



# Études expérimentales et modélisation de la dynamique de distribution des agents de contraste en imagerie RMN : applications à l'agronomie

Samir Kenouche

► **To cite this version:**

Samir Kenouche. Études expérimentales et modélisation de la dynamique de distribution des agents de contraste en imagerie RMN : applications à l'agronomie. Autre [cond-mat.other]. Université Montpellier II - Sciences et Techniques du Languedoc, 2013. Français. <NNT : 2013MON20106>. <tel-01019641>

**HAL Id: tel-01019641**

**<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01019641>**

Submitted on 7 Jul 2014

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# THÈSE

Pour obtenir le grade de  
Docteur

Délivré par l'Université Montpellier II

Préparée au sein de l'école doctorale **I2S**  
Et de l'unité de recherche **UMR 5221**

Spécialité: **Physique**

Présentée par **KENOUCHE Samir**

Études expérimentales et  
modélisation de la dynamique  
de distribution des agents de  
contraste en imagerie RMN :  
applications à l'agronomie

Soutenue le 19/12/2013 devant le jury composé de :

Mr. Serge AKOKA	Professeur	Univ. Nantes	Rapporteur
Mr. François MARIETTE	Dir. de recherche	Irstea - Rennes	Rapporteur
Mr. Michel ZANCA	Professeur	Univ. Montpellier 2	Examinateur
M. Nadia BERTIN	Dir. de recherche	INRA Avignon	Examinatrice
Mr. Jean Luc VERDEIL	Dir. de recherche	CIRAD Agropolis	Examinateur
M. Joulia LARIONOVA	Professeur	Univ. Montpellier 2	Présidente
Mr. Christophe GOZE-BAC	Dir. de recherche	Univ. Montpellier 2	Dir. de thèse
Mr. Nacer BEZZI	Professeur	Univ. Béjaïa	Dir. de thèse

*Thèse en cotutelle avec l'Université de Béjaïa (Algérie), réalisée dans le cadre du programme ERASMUS MUNDUS, financée par la COMMISSION EUROPÉENNE.*

ACADÉMIE DE MONTPELLIER  
SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC  
ÉCOLE DOCTORALE I2S  
INFORMATION, STRUCTURE ET SYSTÈME

# THÈSE

pour obtenir le titre de

**Docteur en Sciences**

de l'Université Montpellier 2

**Mention : PHYSIQUE**

Présentée et soutenue publiquement par :

Samir KENOUCHE

## Études expérimentales et modélisation de la dynamique de distribution des agents de contraste en imagerie RMN : applications à l'agronomie

Thèse réalisée dans le cadre du programme ERASMUS MUNDUS,  
financée par la COMMISSION EUROPÉENNE

soutenue le 19 Décembre 2013

### Jury :

<i>Rapporteurs :</i>	Serge AKOKA	-	Université de Nantes
	François MARIETTE	-	Irstea - Rennes
<i>Encadrants :</i>	Christophe GOZE-BAC	-	Université de Montpellier 2
	Nacer BEZZI	-	Université A/Mira de Béjaïa
<i>Examinatrice :</i>	Nadia BERTIN	-	INRA Avignon
<i>Présidente :</i>	Joulia LARIONOVA	-	Université de Montpellier 2
<i>Examineur :</i>	Jean Luc VERDEIL	-	CIRAD Agropolis
<i>Examineur :</i>	Michel ZANCA	-	Université de Montpellier 2

# Remerciements

Ce présent travail a été réalisé dans le cadre du programme *Erasmus Mundus*, financé par la commission Européenne, en cotutelle entre l'Université Montpellier 2 et l'Université de Béjaia. Les travaux de thèse présentés dans ce manuscrit ont été menés au sein de l'équipe *Spectroscopie et Imagerie RMN* du laboratoire de physique Charles Coulomb Université Montpellier 2. Je remercie sincèrement son Directeur, Monsieur Jean Louis Sauvajol, de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire. Cette thèse n'aurait jamais pu voir le jour sans l'aide précieuse de nombreuses personnes. Je tiens à les remercier vivement ici.

Je remercie chaleureusement mon directeur de thèse Monsieur Christophe Goze-Bac, physicien au laboratoire de Charles Coulomb, Directeur de recherche au CNRS, responsable de l'équipe *spectroscopie et imagerie RMN*, et directeur de la plateforme BioNanoNMRI à l'Université Montpellier 2. Je tiens profondément à saluer la qualité de son encadrement, son humilité, ses compétences, sa rigueur, sa disponibilité, sa patience, son dévouement total et surtout ses remarquables qualités humaines avec lesquelles il a supervisé mes travaux de thèse durant ces trois années. Sa confiance m'a également permis de réaliser cette thèse avec une grande autonomie, condition sine qua non au murissement et au développement de l'esprit critique. Qu'il trouve ici le témoignage de ma profonde gratitude.

Je tiens à exprimer mes remerciements et ma grande gratitude à Monsieur A/Nacer Bezzi, Professeur au laboratoire de technologie des matériaux et du génie des procédés à l'Université de Béjaia, pour avoir dirigé ce travail. J'aimerais lui exprimer ma reconnaissance pour son aide précieuse, son intérêt et sa disponibilité. Toute sa compétence, sa volonté d'aller toujours plus loin, ses qualités humaines, son optimisme m'ont été d'une grande aide au cours de ces trois années de thèse. Bien que la spectroscopie RMN ne soit pas son domaine de prédilection, son intérêt pour mon travail et sa soif de compréhension m'ont été d'un grand soutien.

Je voudrais remercier chaleureusement les rapporteurs de cette thèse Mr Serge Akoka et Mr François Mariette, pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail. Ils ont largement contribué à l'amélioration de la qualité du manuscrit. J'associe à ces remerciements Mr Jean Luc Verdeil, Mr Michel Zanca, Mme Joulia Larionova et

Mme Nadia Bertin, pour avoir accepté d'examiner mon travail.

Je souhaite témoigner de ma sincère reconnaissance à Mr Michel Zanca, Professeur biophysicien et Directeur-Adjoint de la plateforme BioNanoNMRI à l'Université Montpellier 2, avec qui j'ai eu la chance de discuter science pendant ces trois années de thèse, qui m'a éclairé, conseillé et partagé avec moi ses grandes compétences en imagerie RMN. Sa perpétuelle bonne humeur a été d'un grand soutien pour moi. Les discussions ont toujours été passionnantes et constructives.

Mes remerciements vont également à Monsieur Ferid Rachdi, Professeur physicien et directeur de recherche au CNRS à l'Université Montpellier 2, à qui je prie de trouver ici le témoignage de ma respectueuse considération. Et je lui en suis très reconnaissant de la confiance dont il m'a fait preuve.

Je suis très reconnaissant au professeur Nadia Bertin, agronome à l'Institut National de la Recherche Agronomique - France, de l'attention soutenue qu'elle a porté tout au long des trois années de thèse aux aspects interprétations physiologiques des images RMN.

Je remercie l'équipe de Chimie Moléculaire et Organisation des Solides de l'Institut Charles Guerhardt pour leur collaboration et de m'avoir permis de travailler sur les nanoparticules magnétiques. Je pense, bien entendu, aux professeurs Yannick Guari et Joulia Larionova et aux docteurs Marine Perrier et Lénaïc Lartigue.

Mes sincères remerciements s'adressent également à tous les membres de notre équipe qui m'ont beaucoup aidé dans ma construction scientifique et humaine. Je pense à : Gill Morrot, Eric Nativel, Pascal Kouyoumdjian, Christophe Coillot, Paul Stein et Stéphane Mottin.

Je remercie également très chaleureusement tous les stagiaires et docteurs qui ont su me supporter, me soutenir et pour tout les moments de convivialité que nous avons partagé ensemble : EL Mohamed Halidi, Najib Mnasri, Mohamed Akel, Mahieu-william Laurent, Cieslak Mikolaj, Thouraya Turki, Vladimir Caillat, Hossem Omrani et tous les autres. .

J'adresse mes profonds remerciements à tous les membres de ma famille, à mon défunt père, à ma mère et à mes frères et sœurs, qui m'ont toujours soutenu et pour l'encouragement inébranlable que vous m'avez apporté. Je vous en serai éternellement reconnaissant. Qu'ils trouvent dans ce travail le témoignage de mon affection.

*À la mémoire de mon père, qui nous a  
... quitté un certain Mardi  
3 août 1999.*

*À la femme de ma vie  
... Nabila*

# Résumé

Les études non destructives des processus physiologiques dans les produits agronomiques exigent des résolutions spatiales et temporelles de plus en plus élevées. L'imagerie par résonance magnétique nucléaire (RMN) est une technique totalement non-invasive qui permet d'accéder à plusieurs types de variables (architecture des tissus, variabilités spatiales de la composition, flux entrants et internes au cours de la croissance du fruit) plus difficilement quantifiables avec des méthodes destructives classiques. Un des enjeux majeur également réside dans la faculté de localiser spatialement ces transformations physiologiques et morphologiques dans les produits agronomiques. Les travaux de recherches réalisés dans le cadre de cette thèse ont pour objectif principal, la mise en œuvre d'une méthodologie de calcul et d'analyse quantitatives en imagerie RMN appliquée à l'agronomie. L'implémentation, l'optimisation et la validation de la séquence FLASH combinée avec des agents de contraste efficaces en terme de relaxivité et bio-compatibles a permis d'une part, la cartographie des paramètres de relaxation et d'autre part, la quantification du transport de l'eau d'un système agronomique modèle au cours de sa croissance *in vitro*. Les nanoparticules de l'agent de contraste  $Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/Mannitol$  ont été utilisées comme des marqueurs afin de localiser les flux hydriques dans le fruit. Le choix de la séquence d'imagerie FLASH a été motivé par la nécessité d'atteindre des résolutions temporelles suffisantes pour suivre la dynamique des changements physiologiques liés au transport de l'eau dans ce type de matériau. La validation de la méthode de calcul du  $T_1$  menée sur le fantôme a révélé un bon accord par rapport aux  $T_1$  mesurés par relaxométrie. Une étude expérimentale portant sur l'évaluation des inhomogénéités des champs magnétiques  $B_0$  et  $B_1$  a été proposée. Nous avons également mis au point une procédure d'évaluation du rapport signal-sur-bruit (SB) et des incertitudes commises dans chaque voxel des images paramétriques  $M_0$  et  $T_1$ . L'évaluation de ces incertitudes est un élément fondamental de cette analyse quantitative, afin d'assurer des interprétations fiables des images RMN. La segmentation des images nous a permis de localiser précisément les tissus où règne une forte activité cellulaire. Enfin, les paramètres cinétiques liés au transport de l'eau dans le fruit ont été quantifiés via la mise en œuvre d'une modélisation compartimentale.

