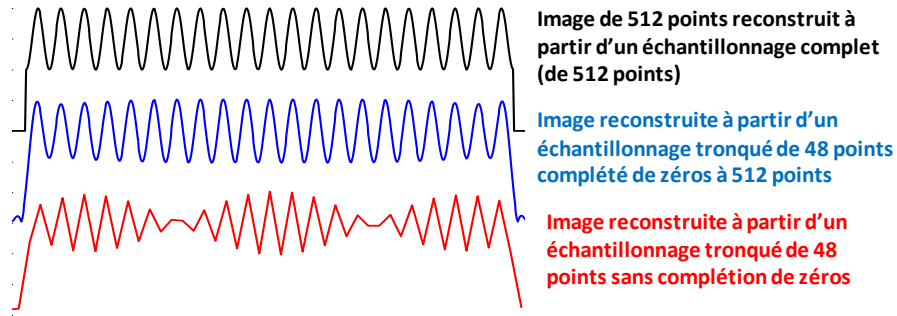


Figure 24 : Exemple d'images d'un objet de 512 points reconstruites à partir d'échantillonnage de l'espace réciproque complet (en noir) d'échantillonnage de l'espace réciproque tronqué (48 points) complété de zéros jusqu'à la taille originale de 512 points (en bleu) et d'échantillonnage de l'espace réciproque tronqué (48 points) sans complétion de zéros (en rouge).

II.4. LE CONTRASTE EN IRM

L'une des grandes forces de l'imagerie par résonance magnétique est de pouvoir moduler le contraste observé sur l'image en utilisant différentes séquences d'imagerie. En effet, l'intensité en un point de l'image est dépendante de l'intensité de l'aimantation dont il provient. Or, il est possible de changer l'intensité du signal RMN en jouant sur les temps de relaxation, la diffusion ou les interactions refocalisées par la séquence IRM utilisée.

II.4.1 Le contraste T_2

Les séquences les plus utilisées en IRM sont basées sur l'écho de spin ou l'écho de gradients. L'écho de gradients présenté en Figure 25a ne refocalise aucune interaction pendant la période d'encodage spatial. Il permet ainsi d'obtenir un contraste en T_2^* c'est-à-dire que le signal détecté va être modulé par toutes les interactions qui évoluent pendant la durée de l'encodage spatial. L'écho de spin en revanche (Figure 25b) refocalise les interactions linéaires en $\hat{I}_z$ (le déplacement chimique isotrope et anisotrope, les effets de susceptibilités magnétiques et le dipolaire hétéronucléaire) par une impulsion π placée au centre de la période d'évolution. Cette séquence permet d'obtenir un contraste en T_2' .

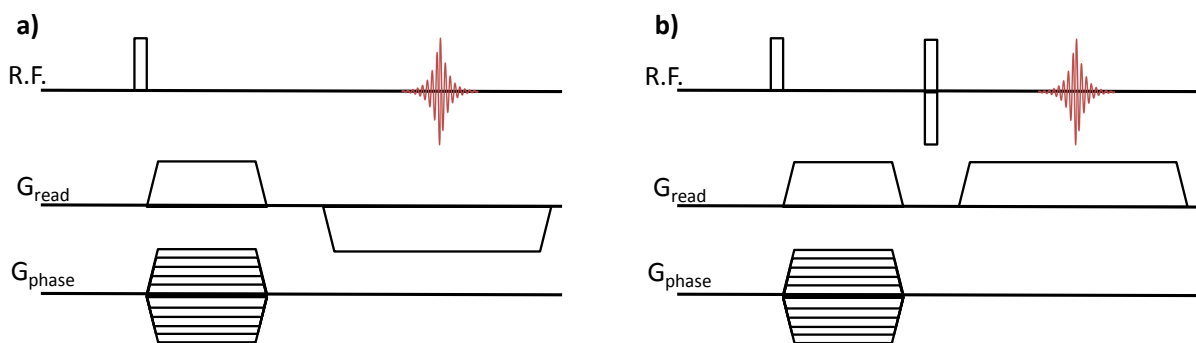


Figure 25 : a) Séquence d'écho de gradients permettant l'obtention d'une image bidimensionnelle par encodage de phase et encodage fréquentiel. b) Séquence d'écho de spin permettant l'obtention d'une image bidimensionnelle par encodage de phase et encodage fréquentiel.

Le contraste obtenu peut aussi être modulé en changeant le temps d'écho et ainsi en permettant aux interactions non refocalisées de s'exprimer plus ou moins fortement. Cela peut permettre de faire ressortir une partie de l'objet possédant des propriétés physico-chimiques différentes.

La séquence d'écho de gradients est rarement utilisée en IRM des solides car l'expression de toutes les interactions pendant le temps d'encodage spatial atténue fortement le signal enregistré. A l'inverse, les séquences d'écho permettent de refocaliser certaines interactions et sont donc plus efficaces en IRM solide. Les principales séquences sont l'écho de spin permettant de refocaliser l'effet des interactions linéaire en $\hat{I}_z$, l'écho solide développé pour refocaliser le premier ordre de l'interaction quadripolaire, et l'écho magique permettant de refocaliser le dipolaire homonucléaire. Chacune de ces séquences va donner un contraste différent en fonction des interactions refocalisées. Il existe aussi des séquences sans écho (notamment la séquence dite de Zéro Temps d'Écho (ZTE) de l'anglais Zero Echo Time) qui évitent l'évolution des interactions avant l'acquisition et permettent ainsi l'enregistrement d'images plus quantitatives où le contraste est basé sur la densité de spin. Ces séquences sont particulièrement utilisées pour l'IRM des solides rigides.

II.4.2 Le contraste T_1

Dans toutes les séquences d'IRM et de RMN, la première impulsion radiofréquence est précédée d'un délai appelé temps de répétition (D_1). Ce délai doit permettre à l'aimantation macroscopique de retrouver partiellement ou complètement sa position initiale et va lui permettre d'être excité à nouveau par l'expérience suivante. Le retour à l'équilibre de l'aimantation macroscopique dépend de la constante de temps T_1 : le temps de relaxation longitudinal. Ce temps de relaxation varie en fonction des propriétés physico-chimiques du matériau observé, et est donc une caractéristique qui peut être utilisée comme source de contrastes. La fraction de l'aimantation ayant retrouvée son état initial et qui va donc participer au signal de l'expérience suivante peut être modulée en faisant varier le temps de répétition de la séquence. Un temps de répétition court va avoir pour effet d'augmenter le signal des espèces possédant un T_1 court par rapport à celles possédant un T_1 long. Ce mode de contraste peut être associé à toutes les expériences IRM mais parfois au prix d'un temps d'acquisition rallongé si le temps de répétition optimal pour obtenir un fort contraste est long.

II.4.3 Autres sources de contrastes

Comme l'intensité en un point d'une l'image IRM est fonction du signal RMN dont il provient, toutes les méthodes qui permettent d'accroître ou d'atténuer le signal d'une espèce par rapport à une autre peuvent être utilisées pour créer du contraste. Cela peut être effectué par nombreux moyens et notamment :

- En atténuant le signal des espèces mobiles par l'application de gradients de diffusions.

- Par transfert de polarisation d'une espèce à une autre ou d'un noyau à un autre.
- Par saturation ou sélection spectrale soit de l'espèce directement imagée soit d'une espèce en échange rapide avec l'espèce imagée.
- Par l'utilisation d'agents de contraste qui modifient les temps de relaxation T_1 et T_2 de l'eau et qui sont utilisés pour mettre en évidence certains tissus avec lesquels ils ont une forte affinité chimique.

Cette liste est loin d'être exhaustive et ces nombreuses possibilités de contraste font de l'IRM un outil incontournable pour accéder à des informations anatomiques, fonctionnelles et métaboliques de manière non invasive et localisée spatialement.

III) L'IMAGERIE DANS LES SOLIDES

III.1. DIFFERENTES APPROCHES

La plupart des applications de l'IRM sont basées sur l'observation de résonances fines et intenses du spin de l'hydrogène (^1H) des molécules mobiles dans les tissus mous telles que l'eau ou certains métabolites abondants. Ces résonances sont caractérisées par une largeur à mi-hauteur faible (< 100 Hz pour l'eau dans le corps dans les IRM actuels) permettent d'atteindre d'excellentes valeurs de résolution en encodage fréquentiel avec des gradients modérés. De plus, ces résonances sont aussi caractérisées par des temps de relaxation transversaux (T_2') et des temps de défocalisation T_2^* longs ce qui permet d'utiliser facilement des séquences d'écho de spin ou d'écho de gradients.³⁵⁻³⁷ A contrario, l'IRM des matériaux solides reste aujourd'hui encore difficile en raison de la présence d'interactions anisotropes fortes telles que le couplage dipolaire, l'anisotropie de déplacement chimique ou les inhomogénéités de susceptibilité magnétique. Ces interactions diminuent fortement le temps de relaxation transversal (T_2') et le temps de défocalisation T_2^* et donc l'efficacité des séquences d'écho de spin ou de gradients. De plus, le temps de défocalisation T_2^* court induit une résonance RMN large ce qui diminue la sensibilité ainsi que la résolution obtenue avec l'encodage fréquentiel.^{38,39}

Plusieurs approches ont été développées pour outrepasser ces difficultés ; elles sont représentées en Figure 26 et détaillées ensuite.

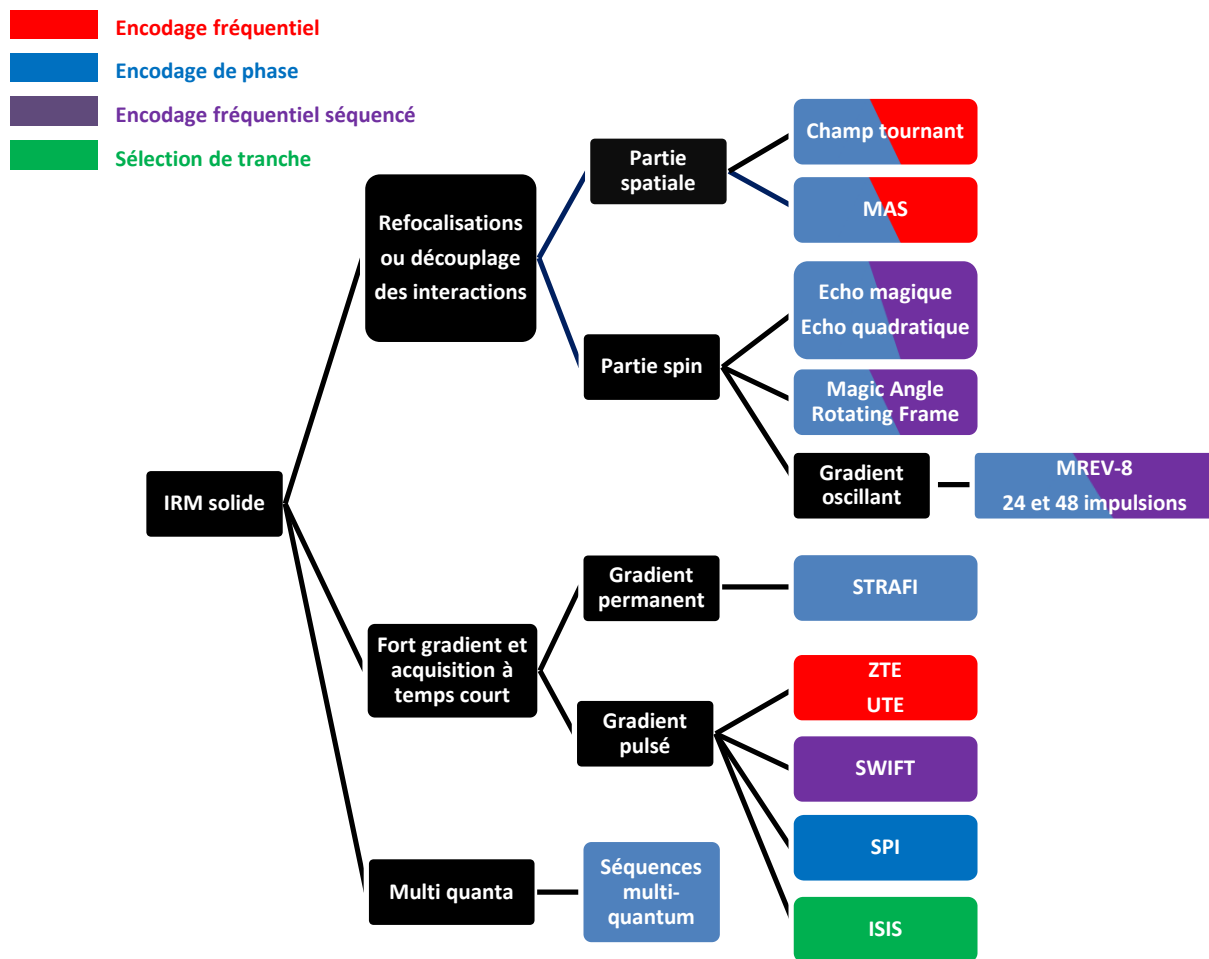


Figure 26 : Classement des principales séquences IRM solide en fonction de la stratégie utilisée pour obtenir une image ou un spectre RMN localisé avec une haute résolution spatiale.

Les différentes approches et les séquences d'imagerie correspondantes peuvent être divisées en deux grandes catégories :

La première approche « brute force » consiste à utiliser des gradients forts pour dominer la largeur de raie et effectuer l'acquisition du signal très rapidement après l'excitation. C'est aujourd'hui l'approche la plus utilisée en raison de sa simplicité et de son universalité par rapport aux différentes interactions.

La seconde approche consiste à découpler ou à refocaliser certaines interactions pour augmenter le temps de relaxation transversale et diminuer la largeur de raie afin de perdre moins de signal pendant le délai nécessaire à l'encodage spatial et éventuellement utiliser de l'encodage fréquentiel.

Il faut aussi noter la possibilité d'utiliser des états multi-quanta pour augmenter l'effet du gradient et parvenir à de l'imagerie haute résolution en solide. Cependant, ces états multi-quanta existent uniquement dans les systèmes de spins quadripolaires ou dipolaires fortement couplés ce qui restreint la gamme d'échantillons pour laquelle cette technique peut être utilisée.

III.1.1 Imagerie multi-quanta

L'évolution sous gradient d'une résonance RMN est dépendante du rapport gyromagnétique du noyau, de l'intensité du gradient, mais aussi de l'ordre de cohérence (p) de la résonance RMN.¹³ Il est ainsi possible, pour une valeur de gradient donnée, d'augmenter le déphasage spatial des résonances en étudiant des ordres de cohérence supérieurs à 1.

En pratique, les méthodes de détection actuelles de RMN permettent d'observer uniquement les cohérences simple quantum ($p = 1$). Il est cependant possible, grâce à des impulsions RF, de créer des cohérences multi-quanta, de les laisser évoluer, puis de les reconvertir en cohérence simple quantum pour pouvoir être détectées. Pendant le temps d'évolution (t), un encodage de phase peut être effectué en appliquant un gradient incrémenté. Le déphasage (Ω) créé par le gradient de phase (et donc la résolution) sera proportionnel à l'ordre de cohérence étudié.⁴⁰

$$\Omega = \gamma \cdot G \cdot t \cdot p$$

Cette méthode souffre cependant de plusieurs limitations :

- Comme les cohérences multi-quanta ne sont pas directement détectables, seul l'encodage de phase peut être utilisé.
- Le système de spin (et donc l'échantillon) doit être capable de générer ces cohérences multi-quanta, ce qui requiert l'existence de spins couplés ou quadripolaire. De plus, seuls les spins ayant accès à des états multi-quanta seront imagés et l'imagerie multi-quanta est donc toujours associée à un filtre multi-quanta qui va définir le contraste de l'image obtenue.
- Le signal sur bruit de l'image obtenue par imagerie multi-quanta est aussi une limitation car le signal obtenu après reconversion d'un état multi-quanta en un état simple quantum suit une décroissance gaussienne fonction de l'ordre de cohérence excité.⁴¹

III.2. FORTS GRADIENTS ET ACQUISITION A TEMPS COURT

Une seconde approche consiste à dominer la largeur de raie et le temps de déphasage court des résonances de l'état solide en employant de forts gradients de champ magnétique et en enregistrant le signal très rapidement après l'excitation radiofréquence.

Ce fort gradient peut être généré par le champ de fuite d'un aimant permanent ou supraconducteur, ce qui a donné naissance à l'approche du « Stray Field imaging » : *STRAFI*^{42,43} ou dans une moins grande mesure par des bobines de gradients ce qui est la solution la plus utilisée de nos jours.

Si la valeur du gradient n'est pas suffisante pour dominer la largeur de la résonance RMN, un encodage de pure phase peut être utilisé, ce qui a donné naissance au *Constant Time Imaging*, plus communément appelée *Single Point Imaging* (SPI).^{32,44} Cette méthode permet d'obtenir des images sans distorsions dues à la forme de raie de résonance, mais est coûteuse en temps car l'espace réciproque de l'image est acquis point par point.

Si le gradient est suffisamment fort pour permettre l'utilisation de l'encodage fréquentiel, il est possible d'utiliser les méthodes actuellement nommées *Zero Echo Time* (ZTE)⁴⁵⁻⁵⁰, *Ultrashort Echo Time* (UTE)^{48,51,52} et *Sweep Imaging with Fourier Transform* (SWIFT)⁵³. Ces méthodes décrivent l'espace réciproque de façon radiale, du centre vers l'extérieur, en pur encodage fréquentiel et sont utilisables en fonction du temps de défocalisation T_2^* et de la taille de l'échantillon.

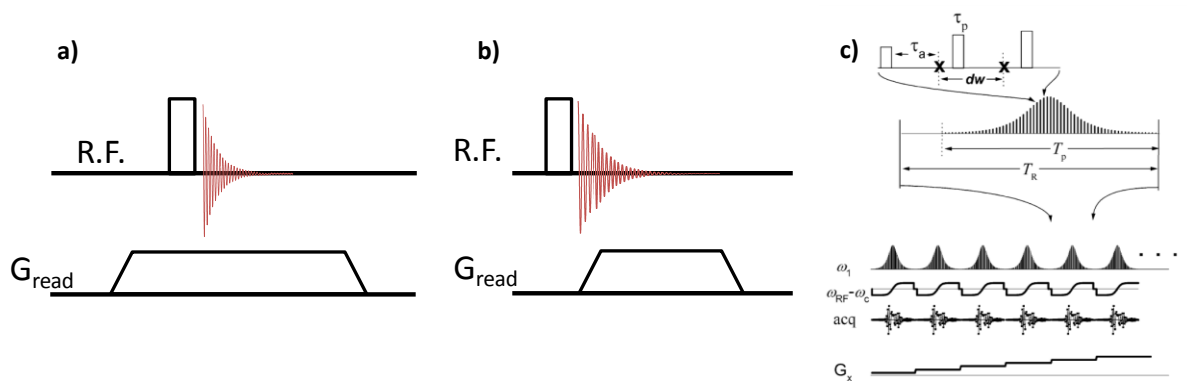


Figure 27 : Séquence : a) ZTE b) UTE et c) SWIFT (image extraite de *Fast and quiet MRI using a swept radiofrequency* de D. Idiyatullin, J. Mag.Res 2006)

La séquence d'impulsion correspondante à la méthode ZTE actuelle est une simple excitation pendant l'application du gradient, et correspond à la séquence de projection reconstruction originellement utilisée par Lauterbur⁵⁴ pour effectuer la preuve de concept de l'imagerie. Cette technique a ensuite été renommée BLAST⁴⁹ : Back Projection Low Angle Shot avec l'utilisation de faible angle d'impulsion. C'est actuellement l'une des méthodes les plus utilisées pour effectuer de l'imagerie des solides. La méthode de ZTE souffre néanmoins de deux limitations principales :

La première est que l'impulsion radiofréquence d'excitation est effectuée pendant l'application du gradient et doit donc exciter une large gamme de fréquences, cela peut poser problème dans le cas de l'imagerie d'un échantillon de grande taille.

La seconde limitation de cette séquence est l'existence d'une zone sans données au centre de l'espace k due au temps mort qui empêche de commencer l'acquisition tout de suite après l'impulsion d'excitation radiofréquence. Plusieurs méthodes ont été proposées pour pallier ce manque d'informations notamment d'effectuer une seconde acquisition à gradient réduit⁵⁵, ou une acquisition SPI du centre de l'espace k.⁵⁶ De fait, la méthode ZTE correspond plus à la reconstruction des points centraux de l'espace réciproque par algèbre linéaire qu'au concept de la séquence *stricto sensu*.^{50,57} D'un point de vue pratique, la bande passante du récepteur doit être limitée à 500 kHz⁵⁸ car la reconstruction du signal n'est efficace que si le temps mort est inférieur à 3,4 fois la durée de l'intervalle d'échantillonnage. Pour les temps morts actuels utilisables en imagerie d'environ 6,5 à 6,8 μ s, l'objet élargi par le gradient ne doit donc pas avoir une largeur spectrale supérieure à environ 500 kHz (Bw_{max}) et dans le cas de gros objet cela diminue la puissance du gradient utilisable selon la formule :

$$G_{max} = FoV \cdot \frac{1}{\gamma} \cdot Bw_{max}$$

C'est la raison pour laquelle la méthode ZTE est principalement utilisée pour de la micro-imagerie de petits objets ou ni l'excitation pendant l'application de gradient ni la largeur spectrale maximale ne sont problématiques.

Le pendant de cette méthode, plus adapté aux objets de taille importante est l'UTE.⁵² Ici, le gradient est mis en route après l'impulsion radiofréquence, celle-ci peut donc être d'une durée plus longue. Les premiers points de l'espace réciproque ne sont pas perdus car l'acquisition du signal et la mise en route du gradient commencent simultanément. En revanche, l'acquisition de l'espace k n'est pas linéaire et la montée de gradient doit donc être parfaitement connue pour effectuer une bonne reconstruction de l'espace réciproque.⁵⁹ En raison du temps de montée des gradients, à gradient équivalent et pour des T_2^* égaux, la résolution obtenue en UTE sera moins bonne que celle obtenue en ZTE. L'UTE est aussi l'une des méthodes privilégiées de l'imagerie des matériaux à T_2 court pour les gros objets.

La méthode SWIFT (de l'anglais : SWEEP Imaging with Fourier Transform)⁵³ est basée sur l'utilisation d'une impulsion de balayage (« swept pulse ») segmentée et entrecoupée de périodes d'acquisition. Cette méthode d'acquisition permet d'enregistrer le signal après un temps très court et ainsi de pouvoir imager des matériaux à T_2^* court. L'image est obtenue par la multiplication complexe conjuguée de la fonction de réponse de l'impulsion de balayage après transformation de Fourier. Théoriquement, la sensibilité de cette méthode est d'environ 90 % des méthodes d'acquisition classique. L'utilisation d'impulsion de balayage permet d'exciter l'échantillon sous gradient avec peu de puissance radiofréquence. L'inconvénient majeur de cette méthode est une préparation (choix des paramètres) plus complexe.

La méthode dite ISIS (de l'anglais : Image Selected in vivo Spectroscopy)⁶⁰ permet de sélectionner un volume dans l'espace (voxel) à partir d'impulsions 180° d'inversion pendant l'application de gradients, et d'en obtenir le spectre RMN localisé. L'avantage de cette technique est de pouvoir être applicable à des matériaux à T₂ court car la relaxation après l'inversion se fait en T₁. Cette méthode a notamment été utilisée récemment pour permettre la spectroscopie localisée dans des batteries au cours de leurs charge.⁶¹ La résolution du voxel se calcule pour chaque dimension comme pour la sélection de tranche monodimensionnelle.

III.2.1 Conclusion

Les méthodes à fort gradients et acquisition rapide sont actuellement les plus utilisées en raison de leur robustesse et de leur facilité d'utilisation. Cependant il faut garder à l'esprit que l'utilisation de fort gradient en encodage fréquentiel se fait au détriment de la sensibilité car un gradient de forte amplitude disperse le signal sur une grande gamme de fréquences et donc diminue le rapport signal sur bruit. Pour une intensité de signal constante, le rapport signal sur bruit (SNR) évolue en fonction de la racine carrée du nombre d'accumulations (NS) divisé par la gamme spectrale de dispersion du signal (BW) qui est linéairement proportionnelle à l'amplitude du gradient (G) : ⁶²

$$\frac{S}{N} \propto \sqrt{\frac{NS}{BW}} \propto \sqrt{\frac{NS}{G}}$$

III.3. LINE NARROWING

La seconde approche consiste à moyenner ou refocaliser les interactions anisotropes qui élargissent les raies RMN et diminuent les temps de cohérence en solide. Cela peut être réalisé sur la partie spatiale ou sur la partie spin des interactions par deux approches radicalement différentes que sont la rotation à l'angle magique, et les séquences multi-impulsions radiofréquence.

III.3.1 Séquence multi-impulsions Radiofréquence

Plusieurs critères sont nécessaires pour évaluer l'intérêt d'une séquence multi-impulsions pour l'imagerie. Il y a tout d'abord les interactions refocalisées par cette séquence (le déplacement chimique, le couplage dipolaire homonucléaire...). Il y a ensuite le temps minimum d'exécution d'un bloc de découplage, car dans le cas d'une acquisition séquencée, ce temps va définir l'intervalle d'échantillonnage entre deux points d'acquisition et donc la fenêtre spectrale maximum observable. Enfin, il y a la robustesse de la séquence par rapport aux effets d'offset ou la durée des périodes d'évolution sans impulsion radiofréquence pendant lesquelles un gradient peut être appliqué. Ces deux dernières vont définir si un

gradient fort peut être utilisé pour effectuer l'encodage spatial pendant toute la durée de la séquence de découplage ou seulement pendant certains délais et la durée de ceux-ci.

Les interactions refocalisées par les différentes séquences multi-impulsionnelles, la robustesse aux effets d'offset (et donc l'applicabilité sous gradient) ainsi que le temps de bloc de découplage et la durée des périodes d'évolution pendant lesquels un gradient peut être appliqué sont résumés dans le tableau suivant.

Table 1 : Tableau récapitulatif des propriétés des différentes séquences multi-impulsionnelles vis-à-vis du déplacement chimique et du couplage dipolaire homonucléaire ainsi que l'applicabilité sous gradient, le temps d'un bloc de découplage, la durée des périodes d'application de gradients d'encodage spatiale et la sensibilité.

	Déplacement Chimique	Dipolaire homonucléaire fort	Applicable sous gradient	Temps de bloc minimum	Temps de gradient	Sensibilité
Écho de spin	refocalisé	Non refocalisé	oui	court	Long	1
Écho solide	refocalisé	Non refocalisé	oui	court	Long	0,5
WAHUHA	réduit ($1/\sqrt{3}$)	refocalisé	non	court	court	1
Écho magique	refocalisé	refocalisé	non	moyen	Long (T_2^*)	1
MREV-8	($\sqrt{3}/2$)	refocalisé	non	court	court	1

En effet, l'effet des séquences multi-impulsionnelles de découplage dipolaire homonucléaire est amoindri en fonction de l'offset entre la fréquence de référence et la résonance.⁶³ L'ajout d'un gradient de champ magnétique pendant toute la durée de la séquence va donc induire des variations de l'efficacité du découplage dans l'espace, et ce même si la gamme de fréquences des impulsions RF est bien supérieure à l'élargissement sous gradient.^{13,64}

La stratégie la plus communément adoptée pour s'affranchir de cette limite est d'appliquer le gradient seulement pendant certains temps d'évolution pendant lesquels ils n'affectent pas l'efficacité du découplage. Cette application de gradient pulsé est facile pour les séquences d'écho de spin, d'écho solide ou d'écho magique²⁵ car les périodes d'évolution sont relativement longues (de l'ordre du T_2^*). En revanche pour les séquences de découplage dipolaire homonucléaire, les périodes d'évolutions sont beaucoup plus réduites et cela limite la puissance du gradient qui peut être appliqué dans des temps si courts.

Ces séquences sont alors fortement limitées par la durée très courte des périodes d'application du gradient d'encodage spatial. Une solution pour appliquer un gradient fort pendant un temps très court est d'utiliser un gradient oscillant.⁶⁵ En effet, si la bobine de gradient fait partie d'un circuit résonant, cela peut permettre de créer des impulsions de gradient d'une durée de 3 à 5 μ s.

Ces gradients oscillants ont été utilisés avec la séquence de découplage dipolaire homonucléaire MREV-8, mais aussi avec sa variante 24 impulsions⁶⁶ qui y associe la refocalisation des interactions linéaires en $\hat{I}z$ (déplacement chimique isotrope et anisotrope, susceptibilité magnétique) ou encore la variante à 48 impulsions.⁶⁴

¹ H Linewidths of Solids under Multiple-Pulse Time-Suspension Cycles					
Compound	Dipolar linewidth (kilohertz)	MREV-8 second-averaged (hertz)	16-pulse cycle (hertz)	24-pulse cycle (hertz)	48-pulse cycle (hertz)
Adamantane	13	34	44	28 ^a	3.5 (2.5 ^d)
Ferrocene	19	45	45	25 ^a	5.5
Hexamethylbenzene	21	29	52	32 ^a	8.0
Oxalic acid	58	234	186	350	67 (28 ^d)
Gypsum (single crystal)	46 ^b	176	140	349	51
High density polyethylene	25 ^c	94	129	523	66
Pressure-crystallized polyethylene	59	335	335	350	82 (59 ^d)

^a Width of sharp resonance on top of a broad background.

^b Spacing between doublet from dipolar coupling.

^c Width of amorphous fraction.

^d Linewidth under a shorter cycle time of 192 μ s (solid echo time of 8 μ s) with a 1.8 μ s $\pi/2$ pulse.

Figure 28 : Tableau des largeurs de raies sous différentes conditions de découplage homonucléaire extrait de *Time-Suspension multiple Pulse Sequences : Applications to Solid-State imaging* de D.G. Cory, J. B. Miller, and A. N. Garroway (1990)

Toutes ces séquences peuvent être utilisées avec un encodage de phase ou un encodage fréquentiel avec une acquisition séquencée au moment où l'effet des interactions est annulé.

Ces séquences sont efficaces sur les matériaux dont les résonances sont élargies principalement par le couplage dipolaire homonucléaire, elles ont donc été démontrées principalement sur des polymères ou de l'adamantane et n'ont donné lieu qu'à très peu d'applications.

Plus récemment, une séquence d'écho quadratique permettant de refocaliser à la fois les interactions de déplacement chimique et le dipolaire homonucléaire, et ce en présence de gradients a été proposée.⁶⁷ La preuve de concept de l'imagerie par écho quadratique a été réalisée en ³¹P *ex vivo* sur une tête de fémur de lapin. Malgré les excellentes performances promises par l'utilisation de l'écho quadratique : une réduction de la largeur de résonance ³¹P d'un facteur environ 1000 et résolution limite de 100 μ m isotrope, les images montrées dans la publication présentent un rapport signal sur bruit faible permettant difficilement de juger de leurs qualités même si l'auteur revendique la meilleure résolution jamais atteinte en imagerie *ex vivo* des tissus osseux.

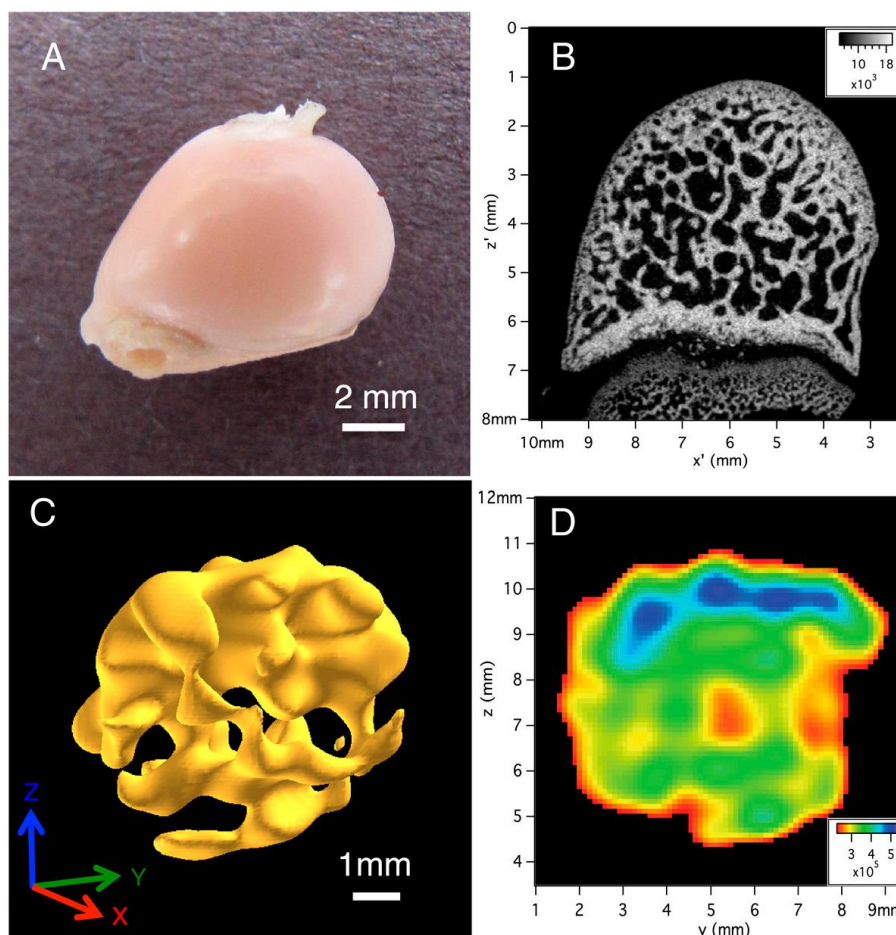


Figure 29 : figure extraite de : Phosphorus-31 MRI of hard and soft solids using quadratic echo line-narrowing de Frey et al. PNAS (2011). (A) Photographie de l'échantillon de tête de fémur de lapin, (B) tranche bidimensionnelle obtenue par micro-tomographie par rayon X (μ -CT) (C) représentation en isosurface et (D) une tranche de l'image 3D ^{31}P de la tête de fémur de lapin de résolution $0.458 \times 0.458 \times 0.422 \text{ mm}^3$ acquise en 70 heures à un champ magnétique de 4 Teslas.

La résolution d'environ $450 \text{ }\mu\text{m}$ isotrope sur un tissu osseux pour une image 3D acquise en 70 heures représente tout de même une amélioration importante par rapport aux images précédemment acquises pour lesquelles la résolution n'excède pas $2,7 \text{ mm}^{68,69}$ ou n'est pas donnée.⁷⁰ Une résolution de cet ordre de grandeur ($500 \text{ }\mu\text{m}$) a cependant été obtenue sur des tissus similaires bien que plus denses : les dents.⁷¹

III.3.2 Magic Angle rotating Frame

Une autre possibilité pour parvenir au découplage des interactions dipolaires est de profiter de leur dépendance orientationnelle au champ magnétique principal qui s'exprime par le terme $1 - 3\cos^2\theta$. Ce terme peut être moyenné par la rotation du spin à l'angle θ par rapport au champ magnétique principal. C'est le principe des techniques de découplage dites Lee-Golburg.^{72,73} Cependant ces séquences sont extrêmement dépendantes de l'effet d'offset et pour pouvoir faire précesser des spins sous gradient (subissant un champ magnétique gradient dans l'espace) il est nécessaire d'appliquer un champ radiofréquence qui soit aussi gradient dans l'espace.^{74,75} Cela nécessite donc l'usage d'une bobine permettant de créer un gradient de champ RF égale au gradient de champ magnétique appliqué. En raison de sa complexité de mise en œuvre, cette méthode ne sera pas plus détaillée ici.

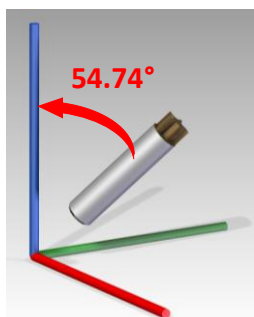
III.4. ROTATION A L'ANGLE MAGIQUE

La partie spatiale des interactions anisotropes présente aussi une dépendance angulaire à l'orientation par rapport au champ magnétique $\vec{B}_0$. Une rotation de l'échantillon ou du champ magnétique (si celle-ci est très inférieure à la fréquence de Larmor) permet de moyenner cette dépendance angulaire et d'éliminer l'élargissement de la résonance dû à l'interaction.

III.4.1 Champ magnétique en rotation à l'angle magique

Un champ magnétique tournant peut être généré par la rotation physique d'un aimant permanent^{76,77} ou par un champ électromagnétique oscillant.⁷⁸ L'utilisation d'un champ électromagnétique va limiter l'intensité du champ magnétique obtenu, mais permet d'accéder à des vitesses de rotation plus importantes que la rotation physique d'un aimant permanent. En raison de l'instabilité et de la faible amplitude des champs électromagnétiques, c'est actuellement la rotation physique de l'aimant qui est la plus étudiée. Cette approche est extrêmement prometteuse pour des applications de spectroscopie d'échantillons massifs ou vivants pour lesquels la rotation de l'échantillon est impossible ou très limitée.⁷⁹

III.4.2 Rotation à l'Angle Magique (MAS) de l'échantillon



En pratique, la méthode la plus utilisée en spectroscopie RMN des solides est la rotation à l'angle magique de l'échantillon (MAS).^{22,23} L'échantillon est placé dans un rotor qui est ensuite mis en rotation à l'angle magique. La fréquence de rotation est limitée par le système de rotation et la solidité du rotor. Actuellement et en fonction du diamètre du rotor, les fréquences de rotation peuvent aller jusqu'à 110 kHz pour un diamètre externe du rotor de 0,7 mm.

La rotation à l'angle magique est la méthode permettant de moyenner l'effet des interactions anisotropes la plus utilisée en spectroscopie par RMN à l'état solide. Comme elle ne nécessite pas l'application d'impulsion radiofréquence, elle est facilement compatible avec la majorité des séquences de spectroscopie ou d'imagerie. De plus, l'acquisition peut être faite de manière continue pendant le découplage et cela permet donc d'utiliser de l'encodage fréquentiel classique (non séquencé).

L'approche la plus simple conceptuellement pour associer l'imagerie et la rotation à l'angle magique est d'appliquer des gradients tournants synchronisés avec la rotation de l'échantillon. Cela a été proposé par Wind and Yannoni,⁸⁰ a été implémenté en premier par Cory, and Veeman^{81,82} puis développé par Schauss *et al.*,⁸³ Scheler *et al.*^{84,85} Cependant, ces études ont nécessité le développement d'appareillages spécialisés avec des bobines de gradients inclinées à l'angle magique. Cette complexité expérimentale et les imperfections

inhérentes ont freiné son développement et toutes les applications ont été réalisées sur des échantillons modèles et principalement sur des polymères.

Plus récemment Pampel *et al.*,⁸⁶ ont montré que les systèmes commerciaux de micro-imagerie 3 axes utilisés pour les mesures de diffusion peuvent aussi être utilisés pour effectuer de l'imagerie en rotation à l'angle magique. La preuve de concept de l'imagerie en rotation à l'angle magique de matériaux solides a été effectuée sur un fantôme composé de polymère et d'adamantane avec une séquence d'écho de gradient et une fréquence de rotation de 5 kHz. L'utilisation de cette séquence mal adaptée à l'imagerie des résonances à temps de défocalisation T_2^* court conduit à l'obtention d'une image bidimensionnelle avec sélection de tranche de piètre qualité (résolution de $156 \times 156 \times 625 \mu\text{m}$) dans un temps d'acquisition relativement long de 68 minutes.

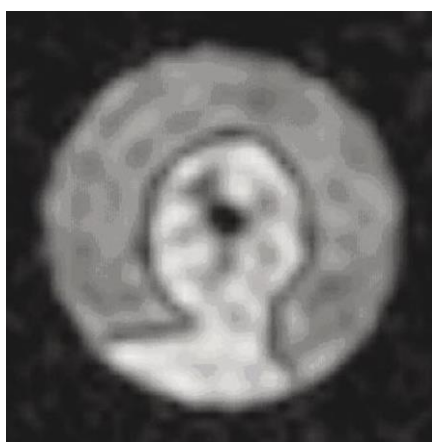


Figure 30 : première image acquise en rotation à l'angle magique à partir d'un gradient 3 axes extraite de : Pulsed-field-gradient NMR with magic-angle spinning: Diffusion studies and NMR microscopy of heterogeneous materials de Pampel *et al.* Bruker report janvier 2006.

Il est aussi possible d'appliquer un gradient non modulé très court à un moment défini de la période de rotation pour effectuer de l'encodage de phase. Si le temps d'application du gradient est court devant la durée de la période de rotation, le flou dû à la rotation peut-être suffisamment faible pour permettre l'obtention d'une image.⁸⁷ C'est aussi le principe du STRAFI-MAS introduit par Baltisberger⁴³ et développé par Sakellariou *et al.*^{88,89} où le gradient unidirectionnel est produit par le champ de fuite de l'aimant RMN supraconducteur.

Si la rotation à l'angle magique n'est pas suffisante pour moyenniser les interactions il est possible de l'associer à des méthodes de découplage multi-impulsionnelle. Cette approche est nommée CRAMPS de l'anglais « combined rotation and multiple pulse spectroscopy ».⁹⁰

III.4.3 Conclusion

Actuellement, et grâce aux progrès technologiques permettant d'obtenir des gradients de champ magnétique forts avec des temps de montée réduits ($< 100 \mu\text{s}$), les approches d'imagerie dites « brutes forces » sont les plus utilisées. Le succès de cette méthodologie provient aussi de son universalité : son efficacité ne dépend pas de la nature de l'interaction rencontrée et la méthode peut donc être utilisée sur tout type d'échantillon. De plus, elle

n'utilise pas de découplage radiofréquence et peut donc être utilisée sur un échantillon vivant sans problème d'échauffement par absorption de l'énergie radiofréquence⁹¹. Ce genre de méthode minimise aussi l'influence de l'inhomogénéité de champ radiofréquence en n'utilisant qu'un nombre d'impulsions réduit. Pour la micro-imagerie en revanche, l'utilisation de gradients intenses va diminuer la sensibilité qui est souvent limitante pour obtenir des images avec une résolution élevée.

La solution explorée dans ce travail sera donc de combiner cette approche d'imagerie brute force avec la rotation à l'angle magique (MAS). Le MAS possède l'avantage d'être une méthode permettant de moyenniser les interactions anisotropes extrêmement efficace n'utilisant pas d'impulsions radiofréquence ce qui permet d'éviter les problèmes d'inhomogénéité ou de limitation de la puissance RF. En diminuant la largeur de raie, la rotation à l'angle magique permettra de diminuer les gradients utilisés, et ainsi d'augmenter le rapport signal sur bruit, et donc la résolution de la micro-imagerie de résonance magnétique. La méthode choisie pour implémenter cette combinaison sera de synchroniser les gradients avec la rotation de l'échantillon de façon à éviter tout flou de l'image pour des temps d'applications de gradients longs.

IV) REFERENCES

1. Levitt, M. H. *Spin Dynamics: Basics of Nuclear Magnetic Resonance*. (Wiley, 2001).
2. Lévy-Leblond. SPIN ou MOMENT CINÉTIQUE ou ANGULAIRE INTRINSÈQUE. *Encyclopædia Universalis*
3. Bloch, F., Hansen, W. W. & Packard, M. Nuclear Induction. *Phys. Rev.* **69**, 127–127 (1946).
4. Purcell, E. M., Torrey, H. C. & Pound, R. V. Resonance Absorption by Nuclear Magnetic Moments in a Solid. *Physical Review* **69**, 37 (1946).
5. Bloch, F. Nuclear Induction. *Phys. Rev.* **70**, 460–474 (1946).
6. Abragam, A. *The Principles of Nuclear Magnetism*. (Clarendon Press, 1961).
7. Hanson, L. G. Is quantum mechanics necessary for understanding magnetic resonance? *Concepts Magn. Reson. Part A* **32A**, 329–340 (2008).
8. Keeler, J. *Understanding NMR Spectroscopy*. (Wiley, 2011).
9. Goldman, M. Quantum Description of High-Resolution NMR in Liquids. 284 (1991). doi:10.1016/0584-8539(93)80021-2
10. Hoult, D. I. The origins and present status of the radio wave controversy in NMR. *Concepts Magn. Reson. Part A* **34A**, 193–216 (2009).
11. Hoult, D. I. & Ginsberg, N. S. The quantum origins of the free induction decay signal and spin noise. *J. Magn. Reson.* **148**, 182–199 (2001).
12. Brunner, D. O., De Zanche, N., Fröhlich, J., Paska, J. & Pruessmann, K. P. Travelling-wave nuclear magnetic resonance. *Nature* **457**, 994–998 (2009).
13. Blumich, B. *NMR Imaging of Materials*. (OUP Oxford).
14. Poumeyrol, T. Résonance Magnétique Nucléaire du soufre-33 : Application à la caractérisation des élastomères vulcanisés. (2013).
15. Harris, R. K. *et al.* Further Conventions for NMR shielding and chemical shifts (IUPAC recommendations 2008). *Magn. Reson. Chem.* **46**, 582–598 (2008).
16. Karplus, M. Contact Electron-Spin Coupling of Nuclear Magnetic Moments. *J. Chem. Phys.* **30**, 11–15 (1959).
17. Stokes, A. M., Feng, Y., Mitropoulos, T. & Warren, W. S. Enhanced refocusing of fat signals using optimized multipulse echo sequences. *Magn. Reson. Med.* **69**, 1044–1055 (2013).
18. Hardy, P. A., Henkelman, R. M., Bishop, J. E., Poon, E. C. S. & Plewes, D. B. Why fat is bright in rare and fast spin-echo imaging. *J. Magn. Reson. Imaging* **2**, 533–540 (1992).
19. Jerschow, A. From nuclear structure to the quadrupolar NMR interaction and high-resolution spectroscopy. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **46**, 63–78 (2005).
20. Waugh, J. S., Pines, A. & Rhim, W.-K. Time-Reversal Experiments in Dipolar Coupled Spin Systems. *Phys. Rev. B* **3**, 684–696 (1971).
21. Hahn, E. L. Spin Echoes. *Phys. Rev.* **80**, 580–594 (1950).

22. Lowe, I. J. Free Induction Decays of Rotating Solids. *Phys. Rev. Lett.* **2**, 285–287 (1959).
23. Andrew, E. R., Bradbury, A. & Eades, R. G. Nuclear Magnetic Resonance Spectra from a Crystal rotated at High Speed. *Nature* **182**, 1659–1659 (1958).
24. Andrew, E. R. Magic Angle Spinning in Solid State n.m.r. Spectroscopy. *Philos. Trans. R. Soc. A Math. Phys. Eng. Sci.* **299**, 505–520 (1981).
25. Grenier, D. Micro-imagerie RMN de milieux quasi-solides : exemple d'application a l'imagerie osteoarticulaire . (Université Claude bernard Lyon I, 1999).
26. Shrot, Y. & Frydman, L. Spatially encoded NMR and the acquisition of 2D magnetic resonance images within a single scan. *J. Magn. Reson.* **172**, 179–90 (2005).
27. Frydman, L., Scherf, T. & Lupulescu, A. The acquisition of multidimensional NMR spectra. **99**, 15858–15862 (2002).
28. Rouger, L. *et al.* Ultrafast acquisition of 1H-1H dipolar correlation experiments in spinning elastomers. *J. Magn. Reson.* **277**, 30–35 (2017).
29. André, M., Piotto, M., Caldarelli, S. & Dumez, J.-N. Ultrafast high-resolution magic-angle-spinning NMR spectroscopy. *Analyst* **140**, 3942–3946 (2015).
30. Décorps, M. *Imagerie de résonance magnétique*. (EDP Sciences, 2012).
31. McFarland, E. W. Time-independent point-spread function for NMR microscopy. *Magn. Reson. Imaging* **10**, 269–278 (1992).
32. Gravina, S. & Cory, D. G. Sensitivity and Resolution of Constant-Time Imaging. *Journal of Magnetic Resonance, Series B* **104**, 53–61 (1994).
33. Callaghan, P. T. *Principles of Nuclear Magnetic Resonance Microscopy*. (Clarendon Press, 1993).
34. Palmer, M. R. *et al.* Sensitivity of Nonuniform Sampling NMR. *J. Phys. Chem. B* **119**, 6502–6515 (2015).
35. Mansfield, P. Multi-planar image formation using NMR spin echoes. *J Phys Chem* **10**, L55–L58 (1977).
36. Hennig, J., Nauerth, A. & Friedburg, H. RARE imaging: a fast imaging method for clinical MR. *Magn Reson Med* **3**, 823–33 (1986).
37. Haase, A. *et al.* FLASH imaging: rapid NMR imaging using low flip-angle pulses. *J. Magn. Reson.* **213**, 533–41 (2011).
38. Kuhn, W. NMR Microscopy—Fundamentals, Limits and Possible Applications. *Angew. Chemie Int. Ed. English* **29**, 1–19 (1990).
39. Glover, P. & Mansfield, S. P. Limits to magnetic resonance microscopy. **65**, 1489–1511 (2002).
40. Garroway, A. & Baum, J. NMR imaging in solids by multiple-quantum resonance. *Magn. Reson.* **341**, 337–341 (1984).
41. Munowitz, M., Pines, A. & Mehring, M. Multiple-quantum dynamics in NMR: A directed walk through Liouville space. *J. Chem. Phys.* **86**, 3172–3182 (1987).
42. Samoilenko, A. A., Artemov, D. T. & Sibel'dina, L. A. Formation of sensitive layer in experiments on NMR subsurface imaging of solids. 348–350 (1988).

43. Baltisberger, J. H., Hediger, S. & Emsley, L. Multi-dimensional magnetic resonance imaging in a stray magnetic field. *J. Magn. Reson.* **172**, 79–84 (2005).
44. Emid, S. & Creyghton, J. High resolution NMR imaging in solids. *Phys. B+C* **128**, 81–83 (1985).
45. Weiger, M., Pruessmann, K. P. & Hennel, F. MRI with zero echo time: Hard versus sweep pulse excitation. *Magn. Reson. Med.* **66**, 379–389 (2011).
46. Kuethe, D. O., Adolphi, N. L. & Fukushima, E. Short data-acquisition times improve projection images of lung tissue. *Magn. Reson. Med.* **57**, 1058–1064 (2007).
47. Madio, D. P. & Lowe, I. J. Ultra-fast imaging using low flip angles and fids. *Magn. Reson. Med.* **34**, 525–529 (1995).
48. Wu, Y. *et al.* Density of organic matrix of native mineralized bone measured by water- and fat-suppressed proton projection MRI. *Magn. Reson. Med.* **50**, 59–68 (2003).
49. Hafner, S. Fast imaging in liquids and solids with the Back-projection Low Angle ShoT (BLAST) technique. *Magn. Reson. Imaging* **12**, 1047–1051 (1994).
50. Kuethe, D. O., Caprihan, a, Lowe, I. J., Madio, D. P. & Gach, H. M. Transforming NMR data despite missing points. *J. Magn. Reson.* **139**, 18–25 (1999).
51. Tyler, D. J., Robson, M. D., Henkelman, R. M., Young, I. R. & Bydder, G. M. Magnetic resonance imaging with ultrashort TE (UTE) PULSE sequences: Technical considerations. *J. Magn. Reson. Imaging* **25**, 279–289 (2007).
52. Bergin, C. J., Pauly, J. M. & Macovski, A. Lung parenchyma: projection reconstruction MR imaging. *Radiology* **179**, 777–781 (1991).
53. Idiyatullin, D., Corum, C., Park, J.-Y. & Garwood, M. Fast and quiet MRI using a swept radiofrequency. *J. Magn. Reson.* **181**, 342–9 (2006).
54. Lauterbur, P. Image formation by induced local interactions: examples employing nuclear magnetic resonance. *Nature* (1973).
55. Wu, Y. *et al.* Water- and fat-suppressed proton projection MRI (WASPI) of rat femur bone. *Magn. Reson. Med.* **57**, 554–567 (2007).
56. Grodzki, D. M., Jakob, P. M. & Heismann, B. Ultrashort echo time imaging using pointwise encoding time reduction with radial acquisition (PETRA). *Magn. Reson. Med.* **67**, 510–518 (2012).
57. Weiger, M. & Pruessmann, K. P. MRI with Zero Echo Time. *eMagRes* **1**, 311–322 (2012).
58. Weiger, M. *et al.* Exploring the bandwidth limits of ZTE imaging: Spatial response, out-of-band signals, and noise propagation. *Magn. Reson. Med.* **74**, 1236–1247 (2015).
59. Fabich, H. T., Benning, M., Sederman, A. J. & Holland, D. J. Ultrashort echo time (UTE) imaging using gradient pre-equalization and compressed sensing. *J. Magn. Reson.* **245**, 116–124 (2014).
60. Ordidge, R. J., Connelly, A. & Lohman, A. A. B. Image-Selected in Vivo Spectroscopy (ISIS). A New Technique for Spatially Selective NMR Spectroscopy. *J. Magn. Reson.* **66**, 283–294 (1986).

61. Tang, M. *et al.* Following lithiation fronts in paramagnetic electrodes with in situ magnetic resonance spectroscopic imaging. *Nat. Commun.* **7**, 13284 (2016).
62. Veeman, W. & Bijl, G. NMR imaging of solids with magic angle spinning. *Magn. Reson. Imaging* **10**, 755–763 (1992).
63. Miller, J., Cory, D. & Garroway, A. Pulsed field gradient NMR imaging of solids. *Chem. Phys. Lett.* **164**, (1989).
64. Cory, D., Miller, J. & Garroway, A. Time-suspension multiple-pulse sequences: Applications to solid-state imaging. *J. Magn. Reson.* **13**, (1990).
65. Conradi, M. S., Garroway, A. N., Cory, D. G. & Miller, J. B. Generation of short, intense gradient pulses. *J. Magn. Reson.* **94**, 370–375 (1991).
66. Miller, J. . & Garroway, A. . ^1H -refocused gradient imaging of solids. *J. Magn. Reson.* **82**, 529–538 (1989).
67. Frey, M. a *et al.* Phosphorus-31 MRI of hard and soft solids using quadratic echo line-narrowing. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **109**, 5190–5 (2012).
68. Moore, J. R., Garrido, L. & Ackerman, J. L. Solid state phosphorus-31 magnetic resonance imaging of bone mineral. *Magn. Reson. Med.* **33**, 293–9 (1995).
69. Wu, Y. *et al.* Bone mineral imaged in vivo by ^{31}P solid state MRI of human wrists. *J. Magn. Reson. Imaging* **34**, 623–33 (2011).
70. Anumula, S. *et al.* Measurement of phosphorus content in normal and osteomalacic rabbit bone by solid-state 3D radial imaging. *Magn. Reson. Med.* **56**, 946–952 (2006).
71. Sun, Y. *et al.* Imaging human teeth by phosphorus magnetic resonance with nuclear Overhauser enhancement. *Sci. Rep.* **6**, 30756 (2016).
72. Lee, M. & Goldburg, W. I. Nuclear-magnetic-resonance line narrowing by a rotating rf field. *Phys. Rev.* **140**, (1965).
73. Mehring, M. & Waugh, J. S. Magic-angle NMR experiments in solids. *Phys. Rev. B* **5**, 3459–3471 (1972).
74. Hoult, D. I. Rotating frame zeugmatography. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **289**, 543–7 (1980).
75. De Luca, F., Nuccetelli, C., De Simone, B. . & Maraviglia, B. NMR imaging of a solid by the magic-angle rotating-frame method. *J. Magn. Reson.* **69**, 496–500 (1986).
76. Sakellariou, D. *et al.* Permanent magnet assembly producing a strong tilted homogeneous magnetic field: Towards magic angle field spinning NMR and MRI. *Magn. Reson. Chem.* **48**, 903–908 (2010).
77. Schlueter, R. D. & Budinger, T. F. Magic angle rotating field NMR/MRI magnet for in vivo monitoring of tissue. *IEEE Trans. Appl. Supercond.* **18**, 864–867 (2008).
78. Meriles, C. A. *et al.* High-resolution NMR of static samples by rotation of the magnetic field. *J. Magn. Reson.* **169**, 13–18 (2004).
79. Wind, R. A., Hu, J. Z. & Rommereim, D. N. High-Resolution ^1H NMR Spectroscopy in a Live Mouse Subjected to 1.5 Hz Magic Angle Spinning. *Magn. Reson. Med.* **50**, 1113–1119 (2003).

80. Wind, R. A. & Yannoni, C. S. United States Patent. (1981).
81. Cory, D., Os, J. Van & Veeman, W. NMR images of rotating solids. *J. Magn. ...* **547**, 543–547 (1988).
82. Cory, D. & Reichwein, A. NMR images of rigid solids. *Chem. Phys. ...* **143**, 467–470 (1988).
83. Schauss, G., Blümich, B. & Spiess, H. Conditions for generating rotating gradients in MAS NMR imaging. ... *Magn. Reson. (1969 ...* **1**, 437–441 (1991).
84. Scheler, U., Schauss, G., Blümich, B. & Spiess, H. W. Spatially resolved solid-state MAS-NMR-spectroscopy. *Solid State Nucl. Magn. Reson.* **6**, 375–88 (1996).
85. Scheler, U., Blümich, B. & Spiess, H. W. Spinning sidebands from chemical shift anisotropy in ¹³C MAS imaging. *Solid State Nucl. Magn. Reson.* **2**, 105–10 (1993).
86. Pampel, A., Engelke, F., Gross, D., Oerther, T. & Zick, K. Pulsed-field-gradient NMR with magic-angle spinning: Diffusion studies and NMR microscopy of heterogeneous materials. *SpinREPORT* **157/158**, 26–30 (2006).
87. Ackerman, J. L. United States Patent 4,654,593 METHOD FOR CHEMICAL AND TOMOGRAPHIC ANALYSIS OF A MOVING OBJECT BY NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE. *U.S. Patent Document* (1987).
88. Wong, A. & Sakellariou, D. Contrast STRAFI-MAS imaging. *J. Magn. Reson.* **206**, 264–8 (2010).
89. Wong, A. & Sakellariou, D. Two- and three-dimensional multinuclear stray-field imaging of rotating samples with magic-angle spinning (STRAFI-MAS): from bio to inorganic materials. *J. Magn. Reson. Imaging* **32**, 418–23 (2010).
90. P. Burum, D. Combined Rotation and Multiple Pulse Spectroscopy (CRAMPS). *Concepts Magn. Reson.* **2**, 213–227 (1990).
91. Bernardi, P., Cavagnaro, M., Pisa, S. & Piuze, E. Specific absorption rate and temperature elevation in a subject exposed in the far-field of radio-frequency sources operating in the 10-900-MHz range. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **50**, 295–304 (2003).

Chapitre 2 :

Imagerie en rotation à l'angle magique

La première partie de ce chapitre détaille l'implémentation de méthodes d'imagerie par résonance magnétique (IRM) dans des conditions de rotation à l'angle magique, basées sur l'application de champs magnétiques gradients pulsés et tournants permettant d'obtenir des images statiques d'objets en rotation. Après une description de l'approche expérimentale employée, les spécificités et limitations de la méthode sont illustrées sur un échantillon modèle.

Dans une seconde partie, le potentiel des méthodes d'IRM en rotation à l'angle magique est démontré pour l'imagerie *ex vivo* de tissus rigides et de biomatériaux à base de phosphates de calcium utilisés pour la reconstruction osseuse.

Pour ces systèmes, la rotation à l'angle magique permet d'affiner considérablement les raies de résonances ^{31}P et ^1H , et d'allonger fortement les temps de déphasage de l'aimantation transverse. Ceci rend possible l'utilisation efficace d'une séquence d'imagerie par écho de spin et de l'encodage fréquentiel avec des gradients de champ modérés. Cette approche permet d'obtenir des images *ex vivo* ^1H ou ^{31}P , 3D ou 2D avec sélection de tranches, de tissus rigides tels que les os, les dents ou de biomatériaux avec un rapport signal sur bruit et une résolution spatiale considérablement améliorée par rapport aux conditions statiques. De plus, l'utilisation d'un très haut champ magnétique (17,6 T) combinée à la rotation à l'angle magique donne accès à des spectres RMN de haute résolution, ce qui permet l'utilisation de schémas d'excitation spectrale sélective et ainsi de réaliser de l'imagerie de déplacement chimique. Il est également possible d'utiliser des séquences de transfert de polarisation de façon à créer un contraste basé sur la proximité de noyaux hétéronucléaires et la dynamique locale au sein de ces matériaux.

I) IMAGERIE ET ROTATION A L'ANGLE MAGIQUE

I.1. DISPOSITIF EXPERIMENTAL

Les expériences d'imagerie en rotation à l'angle magique ont été effectuées sur un spectromètre *Bruker® Avance III HD Wide Bore* (89 mm) Ultrastabilized avec un champ magnétique statique de 17,6 Tesla (fréquence de Larmor de ^1H = 750 MHz). Ce spectromètre est équipé d'un système de gradients 3 axes *Bruker Micro 2.5* dans lequel s'insère une sonde *Bruker CP-MAS* 3,2 mm.

Le système de gradients *Micro 2.5* utilisé pour ce travail est un système de micro imagerie classique délivrant des gradients de champ magnétique pulsés suivant les trois axes propres du référentiel du laboratoire (X_{lab} , Y_{lab} , Z_{lab}). L'axe Z_{lab} est colinéaire à l'axe du champ magnétique principal B_0 et les deux autres axes sont placés à 45° de la projection de l'axe MAS dans le plan perpendiculaire à B_0 (cf. Figure 31). Chacun des 3 axes est capable de délivrer un gradient de champ magnétique de $2,5 \text{ Gauss.cm}^{-1}.\text{A}^{-1}$ et est alimenté par un amplificateur délivrant un courant maximum de 60 A. Ce système donne la possibilité d'obtenir des gradients de $150 \text{ Gauss.cm}^{-1}$ selon chaque axe et donc jusqu'à $260 \text{ Gauss.cm}^{-1}$ selon l'axe MAS. Selon les spécifications fournies par le constructeur, la fréquence maximale de changement d'amplitude des gradients est de 5000 Hz. Ce paramètre limite théoriquement l'imagerie MAS à une fréquence de rotation de 5 kHz.

La sonde utilisée permet d'atteindre des fréquences de rotation jusqu'à 24000 Hz pour des rotors d'un diamètre externe de 3,2 mm. C'est une sonde double résonance ^1H - ^{19}F /X avec une gamme de fréquence ajustable sur le canal X permettant d'observer les signaux des noyaux dont le rapport gyromagnétique est compris entre celui du ^{31}P et celui du ^{17}O . Les rotors 3,2 mm produits avec des parois fines possèdent un diamètre interne de 2,6 mm pour une hauteur disponible de 8 mm.