**Mots-clés :** Imagerie RMN quantitative, paramètres intrinsèques, segmentation, modélisation compartimentale, agents de contraste, tissus végétaux



# Abstract

Non destructive studies of physiological processes in agronomic products require increasingly higher spatial and temporal resolutions. Nuclear Magnetic Resonance (NMR) imaging is a completely non-invasive technique providing access to several types of variables (tissue architecture, spatial variability of the composition, external and internal flow during fruit growth) more difficult to quantify with conventional destructive methods. One of major challenge lies in the ability to spatially localize the physiological and the morphological changes in the agricultural products. The main objective of the research work in this thesis is to carry out a methodology in order to calculate and analyze quantitative NMR imaging applied to agronomy. The implementation, optimization and validation of the FLASH imaging sequence is performed in combination with innovative biocompatible contrast agents efficient in terms of relativity which allow to map *in vivo* relaxation parameters and then to explore water transport in an agronomic model : the tomato during its growth. Nanoparticles of  $Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/Mannitol$  contrast agents have been used as markers to localize the water flow in the fruit. The choice of the FLASH imaging sequence is motivated by the necessity to achieve sufficient high temporal resolution for monitoring the dynamics of physiological changes related to the water transport. The validation of the  $T_1$  calculation method performed on a phantom shows a good agreement compared to  $T_1$  measured by relaxometry. An experimental investigation relating to the evaluation of the  $B_0$  and  $B_1$  magnetic fields inhomogeneities was proposed. A systematic procedure for the estimation of the signal to noise ratio on the parametric images is also proposed which ensures a carefull determination of the intrinsic parameters of living tissues ( $M_0$  and  $T_1$ ) and their uncertainties. This step in the analysis ensures reliable interpretation of NMR images and permits image segmentation in order to precisely localize the tissues where there is a high cellular activity. Finally, the time dependance and the compartmental modeling allowed us to quantify the kinetic parameters associated with the water transport in the fruit.

**Keywords** : Quantitative NMR imaging, intrinsic parameters, segmentation, compartmental modeling, contrast agents, plant tissues

# Table des matières

Table des figures	4
Liste des tableaux	9
Liste des symboles et abréviations	10
Introduction générale	12
Élément de la physiologie végétale	17
<b>1 Résonance magnétique nucléaire</b>	<b>23</b>
1.1 Principe de la spectroscopie RMN . . . . .	24
1.1.1 Magnétisme nucléaire . . . . .	24
1.1.2 Précession de Larmor . . . . .	25
1.2 Impulsion de radiofréquence . . . . .	26
1.3 Équations de Bloch . . . . .	28
1.4 Relaxation magnétique nucléaire . . . . .	30
1.5 Bases physique de l'imagerie RMN . . . . .	31
1.5.1 Gradient de sélection de coupe . . . . .	32
1.5.2 Codage spatial par la fréquence . . . . .	32
1.5.3 Codage spatial par la phase . . . . .	33
1.6 Écho de spin . . . . .	34
1.7 Écho de gradient . . . . .	36
1.8 Contraste en imagerie RMN . . . . .	37
1.8.1 Contraste $M_0$ . . . . .	38
1.8.2 Contraste $T_1$ . . . . .	38
1.8.3 Contraste $T_2$ . . . . .	39
1.9 Conclusion . . . . .	40
<b>Contexte de l'étude</b>	<b>41</b>
<b>2 Agents de contraste en imagerie RMN</b>	<b>47</b>
2.1 Contraste naturel des tissus . . . . .	49
2.1.1 Origine de la relaxation $T_1$ et $T_2$ . . . . .	49
2.2 Mode d'action des agents de contraste $T_1$ . . . . .	50
2.2.1 Mécanisme de la sphère interne . . . . .	51
2.2.2 Mécanisme de la sphère externe . . . . .	52

2.3	Mode d'action des agents de contraste $T_2$ . . . . .	53
2.4	Section expérimentale . . . . .	54
2.4.1	Nanoparticules de $Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/Mannitol$ . . . . .	54
2.4.2	Mesure des relaxivités $r_1$ et $r_2$ . . . . .	55
2.4.2.1	Mesure du $T_1$ . . . . .	55
2.4.2.2	Mesure du $T_2$ . . . . .	56
2.5	Conclusion . . . . .	62
<b>3</b>	<b>Implémentation, validation et optimisation de la séquence FLASH</b>	<b>64</b>
3.1	Séquence FLASH . . . . .	65
3.1.1	Imperfections techniques de $B_0$ . . . . .	66
3.1.2	Effets de la susceptibilité magnétique . . . . .	66
3.2	Analyse de la séquence FLASH . . . . .	67
3.3	Application de la séquence FLASH . . . . .	70
3.4	Zone d'homogénéité du champ $B_0$ . . . . .	72
3.5	Cartographie du champ $B_1$ . . . . .	73
3.6	Cartographie du $T_2^*$ . . . . .	76
3.7	Validation de la séquence FLASH : Application sur fantôme . . . . .	78
3.8	Optimisation de $\theta_1$ et $\theta_2$ . . . . .	80
3.9	Conclusion . . . . .	82
<b>4</b>	<b>Applications en agronomie et modélisation compartimentale</b>	<b>83</b>
4.1	Matériels et méthodes . . . . .	84
4.1.1	Caractérisation des distributions de $T_1$ et de $T_2$ . . . . .	84
4.1.2	Dispositif expérimental . . . . .	87
4.1.3	Calcul des cartographies $T_1$ et $M_0$ . . . . .	88
4.1.4	Cartographie des erreurs . . . . .	93
4.1.5	Estimation du bruit . . . . .	95
4.1.5.1	Étude théorique et expérimentale . . . . .	95
4.2	Résultats et discussion . . . . .	100
4.3	Étude du transport de l'agent de contraste . . . . .	108
4.4	Modélisation compartimentale . . . . .	110
4.5	Dépendance temporelle de la quantité d'eau . . . . .	115
4.6	Conclusion . . . . .	119
	<b>Conclusion générale</b>	<b>122</b>
	<b>Annexe A : Établissement des équations de Bloch</b>	<b>127</b>
	<b>Annexe B : Caractérisation du <math>Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/Mannitol</math></b>	<b>133</b>
	<b>Annexe C : Algorithme d'optimisation de <math>\theta_1</math> et <math>\theta_2</math></b>	<b>134</b>
	<b>Annexe D : Étapes de traitement du signal RMN</b>	<b>136</b>
	<b>Annexe E : <math>M_0</math>, <math>T_1</math> et <math>T_2</math> dans les modèles tissulaires</b>	<b>138</b>

<b>Publications et encadrements</b>	<b>142</b>
<b>Bibliographie</b>	<b>145</b>

# Table des figures

1	Cellule végétale. Modifiée depuis : <a href="http://www.life.illinois.edu/ib/102/Levetin/2.%20The%20Plant%20Cell.pdf">http://www.life.illinois.edu/ib/102/Levetin/2.%20The%20Plant%20Cell.pdf</a> . . . . .	18
2	Transport chez les plantes. Modifiée depuis : <a href="http://dls.ym.edu.tw/sa/dls/upload/2-3/leg/plant_001.pdf">http://dls.ym.edu.tw/sa/dls/upload/2-3/leg/plant_001.pdf</a> . . . . .	20
3	Diffusion des molécules d'eau à travers la membrane bicouche par un flux de masse microscopique à travers un pore formé par des protéines et des polysaccharides. Modifiée depuis : <a href="http://dls.ym.edu.tw/sa/dls/upload/2-3/leg/plant_001.pdf">http://dls.ym.edu.tw/sa/dls/upload/2-3/leg/plant_001.pdf</a> . . . . .	21
1.1	Précession de Larmor : le couple exercé sur l'aimantation $\vec{M}$ par le champ magnétique statique $\vec{B}_0$ , induit un mouvement de précession de $\vec{M}$ autour de $\vec{B}_0$ avec une vitesse angulaire $\omega_0$ . Modifiée depuis : <a href="http://eos.univ-reims.fr/LSD//JmnSoft/livre.pdf">http://eos.univ-reims.fr/LSD//JmnSoft/livre.pdf</a> . . . . .	26
1.2	Effet d'une impulsion radiofréquence appliquée à la résonance. <a href="http://eos.univ-reims.fr/LSD//JmnSoft/livre.pdf">http://eos.univ-reims.fr/LSD//JmnSoft/livre.pdf</a> . . . . .	28
1.3	Composantes longitudinale et transversale de l'aimantation. <a href="http://eos.univ-reims.fr/LSD//JmnSoft/livre.pdf">http://eos.univ-reims.fr/LSD//JmnSoft/livre.pdf</a> . . . . .	30
1.4	Illustration du principe de codage spatial du signal RMN. (a) spectre RMN d'un tube rempli d'eau. Une seule raie, tous les protons résonnent à la même fréquence. La flèche indique la direction de $B_0$ . (b) un spectre est enregistré pour le même tube d'eau après l'application d'un gradient de champ magnétique. La variation de l'intensité du champ magnétique total ( $B_0 +$ gradient) est représentée par la rampe de flèches. Sur le côté gauche du tube, le gradient s'ajoute à $B_0$ , en revanche sur le côté droit le gradient décroît le champ $B_0$ . Il en résulte, que les protons de tube d'eau vont résonner à des fréquences dépendant de leurs position suivant l'axe d'application du gradient, d'où cet éclatement en fréquence de l'échantillon. . . . .	31
1.5	Illustration de la sélection de coupe lors de l'application d'un pulse de sélection en présence du gradient $G_z$ . . . . .	33
1.6	Chronogramme de la séquence d'écho de spin. . . . .	35
1.7	Chronogramme de la séquence d'écho de gradient. . . . .	37
2.1	Image TEM et la distribution de taille des nanoparticules. . . . .	54
2.2	Chronogramme de la séquence <i>inversion-récupération</i> . . . . .	56

2.3	Illustration du principe de la mesure du $T_2$ par la séquence d'écho de spin. Polarisation de l'aimantation suivant l'axe longitudinal (A). Basculement de l'aimantation dans le plan transverse suite à l'application de l'impulsion RF de $90^\circ$ (B), l'aimantation présente une amplitude maximale. Une fois la RF arrêtée, les spins se déphasent (C). L'application de l'impulsion RF de $180^\circ$ aura pour effet de rephaser les spins et l'amplitude de l'aimantation transversale atteint son maximum (D) au temps d'écho (délai entre B et D). En répétant régulièrement la RF $180^\circ$ , on peut générer une série d'écho.	57
2.4	$T_1$ mesurés par la séquence <i>inversion-récupération</i> et évolution de l'aimantation en $\log(1 - \frac{M}{M_0}) - \log(2)$ en fonction de temps de récupération de l'aimantation longitudinale pour différentes concentrations des nanoparticules de $Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/Mannitol$ . La gamme de concentrations est de : $\times$ : $2\text{ mM}$ , $\star$ : $5\text{ mM}$ , $\square$ : $7.5\text{ mM}$ , $\triangle$ : $10\text{ mM}$ et $+$ : $20\text{ mM}$ .	58
2.5	$T_2$ mesurés par la séquence <i>CPMG</i> et évolution de l'aimantation en $\log(\frac{M}{M_0})$ en fonction de temps de destruction de l'aimantation transversale pour différentes concentrations des nanoparticules de $Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/Mannitol$ . La gamme de concentrations est de : $\times$ : $2\text{ mM}$ , $\star$ : $5\text{ mM}$ , $\square$ : $7.5\text{ mM}$ , $\triangle$ : $10\text{ mM}$ et $+$ : $20\text{ mM}$ .	59
2.6	Représentation des taux de relaxation longitudinal et transversal ( $s^{-1}$ ) en fonction de la concentration ( $mM$ ) des nanoparticules de $Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/Mannitol$	59
2.7	$T_1$ mesurés par la séquence <i>inversion-récupération</i> et évolution de l'aimantation en $\log(1 - \frac{M}{M_0}) - \log(2)$ en fonction de temps de récupération de l'aimantation longitudinale pour différentes concentrations du Dotarem®. La gamme de concentrations est de : $\times$ : $1\text{ mM}$ , $\star$ : $2\text{ mM}$ , $\square$ : $5\text{ mM}$ , $\triangle$ : $7.5\text{ mM}$ et $+$ : $10\text{ mM}$ .	60
2.8	$T_2$ mesurés par la séquence <i>CPMG</i> et évolution de l'aimantation en $\log(\frac{M}{M_0})$ en fonction de temps de destruction de l'aimantation transversale pour différentes concentrations du Dotarem®. La gamme de concentrations est de : $\times$ : $1\text{ mM}$ , $\star$ : $2\text{ mM}$ , $\square$ : $5\text{ mM}$ , $\triangle$ : $7.5\text{ mM}$ et $+$ : $10\text{ mM}$ .	60
2.9	Représentation des taux de relaxation longitudinal et transversal ( $s^{-1}$ ) en fonction de la concentration ( $mM$ ) du Dotarem®.	61
3.1	Train de pulse pour l'analyse de la séquence FLASH : aimantation en régime d'équilibre imposé par des impulsions périodiques ( $\theta$ ) espacées d'un délai $T_R$ .	68
3.2	Influence des paramètres d'acquisition $T_R$ et $\theta$ sur l'intensité du signal de la séquence FLASH	69
3.3	Application de la séquence FLASH implémentée sur une tomate cerise et annotation de ses différents tissus.	70

3.4	Contraste de la séquence FLASH obtenu à partir des tissus du péricarpe et du placenta. Cette évolution du contraste est tracée en fonction du $T_R$ et $\theta$ pour un $T_E \ll T_2^*$ . Les paramètres de la simulation sont de $M^A = 90\%$ , $T_1^A = 1200\text{ ms}$ , $M^B = 80\%$ et $T_1^B = 800\text{ ms}$ respectivement pour le péricarpe et le placenta. Ces paramètres ont été déterminés par la séquence <i>saturation-récupération</i> , via des régions d'intérêt pour chaque tissu d'une tomate cerise verte. . . . .	71
3.5	Zone d'homogénéité du champ $B_0$ . . . . .	72
3.6	Cartographie des angles de bascule. L'angle prescrit utilisé est de $\theta = 30^\circ$ et le $T_R = 6\text{ s}$ . . . . .	74
3.7	Étude comparative entre les angles de bascule théoriques et ceux effectivement mesurés, $att_{90^\circ} = 28\text{ db}$ . . . . .	75
3.8	Variation de l'intensité du signal en fonction de la position des offsets. . . . .	75
3.9	(a) image enregistrée à $T_{E1} = 5\text{ ms}$ . (b) image enregistrée à $T_{E2} = 15\text{ ms}$ . (c) carte $T_2^*$ . Les autres paramètres de la séquence sont : $\theta = 30^\circ$ , $T_R = 500\text{ ms}$ . . . . .	77
3.10	$T_1$ mesurés par la séquence <i>inversion-récupération</i> pour les cinq tubes à différentes concentrations en agents de contraste et évolution de l'aimantation en $\log(1 - \frac{M}{M_0}) - \log(2)$ en fonction du temps de récupération. La gamme de concentrations est de : + : $1\text{ mM}$ , $\times$ : $0.25\text{ mM}$ , $\square$ : $0.1\text{ mM}$ , $\triangle$ : $0.08\text{ mM}$ et $O$ : $0.05\text{ mM}$ . . . . .	78
3.11	Principe de mesure du $T_1$ par imagerie RMN sur fantôme. À gauche l'image pondérée $M_0$ ( $\theta_1 = 12^\circ$ ) et à droite celle pondérée $T_1$ ( $\theta_2 = 58^\circ$ ) . . . . .	79
3.12	Comparaison des valeurs de $T_1$ mesurés par la séquence <i>inversion-récupération</i> ( $T_1$ de références) et ceux mesurés par imagerie. La ligne en pointillés représente le cas idéal. . . . .	80
3.13	Évaluation (échelle normalisée) de l'angle de bascule optimal $\theta_1$ . Les différentes courbes ont été tracées pour une gamme de $\theta_2$ allant de $44^\circ$ à $60^\circ$ . . . . .	81
3.14	Évaluation (échelle normalisée) de l'angle de bascule optimal $\theta_2$ . Les différentes courbes ont été tracées pour une gamme de $\theta_1$ allant de $8^\circ$ à $19^\circ$ . . . . .	81
4.1	Distribution de $T_2$ dans la tomate cerise. Inset : aimantation en $\log(\frac{M}{M_0})$ en fonction du temps de destruction de l'aimantation transversale. . . . .	86
4.2	Distribution de $T_1$ dans la tomate cerise. Inset : aimantation en $\log(1 - \frac{M}{M_0}) - \log(2)$ en fonction du temps de récupération de l'aimantation longitudinale. . . . .	86
4.3	Illustration schématique de l'installation de l'imagerie RMN appliquée sur le modèle agronomique. La bobine $RF$ est disposée autour du fruit. $Tx$ et $Rx$ symbolisent respectivement, la transmission des RF et la réception du signal RMN. . . . .	89
4.4	Les différentes étapes de traitement des images. . . . .	91
4.5	Estimation du $T_1(0)$ . . . . .	93
4.6	Distribution du bruit sur l'image de la composante réelle. . . . .	96

4.7	Distribution du bruit sur l'image de la composante imaginaire. . . . .	97
4.8	Allure de la distribution de <i>Rice</i> pour différentes valeurs du rapport SB. . . . .	97
4.9	Effet du rapport SB sur l'estimation du bruit à partir des paramètres statistiques. Pour le cas $SB = 0.5$ . L'axe des abscisses, représente l'élargissement des distributions des composantes réelle et imaginaire. . . . .	98
4.10	Effet du rapport SB sur l'estimation du bruit à partir des paramètres statistiques. Pour le cas $SB = 4.0$ . L'axe des abscisses, représente l'élargissement des distributions des composantes réelle et imaginaire. . . . .	99
4.11	Effet du rapport SB sur l'estimation du bruit à partir des paramètres statistiques. Pour le cas $SB = 2.0$ . L'axe des abscisses, représente l'élargissement des distributions des composantes réelle et imaginaire. . . . .	99
4.12	Estimation du bruit de l'image magnitude. . . . .	100
4.13	images $^1\text{H}$ RMN à travers le plan transversal (coupe 1) de la tomate cerise verte. (a) et (b) images pondérées $M_0$ . (c) et (d) images pondérées $T_1$ . Elles ont été acquises avec la dimension $256^2$ ( $512^2$ après le zero filling). La résolution spatiale est de : $100 \mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$ et l'épaisseur de coupe vaut : $750 \mu\text{m}$ . . . . .	101
4.14	images $^1\text{H}$ RMN à travers le plan transversal (coupe 2) de la tomate cerise verte. (a) et (b) images pondérées $M_0$ . (c) et (d) images pondérées $T_1$ . . . . .	101
4.15	images $^1\text{H}$ RMN à travers un plan transversal (coupe 3) de la tomate cerise verte. (a) et (b) images pondérées $M_0$ . (c) et (d) images pondérées $T_1$ . . . . .	102
4.16	images $^1\text{H}$ RMN à travers le plan transversal (coupe 4) de la tomate cerise verte. (a) et (b) images pondérées $M_0$ . (c) et (d) images pondérées $T_1$ . . . . .	102
4.17	Localisation de l'effet du rehaussement de l'intensité du signal. (a) image originale en niveaux de gris. (b) masque binaire de la zone du rehaussement. (c) image RGB. (d) superposition des zones du rehaussement de l'intensité du signal sur une image anatomique en niveau de gris. . . . .	103
4.18	Pile d'images de la coupe 2 en fonction du temps d'acquisition. . . . .	103
4.19	Pile d'images de la coupe 3 en fonction du temps d'acquisition. . . . .	104
4.20	Images paramétriques ( $T_1$ , $M_0$ , $\frac{\Delta T_1}{T_1}$ et $\frac{\Delta M_0}{M_0}$ ) transversales du fruit (coupe 2) obtenues par un calcul basé sur une analyse voxel-par-voxel. Ces résultats correspondent respectivement, à 1 <i>hr</i> (a, b, c, d, e et f) et à 112 <i>hr</i> (g, h, i, j, h et l) de contact avec l'agent de contraste. Dans toutes les images, les pixels noirs (Not a Number) représentent des zones exclues du calcul car l'erreur a dépassé un seuil statistique de 15 %. . . . .	105
4.21	Effet $T_2^*$ sur la variation de l'intensité du signal $S(\theta_1)$ pour le slice 2. . . . .	107
4.22	Variation de volume au cours de la croissance du fruit. Le volume a été estimé par une extrapolation du volume de la coupe médiane à un volume sphérique. La courbe continue, représente l'ajustement de la fonction de répartition de la loi logistique. . . . .	108
4.23	Cartographie de la concentration (obtenue à la fin de la croissance du fruit) de l'agent de contraste (CAs) superposée sur une image anatomique (coupe 2) en niveau de gris. . . . .	109