I.2. IMPLEMENTATION

I.2.1 Gradients tournants

L'une des possibilités pour effectuer de l'imagerie en rotation à l'angle magique, est d'exercer les gradients de champ magnétique suivant les axes principaux du référentiel du rotor (X^{MAS} , Y^{MAS} , Z^{MAS}) de manière synchrone avec la rotation de l'échantillon. Par convention, l'axe Z^{MAS} du référentiel du rotor est colinéaire à l'axe du rotor (axe de rotation MAS) et les axes X^{MAS} et Y^{MAS} sont perpendiculaires à celui-ci (Figure 31). Les équations permettant de générer des gradients dans le repère du rotor à partir de bobines exerçant des gradients de champ magnétique dans le repère laboratoire sont connues et sont rappelées ici.^{1,2}

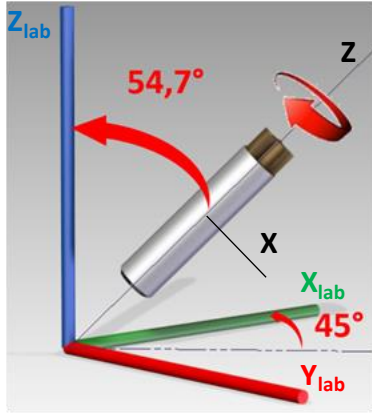


Figure 31 : Décomposition du mouvement du rotor dans le repère gradient. En réalité, le repère laboratoire est centré sur le centre du rotor.

Le mouvement du rotor en rotation selon l'axe MAS peut être décomposé par trois rotations successives dans le référentiel des gradients statiques du laboratoire (selon la convention (ZYZ)) indiqué par des flèches rouges sur la Figure 31.

Ces trois rotations sont:

- La rotation du rotor selon l'axe Z^{MAS} (l'axe MAS).
- Une rotation de $54,7^\circ$ selon l'axe Y_{lab} , qui correspond à la mise à l'angle magique.
- Une rotation de 45° selon l'axe Z_{lab} , car l'axe MAS est décalé de 45° par rapport à l'axe X_{lab} des gradients.

Chacune de ces opérations peut être décrite par une matrice de rotation :

Rotation du rotor	Rotation de $54,7^\circ$ selon Y_{lab}	Rotation de 45° selon Z_{lab}
$\begin{bmatrix} \cos(\omega t) & \sin(\omega t) & 0 \\ -\sin(\omega t) & \cos(\omega t) & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} \cos(54,7^\circ) & 0 & -\sin(54,7^\circ) \\ 0 & 1 & 0 \\ \sin(54,7^\circ) & 0 & \cos(54,7^\circ) \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} \cos(45^\circ) & \sin(45^\circ) & 0 \\ -\sin(45^\circ) & \cos(45^\circ) & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}$

Ces matrices peuvent être simplifiées pour les angles particuliers grâce aux relations suivantes :

$$\cos(54,7^\circ) = 1/\sqrt{3}$$

$$\sin(54,7^\circ) = \sqrt{2}/\sqrt{3}$$

$$\cos(45^\circ) = \sin(45^\circ) = 1/\sqrt{2}$$

La simplification des matrices de rotation donne :

Rotation du rotor (Z^{MAS})	Rotation de $54,7^\circ$ selon Y_{lab}	Rotation de 45° selon Z_{lab}
$\begin{bmatrix} \cos(\omega t) & \sin(\omega t) & 0 \\ -\sin(\omega t) & \cos(\omega t) & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1/\sqrt{3} & 0 & -\sqrt{2}/\sqrt{3} \\ 0 & 1 & 0 \\ \sqrt{2}/\sqrt{3} & 0 & 1/\sqrt{3} \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1/\sqrt{2} & 1/\sqrt{2} & 0 \\ -1/\sqrt{2} & 1/\sqrt{2} & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}$

La matrice de rotation permettant le passage du référentiel propre du rotor au référentiel des gradients du laboratoire est obtenue en multipliant ces trois matrices de rotation dans l'ordre $Z^{\text{MAS}}, Y_{\text{lab}}, Z_{\text{lab}}$:

Matrice de changement de repère

$$\begin{bmatrix} 1/\sqrt{6} * \cos(\omega t) - 1/\sqrt{2} * \sin(\omega t) & -1/\sqrt{6} * \sin(\omega t) - 1/\sqrt{2} * \cos(\omega t) & 1/\sqrt{3} \\ 1/\sqrt{6} * \cos(\omega t) + 1/\sqrt{2} * \sin(\omega t) & -1/\sqrt{6} * \sin(\omega t) + 1/\sqrt{2} * \cos(\omega t) & 1/\sqrt{3} \\ -(\sqrt{2}/\sqrt{6}) * \cos(\omega t) & (\sqrt{2}/\sqrt{6}) * \sin(\omega t) & 1/\sqrt{3} \end{bmatrix}$$

La multiplication des coordonnées d'un vecteur propre du référentiel du rotor par cette matrice de changement de repère permet de calculer l'expression des gradients à appliquer

selon les trois axes de gradient du référentiel du laboratoire pour appliquer un gradient suivant cette direction. Par exemple, en multipliant cette matrice par le vecteur colonne $[0 \ 0 \ 1]$, on déduit l'expression d'un gradient suivant l'axe Z^{MAS} du référentiel du rotor (l'axe MAS) en fonction des gradients appliqués dans le référentiel du laboratoire:

$$G_Z^{MAS} = \frac{1}{\sqrt{3}}G_x^{lab} + \frac{1}{\sqrt{3}}G_y^{lab} + \frac{1}{\sqrt{3}}G_z^{lab}$$

De la même manière, on déduit l'expression d'un gradient selon la direction X^{MAS} du référentiel du rotor en multipliant la matrice de changement de repère par le vecteur colonne $[1 \ 0 \ 0]$:

$$G_X^{MAS} = \left(\frac{1}{\sqrt{6}}\cos(\omega t) - \frac{1}{\sqrt{2}}\sin(\omega t) \right) G_x^{lab} + \left(\frac{1}{\sqrt{6}}\cos(\omega t) + \frac{1}{\sqrt{2}}\sin(\omega t) \right) G_y^{lab} - \left(\frac{\sqrt{2}}{\sqrt{6}}\cos(\omega t) \right) G_z^{lab}$$

Les modulations d'amplitude des trois gradients du référentiel du laboratoire induisant l'apparition d'un gradient selon l'axe propre X^{MAS} du référentiel du rotor sont représentées en Figure 32 a.

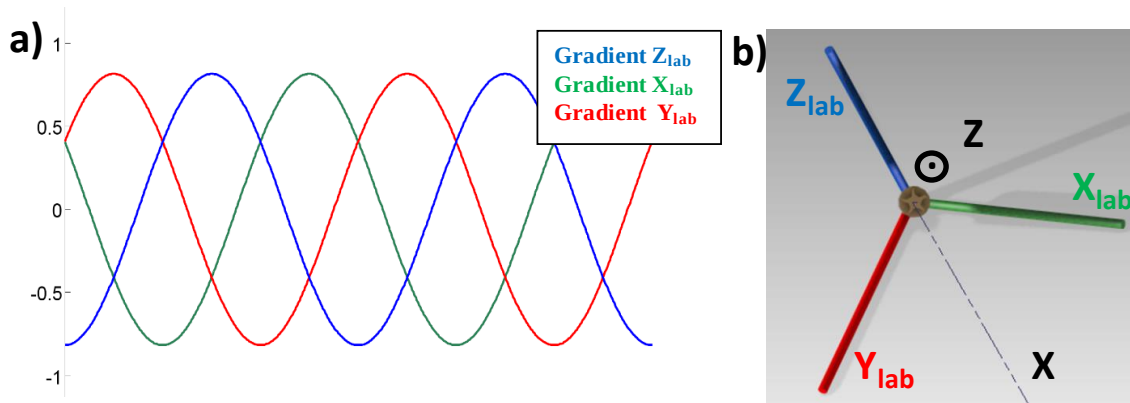


Figure 32 : a) Fonctions des gradients permettant d'appliquer un gradient linéaire selon la direction X du rotor en rotation. b) Image du repère des gradients et du rotor vue de la direction de l'axe MAS.

Les amplitudes équivalentes des trois gradients appliqués dans le repère du laboratoire pour générer un gradient suivant l'axe de rotation est lié au fait que l'angle magique correspond à la grande diagonale d'un cube pour lequel les axes des gradients sont les arêtes. Cette symétrie est plus visible en regardant le repère des gradients dans la direction de l'axe MAS comme illustré en Figure 32 b.

Ces combinaisons linéaires de gradients constants (Z^{MAS}) ou modulés en amplitude (X^{MAS} et Y^{MAS}) peuvent *a priori* être combinés à n'importe quelle séquence d'imagerie pour acquérir une image « statique » de l'objet en rotation.

1.2.2 Synchronisation des séquences d'imagerie en rotation à l'angle magique

La séquence utilisée pour illustrer les conditions de synchronisation des gradients tournants et des impulsions de champ radiofréquence avec la rotation à l'angle magique est présentée en Figure 33. C'est une séquence d'imagerie 2D par écho de spin, dans le plan perpendiculaire à l'axe MAS, avec une dimension de phase et une dimension fréquentielle, ainsi qu'avec une sélection de tranche selon l'axe MAS.

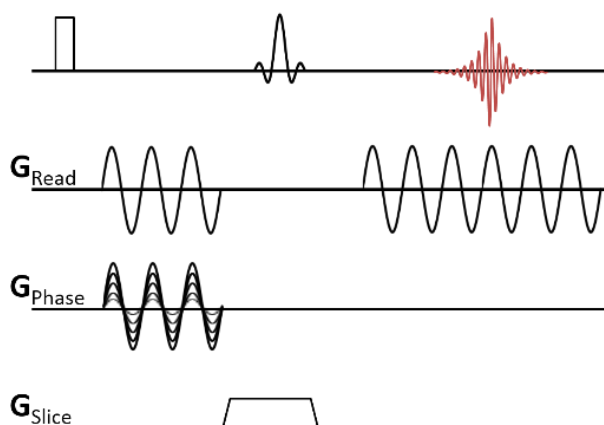


Figure 33: Séquence d'impulsions radiofréquences et de gradient utilisée pour obtenir une image 2D dans le plan $X^{MAS} Y^{MAS}$ du rotor avec sélection d'une tranche selon l'axe Z^{MAS} .

Dans cette séquence, le gradient d'encodage fréquentiel (ou de lecture) nommé G_{Read} est représenté par une sinusoïde sur la Figure 33, car il est appliqué dans une direction perpendiculaire à l'axe de rotation et est obtenu par la combinaison des trois gradients du laboratoire modulés en amplitude par des fonctions sinusoïdales. La seconde dimension (Y^{MAS}) est obtenue par encodage de phase et le gradient G_{Phase} , dont l'amplitude est incrémentée, possède la même forme que le gradient d'encodage fréquentiel mais est déphasé de 90° .

La sélection de tranche selon l'axe Z^{MAS} est assurée par une impulsion sélective de refocalisation (angle d'impulsion de 180°) durant l'application du gradient G_{Slice} qui n'est pas modulé en amplitude puisqu'il est imposé selon l'axe MAS. Comme décrit auparavant, le gradient suivant l'axe Z^{MAS} est obtenu par une combinaison linéaire des trois gradients appliqués selon les axes du référentiel du laboratoire. L'impulsion sélective de refocalisation est généralement d'une durée longue (ms) et de faible amplitude, en fonction de l'épaisseur de la tranche (i.e. de la gamme de fréquence) sélectionnée. L'impulsion utilisée est de type RSnob ce qui permet de refocaliser les interactions de déplacements chimiques et de couplages scalaires hétéronucléaires pendant la durée de l'impulsion.³

Pour obtenir une image en rotation à l'angle magique, plusieurs conditions de synchronisation doivent être respectées. Ces conditions donnent lieu à des contraintes dans le programme d'impulsions de gradient de champ magnétique et d'impulsions de champ radiofréquence.

Tout d'abord, il est obligatoire que la position de l'objet dans le rotor soit connue à tout instant afin que l'encodage spatial soit synchronisé et précis puisque plusieurs acquisitions sont nécessaires pour décrire totalement l'espace-k. De fait, l'unité pneumatique (*Bruker MAS 2*) qui contrôle la rotation du rotor mesure la fréquence de rotation par détection optique d'une marque située sur la partie inférieure du rotor. Un signal est envoyé vers la console à chaque tour effectué par le rotor. C'est ce signal qui sert de déclencheur (*trigger* en anglais) pour l'ensemble des expériences d'imagerie en rotation à l'angle magique.

Dans les séquences d'imagerie par écho de spin, l'encodage fréquentiel est effectué par deux impulsions de gradients. La première impulsion de gradient (Read dephase) pré-positionne le premier point à acquérir au bord l'espace-k de sorte que la seconde impulsion (Read) permette de décrire l'espace réciproque d'un bord à l'autre, en synchronisant l'acquisition du point central $k=0$ et le top de l'écho de spin. La première impulsion de gradient de champ magnétique définit arbitrairement une direction X^{MAS} dans le plan perpendiculaire à l'axe du rotor. Afin que les aimantations puissent être refocalisées par le gradient de lecture, il faut que la direction X^{MAS} au début de la seconde impulsion du gradient d'encodage fréquentiel coïncide avec la direction définie lors de la première impulsion. Pour cela, le délai entre ces deux impulsions de gradient doit être un multiple de période de rotation ($= m \times \text{période de rotation}$ sur la Figure 34). La direction X^{MAS} peut être modifiée en ajustant le délai entre le déclencheur et le début de la séquence d'impulsion, ce qui permet de faire pivoter l'image si l'une des directions doit préférentiellement être encodée en phase ou en fréquence.

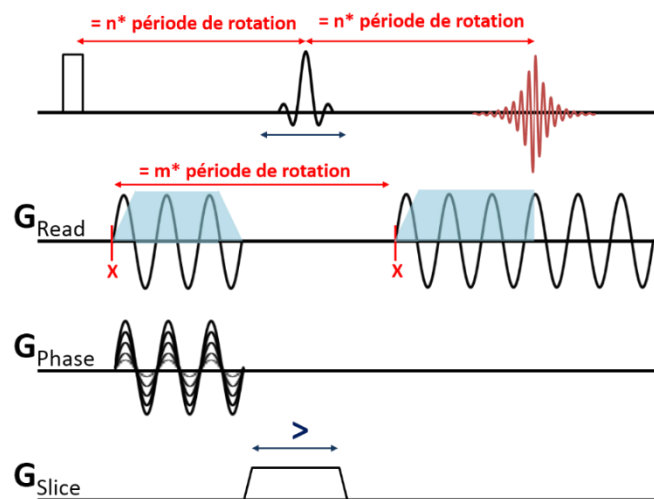


Figure 34 : Conditions à respecter pour obtenir une image 2D dans les directions X^{MAS} et Y^{MAS} par une séquence d'écho de spin avec une dimension encodée en fréquence et une dimension encodée en phase.

La seconde condition de synchronisation sur le gradient de lecture est que l'aire du premier gradient (le gradient de déphasage) doit être exactement compensée par l'aire de la moitié du second gradient (le gradient de lecture) afin d'obtenir une coïncidence de l'écho de spin et de l'écho de gradient. Les aires sont représentées en bleu clair sur la Figure 34. Cette condition peut être satisfaite en adaptant les durées ou les intensités des deux impulsions de gradients de lecture. Bien que les deux solutions fonctionnent, l'adaptation de la durée des

impulsions de gradients sera préférée afin d'éviter tout problème de non-linéarité du gradient appliqué en fonction de la puissance demandée. La seule condition sur le gradient de sélection de tranche est que sa durée, sans compter les temps de montée, soit supérieure à la durée de l'impulsion sélective. La durée de l'impulsion sélective, qui définit la gamme de fréquence excitée, et l'intensité de ce gradient permettent de choisir l'épaisseur de la tranche sélectionnée.

Enfin, lorsque le spectre MAS présente des bandes de rotation en plus de la raie de résonance isotrope, il peut être intéressant de synchroniser la période de demi-écho et donc celle d'écho complet avec des multiples de période de rotation. En effet, si les interactions anisotropes à l'origine des bandes de rotation présentent une distribution d'orientation aléatoire dans l'échantillon, cette condition de synchronisation permet d'obtenir un spectre ou une image avec des bandes de rotation (dans le domaine fréquentiel ou spatial) présentant la même phase que la raie ou l'image isotrope. Cette condition est définie sur la Figure 34 par la condition « $n \times \text{période de rotation}$ ». Ceci peut permettre de replier les images associées aux bandes de rotations sur l'image associée à raie isotrope lors de l'acquisition ou du traitement des données.

1.2.3 Programme d'impulsions

Le programme d'impulsions radiofréquence et de gradient ainsi que le programme d'automatisation de calcul des paramètres (AU program) associés à cette séquence sont donnés en annexe. Les points clefs sont discutés ci-dessous.

Pour générer des gradients modulés en amplitude avec le logiciel TopSpin 3.2, il est nécessaire de créer des listes de valeurs d'amplitudes (shape) de gradient. Ces listes sont calculées par un « AU program » pour chaque séquence afin que leurs durées correspondent à celle de l'impulsion de gradient demandée. Pour éviter des pics de tension, mais aussi pour contrôler parfaitement l'aire du gradient appliqué, la modulation d'amplitude sinusoïdale est multipliée par une fonction trapèze permettant une montée progressive de l'intensité du gradient. Le temps de montée est fixé par l'utilisateur, mais est en général d'environ 150 μs (valeur par défaut dans les méthodes d'imagerie pour système *Bruker micro 2.5*). La modulation d'amplitude du gradient est donc définie par une liste de valeurs et, actuellement, le délai minimum entre ces valeurs est de 8 μs . Le gradient est ainsi discrétisé sous forme de petits créneaux, qui sont ensuite lissés par l'impédance des bobines.

Ces gradients dans le référentiel du rotor sont appelés dans le programme d'impulsions par la commande :

`grad { GRead | GPhase | GSlice }`

G_{Read} , G_{Phase} et G_{Slice} , étant eux même composés des trois gradients laboratoire X_{lab} , Y_{lab} et Z_{lab} modulés en amplitude pour les directions X^{MAS} et Y^{MAS} . Une forme trapézoïdale de valeur maximale $1/\sqrt{3}$ est utilisée pour appliquer un gradient selon l'axe MAS.

Afin de permettre l'utilisation des syntaxes d'acquisition ou d'impulsions radiofréquence pendant l'application de ces gradients modulés la syntaxe « `gc_control` » est utilisée. Cette syntaxe permet l'écriture et l'exécution parallèle et synchrone du programme d'impulsions de gradient ainsi que du programme d'impulsions RF et de réception du signal.

```
10u gc_control
{
    Delay grad { GRead | GPhase | GSlice }
}
10u
Temps_égal_à Delay Instructions RF et réception
```

Cette syntaxe est nécessaire pour effectuer des acquisitions ou des impulsions sélectives pendant l'application de gradients modulés.

1.2.4 Limitations expérimentales et fréquence de rotation

La sonde MAS 3,2 mm utilisée permet d'atteindre des fréquences de rotation allant jusqu'à 24 kHz alors que le système de gradient Micro 2.5 est, quant à lui, est conçu pour pouvoir alterner les gradients jusqu'à une fréquence de 5 kHz. Cependant, en pratique, les formes sinusoïdales des modulations d'amplitude de gradient restent bien décrites pour des fréquences supérieures à 5 kHz, ce qui permet d'obtenir des images à des fréquences de rotation MAS plus élevées. Si la fréquence de la modulation d'amplitude des gradients tournant reste bien décrite, une diminution de la valeur du gradient effectif (pour une valeur de puissance constante) est observée pour une rotation plus rapide de l'échantillon. Ceci est illustré dans le cas d'un échantillon de silicone cylindrique fendu pour lequel des images ont été acquises à des fréquences de rotation allant de 2 à 20 kHz (Figure 35a). On observe que, si la forme de l'objet reste bien décrite lorsqu'on augmente la fréquence de rotation de l'échantillon, la taille de l'image de l'objet diminue. Ceci correspond à une augmentation de la taille du champ de vue qui provient d'une diminution du gradient effectif. Cet effet avait déjà été remarqué dans une étude précédente², et pourrait être lié à l'impédance des bobines de gradient ou au filtre placé entre les amplificateurs et le gradient. Pour s'affranchir de ce phénomène et toujours obtenir le champ de vue demandé indépendamment de la fréquence de rotation, la variation d'intensité du gradient effectif tournant en fonction de la fréquence de rotation a été modélisée par un polynôme d'ordre 5 (Figure 35b) afin d'être compensée par un facteur correctif appliqué sur la puissance demandée aux amplificateurs.

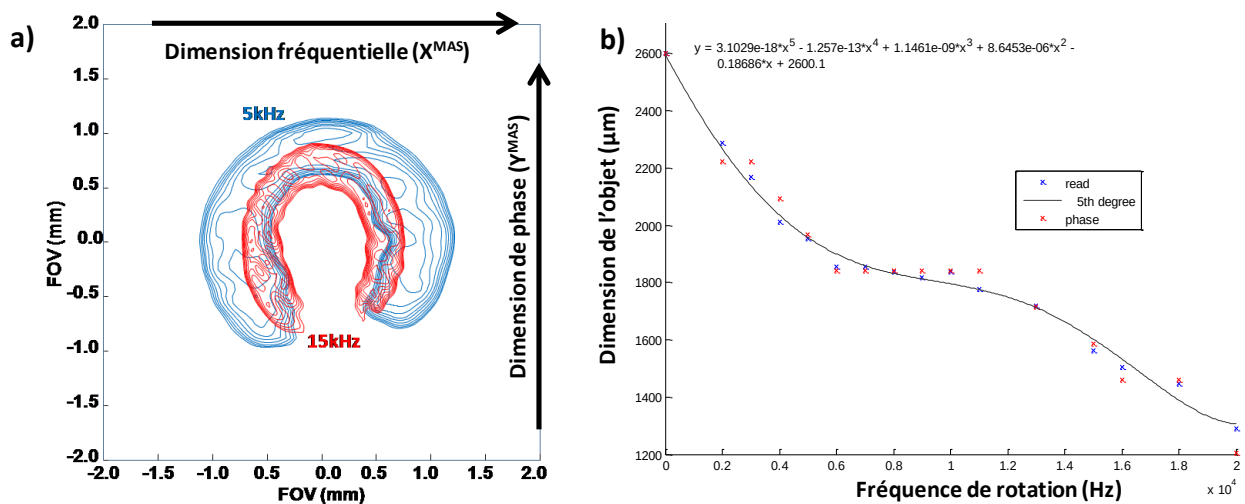


Figure 35:a) Image bidimensionnelle perpendiculaire à l'axe MAS obtenue par écho de spin sans sélection de tranche d'une gaine de silicone cylindrique entaillée. L'image bleue est acquise en rotation à 5000 Hz, l'image rouge est acquise en rotation à 15000 Hz. b) variation de la taille des images en fonction de la vitesse de rotation, seul le diamètre externe de l'échantillon est mesuré pour s'affranchir de l'effet des forces centrifuges. Les points bleus représentent la variation de dimension horizontale (dans la dimension fréquentielle) et les points rouges la variation de dimension horizontale (dans la dimension encodée en phase). Une gaine de silicone complète (cylindrique) a été utilisée pour effectuer les mesures.

1.2.5 Images de bandes de rotation

En imagerie par résonance magnétique, l'encodage fréquentiel mélange la dimension spectrale et la dimension spatiale de l'objet décrite par le gradient. Lorsque la fréquence de rotation MAS est plus faible que la portée des interactions anisotropes, le spectre présente des bandes de rotation en plus de la résonance isotrope et chacune de ces raies va induire la formation d'une image centrée sur la position de la raie. Si l'élargissement fréquentiel dû au gradient est plus grand que la fréquence de rotation, les images satellites induites par les bandes de rotation vont se superposer à l'image centrale et dégrader sa qualité. Ces images satellites sont montrées en Figure 36, elles ne sont attendues que dans la dimension fréquentielle.

Afin d'obtenir une image centrale non déformée en présence de bandes de rotation intenses, il est nécessaire de réduire la puissance du gradient d'encodage fréquentiel afin de limiter la dispersion en fréquence à une valeur inférieure ou égale à la fréquence de rotation et donc à la séparation des images. La puissance maximale de gradient peut être calculée par :

$$G_{\max} = \frac{\nu_{MAS}}{\gamma \cdot \Delta_{size}}$$

Où ν_{MAS} est la fréquence de rotation, γ est le rapport gyromagnétique du noyau observé et Δ_{size} est la taille maximum de l'objet imagé. Dans ces conditions, les images satellites restent à l'extérieur de l'image centrale et ne la déforme pas. En revanche, cette condition de puissance maximale limite la résolution spatiale pouvant être atteinte dans la dimension d'encodage fréquentiel. L'utilisation de fréquences de rotation plus élevées, ou également

de séquences d'impulsion spécifiques permettant de supprimer les bandes de rotation (TOSS⁴), constituent des alternatives pour pallier cette limitation. Dans la suite de ce chapitre, nous avons employé des vitesses de rotation suffisamment rapides de telle sorte que les intensités des bandes de rotation soient très faibles par rapport à l'intensité de la résonance centrale.

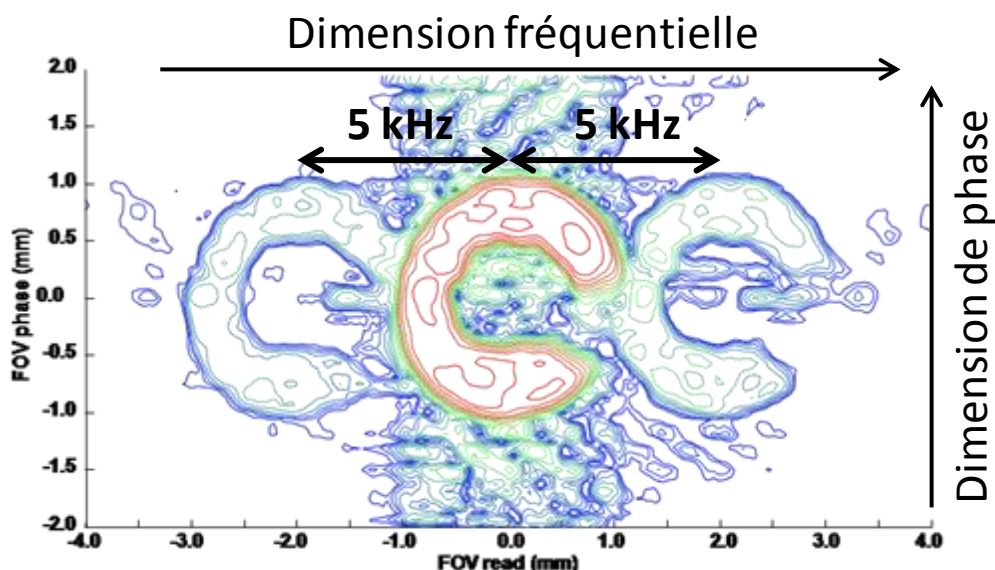


Figure 36: Image ^1H 2D obtenue par écho de spin sans sélection de tranche avec une dimension fréquentielle (horizontale) et une dimension de phase (verticale) de l'échantillon de silicone à très bas niveau de contour permettant de voir les images des bandes de rotation. Cette image est traitée en magnitude et ne fait pas apparaître la phase des images satellites.

En imagerie par résonance magnétique en rotation à l'angle magique, les imperfections expérimentales associées aux gradients tournants synchronisés avec la rotation de l'échantillon peuvent également être à l'origine de bandes de rotations.⁵ En effet, une différence d'amplitude entre les gradients du référentiel du laboratoire, un écart à leur orthogonalité, un décalage entre le centre des gradients et le centre du rotor ou bien une différence entre les fréquences de rotation des gradients et de l'échantillon peuvent conduire à l'apparition d'images de bandes de rotation.⁵ Ce phénomène sera discuté plus en détail dans le chapitre suivant.

1.2.6 Imagerie tridimensionnelle

Au contraire de l'encodage fréquentiel, l'encodage de phase par gradient de champ magnétique ne mélange pas la dimension spatiale et la dimension spectrale et n'est donc pas affecté par la présence de bandes de rotations. Un encodage de phase peut donc être utilisé de façon très robuste selon les directions X^{MAS} et Y^{MAS} impliquant des gradients tournants. Le codage spatial selon l'axe MAS utilise une combinaison de gradients non modulés et est insensible aux imperfections expérimentales mentionnées plus haut induisant des bandes de rotation supplémentaires.

La séquence d'écho de spin avec un encodage fréquentiel selon l'axe MAS apparaît donc comme une solution robuste pour obtenir des images tridimensionnelles d'échantillons en rotation à l'angle magique.

Cette séquence requiert cependant deux dimensions d'encodages de phase et nécessite une durée d'enregistrement longue qui est fonction du nombre d'incrément de phase à la puissance deux.

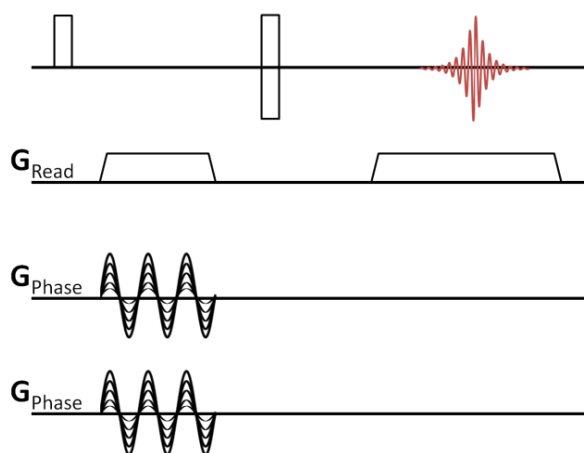


Figure 37: Séquence d'impulsions et de gradients utilisée pour obtenir une image 3D avec une dimension d'encodage fréquentiel alignée selon l'axe Z^{MAS} et deux dimensions d'encodage de phase selon les directions X^{MAS} et Y^{MAS} .

1.2.7 Sélection de tranche

La sélection de tranche couplée à l'imagerie bidimensionnelle peut être une solution pour diminuer le temps d'acquisition d'images tridimensionnelles par une approche dite « multislice »⁶ qui consiste à acquérir une succession d'images 2D pour décrire un volume 3D. Si chacune des impulsions radiofréquences de la séquence est une impulsion sélective, l'aimantation associée à chacune des tranches est manipulée de manière indépendante et les images 2D correspondantes peuvent être acquises de manière successive sans attendre le délai de répétition. Cependant, la sélection d'une tranche fine peut nécessiter l'emploi d'impulsions RF sélectives de durées importantes ce qui peut être problématique dans le cas où les temps de déphasage de l'aimantation transverse (T_2') sont courts. De plus, dans le cas de raies de résonance larges, une sélection de tranche précise peut aussi nécessiter l'emploi de gradients puissants. Pour ces deux raisons, cette approche ne sera pas plus détaillée ici.

1.2.8 Séquences utilisées

Les trois séquences utilisées pour obtenir les images de résonance magnétique ^{31}P et ^1H présentées dans ce chapitre sont illustrées en Figure 38. La séquence a) est une séquence d'imagerie tridimensionnelle de ^{31}P par écho de spin combinée avec un transfert d'aimantation ^1H - ^{31}P par polarisation croisée (CP). Elle implique un encodage fréquentiel

suivant l'axe de rotation et deux encodages de phase selon X^{MAS} et Y^{MAS} . Le transfert d'aimantation $^1H-^{31}P$ par CP peut évidemment être remplacé par une impulsion d'excitation directe ^{31}P . La séquence b) est une séquence d'imagerie bidimensionnelle ^{31}P par écho de spin avec sélection de tranche perpendiculairement à l'axe MAS et transfert d'aimantation $^1H-^{31}P$ par CP. Enfin, la séquence c) est une séquence d'imagerie tridimensionnelle par écho de spin avec une impulsion de refocalisation sélective permettant de sélectionner une raie de résonance spécifique (du spectre MAS 1H dans ce cas).

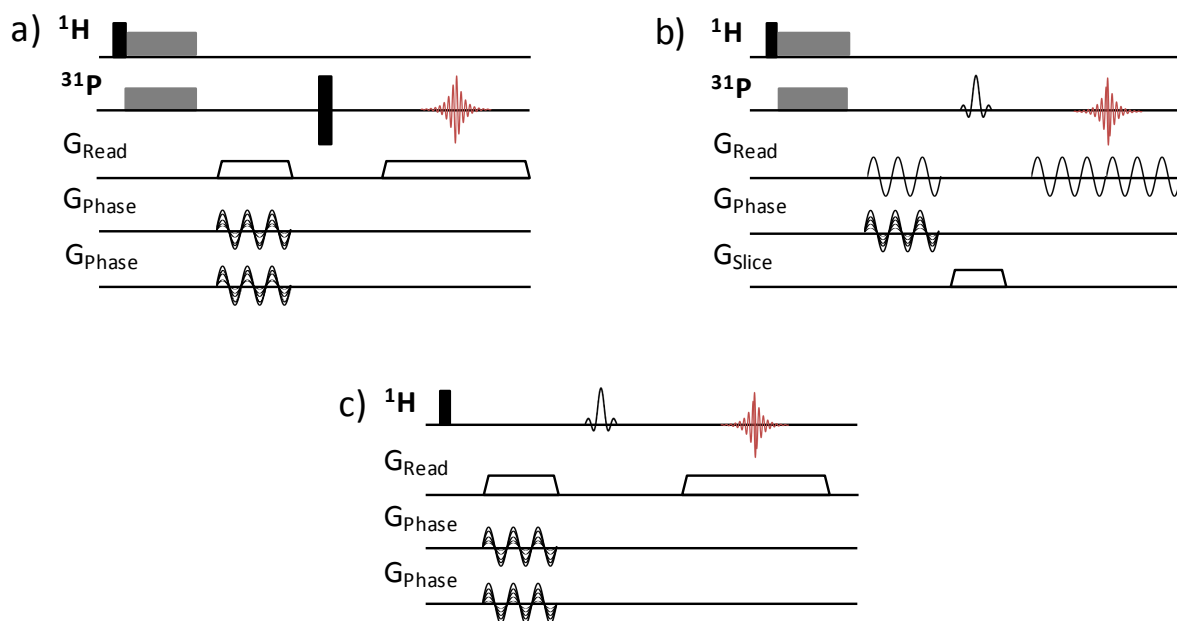


Figure 38: Séquences IRM d'écho de spin utilisées en rotation à l'angle magique. (a) Pour l'imagerie 3D ^{31}P CPMAS, (b) pour imagerie 2D ^{31}P CPMAS avec sélection de tranche et (c) pour l'imagerie sélective en déplacement chimique 3D 1H MAS. Les rectangles étroits et noirs correspondent à des impulsions RF de 90° et 180° . Le bloc de spin lock du transfert CP est indiqué par des rectangles gris larges. Les impulsions de gradient le long de l'axe MAS (Z^{MAS}) sont représentées comme des trapèzes. Les gradients tournants le long des axes X^{MAS} et Y^{MAS} , composés de gradients du repère du laboratoire modulés en amplitude de façon sinusoïdale, sont représentés sous forme de courbes sinusoïdales.

Dans toutes ces séquences, il est important de s'assurer de la bonne synchronisation entre le passage au centre de l'espace-k ($k=0$) et le top de l'écho de spin. Pour les séquences avec excitation directe, la moitié de la durée de l'impulsion ^{31}P est incluse dans le temps d'écho et dans ce cas d'un transfert CP la moitié de la durée de l'impulsion d'excitation (90°) du 1H est incluse dans le temps d'écho. Toutes les impulsions de gradient, modulées en amplitude ou non, sont multipliées par une fonction trapèze pour mieux contrôler leur stabilisation. Les temps de montée utilisés sont de l'ordre de 100 à 150 μs , 150 μs étant la valeur par défaut pour une montée de 0 à 100 % de la puissance maximale des gradients pour le système de micro-imagerie *Bruker Micro 2.5*.

II) IMAGERIE PAR RESONANCE MAGNETIQUE EN ROTATION A L'ANGLE MAGIQUE DES TISSUS RIGIDES

De nombreuses méthodes permettent de caractériser la structure macroscopique des tissus rigides et la plus connue est sans aucun doute la radiographie par rayon X.⁷ Les méthodes de radiographie par RX, pour lesquelles le contraste est basé sur la densité électronique, sont particulièrement efficaces pour mettre en évidence les tissus minéralisés des systèmes vivants et étudier leurs microstructures. Elles emploient cependant un rayonnement ionisant, ce qui peut présenter des limitations dans le cas de l'imagerie *in vivo*. D'autres méthodes peuvent être employées et l'IRM ^1H conventionnelle des phases liquides, qui permet d'obtenir des images négatives de la structure rigide, est aussi utilisée.⁸ En revanche, seule l'IRM en phase solide permet d'obtenir des images de ces tissus avec un contraste basé sur leur composition chimique ou leurs propriétés physiques.

La plupart des études consacrées à l'utilisation de l'IRM à l'état solide pour l'imagerie des os et des dents avec une résolution spatiale inférieure au millimètre utilisent les résonances ^1H larges des molécules d'eau liées au minéral ou à la matrice de collagène ou encore adsorbées dans les pores de l'os cortical. C'est l'approche « brute force » qui consiste à dominer la largeur de raie par des gradients forts qui est la plus utilisée, notamment avec les séquences FLASE⁹, UTE¹⁰⁻¹², ZTE¹²⁻¹⁷ et SWIFT¹⁸.

L'exemple présenté en Figure 39, montre qu'en ^1H , en imageant la totalité des composantes du signal de l'eau à haut champ magnétique (9,4 T) et *ex vivo*, ces méthodes permettent d'obtenir des images de très bonne qualité de tissus rigides tels que les dents. Le temps d'acquisition est de 26 minutes et la résolution obtenue est approximativement de 100 μm pour la dentine.

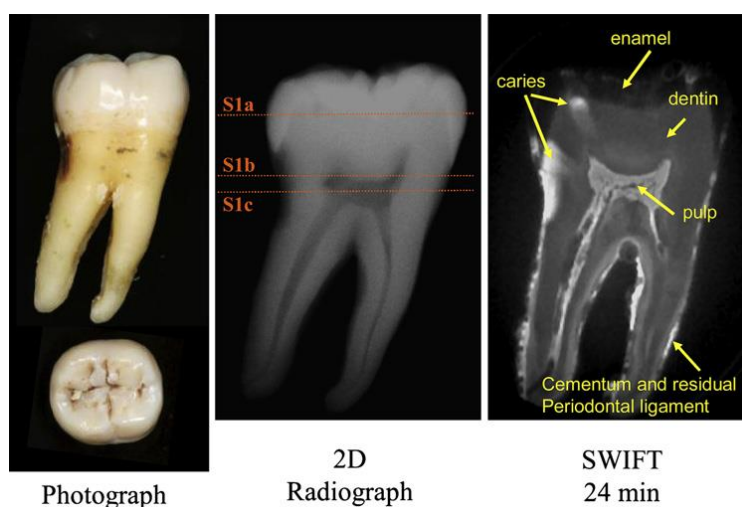


Figure 39 : figure extraite de : Dental Magnetic Resonance Imaging: Making the Invisible Visible (2011). Cette figure présente une photographie, une radiographie et une image IRM ^1H obtenue par la méthode SWIFT d'une dent humaine fraîche. L'image a été enregistrée en 26 minutes à un champ magnétique de 9,4 T et présente une résolution d'environ 100 μm pour la dentine.

Le contraste observé sur l'image SWIFT Figure 39 est fonction de la densité d'eau présente dans le tissu sans distinction entre l'eau contenue dans les pores et l'eau adsorbée sur le minéral avec en plus une pondération en fonction du temps de déphasage T_2^* de ces différentes composantes. Ce type d'image peut être utilisé pour obtenir des informations anatomiques sur les tissus rigides.

En revanche, lorsque seule l'eau adsorbée au minéral doit être imagée pour obtenir une image ^1H permettant de juger de la densité osseuse, la qualité et la résolution des images est fortement dégradée comme présenté sur la partie droite de la Figure 40. Les images ^1H de tibias humains, *ex vivo*, acquises en 26 minutes à un champ magnétique de 3 T par la séquence ZTE avec acquisition SPI des points centraux (PETRA) et après sélection de l'eau adsorbé présentent une résolution isotrope d'environ 1,2 mm.¹⁹

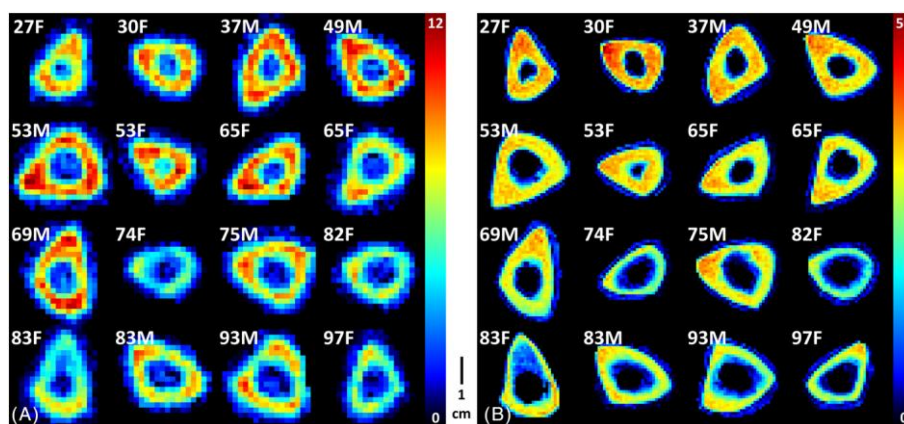


Figure 40 : Figure extraite de : Bone mineral ^{31}P and matrix-bound water densities measured by solid-state ^{31}P and ^1H MRI (2014)¹⁹. La partie gauche de la figure présente des coupes d'images 3D ^{31}P de tibias humains enregistrées en 3 heures à un champ magnétique de 7 T en utilisant la séquence ZTE PETRA avec une résolution isotrope de 3,8 mm. La partie droite de la figure présente des coupes d'images 3D ^1H de tibias humains enregistrées en 26 minutes à un champ magnétique de 3 T en utilisant la séquence ZTE PETRA et en sélectionnant la résonance de l'eau liée au minéral avec une résolution isotrope de 1,2 mm.

L'imagerie du ^{31}P a aussi été proposée très tôt comme sonde directe de la phase minérale (hydroxyapatite) des tissus rigides et pour l'imagerie des implants synthétiques de phosphate de calcium utilisés pour la réparation des os.^{20,21} Cependant, en raison du rapport gyromagnétique du ^{31}P 2,5 fois inférieur à celui du ^1H , même *ex vivo*, la résolution spatiale est restée limitée de 0,5 à 1 mm.^{19,22-24} Dans l'exemple présenté sur la partie gauche de la Figure 40, elle est de 3,8 mm isotrope sur les images tridimensionnelles ^{31}P . Ces images ont été acquises avec la séquence ZTE PETRA, à un champ magnétique de 7 T, en un temps d'acquisition de 3 heures. Lorsque que l'acquisition d'images 3D ^{31}P est effectuée *in vivo* la résolution est encore diminuée.

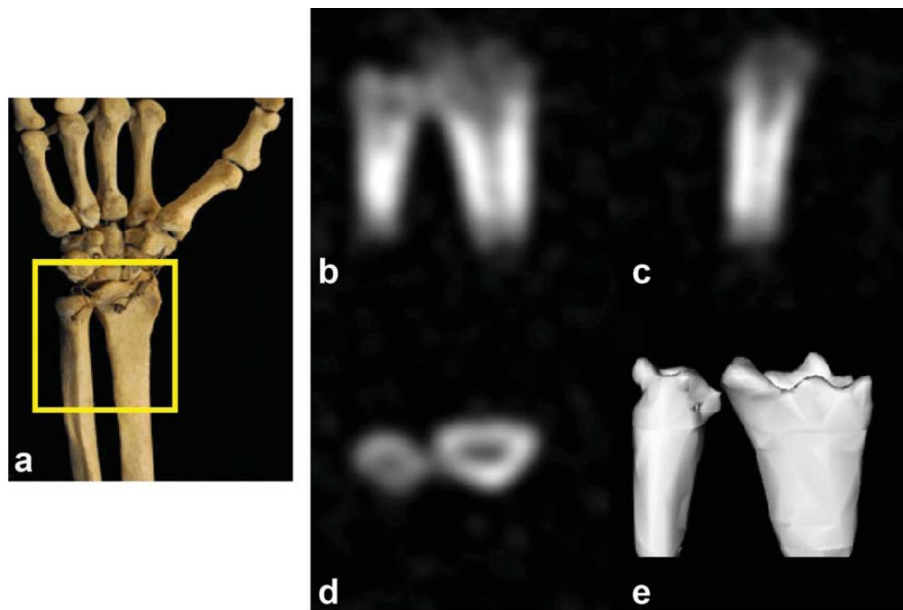


Figure 41 : image extraite de : Bone Mineral Imaged In Vivo by ^{31}P Solid State MRI of Human Wrists. (2011)²⁵. L'image 3D ^{31}P présente une résolution isotrope de 5,1 mm et à été acquise en 37 minutes à un champ magnétique de 3 T avec la séquence de projection reconstruction.

Dans l'exemple d'image 3D ^{31}P *in vivo* présenté en Figure 41, la résolution isotrope est de 5,1 mm pour un temps d'acquisition de 37 minutes à un champ magnétique de 3 T.

II.1. SPECTRES DE RESONANCE MAGNETIQUE NUCLEAIRE DES TISSUS RIGIDES

II.1.1 Tissus rigides et hydroxyapatite

Les tissus rigides des mammifères tels que les os du squelette et les dents sont des matériaux hybrides composites constitués d'une partie organique et d'une partie inorganique. La partie inorganique correspond à une phase de type hydroxyapatite de calcium carbonatée de composition approximative $\text{Ca}_{8.3}\square_{1.7}(\text{PO}_4)_{4.3}(\text{HPO}_4 \text{ and } \text{CO}_3)_{1.7}(\text{OH and/or } \frac{1}{2} \text{CO}_3)_{0.3}\square_{1.7}$ (pour l'os cortical). Cette phase minérale phosphocalcique a la propriété d'incorporer des ions carbonates ainsi que de nombreux autres éléments chimiques sous forme de traces (Na, Mg, Si, F, Zn, Sr...) et présente des cristallites de taille nanométrique (50-300 Å)²⁶⁻²⁸. La structure des hydroxyapatites nanométriques carbonatées ou non a été largement étudiée par différentes techniques et il a été établi qu'elles sont constituées d'un cœur d'hydroxyapatite relativement stœchiométrique et d'une couche externe très désordonnée incorporant un grand nombre de molécules d'eau et des groupements hydrogène phosphates HPO_4 .²⁹

La structure de l'hydroxyapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (notée Hap) est généralement décrite dans une maille hexagonale de groupe d'espace P63/m, comme la structure de la fluoroapatite $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{F})$. Cette structure est représentée sur la Figure 42. La maille hexagonale contient 10 atomes de calcium, 6 groupements tétraédriques PO_4 et deux ions hydroxyles OH^- ou fluor F^- , et ses paramètres de mailles sont $a = 9,4302 \text{ Å}$, $c = 6,8911 \text{ Å}$ pour $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ et $a = 9,367 \text{ Å}$, $c = 6,884 \text{ Å}$ pour $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$.³⁰ Dans cette structure, l'assemblage des unités PO_4 est sous forme de nid d'abeille ce qui lui confère une grande stabilité. L'arrangement atomique fait apparaître deux types de tunnels dans cette structure. Le premier, d'un diamètre d'environ 2,5 Å est localisé sur la position 4f correspondant à l'axe ternaire de la maille et est occupé par 4 atomes de Ca en position $z = 0$ et $z = \frac{1}{2}$. Le second, d'un diamètre de 3 à 4,5 Å, est situé sur la position 6h correspondant à l'axe sénaire hélicoïdal du réseau et est occupé par les ions OH^- ou F^- . Ces tunnels confèrent à la structure apatitique des propriétés d'échangeurs d'ions et lui permettent d'incorporer de petites molécules (H_2O , glycine)³⁰.

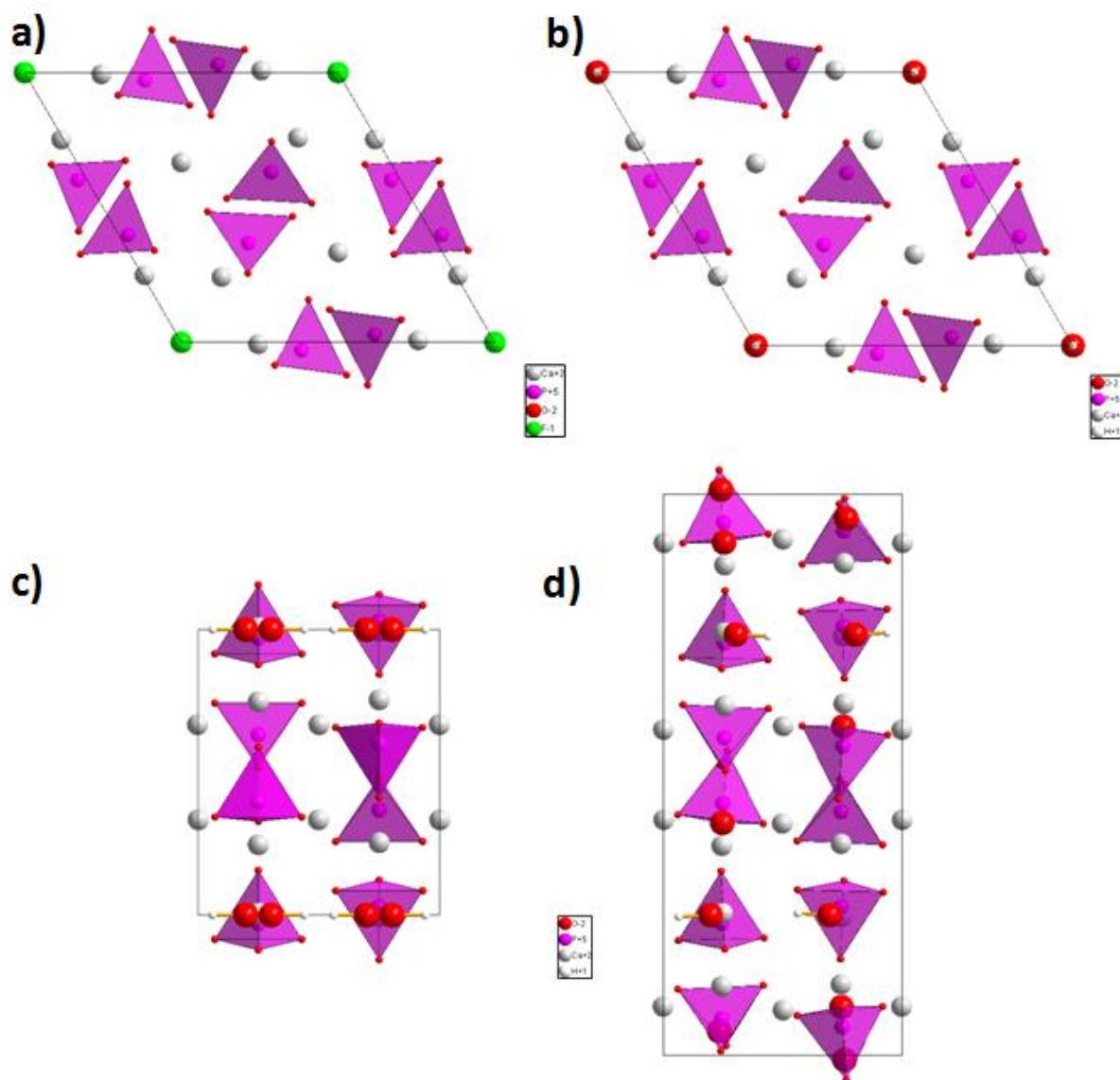


Figure 42: Représentation de la structure hexagonale (vue selon l'axe c) de a) la fluoroapatite et b) de l'hydroxyapatite. Représentations des structures c) hexagonale et d) monoclinique de l'hydroxyapatite selon l'axe a. Dans la phase hexagonale, les deux positions possibles (au-dessus et en dessous du plan miroir situé à $z = \frac{1}{4}$ et $\frac{3}{4}$) des ions OH^- sont occupés partiellement à 50 % de manière aléatoire. Dans la phase monoclinique, les ions OH^- adoptent un arrangement régulier dans chaque colonne avec un ordre inverse entre deux colonnes adjacentes le long de l'axe b.

Dans le cas de la fluoroapatite (Figure 42 a), les ions F^- sont situés à $z = \frac{1}{4}$ et $z = \frac{3}{4}$, alors que pour l'hydroxyapatite, les ions OH^- sont déplacés de ces positions particulières ($z \neq \frac{1}{4}$ et $\frac{3}{4}$) pour des raisons d'encombrement stérique. Ceci conduit à un abaissement de symétrie ponctuelle et à la perte du plan miroir situé à $z = \frac{1}{4}$. Lorsque l'arrangement des ions OH^- dans les colonnes est aléatoire (chaque position située au-dessus ou en-dessous du plan miroir est occupée en moyenne partiellement à 50 %), la symétrie $\text{P6}_3/\text{m}$ est conservée à l'échelle du cristal. C'est le cas des nanoparticules d'Hap stœchiométrique synthétisées à basse température. En revanche, lorsque les ions OH^- adoptent un arrangement régulier dans chaque colonne, les contraintes structurales imposent un ordre inverse entre deux colonnes adjacentes le long de l'axe b ce qui conduit à un abaissement de symétrie de la structure qui

adopte le groupe d'espace monoclinique $P2_1/b$.^{31,32} C'est le cas des Hap synthétisées à très haute température. La structure cristalline de l'hydroxyapatite monoclinique est représentée sur la Figure 42d.

Comme la phase apatitique constituant les tissus rigides est très largement déficiente en ions Ca et possède une plus grande solubilité que l'Hap stœchiométrique, les hydroxyapatites de synthèse déficientes en calcium (carbonatées ou pas) et de composition typique $Ca_{10-x}(HPO_4)_x(PO_4)_{6-x}(OH)_{2-x}$ ($0 < x < 1$) ont suscitées un large intérêt des points de vue structuraux aussi bien qu'applicatifs notamment en tant qu'implant pour la réparation osseuse.³³

II.1.2 Spectres RMN 1H et ^{31}P en rotation à l'angle magique de l'hydroxyapatite et de tissus rigides

L'hydroxyapatite et les tissus rigides ont déjà été largement caractérisés par RMN du solide en rotation à l'angle magique. Nous présentons ici les spectres RMN MAS ^{31}P enregistrés dans un champ magnétique de 17,6 T des phases stœchiométriques de l'Hap monoclinique et hexagonale, d'une hydroxyapatite déficiente en calcium nanocristalline (Ca/P = 1,5) ainsi que ceux d'une molaire et d'un fémur de souris.

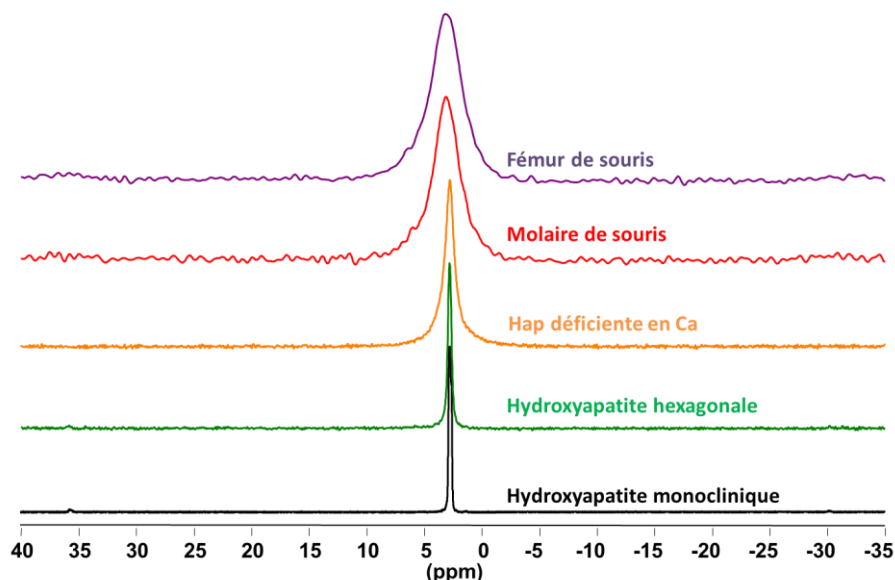


Figure 43: Spectre ^{31}P en rotation à l'angle magique (10 kHz) à 750 MHz : d'un fémur de souris (en violet), d'une molaire de souris attachée à un morceau d'os de gencive (en rouge), d'hydroxyapatite déficiente en Ca nanocristalline (en orange), d'hydroxyapatite stœchiométrique hexagonale (en vert) et d'hydroxyapatite stœchiométrique monoclinique (en noir).

Le spectre ^{31}P MAS de l'hydroxyapatite monoclinique, acquis à une fréquence de rotation de 10 kHz met en évidence trois raies de résonance fines avec des déplacements chimiques isotopes très proches (2,7 ; 2,8 et 2,9 ppm) correspondant aux trois sites cristallographiques différents occupés par les atomes de phosphore. Le spectre ^{31}P MAS de la phase hexagonale ne montre quant à lui qu'une seule raie centrée à 2,8 ppm et un peu plus large (114 Hz) due

à une distribution non-ordonnée des ions OH^- dans les canaux de la structure (Figure 43, spectre noir et vert). Dans le cas de l'hydroxyapatite déficiente en Ca, la raie ^{31}P reste centrée à environ 2,8 ppm mais elle significativement élargie (317 Hz) due à un désordre structural plus important (Figure 43, spectre vert et orange). Pour les échantillons biologiques tels que la dent et l'os de fémur de souris, la largeur à mi-hauteur de cette raie de résonance est encore plus importante (780 Hz et 830 Hz respectivement) reflétant un désordre encore accru et associé à la présence de groupements carbonate dans la structure. Pour ces échantillons, on observe également un déplacement de la position de la raie ^{31}P qui est centrée à 3,2 ppm, ce qui est caractéristique d'une hydroxyapatite carbonatée.^{34,35}

Le spectre ^1H MAS (10 kHz) de l'Hap monoclinique présente une raie de résonance fine unique avec un déplacement chimique isotrope de 0 ppm associée aux groupements OH^- de la structure. Cette raie de résonance intense est également observée sur le spectre de la phase hexagonale, qui présente également deux signaux de plus faible intensité : une raie large centrée à environ 5 ppm (Figure 44, spectre vert) caractéristique des molécules d'eau adsorbées et une raie fine située vers 1,4 ppm associées aux molécules d'eau insérées dans les canaux de la structure en surface des cristaux.^{36,37}

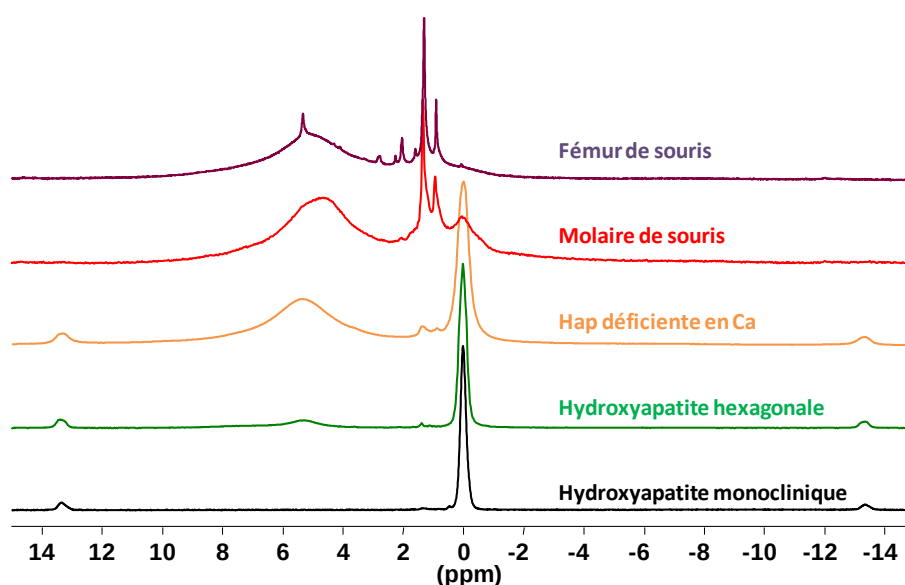


Figure 44: Spectre ^1H en rotation à l'angle magique (10 kHz) à 750 MHz : d'un fémur de souris (en violet), d'une molaire de souris attachée à un morceau d'os de mâchoire (en rouge), d'hydroxyapatite (Hap) déficiente en Ca nanocristalline (en orange), d'hydroxyapatite stœchiométrique hexagonale (en vert) et d'hydroxyapatite stœchiométrique monoclinique (en noir).

Dans le cas de l'hydroxyapatite déficiente en Calcium nanocristalline (CDA), la présence d'une couche de surface très désordonnée amorphe et contenant un grand nombre de molécules d'eau se traduit par une forte augmentation de l'intensité de la résonance à 5 ppm. On observe également un élargissement des pics associés aux ions OH^- et aux molécules d'eau insérées dans les canaux de la structure. Les spectres ^1H MAS des tissus rigides sont plus complexes. Ils comportent les signatures de la phase apatitique (un pic à 0 ppm caractéristique des groupements hydroxyles et la résonance large à environ 5 ppm

associée aux molécules d'eau adsorbées) ainsi que des résonances fines caractéristiques des groupements aliphatiques (CH_3 à 0,9 et CH_2 à 1,3 ppm) de la partie organique des tissus. Il est à noter que la raie de résonance des ions hydroxyles est d'une intensité beaucoup plus faible dans les échantillons biologiques par rapport aux phases Hap et CDA, illustrant que la phase apatitique des tissus rigides contient peu d'ions hydroxyles. En effet, la phase apatitique polysubstituée impliquée dans l'os est connue pour être très déficiente en OH^- et n'en contiendrait qu'environ 20 %.³⁸ On remarque aussi que la signature des OH^- est beaucoup plus visible sur le spectre ^1H de la dent que sur celui de l'os, indiquant que les dents sont composées de cristaux d'hydroxyapatite plus riches en ions hydroxyles.

Du point de vue spectroscopique, les nanoparticules d'hydroxyapatite déficiente en Calcium présentent de nombreuses similitudes avec la partie minérale des tissus rigides. Ce composé nous apparaît donc être un bon modèle de la phase inorganique présente dans les os ou les dents. Les effets de la rotation à l'angle magique, du transfert d'aimantation $^1\text{H} \rightarrow ^{31}\text{P}$ par polarisation croisée et des très hauts champs magnétiques sur les spectres ^{31}P et ^1H sont décrits ci-après pour cet échantillon modèle dans le contexte de mise en œuvre des méthodes d'IRM en rotation à l'angle magique.

II.1.3 EFFET DE LA ROTATION A L'ANGLE MAGIQUE

Les spectres RMN ^1H et ^{31}P de la phase minérale des os et des dents ne sont que moyennement élargis par les interactions anisotropes et les effets de susceptibilité magnétique. Dans la structure apatitique, les distances les plus courtes entre deux d'atomes d'hydrogène, entre deux atomes de phosphore et entre H et P sont en effet de plus de 3,4 (H-H), 4,1 (P-P) et 3,8 Å (P-H), induisant ainsi des couplages dipolaires homonucléaires et hétéronucléaires modérés. L'anisotropie de déplacement chimique, qui est toujours très faible dans le cas de ^1H , est aussi faible pour les atomes de phosphore formant des groupements PO_4^{3-} isolés (orthophosphates).^{39,40} Une rotation à une fréquence modérée (10 kHz) permet donc d'obtenir des spectres ^{31}P et ^1H présentant des raies isotropes très intenses, éventuellement avec quelques bandes de rotation résiduelles.^{34,41} La vitesse de rotation peut donc être limitée pour éviter les effets indésirables des forces centrifuges tout en profitant du gain optimal en résolution et en signal sur bruit dû à l'utilisation du MAS.

Les spectres ^{31}P du fantôme CDA enregistrés à très haut champ magnétique (17,6 T) sans et avec rotation à l'angle magique sont présentés en Figure 45. Pour une fréquence de rotation de 10 kHz, la largeur de raie ^{31}P est fortement réduite de 4700 Hz en statique à 340 Hz en MAS. Dans ces conditions (MAS 10 kHz à 17,6 T), le spectre présente une raie isotrope très intense et les intensités des bandes de rotation résiduelles sont très faibles (inférieures à 2 % de l'intensité totale). De ce fait, le SNR obtenu en MAS est environ 11 fois supérieur à celui obtenu dans des conditions statiques.

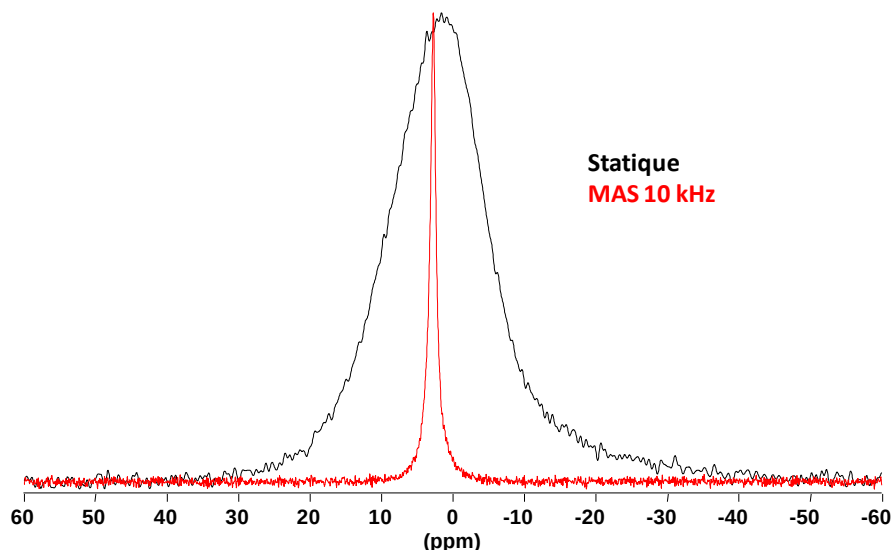


Figure 45: spectres RMN ^{31}P du fantôme CDA enregistré à 17,6 T sans et avec MAS à une fréquence de rotation de 10 kHz.

Cette situation peut être généralisée pour les orthophosphates de calcium (comme la CDA, l'hydroxyapatite, les phosphates tricalcique et tétracalcique) et les orthophosphates en général, pour lesquels l'anisotropie de déplacement chimique ^{31}P (CSA) est faible^{40,42} et l'élargissement de la raie de résonance est principalement attribuable à des interactions dipolaires modérées. Dans ces cas, un spectre MAS ^{31}P sans bandes de rotation peut être

obtenu avec une fréquence de rotation de 10 kHz, même à très haut champ magnétique. L'utilisation de fréquences de rotation supérieure ou l'application de découplage ^1H lors de l'acquisition du signal ne diminue pas la largeur de raie résiduelle, qui reflète principalement du désordre structural au sein de la CDA nanocristalline. La rotation à l'angle magique entraîne également une augmentation significative du temps de déphasage transversal ^{31}P (T_2') mesuré dans une expérience d'écho de spin. En conditions statiques, le signal ^{31}P montre un déphasage rapide avec une décroissance non exponentielle due aux interactions dipolaires, et la moitié de l'aimantation ^{31}P est non refocalisée après un temps d'écho (TE) de 400 μs . Pour une fréquence MAS de 10 kHz, on observe une décroissance exponentielle beaucoup plus lente de l'intensité de l'écho ($T_2' = 15$ ms) ; et 85 % du signal ^{31}P est refocalisé pour un temps d'écho de 2,5 ms. Comme mentionné ci-dessus, le découplage ^1H ne réduit pas la largeur de raie ^{31}P qui est due à une distribution de déplacement chimique, mais il peut être utilisé pour augmenter la durée de vie des cohérences transverses.⁴³ Par exemple, l'application de découplage protonique par onde continue ou en utilisant la séquence SPINAL64⁴⁴ avec une fréquence de nutation ^1H de 100 kHz permet d'allonger la constante de temps de déphasage transverse (T_2') ^{31}P jusqu'à 20 et 26,7 ms, respectivement (Figure 46).

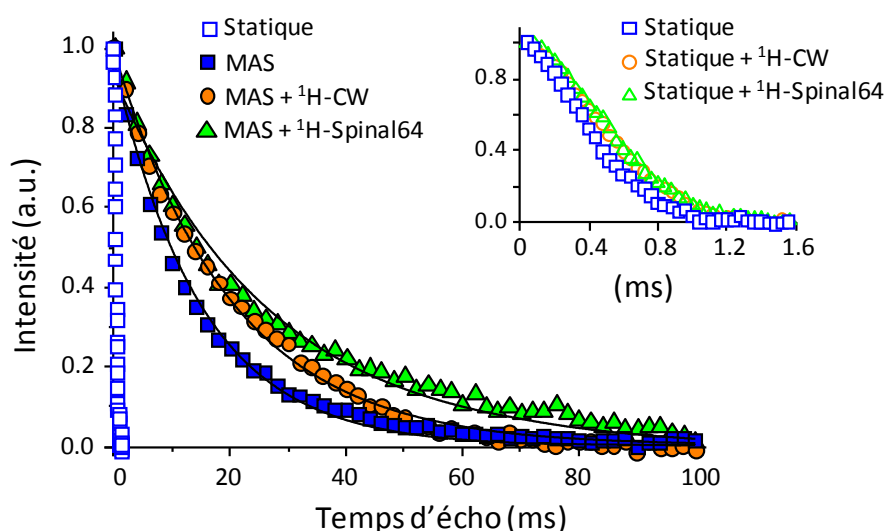


Figure 46: Décroissance de l'intensité du signal ^{31}P refocalisé par un écho de Hahn pour le fantôme de CDA, sans MAS (carrés bleus ouverts) et avec MAS (carrés bleus remplis) à une fréquence de rotation de 10 kHz. Les courbes d'intensité d'écho de spin en MAS obtenues en appliquant du découplage ^1H CW ou ^1H SPINAL64 pendant le temps d'écho ($\nu_{\text{RF}}(^1\text{H}) = 100$ kHz) sont représentées respectivement par des cercles orange remplis et des triangles verts remplis. Les lignes noires correspondent aux meilleures modélisations de la décroissance par une fonction exponentielle décroissante mono composante. Les valeurs de T_2' correspondantes sont de 15, 20 et 26,7 ms sans découplage ^1H , avec CW et avec découplage SPINAL64, respectivement. Le zoom (en haut à droite) montre la décroissance d'écho de spin ^{31}P en fonction du temps d'écho dans des conditions statiques, sans découplage ^1H (carrés bleus ouverts) et avec découplage CW (cercles orange ouverts) ou avec découplage SPINAL64 (triangles verts ouverts).

Pour l'échantillon de CDA, une fréquence de rotation de 10 kHz permet également de réduire considérablement les élargissements anisotropes des spectres ^1H . Dans ces conditions de rotation modérée, la largeur à mi-hauteur de la résonance ^1H des ions OH^- décroît en effet de 3400 Hz à 310 Hz et celle du pic des molécules d'eau adsorbées est réduite à 2000 Hz. (Figure 47). Les bandes de rotation représentent 11,5 % du signal de la

résonance de l'hydroxyapatite et 8 % de celle de l'eau adsorbée et la largeur de raie ^1H résiduelle est principalement due à une distribution de déplacement chimique.

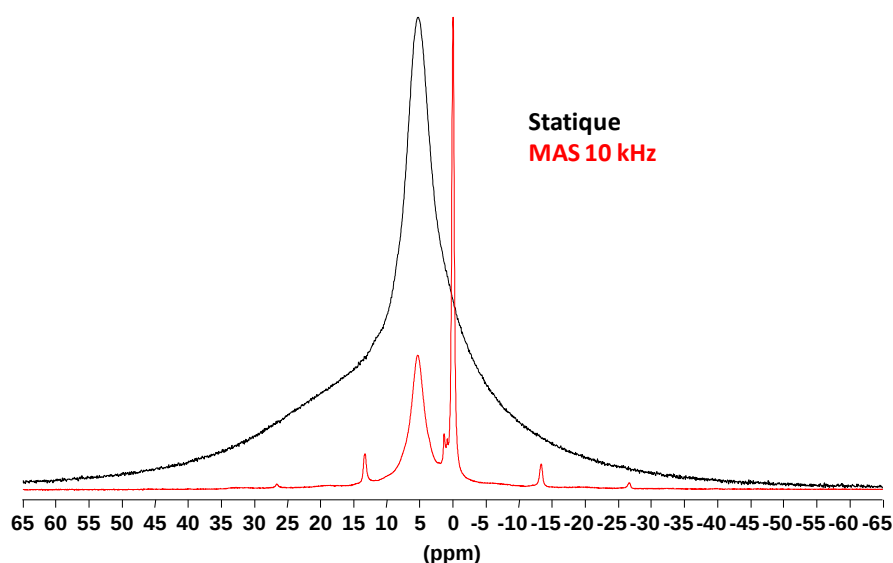


Figure 47: spectres ^1H statique et MAS (10 kHz) de l'hydroxyapatite nanocristalline à 17,6 T.

Dans le cas de l'échantillon biologique de dent de souris, le gain en résolution spectrale obtenu avec rotation à l'angle magique est moins important que pour la CDA. En effet, la largeur à mi-hauteur de la raie de résonance ^{31}P diminue de 6700 Hz à 830 Hz, ce qui représente un gain d'un facteur 8 (facteur 11 dans le cas des nanoparticules d'hydroxyapatite). Cette largeur de raie résiduelle est due au désordre chimique présent dans les échantillons biologiques.

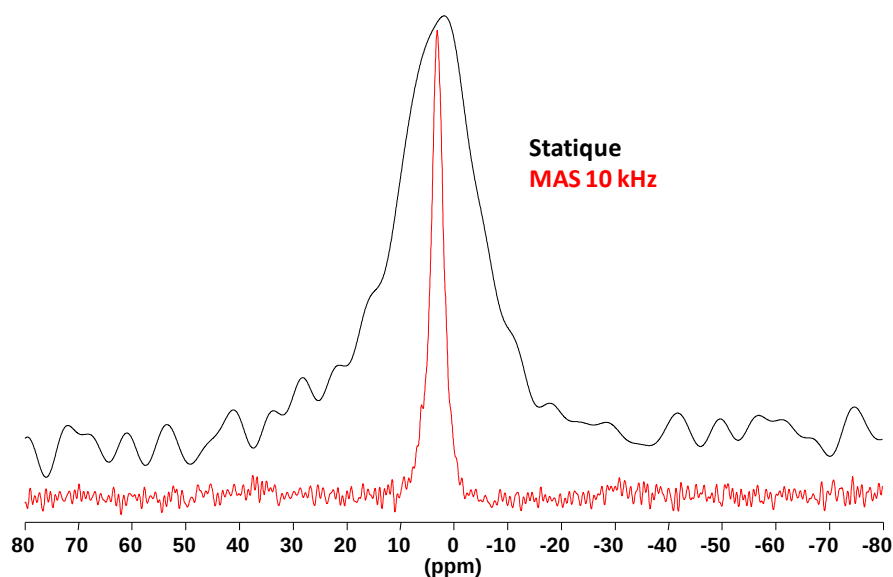


Figure 48 : Spectres ^{31}P statique et en rotation à l'angle magique à 10 kHz de la molaire de souris à 17,6 T.

A nouveau, l'utilisation de la MAS permet d'allonger la durée de vie des cohérences transverses (T_2') refocalisées par un écho de Hahn. Pour cet échantillon biologique, les

constantes de temps T_2' de ^{31}P mesurées en MAS sont plus faibles que celles de la CDA nanocristalline (2,43 ms au lieu de 15 ms). Cependant, cette constante de temps de déphasage transversal ^{31}P reste tout de même compatible avec une séquence d'imagerie tridimensionnelle par écho de spin (temps d'écho moyen d'environ 2 ms) ce qui n'aurait pas été le cas en condition statique ($T_2' = 0,55$ ms). La rotation à l'angle magique à fréquence modérée permet également d'allonger les constantes de temps T_2' des raies de résonances ^1H des ions hydroxyles et des groupements aliphatiques qui sont de 3,65 et environ 2,2 ms respectivement. Les caractéristiques de chacune des raies de résonances ^1H et ^{31}P de la dent de souris sont détaillées dans le tableau suivant.

Groupements	δ_{ISO} (ppm)	Fwhm (Hz)	T_2' statique (ms)	T_2' MAS 10 kHz (ms)	T_1 MAS 10 kHz (s)
OH ⁻ hydroxyle	0.0	800	-	3.65	0.75
CH ₂ aliphatique	1.3	170	-	2.37	0.68
CH ₃ aliphatique	0.9	140	-	2.16	0.68
H ₂ O adsorbée	5.1	2000	0.16	0.22	0.92
^{31}P hydroxyapatite	3.2	830	0.55	2.43	140

Tableau 1: Tableau récapitulatif indiquant : le déplacement chimique isotrope (δ_{ISO}), la largeur à mi-hauteur (fwhm), le temps de déphasage transversal (T_2') en conditions statiques et MAS (à une fréquence de rotation de 10 kHz) et les temps de relaxation longitudinale (T_1) en MAS à 10 kHz des résonances ^1H et ^{31}P de l'échantillon de dent de souris. Les valeurs T_2' ont été déterminées à partir d'une modélisation mono exponentielle de la décroissance d'intensité en fonction du temps d'écho dans une expérience d'écho de Hahn. Le temps de relaxation longitudinale (T_1) a été mesuré en utilisant une séquence de saturation-récupération.

II.1.4 Transfert de polarisation et gain de sensibilité

Le phosphore-31 ayant un rapport gyromagnétique élevé et une forte abondance naturelle (100 %), les méthodes de transfert de polarisation croisée de ^1H vers ^{31}P en statique et en MAS ne conduisent pas à un gain en sensibilité par rapport à une excitation directe dans le cas d'échantillons modérément protonés ayant des couplages dipolaires modérés. C'est notamment le cas de l'hydroxyapatite et des phases apatitiques d'origine biologique pour lesquels l'intensité du signal obtenu par polarisation croisée représente environ 20 à 40 % de celle du signal après excitation directe ^{31}P .^{45,46} Dans notre cas, l'efficacité CP est de 24 % pour la CDA et d'environ 30 % pour l'os de souris par rapport à une excitation directe ^{31}P sur un système parfaitement relaxé. La meilleure efficacité du CP dans les tissus organiques par rapport à la CDA synthétique peut s'expliquer par une quantité plus importante d'eau adsorbée qui contribue au transfert pour des temps de contact relativement courts. Les durées de transfert utilisées, pour lesquelles le maximum d'intensité du signal ^{31}P est obtenu, sont typiquement de 3 ms. Il faut aussi noter que pour cette durée de transfert, le spectre ^{31}P obtenu est très similaire au spectre d'excitation directe.

En revanche, des différences significatives entre les spectres ^{31}P CPMAS et excitation directe sont observées pour des durées de transfert plus courtes (< 1 ms) et plus longues (> 5 ms). Pour ces systèmes constitués de nanoparticules d'apatite, les temps de transfert courts et longs favorisent respectivement les signaux ^{31}P associés à la couche de surface et au cœur des nanoparticules.³⁷

Pour un champ magnétique élevé et en rotation à l'angle magique, le temps de relaxation longitudinal du ^{31}P des phases apatitiques peut être très long : il est de 450 secondes pour l'hydroxyapatite hexagonale, de 140 secondes pour la dent de souris et de 22 secondes pour les nanoparticules d'hydroxyapatite. Le temps de relaxation plus court des nanoparticules peut s'expliquer par la probable présence d'impuretés paramagnétiques dans l'échantillon. Ces temps de relaxation longitudinaux longs empêchent l'utilisation de courts délais de répétition et induisent des durées d'expérience longues. Dans ce contexte, le transfert de polarisation $^1\text{H} \rightarrow ^{31}\text{P}$ permet d'utiliser des temps de répétition beaucoup plus courts liés à un temps de relaxation longitudinal (T_1) beaucoup plus court pour ^1H que pour ^{31}P : environ 0,5 s pour les groupements hydroxyles de la dent et de la CDA et environ 0,9 s pour l'eau adsorbée dans la dent de souris.

Le transfert CP permet donc tout de même d'augmenter légèrement le rapport signal sur bruit des spectres MAS ^{31}P par rapport à l'excitation directe pour une durée d'expérience totale équivalente.

En effet, si le signal obtenu en une seule acquisition est environ 4 fois moins intense, le temps de relaxation longitudinal ^1H est plus de 16 fois plus court que celui de ^{31}P et permet donc de compenser cette perte de signal.

II.1.5 Homogénéité spatiale du transfert de polarisation

Le transfert par polarisation croisée⁴⁷ repose sur la condition de Hartmann-Hahn qui stipule que les fréquences de nutation sous l'effet du champ radiofréquence de spin lock des spins participant au transfert doivent être équivalentes :⁴⁸

$$\gamma_a \cdot B_a = \gamma_b \cdot B_b$$

Avec γ_a et γ_b les rapports gyromagnétiques des noyaux participant au transfert et B_a et B_b les champs radiofréquences auxquels ils sont soumis.

En MAS, cette condition est modulée par la fréquence de rotation et devient :⁴⁹

$$\gamma_a \cdot B_a = \gamma_b \cdot B_b \pm n \nu_{\text{rot}}, \quad n = 1, 2$$

où ν_{rot} est la fréquence de rotation.

Lorsque la fréquence de rotation est comparable à l'intensité de l'interaction dipolaire entre les spins, il devient alors plus difficile de satisfaire cette condition expérimentalement sur une gamme de fréquence de plusieurs dizaines de kHz (particulièrement dans le cas du ^{13}C). Il est alors possible d'utiliser des impulsions de spin lock de puissance variable pendant le

temps de contact pour pallier ces limitations et obtenir un transfert de polarisation simultanément efficace pour des résonances ayant des différences de déplacement chimique isotrope importante. Cette technique est appelée VACP : Variable Amplitude Cross Polarisation.⁵⁰ Dans le cas des phases apatitiques, les gammes de déplacement chimique de ^{31}P et ^1H ne sont pas très importantes et le maximum de signal CP $^1\text{H} \rightarrow ^{31}\text{P}$ est obtenu sans l'utilisation de rampe (Figure 49).

Dans un contexte d'imagerie par résonance magnétique, nous nous sommes également intéressés à la nature de l'homogénéité spatiale du transfert CP sur l'ensemble du volume de l'échantillon et à l'effet des inhomogénéités des champs radiofréquences. L'homogénéité du transfert CP le long de l'axe MAS est illustrée sur la Figure 15 qui représente l'intensité du signal ^{31}P en fonction de la position Z^{MAS} dans le cas d'un transfert CP $^1\text{H} \rightarrow ^{31}\text{P}$ et d'une excitation directe. Dans le cas d'un transfert par CP, la distribution spatiale du signal selon l'axe MAS est très différente du profil de l'échantillon obtenu par excitation directe. Le transfert CP est seulement très efficace dans une petite zone du rotor (environ 5 mm dans le cas d'un rotor 3,2 mm cf. Figure 49). De plus, même dans cette zone restreinte, le transfert n'est pas homogène. En revanche, on observe clairement une forte amélioration de l'homogénéité du transfert lorsqu'une rampe est appliquée. Pour éviter que l'inhomogénéité du transfert CP induise des variations d'intensité sur l'image, il apparaît judicieux d'utiliser une séquence de VACP. Nos résultats sont en très bon accord avec les travaux récents de Gupta et al.⁵¹ Pour l'échantillon de CDA, plus la rampe utilisée est large, plus le signal ^{31}P obtenu est faible, mais plus l'homogénéité spatiale du transfert est bonne. Une rampe avec une variation d'amplitude de 80 à 120 % permet une bonne homogénéité spatiale tout en ne diminuant pas trop le signal : on observe une perte de signal d'environ 20 à 36 % par rapport au signal CP obtenu sans rampe.

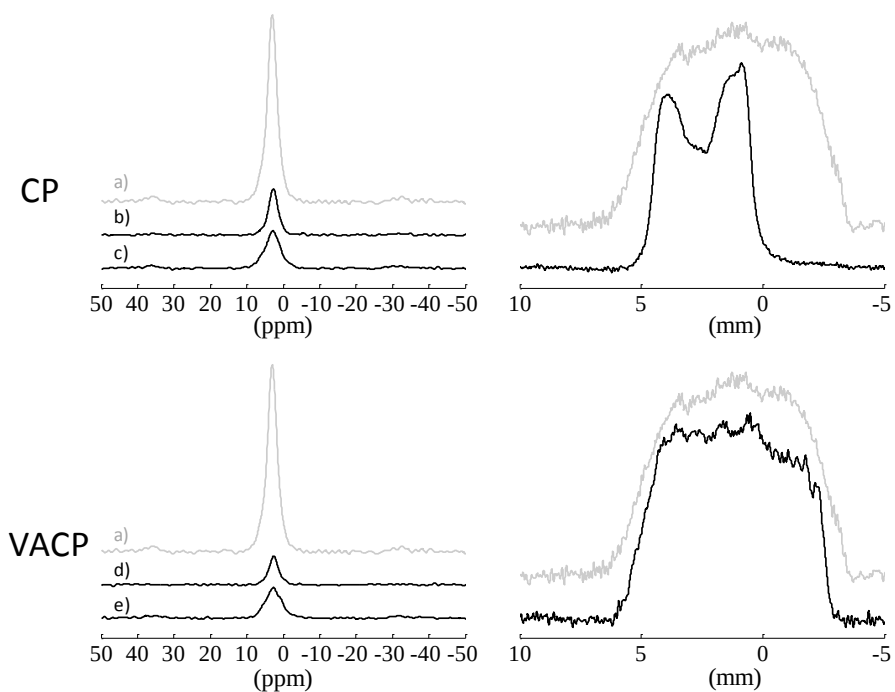


Figure 49 : partie gauche: spectres ^{31}P MAS du fémur de souris obtenu par : a) d'excitation directe quantitative ($D_1 = 700$ s) b) CP avec un temps de contact de 12 ms (intensité relative 22,6 %) c) CP ^{31}P avec un temps de contact de 1,5 ms (intensité relative 28 %) d) VACP avec une rampe linéaire 80-120 % et un temps de contact de 12 ms (intensité relative 13,6 %) e) VACP avec une rampe linéaire 80-120 % avec un temps de contact de 1,5 ms (intensité relative 23,6 %). Partie droite : profil d'excitation dans la direction de l'axe MAS obtenu par une séquence d'écho de spin et encodage fréquentiel d'un rotor rempli de CDA en gris, par excitation directe, en noir par CP et VACP avec une rampe linéaire de 80 à 120 %. L'intensité des profils est normalisée.

II.1.6 Effets de l'augmentation du champ magnétique

L'amplitude du signal RMN croît proportionnellement à $B_0^{3/2}$ en raison de la polarisation plus importante des spins, et du courant induit qui est proportionnel à la fréquence de précession des moments magnétique nucléaires. Dans des conditions statiques, les élargissements des raies de résonance ^{31}P et ^1H des phases apatitiques synthétiques ou biologiques sont dominés par les interactions dipolaires (indépendante de B_0) et l'augmentation de B_0 conduit à une augmentation de sensibilité.

En rotation à l'angle magique, la situation est plus contrastée. En effet, les largeurs résiduelles des raies de résonances ^{31}P et ^1H des phases apatitiques sont dominés par des distributions de déplacement chimique qui augmentent proportionnellement au champ magnétique. L'augmentation de cette largeur induit une diminution de la sensibilité avec B_0 .

De plus, l'augmentation du champ magnétique conduit à un allongement des temps de relaxation longitudinaux ^{31}P , ce qui implique un nombre d'acquisition moins important pour une durée d'expérience donnée. En effet, le temps de relaxation T_1 du ^{31}P augmente de 15 s à 9,4 T à 22 s à 17,6 T pour la CDA et de 120 s à 9,4 T à 140 s à 17,6 T pour la dent de souris (Figure 50 et Figure 51).

En prenant en compte l'impact de l'augmentation de la largeur de raie et du T_1 , le gain de sensibilité obtenu en augmentant le champ de 9,4 T à 17,6 T est de 5 et 10 % pour les spectres ^{31}P obtenus par excitation directe de la CDA et de la dent de souris, respectivement.

Il faut toutefois remarquer que pour l'imagerie par encodage fréquentiel, comme la largeur de raie augmente avec B_0 , l'intensité du gradient doit augmenter proportionnellement pour rester à résolution constante. Ces résultats sont en relativement bon accord avec ceux de Seifert *et al.* qui ont montré que pour l'imagerie ^{31}P par excitation directe et en pur encodage fréquentiel la sensibilité augmente proportionnellement à $B_0^{0,4}$ ou $B_0^{1,1}$ en fonction des conditions expérimentales.⁵²

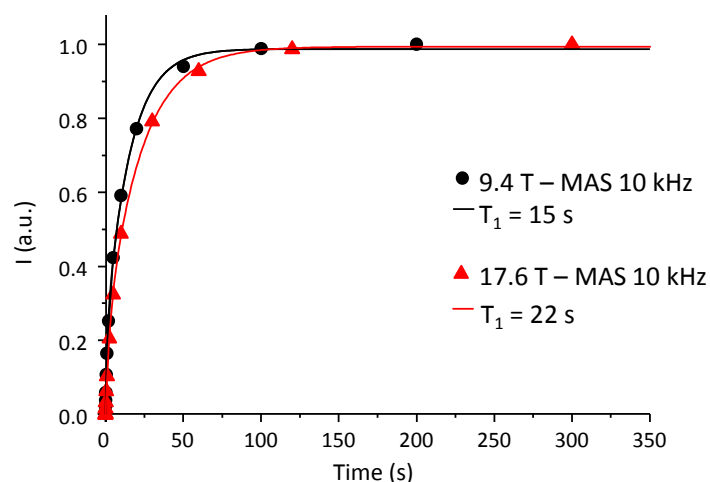


Figure 50: Courbes d'intensité du signal obtenues par une expérience de saturation récupération du ^{31}P de l'échantillon de CDA enregistré à des champs magnétiques de 9,4 (cercles noirs) et 17,6 T (triangles rouges) avec une fréquence de rotation MAS de 10 kHz. Les lignes correspondent aux meilleurs ajustements des données expérimentales par une fonction en $(1-\exp(-t/T_1))$ biexponentielle, avec une composante rapide et une lente. Ce comportement pourrait être lié à la présence d'ions paramagnétiques comme impuretés dans l'échantillon de CDA synthétique. Les constantes de relaxation longitudinale ^{31}P sont $T_{1\text{lent}} = 15\text{ s}$, $T_{1\text{rapide}} = 1\text{ s}$ à 9,4 T et $T_{1\text{lent}} = 22\text{ s}$, $T_{1\text{rapide}} = 2,5\text{ s}$ à 17,6 T, les composantes lente et rapide de relaxation aux deux champs magnétiques ont des intensités relatives de 80 et 20 %, respectivement.

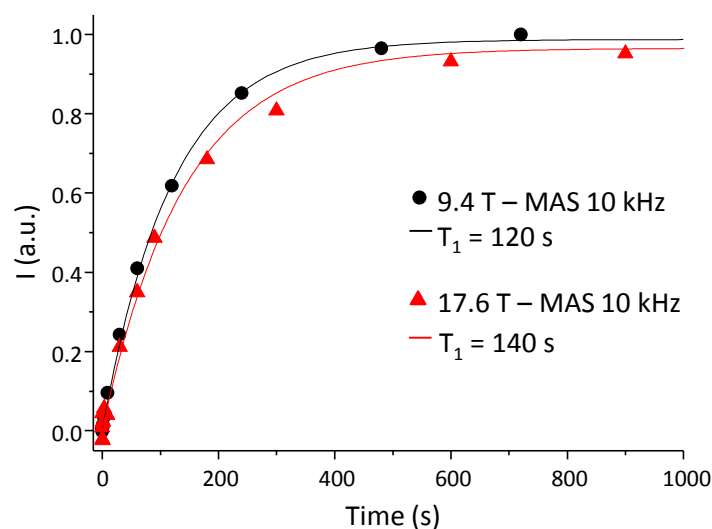


Figure 51: Courbes d'intensité du signal obtenues par une expérience de saturation récupération du ^{31}P de l'échantillon de dent de souris enregistrées à des champs magnétiques de 9,4 (cercles noirs) et 17,6 T (triangles rouges) avec une fréquence de rotation MAS de 10 kHz. Les lignes correspondent aux meilleurs ajustements des données expérimentales par une fonction en $(1-\exp(-t/T_1))$ mono-exponentielle. Les temps de relaxation longitudinaux ^{31}P de la dent de souris sont $T_1 = 120\text{ s}$ à 9,4 T et $T_1 = 140\text{ s}$ à 17,6 T.

Dans le cas de ^1H qui présentent des temps de relaxation T_1 beaucoup plus courts que ^{31}P , la variation de leurs valeurs avec le champ magnétiques a un bien moindre impact pour des applications d'imagerie en MAS. Il faut aussi souligner que pour ^1H , l'utilisation de très hauts champs couplés à la rotation à l'angle magique permet généralement une forte amélioration de la résolution spectrale, ce qui rend plus aisée la sélection de déplacement chimique par impulsion sélective.

III) IMAGERIE DES TISSUS RIGIDES

III.1. FANTÔME D'HYDROXYAPATITE NANOCRISTALLINE ET AUTRES ORTHOPHOSPHATES DE CALCIUM

III.1.1 Fantôme d'hydroxyapatite

L'image ^{31}P du fantôme de CDA enregistrée en rotation à l'angle magique à une fréquence de rotation de 10 kHz et à l'aide d'une séquence IRM d'écho de spin tridimensionnelle est présentée en Figure 52b. L'image reproduit bien la géométrie de l'échantillon sans artefacts visibles liés à la présence de bandes de rotation résiduelles dans le spectre MAS. L'image a été obtenue avec un temps d'écho (TE) de 2,8 ms pour lequel 83 % du signal ^{31}P est refocalisé. Un transfert de polarisation $^1\text{H} \rightarrow ^{31}\text{P}$ par polarisation croisée (CP) avec un temps de contact de 3 ms a été utilisé pour accroître la quantité de signal enregistrée par unité de temps. En effet, étant donné que le ^{31}P a un temps de relaxation longitudinale beaucoup plus long que le ^1H , le CPMAS permet également d'utiliser des temps de répétition beaucoup plus courts (TR) qu'une excitation directe ^{31}P . Il fournit ainsi une réduction significative de la durée de l'expérience et permet d'enregistrer l'image de l'écho de spin 3D ^{31}P du fantôme avec une résolution spatiale nominale de $132 \times 155 \times 155 \text{ } \mu\text{m}^3$ et un SNR de 103 en 11,5 heures. Il convient de noter que d'autres procédés de transfert de polarisation peuvent être utilisés, comme par exemple l'effet Overhauser hétéronucléaire entre ^1H et ^{31}P qui permet un gain en signal jusqu'à 20 % dans ce type de système.²⁴

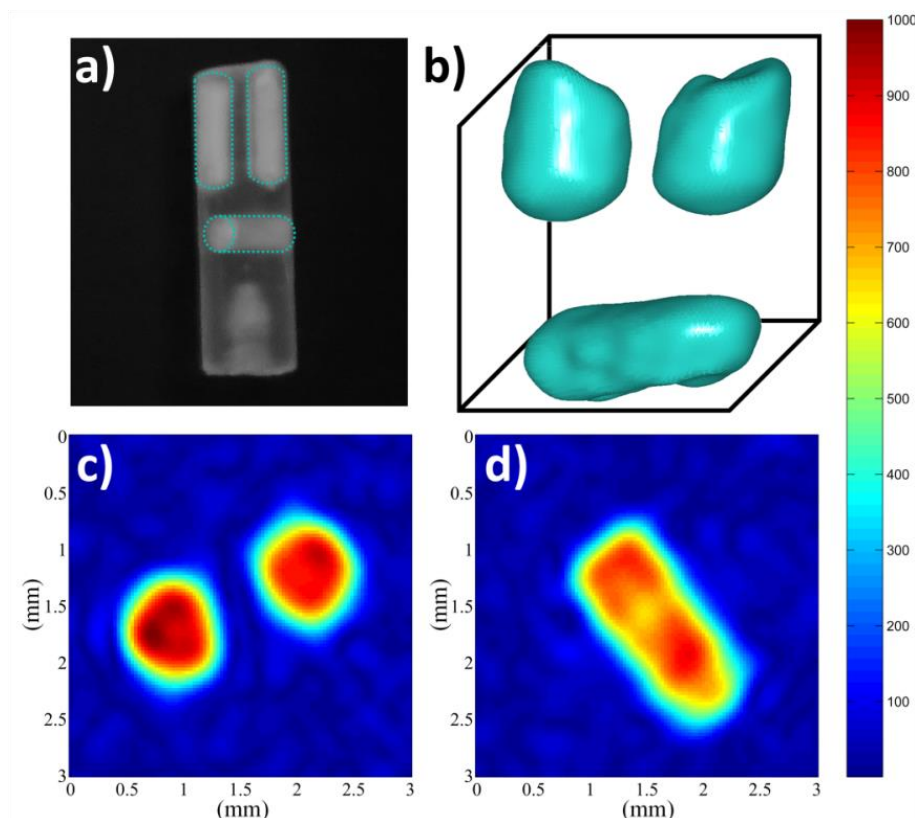


Figure 52: a) Image du fantôme constitué d'un insert PTFE (Kel-F) avec deux trous percés parallèlement et un perpendiculairement à l'axe de rotation (1 mm de diamètre) remplis de poudre de CDA. b) Représentation en isosurface de l'image 3D ^{31}P du fantôme enregistrée à 17,6 T avec une fréquence de rotation de 10 kHz à l'aide de la séquence d'écho de spin représentée sur la Figure 38a. La valeur d'isosurface est d'environ 40 % de l'intensité maximale du signal. Un transfert par polarisation croisée ^1H - ^{31}P avec un temps de contact de 3 ms a été utilisé et 80 scans ont été sommés avec un délai de recyclage de 0,5 s correspondant à une durée d'acquisition totale de 11 h et 32 min. La résolution nominale est de 132 μm dans la dimension fréquentielle (correspondant à un gradient de 15,47 G / cm) et de 155 μm dans les dimensions de phase avec un champ de vue de 7,5 * 7,5 * 15 mm. SNR = 103. L'ensemble des dimensions a été complété de zéros trois fois, ce qui donne une taille de voxel de 30x30x30 μm^3 . c-d) images ^{31}P 2D avec sélection de tranche dans l'axe MAS du fantôme CDA prises : c) dans le haut du fantôme et d) dans la partie centrale. Une impulsion de refocalisation R-SNOB de 900 μs (bande passante d'excitation de 2,6 kHz) a été utilisée pour sélectionner une tranche de 710 μm d'épaisseur. La résolution spatiale est de 117 μm en dimension fréquentielle (gradient de 17,44 G / cm) et 155 μm en dimension de phase, ce qui correspond à un temps d'acquisition de 17 min par image. SNR = 60 et taille de pixel de 30x30 μm^2 après la complétion de zéros des deux dimensions. La colorbar est étalonnée de zéro à l'intensité maximale du signal.

L'augmentation importante de la durée de vie de la cohérence ^{31}P apportée par la rotation à l'angle magique permet également d'utiliser un temps d'écho plus long contenant une impulsion de refocalisation sélective associée à un gradient de sélection de tranche. À titre d'exemple, les images 2D ^{31}P MAS avec une sélection de tranche de 710 μm d'épaisseur effectuée par l'application d'une impulsion de refocalisation sélective R-SNOB de 900 μs , sont présentées en Figure 52 c et d. L'utilisation de l'impulsion sélective de 900 μs augmente le temps d'écho à 4 ms (il était de 2,8 pour l'acquisition 3D). Les tranches ont été positionnées dans les parties supérieure et inférieure du fantôme en choisissant la fréquence de l'impulsion de refocalisation sélective. Comme pour l'expérience d'écho de spin 3D, le CPMAS ^1H - ^{31}P a été utilisé pour réduire la durée d'acquisition et chaque image 2D

a été obtenue en 17 min avec une résolution spatiale de $117 \times 155 \mu\text{m}^2$. Malgré l'allongement du temps d'écho, le SNR obtenu avec 64 accumulations par incrément de phase est de 60.

III.1.2 Sources de contraste

En plus de l'amélioration de la sensibilité, la polarisation croisée fournit également une source de contraste supplémentaire, en plus des pondérations par les temps de relaxations T_1 , T_2 et T_2^* classiquement utilisés en l'imagerie.²⁰ Ceci est illustré Figure 53 dans le cas d'un fantôme composé de deux cylindres (parallèles à l'axe MAS) remplis respectivement par de l'hydroxyapatite (Hap, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) et du phosphate tricalcique (α -TCP, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), qui sont deux biomatériaux utilisés comme implants osseux. Comme le montre la Figure 53b, l'image 2D de densité de spin ^{31}P perpendiculaire à l'axe z^{MAS} enregistrée avec une excitation directe ^{31}P présente deux taches d'intensité correspondant aux cylindres Hap et α -TCP. Dans cette image, enregistrée avec un temps de répétition (TR) de 360 s, la différence d'intensité entre les images Hap et α -TCP résulte principalement de la différence entre les temps de relaxation longitudinaux ^{31}P des deux phases ($T_1 \sim 450$ s pour HA et ~ 70 s pour α -TCP). Dans un tel cas, le signal ^{31}P de chaque phase peut évidemment être sélectionné en utilisant des méthodes de pondération T_1 . Par exemple, l'image MAS 2D ^{31}P présentant uniquement le spot d' α -TCP a été obtenue en utilisant une séquence de saturation et un court temps de récupération de 2 s permettant de saturer le signal ^{31}P de la phase Hap. Cette image a été acquise avec une résolution nominale de $52 \times 121 \mu\text{m}^2$ en 17 minutes (Figure 53c). *A contrario*, le CPMAS ^1H - ^{31}P peut être utilisée pour observer sélectivement les noyaux ^{31}P au voisinage des atomes d'hydrogène. Ceci permet d'obtenir l'image ^{31}P sélective des environnements protonés et donc de la phase Hap en un temps d'acquisition court de 8 min (Figure 53d). Une telle approche ouvre la voie à l'utilisation d'autres séquences de RMN solide pour générer un contraste entre l'hydroxyapatite et le tricalcium phosphate. Par exemple, le déphasage REDOR ^1H - ^{31}P et ses variantes permettraient d'atténuer le signal ^{31}P des environnements protonés dans les images ^{31}P MAS. Il faut noter qu'un tel contraste entre les phases Hap et α -TCP est difficilement obtenu par les techniques d'imagerie par rayons X en raison de leurs densités électroniques très similaires. Enfin, la variation d'intensité du transfert CP en fonction du temps de contact peut être aussi utilisée comme source contraste. Par exemple, dans le cas de la CDA, un transfert de polarisation important entre les protons des molécules d'eau et des HPO_4^{2-} vers les atomes ^{31}P voisins se produit à des temps de contact courts, tandis que le transfert ^1H - ^{31}P entre les groupes hydroxyles et phosphate est dominant pour des temps de contact long.

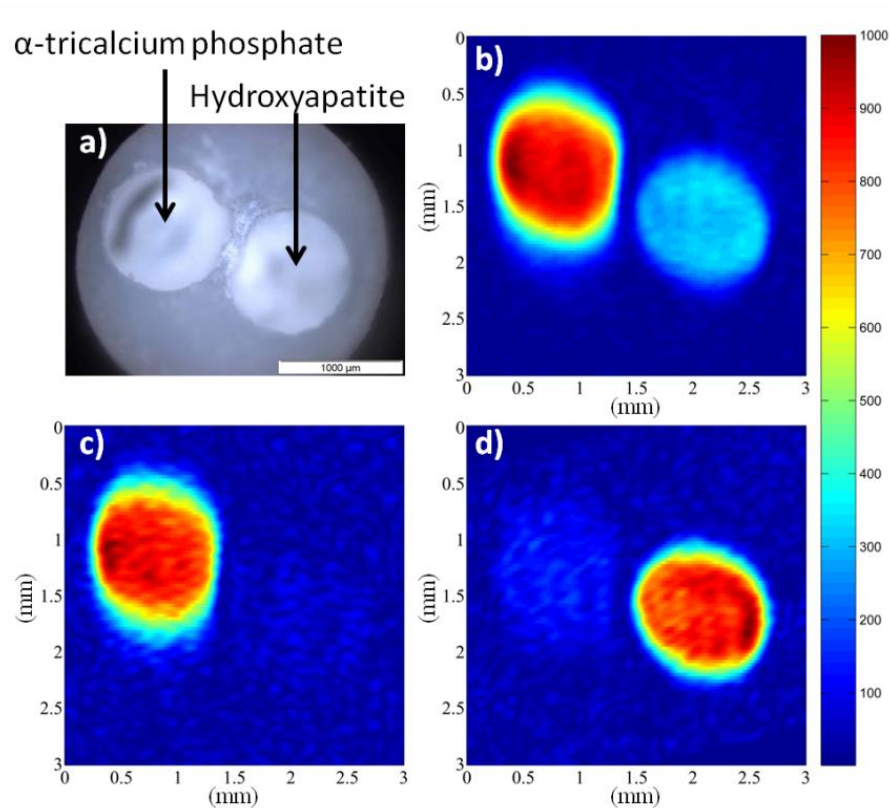


Figure 53: a) Photographie (vue de dessus) du fantôme constitué d'un insert PTFE percé de deux trous cylindriques parallèles à l'axe de rotation (1 mm de diamètre) rempli de poudres de HA et de α -TCP. b) ^{31}P 2D MAS image du fantôme (projection le long de l'axe z^{MAS}) enregistrée avec une excitation directe ^{31}P et un TR = 360 s. c) image MAS ^{31}P 2D sélective de la phase α -TCP, enregistrée avec un temps de répétition : TR = 2 s. d) Image ^{31}P 2D CP sélective de la phase HA, obtenue en utilisant un temps de CP de 3 ms et un TR = 1 s. La résolution spatiale nominale pour toutes les images est de 52 μm dans la dimension de lecture et 121 μm dans la dimension de phase (FOV = 3x3 mm²). 16 scans ont été accumulés correspondant à un temps d'acquisition de b) 51,2 heures, c) 17 min et d) 8 min. L'ensemble de données a été complété de zéros jusqu'à une taille 4 fois supérieure dans chacune des dimensions pour donner une taille de pixel de 6x6 μm^2 .

III.2. IMAGERIE EN MAS DES TISSUS BIOLOGIQUES : LA DENT DE SOURIS

III.2.1 Imagerie 3D ^{31}P CP MAS

Une preuve de concept de l'intérêt de la combinaison du MAS et de l'IRM pour l'imagerie *ex vivo* de tissus rigides est démontrée ici dans le cas de l'échantillon de dent de souris (molaire) attachée à un morceau d'os de mâchoire (Figure 54). Pour centrer et maintenir la dent au centre du rotor ainsi que pour répartir les forces dues à la rotation, la dent de souris est entourée de poudre d'alumine tassée. Cela permet d'équilibrer le rotor et d'atteindre facilement une fréquence de rotation de 10 kHz.

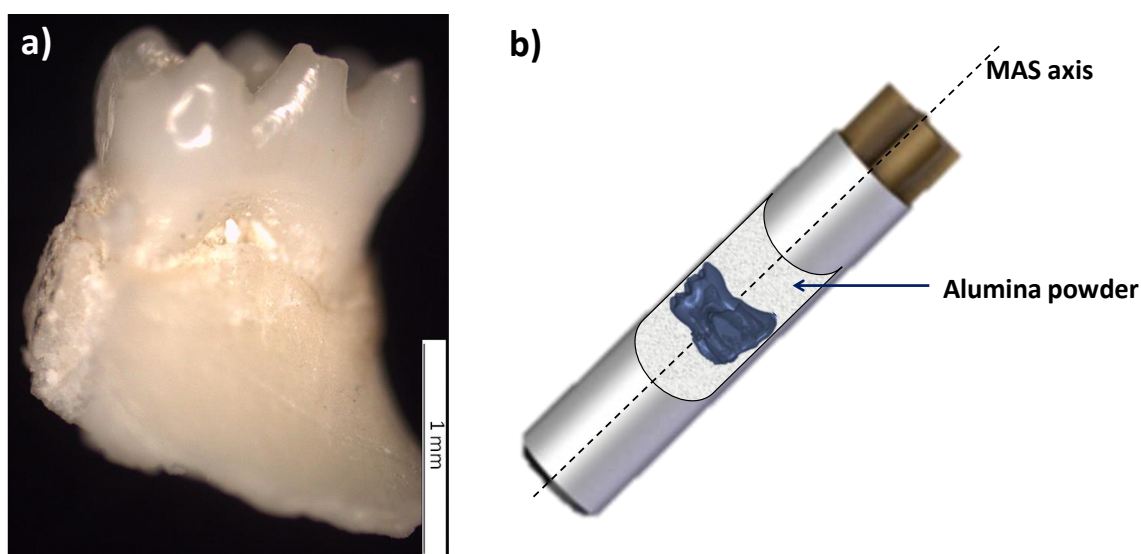


Figure 54: a) Photographie de l'échantillon de molaire de souris attachée à un morceau d'os de gencive. b) Schéma présentant l'orientation de la dent de souris dans le rotor.

La dent de souris est de taille très réduite ($< 2,5$ mm) et a été placée dans la zone homogène de la bobine RF, le transfert de polarisation par polarisation croisée $^1\text{H} \rightarrow ^{31}\text{P}$ sera donc effectué sans rampe pour obtenir le maximum de signal. L'image 3D ^{31}P CPMAS a été enregistrée à 17,6 T en utilisant une fréquence de rotation de 10 kHz. À cette fréquence, les bandes de rotation résiduelles ont des intensités très faibles et une augmentation significative de la durée de vie de la cohérence ^{31}P est obtenue : le temps de déphasage T_2' augmente de $\sim 0,5$ ms sans rotation à 2,4 ms à 10 kHz permettant l'utilisation de séquences d'écho de spin tridimensionnelle avec un temps d'écho d'environ 2 ms (nécessaire pour effectuer l'encodage spatial) et des pertes d'intensité par déphasage (environ 60 %) acceptables. L'enregistrement d'images bidimensionnelles avec sélection de tranche reste difficile en raison de l'allongement du temps d'écho induit par l'impulsion sélective de refocalisation et du court T_2' . D'autres schémas sont possibles pour permettre la sélection spectrale ou spatiale de matériaux à T_2' courts, ils seront détaillés dans le chapitre suivant.

L'image 3D ^{31}P de l'échantillon, enregistrée à l'aide de la séquence d'écho de spin CPMAS et avec une résolution spatiale nominale de $250 \times 220 \times 220 \mu\text{m}^3$ et un SNR de 56 a été acquise en 69 heures (Figure 55). À notre connaissance, c'est la meilleure résolution spatiale rapportée pour l'IRM à l'état solide ^{31}P des tissus rigides.⁵³

L'image ^{31}P reflète bien la forme globale de l'échantillon et révèle des détails anatomiques tels que les canaux de pulpe. Dans la partie supérieure de la dent, à une hauteur de 2 mm, les canaux de pulpe sont clairement observés par une absence totale d'intensité ^{31}P , et les tailles des cavités déduites de l'image (c'est-à-dire des sections transversales) d'environ $350 \mu\text{m}$ correspondent approximativement à ce qui est mesuré sur l'image obtenue par micro tomographie (μCT). Dans les racines des dents, à une hauteur de 1 mm, les canaux sont beaucoup plus minces (sections d'environ $100 \mu\text{m}$), mais ils restent observables par une diminution de l'intensité du signal. Comme l'image a été enregistrée avec CPMAS, seuls les noyaux ^{31}P au voisinage des atomes d'hydrogène sont observés. Cela fournit un contraste par l'efficacité du CP en fonction des environnements locaux du phosphore. Pour un temps de contact de 3 ms, les protons des groupes hydroxyles et des molécules d'eau adsorbées contribuent tous deux au transfert de polarisation ^1H - ^{31}P . À titre de comparaison, une image 3D de référence à haute résolution indiquant la densité minérale réelle a été enregistrée par micro tomographie à rayon X (μCT , Figure 55a). Les différences d'intensité du signal entre les coupes transversales des images IRM ^{31}P et μCT prises le long des canaux pulpe suggèrent que le signal ^{31}P de l'os est favorisé par le transfert de polarisation par rapport à celui de la dent. Ce gain de signal supérieur pour la partie osseuse peut probablement être lié à une plus grande teneur en molécules d'eau adsorbée par rapport à la partie dentine de la dent.

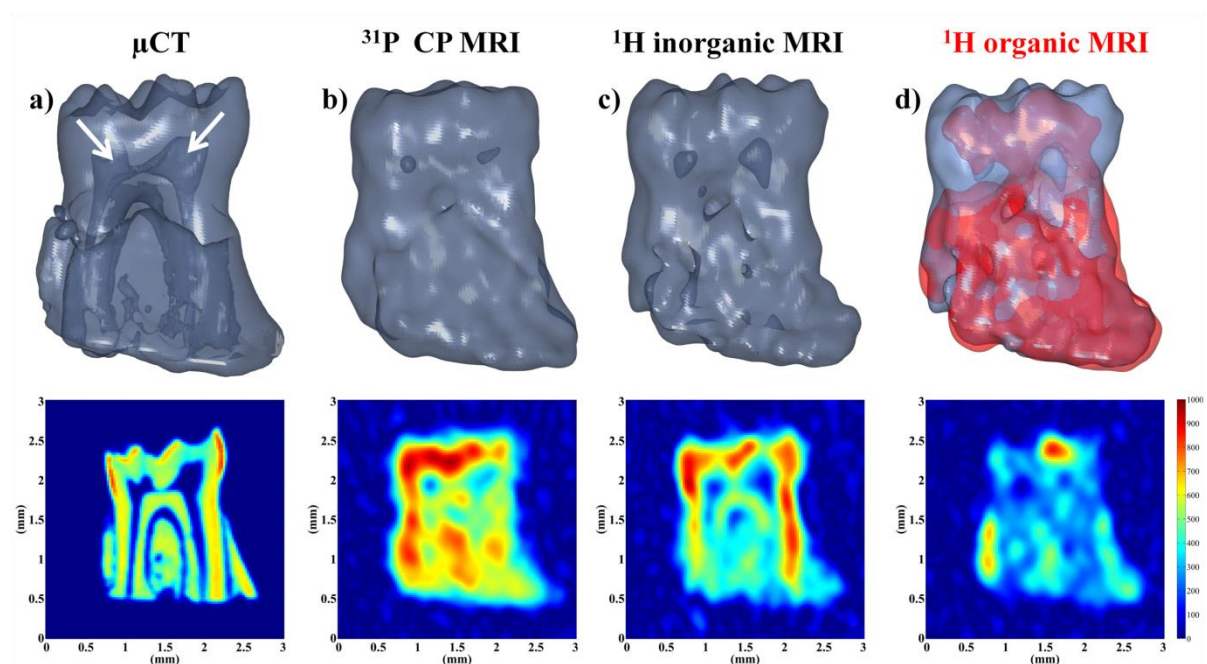


Figure 55: (a) Image μCT haute résolution 3D de l'échantillon de dents de souris (résolution spatiale isotrope réduite à $27 \mu\text{m}$). (b) Image de résonance magnétique 3D ^{31}P CPMAS enregistrée à une fréquence de rotation de 10 kHz en utilisant

un temps de contact de CP de 3 ms. Les données ont été enregistrées avec une résolution spatiale nominale de 250 μm dans la dimension de lecture et 110 μm dans la dimension de phase qui a diminué à 220 μm par apodisation avec une fonction de Hann. 240 scans ont été acquis avec un temps de répétition (TR) de 1 s correspondant à une durée expérimentale de 69 h. (c, d) 3D ^1H MAS MR images sélectives chimiquement des groupes (c) hydroxyle (OH^-) de l'hydroxyapatite et (d) aliphatiques (CH_2 , CH_3) de la partie organique de la dent de souris. La résolution spatiale nominale est de $144 \times 110 \times 110 \mu\text{m}^3$. 64 scans ont été acquis avec un TR de 1 s correspondant à une durée expérimentale de 18,2 h par image. L'ensemble de données a été complété de zéros jusqu'à une taille de matrice deux fois supérieure induisant à une taille de voxel isotrope de 27 μm . Les images 3D sont représentées en isosurface de signal et les sections transversales 2D prises le long des canaux de pulpe de la dent sont présentées sous les images 3D correspondantes. Les flèches blanches sur l'image 3D de μCT indiquent l'emplacement des canaux de pulpe.

La résolution spatiale atteinte dans l'image d'écho de spin ^{31}P CPMAS (en utilisant une puissance de gradient d'encodage fréquentiel de $24,86 \text{ G.cm}^{-1}$ et une puissance de gradient de phase de $33,15 \text{ G.cm}^{-1}$ avec une durée de rectangle équivalente de 0,8 ms) ne permet pas de mettre en évidence la fine couche d'émail ($\sim 60 \mu\text{m}$) observée dans l'image μCT . Comme le transfert de polarisation ^1H - ^{31}P entre les groupes hydroxyle et phosphate devient dominant pour de longs temps CP (lié au déphasage rapide du signal ^1H des molécules d'eau adsorbées) et étant donné que la dentine et l'os sont connus pour présenter une déficience plus importante en ions hydroxyles que l'émail (qui est plus proche d'une Hap stoechiométrique),^{38,54} l'utilisation de temps de contact plus long pourrait permettre d'augmenter le signal issu de l'émail par rapport à celui de la dentine et de l'os. Il convient également de mentionner qu'une image MAS ^{31}P reflétant la distribution quantitative de phosphate dans les différents tissus peut être obtenue grâce à une excitation directe ^{31}P , mais au coût d'un temps expérimental accru en raison des longs temps de relaxation longitudinaux ^{31}P de l'échantillon.

III.2.2 Imagerie ^1H 3D MAS sélective chimiquement

Comme discuté auparavant, la MAS à une fréquence de rotation modérée combinée à l'utilisation de hauts champs magnétiques permet d'améliorer la résolution des spectres RMN ^1H des tissus minéralisés et des phosphates de calcium apparentés qui présentent des interactions dipolaires homonucléaires ^1H modérées.⁴¹ En effet, les résonances des groupes hydroxyle à 0 ppm et celles des protons aliphatiques des acides gras (pics intenses à 0,9 ppm pour les CH_3 , à 1,3 ppm pour les CH_2 et les plus faibles à 1,6 et 2,0 ppm) sont clairement observés sur les spectres ^1H MAS de l'échantillon de dents de souris en rotation à 10 kHz, malgré la présence de la raie large centrée à 5,2 ppm (correspondant aux molécules d'eau adsorbées avec une distribution de liaisons hydrogènes). En revanche, le spectre ^1H acquis dans des conditions statiques présente une seule résonance large (largeur à mi-hauteur = 3 kHz) avec un épaulement à environ 1 ppm et souffre d'un manque de résolution spectrale (voir Figure 56).

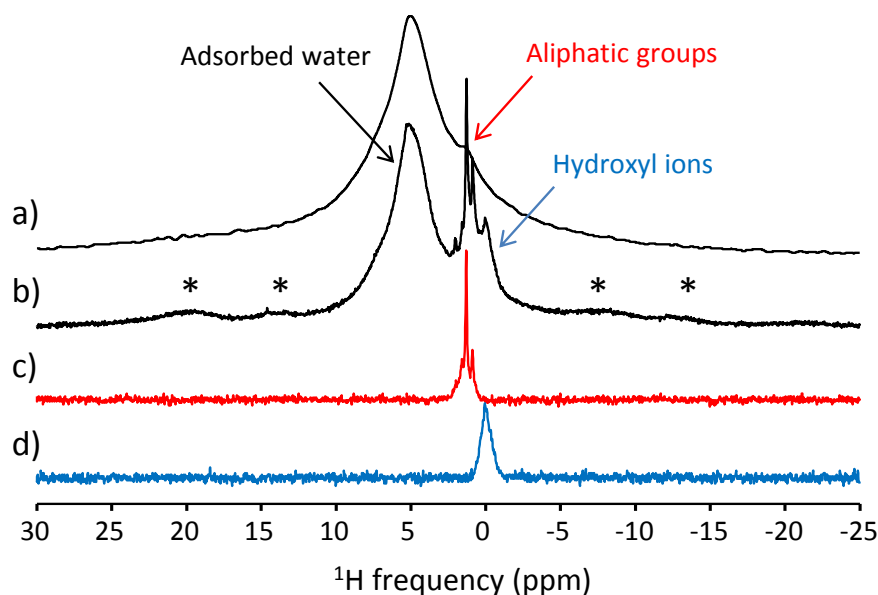


Figure 56: Spectres RMN ^1H à l'état solide de l'échantillon de dent de souris enregistrés à très haut champ magnétique (17,6 T) (a) en condition statique et (b) en rotation à l'angle magique à une fréquence de rotation de 10 kHz. Les astérisques indiquent les bandes de rotation. (c, d) Spectres ^1H MAS obtenue par écho de spin avec une impulsion de refocalisation sélective (c) des protons aliphatiques et (d) des groupes hydroxyle, enregistrés avec un temps d'écho de 5,4 ms et utilisant une impulsion R-SNOB de refocalisation de 3 ms pour une gamme spectrale sélectionnée d'environ 600 Hz.

Comme dans le cas du ^{31}P , l'utilisation du MAS (10 kHz) conduit à une augmentation des temps de déphasage transversaux des résonances ^1H des groupes hydroxyle et aliphatiques faiblement couplés qui s'élèvent à environ 3,6 ms et 2,2 ms respectivement. Une augmentation significative de T_2' est également observée pour une partie de la raie large des molécules d'eau. L'augmentation de la résolution spectrale ^1H et de la durée de vie de la cohérence permet d'utiliser des séquences d'écho de spin avec une impulsion sélective en fréquence de longue durée et ouvre la voie à de l'imagerie IRM chimiquement sélective dans des tissus rigides.

En outre, le gain de sensibilité résultant de l'utilisation du MAS et de très hauts champs magnétiques permet d'enregistrer des images 3D ^1H sélectives chimiquement reflétant la distribution des protons hydroxyle et aliphatique (correspondant à moins de 8 % et 7 % respectivement de la teneur totale en hydrogène de l'échantillon) avec une résolution spatiale nominale de $144 \times 110 \times 110 \mu\text{m}^3$.

Comme le montre la Figure 55c, l'image 3D de la teneur en hydroxyle de l'hydroxyapatite décrit bien la structure microscopique de l'échantillon et révèle les canaux de la pulpe et le ligament parodontal par l'absence d'intensité du signal. L'image ^1H MAS des OH^- présente une intensité de signal plus élevée dans la dent par rapport à l'os de mâchoire reflétant la plus grande quantité d'hydroxyle dans les cristaux d'apatite formant l'émail et la dentine. Cette observation est en accord avec les précédentes études des cristaux d'apatite des tissus rigides.^{38,54} En revanche, l'image ^1H des protons aliphatiques révèle clairement un contenu beaucoup plus important de matière organique dans l'os que dans la dentine et l'émail.

Il montre également une tache intense de matière organique dans la partie supérieure d'un des canaux de pulpe qui peut être interprétée comme le résultat de l'effet des forces centrifuges induites par la rotation de l'échantillon (les canaux de pulpe sont orientés perpendiculairement à l'axe de rotation, voir Figure 54). Ces images chimiquement sélectives, enregistrées en environ 18 heures, révèlent clairement les potentialités de l'IRM en MAS à très haut champ pour fournir une cartographie chimique et structurale 3D détaillée *ex vivo* dans des tissus durs qui pourraient difficilement être obtenus en utilisant d'autres méthodes d'imagerie.

III.2.3 Excitation sélective

Pour augmenter la sensibilité et diminuer le temps d'acquisition de l'imagerie sélective en déplacement chimique, il est possible de raccourcir le temps de relaxation longitudinale T_1 des espèces sélectionnées. Cela peut être fait en utilisant uniquement des impulsions radiofréquence sélectives dans la séquence. Les spins non sélectionnés et donc non excités vont alors se comporter comme un « bain de spin froid » et vont par diffusion de spin ou échange chimique diminuer le temps de relaxation T_1 des spins excités. Cette propriété est bien connue dans la RMN des protéines et a donné naissance aux techniques BEST pour Band-Selective Short Transient.^{55–57} L'application de cette méthode à l'imagerie est relativement simple et la séquence permettant de faire de l'imagerie tridimensionnelle avec des temps de relaxation diminués est présentée en Figure 57.

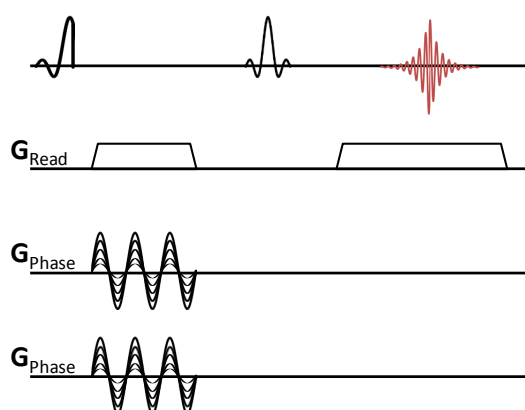


Figure 57: Séquence d'imagerie tridimensionnelle sélective en déplacement chimique par les impulsions d'excitation et de refocalisation.