4.24	Segmentation des images. Les pixels rouges mettent en valeur les columelles et ses tissus environnant. Les pixels jaunes reflètent les enveloppes des graines alors que les pixels bleus sont ceux des autres tissus. . . . .	109
4.25	Modélisation compartimentale du transport de l'agent de contraste dans les columelles à travers les différentes coupes. . . . .	110
4.26	Ajustement des courbes (trait plein) de la variation de la concentration d'agent de contraste (CAs) dans les columelles pour les différentes coupes ( $\times$ : coupe 1, $\circ$ : coupe 2, $\square$ : coupe 3). . . . .	112
4.27	Progression des nanoparticules d'agent de contraste dans les columelles et croissance en volume du fruit. . . . .	113
4.28	Variation de la concentration de l'agent de contraste (CAs) dans les enveloppes des graines pour les différentes coupes ( $\circ$ : coupe 2, $\square$ : coupe 3, $\triangle$ : coupe 4). . . . .	114
4.29	Variation du $T_1$ dans les enveloppes des graines ( $\circ$ : coupe 2, $\square$ : coupe 3, $\triangle$ : coupe 4, + : tomate témoin). . . . .	115
4.30	Variation de la densité de protons dans les enveloppes des graines ( $\circ$ : coupe 2, $\square$ : coupe 3, $\triangle$ : coupe 4). . . . .	116
4.31	Variation de la densité de protons et du $T_1$ dans les columelles et ses tissus environnants. . . . .	116
4.32	Variation du $T_1$ dans les columelles et dans les enveloppes des graines du fruit de la tomate sans agent de contraste. Inset : Variations normalisées des densités de protons correspondantes. . . . .	117
4.33	Évolution temporelle de la quantité d'eau au niveau des columelles, l'enveloppes des graines et le fruit au cours de croissance. . . . .	118
4.34	Prise d'eau en fonction des différents tissus. Ces résultat nous ont été fournis par les agronomes de l'INRA - Avignon dans le cadre de notre collaboration. . . . .	119
1A	Détection simple du signal RMN. . . . .	131
2A	Détection en quadrature du signal RMN. . . . .	132
1B	Représentation du <i>Mannitol</i> . . . . .	133
2B	Diffractionogramme DRX du $Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/Mannitol$ . . . . .	133
1E	Structure dynamique de l'eau dans les tissus biologiques. . . . .	138

# Liste des tableaux

2.1	Relaxivités longitudinale et transversale mesurées pour les différents agents de contraste . . . . .	62
4.1	Paramètres d'ajustement . . . . .	112

# Liste des symboles et abréviations

- **RMN** Résonance Magnétique Nucléaire.
- $^1\text{H}$  hydrogène.
- $E_m$  énergie magnétique.
- **Gd** gadolinium.
- $\mathbf{T}_1$  temps de relaxation longitudinale.
- $\mathbf{T}_2$  temps de relaxation transversale.
- $\mathbf{T}_2^*$  temps de relaxation transversale apparente.
- $M_0$  amplitude de l'aimantation macroscopique à l'équilibre.
- $\mathbf{B}_0$  champs magnétique statique.
- $\gamma$  constante gyromagnétique.
- $\vec{\mathbf{L}}$  moment cinétique orbital.
- $\vec{\mathbf{\Gamma}}$  couple de forces.
- $\hbar$  constante de Planck réduite.
- **RF** Radiofréquence.
- **FLASH** Fast Low Angle SHot.
- $\mathbf{T}_R$  temps de répétition.
- $\mathbf{T}_E$  temps de d'écho.
- $\theta$  angle de bascule de l'aimantation.
- $B_{rf}^+(t)$  champs de radiofréquence circulairement polarisé à droite.
- $B_{rf}^-(t)$  champs de radiofréquence circulairement polarisé à gauche.
- $\phi$  phase de l'impulsion de radiofréquence.

- $B_1$  amplitude de l'impulsion de radiofréquence.
- $B^{eff}$  champ magnétique effectif.
- $Gd^{3+}$  Gadolinium 3+.
- $r_1$  relaxivité longitudinale.
- $r_2$  relaxivité transversale.
- $G_z$  gradient de sélection de coupe.
- $G_y$  gradient de codage par la phase.
- $G_x$  gradient de codage par la fréquence.
- $\varphi$  phase de l'aimantation soumise à  $G_y$ .
- $k_x$  fréquence spatiale selon l'axe  $ox$ .
- $k_y$  fréquence spatiale selon l'axe  $oy$ .
- $\Delta_x$  résolution spatiale selon l'axe  $ox$ .
- $\Delta_y$  résolution spatiale selon l'axe  $oy$ .
- $N_y$  nombre d'incrémentations de codage par la phase.
- $C_{AB}$  contraste entre deux structures tissulaires A et B.
- **ROI** Region Of Interest.
- **SB** signal sur bruit.
- **PEG** polyéthylène glycol.
- **PEGN** polyéthylène glycol amine.
- **MAN** mannitol.

# Introduction générale

Les méthodes des sciences physiques et des développements de l'informatique sont actuellement au cœur des études modernes d'investigation dans les sciences du vivant à différentes échelles. La résonance magnétique nucléaire (RMN), est une technique spectroscopique totalement non-invasive et non-destructive qui est susceptible de sonder les propriétés électroniques, magnétiques et dynamiques intrinsèques de la matière. L'une de ses applications les plus importantes est incontestablement, l'imagerie par résonance magnétique nucléaire. Dans cette modalité d'imagerie, l'application de gradients de champ magnétique dans les trois directions de l'espace, permet de sélectionner une région d'intérêt à étudier, par discrétisation de son volume (coupe anatomique) par la fréquence et la phase de l'aimantation de chaque élément de volume (*voxel*) et d'en construire des images en deux ou trois dimensions et selon différentes orientations. De plus, au-delà de la simple visualisation des structures morphologiques (la forme, la taille, l'épaisseur et la nature des parois des cellules et la structure des tissus), des informations quantitatives peuvent être obtenues à partir des images, par segmentation (calcul du volume de différents tissus) ou par mesure directe de l'intensité du signal des pixels. Au cours de ces deux dernières décennies, cette technique a bénéficié d'importants développements théoriques, méthodologiques et instrumentaux. Ainsi, elle s'est révélée un outil très puissant et incontournable, pour des investigations multi-échelles en sciences agronomiques [1][2]. L'intensité du signal émanant de chaque voxel, dépend principalement de la densité de proton ( $M_0$ ), des temps de relaxation magnétique ( $T_1$  et  $T_2$ ) et dépend également de paramètres instrumentaux, tel que le type de séquence choisie et le gain du récepteur. Les variations de ces paramètres induisent des changements dans l'intensité du signal et causent ainsi des modifications de contraste, perceptibles sur les images. Cependant, l'extraction de l'information physiologique (les cellules d'un tissu étant spécialisées dans l'accomplissement d'une ou plusieurs fonctions) à partir des images est une opération qui n'est pas simple. En effet, l'intensité et le contraste dans les images dépendent de façon complexe de la densité de proton, des temps de relaxation magnétique nucléaire, de la température, de la diffusion, des déplacements chimiques, des échanges chimiques et des différences locales de susceptibilité magnétique [3]. Par voie de conséquence, pour disposer d'un bon contraste entre les différentes structures tissulaires et avoir des images les plus informatives possible, le contrôle

et l'optimisation de tous ces paramètres se révèlent indispensable.

Le fonctionnement et la qualité (forme, taille, couleur, fermeté, saveur et texture) des fruits dépendent de multiples paramètres physico-chimiques qui découlent des processus physiologiques, dont les dynamiques sont susceptibles d'être observées à différentes échelles. Le fruit est assimilé à un système complexe qui évolue spatialement et temporellement sous le contrôle de mécanismes mesurables sur des échelles tissulaires, moléculaires et cellulaires [4]. La croissance du fruit se produit par la *multiplication* et la *croissance cellulaires* [5]. La multiplication cellulaire permet d'atteindre un effectif cellulaire définitif. La pression de *turgescence* dans les cellules est l'élément moteur de l'expansion cellulaire. Ceci implique que l'accroissement du volume cellulaire dépend de la quantité d'eau absorbée et de la richesse en solutés. En effet, l'évolution du volume du fruit est la conséquence du bilan entre les apports en eau et en carbone via le xylème et le phloème et des pertes par la transpiration et la respiration. Une difficulté dans l'étude de ces mécanismes tient son origine dans leur localisation dans le fruit. Les techniques RMN/imagerie RMN étant non invasives, peuvent permettre d'accéder à plusieurs types de variables plus difficilement quantifiables (architecture des tissus, variabilités spatiales de la composition, flux entrants et internes au cours de la croissance du fruit) avec des méthodes destructives classiques. Ces divers mécanismes physiologiques et biochimiques liés aux propriétés biophysiques des tissus ont des incidences directes sur la qualité des produits agronomiques. Nous allons montrer dans ce présent manuscrit, que l'imagerie RMN combinée avec des agents de contraste bio-compatibles et efficaces en terme de relaxivité, a un grand potentiel de devenir un outil majeur en recherches biophysiques dans le domaine des sciences agronomiques.

On distingue deux catégories d'agents de contraste [6], les agents  $T_1$  dont l'effet principal se manifeste par une diminution du  $T_1$  des protons. Ce sont principalement des complexes paramagnétiques de petite taille, de l'ordre de 4 nm, ayant un ion métallique avec des électrons non appariés, le plus utilisé étant le gadolinium ( $Gd^{3+}$ ). Avec ses sept électrons célibataires et un temps de relaxation électronique relativement long ( $10^9$  s) par rapport aux autres lanthanides, il permet un transfert efficace de l'information magnétique vers les molécules d'eau. L'autre catégorie d'agents de contraste, sont des agents  $T_2$  dont l'effet principal se traduit par une diminution du  $T_2$  des protons. Ils sont formés de nanoparticules d'oxyde de fer super-paramagnétiques ou ferromagnétiques dont le diamètre varie entre 5 et 200 nm. Dotées d'un fort moment magnétique, ce dernier crée localement une grande hétérogénéité du champ magnétique dans la région où diffusent les molécules d'eau. Cette hétérogénéité magnétique induit une accélération du déphasage des spins nucléaires des protons, qui se traduit par une perte de l'intensité du signal RMN par effet  $T_2$  ou  $T_2^*$ .

Pour une utilisation *in vivo*, il existe des contraintes physiologiques qui affectent la bio-distribution de ces nanoparticules tel que leurs tailles, leurs

formes, leurs caractères hydrophiles et hydrophobes et la nature chimique du motif de fonctionnalisation. Il est donc nécessaire de disposer de nanoparticules fonctionnalisées avec une taille et une distribution de taille contrôlées et de plus, stables en suspension. La fonctionnalisation est également un moyen d'apporter de nouvelles fonctions aux nanoparticules et ainsi conduire à des nanomatériaux hybrides multi-fonctionnels présentant des propriétés nouvelles. Le greffage de molécules fonctionnelles bio-compatibles sur des nanoparticules va permettre de combiner les propriétés des molécules à celles des nanoparticules. Il faut noter que la distribution de ces nanoparticules dans le milieu physiologique, est complètement pilotée par les propriétés physiques et chimiques du motif fonctionnel.

On s'est focalisé particulièrement sur la variabilité spatiale et temporelle des molécules d'eau et du sucre, qui sont les principaux moteurs de croissance des fruits. L'eau qui arrive dans le fruit détermine sa croissance en volume. Une partie des sucres est importée aussi par flux de masse donc avec l'eau. Ces deux éléments sont des facteurs fondamentaux de la croissance et par conséquent de la taille finale du fruit. Et d'autre part, suivre la distribution de ces flux dans le fruit en utilisant des agents de contraste  $Fe_3O_4$  super-paramagnétique et des nanoparticules de polymères de coordination à base du gadolinium, fonctionnalisés par un motif de type osidique comme marqueurs de cette mobilité. Le choix d'un motif de fonctionnalisation de type osidique, est fortement motivé par ses propriétés de bio-compatibilités. L'information sur la distribution de ces flux en fonction des tissus est importante pour savoir s'il existe des hétérogénéités au niveau tissulaire. Par exemple chez la pêche les parties les plus ensoleillées (tissus situés à la surface du fruit) sont plus sucrées a cause de la forte transpiration du fruit. Pour la tomate, dans la partie apicale du fruit une carence en calcium induit une pourriture or ce dernier est transporté par l'eau [7].