Cette méthode s'est révélée plutôt efficace pour les raies de résonances ^1H de la dent de souris puisque le temps de relaxation T_1 des ions hydroxyles en MAS à 10 kHz dans un champ de 17,6 T décroît de 750 ms en écho non sélectif à 460 ms en écho sélectif, alors que le T_1 des protons aliphatiques diminue de 680 ms à 390 ms.

Cette approche permet donc de diminuer le temps d'expérience d'environ 40 %. L'intensité du signal reste équivalente car l'impulsion d'excitation sélective utilisée (E-SNOB) n'intervient quasiment pas dans le temps d'écho.

IV) CONCLUSION

Ce chapitre détaille l'implémentation de l'imagerie de résonance magnétique par la séquence d'écho de spin en rotation à l'angle magique ainsi que les potentialités de cette combinaison. En effet, la combinaison du MAS avec des gradients de champ magnétique rotatifs et pulsés permet de surmonter les difficultés associées à l'imagerie des résonances larges et des temps de déphasage courts caractéristiques des solides rigides. Cette approche a permis d'enregistrer des images *ex vivo* ^{31}P 3D et 2D avec sélection de tranches de tissus et de biomatériaux rigides à l'aide de séquences d'écho de spin robustes, de très hauts champs magnétiques, et cela avec un SNR et une résolution spatiale considérablement améliorés par rapport aux conditions statiques. D'autres schémas de sélection et de contraste, tels que les méthodes de RMN solide de transfert de polarisation par interaction dipolaire ou les approches d'imagerie sélective en déplacement chimique à haute résolution sont aussi démontrées et permettent une localisation spatiale des variations chimiques. Cela permet notamment de cartographier sélectivement la distribution tridimensionnelle des protons d'hydroxyle apatitique ou des aliphatiques à l'intérieur d'une dent de souris sèche attachée à de l'os de mâchoire, avec une résolution spatiale proche de 100 μm . Cette cartographie chimique et structurale 3D détaillée *ex vivo* d'un tissu rigide biologique pourrait difficilement être obtenue en utilisant d'autres méthodes d'imagerie. L'approche IRM à très haut champ offre donc un grand potentiel pour des études *ex vivo* sur des modèles de petits animaux (rongeurs) tels que la modification des tissus durs induite par des maladies spécifiques ou de l'ostéointégration des implants de phosphate de calcium.

Cependant, cette méthode reste limitée par le temps d'écho inhérent à l'utilisation d'une séquence d'imagerie par écho de spin. Même si ce temps d'écho peut être relativement court (2 ms pour l'imagerie 3D), et que les T_2' sont augmentés par la MAS, le temps d'écho induit tout de même une perte de signal due à la relaxation en T_2' (de 60 % du signal ^{31}P pour la dent de souris). Or, les temps d'acquisitions des images (69 h et 18 h pour la dent de souris ^{31}P et ^1H) sont déjà prohibitifs. C'est aussi le signal sur bruit qui limite la résolution puisque des fonctions d'apodisation ont dû être utilisés lors du traitement de l'image ^{31}P . Des méthodes d'imagerie par pur encodage fréquentiel, notamment l'UTE, le ZTE et le SWIFT ont été développées pour réduire ou supprimer le temps d'écho et ainsi permettre l'imagerie des solides avec une meilleure sensibilité. La combinaison de cette approche « brute force » d'imagerie des solides avec la rotation à l'angle magique est présentée dans le chapitre suivant.

V) REFERENCES

1. Schauss, G., Blümich, B. & Spiess, H. Conditions for generating rotating gradients in MAS NMR imaging. ... *Magn. Reson.* (1969 ... **1**, 437–441 (1991).
2. Pampel, A., Engelke, F., Gross, D., Oerther, T. & Zick, K. Pulsed-field-gradient NMR with magic-angle spinning: Diffusion studies and NMR microscopy of heterogeneous materials. *SpinREPORT* **157/158**, 26–30 (2006).
3. Kupce, E., Boyd, J. & Campbell, I. D. Short Selective Pulses for Biochemical Applications. *J. Magn. Reson. Ser. B* **106**, 300–303 (1995).
4. Dixon, W. T., Schaefer, J., Sefcik, M. D., Stejskal, E. O. & McKay, R. A. Total suppression of sidebands in CPMAS C-13 NMR. *J. Magn. Reson.* **49**, 341–345 (1982).
5. Cory, D. G. & Veeman, W. S. Magnetic field gradient imperfections in NMR imaging of rotating solids. *J. Magn. Reson.* **82**, 374–381 (1989).
6. Müller, S. Multifrequency selective rf pulses for multislice MR imaging. *Magn. Reson. Med.* **6**, 364–371 (1988).
7. Hildebrand, T., Laib, A., Müller, R., Dequeker, J. & R?egsegger, P. Direct Three-Dimensional Morphometric Analysis of Human Cancellous Bone: Microstructural Data from Spine, Femur, Iliac Crest, and Calcaneus. *J. Bone Miner. Res.* **14**, 1167–1174 (1999).
8. Wehrli, F. W., Song, H. K., Saha, P. K. & Wright, A. C. Quantitative MRI for the assessment of bone structure and function. *NMR Biomed.* **19**, 731–764 (2006).
9. Ma, J., Wehrli, F. W. & Song, H. K. Fast 3D large-angle spin-echo imaging (3D FLASE). *Magn. Reson. Med.* **35**, 903–910 (1996).
10. Tyler, D. J., Robson, M. D., Henkelman, R. M., Young, I. R. & Bydder, G. M. Magnetic resonance imaging with ultrashort TE (UTE) PULSE sequences: Technical considerations. *J. Magn. Reson. Imaging* **25**, 279–289 (2007).
11. Bergin, C. J., Pauly, J. M. & Macovski, A. Lung parenchyma: projection reconstruction MR imaging. *Radiology* **179**, 777–781 (1991).
12. Wu, Y. *et al.* Density of organic matrix of native mineralized bone measured by water- and fat-suppressed proton projection MRI. *Magn. Reson. Med.* **50**, 59–68 (2003).
13. Weiger, M., Pruessmann, K. P. & Hennel, F. MRI with zero echo time: Hard versus sweep pulse excitation. *Magn. Reson. Med.* **66**, 379–389 (2011).
14. Kuethe, D. O., Adolphi, N. L. & Fukushima, E. Short data-acquisition times improve projection images of lung tissue. *Magn. Reson. Med.* **57**, 1058–1064 (2007).
15. Madio, D. P. & Lowe, I. J. Ultra-fast imaging using low flip angles and fids. *Magn. Reson. Med.* **34**, 525–529 (1995).

16. Hafner, S. Fast imaging in liquids and solids with the Back-projection Low Angle Shot (BLAST) technique. *Magn. Reson. Imaging* **12**, 1047–1051 (1994).
17. Kuethe, D. O., Caprihan, a, Lowe, I. J., Madio, D. P. & Gach, H. M. Transforming NMR data despite missing points. *J. Magn. Reson.* **139**, 18–25 (1999).
18. Idiyatullin, D., Corum, C., Park, J.-Y. & Garwood, M. Fast and quiet MRI using a swept radiofrequency. *J. Magn. Reson.* **181**, 342–9 (2006).
19. Seifert, A. C. *et al.* Bone mineral ³¹P and matrix-bound water densities measured by solid-state ³¹P and ¹H MRI. *NMR Biomed.* **27**, 739–748 (2014).
20. Moore, J. R., Garrido, L. & Ackerman, J. L. Solid state phosphorus-31 magnetic resonance imaging of bone mineral. *Magn. Reson. Med.* **33**, 293–9 (1995).
21. Ackerman, J. L., Raleigh, D. P. & Glimcher, M. J. Phosphorus-31 magnetic resonance imaging of hydroxyapatite: A model for bone imaging. *Magn. Reson. Med.* **25**, 1–11 (1992).
22. Ramanathan, C. & Ackerman, J. L. Quantitative solid-state NMR imaging of synthetic calcium phosphate implants. *Magn. Reson. Med.* **41**, 1214–1220 (1999).
23. Anumula, S. *et al.* Measurement of phosphorus content in normal and osteomalacic rabbit bone by solid-state 3D radial imaging. *Magn. Reson. Med.* **56**, 946–952 (2006).
24. Sun, Y. *et al.* Imaging human teeth by phosphorus magnetic resonance with nuclear Overhauser enhancement. *Sci. Rep.* **6**, 30756 (2016).
25. Wu, Y. *et al.* Bone mineral imaged in vivo by ³¹P solid state MRI of human wrists. *J. Magn. Reson. Imaging* **34**, 623–33 (2011).
26. Rey, C., Combes, C., Drouet, C. & Glimcher, M. J. Bone mineral: Update on chemical composition and structure. *Osteoporos. Int.* **20**, 1013–1021 (2009).
27. Glimcher, M. J. Bone: Nature of the Calcium Phosphate Crystals and Cellular, Structural, and Physical Chemical Mechanisms in Their Formation. *Rev. Mineral. Geochemistry* **64**, 223–282 (2006).
28. Legros, R., Balmain, N. & Bonel, G. Age-related changes in mineral of rat and bovine cortical bone. *Calcif. Tissue Int.* **41**, 137–144 (1987).
29. Eichert, D., Drouet, C., Rey, C., Sfhia, H. & Combes, C. *Nanocrystalline Apatite-Based Biomaterials*. (Nova Science Publishers, 2009).
30. Elliott, J. C. *Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates*. (Elsevier Science, 2013).
31. Suetsugu, Y. & Tanaka, J. Crystal growth and structure analysis of twin-free monoclinic hydroxyapatite. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **13**, 767–772 (2002).
32. Elliott, J. C., Mackie, P. E. & Young, R. a. Monoclinic Hydroxyapatite. *Science* (80-.).

- 180**, 1055–1057 (1973).
33. Dorozhkin, S. V. Nanosized and nanocrystalline calcium orthophosphates. *Acta Biomater.* **6**, 715–734 (2010).
 34. Roufosse, A. H., Aue, W. P., Roberts, J. E., Glimcher, M. J. & Griffin, R. G. Investigation of the mineral phases of bone by solid-state phosphorus-31 magic angle sample spinning nuclear magnetic resonance. *Biochemistry* **23**, 6115–6120 (1984).
 35. Wang, Y. *et al.* Water-mediated structuring of bone apatite. *Nat. Mater.* **12**, 1144–1153 (2013).
 36. Ben Osman, M. *et al.* Control of calcium accessibility over hydroxyapatite by post-precipitation steps: influence on the catalytic reactivity toward alcohols. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **18**, 27837–27847 (2016).
 37. Jäger, C., Welzel, T., Meyer-Zaika, W. & Epple, M. A solid-state NMR investigation of the structure of nanocrystalline hydroxyapatite. *Magn. Reson. Chem.* **44**, 573–580 (2006).
 38. Cho, G., Wu, Y. & Ackerman, J. L. Detection of Hydroxyl Ions in Bone Mineral by Solid-State NMR Spectroscopy. *Science (80-.).* **300**, 1123–1127 (2003).
 39. Rothwell, W. P., Waugh, J. S. & Yesinowski, J. P. High-resolution variable-temperature ³¹P NMR of solid calcium phosphates. *J. Am. Chem. Soc.* **102**, 2637–2643 (1980).
 40. Aue, W. P., Roufosse, a H., Glimcher, M. J. & Griffin, R. G. Solid-state phosphorus-31 nuclear magnetic resonance studies of synthetic solid phases of calcium phosphate: potential models of bone mineral. *Biochemistry* **23**, 6110–6114 (1984).
 41. Yesinowski, J. P. & Eckert, H. Hydrogen environments in calcium phosphates: proton MAS NMR at high spinning speeds. *J. Am. Chem. Soc.* **109**, 6274–6282 (1987).
 42. Pourpoint, F. *et al.* Calcium Phosphates and Hydroxyapatite: Solid-State NMR Experiments and First-Principles Calculations. *Appl. Magn. Reson.* **32**, 435–457 (2007).
 43. De Paëpe, G. *et al.* Transverse Dephasing Optimized Solid-State NMR Spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 13938–13939 (2003).
 44. Fung, B. M., Khitrin, A. K. & Ermolaev, K. An Improved Broadband Decoupling Sequence for Liquid Crystals and Solids. *J. Magn. Reson.* **142**, 97–101 (2000).
 45. Kaflak, A., Chmielewski, D., Górecki, A., Slosarczyk, A. & Kolodziejski, W. Efficiency of ¹H ³¹P NMR cross-polarization in bone apatite and its mineral standards. *Solid State Nucl. Magn. Reson.* **29**, 345–348 (2006).
 46. Kaflak-Hachulska, A., Samoson, A. & Kolodziejski, W. ¹H MAS and ¹H ³¹P CP/MAS NMR Study of Human Bone Mineral. *Calcif. Tissue Int.* **73**, 476–486 (2003).
 47. Pines, A., Gibby, M. G. & Waugh, J. S. Proton-Enhanced Nuclear Induction Spectroscopy. A Method for High Resolution NMR of Dilute Spins in Solids. *J. Chem.*

- Phys.* **56**, 1776–1777 (1972).
48. Hartmann, S. R. & Hahn, E. L. Nuclear Double Resonance in the Rotating Frame. *Phys. Rev.* **128**, 2042–2053 (1962).
 49. Stejskal, E. O., Schaefer, J. & Waugh, J. S. Magic-angle spinning and polarization transfer in proton-enhanced NMR. *J. Magn. Reson.* **28**, 105–112 (1977).
 50. Peersen, O. B., Wu, X. L., Kustanovich, I. & Smith, S. O. Variable-Amplitude Cross-Polarization MAS NMR. *Journal of Magnetic Resonance, Series A* **104**, 334–339 (1993).
 51. Gupta, R., Hou, G., Polenova, T. & Vega, A. J. RF inhomogeneity and how it controls CPMAS. *Solid State Nucl. Magn. Reson.* **72**, 17–26 (2015).
 52. Seifert, A. C. *et al.* ³¹P NMR relaxation of cortical bone mineral at multiple magnetic field strengths and levels of demineralization. *NMR Biomed.* **26**, 1158–1166 (2013).
 53. Frey, M. a *et al.* Phosphorus-31 MRI of hard and soft solids using quadratic echo line-narrowing. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **109**, 5190–5 (2012).
 54. Kolmas, J. & Kolodziejski, W. Concentration of hydroxyl groups in dental apatites: a solid-state ¹H MAS NMR study using inverse ³¹P → ¹H cross-polarization. *Chem. Commun.* **1**, 4390 (2007).
 55. Deschamps, M. & Campbell, I. D. Cooling overall spin temperature: Protein NMR experiments optimized for longitudinal relaxation effects. *J. Magn. Reson.* **178**, 206–211 (2006).
 56. Pervushin, K., Vögeli, B. & Eletsy, A. Longitudinal ¹H relaxation optimization in trossy NMR spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 12898–12902 (2002).
 57. Schanda, P. & Brutscher, B. Very fast two-dimensional NMR spectroscopy for real-time investigation of dynamic events in proteins on the time scale of seconds. *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 8014–8015 (2005).

Chapitre 3 :

Encodage radial et fréquentiel en MAS

Ce chapitre présente la combinaison de la rotation à l'angle magique (MAS) avec l'imagerie par résonance magnétique multidimensionnelle par encodage fréquentiel pur et échantillonnage radial. Cette méthode, originellement dite de projection – reconstruction fut parmi les premières employées^{1,2} pour obtenir des images multidimensionnelles par résonance magnétique, notamment dans les travaux fondateurs de Lauterbur¹. Au cours des dernières années, cette approche a connu un regain d'intérêt dans le cadre de l'imagerie ^1H en conditions statiques des tissus rigides pour lesquels les raies de résonance ^1H sont larges et les temps de relaxations transversaux courts. C'est dans ce contexte que la méthode utilisée, nommée Zéro Temps d'Écho (ZTE de l'anglais Zero Echo Time) a été mise au point.^{3,4} La combinaison avec la rotation à l'angle magique permet d'augmenter fortement la sensibilité et le potentiel de cette méthode, faisant d'elle une technique puissante de micro-imagerie tridimensionnelle. En effet, la résolution spatiale des méthodes d'encodage fréquentiel est définie par la largeur de la raie de résonance RMN et l'amplitude du gradient d'encodage fréquentiel. La rotation à l'angle magique, qui permet de réduire fortement les largeurs de raie de résonance des solides, apporte donc un accroissement de la résolution spatiale accessible, ainsi que du rapport signal sur bruit de l'image. Cet effet sera illustré pour différents isotopes (^1H , ^{27}Al , ^{51}V , et ^{31}P) constitutifs de différents types d'échantillons tels que des polymères, une céramique d'alumine, de l'oxyde de vanadium sous forme de poudre ou encore un morceau de fémur de souris. De plus, nous verrons qu'il est aussi possible, avec ce schéma d'encodage fréquentiel, d'obtenir des images sélectives d'un type d'environnement chimique en utilisant des impulsions sélectives ou un contraste par polarisation croisée.

I) IRM DE PUR ENCODAGE FREQUENTIEL

Les séquences d'IRM utilisées très majoritairement aujourd'hui pour obtenir des images multidimensionnelles de matériaux rigides sont basées sur une approche « brute force » qui consiste à appliquer des gradients de champ magnétique pulsés très forts, dominant largement la largeur de raie, et à effectuer l'acquisition du signal très rapidement après l'excitation. Ces séquences emploient soit un pur encodage fréquentiel radial, comme les séquences nommées *Ultrashort Echo Time*, *Zero Echo Time*, *Sweep Imaging with Fourier Transform* (UTE⁵⁻⁷, ZTE^{4,7-11} et SWIFT¹², respectivement), soit un pur encodage de phase, comme la séquence *Single Point Imaging* (SPI¹³⁻¹⁵).

Dans le contexte de la micro-imagerie des solides, les résultats présentés au chapitre précédent, notamment en ³¹P, montrent que la sensibilité est souvent le facteur limitant de la résolution. C'est la raison pour laquelle nous avons choisi de combiner la rotation à l'angle magique avec une approche d'imagerie « brute force ». En effet, la rotation à l'angle magique (MAS) affine les résonances RMN, et permet ainsi d'utiliser un gradient d'encodage fréquentiel de plus faible amplitude tout en conservant une résolution constante. L'utilisation de ce gradient de plus faible amplitude par rapport aux conditions statiques entraîne une dispersion du signal sur une gamme de fréquence réduite et devrait donc conduire à une augmentation du rapport signal sur bruit (SNR).^{16,17}

I.1. SEQUENCES AVEC ENCODAGE FREQUENTIEL PUR

I.1.1 La séquence ZTE

La séquence d'impulsion correspondant à la méthode ZTE consiste en une simple excitation pendant l'application d'un gradient (Figure 58a), qui permet de décrire l'espace réciproque de façon radiale, du centre vers l'extérieur (Figure 58b). La combinaison de trois gradients orthogonaux permet d'orienter le gradient résultant dans toutes les directions de l'espace afin de décrire la totalité de l'espace réciproque tridimensionnel sous forme de rayons enregistrés à chaque acquisition. Cette séquence correspond à la séquence de projection-reconstruction originellement utilisée par Lauterbur¹ dans sa démonstration de l'imagerie par résonance magnétique. La séquence originelle a ensuite été légèrement modifiée par l'introduction d'un angle d'impulsion faible, à la fois pour diminuer le temps de répétition et accroître la bande passante de l'excitation (connue sous l'acronyme BLAST¹⁰ pour *Back Projection Low Angle Shot*). L'une des principales limitations de cette méthode est l'existence d'une zone au centre de l'espace-k pour laquelle le signal temporel ne peut pas être enregistré expérimentalement, dû au délai d'attente (communément appelé *temps mort* ou *dead time* en anglais) nécessaire entre la fin de l'impulsion radiofréquence et le début de l'acquisition. Plusieurs solutions ont été proposées pour pallier ce manque

d'informations au centre de l'espace k (Figure 58), notamment en effectuant une seconde acquisition à gradient réduit¹⁸, ou bien une acquisition SPI du centre de l'espace k.¹⁹ La méthode ZTE est, quant à elle, basée sur la prédiction par algèbre linéaire des points centraux de l'espace-k.^{3,11} Sa simplicité et sa robustesse expérimentales en font l'une des méthodes les plus utilisées pour effectuer de l'imagerie des tissus rigides en conditions statiques.

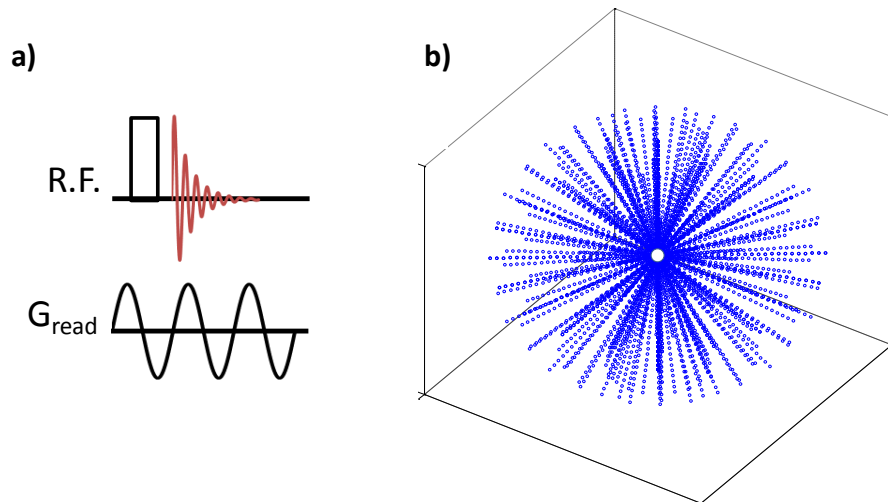


Figure 58 : a) séquence d'impulsion et de gradient ZTE b) schéma de description radial de l'espace réciproque par la séquence ZTE. La zone blanche au centre de l'espace réciproque est due au temps mort qui suit l'impulsion radiofréquence.

La méthode de ZTE souffre néanmoins de deux limitations principales. La première est que l'impulsion d'excitation radiofréquence (RF) est effectuée pendant l'application du gradient de champ magnétique et doit permettre d'exciter une gamme spectrale supérieure à l'élargissement généré par le gradient. Comme la bande passante (qui définit le champ de vue pour un gradient donné) est directement reliée à l'inverse de la durée de l'impulsion, ceci peut conduire à limiter l'angle de l'impulsion pour les échantillons de grande taille.

La seconde limitation concerne la reconstruction du signal perdu pendant le temps mort entre la fin de l'impulsion d'excitation et le début de l'acquisition. L'algorithme de reconstruction par algèbre linéaire est efficace uniquement pour un faible nombre de points manquants : jusqu'à 3,4 points manquants et donc un temps mort égal au maximum à 3,4 fois la durée de l'intervalle d'échantillonnage. Comme la durée du temps mort est fixe (de l'ordre de 6,8 μ s), une limitation du nombre de points manquant entraîne une limitation de l'intervalle d'échantillonnage et donc de la fenêtre spectrale acquise à 500 kHz.²⁰ Dans le cas de grands champs de vue, cette limitation de gamme spectrale d'acquisition conduit à limiter l'élargissement dû au gradient et donc l'amplitude du gradient appliqué selon la formule :

$$G_{max} = FoV \times \frac{1}{\gamma} \times Bw_{max}$$

De ce fait, la méthode ZTE est principalement utilisée pour de la micro-imagerie de petits objets, pour lesquels l'excitation pendant l'application du gradient et la largeur spectrale maximale d'acquisition ne conduisent pas à des limitations expérimentales.

En comparaison à l'encodage cartésien, utilisé dans les séquences d'écho de spin, la description de l'espace réciproque complet par encodage radial nécessite plus d'incrément. En effet, pour que la résolution azimutale soit égale à la résolution radiale, le nombre de rayons à acquérir est défini par :²¹

$$Nb_{rayon} = \pi \times N_{points}$$

Avec Nb_{rayon} le nombre de rayon à acquérir et N_{points} le nombre de points du diamètre (égal à deux fois le nombre de points enregistrés pour chaque rayon. Par exemple, pour décrire un espace cartésien carré de 128×128 points, un encodage radial nécessite l'enregistrement de $128 \times \pi = 403$ rayons alors qu'un encodage cartésien avec une dimension de phase ne nécessite que 128 incrément de phase.

La sensibilité accrue en ZTE par rapport à l'expérience d'écho de spin permise par l'acquisition rapide du signal sera donc nuancée par l'accroissement du nombre d'incrément qui allonge la durée d'expérience.

I.1.2 ZTE et SPI

La séquence ZTE permet de commencer l'acquisition du signal directement après l'excitation (et le temps mort) au moment où le signal est maximal. À l'inverse, la séquence SPI enregistre un seul point du FID après une période d'encodage spatial pendant laquelle le signal décroît selon le temps de défocalisation T_2^* , et qui possède donc une amplitude fortement atténuée (Figure 59). Si l'intensité du gradient utilisé permet de dominer la largeur de raie (PSF_t négligeable), la résolution spatiale des deux approches est limitée par le même terme ($PSF_{\Delta k}$) et, pour un gradient et une résolution spatiale équivalente, le signal en SPI est acquis avec la même atténuation que le dernier point de l'acquisition en ZTE.

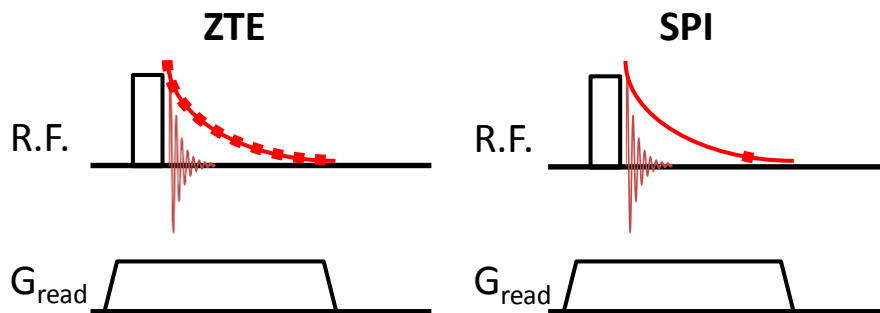


Figure 59 : Schémas d'acquisition du signal par rapport à sa décroissance temporelle des séquences ZTE et SPI.

De plus, la séquence ZTE permet d'enregistrer un rayon de l'espace-k à chaque acquisition (encodage fréquentiel), alors que la séquence SPI ne permet d'en enregistrer qu'un seul point (encodage de phase). De ce fait, la séquence ZTE est moins coûteuse en temps (ou permet pour un même temps d'expérience d'accumuler plus de signal).

On notera néanmoins que, contrairement à la séquence ZTE, la séquence SPI est une expérience à temps constant avec un encodage en pure phase de l'espace-k, elle permet donc d'obtenir des images qui ne sont pas affectées par les distorsions ou les artefacts dues à l'expression des interactions RMN pendant l'acquisition (PSF_t).

I.1.3 ZTE et UTE

La séquence UTE présente une certaine similitude avec la séquence ZTE, sauf que dans la séquence UTE le gradient est appliqué après l'impulsion radiofréquence d'excitation. De ce fait, le signal est enregistré en partie pendant la rampe d'amplitude du gradient d'encodage fréquentiel et, par conséquent, la trajectoire de l'espace-k pendant l'acquisition du signal en UTE n'est pas linéaire mais dépendante de la rampe d'amplitude du gradient qui doit être connue et maîtrisée pour toutes les directions échantillonnées. On rappellera que, pour la séquence ZTE, la rampe de gradient a lieu avant l'impulsion d'excitation et la description de l'espace k pendant l'application du gradient est linéaire, évitant ainsi cette complexité. De plus, la séquence ZTE permet d'explorer l'espace réciproque plus rapidement qu'en UTE car le gradient est à sa valeur maximale dès le début de l'acquisition (cf. Figure 60). On notera aussi que, pour un gradient équivalent, la séquence ZTE permet d'atteindre une résolution supérieure à l'UTE pour les raies de résonances ayant des constantes T_2^* courtes.

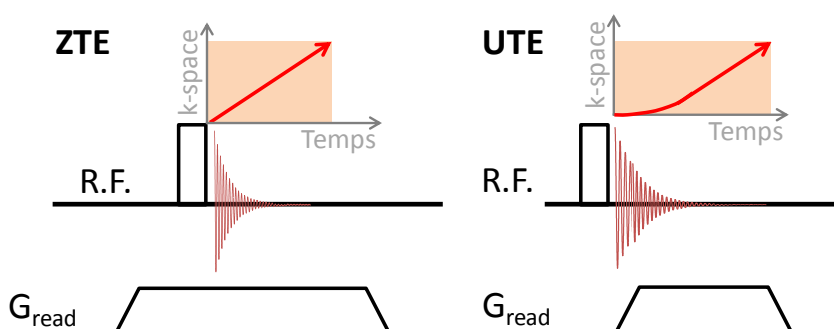


Figure 60 : Schémas de description de l'espace réciproque en fonction du temps pour les séquences ZTE et UTE.

Cette comparaison n'est valable que si le gradient maximal peut être appliqué en ZTE. C'est généralement le cas pour les petits échantillons, car l'excitation de la totalité de l'échantillon sous gradient n'est pas un problème. De plus, pour l'acquisition de petits champs de vue sur des appareils modernes, la limitation de la largeur spectrale d'acquisition à 500 kHz, correspondante à un temps mort de 6,8 μs ne conduit pas nécessairement à une restriction de l'amplitude du gradient appliqué. En effet, pour un champ de vue d'un centimètre, cette valeur de temps mort limite le gradient à 117 $G.cm^{-1}$ en 1H , 290 $G.cm^{-1}$ en ^{31}P et 450 $G.cm^{-1}$ en ^{27}Al . Même en 1H , cette valeur est proche de l'intensité maximale de gradient des systèmes de micro imagerie commerciaux actuels.

I.1.4 ZTE et SWIFT

La séquence SWIFT permet de pallier la limitation de bande passante d'acquisition et celle de l'excitation RF de l'échantillon sous gradient en utilisant une acquisition segmentée lors d'une impulsion de balayage en fréquence et est donc bien adaptée à l'étude des tissus rigides de taille importante.²² En revanche, pour des applications en micro-imagerie, lorsque le gradient n'est pas limité, la séquence d'acquisition segmentée SWIFT est moins sensible que la séquence ZTE.⁴

Compte tenu de ces comparaisons et de la très petite taille des échantillons étudiés, nous avons choisi de combiner la séquence ZTE avec la rotation à l'angle magique. Dans les cas où la largeur de raie en MAS est trop importante pour être dominée par le gradient, l'approche SPI en MAS pourra également être une alternative intéressante.

II) IMPLEMENTATION

II.1.1 Programmation

La séquence de Zéro Temps d'Écho (ZTE) a été implémentée sous Paravision afin de bénéficier de l'algorithme de reconstruction par algèbre linéaire de Bruker ainsi que du calcul automatique de divers paramètres dont notamment : le nombre de points manquants correspondant au temps mort, le nombre de projections permettant de décrire l'espace-k, l'angle d'impulsion maximum en fonction de l'élargissement spectral induit par le gradients... De plus, cette méthode intrinsèquement tridimensionnelle pourra être utilisée pour obtenir une image de référence et ainsi avoir ensuite la possibilité de placer une sélection de tranche ou de voxel dans une zone spécifique de l'objet.

Les syntaxes du programme d'impulsion RF et de gradient sont similaires sous TopSpin et Paravision. En revanche, Paravision ne nécessite pas l'utilisation d'un programme annexe automatisé (AU program), car le calcul, l'affichage et la mise à jour des paramètres de la séquence sont effectués dans les différents scripts qui composent la méthode. Bien que la programmation de cette méthode soit plus complexe, son utilisation est *in fine* plus simple.

II.1.2 Méthode MAS-ZTE

La séquence d'imagerie ZTE en rotation à l'angle magique avec excitation directe (nommée MAS-ZTE) est montrée en Figure 61a. Les gradients suivant les trois axes du repère du rotor (X^{MAS} , Y^{MAS} et Z^{MAS}) sont obtenus comme précédemment par la combinaison des gradients du laboratoire modulés en amplitude. Les gradients suivant les directions X^{MAS} , Y^{MAS} et Z^{MAS} sont ensuite multipliés par des coefficients compris entre 1 à -1 et combinés entre eux pour décrire toutes les directions de l'espace-k. Afin d'obtenir les mêmes amplitudes de gradient effectif dans chacune des directions, les gradients tournants sont aussi multipliés par le facteur correctif fonction de la vitesse de rotation (cf. Chapitre 2).

II.1.3 Méthode CPzMAS-ZTE

La méthode CPzMAS-ZTE dont la séquence est présentée en Figure 61b permet de combiner le transfert de polarisation par CP avec une acquisition ZTE. Le transfert par CP est effectué en champ homogène afin d'éviter les effets d'offset qui pourraient induire une fluctuation spatiale de l'efficacité de CP. La magnétisation du noyau observé est ensuite stockée en Z pendant la rampe d'amplitude du gradient afin d'éviter tout déphasage du signal. Après la rampe d'amplitude du gradient, l'aimantation est excitée par une impulsion RF courte. Afin d'obtenir une image associée uniquement au signal provenant du transfert de polarisation, un cyclage de phase en 2 étapes (0° et 180°) sur la première impulsion d'excitation radiofréquence (^1H) est utilisé. On notera, que même si le transfert CP est réalisé en champ homogène, il est tout de même essentiel d'utiliser une rampe d'amplitude sur l'une des impulsions de spin lock afin de compenser les inhomogénéités spatiales de champ

radiofréquence et obtenir un transfert homogène dans l'espace (cf. chapitre 2). Pour l'acquisition des images présentées dans ce manuscrit, la rampe est appliquée sur le ^1H .

II.1.4 Méthode Sélective_MAS-ZTE

Un des avantages résultant de l'utilisation de la rotation à l'angle magique, est l'obtention de spectres de haute résolution en champ homogène. Ce gain en résolution offre la possibilité d'utiliser une sélection spectrale très précise comme source de contraste. La séquence permettant la sélection de déplacement chimique couplé à une acquisition ZTE (Sélective_MAS-ZTE) est présentée en Figure 61c. La sélection spectrale est effectuée par un schéma d'inversion de raie puis soustraction de spectres. La résonance sélectionnée est d'abord inversée par une impulsion sélective d'inversion lors d'une première acquisition. Une seconde acquisition est ensuite effectuée sans l'impulsion d'inversion et le signal est soustrait à celui précédemment enregistré. Seul le signal sélectionné est ainsi additionné et le reste des résonances s'annule. En pratique, on préférera appliquer un offset important à l'impulsion sélective plutôt que de l'omettre, afin d'être dans les mêmes conditions de puissance déposée et donc de chauffage de l'échantillon.

L'avantage de cette méthode de sélection dite « longitudinale » est d'utiliser des impulsions sélectives d'inversion. Le signal est donc affecté par des phénomènes de relaxation longitudinale dans les référentiels tournant ($T_{1\rho}$) et du laboratoire (T_1) pendant et après l'impulsion sélective, respectivement. Cette situation est favorable dans le cas des solides qui présentent généralement des temps de relaxation T_1 et $T_{1\rho}$ beaucoup plus longs que les temps de défocalisation (T_2^*) et de déphasage (T_2). On notera qu'un cycle de phase en deux étapes (0° , 180°) est appliqué pour l'impulsion sélective afin d'éviter l'apparition d'un artefact au centre de l'image. Cette séquence nécessite donc quatre acquisitions successives du même rayon.

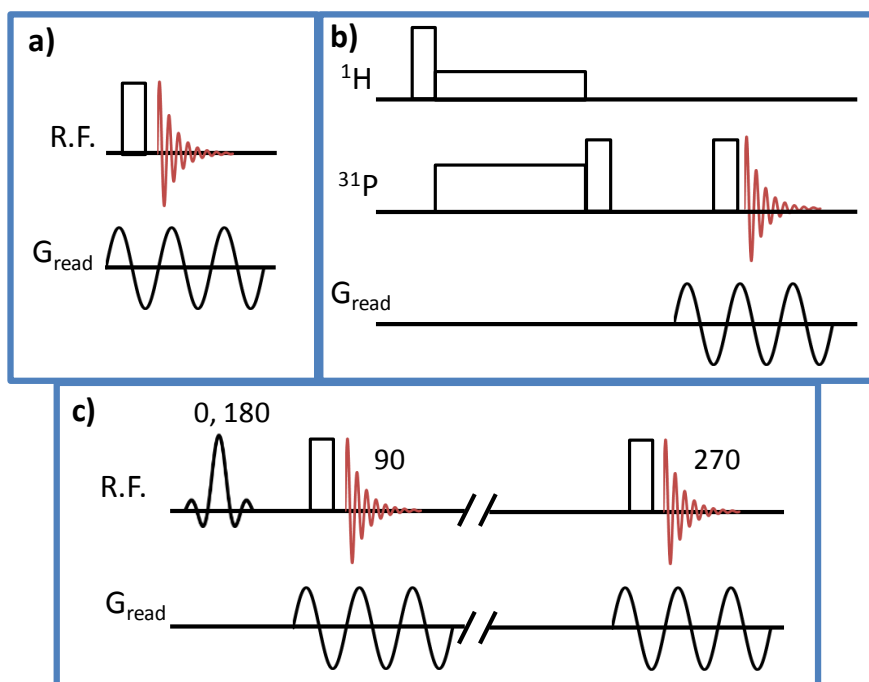


Figure 61: En haut à gauche: séquence d'impulsions RF et de gradient correspondant à la méthode MAS-ZTE. En haut à droite: séquence d'impulsions RF et de gradient correspondant à la méthode CPzMAS-ZTE. En bas: séquence d'impulsions RF et de gradient correspondant à la méthode Sélective_MAS-ZTE

La programmation de ces trois méthodes sous Paravision 6.01 permet à un utilisateur non spécialiste de réaliser de l'imagerie 3D en rotation à l'angle magique et d'utiliser les images acquises comme référence ouvrant la voie à de la spectroscopie localisée en MAS.

III) RESULTATS

III.1. APPLICATION A L'IMAGERIE ^1H DE POLYMERES

III.1.1 Spectres ^1H en rotation à l'angle magique

Dans les polymères, l'élargissement des résonances RMN ^1H est principalement attribuable aux couplages dipolaires homonucléaires et il dépend de la rigidité du réseau de protons du matériau. Ces interactions dipolaires sont relativement faibles pour les élastomères et plus importantes pour les polymères rigides. La fréquence MAS permettant d'éliminer complètement ces élargissements et d'obtenir un spectre ^1H isotrope (sans bande de rotation) dépendra donc du polymère étudié. En outre, le couplage dipolaire homonucléaire en ^1H dans les polymères est une interaction homogène, et une moyenne imparfaite de celui-ci crée des bandes de rotation, mais contribue également à la largeur de raie résiduelle comme présenté en Figure 62.

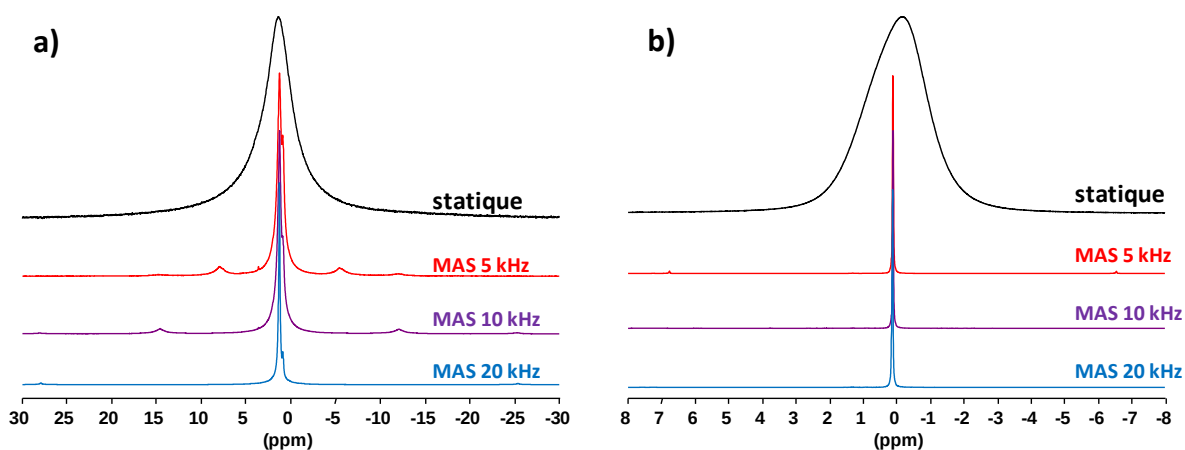


Figure 62 : Spectres en condition statique et MAS à 5, 10 et 20 kHz du polyéthylène (a) et du polydiméthylsiloxane (b)

Par exemple, dans le cas d'un élastomère souple comme le polydiméthylsiloxane (Figure 62 b), une fréquence de rotation de 5 kHz suffit pour obtenir un spectre constitué seulement d'une raie de résonance isotrope d'une largeur à mi-hauteur de 27 Hz. En revanche, pour le polyéthylène (Figure 62 a) qui est un polymère beaucoup plus rigide, la largeur de raie de la résonance principale est de 420 Hz à 5 kHz, 350 Hz à 10 kHz et 140 Hz à 20 kHz. Même à une vitesse de rotation de 20 kHz, les couplages dipolaires résiduels contribuent à la largeur de raie en MAS. Néanmoins, la rotation à l'angle magique reste très efficace puisqu'elle permet de réduire la largeur de raie du polyéthylène de 3000 Hz en statique à 140 Hz en MAS à 20 kHz, ce qui représente un gain d'un facteur 21 en largeur de raie et donc en signal sur bruit. Dans le cas du polydiméthylsiloxane, le gain est encore plus important (facteur 55) car la largeur de raie à mi-hauteur décroît de 1500 Hz en conditions statiques à 27 Hz en MAS pour des fréquences supérieures à 5 kHz.

III.1.2 Images ^1H tridimensionnelles en MAS

Les performances de la méthode MAS-ZTE pour l'imagerie ^1H tridimensionnelle sont démontrées sur un fantôme composé de deux pièces de polymères différents : le polydiméthylsiloxane et le polyéthylène, séparés par un insert de polymère non protoné : le PTFE (Figure 63 : image du fantôme en haut à gauche). L'image présente une résolution isotrope et une taille de voxel de $47 * 47 * 47 \mu\text{m}^3$, et a été obtenue en 8 minutes et 38 secondes avec un gradient de $15,66 \text{ G.cm}^{-1}$. Compte tenu des largeurs de raie du polydiméthylsiloxane (27 Hz) et du polyéthylène (140 Hz), la résolution spatiale maximale pour une amplitude de gradient fixée est définie par :

$$\Delta x = \frac{\Delta \nu}{\gamma \cdot G}$$

Et qui correspond à la fonction de dispersion d'un point, due à la variation de l'intensité du signal pendant l'acquisition de l'espace réciproque de l'image (PSF_t). Pour une amplitude de gradient de $15,66 \text{ G.cm}^{-1}$, la résolution maximale est limitée à $4 \mu\text{m}$ pour le polydiméthylsiloxane et $21 \mu\text{m}$ pour le polyéthylène. Dans le cas présent, c'est le nombre de points acquis pendant l'application du gradient qui n'est pas suffisant pour atteindre cette résolution. C'est donc la fonction de dispersion d'un point due à la taille de l'espace réciproque échantillonné ($\text{PSF}_{\Delta k}$) qui est dominante et limite la résolution.

Celle-ci est calculée par :

$$\Delta x = \frac{1}{\gamma \cdot G \cdot \delta}$$

Pour une durée de l'acquisition d'un rayon $\delta/2$ de 3,2 ms, cette fonction de dispersion conduit à une résolution isotrope de $47 \mu\text{m}^3$. La valeur Δx correspond à la taille du voxel sans complétion de zéros car $G = \frac{Swh}{\text{FoV} \cdot \gamma}$ et $\frac{1}{Swh} = dw$. On a donc :

$$\Delta x = \frac{1}{\gamma \cdot G \cdot \delta} = \frac{\text{FoV} \cdot \gamma}{\gamma \cdot \delta \cdot swh} = \frac{\text{FoV}}{\frac{\delta}{dw}} = \frac{\text{FoV}}{\text{nb point acquis sur un diamètre}}$$

La taille du voxel est ici égale à la résolution spatiale, mais cette taille peut être diminuée arbitrairement par complétion de zéros sans pour autant affecter la résolution nominale de l'image.

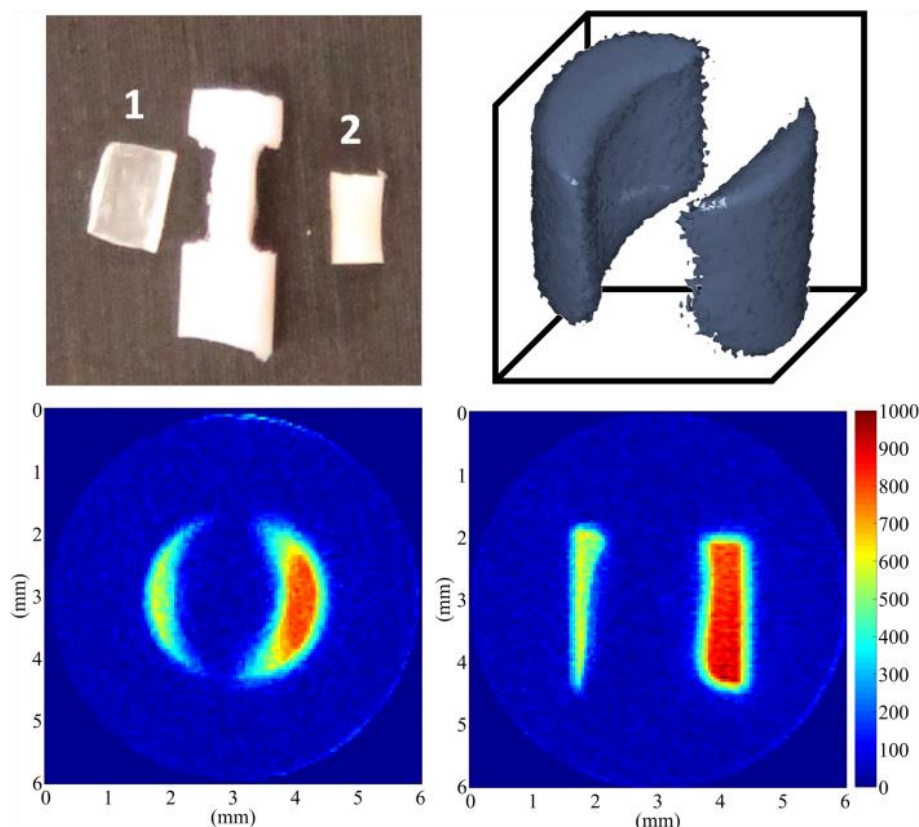


Figure 63 : En haut à gauche: photographie du fantôme composé de deux polymères: à droite le polydiméthylsiloxane et à gauche le polyéthylène, séparés par un support en PTFE. En haut à droite: représentation en isosurface de l'image 3D. L'image a été acquise en 8 min et 39 secondes avec 51897 projections permettant de reconstruire une matrice cubique de $128 \times 128 \times 128$ points correspondant à un champ de vision de $6 \times 6 \times 6$ mm et conduisant à une résolution spatiale isotrope de $47 \times 47 \times 47 \mu\text{m}^3$. Le temps de répétition est de 10 ms correspondant à un angle d'impulsion satisfaisant la condition de Ernst de 7° . La fréquence MAS est de 20 kHz, l'élargissement sous gradient est de 40 000 Hz pour ce champ de vue (FoV). En bas à gauche: un plan de l'image 3D perpendiculaire à l'axe MAS. En bas à droite: un plan de l'image 3D parallèle à l'axe MAS. L'épaisseur du plan correspond à 1 pixel et donc à $47 \mu\text{m}$.

Cette image tridimensionnelle acquise en moins de 9 minutes avec une résolution de isotrope de $47 \mu\text{m}$, montre bien le potentiel de la combinaison du ZTE et de la rotation à l'angle magique pour la micro-imagerie rapide ^1H des polymères.

III.1.3 Imagerie sélective en déplacement chimique

Le second avantage de la combinaison de la rotation à l'angle magique avec l'imagerie est la possibilité d'utiliser le spectre RMN haute résolution comme source de contraste par sélection spectrale. Le spectre MAS à une fréquence rotation de 20 kHz et à 17,6 T (Figure 64) montre parfaitement la séparation entre les résonances RMN des deux polymères. Chaque résonance peut être sélectionnée et imagée sélectivement par inversion soustraction en utilisant la séquence « Sélective_MAS-ZTE ». Les spectres obtenus par la même technique d'inversion soustraction sont présentés en Figure 64.

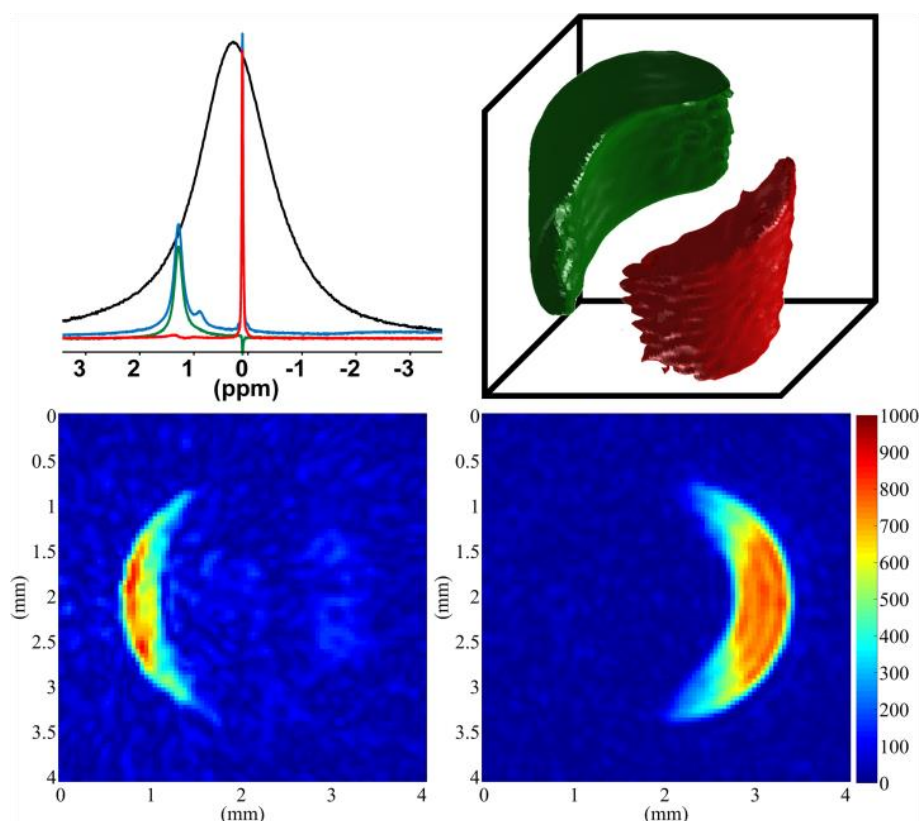


Figure 64 : En haut à gauche : noir : spectre statique du fantôme constitué des deux polymères. Bleu : spectre MAS à 20 kHz. Vert : résonance sélectionnée du polyéthylène avec la séquence de soustraction d'inversion. L'impulsion sélective est une impulsion d'inversion I-Snob d'une durée de 6,2 ms correspondant à une bande passante d'inversion de 250 Hz. Rouge : résonance sélectionnée du polydiméthylsiloxane avec la même impulsion d'inversion. En haut à droite : superposition des deux images 3D, l'image rouge est obtenue avec le spectre rouge et ne montre que le polydiméthylsiloxane. L'image verte est obtenue avec le spectre vert et montre l'image du polyéthylène uniquement. Chaque image a été acquise en 43 min et 26 secondes avec 13031 projections permettant de reconstruire une matrice cubique de $64 \times 64 \times 64$ points correspondant à un champ de vision de $6 \times 6 \times 6$ mm et conduisant à une résolution spatiale isotrope de $94 \times 94 \times 94 \mu\text{m}^3$. Le temps de répétition est de 50 ms et l'angle d'impulsion d'excitation est de 90° . La fréquence de rotation MAS est de 20 kHz, la puissance de gradient induit un élargissement de 40 000 Hz pour un tel FoV. En bas à gauche : tranche perpendiculaire à l'axe MAS de l'image 3D obtenue avec le spectre rouge (polydiméthylsiloxane). En bas à droite : tranche perpendiculaire à l'axe MAS de l'image 3D obtenue avec le spectre vert (polyéthylène).

Il faut noter que la sélection d'un environnement chimique spécifique à l'aide d'impulsions sélectives nécessite une bonne résolution spectrale en champ homogène. Dans le cas de ^1H , les élargissements des raies de résonance résultent principalement des interactions dipolaires homonucléaires (indépendantes de B_0) et l'utilisation d'un très haut champ magnétique permet d'accroître la résolution spectrale et donc la précision de la sélection spectrale. Parallèlement, l'extension de la gamme de déplacement chimique isotrope (exprimée en Hz) à très haut champ peut aussi réduire le caractère homogène des élargissements dipolaires et augmenter l'efficacité du MAS.

En conclusion, cette approche combinant la MAS, les très hauts champs magnétiques et la séquence ZTE, a permis d'obtenir efficacement des images ^1H de polymères avec un fort contraste chimique. Pour des systèmes présentant un réseau de couplages dipolaires ^1H beaucoup plus forts, cette approche pourrait cependant présenter des limitations associées à l'utilisation de fréquences de rotation plus élevées et incompatibles avec la fréquence

maximale de modulation des gradients. Dans ce cas, la combinaison de la rotation à l'angle magique avec des impulsions de découplage homonucléaire pourrait être une alternative.^{23,24} Néanmoins, cette méthode montre clairement un fort potentiel pour étudier la microstructure de nombreux matériaux polymères composites ce qui peut avoir des applications dans l'étude des mélanges²⁵ ou des interactions solvants polymères.

Ces images tridimensionnelles, présentant un contraste chimique avec une résolution de 94 μm isotrope acquise en 43 minutes chacune, auraient difficilement pu être acquises avec d'autres méthodes d'imagerie.

III.2. BANDES DE ROTATIONS

III.2.1 Bandes de rotation en imagerie MAS

La taille, la fragilité de l'échantillon ou la sonde MAS peuvent limiter la fréquence de rotation à l'angle magique. Lorsque cette fréquence de rotation est plus faible que les élargissements dus aux interactions anisotropes, le spectre MAS présente des bandes de rotations. Ces bandes de rotation peuvent souvent être manipulées ou éliminées en utilisant différentes séquences multi-impulsions (TOSS²⁶, PASS^{27,28}, Q-PASS²⁹...) afin d'obtenir un spectre correspondant à une vitesse de rotation infinie et contenant uniquement des raies isotropes.

Cependant, en imagerie en rotation à l'angle magique, un second type de bandes de rotation provenant des imperfections expérimentales du système de gradient MAS peut apparaître sur les images IRM en MAS. Celles-ci seront nommées bandes de rotation extrinsèques, car elles ne proviennent pas des interactions intrinsèques au système de spin considéré.

Quatre principales sources potentielles d'imperfections et les bandes de rotation correspondantes ont été décrites par Cory et Veeman³⁰. Ces imperfections sont : (1) des intensités de gradients non équivalentes suivant les axes du repère du laboratoire, (2) un défaut d'orthogonalité des axes des gradients du laboratoire, (3) un écart entre le centre magnétique des gradients et l'axe MAS, et (4) une différence entre la fréquence de rotation de l'échantillon et celle des gradients tournants. Avec les systèmes de gradients de champ pulsés actuels, les intensités des gradients suivant les trois axes peuvent être étalonnées séparément. L'étalonnage des gradients du laboratoire de telle sorte que leurs projections selon l'axe MAS soient équivalentes permet de s'affranchir des imperfections (1) et (2).

III.2.2 Méthode de calibration des gradients

Cette calibration peut être effectuée de manière grossière en cherchant la combinaison des trois gradients qui maximise la longueur de la projection d'un objet cylindrique le long de l'axe MAS ou qui minimise la largeur de la projection dans la direction perpendiculaire à celui-ci.³¹ Une seconde méthode, développée au laboratoire, consiste à chercher à équilibrer deux à deux les intensités des gradients du laboratoire dans une direction perpendiculaire à l'axe MAS sur un objet tournant.

Le gradient appliqué suivant l'axe MAS est une combinaison linéaire des trois gradients du laboratoire. Sa direction peut donc être définie par un vecteur $\vec{G}_{MAS} = G_x \cdot \vec{X}_{lab} + G_y \cdot \vec{Y}_{lab} + G_z \cdot \vec{Z}_{lab}$ avec des intensités théoriquement identiques pour les trois axes du laboratoire ($G_x = G_y = G_z$). Une direction perpendiculaire à l'axe MAS définie telle que $\vec{G}_\perp = G'_x \cdot \vec{X}_{lab} + G'_y \cdot \vec{Y}_{lab} + G'_z \cdot \vec{Z}_{lab}$ est caractérisée par un produit scalaire $\vec{G}_{MAS} \cdot \vec{G}_\perp = 0$. En pratique, on choisit deux vecteurs orthogonaux à $\vec{G}_{MAS}$ tels que ($G'_x = -G_x, G'_y = 0, G'_z = G_z = G_x$) et ($G'_x = 0, G'_y = G_y, G'_z = G_z = G_y$) afin de définir un plan, et *in fine* la direction normale à ce plan. L'application d'un gradient non modulé orthogonal à l'axe MAS produit un profil de l'objet sous forme d'un peigne de bandes de rotation (créé par une série « d'échos de gradient rotationnels »). La largeur de chaque bande de rotation correspond strictement au spectre du matériau en champ homogène. Cependant, si la direction obtenue par la combinaison des gradients n'est pas parfaitement orthogonale à l'axe MAS, un gradient de champ non modulé (suivant l'axe MAS) vient s'ajouter et conduit à un élargissement des bandes de rotation. Minimiser la largeur et donc maximiser la hauteur de ces bandes de rotation en variant expérimentalement une des valeurs de gradient permet d'orienter très précisément les gradients suivant les directions orthogonales à l'axe MAS et de s'affranchir des imperfections (1) et (2). Sur le système de micro-imagerie *Micro 2.5* utilisé, les valeurs des gradients diffèrent de 1 à 2 % des valeurs théoriques.

III.2.3 Imperfections résiduelles

D'après les travaux de Cory et Veeman,³⁰ des intensités de gradients du laboratoire non équivalentes induisent des bandes de rotation aux multiples du double de la fréquence de rotation. Cet effet ne semble donc pas être à l'origine des bandes de rotations observées au premier ordre des multiples de la période de rotation sur le profil présenté en Figure 65. Un défaut d'orthogonalité des gradients du laboratoire (qui devrait induire un déplacement du profil perpendiculaire à l'axe MAS du rotor) n'a pas été observé non plus pour le système d'imagerie utilisé.

De nos jours, la vitesse de rotation de l'échantillon est mesurée relativement précisément, même si la mesure ne correspond pas à la fréquence instantanée mais à une moyenne temporelle. L'imperfection (4) devrait donc être assez réduite. De plus, cette imperfection devrait altérer la formation d'une image par les séquences d'écho de spin et les flouter dans le cas des séquences de pur encodage fréquentiel radial. Cela n'a pas été observé dans ce

travail, et l'imagerie MAS semble relativement robuste face aux petites variations de la vitesse de rotation.

De fait, seul un décalage entre le centre du gradient et l'axe MAS : l'imperfection (3) reste à considérer. Cette erreur induit des bandes de rotation de phase opposée à chaque multiple de fréquence de rotation. Ce qui est en accord avec la forme des bandes de rotation observée par une séquence d'écho de spin synchronisé avec la rotation (ou les bandes de rotation devraient normalement être en phase dans le cas d'un matériau présentant une distribution d'orientations aléatoire).

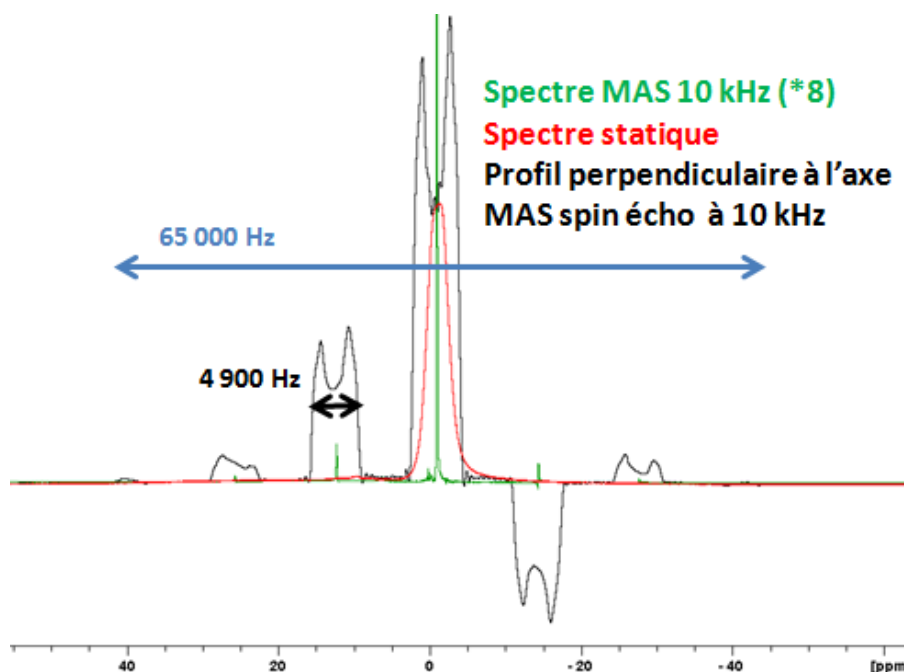


Figure 65 : rouge : spectre statique d'un cylindre de polydiméthylsiloxane. Vert : spectre MAS à 10 kHz, normalisé puis multiplié par 8 pour voir l'intensité des bandes de rotations. Noir : profil obtenu dans une direction perpendiculaire à l'axe MAS.

Malgré l'observation de bandes de rotation caractéristiques de cette imperfection, le décalage entre le centre de gradient et l'axe MAS n'a pas pu être clairement mesuré comme montré en Figure 66. Cependant, cette mesure a été effectuée en condition statique et la position du rotor peut être légèrement modifiée lors de la rotation. De plus, cette mesure ne permet pas une excellente précision sur la position du centre des gradients par rapport à l'axe MAS.