Hormis la mise en avant des atouts et le potentiel de l'imagerie RMN pour l'étude de la matière végétale. Le but principal de la présente étude est la mise en œuvre d'une méthodologie de mesures quantitatives de cette modalité d'imagerie en combinaison avec des agents de contraste efficaces et bio-compatibles, dédiée à la caractérisation des tissus végétaux, à la localisation du transport moléculaire et à la modélisation des processus physiologiques dans le domaine agronomique. L'originalité de nos travaux est liée à la nature des échantillons étudiés. Nos expérimentations sont menées au cours de la culture de fruits détachés dans un milieu nutritif de composition connu et nous avons suivi la croissance *in vitro* dans un champ magnétique de 4.7 *Tesla*.

Afin d'extraire des informations physiologiques à partir des images, nous nous sommes intéressés à la dépendance temporelle du temps de relaxation  $T_1$  et de la densité de proton  $M_0$  dans les tissus de la tomate cerise, prise comme modèle agronomique. Le suivi de l'évolution du  $T_1$  est accomplie au moyen de la séquence d'imagerie rapide FLASH (Fast Low Angle SHot) que nous avons implémentée,

validée et optimisée sur un spectromètre (Tecmag, Apollo) de 4.7 *Tesla* (200 *MHz*). De plus, nous nous sommes servi des agents de contraste afin de modifier artificiellement ce paramètre RMN. Dans cette étude nous avons fait le choix d'exploiter l'effet  $T_1$  (rehaussement de signal) pour l'acquisition des images. Ce choix a été motivé par le fait que l'effet  $T_2$  (ou  $T_2^*$ ) peut être facilement confondu avec les effets d'inhomogénéités du champ  $B_0$ , des artefacts de susceptibilité magnétique et du bruit de fond. Afin de maximiser cet effet d'exaltation du signal dû aux agents de contraste, les acquisitions dynamiques des images ont été effectuées avec une séquence FLASH fortement pondérée  $T_1$ .

Le présent manuscrit est organisé en quatre chapitres. D'abord nous commencerons par situer le contexte de l'étude. Dans cette partie, nous allons fixer les principaux thèmes abordés et nous rappellerons les notions de base de la physiologie végétale. Cette étape est cruciale pour appréhender les résultats obtenus dans ces travaux de thèse. Dans le premier chapitre, nous présenterons d'abord, les principes physiques et les fondements de la RMN dans les limites de la théorie classique, en s'appuyant sur le concept vectoriel. Nous rappellerons les équations du mouvement de l'aimantation placée dans un champ magnétique, dites *équations de Bloch*. Ensuite, nous discuterons les bases physiques de l'imagerie RMN, nous aborderons particulièrement le principe de formation des images, le contraste des tissus biologiques et les différentes séquences implémentées. Nous rappellerons brièvement les principales techniques de pondérations utilisées pour ces séquences d'imagerie. En dernier lieu, nous verrons comment extraire de l'information physiologique depuis des images RMN, en reliant l'intensité des pixels aux paramètres de relaxation.

Le deuxième chapitre sera consacré à l'étude des agents de contraste. Nous verrons leurs types, leurs effets sur les images et les différents mécanismes d'interactions avec les moments magnétiques des protons des molécules d'eau. Les modèles couramment rapportés dans la littérature pour décrire quantitativement les mécanismes de relaxivité de la *sphère interne* et de la *sphère externe* seront présentés. Nous mettrons en avant également, les principaux paramètres physico-chimiques qui influent directement ou indirectement ces deux types de mécanismes et notamment la façon dont il faudra les optimiser pour avoir des agents de contraste de plus en plus performants. Nous verrons comment mesurer expérimentalement les temps de relaxation magnétique  $T_1$  et  $T_2$  pour ensuite remonter aux relaxivités longitudinale ( $r_1$ ) et transversale ( $r_2$ ). Ces dernières seront considérées comme indicatrices de l'efficacité des agents de contraste utilisés dans cette étude. Notons que la quantification de cette efficacité est conduite systématiquement par une étude comparative entre les relaxivités des agents de contraste synthétisés et un agent de contraste commercial, pris comme référence.

Le troisième chapitre est dédié à la description de la séquence d'imagerie FLASH, qui appartient à la classe des séquences d'écho de gradient avec destruction de l'aimantation transversale résiduelle. Dans un premier temps, nous verrons



ses principales caractéristiques et les motivations qui nous ont amenées à choisir particulièrement cette séquence. Nous analyserons en détail l'équation analytique de l'intensité du signal de cette séquence. Cette analyse sera conduite par la description de l'aimantation en régime d'équilibre, imposé par une suite d'impulsions périodiques espacées d'un délai  $T_R$ . Ensuite, nous déterminerons l'influence des principaux paramètres instrumentaux sur le contraste de cette séquence. Sauf mention contraire, la séquence d'imagerie FLASH implémentée nous servira comme outil d'acquisition des images tout au long de ce travail. Dans un second temps, nous présenterons l'étude qui a été menée sur fantôme pour sa validation. Des approches expérimentales portant sur la quantification des inhomogénéités des champs magnétiques  $B_0$  et  $B_1$  ainsi que la cartographie des  $T_2^*$  seront également abordées. Un algorithme d'optimisation des angles de bascule de l'aimantation sera présenté.

Nous aborderons dans le dernier chapitre, de façon détaillée, la mise en œuvre d'une méthodologie de mesure quantitative appliquée au fruit de la tomate cerise verte en croissance *in vitro*. Nous insisterons plus particulièrement sur les techniques et outils mathématiques inhérents à l'imagerie RMN implémentés et optimisés, afin d'extraire des informations physiologiques et morphologiques sur des échelles tissulaires et cellulaire.

Enfin, une conclusion générale terminera ce manuscrit en exposant les perspectives envisagées et les améliorations qui peuvent être apportées.

# Élément de la physiologie végétale

Les travaux de thèse présentés dans ce manuscrit s'articulent autour de deux thèmes principaux. Le premier thème est consacré au développement d'outils et de méthodes quantitatives en imagerie RMN du proton dédiés à l'étude des aspects structuraux et physiologiques dans le domaine de l'agronomie. Le second thème est focalisé particulièrement sur la détermination, la quantification et la localisation de la distribution des flux hydriques dans un fruit modèle. Des agents de contraste paramagnétiques efficaces en terme de relaxivité et bio-compatibles sont utilisés afin de tracer ces flux. Dans ce qui suit nous rappellerons des notions élémentaires sur la constitution et l'organisation cellulaire et tissulaire des végétaux. Cette étape se révèle nécessaire et fondamentale afin d'appréhender et de fournir des interprétations fiables des résultats de la spectroscopie et imagerie RMN obtenues dans ces travaux de thèse. Toutes les notions biologiques abordées dans cette partie sont tirées des références [8][9][10].

## Aspect structurel tissulaire des végétaux

L'eau joue un rôle essentiel dans le développement et le fonctionnement des plantes. À titre illustratif, pour chaque gramme de matière organique élaboré par la plante, environ 500 g d'eau sont absorbés par les racines, transportés et perdus dans l'atmosphère par évaporation [8]. Des déséquilibres dans ce flux d'eau peuvent entraîner des déficits hydriques et de sévères dysfonctionnements de nombreux processus cellulaires. Chaque plante doit délicatement équilibrer son absorption et ses pertes hydriques. L'eau, est non seulement un vecteur des ressources nutritives, substrat dans les cinétiques de réaction et de solubilisation des constituants hydrophiles, elle a aussi une grande influence sur la structure, l'apparence, la qualité et la conservation des produits agronomiques. Les molécules d'eau dans les tissus végétaux peuvent exister principalement sous trois formes physique : l'eau fortement liée, elle forme par des liaisons hydrogène une couche mono-moléculaire rigide à la surface des molécules organique et minérale. Cette eau n'est pas disponible pour le transport ou comme solvant pour les réactions biologiques. Eau faiblement liée, elle se trouve sous forme de couche poly-moléculaire. Elle est le siège d'échanges chimiques avec

l'eau libre. Cette eau est utilisable comme solvant mais pas comme moyen de transport. L'eau libre, non liée chimiquement et elle est disponible à accomplir toutes les fonctions physiologiques dans les cellules et les tissus. Par exemple, chez la tomate la proportion massique en eau est d'environ 90 à 95 % en fonction du stade de développement du fruit.

## Cellule végétale

La matière végétale se distingue, comparativement à celle du règne animal, par la constitution et la composition de ses cellules et de sa structure tissulaire. Les cellules végétales sont caractérisées par une taille plus importante par rapport aux cellules animales. Elles sont protégées d'une paroi de type polysacchridique et protéique qui leur confère une structure rectangulaire. L'eau et les nutriments (sels minéraux) sont stockés dans la vacuole. La pression hydrique sur les parois cellulaires constitue la pression de *Turgescence*. Une autre spécificité des végétaux réside dans leur capacité à synthétiser leur propre nourriture à partir des diverses ressources apportées par la sève brute (eau et les sels minéraux) et le gaz carbonique ( $CO_2$ ) absorbé à partir de l'atmosphère.

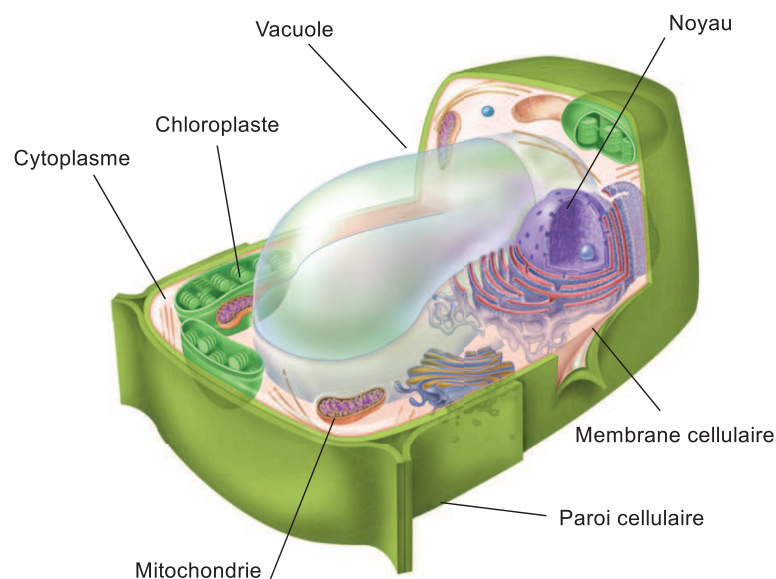


FIGURE 1: Cellule végétale. Modifiée depuis : <http://www.life.illinois.edu/ib/102/Levetin/2.%20The%20Plant%20Cell.pdf>.

Pour mieux comprendre le fonctionnement de la cellule végétale, nous allons décrire succinctement la structure et la fonction de chacun de ses constituants :

**Paroi cellulaire** : c'est une membrane épaisse et rigide qui entoure les cellules des plantes. Cette couche de fibre de cellulose confère à la cellule plus de soutien et de structure.

**Membrane cellulaire** : c'est une fine couche de protéines et de graisses qui entoure la cellule, elle est située à l'intérieur de la paroi cellulaire. Cette membrane cellulaire est semi-perméable, ce qui permet donc à certaines substances de diffuser à travers la cellule mais aussi le cas échéant, le blocage d'autres molécules. Elle a une épaisseur de 80 à 100 Å.

**Noyau** : le noyau est un corps sphérique entouré par la membrane nucléaire. Il contient principalement l'ADN dans les chromosomes. Le noyau contrôle la plupart des fonctions de la cellule.

**Vacuole** : c'est un grand espace lié à la membrane à l'intérieur de la cellule végétale. Elle est remplie avec un liquide, l'eau, sucre et des acides aminés. La quantité d'eau dans la vacuole évolue en fonction de l'âge de la cellule. La plupart des cellules végétales possèdent une seule vacuole qui occupe une grande partie de la surface de la cellule. Elle aide à maintenir l'équilibre de l'eau et la forme de la cellule.

**Mitochondrie** : constituant de forme sphérique ou en forme de bâtonnets, caractérisé par une double membrane. Le mitochondrie convertit l'énergie stockée dans le glucose en ATP (adénosine triphosphate), une molécule à haute énergie, pour une utilisation par la cellule.

**Chloroplastique** : organite de forme allongée ou en forme de disque, qui contient de la chlorophylle. La photosynthèse (dans laquelle l'énergie du soleil est convertie en énergie chimique - nourriture) a lieu dans les chloroplastes.

**Cytoplasme** : matière gélatineuse à l'extérieur du noyau de la cellule dans laquelle baignent les différentes organites.

## **Tissus végétaux**

Les tissus biologiques sont constitués d'un groupe de cellules ayant une même fonction physiologique. On peut ainsi distinguer : des tissus protecteurs (paroi membranaire), des tissus de conduction (xylème et le phloème), des tissus d'élaboration (les parenchymes) et les tissus de croissance (méristèmes). Un ensemble de tissus différents va constituer un organe qui accompli une tâche bien définie, on peut citer entre autre, la nutrition, la reproduction et la croissance. Une organisation tissulaire forment des organes tels que les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles, les graines et les fruits.

## **Transport chez les plantes : xylème et phloème**

Les plantes sont alimentées par deux réseaux vaisseaux de transport parallèles et de sens opposé, sève brute dans le xylème et sève élaborée dans le phloème (Fig. 2). La sève brute, majoritairement composée d'eau et de nutriments (sels minéraux),

progresses par un mouvement vertical et unidirectionnel des racines jusqu'aux organes terminaux (feuilles, fleurs et fruits). La transpiration de ces organes terminaux est l'un des éléments moteur du transport xylémique. Le phénomène de capillarité dans les vaisseaux conducteurs et la différence de pression osmotique entre le sol et les racines contribuent également à l'ascension de la sève. Une fois cette sève arrivée au niveau des organes terminaux, elle est répartie dans les parois des cellules parenchymateuses. Les ions dissous sont absorbés et utilisés sur place. Cependant, il a été montré que la plante perd par transpiration environ 10 % de ce qu'elle a absorbé. Les surfaces d'évaporation sont les parois cellulaires situées à l'intérieur des feuilles et les tissus qui se trouvent à la surface des fruits. Les produits de la photosynthèse synthétisés au niveau des feuilles sont ensuite mis en circulation pour constituer la sève élaborée. Elle est constituée principalement par de l'eau et des sucres, comme le saccharose. Cette sève circule dans un mouvement descendant multidirectionnel alimentant ainsi toutes les parties de la plante et retourne jusqu'aux racines de la plante via les vaisseaux conducteurs du phloème (la sève du phloème est plus visqueuse à cause des sucres). Le transport phloémien de la sève élaborée se produit en trois étapes : un mouvement latéral dans les feuilles, un transport longitudinal puis une diffusion dans les organes puits.

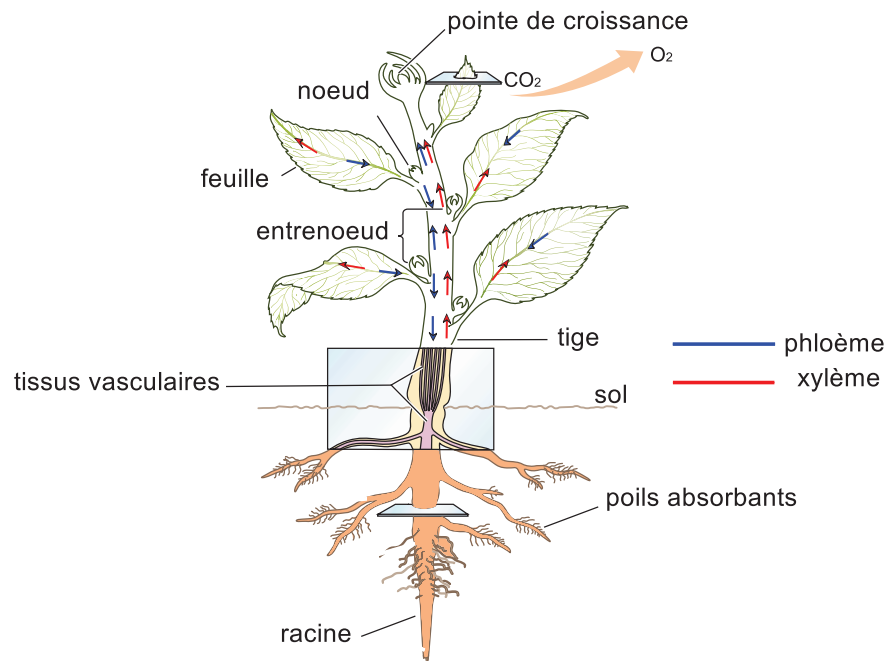


FIGURE 2: Transport chez les plantes. Modifiée depuis : [http://dls.ym.edu.tw/sa/dls/upload/2-3/leg/plant\\_001.pdf](http://dls.ym.edu.tw/sa/dls/upload/2-3/leg/plant_001.pdf).

On comprend bien que le phloème et le xylème jouent un rôle central dans la distribution des plus importantes ressources (l'eau, nutriments et les glucides) nécessaires à la croissance et au développement des plantes. L'eau est un élément vital qui permet la transpiration, l'absorption de CO<sub>2</sub> et la croissance. Il a été mis

en avant que par exemple chez les plantes herbacées, la teneur en eau est d'environ 95 % et la plupart de la résistance mécanique est assurée par les cellules qui sont rigides seulement parce qu'elles sont remplies d'eau. Les sucres transportés par le phloème fournissent de l'énergie et participent aussi aux processus de croissance des plantes. Les fruits croissent car les ressources nécessaires à leur croissance leur sont fournis au moyen des tissus vasculaires. L'équilibre entre les flux phloémiens et xylémiens conditionne les teneurs en sucre dans le fruit. À titre d'exemple, pour la tomate, il existe une forte corrélation entre la teneur en sucre et la qualité gustative du fruit. Donc pour améliorer cette qualité, on peut stimuler les flux du phloème pour renforcer la teneur en glucides. Les tubes de xylèmes sont constitués de cellules mortes, ils sont rigides, plus étendus et robustes comparativement à ceux du phloème. Il est communément admis que chez la tomate, la majeure partie de l'eau entre dans le fruit via le phloème. Ainsi, 90 % d'eau atteint le fruit par le phloème alors que le xylème ne délivre que 10 % de celui-ci. Cette faible contribution du xylème serait liée à la présence d'une certaine restriction dans la connexion entre les tubes de xylème des fruits et celui de la tige principale des plantes. Malgré ces résultats, il existe toujours une controverse sur ce sujet car les flux du xylème et du phloème vers le fruit sont de même direction ce qui rend leur identification très difficile [10].

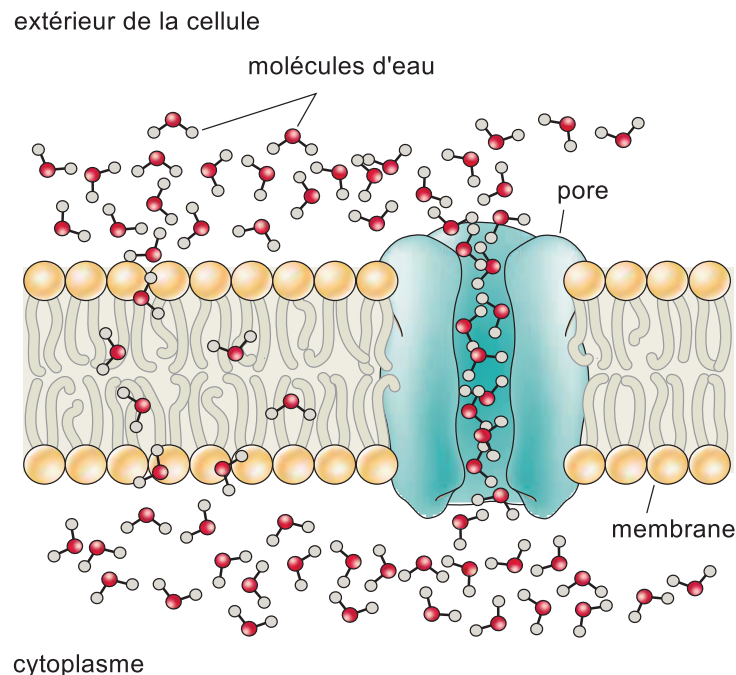


FIGURE 3: Diffusion des molécules d'eau à travers la membrane bicouche par un flux de masse microscopique à travers un pore formé par des protéines et des polysaccharides. Modifiée depuis : [http://dls.ym.edu.tw/sa/dls/upload/2-3/leg/plant\\_001.pdf](http://dls.ym.edu.tw/sa/dls/upload/2-3/leg/plant_001.pdf).

Outre le transport axial, un transport radial (Fig. 3) existe également dans les tissus végétaux. Ce dernier se produit en intra et intercellulaire par diffusion

moléculaire. La diffusion induit le mouvement des molécules des régions de forte concentration vers les régions de faible concentration, dans le sens de la réduction du gradient de concentration.