Figure 66 : Image 3D d'un rotor statique rempli d'eau positionné selon l'axe MAS, avec une rotation des gradients permettant d'aligner l'axe MAS avec la dimension verticale de l'image. Une sélection de tranche sans décalage de fréquence a été effectuée dans chacune des directions du repère des gradients. Les trois tranches se croisent au centre du rotor ce qui est caractéristique d'un bon alignement entre les gradients et l'axe MAS, au moins en condition statique.

Dans le cas présenté en Figure 65, les bandes de rotation induites par les gradients dépassent largement l'intensité et la gamme spectrale des bandes de rotation intrinsèques observées en champ homogène pour l'échantillon de polydiméthylsiloxane. De plus, ces bandes de rotation ne peuvent pas être supprimées à l'aide des séquences classiques TOSS ou PASS.

La présence de bandes de rotation parfois intenses n'empêche pas l'obtention d'images issues de la résonance isotrope mais impose des contraintes sur l'amplitude du gradient. En effet, ces bandes de rotations induisent la formation d'images satellites centrées à des multiples de la fréquence de rotation MAS. Limiter la valeur du gradient et donc l'élargissement de l'objet à une valeur inférieure à la fréquence de rotation permet d'éviter la superposition de l'image créée par la résonance centrale de celles créées par les bandes de rotations. L'intensité maximale au gradient satisfaisant cette condition est calculée par:

$$G_{\max} = \frac{\nu_{MAS}}{\gamma \cdot \Delta_{size}}$$

Où ν_{MAS} est la fréquence de rotation MAS, γ est le rapport gyromagnétique du noyau et Δ_{size} est la taille maximale de l'objet imagé. Cette limitation de l'intensité du gradient va cependant limiter la résolution maximale atteinte en encodage fréquentiel.

III.2.4 Bandes de rotation et encodage radial

L'application de la séquence ZTE d'encodage fréquentiel pur peut être limitée par l'existence de bande de rotations. Toutes les images ZTE présentées dans ce manuscrit ont été acquises avec des valeurs de gradient suffisamment faibles pour ne pas observer de recouvrement entre l'image centrale (issue du spectre isotrope) et les images satellites (issues des bandes de rotation). L'image d'un cylindre de polydiméthylsiloxane à très bas niveau d'isosurface présenté en Figure 67 montre bien que les bandes de rotation extrinsèques sont créées par les gradients modulés en amplitude et qu'elles ne sont donc présentes que dans les directions perpendiculaires à l'axe MAS. La taille maximale de l'objet Δ_{size} à considérer pour fixer la valeur maximale de gradient est donc le diamètre interne du rotor (ici 2,6 mm).

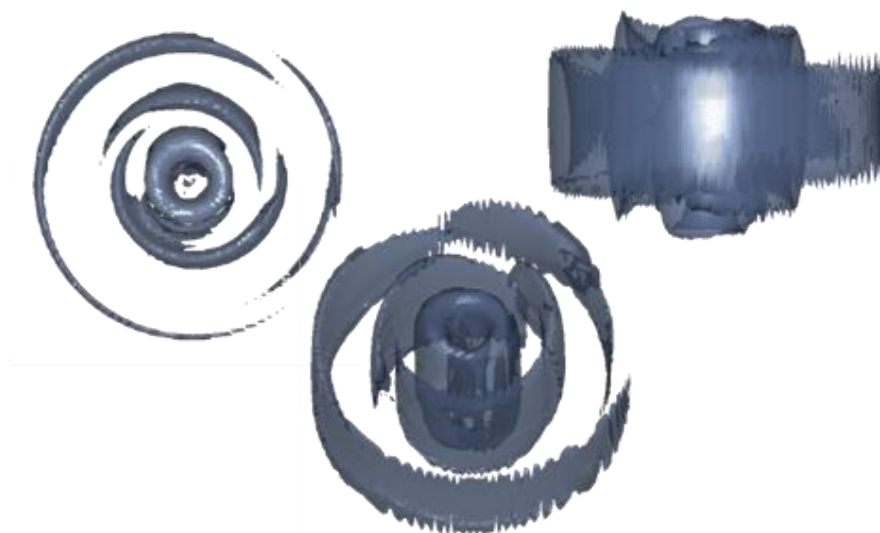


Figure 67 : image ZTE d'un cylindre de polydiméthylsiloxane à très bas niveau d'isosurface.

Il est aussi intéressant de noter que les images des bandes de rotation ne forment pas un cercle autour de l'image de la raie isotrope, mais sont arrangées en forme de pétale de rose. Cette forme peut provenir d'un changement de phase ou d'intensité des bandes de rotation extrinsèques probablement attribuable à un décalage du centre magnétique des gradients et de l'axe MAS différent en fonction de la direction encodée.

Malgré cette limitation, il est intéressant d'utiliser des méthodes d'encodage fréquentiel radial, car elles conduisent à une diminution de l'intensité des images satellites. En effet, l'image de la résonance centrale est formée au centre du champ de vue, alors que les images satellites sont étalées sur un cercle en dehors de l'image centrale et donc sur une plus grande surface. Cet étalement des images formées par les bandes de rotation entraîne une diminution de leurs intensités due à l'opération de maillage des rayons de l'espace-k avant transformation de Fourier. L'intensité des bandes de rotation est inversement proportionnelle à la distance de l'image centrale à laquelle elle se forme (cf. Figure 68) à partir du moment où l'image centrale et l'image satellite ne se recouvre plus.

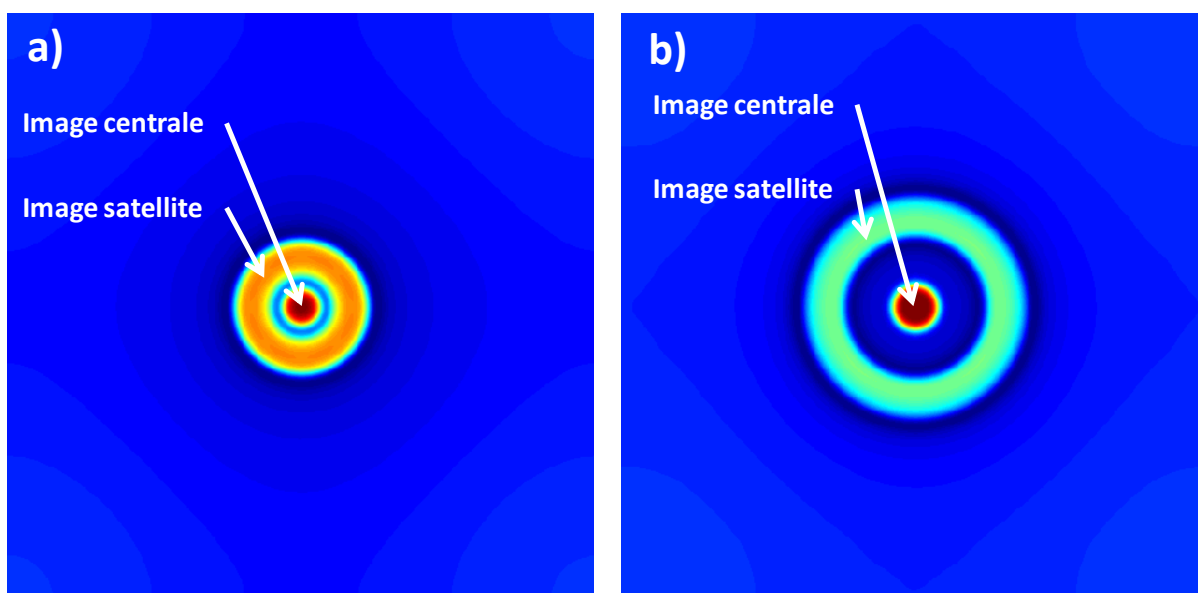


Figure 68 : Image simulées produite par la convolution d'un objet cylindrique et d'un spectre présentant une résonance centrale et deux bandes de rotation symétriques de mêmes intensités et de mêmes formes (gaussiennes). L'image (a) est simulée pour un éloignement des bandes de rotation permettant tout juste le non recouvrement de l'image centrale et de l'image satellite. L'image (b) est simulée pour un éloignement double. L'intensité maximale de l'objet central est de 100 et l'intensité maximale de l'image satellite est de 70 sur l'image (a) et 39 sur l'image (b).

III.2.5 Sélection de tranche sous gradients tournants

La présence de ces bandes de rotation extrinsèques induit qu'un point de l'objet ne subit pas une intensité de champ magnétique constante au cours de la rotation. Dans ces conditions, il paraît donc difficile d'effectuer une sélection de tranche avec une impulsion sélective pendant l'application d'un gradient tournant perpendiculaire à l'axe MAS. En pratique, et comme présenté en Figure 69, cette sélection de tranche reste possible et la même tranche est sélectionnée sur l'image centrale et sur les images satellites.

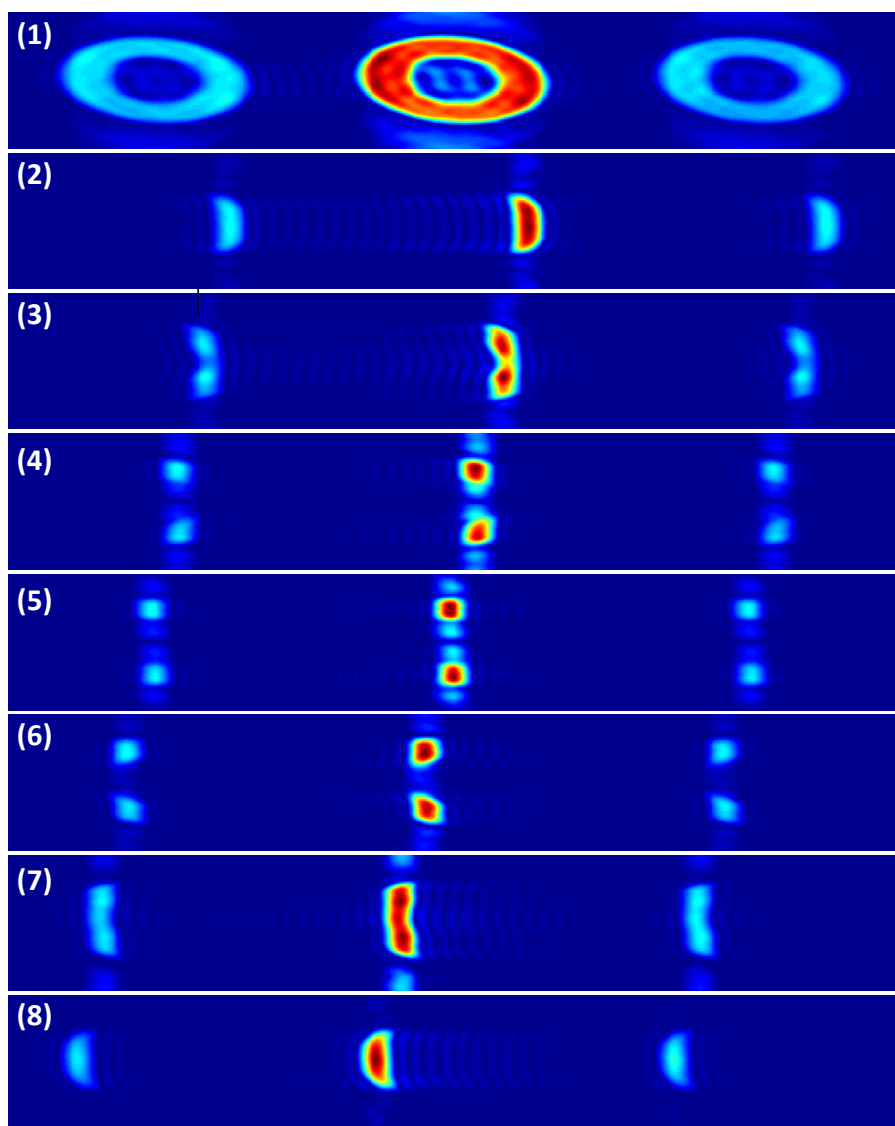


Figure 69 : images 2D perpendiculaires à l'axe MAS enregistrées par écho de spin d'un cylindre de polydimethylsiloxane sans (1) et avec (2-8) sélection de tranche parallèle à l'axe MAS par l'impulsion de refocalisation de la séquence d'écho de spin. L'impulsion sélective utilisée est de type R-Snob et d'une durée de 3 ms (30 périodes de rotation à 10 kHz) pour une bande passante de 780 Hz. Ici, la sélection de tranche est effectuée dans la dimension qui ensuite obtenue par encodage fréquentiel.

Cette constatation ouvre la possibilité d'effectuer de la sélection de tranches ou de voxels en trois dimensions, et ce malgré la présence d'imperfections des gradients modulés.

III.2.6 Résolution limite pour le fantôme polymère

En MAS à une fréquence de rotation de 20 kHz, les bandes de rotation intrinsèques du polydimethylsiloxane (cf. Figure 62) sont de très faible intensité. Cependant, les bandes de rotations extrinsèques créées par les imperfections expérimentales limitent l'utilisation de gradients forts. Comme ces bandes de rotations apparaissent uniquement dans les directions orthogonales à l'axe MAS, le diamètre intérieur du rotor est considéré comme la taille maximale de l'objet pour le calcul de la limitation de l'intensité du gradient d'encodage fréquentiel. Pour cette taille d'échantillon et à cette fréquence de rotation, l'amplitude

maximale du gradient doit être limitée à $15,66 \text{ G.cm}^{-1}$ pour éviter une superposition de l'image ^1H centrale avec les images satellites. La résolution maximale qui peut être atteinte en encodage fréquentiel avec cette intensité de gradient est donc limitée à $4 \text{ }\mu\text{m}$ pour le polydiméthylsiloxane et à $21 \text{ }\mu\text{m}$ pour le polyéthylène compte tenu des largeurs de raie respectives de 27 et 140 Hz en MAS à 20 kHz.

Cependant, il est difficile d'atteindre cette résolution maximale pour des raisons de sensibilité et donc de temps d'expérience. En effet, si une image 3D avec une résolution isotrope de $47 \text{ }\mu\text{m}$ et un rapport signal sur bruit satisfaisant peut être acquise en 9 minutes (une acquisition par rayon avec un angle d'impulsion de 7° et un temps de répétitions de 10 ms, cf. Figure 63), le temps d'acquisition d'une image tridimensionnelle avec une résolution isotrope inférieure peut devenir prohibitif. Cette durée d'expérience peut être estimée à partir de la formule de Mansfield et Morris³² qui montre que le temps d'acquisition évolue en $\left(\frac{1}{\Delta x}\right)^6$, compte tenu de la réduction de la quantité de spins par voxel.

$$t = \left(\frac{\rho_0}{\sigma_f}\right)^2 a^2 \left(\frac{T_1}{T_2}\right) \frac{2,8 \times 10^{-15}}{f^{7/2}} \left(\frac{1}{\Delta x}\right)^6$$

Avec $\left(\frac{\rho_0}{\sigma_f}\right)$ le rapport signal sur bruit désiré (pour le ^1H dans la formule originelle), a le rayon de la bobine de détection et f la fréquence de Larmor du noyau observé.

Pour une résolution de $21 \text{ }\mu\text{m}$ isotrope, ce qui correspond à la résolution limite en encodage fréquentiel pour le polyéthylène en rotation à l'angle magique à 20 kHz avec un gradient de $15,66 \text{ G.cm}^{-1}$, ce temps d'acquisition est estimé à 19 heures.

La fiabilité de l'évolution du temps d'acquisition en fonction de la résolution en $\left(\frac{1}{\Delta x}\right)^6$ a été vérifiée par l'acquisition d'une image tridimensionnelle de résolution isotrope de $30 \text{ }\mu\text{m}$ et de même rapport signal sur bruit que l'image de résolution isotrope de $47 \text{ }\mu\text{m}$. Le temps d'acquisition théorique est de 2 heures et 12 minutes et l'image a été obtenue en 2 heures et 6 minutes. L'accord entre la formule théorique et le temps d'acquisition en ZTE est excellent, et l'évolution du temps d'expérience à rapport signal sur bruit équivalent est bien fonction de $\left(\frac{1}{\Delta x}\right)^6$.

La valeur maximale de gradient due à l'existence de bandes de rotation n'est pas limitante pour les polymères en termes de résolution spatiale, c'est la sensibilité intrinsèque qui nécessite des temps d'acquisition extrêmement longs pour atteindre la résolution spatiale maximale.

C'est aussi la sensibilité qui limite la résolution spatiale des images enregistrées en condition statique pour cet échantillon. En effet, la résonance statique ^1H du polydiméthylsiloxane présente une largeur à mi-hauteur de 1500 Hz qui permet d'atteindre une résolution de $23,5 \text{ }\mu\text{m}$ avec un gradient de 150 G.cm^{-1} en encodage fréquentiel. La largeur à mi-hauteur de

la résonance statique du polyéthylène est de 3 kHz ce qui permet d'obtenir une résolution de 47 μm . Une telle résolution peut donc être atteinte !

En revanche, si le temps d'acquisition d'une image de résolution de 30 μm est de 2 heures en MAS, le fort élargissement d'un facteur 21 à 55 des résonances en condition statique induit un temps d'acquisition multiplié par 440 à 3000 pour obtenir le même rapport signal sur bruit. L'utilisation de la MAS peut donc permettre d'atteindre une meilleure résolution en micro-imagerie ZTE en raison du gain en rapport signal sur bruit. De plus, le gain en résolution spectrale en MAS rend possible l'imagerie de déplacement chimique haute résolution.

III.3. IMAGERIE DES NOYAUX QUADRIPOAIRES ^{27}Al ET ^{51}V

Les noyaux de spin $> \frac{1}{2}$, qui possèdent un moment quadripolaire électrique, représentent la majorité des noyaux observables en RMN. Certains d'entre eux possèdent une abondance naturelle et un rapport gyromagnétique suffisamment élevé (^7Li , ^{11}B , ^{23}Na , ^{27}Al ...) pour être candidats à l'imagerie par résonance magnétique ($^7\text{Li}^{33}$, $^{11}\text{B}^{34}$, $^{23}\text{Na}^{35}$). Ces noyaux sont cependant affectés par l'interaction quadripolaire (interaction entre le moment quadripolaire électrique (eQ) et le gradient de champ électrique local) qui peut conduire à des élargissements de raie très forts (de plusieurs kHz au MHz) et induire des temps de relaxation transversaux (T_2) très courts. Pour les noyaux quadripolaires avec un spin demi-entier, la transition centrale n'est pas affectée par l'interaction quadripolaire au premier ordre et est donc moins élargie que les transitions externes. C'est donc la transition centrale qui est généralement observée en spectroscopie RMN et qui est utilisée pour obtenir des images de résonance magnétique des noyaux quadripolaires³⁶. Il est possible d'exciter sélectivement cette transition en utilisant un champ radiofréquence très inférieur à la fréquence quadripolaire.^{37,38}

Dans la suite de ce chapitre, nous avons exploré l'application de la séquence ZTE MAS à l'imagerie des noyaux quadripolaires, notamment dans le cas de ^{27}Al et de ^{51}V . Dans ce cadre, nous avons utilisé un fantôme composé d'un cylindre massif d'alumine ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$) percé de quatre trous cylindriques parallèles à l'axe MAS remplis de poudre d'oxyde de vanadium (V_2O_5).

III.3.1 Imagerie ZTE MAS de ^{27}Al

La Figure 70.e présente respectivement les spectres ^{27}Al statique et MAS du fantôme alumine/oxyde de vanadium enregistré à 17,6 T. Dans la structure de $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$, l'aluminium occupe un site cristallographique unique de coordinance octaédrique. Ce site est très symétrique et la constante de couplage quadripolaire de ^{27}Al est relativement faible ($C_Q = 2,3$ MHz)³⁹. À 17,6 T, la largeur de raie en condition statique est de 7 kHz et est principalement due aux élargissements de second ordre quadripolaire (diminués par l'utilisation d'un très haut champ magnétique) et aux couplages dipolaires homonucléaires. La résolution maximale accessible par encodage fréquentiel avec une telle largeur de raie et un gradient de 150 G.cm^{-1} est de $420 \mu\text{m}$. En MAS à 10 kHz, la largeur de raie de la résonance ^{27}Al est réduite à 800 Hz et la transition centrale ^{27}Al ne présente pas de bandes de rotation sur le spectre MAS. Les bandes de rotations de faibles intensités (moins de 7 % du signal total pour les bandes avec $n = \pm 1$) qui sont observées sur le spectre MAS sont associées aux transitions externes. Ces bandes de rotation intrinsèques de faible intensité ne participent que très peu à l'intensité des images satellites, et celles-ci sont principalement attribuables aux bandes de rotation extrinsèques. En effet, les images satellites apparaissent uniquement dans les directions orthogonales à l'axe MAS et présentent un arrangement en pétale de rose autour de l'image centrale. En limitant le gradient de façon à éviter le recouvrement de l'image

centrale et des images satellites, la résolution maximale en ^{27}Al pour cet échantillon est de $240\text{ }\mu\text{m}$ (Figure 70.c).

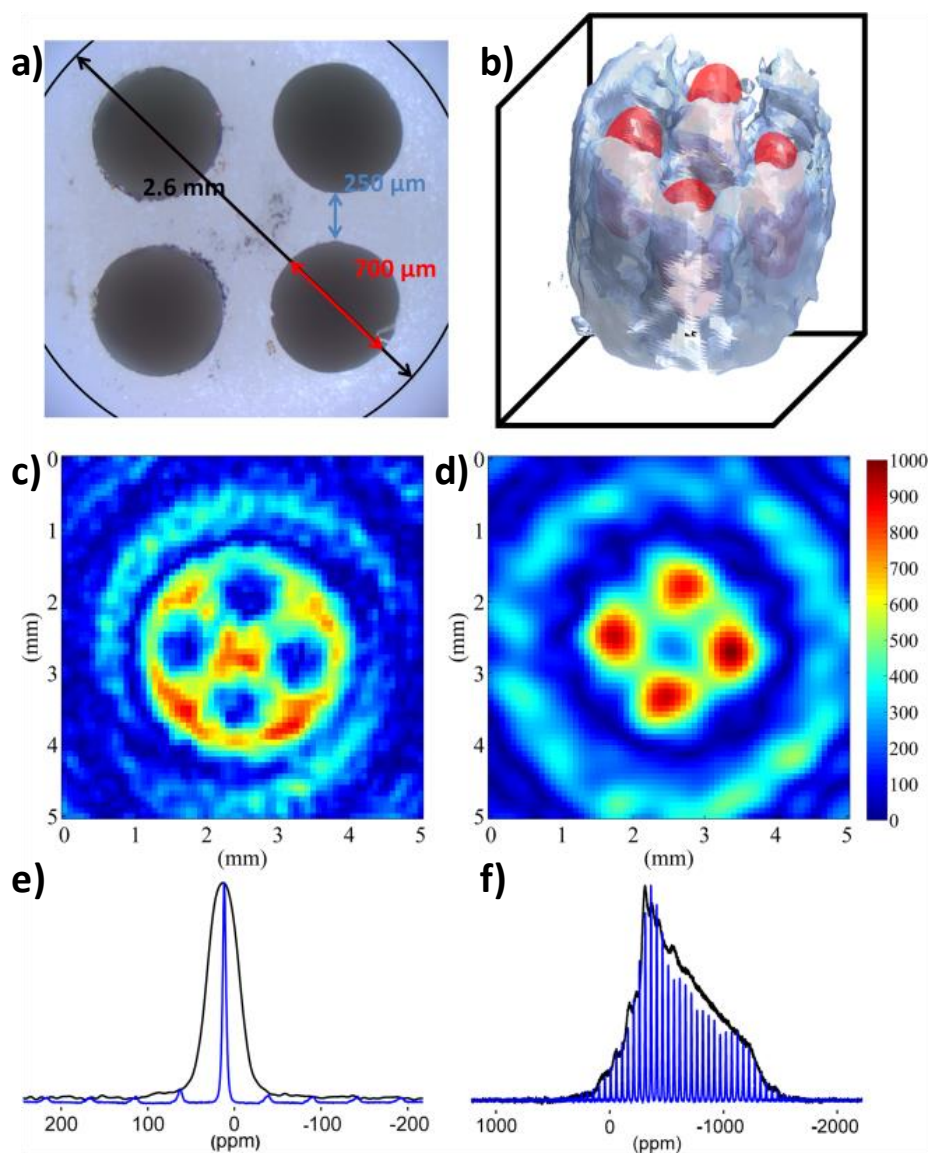


Figure 70 : a) photographie du fantôme d'alumine (Al_2O_3) avec quatre trous cylindriques parallèles à l'axe MAS, ceux-ci ont ensuite été remplis d'oxyde de vanadium (V_2O_5). Le cercle noir marque les bords intérieurs du rotor. b) isosurface 3D de l'image ^{27}Al en bleu superposée à l'image ^{51}V en rouge. c) une tranche de l'image 3D ^{27}Al perpendiculaire à l'axe MAS. L'image a été acquise en 1 heure 43 min avec 4 répétitions de 15513 projections permettant de reconstruire une matrice cubique de $70 \times 70 \times 70$ points correspondant à un champ de vue de $10 \times 10 \times 20\text{ mm}$. L'image a été complétée de zéros 4 fois induisant une taille de pixel de $36 \times 36 \times 72\text{ }\mu\text{m}$. La résolution est de $267\text{ }\mu\text{m}$ dans la dimension perpendiculaire à l'axe MAS et de $533\text{ }\mu\text{m}$ le long de l'axe MAS. Le délai de répétition est de 100 ms correspondant à un angle d'excitation de Ernst de 10° . La fréquence MAS est de 10 kHz. d) une tranche de l'image 3D ^{51}V perpendiculaire à l'axe MAS. L'image 3D a été acquise en 22 minutes avec 4 répétitions de 3311 projections permettant de reconstruire une matrice cubique de $32 \times 32 \times 32$ points correspondant à un champ de vision de $10 \times 10 \times 20\text{ mm}$. L'image a été complétée de zéros 5 fois induisant une taille de pixel de $39 \times 39 \times 78\text{ }\mu\text{m}$. La résolution est de $600\text{ }\mu\text{m}$ dans la dimension perpendiculaire à l'axe MAS et $1200\text{ }\mu\text{m}$ le long de l'axe MAS. Le temps de répétition est de 100 ms correspondant à un angle d'excitation de Ernst de 26° . La fréquence MAS est de 10 kHz. e-f) spectres statique (en noir) et MAS à 10 kHz (en bleu) ^{27}Al (e) et ^{51}V (f) du fantôme.

III.3.2 Résonance et résolution en ^{51}V

La Figure 70.f présente respectivement les spectres ^{51}V statique et MAS du fantôme alumine/oxyde de vanadium enregistré à 17,6 T. Dans la structure de l'oxyde de vanadium (V_2O_5), les atomes de vanadium occupent un seul site cristallographique et sont coordonnés à cinq atomes d'oxygènes formant une pyramide à base carrée. Cet environnement de relativement basse symétrie conduit à des interactions anisotropes importantes ($C_Q = 0.8$ MHz, $\delta_{\text{CSA}} = 630$ ppm)^{40,41}. Dans un champ de 17,6 T, la raie de résonance statique du ^{51}V , qui est dominée par l'anisotropie de déplacement chimique (CSA), s'étend sur plus de 220 kHz (Figure 70.f), ce qui rend l'encodage fréquentiel impossible avec les puissances de gradient actuelles. En MAS à 10 kHz, cette résonance éclate sous forme d'un peigne de bandes de rotation dont les largeurs de raie à mi-hauteur sont de 1800 Hz. Ces bandes de rotation pourraient être manipulées par des trains d'impulsion (PASS^{27,28}, QPASS²⁹) afin d'obtenir un spectre de vitesse infinie. Cependant, comme l'élargissement de la résonance statique résulte des effets combinés du CSA et de couplage quadripolaire, leur manipulation n'est pas triviale. En acquisition ZTE radiale, ces bandes de rotation induisent des images satellites (Figure 70.d) distribuées dans toutes les directions de l'espace. En limitant le gradient pour éviter la superposition entre l'image centrale et les satellites, la résolution maximale est de 540 μm dans le plan perpendiculaire à l'axe MAS. Malgré l'intensité comparable de la résonance induisant l'image centrale et des bandes de rotation induisant les images satellites de premier ordre, celle-ci apparaissent avec une plus faible intensité dans l'image.

Enfin, dans le cas d'un élargissement principalement attribuable à l'anisotropie de déplacement chimique (CSA), l'utilisation d'un très haut champ magnétique peut être discutable. En effet, l'élargissement dû au CSA sur les spectres statiques augmente proportionnellement à l'intensité du champ magnétique principal et cette augmentation nuance l'accroissement de la sensibilité avec B_0 . En MAS, l'augmentation du champ magnétique se traduit par une augmentation du nombre et de l'intensité des bandes de rotation ce qui nuance aussi le gain en sensibilité. Cependant, comme le CSA est une interaction inhomogène, son intensité n'a aucun effet sur la largeur de chaque bande de rotation et celle-ci est principalement attribuable aux effets quadripolaires de second ordre qui, eux, sont réduits par l'utilisation d'un champ magnétique très intense. En MAS à 10 kHz, c'est cette largeur de bande de rotation de 1800 Hz qui limite la résolution à 540 μm . Ainsi, l'utilisation d'un champ magnétique très intense peut permettre d'augmenter la résolution maximale atteignable en MAS ZTE en diminuant le couplage quadripolaire de second ordre qui élargit chaque bande de rotation du spectre MAS.

La résolution limite atteignable en MAS ZTE peut aussi être accrue en augmentant la fréquence de rotation et donc la valeur maximale de gradient d'encodage fréquentiel utilisable sans chevauchement de l'image centrale avec les images satellites. Ceci n'a pas été fait en raison des faibles rapports gyromagnétiques du ^{27}Al et du ^{51}V (respectivement de 1110,3 $\text{Hz}\cdot\text{G}^{-1}$ et de 1121,3 $\text{Hz}\cdot\text{G}^{-1}$) qui induisent l'utilisation de gradient forts.

Il est à noter qu'à une fréquence de 10 kHz, en raison du faible T_1 du vanadium et des courts temps de répétition utilisés, le gradient appliqué est déjà suffisant pour générer un fort échauffement par courants de Foucault du blindage de la sonde MAS.

Pour les deux images, c'est la valeur du gradient d'encodage fréquentiel qui limite la résolution. Dans le cas du vanadium dans V_2O_5 , en raison de la résolution très limitée par la largeur des bandes de rotation et du nombre important de celle-ci, il est probable qu'une image de résolution supérieure puisse être acquise en MAS SPI au prix d'un temps d'acquisition allongé.³⁶

La rotation à l'angle magique permet d'utiliser l'encodage fréquentiel pour imager des raies de résonances avec de forts élargissements inhomogènes (> à 100 kHz).

III.4. IMAGES ^{31}P DE TISSUS RIGIDES CALCIFIÉS BIOLOGIQUES

L'application de l'approche MAS ZTE pour l'imagerie 3D du phosphore 31 dans les tissus rigides est démontrée sur un morceau d'os de fémur de souris incluant la tête du fémur (orientée vers le haut de la photographie Figure 71).

III.4.1 Imagerie ^{31}P par excitation directe

Les atomes de phosphore de la partie inorganique des tissus osseux ont généralement des temps de relaxation longitudinaux longs : 130 secondes pour l'os de souris et 140 secondes pour la dent de souris à 17,6 T en MAS à 10 kHz. L'image obtenue par excitation directe ^{31}P (Figure 71.B) a été obtenue avec la séquence ZTE MAS en 46 heures, en enregistrant 2501 projections avec 132 accumulations pour chacune et un délai de répétition de 0,5 s correspondant à un angle d'excitation de Ernst de 5°. L'utilisation de l'angle de Ernst permet de diminuer la durée d'acquisition qui avec une impulsion de 90° et un délai de répétition optimal ($1.26 \times T_1$) et une seule acquisition aurait été de 114 heures. De plus, l'utilisation d'un faible angle d'impulsion permet d'exciter une large gamme spectrale même avec un faible champ radiofréquence. Enfin, cela permet aussi de bénéficier d'une légère augmentation de signal (9,8 % pour un angle de 5° par rapport à 90°).⁴²

La résolution de l'image 3D obtenue (définie par $\text{PSF}_{\Delta k}$) est de $286 \times 286 \times 286 \mu\text{m}^3$, la taille des pixels est de $62,5 \mu\text{m}$ isotrope après complétion de zéros. À une fréquence MAS de 10 kHz, l'amplitude maximale du gradient permettant d'éviter un chevauchement de l'image principale et des images satellites produites par de possibles bandes de rotation extrinsèques est de $21,76 \text{ G.cm}^{-1}$. Ceci induit une résolution isotrope maximale de $256 \mu\text{m}$ pour une résonance ^{31}P de largeur à mi-hauteur de 960 Hz. Pour une durée d'acquisition de 46 heures et avec un signal sur bruit d'environ 28, ce n'est pas l'amplitude du gradient qui limite la résolution mais le nombre de points acquis. Ce nombre de points aurait pu être augmenté au détriment du rapport signal sur bruit ou du temps d'acquisition.

Cette image ^{31}P tridimensionnelle d'un tissu osseux, acquise par excitation directe, présente la meilleure résolution spatiale jamais reportée dans la littérature.

III.4.2 Polarisation croisée (CP)

Un transfert de polarisation par Polarisation Croisée (CP) entre le ^1H et le ^{31}P permet de bénéficier du temps de relaxation longitudinal plus court des protons ($\approx 1\text{s}$) et de leur polarisation plus élevée. Cependant, compte tenu de la faible teneur en ^1H de la partie minérale de l'os et des relativement longues distances ^1H - ^{31}P , le transfert CP conduit à une diminution de l'intensité du signal observé par rapport à une excitation directe en une seule acquisition sur un système complètement relaxé. Un temps de contact CP de 1,5 ms donne une efficacité relative de 28 % par rapport à l'excitation directe 90° sur un système parfaitement relaxé pour le fémur de souris, et cette efficacité est encore globalement

diminuée (à 23,6 %) par l'emploi d'une rampe linéaire 80-120 permettant un transfert plus homogène dans l'espace. Pour un temps de contact plus long (12 ms), cette efficacité est encore légèrement diminuée à 22,6 % sans rampe, puis 13,6 % avec une rampe 80-120. Pour un temps d'expérience fixé, compte tenu du rapport des T_1 ^{31}P et ^1H , le transfert de polarisation par CP permet malgré tout un gain en SNR de 55 % dans le pire des cas (avec une efficacité de 13,6 %) par rapport à une excitation directe.

$$\frac{SNR_{CP}}{SNR_{excitation\ directe}} = \sqrt{\frac{T_{1^{31}P}}{T_{1^1H}} \cdot \text{efficacité}^2} = \sqrt{\frac{130}{1} \cdot 0.136^2} = 1,55$$

Deux images ont été enregistrées après deux temps de contact de 1,5 ms et 12 ms. Les paramètres d'acquisition sont identiques à ceux utilisés pour l'acquisition de l'image par excitation directe. Le SNR théorique de l'image enregistrée après un VACP avec une rampe 80-120, et un temps de contact de 12 ms est de 43,4. Ce résultat est cohérent avec le SNR observé de 43. La valeur de SNR après un CP avec un temps de contact de 1,5 ms est de 33, ce qui est inférieur à la valeur attendue, cela peut-être due aux instabilités expérimentales (accord de sonde...), ou à l'augmentation de la largeur de la résonance ^{31}P (les efficacités relatives de CP ont été calculées à partir de l'aire de la résonance).

La résonance ^{31}P obtenue après VACP avec un temps de contact de 12 ms présente une largeur à mi-hauteur de 840 Hz, qui est plus faible que celle obtenue par excitation directe (960 Hz). Comme pour l'image en excitation directe, c'est le nombre de points acquis qui limite la résolution et celle-ci est donc égale à celle de l'image obtenue par excitation directe ($286 * 286 * 286 \mu\text{m}^3$). La taille de voxel isotrope reste aussi identique et est de $62,5 \mu\text{m}$.

Dans le cas du VACP avec un temps de contact de 1,5 ms, à l'inverse, la résonance ^{31}P présente une largeur à mi-hauteur plus importante de 1310 Hz. Dans ce cas, c'est cette largeur de raie qui limite la résolution à $350 * 350 * 350 \mu\text{m}^3$. La résolution de l'image présentée en Figure 71D est donc un peu moins bonne que celles des images B et C.

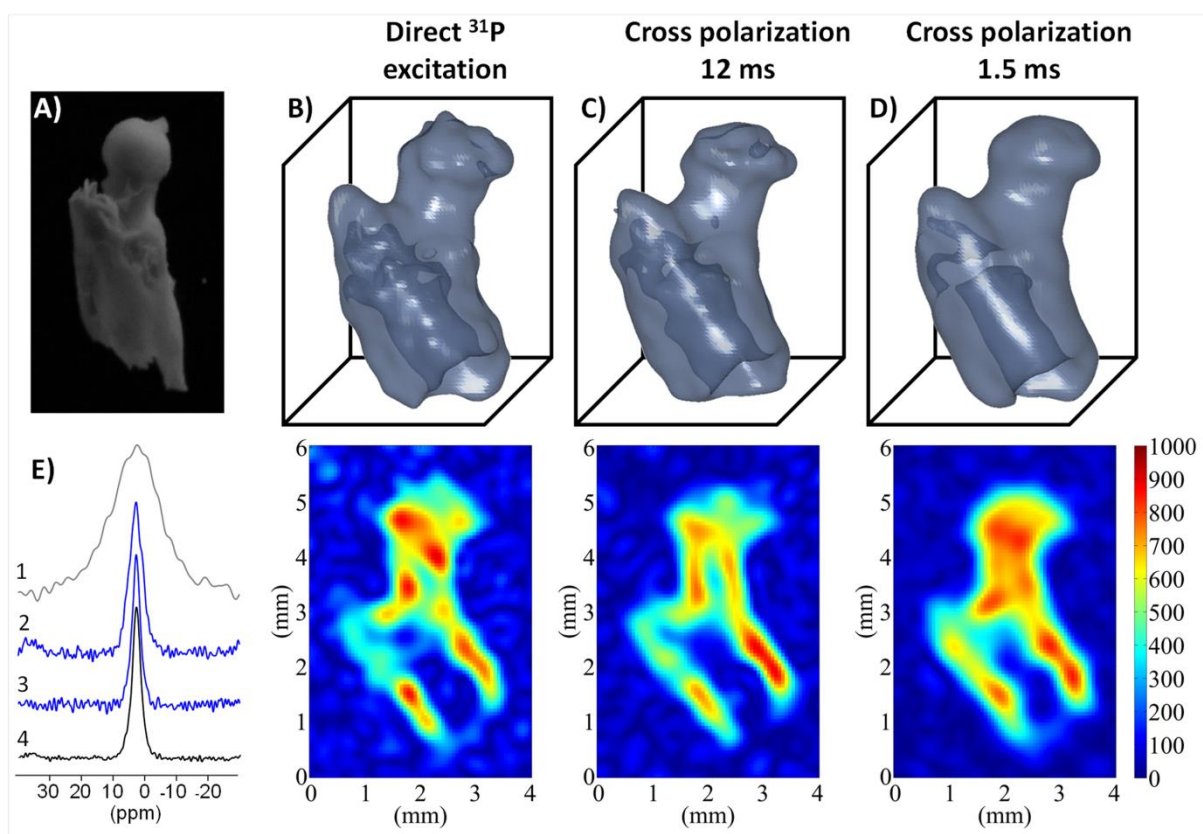


Figure 71 : A) photographie de l'os de fémur de souris montrant dans la partie supérieure la tête du fémur. B) représentation en isosurface 3D de l'image ^{31}P acquise en excitation directe avec la séquence MAS-ZTE. L'image a été acquise en 46 heures avec 132 accumulations de 2501 projections permettant de reconstruire une matrice cubique de $28 \times 28 \times 28$ points complété de zéros à $128 \times 128 \times 128$ points pour un champ de vue de $8 \times 8 \times 8$ mm. La résolution maximale induite par le nombre de points acquis est de $286 \times 286 \times 286 \mu\text{m}^3$, la taille des voxels est de $62,5 \mu\text{m}$ isotrope. La résolution limitée par le gradient (largeur de raie à mi-hauteur = 960 Hz) est de $256 \mu\text{m}$ isotrope. Le délai de répétition est de 500 ms correspondant à un angle d'excitation de Ernst de 5° . La fréquence de rotation MAS est de 10 kHz , ce qui permet d'utiliser un gradient de $21,76 \text{ G.cm}^{-1}$ correspondant à un élargissement de $30\,000 \text{ Hz}$ pour ce FoV. $\text{SNR} \approx 28$ C) Représentation en isosurface de l'image 3D ^{31}P acquise avec la séquence CPzMAS-ZTE. L'image a été acquise en 46 heures avec 132 accumulations de 2501 projections permettant de reconstruire une matrice cubique de $28 \times 28 \times 28$ points complété de zéros à $128 \times 128 \times 128$ points pour un champ de vue de $8 \times 8 \times 8$ mm. La résolution de l'acquisition est de $286 \times 286 \times 286 \mu\text{m}^3$, la taille des pixels est de $62,5 \mu\text{m}$ isotrope. La résolution limitée par le gradient (largeur de raie à mi-hauteur = 840 Hz) est de $224 \mu\text{m}$ isotrope. Le transfert de VACP a été obtenu avec un temps de contact de 12 ms et une puissance RF de 60 kHz en ^1H et 50 kHz en ^{31}P avec une rampe 80-120 et une fréquence MAS de 10 kHz . $\text{SNR} \approx 33$ D) représentation en isosurface de l'image 3D ^{31}P acquise avec la séquence CPzMAS-ZTE. L'image a été acquise dans les mêmes conditions que la précédente, exceptée pour le temps de contact du VACP qui a été réduit à $1,5 \text{ ms}$. Avec ce temps de contact, la résonance ^{31}P est plus large (largeur à mi-hauteur = 1310 Hz), ce qui limite la résolution à $350 \mu\text{m}$ dans toutes les directions. $\text{SNR} \approx 43$ E) Superposition des spectres ^{31}P à $17,6 \text{ T}$ (1) : en conditions statique, (2) : en MAS à 10 kHz par une séquence de VACP avec un temps de contact de $1,5 \text{ ms}$, (3) : en MAS à 10 kHz par une séquence de VACP avec un temps de contact de 12 ms et (4) : en MAS à 10 kHz par excitation directe ^{31}P de l'os du fémur de souris.

III.4.3 Interprétation du contraste CP

La variation de la largeur à mi-hauteur de la raie ^{31}P obtenue en fonction du temps de contact en CP ou en VACP révèle la présence de différents environnements chimiques du phosphore bénéficiant d'un transfert de polarisation plus ou moins efficace en fonction du temps de contact. Les expériences de corrélation hétéronucléaire $\{^1\text{H}\}\text{-}^{31}\text{P}$ HETCOR⁴³ effectuées pour cet échantillon montrent que les atomes d'hydrogène de l'eau adsorbée et des groupements OH^- de l'hydroxyapatite participent tous les deux au transfert CP pour des temps de contact courts (1,5 ms, Figure 72.a). Pour des temps de contact longs (12 ms, Figure 72.b), le signal ^1H de l'eau adsorbée a déphasé et seuls les protons des ions hydroxyles participent au transfert.

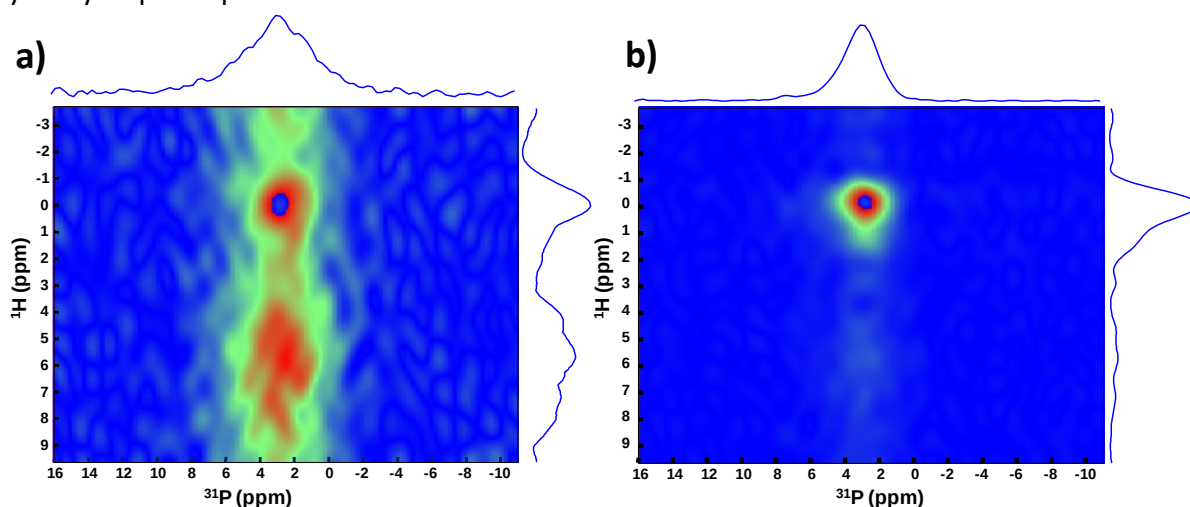


Figure 72 : Spectres HETCOR (HETero-nuclear CORrelation spectroscopy) du fémur de souris à 17,6 T, en MAS à 10 kHz avec a) un temps de contact de VACP de 1,5 ms b) un temps de contact de VACP de 12 ms

Un temps de contact court va donc favoriser le signal provenant des atomes de phosphore proches de l'eau adsorbée, qui sont particulièrement présents dans la couche de surface des cristaux nanométriques d'hydroxyapatite, alors qu'un temps de contact long favorise le signal provenant du cœur ordonné des nanoparticules. Cela explique notamment la différence de largeur de raie ^{31}P après CP : à temps de contact court, les environnements désordonnés sont favorisés et la raie ^{31}P est plus large, à temps de contact long c'est l'inverse. Si l'on suppose que toutes les nanoparticules sont de formes similaires et que la couche de surface désordonnée est d'épaisseur équivalente pour toutes les tailles de cristaux, l'augmentation du signal ^{31}P de cœur ou de surface induit un contraste fonction de des volumes relatifs du cœur et de la surface des nanoparticules d'hydroxyapatite et donc de la taille des nanoparticules.

Les images enregistrées à ces deux temps de contact permettent de différencier les zones composées de gros cristaux d'hydroxyapatite (dont le signal est augmenté à long temps de contact), des zones composées de petits cristaux (dont le signal est intense à temps de contact court). L'image de la Figure 71c semble montrer que ces gros cristaux sont plus présents dans les zones dures de l'os cortical particulièrement dans les parois menant à la rotule. *A contrario*, la Figure 71d suggère que les petits cristaux sont plus présents dans l'os trabéculaire au centre de l'os et dans la partie supérieure de la rotule.

III.4.4 Limitations

Les temps d'acquisition des images présentées ci-dessus restent assez longs malgré l'excellente efficacité de la séquence ZTE : 46 heures pour chaque image. Un tel temps d'acquisition est dû à la faible sensibilité du phosphore même avec l'utilisation de la rotation à l'angle magique et du très haut champ magnétique. Cette limitation due à la sensibilité confirme le choix de l'utilisation de la séquence ZTE qui enregistre rapidement l'espace k et permet d'accumuler du signal dans un temps d'acquisition raisonnable.

Dans ce cas, la limitation du gradient due aux possibles bandes de rotation ne limite pas la résolution. L'utilisation de gradients restreints augmente la durée d'acquisition et induit une convolution de l'espace-k avec des points de plus faible intensité (due à la défocalisation du signal en T_2^*) que si l'acquisition avait été effectuée avec des gradients plus forts. En revanche, ces gradients faibles dispersent le signal sur une gamme fréquentielle plus restreinte que des gradients forts ce qui est favorable au rapport signal sur bruit. L'addition de ces deux effets contradictoires sur le signal sur bruit est théoriquement favorable à l'utilisation de gradients faibles (s'ils ne limitent pas la résolution).³²

La limitation du gradient n'est donc pas défavorable au rapport signal sur bruit de l'image ^{31}P du fémur de souris.

Cependant, cet exemple montre également une autre limite de la séquence MAS ZTE : sur cet échantillon, à 10 kHz, l'élargissement dipolaire est complètement moyenné. La largeur de raie résiduelle est due à la distribution de déplacement chimique, cette largeur de raie limite la résolution à 350 μm dans le pire des cas (avec une résonance de largeur à mi-hauteur de 1310 Hz). Cette valeur limite de résolution aurait pu être divisée par deux en augmentant la fréquence de rotation à 20 kHz. Cette augmentation de la fréquence MAS ne réduit pas la largeur de raie RMN, mais augmente l'intensité de gradient maximal utilisable sans superpositions des images centrale et satellites. Ici, nous avons gardé la fréquence de rotation à 10 kHz pour éviter d'abîmer l'échantillon à cause des forces centrifuges. Une réduction de la valeur du champ magnétique principale aurait aussi diminué la largeur de raie résiduelle puisque celle-ci est due à une distribution de déplacement chimique, mais cela aurait aussi diminué la sensibilité.

III.5. CONCLUSION

La résolution maximale atteignable en micro-imagerie de résonance magnétique à l'état solide est limitée par deux conditions: une largeur de résonance RMN dominée par l'intensité de gradient de champ magnétique qui permettent d'obtenir des images de haute résolution et le rapport signal sur bruit de l'image. La combinaison entre la rotation à l'angle magique, la détection presque immédiate après excitation en imagerie par ZTE et les très hauts champs magnétiques permet la micro-imagerie de haute résolution et haute sensibilité d'une large gamme de matériaux solides. En effet, le MAS est la méthode la plus efficace pour moyenniser les interactions anisotropes de l'état solide, et permettre l'utilisation de gradients modérés pour obtenir des images haute résolution avec un encodage fréquentiel ainsi qu'une amélioration du signal sur bruit importante. Une impulsion radiofréquence de petit angle peut être utilisée pour augmenter légèrement le signal enregistré par unité de temps, mais surtout pour enregistrer des images avec un temps d'acquisition court même pour les noyaux avec T_1 long dans les cas où le signal sur bruit n'est pas une limitation. La possibilité d'effectuer de l'imagerie sélective en déplacement chimique est préservée en effectuant la sélection longitudinale par inversion/soustraction. Il est également possible de combiner la séquence ZTE avec un transfert de polarisation par CP permettant un gain en signal et surtout un d'obtenir un contraste fonction des proximités spatiales entre différents noyaux ainsi que des propriétés physiques de rigidité de ces réseaux d'atomes.

IV) REFERENCES

1. Lauterbur, P. Image formation by induced local interactions: examples employing nuclear magnetic resonance. *Nature* (1973).
2. P Mansfield and P K Grannell. NMR 'diffraction' in solids? *J. Phys. C Solid State Phys.* **6**, 422–426 (1973).
3. Weiger, M. & Pruessmann, K. P. MRI with Zero Echo Time. *eMagRes* **1**, 311–322 (2012).
4. Weiger, M., Pruessmann, K. P. & Hennel, F. MRI with zero echo time: Hard versus sweep pulse excitation. *Magn. Reson. Med.* **66**, 379–389 (2011).
5. Tyler, D. J., Robson, M. D., Henkelman, R. M., Young, I. R. & Bydder, G. M. Magnetic resonance imaging with ultrashort TE (UTE) PULSE sequences: Technical considerations. *J. Magn. Reson. Imaging* **25**, 279–289 (2007).
6. Bergin, C. J., Pauly, J. M. & Macovski, A. Lung parenchyma: projection reconstruction MR imaging. *Radiology* **179**, 777–781 (1991).
7. Wu, Y. *et al.* Density of organic matrix of native mineralized bone measured by water- and fat-suppressed proton projection MRI. *Magn. Reson. Med.* **50**, 59–68 (2003).
8. Kuethe, D. O., Adolphi, N. L. & Fukushima, E. Short data-acquisition times improve projection images of lung tissue. *Magn. Reson. Med.* **57**, 1058–1064 (2007).
9. Madio, D. P. & Lowe, I. J. Ultra-fast imaging using low flip angles and fids. *Magn. Reson. Med.* **34**, 525–529 (1995).
10. Hafner, S. Fast imaging in liquids and solids with the Back-projection Low Angle Shot (BLAST) technique. *Magn. Reson. Imaging* **12**, 1047–1051 (1994).
11. Kuethe, D. O., Caprihan, a, Lowe, I. J., Madio, D. P. & Gach, H. M. Transforming NMR data despite missing points. *J. Magn. Reson.* **139**, 18–25 (1999).
12. Idiyatullin, D., Corum, C., Park, J.-Y. & Garwood, M. Fast and quiet MRI using a swept radiofrequency. *J. Magn. Reson.* **181**, 342–9 (2006).
13. Prado, P. J. *et al.* Magnetic resonance imaging of gases: a single-point ramped imaging with t-1 enhancement (sprite) study. *J. Magn. Reson.* **137**, 324–332 (1999).
14. Emid, S. & Creyghton, J. High resolution NMR imaging in solids. *Phys. B+C* **128**, 81–83 (1985).
15. Jezzard, P., Attard, J., Carpenter, T. A. & Hall, L. D. Nuclear magnetic resonance imaging in the solid state. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **23**, 1–41 (1991).
16. Callaghan, P. T. *Principles of Nuclear Magnetic Resonance Microscopy*. (Clarendon Press, 1993).
17. Veeman, W. & Bijn, G. NMR imaging of solids with magic angle spinning. *Magn. Reson. Imaging* **10**, 755–763 (1992).
18. Wu, Y. *et al.* Water- and fat-suppressed proton projection MRI (WASPI) of rat femur bone. *Magn. Reson. Med.* **57**, 554–567 (2007).

19. Grodzki, D. M., Jakob, P. M. & Heismann, B. Ultrashort echo time imaging using pointwise encoding time reduction with radial acquisition (PETRA). *Magn. Reson. Med.* **67**, 510–518 (2012).
20. Weiger, M. *et al.* Exploring the bandwidth limits of ZTE imaging: Spatial response, out-of-band signals, and noise propagation. *Magn. Reson. Med.* **74**, 1236–1247 (2015).
21. Décorps, M. *Imagerie de résonance magnétique*. (EDP Sciences, 2012).
22. Idiyatullin, D. *et al.* Dental magnetic resonance imaging: making the invisible visible. *J. Endod.* **37**, 745–52 (2011).
23. Buszko, M. & Maciel, G. Magnetic-Field-Gradient-Coil system for solid-state MAS and CRAMPS NMR imaging. *J. Magn. Reson. Ser. A* (1994).
24. Weigand, F., Blümich, B. & Spiess, H. W. Application of nuclear magnetic resonance magic sandwich echo imaging to solid polymers. *Solid State Nucl. Magn. Reson.* **3**, 59–66 (1994).
25. Prado, P. J., Gasper, L., Fink, G. & Blümich, B. Single-point imaging of vulcanized boundary in rubber. *Appl. Magn. Reson.* **18**, 177–185 (2000).
26. Scheler, U., Blümich, B. & Spiess, H. W. Spinning sidebands from chemical shift anisotropy in ¹³C MAS imaging. *Solid State Nucl. Magn. Reson.* **2**, 105–10 (1993).
27. Thomas Dixon, W. Pulse sequence for spinning sideband suppression in spectra of quadrupolar nuclei. *J. Magn. Reson.* **64**, 332–333 (1985).
28. Dixon, W. T. Spinning-sideband-free and spinning-sideband-only NMR spectra in spinning samples. *J. Chem. Phys.* **77**, 1800–1809 (1982).
29. Massiot, D., Montouillout, V., Fayon, F., Florian, P. & Bessada, C. Order-resolved sideband separation in magic angle spinning NMR of half integer quadrupolar nuclei. *Chem. Phys. Lett.* **272**, 295–300 (1997).
30. Cory, D. G. & Veeman, W. S. Magnetic field gradient imperfections in NMR imaging of rotating solids. *J. Magn. Reson.* **82**, 374–381 (1989).
31. Schauss, G., Blümich, B. & Spiess, H. Conditions for generating rotating gradients in MAS NMR imaging. ... *Magn. Reson.* (1969 ... **1**, 437–441 (1991).
32. Mansfield, P. & Morris, P. G. NMR imaging in biomedicine. (*Advances Magn. Reson. Suppl.* 2) 354 p (1982).
33. Chandrashekar, S. *et al.* ⁷Li MRI of Li batteries reveals location of microstructural lithium. *Nat. Mater.* **11**, 311–315 (2012).
34. Glover, G. H., Pauly, J. M. & Bradshaw, K. M. Boron-11 imaging with a three-dimensional reconstruction method. *J. Magn. Reson. Imaging* **2**, 47–52 (1992).
35. Lesperance, L. M., Gray, M. L. & Burstein, D. Determination of fixed charge density in cartilage using nuclear magnetic resonance. *J. Orthop. Res.* **10**, 1–13 (1992).
36. Koptug, I. V., Sagdeev, D. R., Gerkema, E., Van As, H. & Sagdeev, R. Z. Solid-state ²⁷Al MRI and NMR thermometry for catalytic applications with conventional (liquids) MRI instrumentation and techniques. *J. Magn. Reson.* **175**, 21–29 (2005).
37. Samoson, A. & Lippmaa, E. Central transition NMR excitation spectra of half-integer

- quadrupole nuclei. *Chem. Phys. Lett.* **100**, 205–208 (1983).
38. Fenzke, D., Freude, D., Frohlich, T. & Haase, J. NMR intensity measurements of half-integer quadrupole nuclei. *Chem. Phys. Lett.* **111**, 171–175 (1984).
 39. Chang, J., Connor, C., Hahn, E. L., Huber, H. & Pines, A. Direct detection of aluminum-27 resonance with a SQUID spectrometer. *J. Magn. Reson.* **82**, 387–391 (1989).
 40. Skibsted, J., Nielsen, N. C., Bildsøe, H. & Jakobsen, H. J. 51V MAS NMR spectroscopy: determination of quadrupole and anisotropic shielding tensors, including the relative orientation of their principal-axis systems. *Chem. Phys. Lett.* **188**, 405–412 (1992).
 41. Fernandez, C., Bodart, P. & Amoureux, J. P. Determination of 51V quadrupole and chemical shift tensor orientations in V2O5 by analysis of magic-angle spinning nuclear magnetic resonance spectra. *Solid State Nucl. Magn. Reson.* **3**, 79–91 (1994).
 42. Ernst, R. R., Bodenhausen, G. & Wokaun, A. *Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions*. (Clarendon Press, 1990).
 43. Baldus, M. & Meier, B. H. Total Correlation Spectroscopy in the Solid State. The Use of Scalar Couplings to Determine the Through-Bond Connectivity. *J. Magn. Reson. Ser. A* **121**, 65–69 (1996).

Chapitre 4 :

Échantillonnage non uniforme

Les deux chapitres précédents décrivent l'utilisation des méthodes de micro-imagerie employant un échantillonnage de l'espace réciproque de l'image cartésien ou radial dans des conditions de rotation à l'angle magique. Pour les matériaux solides, la nature et l'intensité des interactions anisotropes ainsi que l'abondance et la sensibilité intrinsèque de certains isotopes observés sont souvent des facteurs limitant le rapport signal sur bruit de l'image obtenue, ce qui conduit à des temps d'expérience longs. Dans ce chapitre, nous nous sommes intéressés aux méthodes de sous échantillonnage de l'espace réciproque afin de réduire les temps d'acquisition des images IRM multidimensionnelles dont une ou plusieurs dimensions sont encodées en phase de façon cartésienne.

Après avoir défini une stratégie de sous échantillonnage adaptée à l'acquisition de l'espace réciproque d'images, nous avons comparé la fiabilité et l'efficacité de différentes méthodes de reconstruction tout particulièrement en termes de résolution spatiale et de rapport signal sur bruit de l'image. Ces méthodes ont été interfacées au logiciel pilotant le spectromètre (TopSpin 3.2) par une application autonome développée dans l'environnement Matlab afin de permettre une utilisation simple et intuitive. L'efficacité de ces méthodes de sous-échantillonnage sera finalement évaluée sur des images IRM ^1H de drosophile enregistrées à très haut champ magnétique (17,6 T) dans des conditions statiques.

I) ESPACE RECIPROQUE

En imagerie par résonance magnétique, les images sont obtenues indirectement après transformation de Fourier du signal temporel qui est enregistré dans l'espace réciproque de l'image. L'algorithme de Transformation de Fourier Rapide (FFT de l'anglais Fast Fourier Transform) requiert que le signal temporel soit échantillonné de manière uniforme, c'est-à-dire que les points acquis dans le domaine temporel soient uniformément espacés. Le temps entre l'acquisition de chaque point (l'intervalle d'acquisition) définit la fenêtre spectrale acquise et donc le champ de vue de l'image. La durée de l'acquisition, dépendante du nombre de points acquis, définit la taille de l'espace réciproque enregistré et donc la capacité à résoudre les hautes fréquences de l'image qui conditionnent la résolution spatiale.

En encodage fréquentiel, l'ensemble des points du signal temporel (FID pendant l'application du gradient) définissant une ligne (ou autre trajectoire) de l'espace réciproque est enregistré en un temps très court (de la ms à quelques μ s) et en une seule expérience. Dans ce cas, le nombre de points enregistré n'a quasiment aucune influence sur le temps d'acquisition total de l'image. En revanche, en encodage de phase, l'acquisition de chacun des points d'une ligne nécessite une incrémentation du gradient et donc une répétition de la séquence d'impulsion. Lorsque le temps de relaxation longitudinal des noyaux observés est long, la méthode d'encodage de phase apparaît coûteuse en temps. Dans ce contexte, il peut être intéressant de sous-échantillonner la ou les dimensions encodées en phase. En encodage radial purement fréquentiel, le sous-échantillonnage peut aussi être utilisé pour diminuer le nombre de rayons acquis permettant de décrire l'espace réciproque et donc le temps d'acquisition de l'image.¹

Dans ce chapitre, nous avons mis en œuvre et comparé entre elles différentes méthodes de reconstruction d'un espace réciproque sous échantillonné afin de réduire la durée d'acquisition d'images IRM de micro-imagerie. Nous nous sommes limités ici au cas des séquences d'écho de spin utilisant un encodage de phase cartésien dans une ou plusieurs dimensions.