Le coefficient de diffusion ( $D$ ) est la grandeur qui permet de mesurer la facilité avec laquelle des molécules peuvent se déplacer dans un milieu particulier. Cette constante de diffusion est une caractéristique de la substance (les substances ayant un haut poids moléculaire ont des coefficients de diffusion plus faibles) et elle dépend aussi fortement de la viscosité du milieu (diffusion dans l'air est beaucoup plus rapide que la diffusion dans un liquide). À la lumière de ce qui a été discuté précédemment, il est clair qu'une bonne connaissance de l'organisation de l'eau et de ses interactions avec les microstructures et les macromolécules présentes dans les tissus végétaux, apparaît primordiale pour contrôler et améliorer la qualité des produits agronomiques.

# Chapitre 1

## Résonance magnétique nucléaire

### Sommaire

---

1.1	Principe de la spectroscopie RMN . . . . .	24
1.1.1	Magnétisme nucléaire . . . . .	24
1.1.2	Précession de Larmor . . . . .	25
1.2	Impulsion de radiofréquence . . . . .	26
1.3	Équations de Bloch . . . . .	28
1.4	Relaxation magnétique nucléaire . . . . .	30
1.5	Bases physique de l'imagerie RMN . . . . .	31
1.5.1	Gradient de sélection de coupe . . . . .	32
1.5.2	Codage spatial par la fréquence . . . . .	32
1.5.3	Codage spatial par la phase . . . . .	33
1.6	Écho de spin . . . . .	34
1.7	Écho de gradient . . . . .	36
1.8	Contraste en imagerie RMN . . . . .	37
1.8.1	Contraste $M_0$ . . . . .	38
1.8.2	Contraste $T_1$ . . . . .	38
1.8.3	Contraste $T_2$ . . . . .	39
1.9	Conclusion . . . . .	40

---

Dans ce premier chapitre, nous posons les fondements de base indispensables à la compréhension des phénomènes physiques de la RMN/imagerie RMN abordés dans le cadre de cette étude. Nous nous limiterons à la théorie classique pour présenter et expliquer les différents concepts de la RMN. Dans un premier temps, nous aborderons l'origine du magnétisme nucléaire, en écrivant l'équation de l'aimantation à l'équilibre d'une population de spin soumise à un champ magnétique. Nous rappellerons ensuite les équations qui régissent le mouvement de cette aimantation sous l'influence d'un champ magnétique statique et d'une impulsion de radiofréquence appliquée à la résonance. Dans un second temps, nous rappellerons les bases physiques de l'imagerie RMN et nous verrons, le principe de codage spatial par la fréquence et



la phase du signal, le principe de formation des images, c'est-à-dire le passage de l'espace réciproque (signaux RMN qui émanent des gradients de champ magnétique) à l'espace réel (image). Nous présenterons ensuite, les différentes séquences d'imagerie implémentées et optimisées dans le cadre de cette thèse et nous verrons notamment comment améliorer le contraste des images en modulant les différents paramètres de ces séquences. Une description plus détaillée de la théorie RMN/imagerie RMN est disponible dans les références [11][12][13][14][15][16][17][18].

## 1.1 Principe de la spectroscopie RMN

### 1.1.1 Magnétisme nucléaire

Lorsqu'une population de spin  $N$ , les noyaux de  $^1\text{H}$  ( $I = \frac{1}{2}$ ) par exemple, est placée dans un champ magnétique statique d'amplitude  $B_0$ , elle acquiert une aimantation macroscopique dirigée suivant l'axe du champ appliqué. Cette aimantation résultante est la conséquence de l'existence de différentes orientations des spins par rapport au champ  $B_0$ . Ces orientations sont quantifiées par le biais du nombre quantique magnétique  $m$ . À l'équilibre thermique, et d'après l'équation de *Boltzmann*, les populations des niveaux d'énergie sont proportionnelles au facteur  $\exp(\frac{-E_m}{k_B T})$ . L'aimantation macroscopique résultante de cette population de  $N$  spins est donnée par [11] :

$$M = N\gamma\hbar \frac{\sum_{m=-I}^I m \exp\left(\frac{-E_m}{k_B T}\right)}{\sum_{m=-I}^I \exp\left(\frac{-E_m}{k_B T}\right)} \quad (1.1)$$

$E_m$  est l'énergie magnétique *Joule*,  $\frac{\gamma}{2\pi}$  est le rapport gyromagnétique qui vaut  $42.58\text{MHz}/T$  pour le proton,  $k_B$  est la constante de *Boltzmann*  $1.23 \times 10^{-23}\text{K}^{-1}$ ,  $T$  est la température absolue  $K$  et  $\hbar = \frac{h}{2\pi}$  est la constante de *Planck* réduite  $1.05 \times 10^{-34}\text{Js}$ . Dans le cas des expériences classiques de la RMN, nous avons la relation  $E_m \ll k_B T$ , alors l'Eq. (1.1) peut être simplifiée en tenant compte de cette approximation  $\exp(\frac{-E_m}{k_B T}) = 1 - \frac{E_m}{k_B T}$ . Dans le cas du proton  $^1\text{H}$  ( $I = \frac{1}{2}$ ), le module de l'aimantation nucléaire macroscopique est donné par :

$$M = N\gamma^2\hbar^2 \frac{B_0}{4k_B T} \quad (1.2)$$

De l'Eq. (1.2), on remarque que l'amplitude de l'aimantation est directement proportionnelle à l'intensité du champ magnétique  $B_0$  et à la population de spin  $N$ . Pour une intensité du champ  $B_0$  constante, on peut avancer que la technique RMN est intrinsèquement peu sensible. À titre indicatif, pour une intensité de champ de 1 Tesla, seulement trois sur un million de protons participent au signal [12]. En effet, pour augmenter la sensibilité de cette technique, on peut agir soit sur l'intensité  $B_0$ , la population de spin  $N$  (échantillon riche en proton) ou la diminution de la température. Or, Les expériences RMN sont très souvent réalisées à la température

ambiante et plus le  $B_0$  est intense plus le coût de la machine est élevé. Nous verrons dans le second chapitre qu'il existe un autre moyen, pour influencer artificiellement ce signal en introduisant dans le milieu des substances paramagnétiques.

### 1.1.2 Précession de Larmor

À l'instar de toute particule, un noyau, possède une charge électrique et une masse. Il est pourvu également d'un moment cinétique  $\vec{L}$  et d'un moment magnétique  $\vec{M}$  (ce vecteur de magnétisation macroscopique s'écrit comme la somme des moments magnétique nucléaire individuels) qui caractérisent son mouvement de rotation intrinsèque. L'application d'un champ magnétique statique  $\vec{B}_0$  sur une population de noyaux de moment magnétique  $\vec{M}$  va engendrer l'apparition d'un couple de forces  $\vec{\Gamma}$  [11][12] :

$$\vec{\Gamma} = \vec{M} \wedge \vec{B}_0 \quad (1.3)$$

Ce dernier modifie le moment cinétique  $\vec{L}$  des noyaux de l'échantillon soumis à l'étude, en vertu du principe fondamental de la dynamique :

$$\frac{d\vec{L}}{dt} = \vec{\Gamma} = \vec{M} \wedge \vec{B}_0 \quad (1.4)$$

Le moment magnétique  $\vec{M}$  étant à une constante près (constante gyromagnétique) proportionnel au moment cinétique total  $\vec{L}$  :

$$\vec{M} = \gamma \vec{L} \quad (1.5)$$

ainsi, le mouvement du moment magnétique obéit à l'équation :

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma \vec{M} \wedge \vec{B}_0 \quad (1.6)$$

En présence du champ magnétique externe  $\vec{B}_0$  uniforme et homogène, l'aimantation des noyaux décrit un mouvement de rotation autour de  $\vec{B}_0$ . Ce mouvement est régi par l'Eq. (1.6). La solution de cette équation différentielle est un mouvement de précession de  $\vec{M}$  autour de l'axe de  $\vec{B}_0$ . Afin de mieux illustrer ce propos, à partir de la Fig. 1.1, nous remarquons que le vecteur  $\frac{d\vec{M}}{dt}$  est normal au vecteur  $\vec{M}$ . Comme le produit scalaire  $d\vec{M} \times \vec{M}$  est nul, il en résulte que la norme  $M$  est constante. De même, le produit scalaire  $d\vec{M} \times \vec{B}_0$  est nul par conséquent,  $B_0 M \cos(\theta) = cte$ . Ce qui implique, que l'angle  $\theta$  est toujours constant. Dans ce cas, l'extrémité du vecteur aimantation décrit autour de la direction du champ magnétique un cône d'axe  $B_0$  et d'angle au sommet  $\theta$ . Ce mouvement de rotation est appelé précession de *Larmor*. Cherchons désormais à déterminer la vitesse angulaire  $\omega_0$  de l'aimantation. Géométriquement, à partir de la Fig. 1.1, nous tirons  $dM = M \sin(\theta)d\varphi$ , or par définition, nous avons :

$$\omega_0 = \frac{d\varphi}{dt} \Rightarrow \frac{dM}{dt} = M \sin(\theta)\omega_0 \Rightarrow \frac{d\vec{M}}{dt} = \vec{\omega}_0 \wedge \vec{M} \quad (1.7)$$

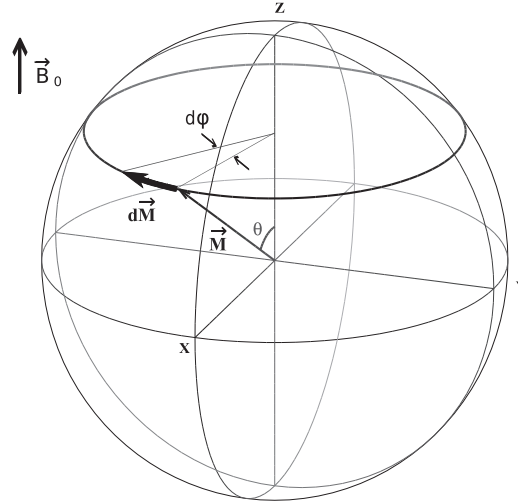


FIGURE 1.1: Précession de Larmor : le couple exercé sur l'aimantation  $\vec{M}$  par le champ magnétique statique  $\vec{B}_0$ , induit un mouvement de précession de  $\vec{M}$  autour de  $\vec{B}_0$  avec une vitesse angulaire  $\omega_0$ . Modifiée depuis : <http://eos.univ-reims.fr/LSD//JmnSoft/livre.pdf>.

À partir de l'Eq. (1.6) et par identification, il vient :

$$\vec{\omega}_0 \wedge \vec{M} = -\gamma \vec{B}_0 \wedge \vec{M} \Rightarrow \vec{\omega}_0 = -\gamma \vec{B}_0 \quad (1.8)$$

Ainsi, la vitesse angulaire de rotation est proportionnelle à l'intensité du champ magnétique appliqué. Le signe négatif indique le sens de la précession.