I.1. ÉCHANTILLONNAGE PARTIEL

L'échantillonnage partiel de l'espace réciproque peut être effectué de manière uniforme ou non uniforme. Dans l'exemple présenté en Figure 73, le signal échantillonné partiellement est complété de zéros aux positions des points non acquis. Ceci permet l'utilisation de la transformation de Fourier rapide pour obtenir le signal fréquentiel sur la même largeur spectrale que celle du signal originel échantillonné de manière complète. La régularité d'un échantillonnage partiel uniforme (ici 8 fois inférieur à la condition de Shannon-Nyquist) induit l'apparition d'une périodicité spectrale qui provoque des repliements dans le spectre ou l'image reconstruite. Ces artéfacts cohérents sont de même intensité que le signal et leur

présence empêche de déterminer la position du signal d'origine. À l'inverse, un échantillonnage non uniforme aléatoire provoque l'apparition d'artefacts incohérents qui ressemblent à du bruit comme présenté en Figure 73 c. Ces artefacts incohérents produits par l'échantillonnage aléatoire ont une intensité très inférieure à celle des artefacts cohérents et c'est la raison pour laquelle l'échantillonnage aléatoire est préféré. Plusieurs méthodes peuvent ensuite être utilisées pour reconstruire le signal fréquentiel originel en appliquant une opération de transformation de Fourier rapide tout en limitant l'apparition des artefacts incohérents.

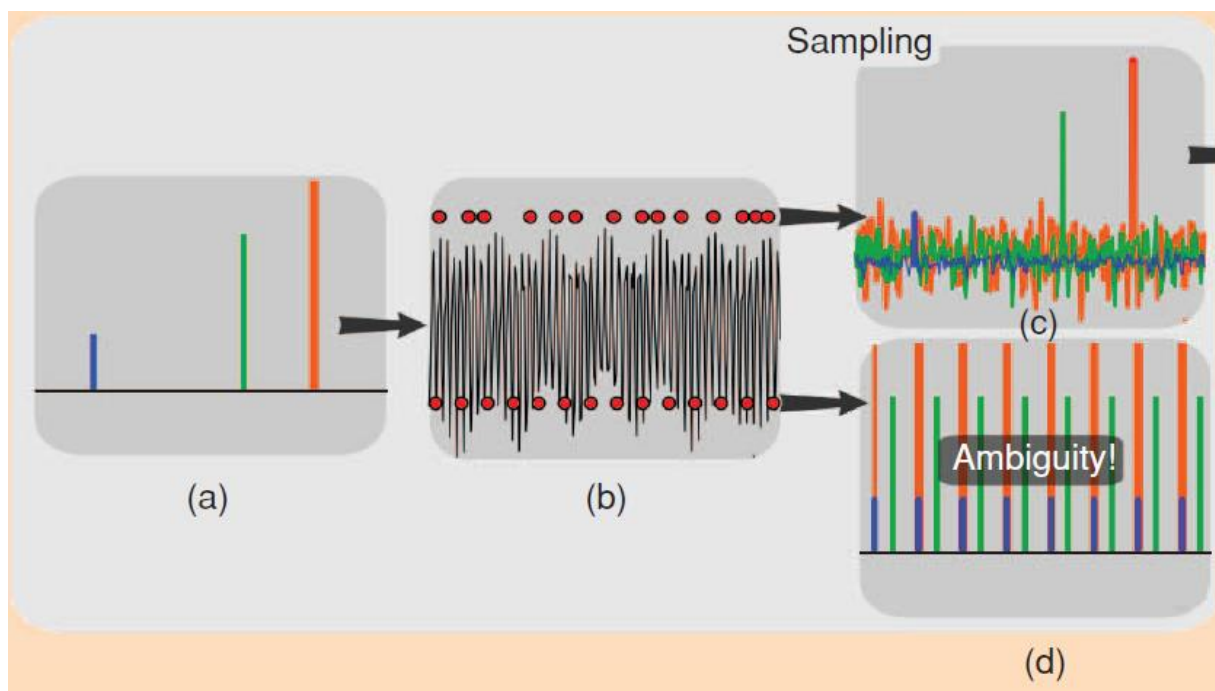


Figure 73 : (a) signal original dans le domaine fréquentiel (b) transformée de Fourier inverse produisant un signal dans le domaine temporel. Les points rouges symbolisent les points sélectionnés lors de l'échantillonnage partiel uniforme (en bas) et non uniforme (en haut). (c) signal reconstruit à partir de l'échantillonnage partiel non uniforme aléatoire complété de zéros pour pouvoir effectuer l'opération de transformation de Fourier rapide. (d) signal reconstruit à partir d'un échantillonnage partiel uniforme complété de zéros pour pouvoir effectuer l'opération de transformation de Fourier rapide. Image extraite de : Compressed Sensing MRI, M. Lustig et al. IEEE Signal Processing magazine (72) 2008.²

Dans ce chapitre, cinq méthodes de reconstruction de l'espace fréquentiel à partir d'un signal temporel non uniforme sont décrites et comparées.

1.1.1 Complétion de zéros

La complétion de zéros est la méthode la plus simple et consiste simplement à remplacer les points non échantillonnés par des zéros puis à appliquer une transformation de Fourier rapide. Elle induit cependant la présence d'importants artefacts, même si ceux-ci sont incohérents pour un échantillonnage aléatoire comme présenté en Figure 73.

I.1.2 Maillage cubique

Les méthodes de maillage (gridding) consistent à définir la valeur des points manquants du signal temporel (de l'espace réciproque) par interpolation des points acquis environnants. Il existe de nombreux algorithmes d'interpolation et ici une interpolation cubique basée sur de la triangulation implémentée par la commande Matlab® *griddata* est utilisée. Cet algorithme fonctionne à partir de données non uniformes monodimensionnelles ou bidimensionnelles. Les maillages des points réels et des points imaginaires sont effectués séparément.

I.1.3 Maillage gaussien rapide (NUFFT)

L'opération de maillage peut être coûteuse en temps et ce, particulièrement lorsque le nombre de dimensions de l'espace à reconstruire est élevé. Un algorithme de maillage rapide basé sur une densité gaussienne a été développé par L. Greengard et J.Y. Lee³ et est proposé sous Matlab par la fonction NUFFT de l'anglais : Non Uniform Fast Fourier Transform.

I.1.4 La détection compressée (Compressed Sensing CS)^{2,4}

Le compressed sensing⁵ ou CS (le terme anglais sera utilisé dans ce manuscrit) est une procédure itérative permettant par seuillage d'éliminer les artefacts incohérents dus à l'échantillonnage partiel non uniforme. Les points échantillonnés de façon non uniforme dans le domaine temporel sont tout d'abord complétés de zéros afin de pouvoir en faire la transformation de Fourier rapide. Les signaux les plus intenses du signal fréquentiel obtenu sont alors isolés par seuillage (Figure 74 f). Comme la position des points échantillonnés est connue, il est possible de calculer les artefacts incohérents produits par les signaux intenses sélectionnés (Figure 74 h). Ces artefacts incohérents sont ensuite soustraits au signal fréquentiel obtenu par complétion de zéros (Figure 74 g). Cette soustraction permet d'éliminer les artefacts incohérents produits par les signaux principaux et donc d'identifier des signaux moins intenses (Figure 74 g). Cette procédure est répétée plusieurs fois en s'assurant, à chaque étape, que le signal temporel reconstruit à partir des signaux isolés par seuillage est compatible avec les points acquis par l'échantillonnage partiel. Par défaut le nombre d'itérations est fixé à huit pour toutes les reconstructions effectuées dans ce travail.⁴

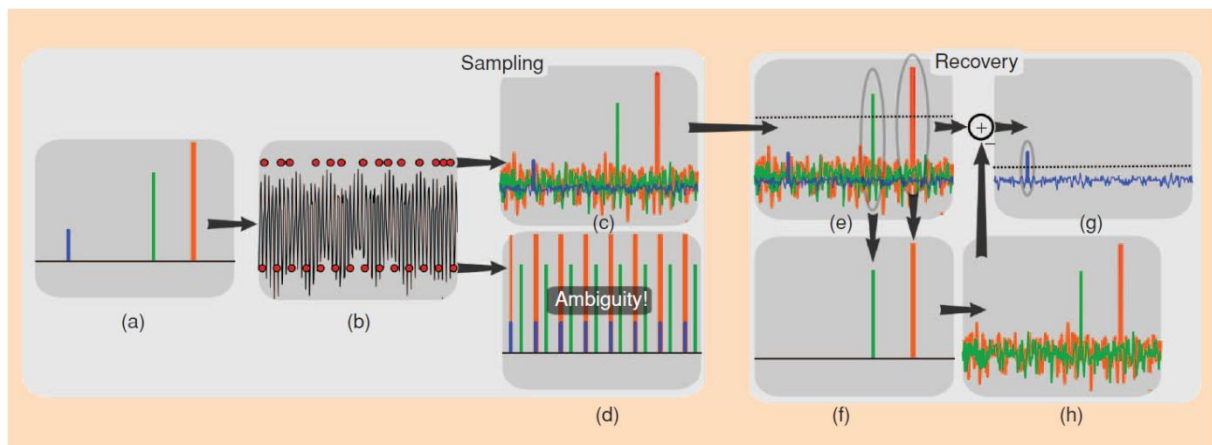


Figure 74 : Schéma de la procédure de reconstruction par Compressed Sensing. Image extraite de : Compressed Sensing MRI, M. Lustig et al. IEEE Signal Processing magazine (72) 2008.

Cette méthode de reconstruction est connue pour être efficace si le signal fréquentiel est parcimonieux (sparse), c'est-à-dire s'il comprend peu de signaux d'intensités importantes et de beaucoup de points à zéro. C'est notamment le cas des spectres RMN multidimensionnels en phase liquide qui sont composés de résonances fines et c'est la raison de l'intérêt porté à ce mode de reconstruction pour des applications en spectroscopie des protéines.^{6,7} En IRM, cette condition est beaucoup plus rarement satisfaite, car les images peuvent présenter un continuum de points d'intensité variable et donc être moins parcimonieuses.

I.1.5 Compressed sensing et Ondelette (Wavelet)

Pour pallier ce problème de représentation non parcimonieuse dans l'espace fréquentiel en imagerie, il est possible d'effectuer une autre transformation avant la détection des signaux intenses (entre les étapes c et e de la Figure 74). La transformation la plus commune est la décomposition en ondelettes, utilisée notamment dans la compression d'image par l'algorithme JPEG2000.⁸ Le résultat d'une transformation par ondelette Daubechies 6,4 est illustré en Figure 75. Les signaux intenses détectés dans cet espace sont ensuite retransformés pour déduire les artefacts qu'ils induisent et être comparés aux points acquis dans la dimension temporelle. Cette transformation permet d'augmenter la parcimonie d'une large gamme d'images, avec une efficacité variable en fonction de la nature de l'image.

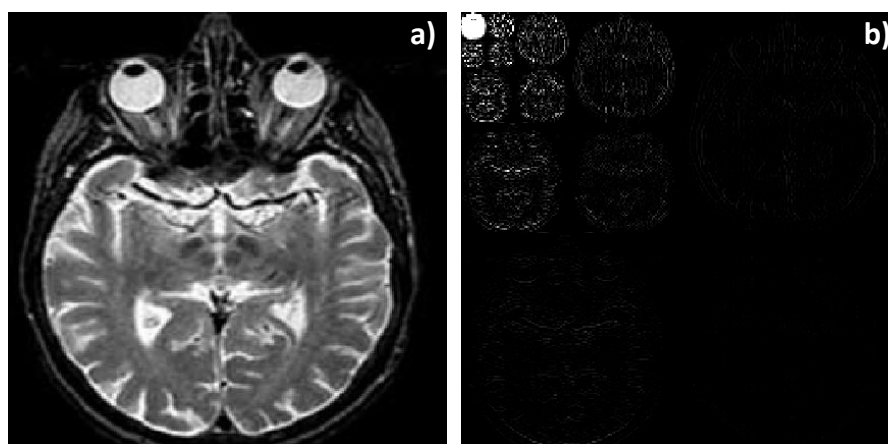


Figure 75 : Image IRM 2D d'un cerveau (a) dans le domaine fréquentiel (domaine de l'image) (b) après décomposition en ondelettes (Daubechies 6,4).

I.1.6 Échantillonnage pseudo aléatoire

La plupart des images IRM présentent une structure principale massive à laquelle sont superposés des détails anatomiques plus fins. Pour ce type d'image, la plus grande partie de l'intensité de l'image est concentrée à l'origine de l'espace réciproque (au centre sur la Figure 76 b). De plus, même après décomposition en ondelettes, les basses fréquences de l'image (la partie grossière) ont tendance à avoir une représentation moins parcimonieuse que les détails fins (les hautes fréquences de l'image).⁴ Il est donc plus intéressant d'acquérir beaucoup de points au centre de l'espace réciproque et moins dans les périphéries que d'utiliser un échantillonnage complètement aléatoire.

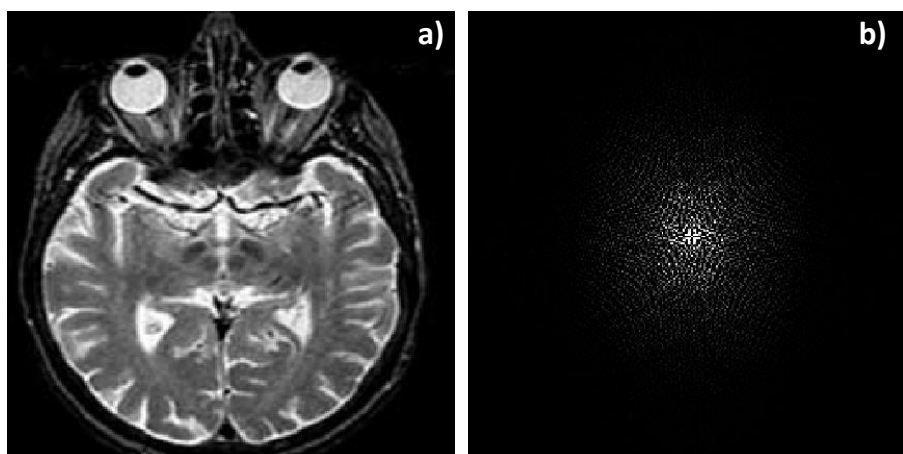


Figure 76 : représentation de l'image 2D IRM d'un cerveau (a) dans le domaine fréquentiel, (b) dans le domaine temporel : espace réciproque ou espace k.

Une manière optimale de faire cet échantillonnage pseudo-aléatoire est d'avoir recours à une loi de densité de probabilité d'échantillonnage en fonction de la distance à l'origine à une puissance comprise entre 1 et 6.⁴ Un exemple de loi de probabilité d'échantillonnage et le masque d'échantillonnage (points échantillonnés) sont montrés en Figure 77 pour une puissance de 5. Ce type d'échantillonnage (fonction puissance 5) est utilisé pour toutes les simulations et les acquisitions présentées dans ce manuscrit.

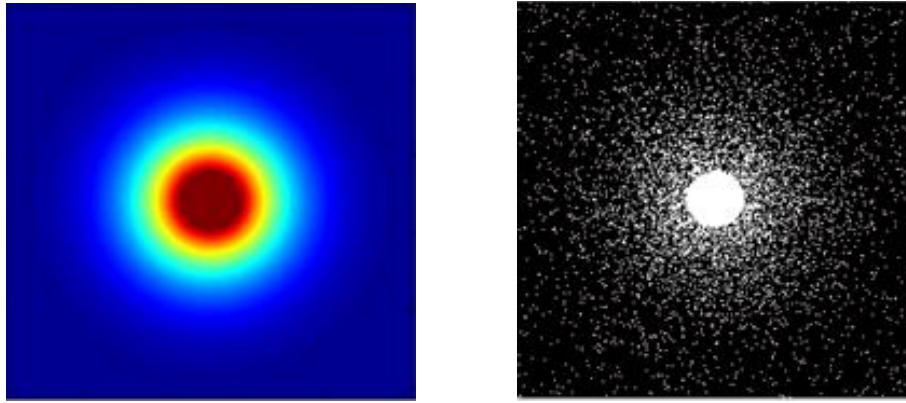


Figure 77 : Loi de probabilité d'échantillonnage fonction de la distance à l'origine de l'espace réciproque puissance 5 et le masque correspondant.

II) SIMULATION

II.1. ÉVALUATION DES PERFORMANCES

Les performances des différentes méthodes de reconstruction ont été évaluées de façon à déterminer le pourcentage de points à échantillonner permettant d'obtenir une image de qualité satisfaisante, ainsi que la potentielle dégradation de la résolution en fonction du nombre de points acquis. Pour cela, le fantôme Shepp Logan, très utilisé pour évaluer les performances des algorithmes de reconstruction en IRM, a été modifié de façon à présenter une ligne de massifs de taille croissante de 1, 4, 9 et 16 pixels de signal intense (blanc) permettant de juger de la résolution spatiale de l'image reconstruite. Pour effectuer une évaluation quantitative, deux critères ont été définis : le premier correspond à la différence globale entre l'image de référence et l'image reconstruite, alors que le second représente la différence entre l'image de référence et l'image reconstruite sur un pixel intense isolé (le premier de la ligne) au sein d'une zone sombre.

I.1.7 Images non bruitées

Les premières simulations de reconstruction ont été réalisées sur des images non bruitées en utilisant un échantillonnage pseudo-uniforme suivant une loi de probabilité définie par la distance au centre de l'espace réciproque puissance 5. Différents pourcentages de points (25 % et 33 %) de l'espace réciproque ont été acquis de façon à mesurer l'efficacité des différentes méthodes de reconstruction. Ces valeurs ont été choisies en se basant sur le travail de Lustig *et al.*⁴ Les Figure 78 et 79 ci-dessous présentent les images reconstruites par les différentes techniques. Le profil supérieur horizontal (en rouge) représente l'intensité de la ligne de détails. Le détail modélisé par un pixel intense (pixel n° 60) est utilisé pour juger de possibles dégradations de la résolution. Le profil vertical (en vert) représente la projection de l'image et est donc caractéristique de la reconstruction globale.

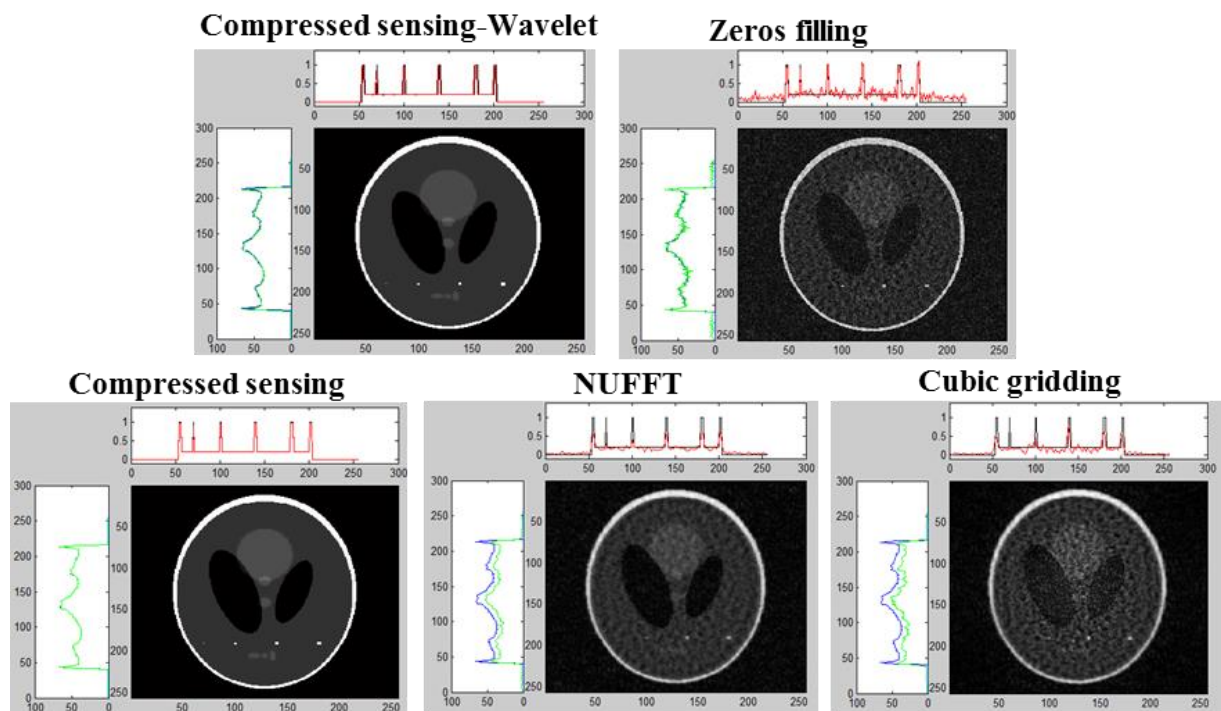


Figure 78 : Images reconstruites pour un pourcentage de points acquis de 25 % par les méthodes du compressed sensing ondelette (wavelet), complétion de zéro (zéro filling), compressed sensing, NUFFT et maillage cubique (cubic gridding) respectivement.

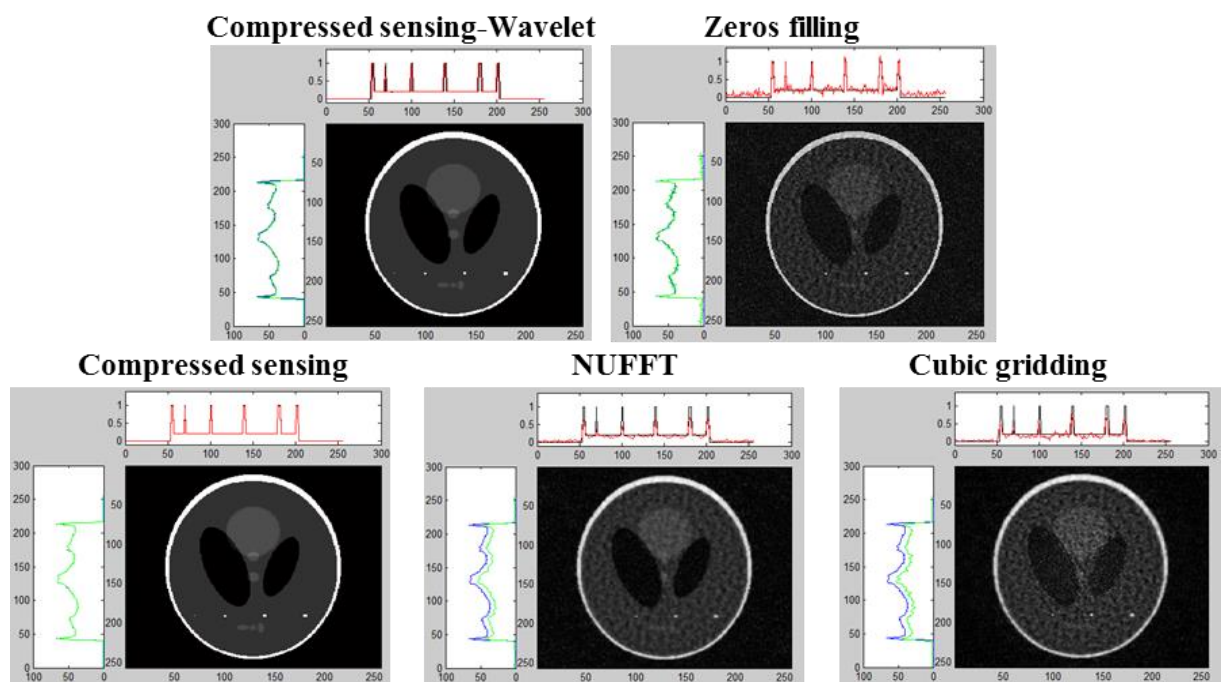


Figure 79 : Images reconstruites pour un pourcentage de points acquis de 33 % par les méthodes du compressed sensing ondelette, complétion de zéro, compressed sensing, NUFFT et maillage cubique respectivement.

En comparant ces images, on observe que la méthode du Compressed Sensing (CS) avec et sans ondelettes donne les meilleurs résultats en termes de reconstruction globale et de résolution. Dans ce cas, les projections et les lignes de détails des images originelles et

reconstruites se superposent parfaitement. Un léger décalage est observé lors de la reconstruction par la méthode ondelettes mais celui-ci ne gêne pas l'interprétation de l'excellente reconstruction de l'image obtenue.

Afin d'évaluer l'évolution des erreurs de reconstruction pour différents pourcentages d'échantillonnage, l'erreur de reconstruction globale de l'image est quantifiée par la somme des valeurs absolues des différences point par point entre l'image reconstruite et l'image de référence divisée par la somme de tous les points de l'image de référence (Figure 80). L'erreur de détail permettant de juger de la résolution est quant à elle quantifiée par l'intensité du pixel de détail de l'image reconstruite divisée par l'intensité du détail sur l'image d'origine (Figure 81).

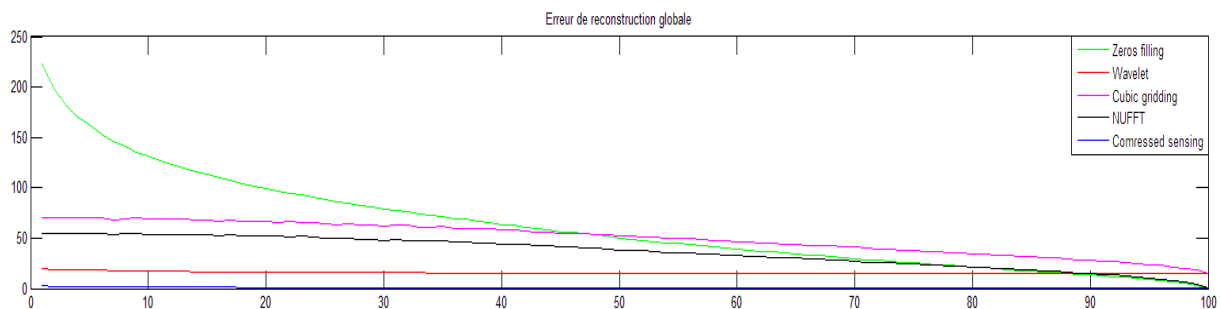


Figure 80 : Différence entre l'image de référence et l'image reconstruite par les différentes méthodes en fonction du pourcentage de points acquis.

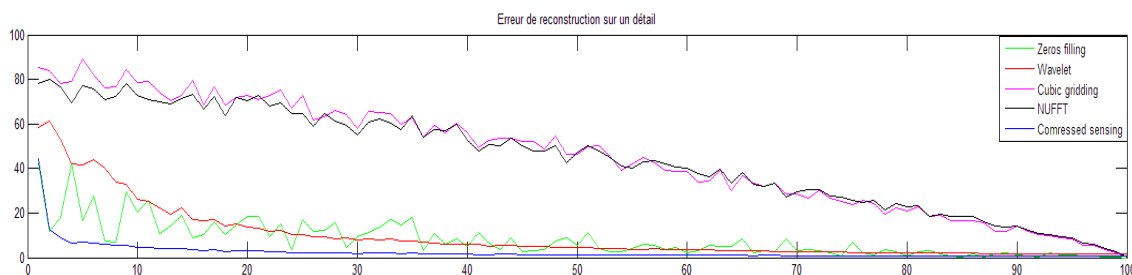


Figure 81 : Différence locale entre l'image de référence et l'image reconstruite par les différentes méthodes en fonction du pourcentage de points acquis.

Les deux courbes d'erreur obtenues pour la méthode de Compressed Sensing dans l'espace de l'image atteignent des valeurs très basses à partir de 33 % de points acquis. Les résultats obtenus avec les trois autres méthodes sont moins bons : la méthode de complétion de zéros induit de forts artefacts incohérents, ce qui induit une différence globale importante avec l'image de référence (courbe verte Figure 80) même si elle reproduit bien le détail fin et isolé. Les méthodes du maillage cubique (courbe rose) et NUFFT (courbe noire) dégradent la résolution. La méthode du CS-ondelettes (courbes rouge) présente un biais sur l'intensité totale ainsi que sur la position du pixel isolé que nous n'avons pas réussi à corriger, c'est la raison pour laquelle elle ne sera pas utilisée dans les simulations suivantes. La méthode de complétion de zéros (zero filling) qui servait de référence basse pour juger de la reconstruction ne sera plus présentée dans la suite de ce travail.

II.2. IMAGES BRUITEES

Afin de tester la robustesse des différentes méthodes de reconstruction par rapport au bruit de fond, un bruit gaussien d'une variance de 0,1 (l'image est normalisée à 1) a été ajouté à l'image originelle. Les résultats obtenus avec un pourcentage d'échantillonnage pseudo aléatoire de 33 % des points et pour trois méthodes de reconstruction sont affichés en Figure 82.

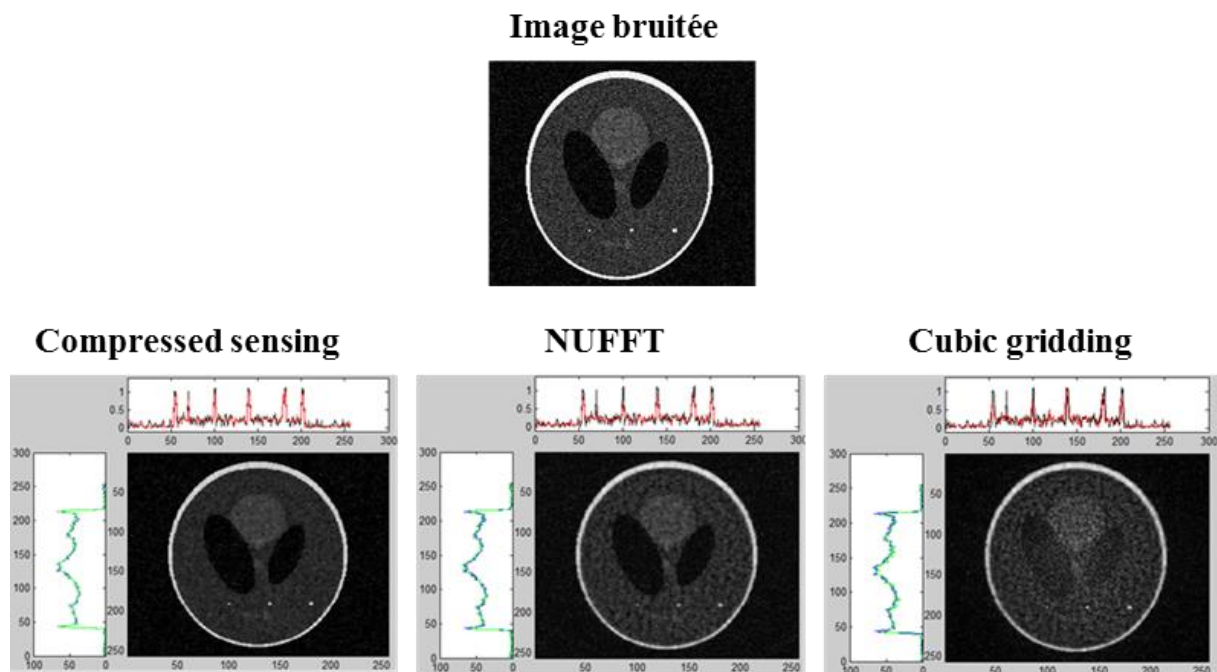


Figure 82 : Images reconstruites en présence du bruit de variance égale à 0,1 par les méthodes du compressed sensing, NUFFT et maillage cubique, respectivement.

Pour les trois images, la reconstruction à partir de 33 % des points d'un espace réciproque conduisant à une image bruitée avec une variance de 10 % de l'intensité maximale de l'image conduit à une diminution du bruit de fond sur l'image reconstruite par rapport à l'image originelle. Cela peut être dû à l'échantillonnage pseudo-aléatoire qui favorise l'acquisition de points intenses au centre de l'espace réciproque induisant un rapport signal sur bruit supérieur.

Dans le cas du Compressed Sensing cette augmentation du rapport signal sur bruit peut aussi être due à la reconstruction par seuillage qui va jouer le rôle de filtre et induire un débruitage. Cependant, une diminution de l'intensité du pixel isolé (et donc de la résolution) est aussi observée.

Pour les méthodes basées sur du maillage, l'augmentation du rapport signal sur bruit peut aussi être dû à la difficulté de reproduire les hautes fréquences de l'image : à 33 % des points acquis la résolution est significativement dégradée : l'intensité du pixel isolé est presque nulle avec ou sans bruit sur les images reconstruites par NUFFT et maillage cubique.

III) MISE EN APPLICATION

III.1. CREATION DE LA LISTE DES POINTS A ACQUERIR

III.1.1 Paramètres TopSpin

Pour effectuer l'acquisition d'une dimension encodée en phase par échantillonnage non uniforme, il suffit de modifier l'incrémentation des gradients avec la commande `calgrad(r1d)` de façon à ce que celle-ci ne soit plus forcément linéaire. Les valeurs d'intensité du ou des gradients sont alors définies par une liste pour acquérir une image avec encodage de phase d'une ou deux dimensions spatiales.

Nous avons développé une application autonome permettant de créer automatiquement les listes de points à acquérir avec un échantillonnage pseudo aléatoire fonction de la distance à l'origine de l'espace réciproque puissance x . L'utilisateur doit simplement entrer le nombre de points de chacune des dimensions de la matrice d'acquisition, le pourcentage de points à échantillonner et l'ordre de la puissance (x) à utiliser pour créer la loi de probabilité d'échantillonnage. La liste est alors créée automatiquement (fichier de format ASCII) et utilisée par le logiciel de pilotage du spectromètre. L'interface graphique de cette application et les listes créées sont représentées en Figure 83.

NUSlist 2D

CSlistcreator

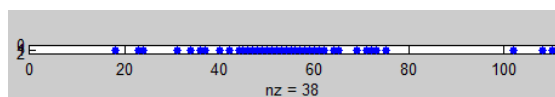
Création de liste pour Non Uniform Sampling acquisition pour TopSpin

Fonction densité de probabilité basée sur la distance au centre de l'espace réciproque

For 3D acquisition

Dimensions de l'image totale	Pourcentage de points acquis	Ordre du polynome
110	33.85	5

Créer la liste



NUSlist 3D

CSlistcreator

Création de liste pour Non Uniform Sampling acquisition pour TopSpin

Fonction densité de probabilité basée sur la distance au centre de l'espace réciproque

For 2D acquisition

Dimensions de l'image totale	Pourcentage de points acquis	Ordre du polynome
110	33.85	5

Créer la liste

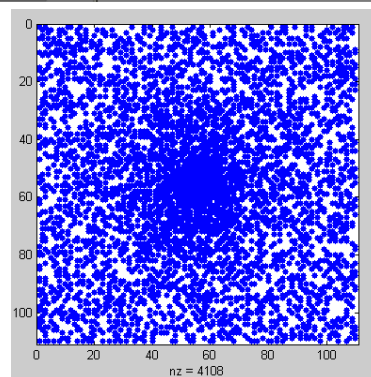


Figure 83 : Interface et listes éditées par l'application de création de liste des points à échantillonner de façon pseudo-aléatoire en fonction d'une puissance de la distance à l'origine

III.2. RECONSTRUCTION DE L'ESPACE RECIPROQUE SOUS ECHANTILLONNE

Une seconde application a été développée pour reconstruire un espace réciproque uniforme à partir des points acquis de façon non uniforme par différentes méthodes de reconstruction. Les fonctions permettant la reconstruction d'un espace réciproque monodimensionnel ou bidimensionnel sont disponibles en accès libre sur internet pour la reconstruction NUFFT et Compressed Sensing. La fonction de maillage est directement intégrée à Matlab® par la commande `griddata`. Ces fonctions ont été intégrées à une interface graphique permettant :

- L'importation des données brutes acquises et enregistrées sous forme d'un fichier binaire (fichier SER dans TopSpin), ainsi que l'importation des coordonnées des points de l'espace réciproque acquis.
- L'affichage graphique des FID de la dimension fréquentielle de façon à pouvoir rogner des points avant la reconstruction pour diminuer le temps de calcul.
- La reconstruction d'images bidimensionnelle et tridimensionnelle par les différentes méthodes. Pour les images 3D, les reconstructions par maillage cubique et Compressed Sensing sont effectuées sur les plans 2D encodés en phase et ce, pour chacun des points de la dimension fréquentielle.
- L'affichage de l'image obtenue par transformation de Fourier rapide de l'espace réciproque reconstruit.
- La sauvegarde de l'espace réciproque reconstruit, avec un numéro d'expérience (EXPNO) différent, de façon à pouvoir appliquer d'autres transformations dans l'environnement TopSpin (apodisations...) si nécessaire et de comparer facilement les images NUS et classiques.

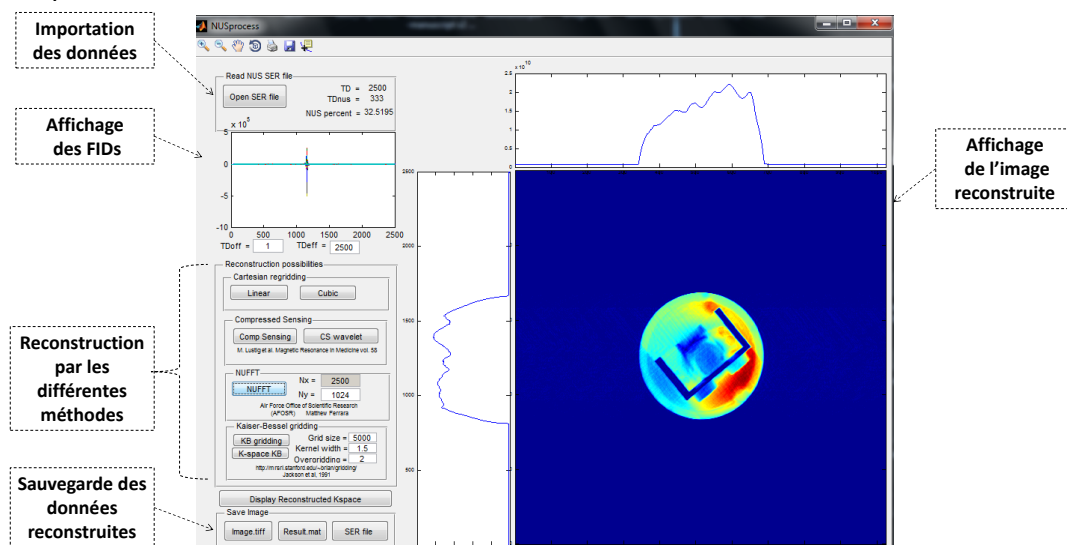


Figure 84 : Interface graphique de l'application NUSprocessor

Cette application, développée sous Matlab R2013b, est déployée sous forme d'un exécutable pour permettre son utilisation de manière autonome.

IV) DONNEES REELLES

Des images IRM statique 2D et 3D ont été acquises de façon à juger les performances des méthodes d'acquisition et de reconstruction en conditions réelles.

IV.1.1 Images bidimensionnelles non bruitées

Le premier fantôme utilisé est une pièce de lego (carré) placée dans un cylindre rempli d'eau dopée avec un ions paramagnétique (Cu^{2+}) de façon à diminuer le temps de relaxation T_1 des protons des molécules d'eau. Dans un premier temps, une image bidimensionnelle de référence correspondant à la projection des plans perpendiculaires à l'axe du cylindre (axe Z de l'aimant) a été enregistrée avec une séquence d'écho de spin. Cette image, présentée en Figure 85 (1), a été obtenue avec un échantillonnage uniforme de 1024 incréments dans la dimension de phase. Huit acquisitions ont été accumulées avec un délai de répétition de 250 ms, induisant à une durée d'expérience totale de 34 minutes. L'image présente un disque de forte intensité dans laquelle se distingue une diminution d'intensité au niveau des parois verticales du Lego.

La même image a ensuite été acquise avec 33 % des points de la dimension de phase suivant un échantillonnage non uniforme pseudo aléatoire suivant une loi de probabilité d'échantillonnage fonction de la distance au centre de l'espace réciproque puissance 5.

Tous les paramètres d'acquisition sont identiques à ceux de l'image de référence. Le temps d'expérience est donc divisé par trois (11,3 minutes). Les images 2, 3, et 4 présentées Figure 85 ont été reconstruites par Compressed Sensing, maillage cubique et NUFFT respectivement. En raison de difficultés d'implémentation de la méthode de Compressed Sensing avec décomposition en ondelettes pour les images bidimensionnelles, cette méthode n'a pas pu être employée ici.

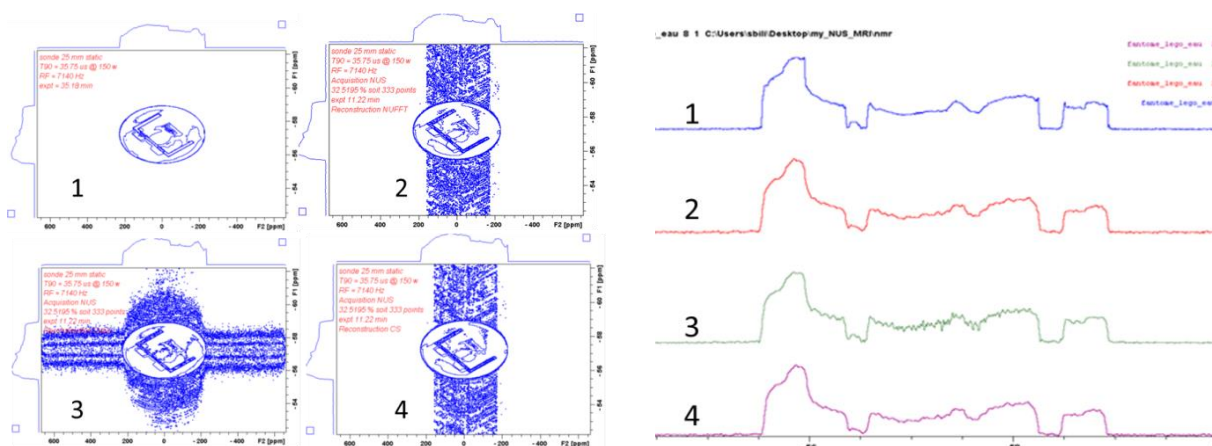


Figure 85 : Images bidimensionnelles et profils monodimensionnels reconstruits pour un pourcentage de points échantillonné de 33 %, 1) image de référence, 2) Compressed Sensing, 3) Maillage cubique et 4) NUFFT

D'un point de vue global, les trois méthodes permettent une reconstruction satisfaisante de la forme de l'image de référence. En revanche, du bruit est introduit dans la dimension de phase par les méthodes de CS et NUFFT et dans les deux directions par la méthode de

maillage cubique. Les profils 1D montrent une légère perte de résolution pour toutes les méthodes (les angles des profils paraissent arrondis sur les images reconstruites).

Le rapport signal sur bruit (SNR) est calculé pour chaque profil (le long de la dimension de phase pour tenir compte du bruit additionnel) et les résultats sont donnés dans le tableau ci-dessous.

	Originale	Compressed Sensing	Maillage cubique	NUFFT
SNR	194,78	77,63	219,68	70,28

Le rapport signal sur bruit (SNR) des images reconstruites par CS et NUFFT est inférieur d'un facteur environ 2,8 par rapport à celui de l'image de référence. Cela est dû aux artefacts produits par la reconstruction dans la dimension sous-échantillonnée. Il est possible que ces artefacts importants puissent être imputés au manque de degré de liberté dans le placement des points acquis, car une seule des dimensions est sous-échantillonnée. Le rapport signal sur bruit obtenu pour la reconstruction par Maillage cubique semble supérieur à celui des autres méthodes, mais ceci est attribuable au choix de la zone de bruit utilisée pour définir le SNR qui se trouve à l'extérieur de l'image. On observe que les artefacts créés par cette méthode de reconstruction ne sont pas homogènes dans l'image et apparaissent de façon beaucoup plus intense au centre de celle-ci. Le rapport signal sur bruit calculé en utilisant une zone de bruit à l'extérieur de l'image n'est donc pas représentatif du bruit de reconstruction induit par cette méthode. La valeur de signal sur bruit du maillage cubique est largement surestimée et cette méthode n'apparaît pas être préférable aux autres en terme de SNR. La valeur de SNR calculé pour cette méthode est donc affichée en rouge dans ce tableau et ne sera pas mentionné dans les tableaux suivants.

IV.1.2 Images bidimensionnelles bruitées

Avec les mêmes paramètres d'acquisition et simplement en diminuant la valeur du délai de répétition à 10 ms, il est possible d'obtenir une image avec un rapport signal sur bruit beaucoup plus faible (d'environ 21) en 1 minute et 22 secondes. Ces conditions ont été utilisées pour tester l'échantillonnage non uniforme dans le cas d'un rapport signal sur bruit plus faible.

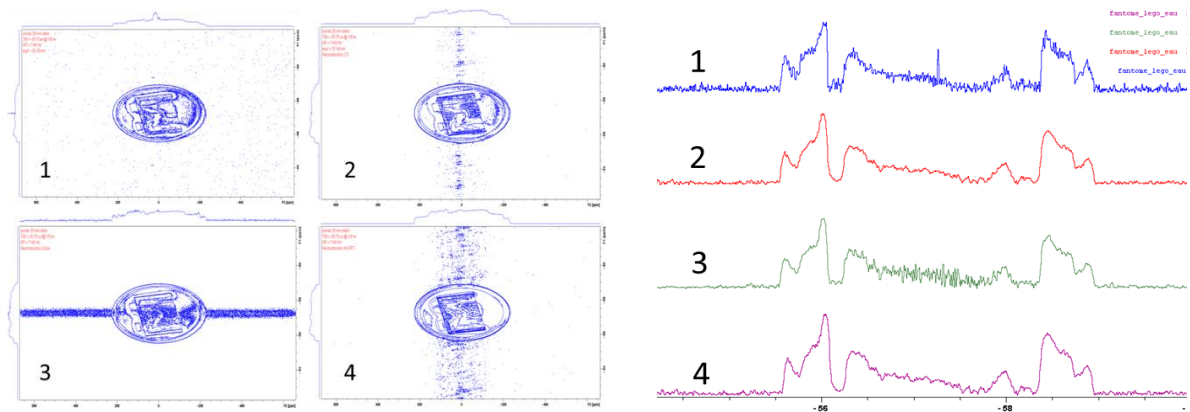


Figure 86 : Images bidimensionnelles et profils monodimensionnels reconstruits pour un pourcentage de points échantillonné de 33 %, 1) image de référence, 2) Compressed Sensing, 3) Cubic gridding et 4) NUFFT

Les images reconstruites à partir de 33 % des points décrivent toujours bien l'objet même si une perte de résolution plus importante que sur les images non bruitées est observée. Le pic au centre de l'image originale est un artéfact dû aux conditions d'acquisition dégradées et il ne doit pas être pris en compte. On remarquera que les images reconstruites à partir de 33 % des points par les méthodes de NUFFT et CS présentent un rapport signal sur bruit supérieur d'un facteur 1,5 à celui de l'image de référence, comme montré dans le tableau ci-dessous.

	Originale	Compressed Sensing	Maillage cubique	NUFFT
SNR	21,21	33,48	/	33,16

Cette augmentation du SNR sur les images sous-échantillonnées par rapport à l'image classique est associée à l'acquisition d'une plus grande proportion de points au centre de l'espace k , où le signal est plus intense. Dans le cas du CS, cet accroissement peut aussi être lié au filtrage des points de faible intensité attribuable à la procédure de seuillage.

L'augmentation du SNR par sous échantillonnage pseudo aléatoire pour les images bruitées est encourageant pour l'application en micro-imagerie. Cependant, il est important de noter que cela s'accompagne aussi d'une perte de résolution pour toutes les méthodes de reconstruction testées

IV.1.3 Images tridimensionnelles

Une image 3D de la pièce de lego placée dans un cylindre remplie d'eau dopée a été obtenue avec une séquence d'écho de spin et un échantillonnage cartésien uniforme. Pour cette image de référence, 160 incréments ont été utilisés pour chaque dimension de phase et huit acquisitions ont été accumulées avec un délai de répétition de 100 ms correspondant

à un temps d'acquisition de 5 heures et 40 minutes. Une section de l'image 3D présentant la paroi horizontale du lego percé de 5 trous d'un diamètre de : 500 μm , 750 μm , 1 mm, 1,5 mm et 2 mm est présentée en Figure 87. Le champ de vue de l'image est de 32 mm dans les deux dimensions de phase et la résolution spatiale est de $242 \times 242 \mu\text{m}^2$.

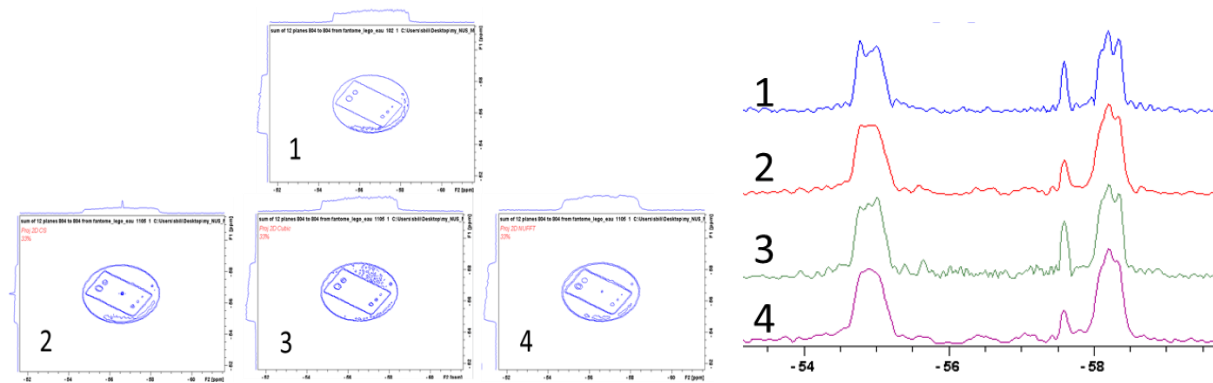


Figure 87 : Sections 2D et profils monodimensionnels des images reconstruites pour un pourcentage de points de 33 %, 1) image de référence, 2) compressed sensing, 3) Cubic gridding et 4) NUFFT

Les profils sont sélectionnés de façon à passer à travers le trou d'un diamètre de 500 μm , l'intensité du pic fin du profil donne donc une indication sur la dégradation de la résolution. On observe que l'objet global est relativement bien reconstruit avec 33 % des points acquis, mais la résolution est tout de même diminuée en Compressed Sensing et en NUFFT.

	Originale	Compressed Sensing	Maillage cubique	NUFFT
RSB	44,76	33,07	/	35,49

Le rapport signal sur bruit des images sous échantillonnées et reconstruites par NUFFT et CS est inférieur à celui de l'image de référence. Comme le rapport signal sur bruit de l'image de référence est différent de celui des images 2D, il est difficile de conclure sur l'impact de l'augmentation de dimensions sous échantillonnée sur l'intensité des artefacts de reconstruction. La reconstruction par la méthode de maillage cubique introduit toujours un bruit plus intense au centre de l'image.

IV.2. IMAGE 3D D'UNE DROSOPHILE

L'une des applications potentielles du sous-échantillonnage est l'imagerie chimique d'une drosophile en rotation pour laquelle le temps d'acquisition en échantillonnage complet est prohibitif. Les quatre méthodes de reconstruction (CS, CS avec décomposition en ondelettes, NUFFT et maillage cubique) ont donc été testées sur l'image tridimensionnelle d'une drosophile en condition statique, car l'image de la drosophile en rotation devrait être similaire. Le temps d'acquisition de ces images 3D reste raisonnable, car une bobine de petite taille avec un excellent facteur de remplissage permettant une excellente sensibilité a été utilisée. Pour réduire les effets de susceptibilité magnétique responsables d'une part importante de l'élargissement de la résonance de l'eau, la drosophile est plongée dans une huile ne contenant pas de proton de motif poly(chlorotrifluoroethylene). Cela permet d'obtenir une largeur à mi-hauteur d'environ 110 Hz pour la résonance de l'eau alors qu'elle est d'environ 900 Hz sans présence d'huile à 17,6 T.

L'image 3D de la drosophile contient de nombreux détails anatomiques de tailles différentes pouvant être proches ou isolés de zones de signal intense, ce qui est bien adapté pour juger de l'efficacité des différentes méthodes de reconstruction.

Quatre images ont été acquises avec la même durée d'expérience de 9 heures et 6 minutes. Deux images sont acquises avec un échantillonnage uniforme et complet. La première avec un espace réciproque de $512 \times 64 \times 64$ points et avec 16 accumulations, et la seconde avec un espace réciproque de $512 \times 128 \times 128$ points et 4 accumulations. Les résolutions spatiales isotropes dans les dimensions de phase sont respectivement de 47 et 23,6 μm pour un champ de vue de $5 \times 2,5 \times 2,5 \text{ mm}^3$.

Deux autres images ont été acquises avec des espaces réciproques de $512 \times 128 \times 128$ et 25 % des points échantillonnés et $512 \times 110 \times 110$ et 33 % des points échantillonnés, respectivement. Seize accumulations ont été additionnées pour parvenir au même temps d'acquisition de 2 heures et 16 minutes. Les espaces réciproques de taille supérieure à celui de l'image « basse résolution » acquise avec un échantillonnage uniforme devraient permettre de compenser la perte de résolution dû à l'échantillonnage partiel non uniforme. L'image de haute résolution acquise en échantillonnage uniforme servira de référence. Toutes les images ont été complétées de zéros pour atteindre une taille de matrice de $1024 \times 512 \times 512$ points et donc une taille de voxel isotrope de 4,9 μm .

Une projection selon l'une des dimensions de phase de l'image tridimensionnelle présentant plusieurs détails a été extraite et est utilisée pour la comparaison des différentes méthodes. Chacune des images est normalisée par rapport à son intensité maximale et les écarts de contraste entre les différentes images peuvent en partie être imputés à cette normalisation.

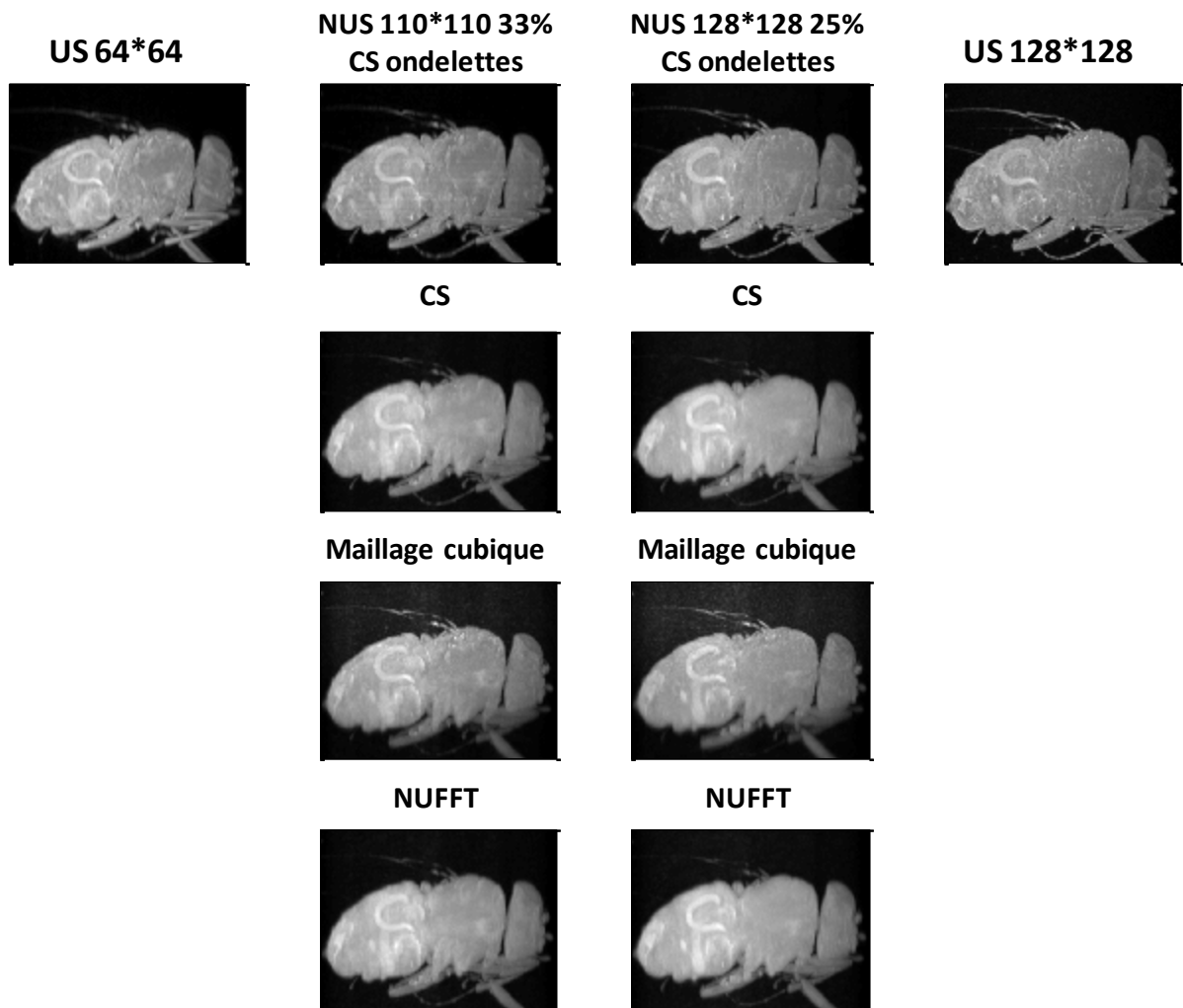


Figure 88 : Images acquises en 2 heures et 16 minutes en échantillonnage complet (aux extrémités droite et gauche) ou en sous échantillonnage de 33 % des points en colonne 2 et de 25 % des points en colonne 3 reconstruite par 4 méthodes : Compressed Sensing (CS) ondelettes, CS, maillage cubique et NUFFT.

La forme globale de l'image est bien conservée avec 25 et 33 % des points échantillonnés mais les images reconstruites par NUFFT et Compressed Sensing, ainsi que la moitié inférieure de l'image reconstruite par maillage cubique, paraissent légèrement floues. Des zooms sur des zones présentant de petits détails (les ailes et les pattes) sont présentés en Figure 89 et Figure 90.

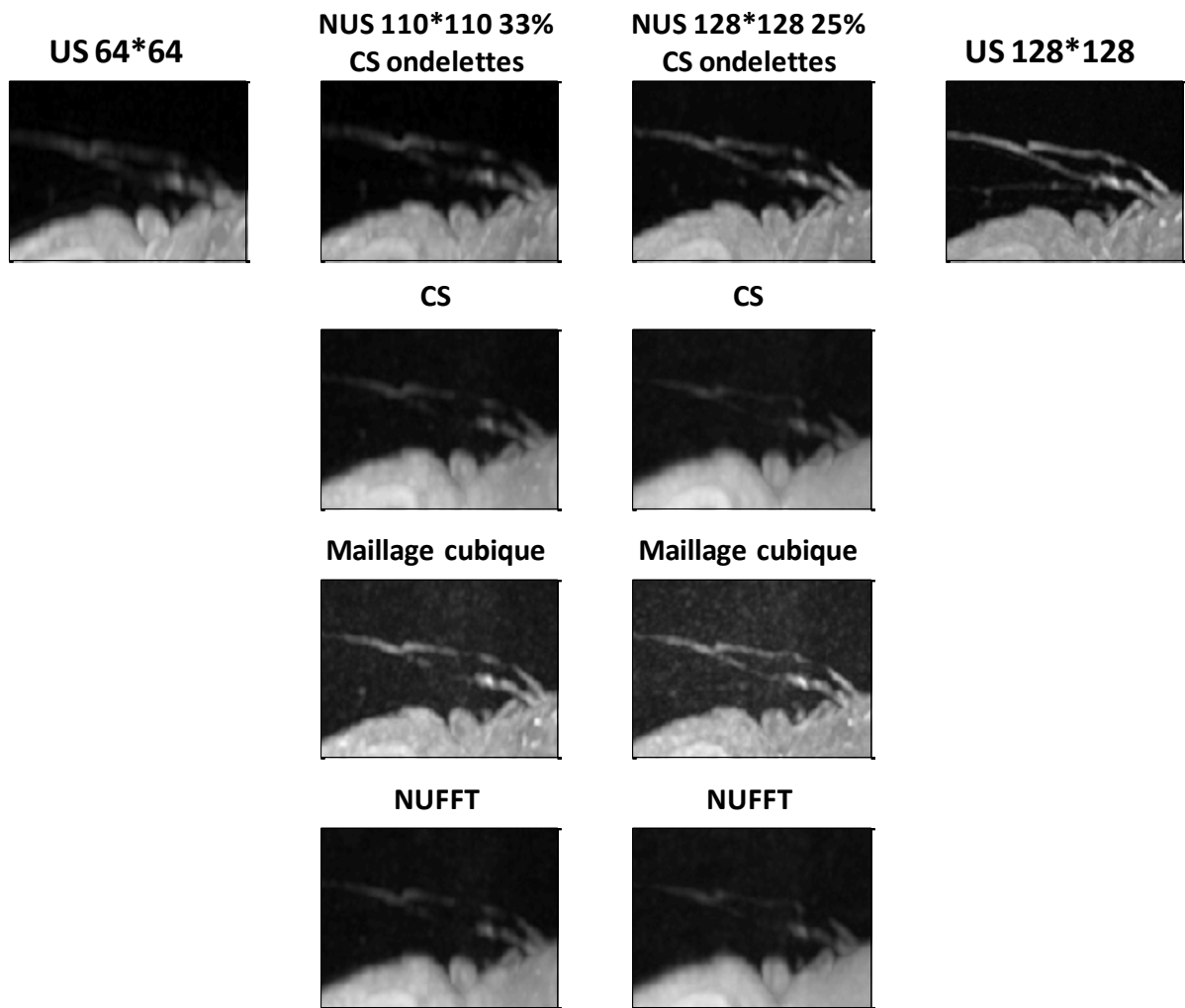


Figure 89 : Zoom sur la zone montrant l'aile de la drosophile.

Les ailes de la drosophile qui représentent des détails fins et intenses de l'image sont très bien restituées sur les deux images reconstruites par maillage cubique même si un bruit important est aussi observé. C'est ensuite la méthode de Compressed Sensing avec décomposition en ondelettes qui paraît la plus performante, et ce particulièrement pour 25 % de points acquis. Les méthodes CS et NUFFT permettent tout de même de distinguer certaines parties des ailes même si elles apparaissent moins intenses et floues. Le haut du thorax apparaît aussi flou par ces méthodes de reconstruction.

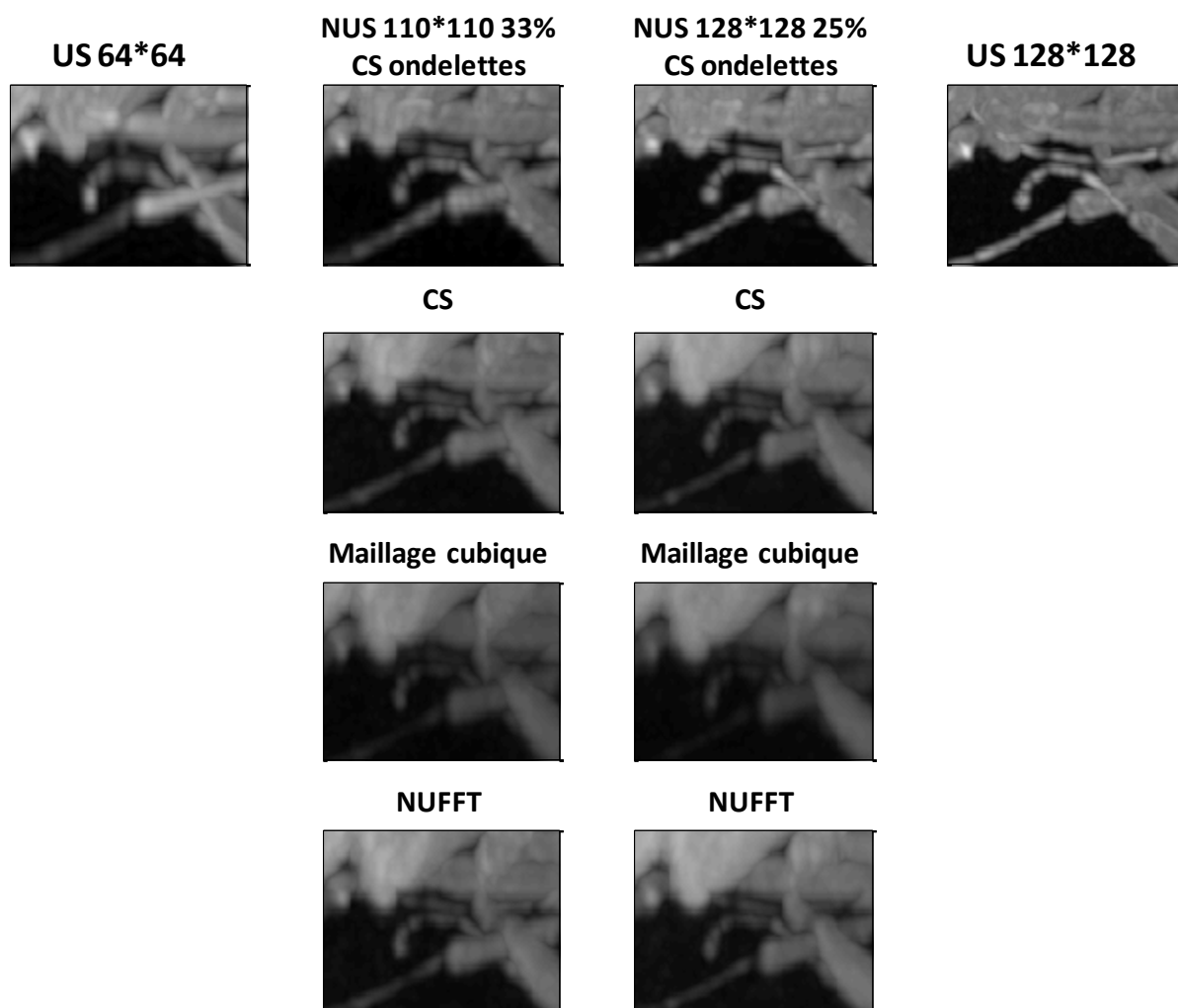


Figure 90 : Zoom sur la zone montrant une patte de l'insecte au niveau du bas du thorax.

Sur ces images, la meilleure reconstruction est clairement obtenue par la méthode de Compressed Sensing avec décomposition en ondelettes. La méthode de maillage cubique qui avait bien reconstruit les détails des ailes de la drosophile est ici la plus mauvaise et ne permet pas de distinguer les structures les plus fines. Les méthodes de NUFFT et Compressed Sensing dans le domaine de l'image donnent une image floue et le point de haute intensité en haut à gauche de l'image n'est pas visible.

D'un point de vue de la résolution de l'image reconstruite ainsi que de la restitution de l'intensité des différentes parties de l'image, c'est la reconstruction par Compressed Sensing avec décomposition en ondelettes qui donne les meilleurs résultats et ce, même avec 25 % seulement de points échantillonnés.

Cette efficacité supérieure de la méthode de Compressed Sensing intervient au prix d'un temps de reconstruction supérieur puisque sur un ordinateur portable avec processeur Intel i7 (2,7 GHz) et 16 Go de mémoire vive la reconstruction de l'image de la drosophile acquise avec $512 \times 128 \times 128$ points est reconstruite en moins de 2 minutes par le maillage cubique et le NUFFT et en environ 5 heures par CS et CS avec décomposition en ondelettes.

IV.2.1 Signal sur bruit

Le signal sur bruit des différentes images a été déterminé sur la projection 2D en divisant la valeur maximale du signal par la déviation standard d'une zone de bruit située au-dessus de l'abdomen.

Table 2 : Tableau regroupant les valeurs de Rapport Signal sur Bruit (SNR) pour chaque acquisition et chaque méthode de reconstruction. Le SNR est calculé par la valeur maximale de la projection 2D extraite divisé par la déviation standard d'une zone de bruit de l'image située au-dessus de l'abdomen. La valeur de SNR calculée pour le maillage cubique est donnée de façon indicative puisque le bruit n'est pas homogène dans l'image avec cette méthode de reconstruction.

US 64*64 16 accumulations	NUS 110*110 33 % 16 accumulations	NUS 128*128 25 % 16 accumulations	US 128*128 4 accumulations
262	CS ondelettes 233	CS ondelettes 105	101
	CS 88	CS 68	
	m. cubique 38	m. cubique 31	
	NUFFT 81	NUFFT 66	

En termes de rapport signal sur bruit, la méthode de reconstruction par CS avec décomposition en ondelette apparaît aussi meilleure que les autres. Cependant, le rapport signal sur bruit ($S/N = 105$) obtenu par cette méthode de reconstruction avec un échantillonnage de 25 % des points et 16 accumulations est inférieur à celui attendu pour l'échantillonnage complet uniforme avec le même nombre de scans ($S/N = 101 * \sqrt{4} = 202$). Ceci semble indiquer que la reconstruction à partir d'un espace réciproque sous échantillonné induit toujours l'apparition de bruit.

Le signal sur bruit de l'image acquise avec un échantillonnage partiel de 25 % des points est très proche de celui de l'image obtenue par échantillonnage complet du même espace réciproque avec 4 fois moins d'accumulations et donc dans le même temps d'expérience. Cette constatation est décevante puisque la résolution de l'image NUS est forcément inférieure à celle de l'image acquise en US et que son signal sur bruit n'est pas amélioré

Cette conclusion peut être nuancée car le signal sur bruit de l'image acquise en échantillonnage complet avec 4 accumulations est excellent ($S/N = 101$). Si les artefacts de reconstruction sont d'intensités proportionnelles au signal, cela peut expliquer qu'ils dominent le bruit électronique de l'image et conduisent à un rapport signal sur bruit dégradé. La comparaison des SNR aurait donc amenée à une conclusion différente si le SNR de l'image de référence avait été inférieur. De plus, l'intensité relative des artefacts incohérents et l'efficacité de la procédure de seuillage sont très dépendants de la parcimonie de l'image (dans le domaine utilisé pour la reconstruction) et cette conclusion est donc image dépendante.

V) CONCLUSION

La méthode de reconstruction par Compressed Sensing avec décomposition en ondelettes est sûrement la plus prometteuse pour des applications d'imagerie par résonance magnétique en raison de la parcimonie de la plupart d'entre elles après décomposition en ondelettes. Cependant, il est important de remarquer que l'efficacité de la reconstruction est dépendante de la parcimonie de l'image dans l'espace de reconstruction. La qualité d'une image reconstruite avec certains paramètres d'acquisition et de reconstruction pourra donc être altérée ou améliorée pour une image différente avec les mêmes paramètres.

Ces conclusions permettent de rationaliser les résultats obtenus lors de la simulation sur le fantôme Shepp Logan : l'excellente résolution obtenue par les méthodes de reconstruction par Compressed Sensing est probablement attribuable à la parcimonie importante de l'image dans l'espace direct (fréquentiel) : les détails permettant de juger de la résolution sont des pics fins et intenses dans une zone peu intense.

La très bonne qualité de la reconstruction de l'image 3D d'une drosophile par la méthode de Compressed Sensing avec décomposition en ondelettes permet de conclure positivement sur la capacité de cette méthode à reconstruire des images de bonne qualité de ce type d'objet pas spécialement parcimonieux dans l'espace direct.

Cependant, la conclusion est plus nuancée sur le signal sur bruit des images reconstruites puisque que celui-ci est équivalent au signal sur bruit de l'image acquise par échantillonnage complet avec quatre fois moins d'accumulations de signal. L'utilisation de l'échantillonnage partiel induit donc la présence d'artéfacts incohérents qui semble limiter le rapport signal sur bruit. L'intensité de ces artéfacts est différente en fonction de la méthode de reconstruction utilisée et une fois encore de la nature de l'image.

Pour les images à rapport signal sur bruit plus faible, lorsque le bruit électronique domine les artéfacts incohérents restant il est possible que l'utilisation de l'échantillonnage partiel puisse augmenter le rapport signal sur bruit. Cependant, dans ces conditions, les détails peu intenses risquent d'être éliminés par la procédure de seuillage du Compressed Sensing.

En résumé, même si l'échantillonnage partiel non uniforme et la reconstruction par CS semblent pouvoir être intéressants pour augmenter le rapport signal sur bruit et la résolution en micro-imagerie, son utilisation n'est pas triviale et beaucoup de paramètres peuvent influencer la qualité de l'image reconstruite. Comme celle-ci est dépendante de la nature de l'image il est difficile d'optimiser ces paramètres et impossible d'obtenir un jeu de paramètres optimaux pour toutes les images.

V.1. PERSPECTIVES

Plusieurs pistes peuvent cependant être testées pour améliorer les images obtenues par sous-échantillonnage et reconstruction de l'espace réciproque. La reconstruction par Compressed Sensing avec ou sans décomposition en ondelettes semble être l'une des meilleures méthodes et elle peut être améliorée à partir des pistes suivantes :

Les points acquis de l'espace réciproque sont définis aléatoirement (ou pseudo aléatoirement) et c'est généralement une bonne solution pour obtenir des artefacts incohérents. Cependant, il est possible que le hasard fasse que les points choisis donnent des artefacts importants. Il est possible de calculer une fonction d'interférence permettant de juger de l'incohérence des artefacts produits et donc de la qualité de l'échantillonnage. Ce calcul pourrait être ajouté au programme de création des listes de points pour s'assurer que les points aléatoires donnent bien des artefacts fortement incohérents.

Plusieurs paramètres de la méthode de Compressed Sensing n'ont pas été optimisés et notamment : le seuil de détection de l'opération de seuillage, le nombre d'itérations, et le paramètre ϵ qui contrôle la fidélité de l'espace réciproque reconstruit par rapport aux points acquis. Celui-ci devrait normalement être défini en dessous du niveau de bruit attendu.

Il n'existe pas d'opération mathématique exacte pour passer de l'espace réciproque sous échantillonné à l'image reconstruite. En revanche, de récentes études montrent que cette opération peut être effectuée pour une large gamme d'images par réseau de neurone.⁹ Cette approche est très récente (2017), mais pourrait être intéressante particulièrement pour la reconstruction des espaces réciproques de tailles restreintes ou la reconstruction par CS est moins efficace.

VI) REFERENCES

1. Fabich, H. T., Benning, M., Sederman, A. J. & Holland, D. J. Ultrashort echo time (UTE) imaging using gradient pre-equalization and compressed sensing. *J. Magn. Reson.* **245**, 116–124 (2014).
2. Lustig, M., Donoho, D. L., Santos, J. M. & Pauly, J. M. Compressed sensing MRI. *IEEE Signal Process. Mag.* **25**, 72–82 (2008).
3. Greengard, L. & Lee, J.-Y. Accelerating the Nonuniform Fast Fourier Transform *. *SIAM Rev. c Soc. Ind. Appl. Math.* **46**, 443–454 (2004).
4. Lustig, M., Donoho, D. & Pauly, J. M. Sparse MRI: The application of compressed sensing for rapid MR imaging. *Magn. Reson. Med.* **58**, 1182–1195 (2007).
5. Donoho, D. L. Compressed sensing. *IEEE Trans. Inf. Theory* **52**, 1289–1306 (2006).
6. Holland, D. J., Bostock, M. J., Gladden, L. F. & Nietlispach, D. Fast multidimensional NMR spectroscopy using compressed sensing. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **50**, 6548–6551 (2011).
7. Kazimierczuk, K. & Orekhov, V. Y. Accelerated NMR spectroscopy by using compressed sensing. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **50**, 5556–5559 (2011).
8. Usevitch, B. E. A tutorial on modern lossy wavelet image compression: foundations of JPEG 2000. *IEEE Signal Process. Mag.* **18**, 22–35 (2001).
9. Zhu, B., Liu, J. Z., Rosen, B. R. & Rosen, M. S. Image reconstruction by domain transform manifold learning. *Cambridge Companion to Kant Mod. Philos.* 28–60 (2017). doi:10.1017/CCOL052182303X.002

Chapitre 5 :

Spectroscopie localisée en MAS

Dans les chapitres précédents, nous nous sommes intéressés à la combinaison de différentes méthodes d'imagerie par résonance magnétique avec la rotation à l'angle magique et à son application pour la micro-imagerie des systèmes rigides. Ce cinquième chapitre concerne la combinaison de la rotation à l'angle magique avec une autre application importante des gradients de champ magnétique impulsionnels : la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) localisée spatialement. Cette méthode sera utilisée ici pour étudier *in vivo* et de façon localisée le métabolome de drosophiles modèles de pathologies neurodégénératives.

Les maladies neurodégénératives sont extrêmement invalidantes et pour certaines en nette augmentation dans les pays industrialisés. Lorsqu'une mutation génétique est impliquée dans le développement d'une maladie, ce qui est le cas pour les maladies d'Alzheimer¹, de Huntington et bien d'autres², il est possible d'étudier des modèles animaux afin de comprendre l'effet de cette mutation et en particulier à des stades présymptomatiques.³ Depuis une dizaine d'années, outre les modèles développés chez le singe ou le rongeur, de nombreuses maladies neurodégénératives ont pu être modélisées avec succès chez la drosophile. Les conséquences aux stades précoces des maladies neurodégénératives (avant que les neurones ne dégèrent) sur le métabolome sont mal connues, car leur étude nécessite des approches biochimiques lourdes et invasives. Seule la spectroscopie RMN en rotation à l'angle magique (MAS) permet d'obtenir en un temps court le profil métabolique d'un tissu organique sans préparation d'échantillon. Dans ce contexte, la localisation de cette information métabolique est importante et il est possible de l'obtenir grâce à l'utilisation de gradients de champ magnétique.

I) RMN ET METABOLOMIQUE

I.1. CONTEXTE

Au cours des dix dernières années, la recherche en biologie a évolué. L'étude des gènes (génomique), des ARNm (transcriptomique) et des protéines (protéomique) sont maintenant complétées par l'étude des métabolites (métabolomique).⁴ La métabolomique est l'étude des métabolites qui sont les petites molécules (de masse inférieure à 1000 Daltons) produites par le métabolisme et qui reflètent la réponse d'un organisme à un stimulus ou à une pathologie.

La RMN ^1H est un outil de choix pour l'analyse métabolomique car elle permet une analyse non sélective de toutes les molécules contenant des atomes d'hydrogène.⁵ Ces études métabolomiques sont principalement réalisées par RMN liquide, car les mouvements browniens des molécules en solution annulent les composantes anisotropes des interactions permettant ainsi d'obtenir des résonances très fines (quelques Hertz) et donc une bonne résolution spectrale, ainsi que de bénéficier d'une bonne sensibilité (concentration μ -molaire).

Les analyses métabolomiques sont aussi effectuées par spectrométrie de masse couplée à de la chromatographie qui permet une détection des métabolites à des concentrations beaucoup plus faibles que la RMN. En revanche, ces techniques n'offrent pas la répétabilité excellente et la non-sélectivité de la RMN.^{6,7} La non-sélectivité de la RMN en fait une méthode de choix pour le profilage métabolomique : l'identification et la quantification d'une gamme importante de métabolites.

La RMN ^1H solide combinée avec la rotation à l'angle magique permet de moyenniser les effets de susceptibilité magnétique et les interactions anisotropes résiduelles dans les échantillons semi-solides hétérogènes et a aussi été utilisée pour analyser le profil métabolomique de tissus non transformés, de cellules vivantes et des petits organismes.^{8,9} Plusieurs organismes ont été étudiés par RMN en rotation à l'angle magique et les principaux sont les vers *C. elegans*^{10,11} et la drosophile : *Drosophila melanogaster*^{12,13}.

I.1.1 Étude métabolomique de la drosophile

L'intérêt d'étudier le métabolome (ensemble des métabolites) de ces petits organismes provient du fait qu'ils sont très utilisés comme modèles animaux pour l'étude de différentes maladies. En effet, même si une drosophile apparaît comme très différente d'un être humain, plus de 70 % des gènes impliqués dans des pathologies humaines ont des équivalents chez la drosophile. De plus, il est relativement facile d'exprimer de manière tissu spécifique chez la drosophile des versions malades de gènes humains responsables de pathologies. Cela a été fait notamment dans le cas de la maladie de Parkinson.¹⁴ L'étude des changements du métabolome de ces modèles animaux permet de mieux comprendre l'effet

des modifications génétiques impliquées dans certaines maladies, et ce, particulièrement à des stades précoces de leur développement.

I.2. RMN EN ROTATION A L'ANGLE MAGIQUE DE LA DROSOPHILE

I.2.1 Spectre RMN haute résolution

La RMN ^1H MAS a été proposée comme méthode permettant de quantifier *in vivo*, et de façon non invasive, les métabolites d'une drosophile.^{12,13} En effet, si la vitesse de rotation est limitée, ici à 2,6 kHz, et que l'animal est maintenu au centre du rotor afin de minimiser les forces centrifuges, il est possible d'obtenir le spectre RMN ^1H MAS d'une drosophile vivante. Les spectres en condition statique et MAS à 2630 Hz sont présentés en Figure 91 c.

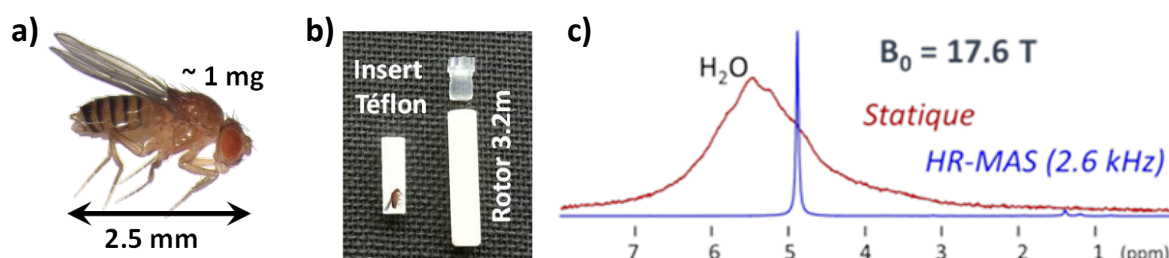


Figure 91 : (a) Photographie d'une drosophile mélanogaster, (b) rotor et insert permettant de maintenir la drosophile au centre du rotor. (c) Spectre RMN ^1H d'une drosophile en condition statique et en rotation à 2630 Hz à 17,6 T. Le pic observé est celui de l'eau.

Un avantage important de l'utilisation de la RMN MAS est de ne pas avoir besoin de préparer d'échantillon ce qui peut modifier la nature ou les quantités de métabolites présents qui le composent. De plus, la possibilité d'étudier le métabolisme *in vivo* permet d'éviter les modifications de celui-ci liées à la mort de l'organisme.

L'élargissement de la raie de résonance RMN statique de l'eau dans la drosophile est principalement attribuable aux inhomogénéités de susceptibilité magnétique et aux couplages dipolaires résiduels présents dans les tissus mous. Après suppression du signal de l'eau par une impulsion sélective longue (1 seconde) et un écho de spin d'une période de rotation permettant d'éliminer les signaux de T_2' court, le spectre RMN ^1H *in vivo* des métabolites d'une drosophile est obtenu et présenté en Figure 92. Sans saturation de l'eau, son pied de pic masque les signaux de nombreux métabolites et la gamme dynamique importante des signaux diminue la sensibilité de l'expérience.

1.2.2 Identification des métabolites

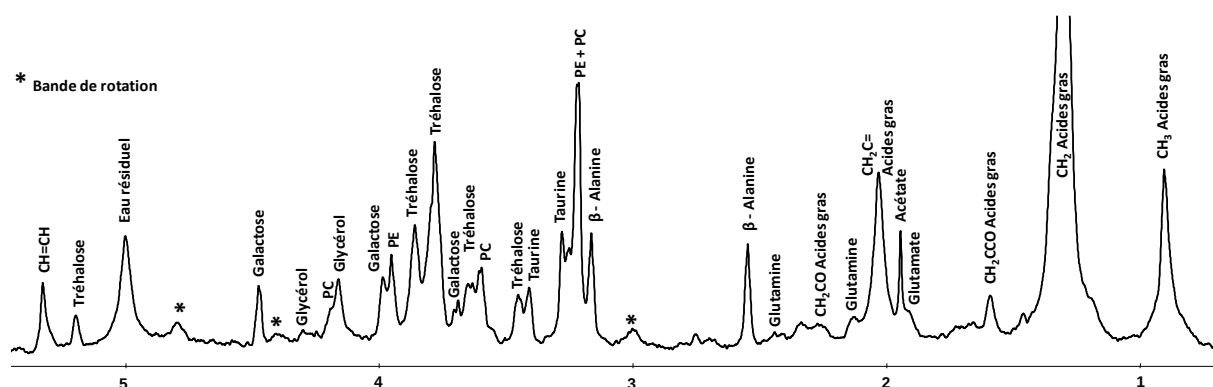


Figure 92 : Spectre ^1H d'une drosophile mâle entière, in vivo, en rotation à 2630 Hz acquise par un écho de spin avec suppression de l'eau.

Ce spectre présente de nombreuses résonances qui ont été attribuées grâce à la littérature¹² et à des spectres 2D de corrélation homonucléaire ^1H - ^1H TOBSY (de l'anglais : Total through Bond correlation Spectroscopy).¹⁵ Ce spectre est présenté en Figure 93.

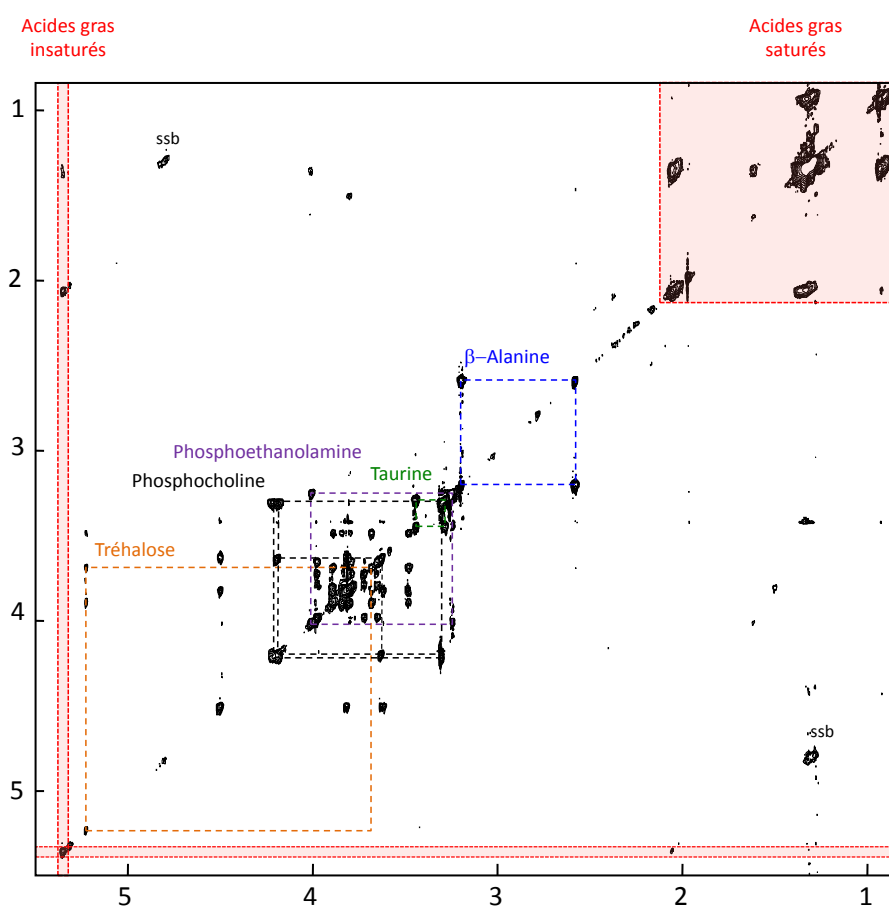


Figure 93 : Spectre RMN 2D ^1H de corrélation homonucléaire ^1H - ^1H TOBSY (Total Trough Bond Correlation Spectroscopy) d'une drosophile permettant l'attribution des différents métabolites principaux.

Le spectre RMN ^1H 1D d'une drosophile entière est complexe et présente d'importants recouvrements entre les résonances. Les raies de résonance des principaux métabolites sont tout de même directement identifiables et quantifiables.

Cependant, certaines résonances ^1H sont recouvertes par des raies voisines et ne peuvent donc pas être attribuées ou quantifiées précisément. Cette limitation est habituellement surmontée à l'aide d'expériences multidimensionnelles telles que les expériences bidimensionnelles (2D) de corrélation homonucléaires (^1H - ^1H) ou hétéro-nucléaires (^1H - ^{13}C) qui fournissent une résolution spectrale améliorée et qui, de plus, permettent d'identifier les connectivités chimiques entre les résonances. Cependant, ces spectres permettent plus difficilement la quantification absolue des métabolites en raison des temps d'évolution et des différences d'efficacité du transfert d'aimantation en fonction des différents environnements chimiques.¹⁶

Il est aussi possible d'ajouter une dimension de localisation spatiale du signal RMN afin d'augmenter la résolution spectrale, particulièrement dans le cas de l'analyse d'un organisme entier où la répartition spatiale des métabolites n'est pas uniforme. De plus, l'ajout d'une dimension spatiale fournit des informations supplémentaires sur la localisation des métabolites dans des zones spécifiques de l'organisme et permet ainsi d'identifier des changements subtils de concentrations des métabolites en fonction de leur localisation.

I.3. SPECTROSCOPIE LOCALISEE IN VIVO DE LA DROSOPHILE

I.3.1 Positionnement et maintien de la drosophile

Pour diminuer les effets de centrifugation dus à la rotation à l'angle magique, la drosophile est placée dans un insert en Téflon qui la maintient au centre du rotor. Cet insert permet aussi de maintenir l'axe antéro-postérieur (allant de la tête à l'abdomen en passant par le thorax) parallèle à l'axe MAS selon le schéma présenté en Figure 94.

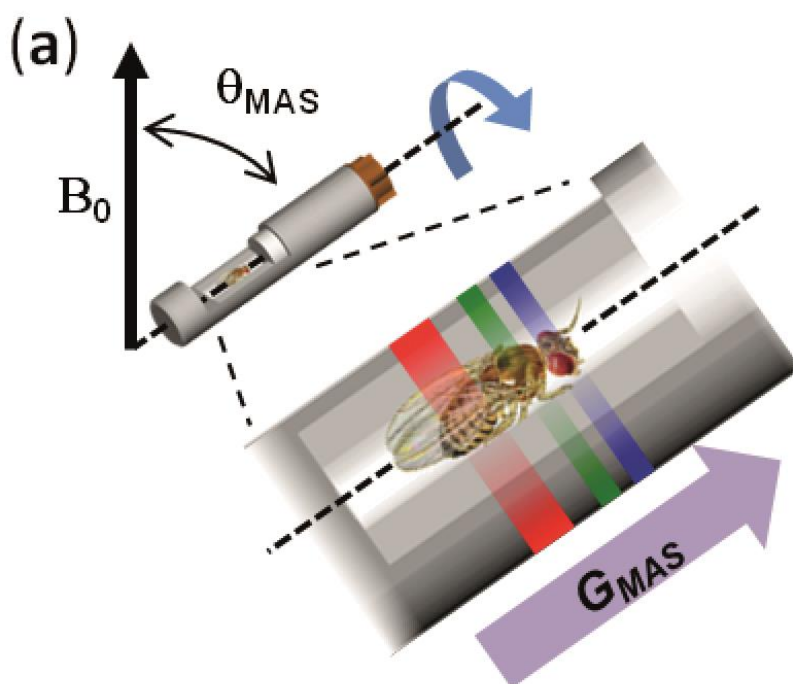


Figure 94 : Schéma présentant l'orientation d'une drosophile maintenue dans un insert lui-même placé dans un rotor 3,2 mm.

Une localisation du signal RMN des métabolites selon l'axe antéro-postérieur de la drosophile peut donc être obtenue par un gradient appliqué selon l'axe MAS.

I.3.2 Localisation monodimensionnelle par encodage de phase

Le spectre 2D avec une dimension spatiale et une dimension spectrale a été obtenu par la séquence d'écho de spin avec un encodage de phase selon l'axe MAS (présentée en Figure 95). Ce type de spectre est appelé CSI de l'anglais Chemical Shift Imaging. Le gradient dans la direction MAS est obtenu par la combinaison linéaire des trois gradients du laboratoire. Une impulsion longue de saturation d'eau est ajoutée avant la séquence d'écho (en bleu sur le schéma de la séquence) et permet de saturer l'aimantation de l'eau et donc d'en éliminer la résonance sur le spectre RMN.

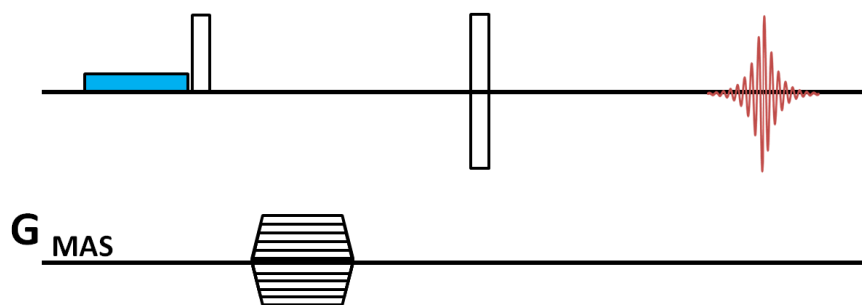


Figure 95 : Séquence d'imagerie de déplacement chimique (CSI) monodimensionnelle selon l'axe MAS avec saturation d'eau, conduisant à l'obtention d'un spectre 2D avec une dimension spectrale (directe) et une dimension spatiale (indirecte).

Les spectres bidimensionnels d'une drosophile mâle et d'une drosophile femelle résultant de cette séquence sont présentés en Figure 96.

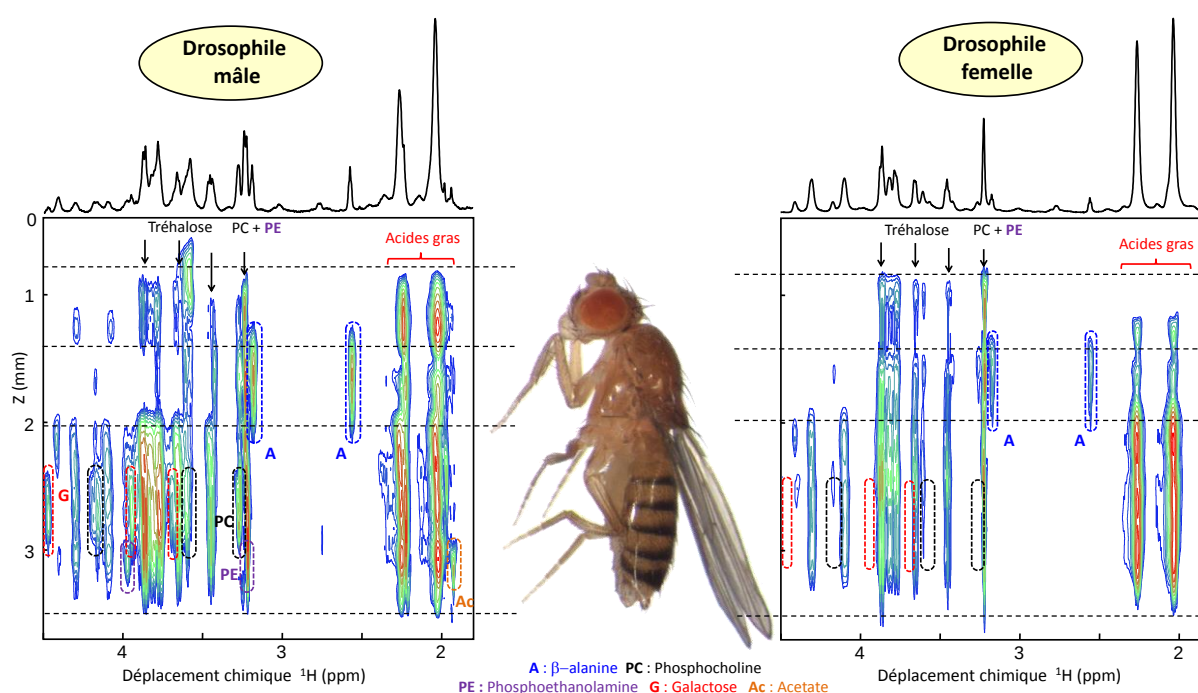


Figure 96 : Spectres 2D d'imagerie de déplacement chimique proton de la drosophile avec une dimension spectrale (horizontale) et une dimension spatiale (verticale). À gauche une drosophile mâle, à droite une femelle. On observe de nombreux pics (entourés) caractéristiques des organes génitaux du mâle. Ces cartes ont été acquises en 3,5 heures avec 46 incréments de gradients et 128 accumulations par incrément.

Cette séquence d'imagerie de déplacement chimique monodimensionnelle permet de visualiser la répartition spatiale des métabolites le long de l'axe antéro-postérieur du corps de la drosophile. L'utilisation d'un très haut champ magnétique (17,6 T) augmente la résolution spectrale et la sensibilité permettant ainsi d'obtenir une résolution spatiale de 189 μm en 3,5 heures. Ce temps d'acquisition est suffisamment court pour que la drosophile reste vivante tout au long de l'acquisition.

I.3.3 Segmentation biochimique de la drosophile

Le corps de la drosophile est segmenté en trois parties (tête, thorax et abdomen) qui se distinguent facilement sur les spectres 2D CSI par la présence de deux résonances (triplets) très visibles à 2,56 et 3,19 ppm, correspondant aux signaux des CH₂ de la β -alanine et localisées uniquement dans le thorax. La β -alanine étant impliquée dans le métabolisme des muscles elle est majoritairement présente dans le thorax auquel sont rattachées les ailes et les pattes de la drosophile. Ces résonances nous permettront dorénavant de distinguer les trois zones principales du corps de la drosophile sur les spectres 2D CSI.

Ces spectres révèlent également que des concentrations plus importantes de phosphoéthanolamine (PE) et d'acétate (ou d'acétyl) (Ac) sont présentes dans l'abdomen des mâles par rapport à celui des femelles. De plus, plusieurs résonances ¹H attribuées à un galactoside (Gal)¹⁷ sont présentes uniquement dans l'abdomen des mâles et absentes de celui des femelles. Ces différences de quantité ou l'absence des résonances du galactoside suggèrent que la phosphoéthanolamine, l'acétate (ou acétyl) et le galactoside correspondent aux métabolites caractéristiques de l'appareil reproducteur masculin.

La région dans laquelle est observée le galactoside est différente de celle où sont observés les autres métabolites associés aux organes reproducteurs mâles. Cette séparation indique que les organes reproducteurs mâles peuvent être décomposés en deux régions distinctes contenant des métabolites différents.

Le système reproducteur mâle se compose de gonades (testicules), de structures accessoires (glandes paragoniales, vésicules séminales) et de voies génitales (canal éjaculateur, pompe à sperme et pénis). Les spectres ^1H MAS de ces organes disséqués et isolés en trois fractions : testicules, glandes paragoniales et pénis, ont été enregistrés et les résonances de ^1H caractéristiques de l'Ac et du PE ont été principalement observées dans le pénis (cf. Figure 97 spectre rouge), tandis que des signaux intenses du galactoside et de la phosphocholine ont été détectés dans les glandes paragoniales et les testicules (cf. Figure 97 spectre jaune et vert).

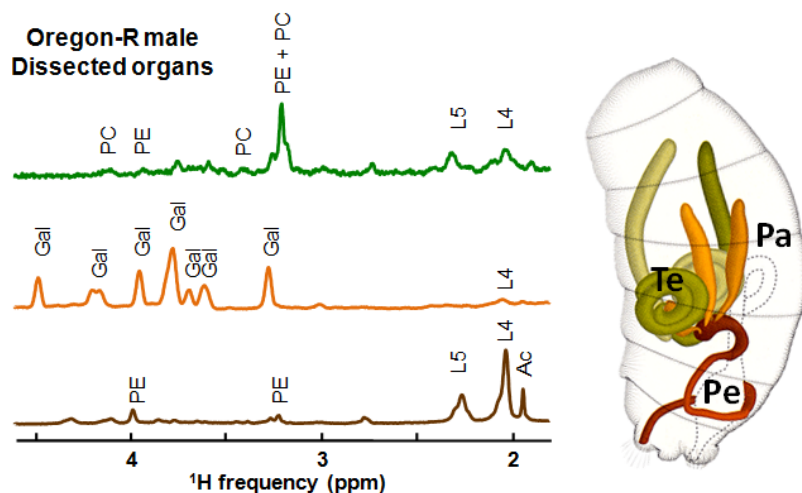


Figure 97 : Spectres RMN ^1H des différents organes reproducteurs du mâle disséqués et isolés. Vert : testicules, orange : glandes paragoniales, Rouge : pénis. Schéma de l'abdomen d'une drosophile mâle.

La répartition des métabolites le long de l'axe antéropostérieur du corps de mouche observée dans les spectres 2D MAS CSI reflète clairement l'anatomie de l'abdomen mâle. Les spectres 2D CSI se révèlent donc suffisamment résolus spatialement pour identifier l'empreinte métabolomique d'un organe d'une drosophile ! Cette méthode peut donc être utilisée pour du profilage métabolomique localisé au niveau de l'organe *in vivo* sur une drosophile.

II) ÉTUDE DE MODELES DE MALADIES NEUROVEGETATIVES

II.1. PATHOLOGIES CIBLEES

Trois modèles de maladies neurodégénératives réalisés chez la drosophile ont été étudiés. Ces modèles ont été obtenus grâce à des animaux transgéniques qui ont intégré dans leur génome soit un transgène correspondant à l'allèle malade du gène humain responsable de la pathologie soit un transgène qui va empêcher l'expression d'un gène endogène de la drosophile et ainsi induire la pathologie. Ces transgènes doivent être exprimés spécifiquement dans le même type de cellules que la pathologie humaine que l'on cherche à modéliser. C'est pourquoi l'expression des transgènes est soumise à un contrôle particulier qui dérive de la levure *Saccharomyces cerevisiae* (système *UAS/Gal4*)^{18,19}. L'expression du transgène ne sera activée que lorsque la protéine de levure Gal4 sera présente. Les modèles seront donc obtenus par croisement entre une drosophile qui contient le transgène d'intérêt responsable de la pathologie et une drosophile qui porte un transgène permettant de produire la protéine Gal4 seulement dans un type cellulaire donné. Les descendants du croisement (F1) seront alors capables d'exprimer le transgène d'intérêt dans un type cellulaire donné et pas ailleurs, comme présenté schématiquement en Figure 98.

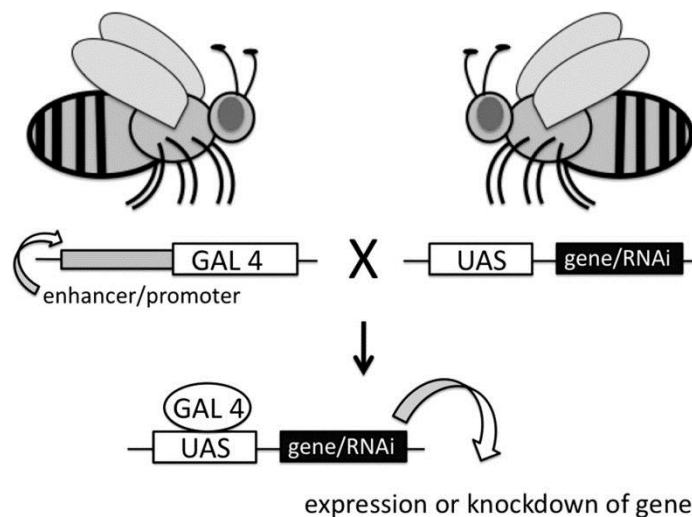


Figure 98 : figure extraite de : [Comparative approaches to the study of physiology: Drosophila as a physiological tool](#)²⁵

Afin de comparer les individus malades provenant d'un croisement entre 2 parents de génotypes différents, deux témoins seront nécessaires, chacun correspondant à l'un des parents. Ces témoins seront générés par croisement entre la souche possédant le transgène *Gal4* et une souche « normale » non transgénique ainsi que par croisement entre la souche portant le transgène d'intérêt et la souche « normale ». Un schéma présentant la filiation des drosophiles malades et témoins 1 et 2 est présenté Figure 99.

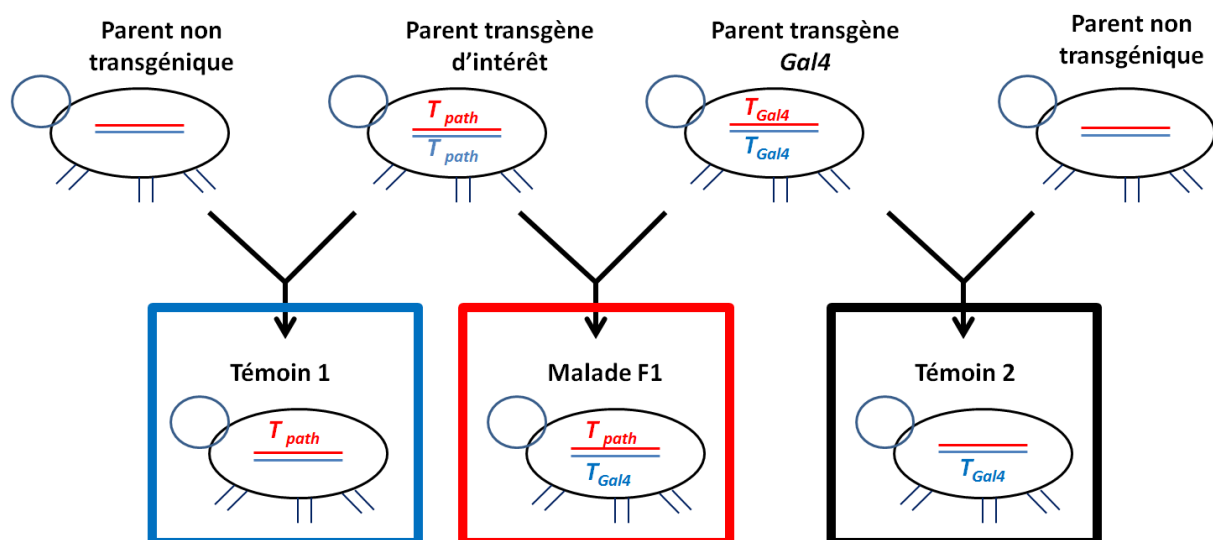


Figure 99 : Schéma de filiation des drosophiles malade et témoins 1 et 2. Le transgène induisant l'expression de Gal4 est nommé T_{Gal4} et le transgène impliqué dans une pathologie nécessitant une activation par Gal4 est nommé T_{path} .

Dans toute la suite de ce chapitre, les drosophiles malades seront associées à la couleur rouge, les témoins exprimant la protéine Gal4 à la couleur noire et les témoins possédant le transgène d'intérêt à la couleur bleue.

Trois modèles de pathologies ont été étudiées :

- (1) Un modèle de neurotoxicité du glutamate²⁰ dans les cellules gliales impliquées dans la sclérose latérale amyotrophique. Les deux lignées à croiser pour obtenir cette mutation sont : la lignée *dEEAT1-Gal4*, nommée Mx qui induit l'expression de Gal4 dans une sous population de cellules gliales et la lignée *UAS-dEEAT1-IR* qui contient le transgène dont l'expression empêche la capture du glutamate libéré par les neurones et induit ainsi une augmentation de glutamate libre, nommée P88. Le croisement de ces deux lignées produit une descendance : *dEEAT1-Gal4 ; UAS-dEEAT1-IR* ou MxP88. Les drosophiles femelles ont été étudiées, car les mâles de cette lignée meurent très vite. Les drosophiles sont étudiées à l'âge de 10 jours, car à 12 jours un pic de mortalité est observé.

Lignée	Nombre d'individus étudiés
<i>dEEAT1-Gal4 ; UAS-dEEAT1-IR</i> ou MxP88	10
<i>UAS-dEEAT1-IR</i> ou P88	8
<i>dEEAT1-Gal4</i> ou Mx	8

- (2) Un modèle de la maladie de Huntington (ou Chorée de Huntington) est obtenu par l'expression panneuronale de *htt-93Q* (*htt-93Q_{elav}*), par croisement entre des drosophiles *elav-Gal4* (exprimant la protéine Gal4 uniquement dans les neurones) et des drosophiles *htt-93Q*. Pour obtenir une modification importante du métabolome, les drosophiles femelles ont été étudiées âgées de 16 jours.

Lignée	Nombre d'individus étudiés
<i>elav-Gal4 ; UAS-htt-93Q ou htt93Qelav</i>	10
<i>UAS-htt-93Q ou htt93Q</i>	9
<i>elav-Gal4 ou elav</i>	9

(3) L'expression de *htt-93Q* dans les cellules gliales (*httP88*) obtenue par les croisements des lignées *dEEAT1-Gal4* ou *Mx* et *htt93Q*.

Lignée	Nombre d'individus étudiés
<i>dEEAT1-Gal4 ; UAS-htt-93Q ou httP88</i>	11
<i>UAS-htt-93Q ou htt93Q</i>	10
<i>dEEAT1-Gal4 ou P88</i>	10

Pour chacun des groupes, des spectres localisés ont été acquis pour un minimum de 8 individus afin de pouvoir conclure sur les variations intergroupes malgré la variabilité intrinsèque à l'étude d'individus uniques.

II.2. METHODE

II.2.1 Paramètres d'acquisition

Des spectres 2D MAS CSI ont été enregistrés dans des conditions expérimentales identiques (impulsion RF, gain, nombre d'incrément...) pour toutes les drosophiles (malades et contrôles) permettant l'étude de l'expression d'un transgène impliqué dans une pathologie.

Chaque spectre a été enregistré en 3,5 heures avec 64 incréments de gradient d'encodage de phase, 128 accumulations par incrément et un délai de répétition de 1,5 seconde. Le temps d'écho de la séquence est de 10,6 ms, ce qui permet d'utiliser une impulsion de gradient de 400 μ s avec une amplitude maximale de 29,5 Gauss.cm⁻¹, correspondant à un champ de vue de 10 mm avec une résolution spatiale de 189 μ m. Le temps d'écho est très long par rapport au temps de l'impulsion de gradient pour éviter toute déformation du spectre induite par les courants de Foucault. Durant toute la durée d'acquisition, la température de la drosophile est régulée à 4 °C pour la maintenir anesthésiée.

La fréquence de rotation MAS est de 2630 Hz pour l'étude de la pathologie (3) : l'expression de *Htt93Q* dans les cellules gliales. Cependant, pour les modèles génétiques (1) et (2) les drosophiles malades sont plus fragiles et la fréquence de rotation MAS a donc été fixée à 1280 Hz pour éviter la mort de la drosophile pendant l'analyse notamment due à la rupture de son l'abdomen sous l'effet des forces centrifuges. Pour ces études à fréquence de rotation réduite, une séquence de suppression de bande de rotation (TOSS, Total

Suppression of Sidebands)²¹ a été combinée avec la séquence CSI pour diminuer l'intensité des bandes de rotation. Les délais numéro 4 (et donc 5) de la séquence d'impulsions présentée Figure 100 ont été rallongés d'une période de rotation (780 μ s à une fréquence de 1280 Hz) de façon à pouvoir appliquer l'impulsion de gradients d'encodage de phase.

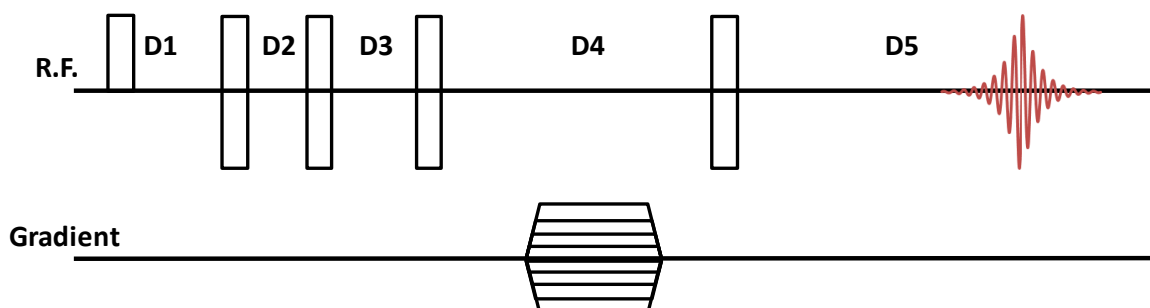


Figure 100 : Séquence d'impulsion correspondante à la séquence TOSS 1D CSI. Les délais utilisés sont : $D1 = 0,12275 P_{rot}$, $D2 = 0,07746 P_{rot}$, $D3 = 0,22368 P_{rot}$, $D4 = 1+0,04311 P_{rot}$, $D5 = 1+0,7741 P_{rot}$.

Toutes ces expériences ont été réalisées sur un spectromètre Bruker AVANCE III HD fonctionnant à un champ magnétique de 17,6 T (fréquence de Larmor du ^1H de 750,13 MHz) avec une sonde de micro-imagerie MAS de résonance double de 3,2 mm et un système de gradient Bruker Micro 2.5 (3 axes, 2,5 Gauss/cm/A, 40 A/axe).

Le champ radiofréquence des deux impulsions est de 20 kHz et la gamme spectrale acquise en dimension directe est de 10 kHz. Chaque spectre a été référencé de façon secondaire en utilisant la résonance de la phosphocholine à 3,21 ppm par rapport au TMS. La suppression de l'eau a été effectuée avec une impulsion longue (1 seconde) de basse puissance. Les données ont été complétées de zéros de façon à doubler le nombre de points acquis et une apodisation mono exponentielle décroissante avec un paramètre induisant un élargissement de la résonance de 2 Hz a été utilisée en dimension directe.

II.2.2 Intégration localisée

Les spectres 2D CSI ont été intégrés séparément sur les trois segments du corps de la drosophile (tête, thorax et abdomen) de façon à obtenir trois spectres 1D localisés. La zone du thorax, définie par la présence de β -alanine, permet une séparation claire des trois segments.

La ligne de base des spectres 1D a été corrigée sur Matlab R2013B avec une fonction d'interpolation « spline » calculée à partir d'une liste de points de ligne de base identique pour tous les spectres permettant l'étude d'une mutation pathologique. Les pics correspondant aux quatre métabolites principaux : les acides gras, le glycérol lié, le tréhalose et la phosphocholine ont ensuite été intégrés pour en déterminer l'aire.

Les acides gras sont caractérisés par cinq résonances intenses qui ont été séparées en deux variables. La première correspond aux aires additionnées des deux raies de la partie aliphatique des acides gras : celles des CH_2 à 1,3 ppm et celle des CH_3 à 0,9 ppm, en rouge sur la Figure 101. La seconde correspond aux protons voisins de carbone sp^2 présents dans

les acides gras : les CH₂ des fonctions CH₂COOH, CH₂CH et CH₂CO colorés en orange sur la Figure 101. Cette distinction permet de tenir compte, si nécessaire, d'un changement relatif d'intensité entre les parties aliphatiques et les parties insaturées des acides gras si cela se produit.

Ces acides gras sont entre autres présents sous forme de triglycérides et sont donc liés par du glycérol. Le glycérol lié est caractérisé par trois résonances à 4,10 ; 4,31 et 5,24 ppm correspondant respectivement aux deux groupements CH₂ et au groupement CH et identifiés en violet sur la Figure 101. Comme le glycérol est lié aux acides gras, leurs intensités sur le spectre varient souvent de manière corrélée.

La phosphocholine est caractérisée par une seule résonance très intense à 3,21 ppm correspondant à sa fonction CH₃ en bleu sur la Figure 101.

Et le tréhalose est caractérisé par 4 résonances identifiées en vert sur la Figure 101 dont un massif complexe incluant plusieurs raies de résonance protoniques.

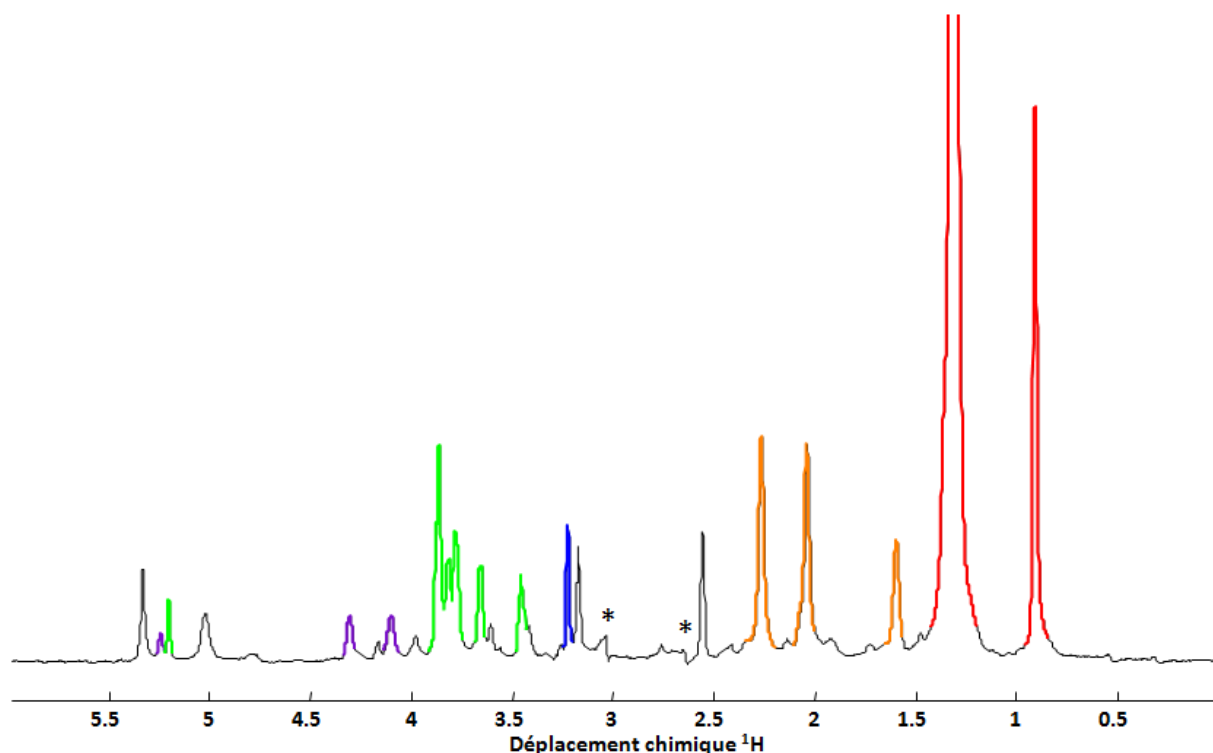


Figure 101 : moyennes des spectres RMN ¹H des thorax des individus drosophile malades « F1mxP88 » avec les régions d'intégration en couleurs. Les résonances des CH₂ de la β-alanine à 2,56 et 3,19 ppm ne sont pas intégrées, car ils sont présents uniquement dans le thorax. La raie correspondant au CH=CH des acides gras à 5,33 ppm n'est pas intégrée non plus.

Les aires des résonances RMN obtenues par intégration sont additionnées pour chaque métabolite afin d'obtenir une seule variable par métabolite (et deux variables pour les acides gras). Aucune normalisation n'est effectuée à ce stade : les raies de résonances peu intenses d'un métabolite ont donc moins de poids que les raies intenses du même métabolite.

II.3. RESULTATS

II.3.1 Modèle de toxicité du glutamate

Les différences entre les spectres 1D localisés des malades et des témoins peuvent être observées sur la moyenne des spectres des trois groupes (malade et témoins P88 et Mx).

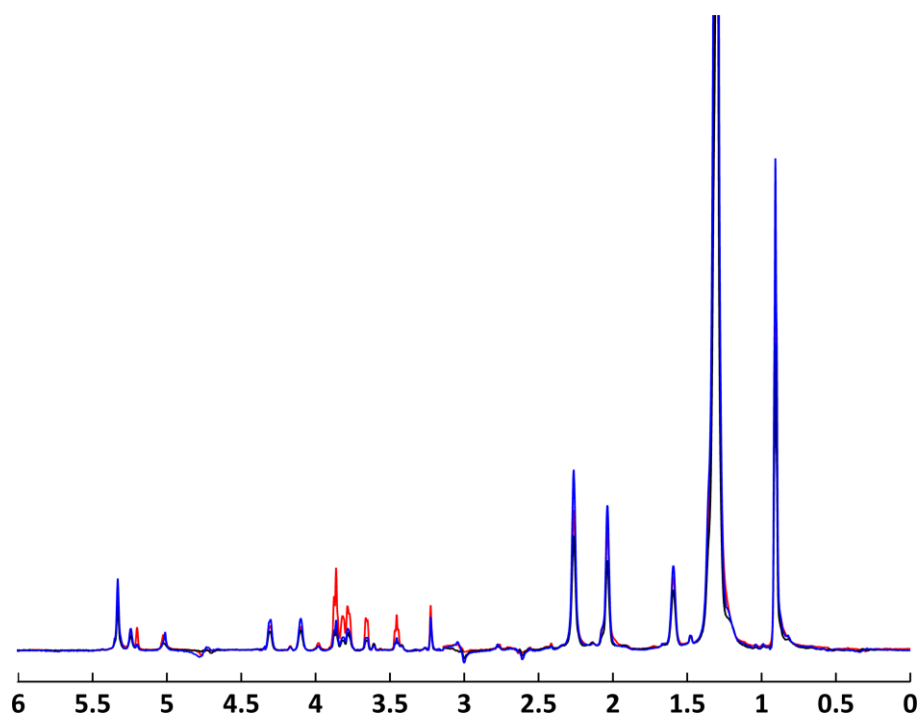


Figure 102 : spectres moyens de chacun des groupes de la mutation MxP88 localisés dans la tête des drosophiles. En rouge les malades, en bleu les témoins P88 et en noir les témoins Mx (Gal4).

Les spectres moyens localisés dans la tête des drosophiles MxP88 montrent que les raies de résonance correspondant au tréhalose sont clairement d'intensité supérieure chez les malades (spectre rouge) par rapport aux témoins (spectres bleu et noir). L'affichage du spectre moyen de chacun des groupes permet de diminuer l'effet de la variabilité intragroupe intrinsèque à l'analyse d'un individu biologique unique. L'augmentation du taux de tréhalose est donc probablement significative. Cette comparaison des spectres moyens peut être effectuée pour les différents segments du corps de la drosophile afin de déterminer si ces variations sont homogènes sur tout le corps de la drosophile.

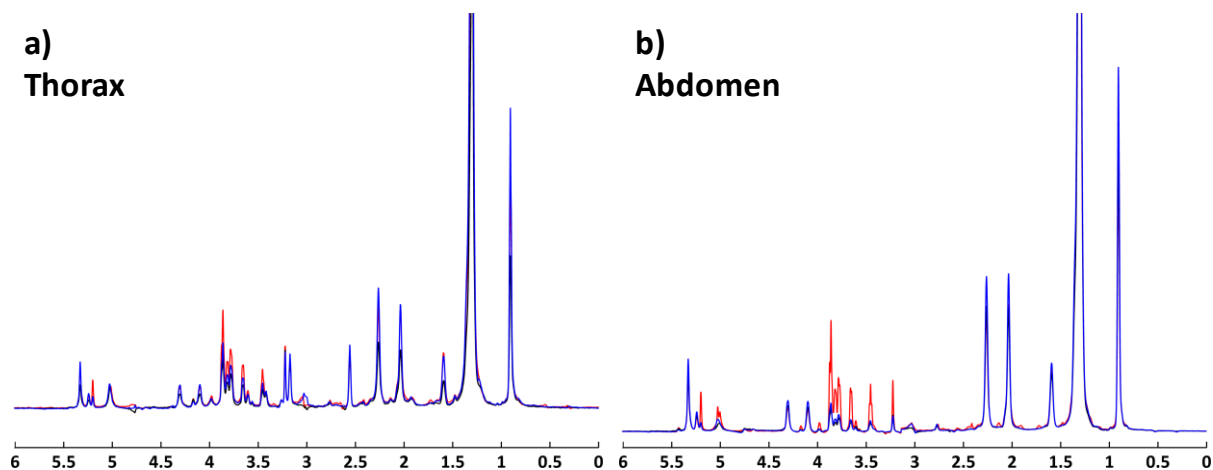


Figure 103 : spectres moyens de chacun des groupes de la mutation MxP88 localisés dans a) le thorax et b) l'abdomen des drosophiles. En rouge les malades, en bleu les témoins P88 et en noir les témoins Mx (Gal4).

Cette comparaison permet d'observer que l'augmentation de l'intensité des raies de résonance du tréhalose n'est pas homogène sur la totalité du corps de la drosophile mais plus marqué dans l'abdomen et moins dans le thorax. Une augmentation de l'intensité de la résonance de la Phosphocholine (à 3,2 ppm) est aussi clairement visible dans l'abdomen alors qu'elle n'était que légèrement marquée dans la tête.

II.3.2 Représentation en tableau de points

Afin de tenir compte de la variabilité intragroupe, mais aussi pour produire un résultat plus quantitatif que la simple analyse visuelle des spectres moyens, les différentes raies de résonance des métabolites ont été intégrées selon les zones présentées en Figure 101. La somme des aires des pics d'une variable (correspondante à un métabolite) est ensuite normalisée à 100 sur l'ensemble des drosophiles de l'étude (malades et contrôles) et sur l'ensemble du corps de la drosophile afin que chaque métabolite ait le même poids lors de l'analyse statistique. Comme la normalisation est effectuée sur la totalité de la drosophile (les 3 spectres des trois segments), il est possible de comparer les intensités relatives des résonances des métabolites dans la tête, le thorax et l'abdomen. Cette normalisation permet d'obtenir un tableau de points par métabolite dans lequel chaque individu « malade » est un point rouge et chaque individu contrôle P88 et Mx est un point bleu et noir respectivement. La croix placée sur chaque ligne de point est la moyenne des points.

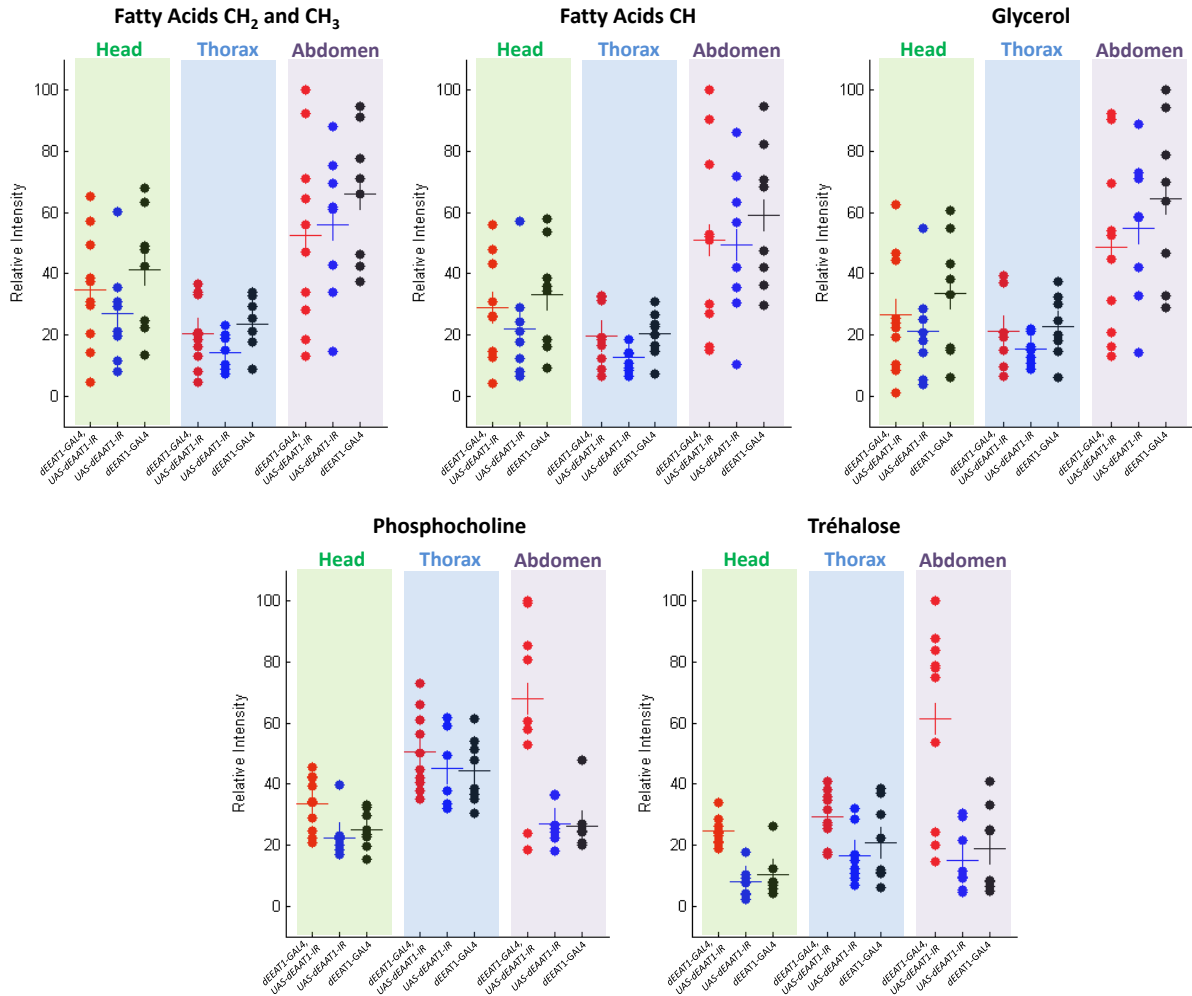


Figure 104 : Tableau de points de l'aire des principaux métabolites pour chaque drosophile des populations de malades et des contrôles de la mutation MxP88.

Cette représentation permet de visualiser la moyenne des quantités de chacun des métabolites dans les trois segments du corps des drosophiles malades et témoins, mais aussi de juger de la variabilité intragroupe puisque chaque individu drosophile est représenté sous forme d'un point.

II.3.3 Analyse de variance

Pour pouvoir affirmer une différence significative d'un taux de métabolite entre les groupes (malades et contrôles) il est possible d'utiliser des tests statistiques. Le plus utilisé est l'analyse de variance (ANOVA de l'anglais « Analysis Of Variance ») suivie d'un test de Tukey-Kramer.

Cependant, ce test est basé sur l'hypothèse que les échantillons quantifiés étudiés proviennent de distributions normales. Dans notre cas, un test de Shapiro-Wilk sur les données ne permet pas toujours de valider cette hypothèse (ce qui n'est pas rare avec aussi peu de valeurs). Le test de Tukey-Kramer sera tout de même utilisé.

Si on utilise le test de Tukey-Kramer, des valeurs de probabilités significatives ($< 0,05$) à un risque de 5 % permettant d'affirmer que la moyenne de la quantité intégrée d'un métabolite est différente entre les malades et chacun des groupes de témoins. Des valeurs significatives sont trouvées pour le tréhalose dans la tête et l'abdomen et pour la phosphocholine dans l'abdomen uniquement.

Les valeurs de probabilités pour chacune des comparaisons sont reportées ci-dessous. Une cellule colorée en vert indique que les valeurs de probabilités entre les malades et chacun des groupes de témoins sont significatives ($< 5 \cdot 10^{-2}$). Une cellule de couleur saumon indique que les malades ne sont significativement différents que d'un seul témoin.

Table 3 : Table des valeurs de probabilités du test de Tukey Kramer au risque 5 %. La première colonne pour chacun des segment reporte les valeurs de probabilités entre les deux témoins, la seconde entre les malade et les témoins Mx et la troisième entre les malades et les témoins P88.

Métabolite	Têtes			Thorax			Abdomen		
	T1 T2	M T2	M T1	T1 T2	M T2	M T1	T1 T2	M T2	M T1
Graisse CH ₃ CH ₂	2,9E-01	7,3E-01	6,7E-01	1,2E-01	7,8E-01	3,1E-01	7,2E-01	5,3E-01	9,6E-01
Graisse sp2	4,0E-01	8,5E-01	6,7E-01	1,3E-01	9,9E-01	1,4E-01	7,6E-01	8,1E-01	9,9E-01
Glycérol	4,1E-01	7,1E-01	8,3E-01	2,9E-01	9,4E-01	4,2E-01	7,6E-01	4,4E-01	8,7E-01
Phosphocholine	7,7E-01	8,3E-02	1,7E-02	9,9E-01	5,1E-01	5,8E-01	1,0E+00	5,9E-04	7,1E-04
Tréhalose	6,8E-01	3,8E-05	4,6E-06	6,5E-01	2,0E-01	3,2E-02	9,4E-01	1,1E-03	4,5E-04

Cette analyse permet de conclure que l'expression du transgène *UAS-dEEAT1-IR* dans les cellules gliales induit une augmentation de la quantité de tréhalose dans la tête et l'abdomen des drosophiles ainsi qu'une augmentation de la phosphocholine dans l'abdomen.

II.3.4 Analyse multivariée supervisée

À partir des aires de chaque résonance des métabolites localisés dans l'un des segments de la drosophile, il est possible de calculer un modèle grâce à des techniques de régression multivariée supervisée et notamment la PLS-DA de l'anglais : Partial Least Square Discriminant Analysis.²²

Ce modèle est conçu pour effectuer une régression entre les aires de chacune des résonances et les différents groupes (modélisés par des valeurs 1,-1...) ici les deux témoins ont été rassemblés en un seul groupe. Dans la variante discriminante « DA » de l'algorithme de PLS, la première composante cherche à séparer les deux groupes. La robustesse du modèle est jugée par le paramètre Q^2 qui est représentatif des erreurs de prédiction de classe. Cette valeur est comprise entre 0 et 1 et doit être supérieure à 0,8 pour que le modèle soit considéré comme correct. Cette régression supervisée a été effectuée avec Matlab R2013b et la PLS-Toolbox. Pour augmenter l'efficacité de l'analyse, les aires ont été

centrées sur la moyenne avant régression. Le nombre de composante est de 5 et a été choisi pour obtenir la meilleure valeur de Q^2 .

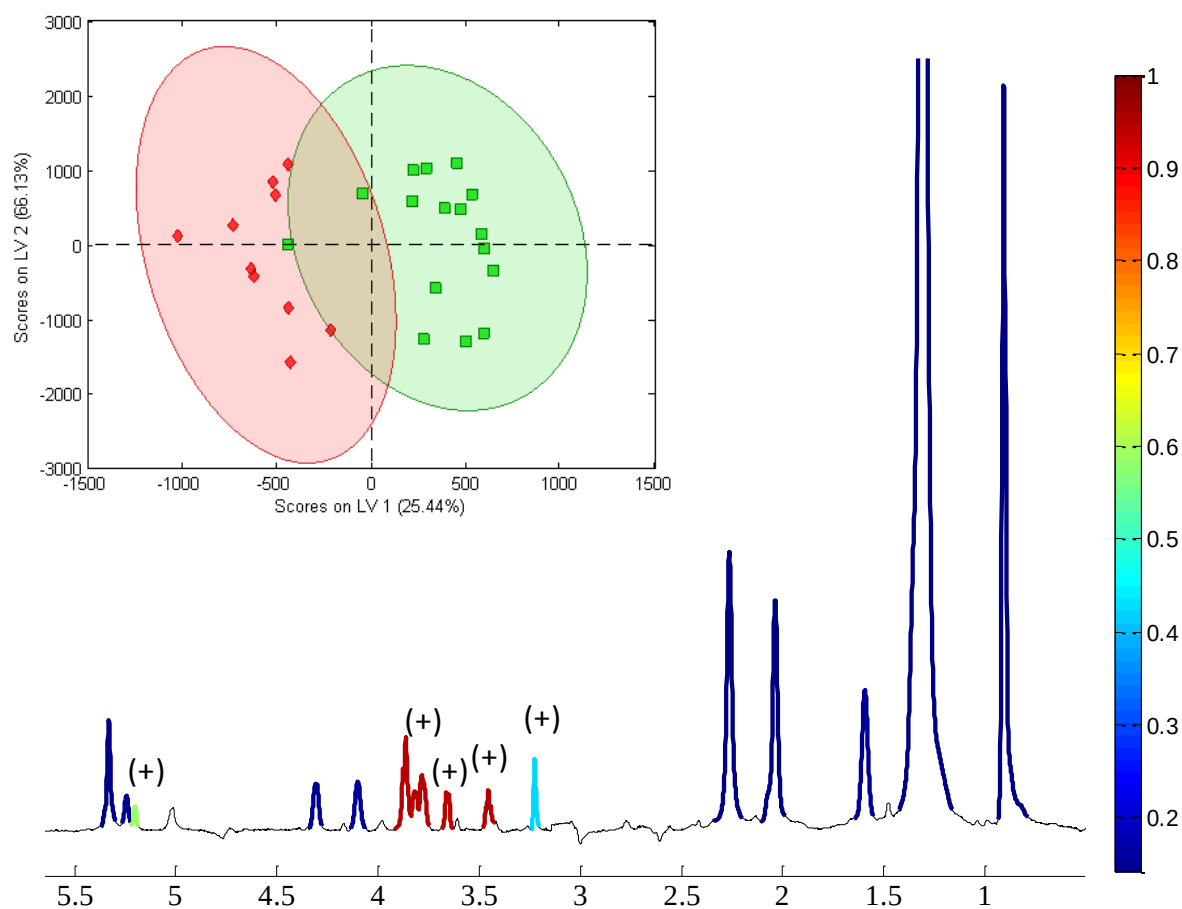


Figure 105 : affichage des scores de PLS-DA basés sur le spectre de la tête des drosophiles de la mutation MxP88. Les témoins sont rassemblés dans un seul groupe représenté sous forme de points verts et les malades sous forme de points rouges. Les ellipses de confiance sont tracées pour un seuil de confiance de 95 %. La valeur Q^2 de la régression est de 0,86. Le spectre moyen de la tête des drosophiles est aussi représenté. Les zones d'intégration sont colorées en fonction de leurs importances pour la ségrégation entre les classes (malade et contrôle) : le rouge indique une importance élevée et le bleu n'indique aucune importance. Cette valeur est obtenue par la valeur Q^2 de la première composante (qui est discriminante) entre les groupes. Le symbole (+) indique un niveau accru du métabolite de la classe malade. Le symbole (-) indique une diminution du niveau du métabolite de la classe malade.

Le modèle permet la discrimination entre les malades et les témoins avec une valeur de $Q^2 = 0,86$ indiquant un modèle fiable. La séparation (effectuée par la première composante en PLS-DA) représente 25 % de la variance totale du système et est principalement attribuable aux résonances du tréhalose bien que la phosphocholine y participe aussi légèrement.

II.3.5 Conclusion

Bien que les analyses discriminantes multivariées soient possibles, elles ne semblent pas nécessaires dans notre cas puisque le nombre de raies de résonance et plus encore de métabolites quantifiables sur le spectre RMN est réduit. Ces métabolites peuvent donc être intégrés et traités séparément de façon à déterminer si la moyenne de leur quantité dans un groupe est statistiquement différente entre les malades et les contrôles par le test de Tukey-Kramer.

II.3.6 Résultats pour les trois modèles

La même procédure a été appliquée pour les trois modèles et les résultats sont rassemblés sous forme de tableau de points. Pour plus de clarté, la variable correspondant aux résonances des hydrogènes liés à des carbones insaturés des acides gras n'est plus représentée car son évolution est identique à celle des hydrogènes appartenant à la partie saturée (CH_3 et CH_2) des acides gras. Les métabolites dont la moyenne est significativement différente selon le test de Turkey Kramer sont annotés avec des étoiles.

Modèle 1 : *dEEAT1-Gal4* ; *UAS-dEEAT1-IR*

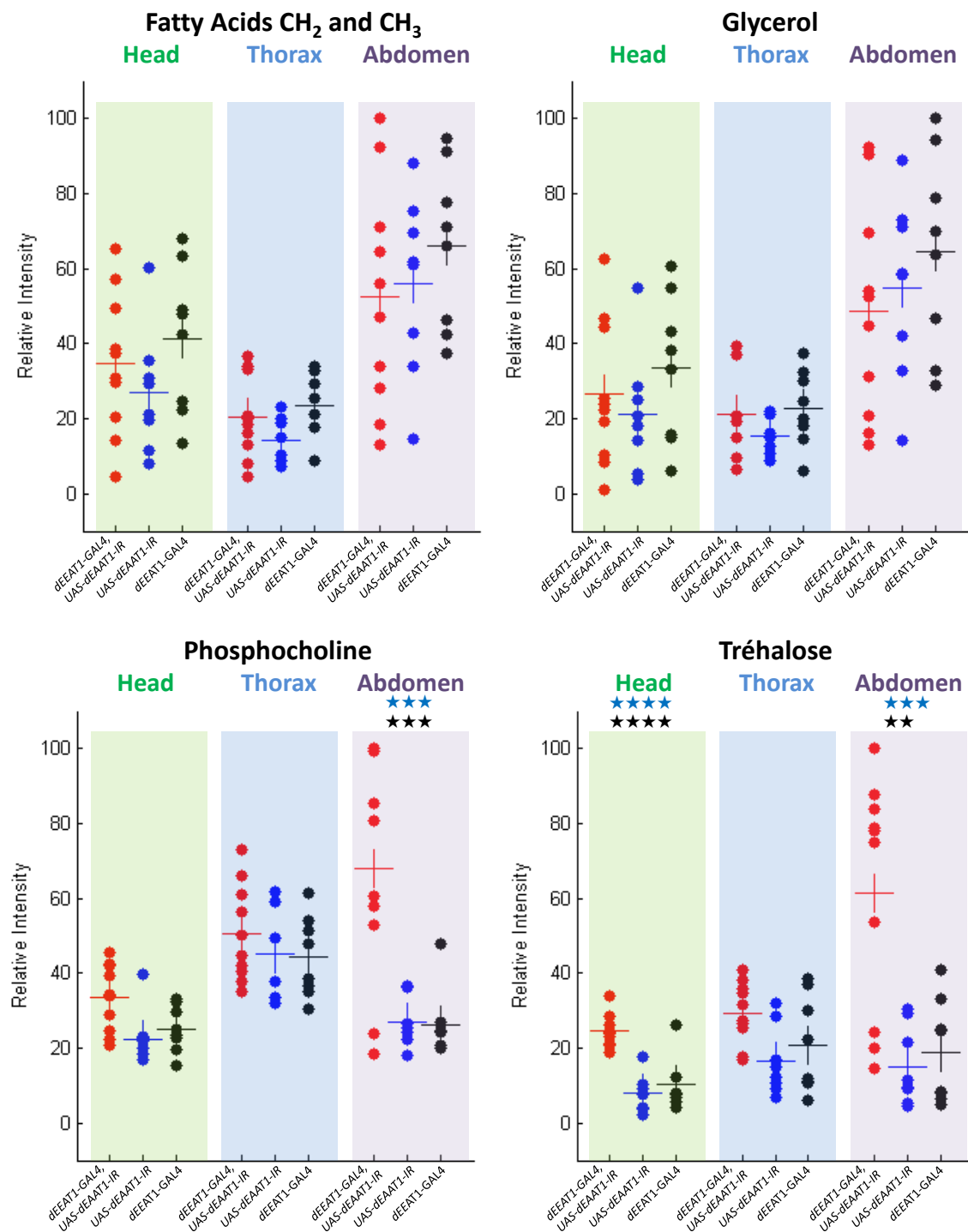


Figure 106 : Chaque point de la figure représente la quantité normalisée d'un métabolite sur une seule mouche localisée dans un segment du corps : la tête, le thorax et l'abdomen. Les drosophiles malades sont représentées en rouge et les deux groupes de témoins en bleu et noir. Les quatre métabolites principaux de la drosophile ont été quantifiés : les acides gras, le glycérol, la phosphocholine et le tréhalose. La quantité de métabolite a été obtenue par intégration et somme de la superficie de chaque résonance d'un métabolite. Ces zones ont ensuite été normalisées à 100 sur la totalité du corps de la mouche et sur les trois groupes (malade, contrôle 1 et contrôle 2) permettant l'étude d'une mutation génétique. Cette normalisation permet la comparaison des quantités de métabolites dans la tête, le thorax et l'abdomen. Les croix représentent la quantité moyenne de métabolite pour chaque série de mouches. Les étoiles placées au dessus des tableaux de points indiquent si la quantité moyenne du métabolite chez le malade est différente de celles des deux témoins à partir des valeurs de probabilité (p) d'un test de Tukey Kramer au risque 5 %. ★★★★★ $p < 0.0001$, ★★★ $p < 0.001$, ★★ $p < 0.01$ et ★ $p < 0.05$.

Modèle 2 : *elav-Gal4 ; UAS-htt-93Q*

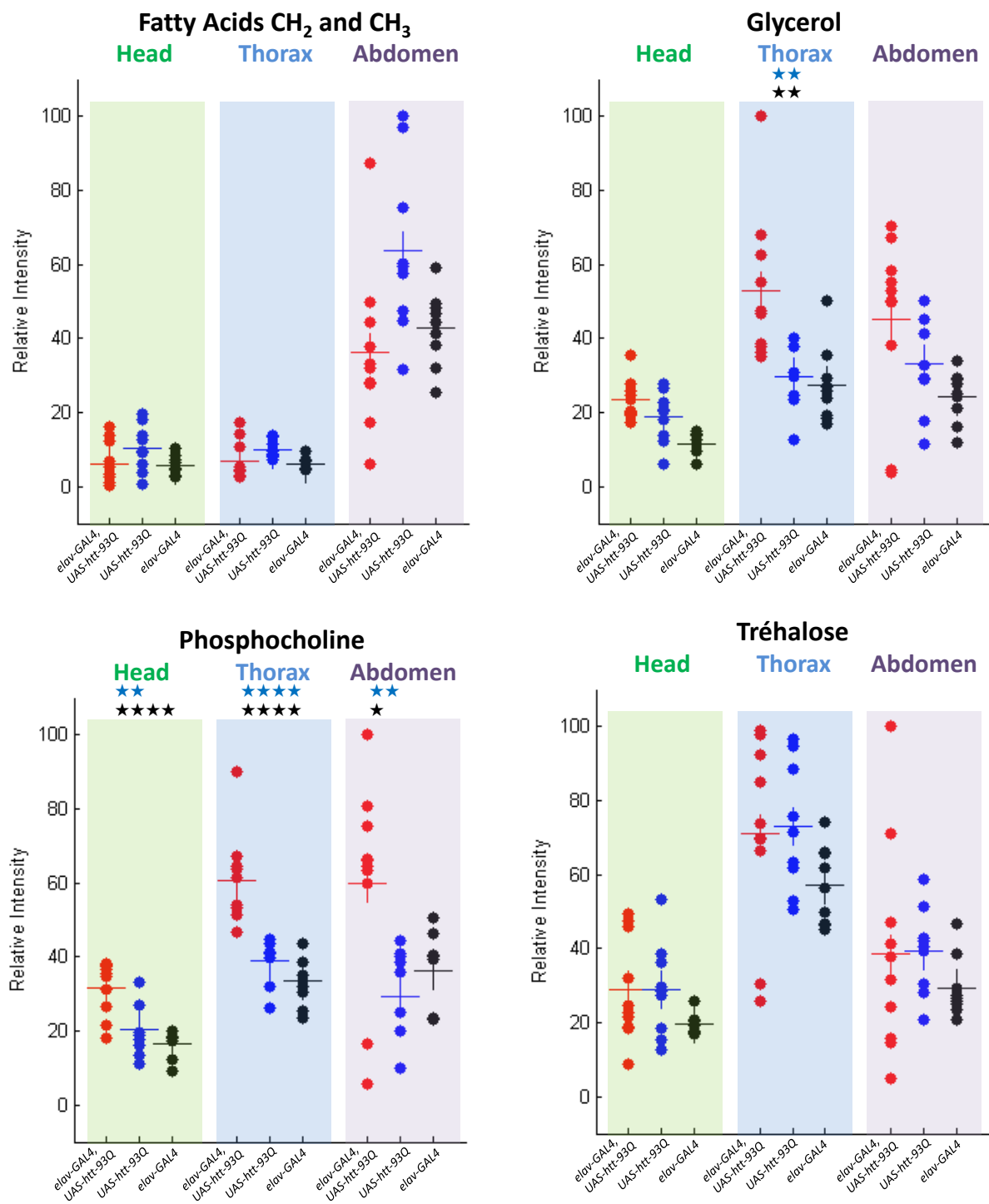


Figure 107 : Chaque point de la figure représente la quantité normalisée d'un métabolite sur une seule mouche localisée dans un segment du corps : la tête, le thorax et l'abdomen. Les drosophiles malades sont représentées en rouge et les deux groupes de témoins en bleu et noir. Les quatre métabolites principaux de la drosophile ont été quantifiés : les acides gras, le glycérol, la phosphocholine et le tréhalose. La quantité de métabolite a été obtenue par intégration et somme de la superficie de chaque résonance d'un métabolite. Ces zones ont ensuite été normalisées à 100 sur la totalité du corps de la mouche et sur les trois groupes (malade, contrôle 1 et contrôle 2) permettant l'étude d'une mutation génétique. Cette normalisation permet la comparaison des quantités de métabolites dans la tête, le thorax et l'abdomen. Les croix représentent la quantité moyenne de métabolite pour chaque série de mouches. Les étoiles placées au dessus des tableaux de points indiquent si la quantité moyenne du métabolite chez le malade est différente de celles des deux témoins à partir des valeurs de probabilité (p) d'un test de Tukey Kramer au risque 5 %. ★★★★★ p<0.0001, ★★★★★ p<0.001, ★★ p<0.01 et ★ p<0.05.

Modèle 3 : *dEEAT1-Gal4 ; UAS-htt93Q*

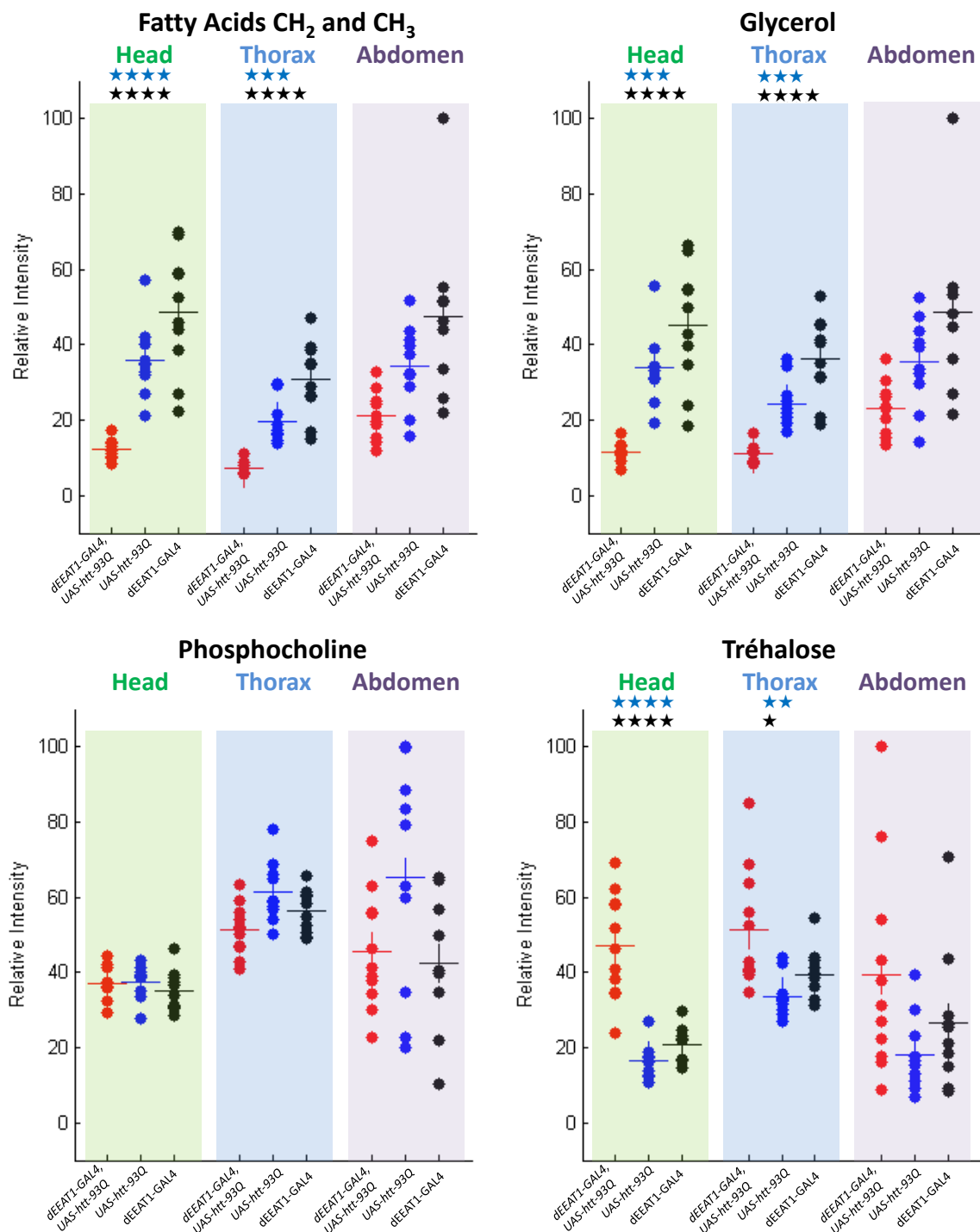


Figure 108 : Chaque point de la figure représente la quantité normalisée d'un métabolite sur une seule mouche localisée dans un segment du corps : la tête, le thorax et l'abdomen. Les drosophiles malades sont représentées en rouge et les deux groupes de témoins en bleu et noir. Les quatre métabolites principaux de la drosophile ont été quantifiés : les acides gras, le glycérol, la phosphocholine et le tréhalose. La quantité de métabolite a été obtenue par intégration et somme de la superficie de chaque résonance d'un métabolite. Ces zones ont ensuite été normalisées à 100 sur la totalité du corps de la mouche et sur les trois groupes (malade, contrôle 1 et contrôle 2) permettant l'étude d'une mutation génétique. Cette normalisation permet la comparaison des quantités de métabolites dans la tête, le thorax et l'abdomen. Les croix représentent la quantité moyenne de métabolite pour chaque série de mouches. Les étoiles placées au dessus des tableaux de points indiquent si la quantité moyenne du métabolite chez le malade est différente de celles des deux témoins à partir des valeurs de probabilité (p) d'un test de Tukey Kramer au risque 5 %. ★★★★★ p<0.0001, ★★★★★ p<0.001, ★★ p<0.01 et ★ p<0.05.

Les métabolites dont la quantité moyenne est significativement différente entre les malades et les deux témoins dans les différents segments du corps des drosophiles malades ont été identifiés par le test de Tukey-Kramer et sont rassemblés dans le tableau suivant.

Table 4 : Tableau récapitulatif des métabolites dont la quantité moyenne est significativement différente chez les malades par rapport aux deux groupes de témoins au risque 5 % : les deux valeurs de probabilité calculé par le test de Tukey-Kramer doivent être inférieur à 0,05. Le signe (+) ou (-) indique un métabolite plus ou moins présent chez les malades.

Modèle	Tête	Thorax	Abdomen
1 : <i>dEEAT1-Gal4 ; UAS-dEEAT1-IR</i> (Modèle de neurotoxicité du glutamate dans les cellules gliales)	Tréhalose (+)		Phosphocholine (+) Tréhalose (+)
2 : <i>elav-Gal4 ; UAS-htt-93Q</i> (Modèle Huntington neuronal)	Phosphocholine (+)	Glycérol (+) Phosphocholine (+)	Phosphocholine (+)
3 : <i>dEEAT1-Gal4 ; UAS-htt93Q</i> (Modèle Huntington dans les cellules gliales)	Graisse (-) SP2 graisse (-) Glycérol (-) Tréhalose (+)	Graisse (-) SP2 graisse (-) Glycérol (-) Tréhalose (+)	

Ce tableau permet d'ébaucher des comparaisons entre les différentes pathologies : l'augmentation de la quantité de tréhalose semble caractéristique des pathologies gliales (1 et 3).

III) CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'imagerie de déplacement chimique à une dimension et en rotation à l'angle magique permet l'étude localisée dans chaque partie du corps et *in vivo* du métabolome d'une drosophile. Cela en fait une technique de choix pour étudier des modèles de pathologies humaines chez la drosophile ce qui est un champ d'application très vaste.

La méthode actuelle, détaillée dans ce chapitre pourrait être améliorée de différentes façons :

D'une part, l'utilisation d'un champ magnétique plus réduit permettrait de diminuer les inhomogénéités de susceptibilité magnétique et, ainsi, les élargissements du spectre ^1H (en Hz). Ceci permettrait de diminuer la fréquence de rotation MAS et donc de limiter le traumatisme infligé à l'animal dû aux forces centrifuges au prix d'une résolution spatiale amoindrie.

D'autre part, la quantification des signaux des différents métabolites pour les différents individus pourrait aussi être améliorée soit par l'utilisation de références internes ou par des méthodes d'ajout de signal de type ERETIC^{23,24} qui permettent de tenir compte des variations de signal dues au système : accord de sonde, électronique...

IV) REFERENCES

1. Tanzi, R. E. *et al.* Amyloid beta protein gene: cDNA, mRNA distribution, and genetic linkage near the Alzheimer locus. *Science* (80-.). **235**, 880 LP-884 (1987).
2. Risch, N. & Merikangas, K. The future of genetic studies of complex human diseases. *Science* **273**, 1516–1517 (1996).
3. Langui, D., Lachapelle, F. & Duyckaerts, C. Modèles animaux des maladies neuro-dégénératives. *Medecine/Sciences* **23**, 180–186 (2007).
4. Oliver, S. G. Functional genomics: lessons from yeast. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* **357**, 17–23 (2002).
5. Nicholson, J. K., Lindon, J. C. & Holmes, E. ‘Metabonomics’: understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data. *Xenobiotica*. **29**, 1181–9 (1999).
6. Martineau, E., Tea, I., Loaëc, G., Giraudeau, P. & Akoka, S. Strategy for choosing extraction procedures for NMR-based metabolomic analysis of mammalian cells. *Anal. Bioanal. Chem.* **401**, 2133–42 (2011).
7. Issaq, H. J., Van, Q. N., Waybright, T. J., Muschik, G. M. & Veenstra, T. D. Analytical and statistical approaches to metabolomics research. *J. Sep. Sci.* **32**, 2183–99 (2009).
8. Beckonert, O. *et al.* High-resolution magic-angle-spinning NMR spectroscopy for metabolic profiling of intact tissues. *Nat Protoc* **5**, 1019–1032 (2010).
9. Lindon, J. C., Beckonert, O. P., Holmes, E. & Nicholson, J. K. High-resolution magic angle spinning NMR spectroscopy: Application to biomedical studies. *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **55**, 79–100 (2009).
10. Wong, A. *et al.* μ HR-MAS NMR Spectroscopy for Metabolic Phenotyping of *Caenorhabditis Elegans*. *Anal. Chem.* **2**, 140522174212007 (2014).
11. Blaise, B. J. *et al.* Metabotyping of *Caenorhabditis elegans* reveals latent phenotypes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **104**, 19808–12 (2007).
12. Righi, V. In vivo high-resolution magic angle spinning magnetic resonance spectroscopy of *Drosophila melanogaster* at 14.1 T shows trauma in aging and in innate immune-. *Int. ...* **26**, 175–184 (2010).
13. Righi, V. *et al.* In vivo high-resolution magic angle spinning proton NMR spectroscopy of *Drosophila melanogaster* flies as a model system to investigate mitochondrial dysfunction in *Drosophila* GST2 mutants. *Int. J. Mol. Med.* 327–333 (2014). doi:10.3892/ijmm.2014.1757
14. Feany, M. B. & Bender, W. W. A *Drosophila* model of Parkinson’s disease. *Nature* **404**, 394–398 (2000).
15. Baldus, M. & Meier, B. H. Total Correlation Spectroscopy in the Solid State. The Use of Scalar Couplings to Determine the Through-Bond Connectivity. *J. Magn. Reson. Ser. A* **121**, 65–69 (1996).

16. Lewis, I. a *et al.* Method for determining molar concentrations of metabolites in complex solutions from two-dimensional ¹H-¹³C NMR spectra. *Anal. Chem.* **79**, 9385–90 (2007).
17. Chen, P., Fales, H. & Levenbook, L. Isolation and characterization of a unique galactoside from male *Drosophila melanogaster*. *Biochemistry* **16**, 4080–4085 (1977).
18. Brand, A. H. & Perrimon, N. Targeted gene expression as a means of altering cell fates and generating dominant phenotypes. *Development* **118**, 401–15 (1993).
19. Fischer, J. a, Giniger, E., Maniatis, T. & Ptashne, M. GAL4 activates transcription in *Drosophila*. *Nature* **332**, 853–856 (1988).
20. Rival, T. *et al.* Decreasing Glutamate Buffering Capacity Triggers Oxidative Stress and Neuropil Degeneration in the *Drosophila* Brain. *Curr. Biol.* **14**, 599–605 (2004).
21. Dixon, W. T., Schaefer, J., Sefcik, M. D., Stejskal, E. O. & McKay, R. A. Total suppression of sidebands in CPMAS C-13 NMR. *J. Magn. Reson.* **49**, 341–345 (1982).
22. Barker, M. & Rayens, W. Partial least squares for discrimination. *J. Chemom.* **17**, 166–173 (2003).
23. Barantin, L., Pape, A. Le & Akoka, S. A new method for absolute quantitation MRS metabolites. *Magn. Reson. Med.* **38**, 179–182 (1997).
24. Akoka, S., Barantin, L. & Trierweiler, M. Concentration Measurement by Proton NMR Using the ERETIC Method. *Anal. Chem.* **71**, 2554–2557 (1999).
25. Neckameyer, W. S. & Argue, K. J. Comparative approaches to the study of physiology: *Drosophila* as a physiological tool. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **304**, R177–88 (2013).

Conclusion générale

Pour les matériaux solides, qui possèdent très souvent des raies de résonance larges et des temps de relaxation de l'aimantation transversale court, les méthodes de micro-imagerie par résonance magnétique nucléaire présentent des limites en termes de résolution spatiale et de rapport signal sur bruit des images. Ce travail montre que ces limitations peuvent être dépassées pour une large gamme de matériaux, en combinant la rotation à l'angle magique à différentes techniques d'imagerie par résonance magnétique. Bien que cette approche souffre de limitations intrinsèques en termes de taille et de fragilité des échantillons pouvant être analysés, elle permet d'obtenir des images multidimensionnelles et multi nucléaires avec une résolution spatiale submillimétrique pour une large gamme de petits échantillons, comme des images ^1H dans les polymères, de ^{31}P dans les tissus biologiques calcifiés ou encore de ^{27}Al dans des céramiques.

Dans un premier temps, la combinaison de la rotation à l'angle magique avec les séquences d'imagerie d'écho de spin et un transfert d'aimantation par polarisation croisée nous a permis d'obtenir des images ^{31}P d'une dent de souris avec une résolution spatiale et un rapport signal sur bruit bien meilleur que celles obtenue jusqu'à présent pour des tissus biologiques calcifiés. De plus, cette combinaison a aussi permis d'obtenir deux images ^1H sélectives chimiquement de la phase organique ou de la partie inorganique de cette dent de souris, ce qui aurait difficilement pu être obtenu par une autre méthode. Ces résultats ont été publiés dans *Scientific Reports* sous le titre "Solid-state ^{31}P and ^1H chemical MR micro-imaging of hard tissues and biomaterials with magic angle spinning at very high magnetic field".

Dans un second temps, nous avons également combiné une méthode d'imagerie par encodage fréquentiel pur et échantillonnage radial : la séquence Zero Echo Time (ZTE), avec à la rotation à l'angle magique. Cette méthode permet d'enregistrer le signal très rapidement après l'excitation en évitant ainsi toute perte de signal due à la relaxation pendant le temps d'écho, inévitable avec les séquences d'écho de spin. Ce gain en sensibilité est nuancé par le besoin d'un nombre d'incrément plus grand d'un facteur π pour complètement décrire l'espace réciproque avec échantillonnage radial par rapport à un échantillonnage cartésien. Cette combinaison s'est tout de même avérée profitable et nous a permis d'enregistrer des images ^{31}P d'un morceau d'os de fémur de souris avec une résolution spatiale comparable mais un temps d'acquisition réduit par rapport aux séquences d'écho de spin. De plus, la comparaison des images du Phosphore-31 acquises après excitation directe et après transfert de polarisation $^1\text{H} \rightarrow ^{31}\text{P}$ pour différents temps de contact nous a permis de révéler un contraste en fonction de la nature de la phase d'hydroxyapatite impliquée dans les différents tissus rigides. Ces résultats sont en cours de publication.

La possibilité d'utiliser un échantillonnage partiel de l'espace réciproque pour réduire la durée d'acquisition des images a aussi été examinée. Cependant, l'efficacité des méthodes de reconstruction semble fortement dépendante de la nature de l'image ainsi que de nombreux paramètres et les avantages obtenus restent discutables. Cette étude a nécessité la création d'un

exécutable autonome permettant la reconstruction de l'espace réciproque acquit de manière partiel et non uniforme. Ce travail a été réalisé dans le cadre de l'encadrement du stage de Master 1 de Mlle Lila Sbili.

Enfin, des méthodes de spectroscopie localisée monodimensionnelle en rotation à l'angle magique, qui avait été précédemment développées au laboratoire, ont été employées pour étudier les conséquences de l'expression de transgènes impliqués dans des pathologies neurovégétatives sur le métabolisme de modèles drosophiles. En effet, cette méthode permet la quantification relative et la localisation des principaux métabolites présents chez la drosophile *in vivo* et sur un individu unique, ce qui en fait donc une méthode de choix pour le profilage métabolomique. Les résultats obtenus sont en cours de publication.

Enfin, cette thèse a aussi été l'occasion de créer une collaboration entre les équipes de recherche de Nantes, de Gif sur Yvette et d'Orléans afin d'implémenter la spectroscopie ultrarapide en MAS sur un système de micro-imagerie. Bien que cette méthode souffre de certaines limitations intrinsèques attribuables à l'emploi d'impulsions de balayage fréquentiel très longues, elle nous a tout de même permis d'obtenir des spectres multidimensionnels d'élastomère en un temps d'acquisition très réduit. Cette preuve de concept a été publiée dans *Journal of Magnetic Resonance* sous le titre « Ultrafast acquisition of ^1H - ^1H dipolar correlation experiments in spinning elastomers ».

Annexes

I) PROGRAMME D'IMPULSION IMXY_MAS_GC

```
; pulse sequence to acquire the image of a slice through an object
; in rotation at the magic angle
; hard90 - soft180 degree pulse
; fourier transformation with xfb
```

```
;#include<Avance.incl>
#include<Grad.incl>
;#include<De.incl>
#include <Avanceimaging.incl>
```

```
define list<gradient> mas_xxph = <mas_x_x.ph>
define list<gradient> mas_yxph = <mas_y_x.ph>
define list<gradient> mas_zxph = <mas_z_x.ph>
define list<gradient> mas_xyph = <mas_x_y.ph>
define list<gradient> mas_yyph = <mas_y_y.ph>
define list<gradient> mas_zyph = <mas_z_y.ph>
```

```
define list<gradient> mas_xxrd = <mas_x_x.rd>
define list<gradient> mas_yxrd = <mas_y_x.rd>
define list<gradient> mas_zxrd = <mas_z_x.rd>
define list<gradient> mas_xyrd = <mas_x_y.rd>
define list<gradient> mas_yyrd = <mas_y_y.rd>
define list<gradient> mas_zyrd = <mas_z_y.rd>
```

```
define list<gradient> mas_xxsl = <mas_x_x.sl>
define list<gradient> mas_yxsl = <mas_y_x.sl>
define list<gradient> mas_zxsl = <mas_z_x.sl>
define list<gradient> mas_xysl = <mas_x_y.sl>
define list<gradient> mas_yysl = <mas_y_y.sl>
define list<gradient> mas_zysl = <mas_z_y.sl>
define list<gradient> mas_zzsl = <mas_z_z.sl>
```

```
define delay gradrp
"gradrp = 2*d12+d2"
```

```
define delay gradr
"gradr=d45"
```

```
define delay gradslice
"gradslice=d5+2*d12"
```

```

lgrad r2d = td1
"d22 = d2/2"
"d23 = d2 - de"
"cnst29=cnst21+cnst22+cnst23+cnst24*d5"
"d6=d5/2+d12-1u-p4/2"
"d46=d45-2*d12"

"d10=(l10/l11)*(1s/cnst31)"

#ifdef sel
"d39 = (1s/cnst31)-p1/2-10u" ; add a short delay if necessary
(Gradient slope ??) here 3.5 us
"l5=(p1/2+d39+10u+gradrp+d6+1u+p4/2)/(1s/cnst31)"
"l6=(p4/2+1u+d6+3u+d2+1.5*d12)/(1s/cnst31)"
"l7 = l5+1"
"d19=(l7)*(1s/cnst31)-p1/2-d39-10u-gradrp-d6-1u-p4/2"
"d29=(l7)*(1s/cnst31)-p4/2-1u-d6-3u-d2-1.5*d12"
#else
"d39 = (1s/cnst31)-p11/2-10u"
"l5=(p11/2+10u+d39+gradrp+d6+1u+p4/2)/(1s/cnst31)"
"l6=(p4/2+1u+d6+d13+3u+d2+1.5*d12)/(1s/cnst31)"
"l7 = l6+1"
"d19=(l7)*(1s/cnst31)-p11/2-d39-10u-gradrp-d6-1u-p4/2"
"d29=(l7)*(1s/cnst31)-p4/2-1u-d6-d13-3u-d2-1.5*d12"
#endif

ze
200u UNBLKGRAMP
start, 1m
#ifdef saturation
2      10u
        (p20 ph20^ pl20):f1
        d20
lo to 2 times l20
#endif
d1
        10u pl1:f1
        10u fq=0:f1      ; set transmitter o1
#ifdef notrig
        10u
#else
        trigpe4
d10
#endif
STARTADC ;(1u sync 1u adc ph31 syrec)
RESETPHASE ;(1u ph30:r):f1
#ifdef sel
        (p1 ph1 pl1):f1      ; (90 degree) excitation hard
pulse
#else
        (p11:sp1 ph1):f1
#endif
d39
10u gc_control

```

```

        {
            gradrp grad { mas_xxph(cnst22, 122)*r2d +
mas_xyph(cnst21,122) | mas_yxph(cnst22, 122)*r2d + mas_yyph(cnst21,
122) | mas_zxph(cnst22, 122)*r2d + mas_zyph(cnst21, 122)  }
            d19 groff ; delay for long TE
            gradslice grad { mas_zzsl(cnst23, 125) | mas_zzsl(cnst23, 125) |
mas_zzsl(cnst23, 125)  }
            d29 groff ; gradients ramp down
            3u;
            gradr grad { mas_xyrd(cnst24,124) | mas_yyrd(cnst24, 124)
| mas_zyrd(cnst24, 124)  }
            3u groff ; gradients ramp down
            }

            10u
            gradrp
            d19
            d6
            1u fq=cnst30:f1 ; set slice frequency
            (p4:sp0 ph2):f1 ; 180 degree soft pulse
            1u
            d6
            d29
            1u fq=0:f1 ; for long TE reset frequency
on resonance US
            1u DWL_CLK_ON
            1u RG_ON
            gradr;
            1u RG_OFF
            1u DWL_CLK_OFF
            1u

            rcyc=start
            100u wr #0 if #0 zd igrad r2d ; write data to disc
lo to start times tdl
            1m
            100u rf #0
lo to start times l1 ; # of averages
            10u
exit

ph20= 0 1

ph1= 0 0 0 0 2 2 2 2 1 1 1 1 3 3 3 3
ph2= 0 1 2 3
ph30= 0
ph31=0 2 0 2 2 0 2 0 3 1 3 1 1 3 1 3

;cnst21: read refocusing gradient
;cnst22: phase encoding gradient
;cnst23: slice gradient
;cnst24: read gradient
;cnst31: MAS frequency

```

II) AU PROGRAMME

```

/**** ^^A --C+--*- *****/
/*  imXY_MASGC      09.06.00          */
/*****/
/*  Short Description :                */
/*  spin echo 2D image                */
/*****/
/*  Keywords :                        */
/*  image, phase encoding, spin echo  */
/*****/
/*  Description/Usage :               */
/*  spin echo single slice image      */
/*  90hard - 180soft                  */
/*  using short echo option and memory management */
/*****/
/*  Author(s) :                      */
/*  Name       : Klaus Zick          */
/*  Organisation : Bruker BioSpin GmbH */
/*  Email      : klaus.zick@bruker.de */
/*****/
/*  Name      Date Modification:      */
/*  DGR       940225    created          */
/*  klz       000609    fit for xwinnmr3 */
/*  klz       000801    gradient_calib Path corrected */
/*  klz       000801    file handling corrected */
/*  klz       010810    modifications for xwinnmr3.0: */
/*                      only AVANCE, no mof */
/*  klz       020513    new gradient syntax */
/*  klz       030916    cag_par only in data set */
/*  klz       030916    UNIX commands removed */
/*  hbr       070222    variable location of parameter */
/*                      files: getParfileDirForWrite() */
/*                      instead of getstan() */
/*  klz       080205    frequency list removed */
/*  klz       101029    new power handling */
/*****/
/*
$Id: imXY_MASGC,v 1.18 2010/11/17 18:19:14 wem Exp $
*/

```

```

AUERR = localau(curdat);
QUIT

```

```

#include <inc/imageUtil>

```

```

int localau(const char* curdat)
{
    const float gammaH = 4257.0; /* Hz/G */

    FILE *fpr, *fpw;
    char text_buf[128];
    char file_name[PATH_MAX];

```

```

char softname[256];    /* name of softpulse */
int interactive = 1;
int ns;                /* number of scans */
int ds;                /* number of dummy scans */
int nexpt;             /* number of experiments */
int pixr;              /* pixels in read direction */
int pixp;              /* pixels in phase direction */
float rotper;          /* rotor period according to the read gradient
time */
float rotperslice;     /* rotor period according to the read
gradient time */
float cnst3l; /* spinrate */
float plw1;            /* PLW1 */
float de;
float aq;              /* AQ */
float ramp, rise;      /* gradient ramp and rise time */
float slicetimetot;    /* gradient time total for slice
selection */
float slicetime; /* gradient time rise for slice selection */
float trep;            /* repetition time */
float fov;             /* field of view */
float slth;            /* slice thickness */
float cendis;          /* distance from center */
float swh;             /* spectral width */
float softw; /* soft pulse width */
float softdur;         /* soft pulse duration */
float softpower;       /* soft pulse power */
float harddur;         /* hard pulse duration */
float grad_calib; /* gradient calibration constant %/(G/mm) */
double correctFOV;     /* gradient correction function of
spinning frequency */
float dphase;          /* delay for phase encoding */
float gradr, gradrd, gradp, grads; /* gradients in percent */
double BFX, BFH; /* X and 1H frequency for gamma calculation */
double gamma;

/* get command line info */
if (i_argc >= 3)
    if ((strcmp(i_argv[2], "-n", 2)) == 0)
        interactive = 0;

umask(0);              /* change permissions */

/* get gradient calibration constant */

grad_calib = getGradientCalib();

/* retrieve previous soft pulse excitation bandwidth, workaround
*/

FETCHPARAM("STHICK", &slth);
slth *= 1000;
FETCHPAR("CNST 23", &grads);
softw = grads * gamma * (slth / 1000) / 100 * grad_calib;
/* get image input parameters and */

```

```

/* calculate image acquisition parameters */

FETCHPARM("FOV1",&fov);
fov *= 10;
FETCHPARM("SPOS",&cendis);
FETCHPAR("TD",&pixr);
pixr /= 2;
FETCHPAR1("TD",&pixp);
FETCHPAR("SWH",&swh);
FETCHPAR("P 1",&harddur);
FETCHPAR("PLW 1",&plw1);
FETCHPAR("SPNAM0",softname);
FETCHPAR("P 4",&softdur);
FETCHPAR("SPW 0",&softpower);
FETCHPAR("D 12",&ramp);
FETCHPAR("CNST 31",&cnst31);

correctFOV = 1/(1.1934E-21*cnst31*cnst31*cnst31*cnst31*cnst31-
4.83468E-17*cnst31*cnst31*cnst31*cnst31+4.40803E-
13*cnst31*cnst31*cnst31+3.32511E-09*cnst31*cnst31-
0.00007186993*cnst31+1);

//correctFOV = 1.59;

FETCHPAR("D 2",&rise);
ramp=1000*ramp;

softw = bandwidthFromShape(softname, softw, softdur);
softpower = softRefPowerFromShape(softname, softpower, harddur,
softdur, plw1);

if (interactive)
{
GETFLOAT("field of view in read direction (mm):",fov);
GETFLOAT("slice thickness (um):",slth);
GETFLOAT("slice distance from center (mm):",cendis);
GETINT("number of pixels in phase direction:",pixp);
GETFLOAT("spectral width (Hz):",swh);
GETFLOAT("duration of hard excitation pulse (us):",harddur);
GETFLOAT("power of hard exitation pulse (W), PLW1:",plw1);
GETSTRING("name of softpulse:",softname);
GETFLOAT("duration of soft excitation pulse (us):",softdur);
softpower = softRefPowerFromShape (softname, softpower,
harddur, softdur, plw1);
GETFLOAT("Power of soft 180 pulse (W):",softpower);
softw = bandwidthFromShape (softname, softw, softdur);
GETFLOAT("spectral width of soft pulse (Hz):",softw);
GETFLOAT("gradient ramp time (ms):",ramp);

rise=1000*rise+1.5*ramp;
rotper = rise/1000*cnst31;
/* printf("rise = %f ,rotper = %f\n",rise,rotper); */
rotper = round(rotper);
/* printf("rise2 = %f ,rotper = %f\n",rise,rotper); */
rise = rotper/cnst31*1000;
rise = rise-0.5*ramp;

```

```

GETFLOAT("gradient rise time (ms) DO NOT CHANGE IT:",rise);
GETFLOAT("rotor period of gradient time (rotation):",rotper);

    rise = rise+0.5*ramp;
    rise = rotper/cnst31*1000;
    rise = rise-0.5*ramp;

    GETFLOAT("gradient rise time (ms) DO NOT CHANGE IT:",rise);

}

if (rise < ramp)
    rise = ramp;

while(rise < ramp - 0.001)
{
    rise = ramp;
    GETFLOAT("gradient rise time >= (ms):",rise);
}

    slicetime = (softdur+40u)/1000;
    slicetimetot = slicetime+2*ramp;
    rotperslice = slicetimetot/1000*cnst31;
    rotperslice = round(rotperslice)+1;
    slicetimetot = rotperslice/cnst31*1000;
    slicetime = slicetimetot-2*ramp;
    GETFLOAT("gradient slice time (ms) < soft pulse
duration:",slicetime);

/* store some acquisition parameters */

STOREPAR("PLW 1",plw1);
STOREPAR("SPNAM0",softname);
STOREPAR("SPW 0",softpower);
STOREPAR("NBL",1);
STOREPAR1("TD",pixp);
STOREPAR("SWH",swh);
STOREPAR("PULPROG","imXY_MASGC.my");

/* calculate some acquisition parameters */

FETCHPAR("DW",&aq);
FETCHPAR("SWH",&swh);

FETCHPAR("BF8",&BFH);
FETCHPAR("BF1",&BFX);
gamma = gammaH*BFX/BFH;
/*    printf("BF8 = %f ,BFX = %f , gamma = %f \n",BFH,BFX,gamma);*/

gradr = swh/gamma/fov*100/grad_calib*correctFOV;
gradrd = gradr;
aq = 2*rise+ramp;
GETFLOAT("aquisition time < 5ms:",aq);

```

```

        pixr = aq*swh/1000;

/*          printf("fov = %f ,gradcalib = %f, rise = %f
\n",fov,grad_calib,rise); */

        gradp =
(pixp)/2./rise/gamma/fov*100000/grad_calib*correctFOV;
        grads = softw/gamma/(slth/1000)*100/grad_calib; /* no correction
because this gradient is not rotating */

        FETCHPAR("D 1",&trep);
trep *= 1000;
        FETCHPAR("NS",&ns);
        FETCHPAR("DS",&ds);
        FETCHPAR("L 1",&nexp);

        if (interactive)
        {
GETFLOAT("repetition time (ms):",trep);
        GETINT("number of scans (4 phase phase-cycle):",ns);
        GETINT("number of dummy scans :",ds);
        GETINT("number of repetitions of the whole experiment:",nexp);
        }

/* store image parameters */

        STOREPAR("NS",ns);
        STOREPAR("DS",ds);
        STOREPAR("L 1",nexp);
        STOREPAR("D 1",trep/1000);
        rise = (rise-ramp)/1000;
        STOREPAR("D 2",rise);
        STOREPAR("D 5",slicetime/1000);
        STOREPAR("D 12",ramp/1000.0);
        STOREPAR("D 45",aq/1000);
        STOREPAR("P 1",harddur);
        STOREPAR("P 4",softdur);
        STOREPAR("CNST 21",gradrd);
        STOREPAR("CNST 22",gradp);
        STOREPAR("CNST 23",grads);
        STOREPAR("CNST 24",gradr);
        STOREPAR("TD",2*pixr);
        STOREPAR("SI",4*pixr);
        STOREPAR1("SI",2*pixp);
        STOREPAR("CNST 30",cendis * gamma * grads * grad_calib / 100);
        STOREPAR("AUNM","imXY_MASGC.my");

/* handle parameters from mvar menu */

        STOREPARM("NPROJEC",pixp);
        STOREPARM("STHICK",slth/1000);
        STOREPARM("SPOS",cendis);
        STOREPARM("TSCAN",trep*pixp*nexp);
        STOREPARM("FOV1",fov/10);

```



```

STOREPARM("FOV2",fov/10);

/*   STOREPAR("CNST 31",0); */

CPR_exec("cagpars_imaging",WAIT_TERM);
CPR_exec("gradshapesMASread",WAIT_TERM);
CPR_exec("gradshapesMASphase",WAIT_TERM);
CPR_exec("gradshapesMASslice",WAIT_TERM);

/*   STOREPAR("CNST 31",cnst31); */

/* show and store image information */
/* get information header */

sprintf(file_name, "%s/%s", PathSystemHome(),
"image_info_header");
fpr = fopen(file_name, "rt");

strcpy(file_name, ACQUPATH("image.info"));
fpw = fopen(file_name, "wt");
if (fpw == 0)
{
    Proc_err(DEF_ERR_OPT, "%s\n%s", "Cannot open file for writing",
file_name);
    ABORT
}

if (fpr == 0)
    fprintf(fpw, "System:\nProbe:\nSample:\n");
else
{
    while(fgets(text_buf, sizeof(text_buf), fpr) != 0)
        fprintf(fpw, "%s", text_buf);
    fclose(fpr);
}

StrfLocalTimeMillisec(text_buf, sizeof(text_buf), "%Y-%m-%d
%H:%M:%S %z");
fprintf(fpw, "\n"
        "2D spin echo single slice imaging experiment
(imXY_MASGC)\n\n"
        "Operator:          %s\n"
        "Filename:          %s\n"
        "Date:              %s\n"
        "FOV read:          %.1f mm\n"
        "Acquisition Size: %3d\n"
        "Resolution:        %5.0f um\n"
        "FOV phase:         %.1f mm\n"
        "Acquisition Size: %3d\n"
        "Resolution:        %5.0f um\n"
        "Slice thickness:   %5.0f um\n\n",
user, ACQUPATH(0), text_buf,
fov, pixr, fov / pixr * 1000.0,
fov, pixp, fov / pixp * 1000.0,
slth);
fprintf(fpw, "Repetition time:          %6.1f ms\n\n"

```

```

        "Gradient calibration:      100 %% = %.2f G/cm\n"
        "Read gradient:            %6.2f %% = %.2f G/cm\n"
        "Phase encoding gradient: %6.2f %% = %.2f G/cm\n"
        "Slice gradient:           %6.2f %% = %.2f G/cm\n"
        "Gamma:
%.2f Hz/G\n",
        trep,
        grad_calib * 10.0,
        gradr, grad_calib / 10 * gradr,
        gradp, grad_calib / 10 * gradp,
        grads, grad_calib / 10 * grads, gamma);

fclose(fpw);
showfile(file_name);
return 0;
}

```


Micro-imagerie par résonance magnétique de matériaux solides en rotation à l'angle magique

L'imagerie par résonance magnétique est une technique non invasive et non ionisante permettant de caractériser la structure anatomique des tissus biologiques mous via la localisation des signaux de résonance magnétique nucléaire (RMN) des molécules mobiles. Cependant, l'application de l'IRM pour l'étude des matériaux rigides reste difficile dû aux forts élargissements des raies de résonances inhérents aux matériaux solides qui diminuent la résolution et le rapport signal sur bruit des images obtenues par encodage fréquentiel.

La rotation à l'angle magique (MAS) permet de moyenner efficacement les interactions anisotropes de l'état solide par une rotation de l'échantillon, réduisant ainsi la largeur des raies de résonance. Dans ce manuscrit la possibilité de combiner la rotation à l'angle magique et l'IRM pour effectuer de la micro-imagerie multidimensionnelle et multi-nucléaire (^1H , ^{31}P , ^{27}Al et ^{51}V) à très haut champ magnétique (17,6 T) de matériaux solides avec une résolution et un rapport signal sur bruit largement supérieur à ceux obtenus en condition statique est démontrée. Une large gamme de matériaux (polymères, céramiques et tissus calcifiés biologiques) a été étudiée. Des images avec une résolution comprise entre 30 et 300 μm ont pu être obtenues pour des fréquences de rotation MAS allant jusqu'à 20 kHz, en utilisant des séquences IRM d'écho ou à temps d'écho nul. La possibilité d'utiliser un schéma de sous-échantillonnage associé à des algorithmes de reconstruction est aussi abordée.

L'utilisation de séquences de RMN solide tels que la polarisation croisée pour augmenter le contraste et ainsi mettre en évidence des variations physico-chimiques localisées dans des tissus calcifiés biologiques est aussi démontrée. L'utilisation de gradients de champ magnétique pulsés combinés à la rotation à l'angle magique rend aussi possible la spectroscopie RMN de haute résolution localisée spatialement. Cette méthode a été utilisée pour étudier *in vivo* et dans chacun des segments du corps le métabolome de drosophiles modèles de pathologies neurodégénératives.

Imagerie par résonance magnétique (IRM), Spectroscopie RMN, matériaux solides, tissus calcifiés, ^{31}P

Magic angle spinning magnetic resonance micro-imaging of rigid solids

Magnetic Resonance Imaging (MRI) is a non-invasive and non-ionizing powerful tool widely used to characterize the structure and function of biological soft tissues through the localization of the NMR signal of mobile species. In contrast, the application of MRI in rigid solids remains challenging as they usually exhibit strong line broadening which decreases both the sensitivity and the resolution obtained with frequency encoding and short transverse relaxation time prohibiting the use of echo MRI sequences.

Magic Angle Spinning (MAS) provides an efficient averaging of the anisotropic interactions in the solid state through a macroscopic rotation of the sample and allows obtaining narrow resonances. In this manuscript, we show the potentialities of combining MAS and MRI to carry out multi-nuclei (^1H , ^{31}P , ^{27}Al or ^{51}V) multi-dimensional micro-imaging in rigid solids, at very high magnetic field (17.6 T), with greatly improved SNR and spatial resolution when compared to static conditions. This is exemplified on a wide range of materials (polymers, oxide ceramics, biomaterials and hard tissues) for which the use of MAS at frequencies up to 20 kHz with spin-echo or Zero Echo Time (ZTE) MRI sequences allow obtaining images with spatial resolutions ranging from 30 to 300 μm . It is also demonstrated that solid state NMR sequences such as Cross-Polarization (CP) can be employed to enhance contrast and to further depict spatially localized chemical variations in bones and related materials. The possibility of using under sampled acquisition scheme with reconstruction algorithms is also addressed.

The combination between pulsed field gradients and MAS also offers the possibility to perform high resolution localized spectroscopy. This methodology is used to study, *in vivo* and at the organ level, the metabolism of neurodegenerative pathologies drosophila models.

Magnetic resonance imaging (MRI), NMR spectroscopy, rigid solids, hard tissues, ^{31}P , NUS