## 1.2 Impulsion de radiofréquence

L'aimantation totale initiale  $M_0$  de l'échantillon est soumise à l'action seul du champ magnétique  $\vec{B}_0$ . Pour basculer de l'état d'équilibre à l'état excité on doit la soumettre à l'action d'un champ magnétique oscillant  $\vec{B}_{rf}(t)$ . Ce champ de radiofréquence de pulsation  $\omega_{rf}$  et de phase  $\phi$  est produit par une bobine qui sert à recueillir les variations de l'aimantation de l'échantillon, mais également à exciter l'échantillon lorsqu'elle est traversée par un courant alternatif sinusoïdal. Ce champ magnétique exciteur peut être décomposé en deux composantes circulairement polarisées à droite et à gauche, selon [12] :

$$\vec{B}_{rf}(t) = \vec{B}_{rf}^+(t) + \vec{B}_{rf}^-(t) \quad (1.9)$$

$$= B_1 (e^{j(\omega_{rf}t+\phi)} + e^{-j(\omega_{rf}t+\phi)}) \quad (1.10)$$

$\vec{B}_{rf}^+(t)$  et  $\vec{B}_{rf}^-(t)$  tournent respectivement dans le plan transverse à des vitesses angulaires  $+\omega_{rf}$  et  $-\omega_{rf}$ . La composante  $\vec{B}_{rf}^+(t)$  est celle qui tourne dans le même sens que la précession de l'aimantation  $\vec{M}$  et est appelée *la composante résonante*. Alors que celle ( $\vec{B}_{rf}^-(t)$ ) qui tourne dans le sens opposé à la précession, n'a pas

d'influence sur l'aimantation et est appelée *la composante non-résonante*. Tenant compte de ce terme d'excitation, l'Eq. (1.6) devient :

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma \vec{M} \wedge (\vec{B}_0 + \vec{B}_{rf}^+(t)) \quad (1.11)$$

et posons,

$$\Omega_1 = -\gamma B_1 \quad (1.12)$$

Pour le choix du référentiel nous pouvons utiliser un référentiel fixe  $(i, j, k)$  mais dans ce cas, même en absence de perturbation nous avons déjà la fréquence de *Larmor* à prendre en considération. Le plus pratique consiste donc à travailler dans un référentiel tournant à cette même fréquence. Dans ce cas les deux référentiels sont liés par :

$$(i, j, k) = (i^{tr}, j^{tr}, k^{tr}) T \quad (1.13)$$

avec  $T$  est la matrice de passage entre les deux référentiels qui est donnée par :

$$T = \begin{pmatrix} \cos(\omega_{rf}t) & \sin(\omega_{rf}t) & 0 \\ -\sin(\omega_{rf}t) & \cos(\omega_{rf}t) & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \quad (1.14)$$

Dans tout ce qui suit, nous travaillerons uniquement dans le référentiel tournant, nous allons donc omettre son indice. Dans ce nouveau repère le champ magnétique  $\vec{B}_{rf}(t)$  paraîtra immobile. Par conséquent l'Eq. (1.11) devient analogue dans sa forme à l'Eq. (1.6)

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \vec{\Omega}^{eff} \wedge \vec{M} \quad (1.15)$$

avec

$$\vec{\Omega}^{eff} = (\omega_0 - \omega_{rf})\vec{k} + \Omega_1\vec{i} = \vec{\Omega}_0 + \vec{\Omega}_1 \quad (1.16)$$

Dans le cas d'une excitation exactement à la fréquence de résonance des noyaux de l'échantillon  $\vec{\Omega}^{eff} = \vec{\Omega}_1$  et pour un angle de phase  $\phi$  nul. L'aimantation  $\vec{M}$ , comme est illustré sur la Fig. 1.2, décrira un mouvement de rotation autour de l'axe  $ox$ . Nous avons supposé que le champ de radiofréquence d'amplitude  $B_1$  est dirigé suivant l'axe  $ox$  du référentiel tournant. En réalité les spectromètres RMN permettent d'appliquer ce champ exciteur suivant n'importe quelle direction du plan transversal. On repère sa position par l'angle  $\phi$  qu'il fait avec un axe de référence (l'axe  $ox$ ). Les différentes phases pour une impulsion de radiofréquence appliquée à une aimantation à l'équilibre sont ( $\phi = 0^\circ$ ) suivant  $x$ , ( $\phi = 90^\circ$ ) suivant  $y$ , ( $\phi = 180^\circ$ ) suivant  $-x$  et ( $\phi = 270^\circ$ ) selon la direction  $-y$ . La position finale de l'aimantation est dépendante de ces phases d'impulsion [19].

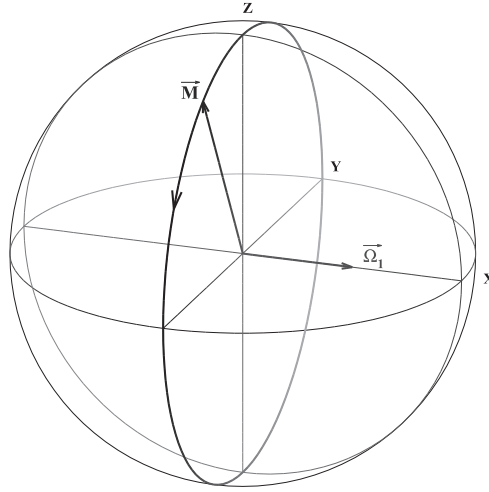


FIGURE 1.2: Effet d'une impulsion radiofréquence appliquée à la résonance. <http://eos.univ-reims.fr/LSD//JmnSoft/livre.pdf>.

### 1.3 Équations de Bloch

Le comportement de l'aimantation macroscopique de la population de spin en présence d'un champ magnétique excitateur  $B_{rf}$  et sous l'influence des phénomènes de relaxations magnétiques nucléaires est régi par l'équation de *Bloch*, donnée par l'expression [20] :

$$\dot{M} = \gamma M \wedge B^{eff} - R(M - M_0) \quad (1.17)$$

$R$  est la matrice de relaxation qui s'écrit :

$$R = \begin{pmatrix} \frac{1}{T_2} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{1}{T_2} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{1}{T_1} \end{pmatrix} \quad (1.18)$$

$B^{eff} = B_0 + B_{rf}$  et pour un champ excitateur linéairement polarisé, on aura  $B_{rf} = 2B_1 \cos(\omega_{rf}t + \phi)$ . Nous pouvons désormais exprimer l'aimantation globale  $M$  et le champ magnétique effectif dans ce référentiel tournant par l'expression mathématique suivante :

$$\dot{M} = \begin{cases} \dot{M}_x = \gamma (M_y B_z - M_z B_y) - \frac{M_x}{T_2} \\ \dot{M}_y = \gamma (M_z B_x - M_x B_z) - \frac{M_y}{T_2} \\ \dot{M}_z = \gamma (M_x B_y - M_y B_x) - \frac{(M_z - M_0)}{T_1}, \end{cases} \quad (1.19)$$

Les composantes du champ magnétique effectif dans ce référentiel sont données par [14] :

$$\begin{cases} B_x = B_1 \cos(\phi) \\ B_y = B_1 \sin(\phi) \\ B_z = -\frac{\Omega_0}{\gamma}. \end{cases} \quad (1.20)$$

$\Omega_0 = \omega_0 - \omega_{rf}$  étant la précession effective du vecteur aimantation dans le référentiel tournant. Pour un champ magnétique  $\vec{B}_{rf}$  dirigé selon l'axe de référence ( $ox$ ), sa phase  $\phi$  serait donc nulle et dans ce cas on aura  $B_x = B_1$ ,  $B_y = 0$  et  $B_z = -\frac{\Omega_0}{\gamma}$ . En portant ces valeurs dans les Eqs. (1.19), on aura :

$$\dot{M} = \begin{cases} \dot{M}_x = -M_y \Omega_0 - \frac{M_x}{T_2} \\ \dot{M}_y = M_z \omega_{rf} + M_x \Omega_0 - \frac{M_y}{T_2} \\ \dot{M}_z = -M_y \omega_{rf} - \frac{(M_z - M_0)}{T_1}, \end{cases} \quad (1.21)$$

Les Eqs. (1.21) traduisent une double précession, l'une autour de  $\vec{B}_0$  à la vitesse angulaire  $\Omega_0$  et l'autre autour de  $\vec{B}_{rf}$  à la vitesse angulaire  $\omega_{rf}$ . Les termes en  $T_2$  et  $T_1$  correspondent au retour de l'aimantation à l'équilibre par les mécanismes de relaxation. Les solutions de ces équations de Bloch sont obtenues en régime permanent comme [17] :

$$M = \begin{cases} M_x = \frac{\Delta\omega \gamma B_1 T_2^2}{1 + (T_2 \Delta\omega)^2 + \gamma^2 B_1^2 T_1 T_2} M_0 \\ M_y = \frac{\gamma B_1 T_2}{1 + (T_2 \Delta\omega)^2 + \gamma^2 B_1^2 T_1 T_2} M_0 \\ M_z = \frac{1 + (T_2 \Delta\omega)^2}{1 + (T_2 \Delta\omega)^2 + \gamma^2 B_1^2 T_1 T_2} M_0, \end{cases} \quad (1.22)$$

nous remarquons à partir de ces solutions, que toutes les composantes de l'aimantation sont proportionnelles à  $M_0$ , cela traduit le fait qu'en absence de différences de populations entre les niveaux d'énergie magnétique (absence de polarisation initiale), la résonance nucléaire est inobservable. En RMN, le signal détecté est proportionnel aux composantes transversales  $M_x$  et  $M_y$  de l'aimantation. Le terme  $\gamma^2 B_1^2 T_1 T_2$  étant proportionnel à la puissance de la radiofréquence ( $P \sim B_1^2$ ), donc pour les faibles puissances on peut écrire  $\gamma^2 B_1^2 T_1 T_2 \ll 1$  [17]. Sous cette condition, les composantes transversales peuvent être réécrites, selon :

$$M = \begin{cases} M_x = \frac{\Delta\omega \gamma B_1 T_2^2}{1 + (T_2 \Delta\omega)^2} M_0 \\ M_y = \frac{\gamma B_1 T_2}{1 + (T_2 \Delta\omega)^2} M_0, \end{cases} \quad (1.23)$$

Ainsi, les composantes  $M_x$  et  $M_y$  sont nommées respectivement, *Lorentzienne* en dispersion et en absorption.

## 1.4 Relaxation magnétique nucléaire

L'impulsion  $\vec{B}_{rf}$  a pour effet le basculement de l'aimantation globale d'un angle de nutation  $\theta$  proportionnel à son amplitude ( $B_1$ ) et à sa durée ( $\tau$ ),  $\theta = \gamma B_1 \tau$ . Il en résulte ainsi la décomposition du vecteur aimantation en deux composantes transversale  $\vec{M}_{xy} = M_x \vec{i} + M_y \vec{j}$  et longitudinale  $\vec{M}_z$ . A l'arrêt de la perturbation, l'aimantation  $M$  va revenir à sa position d'équilibre (niveau de basse énergie) et s'aligner de nouveau avec le champ  $B_0$ .

C'est ce mouvement de retour à l'équilibre suivant des processus mono-exponentiels

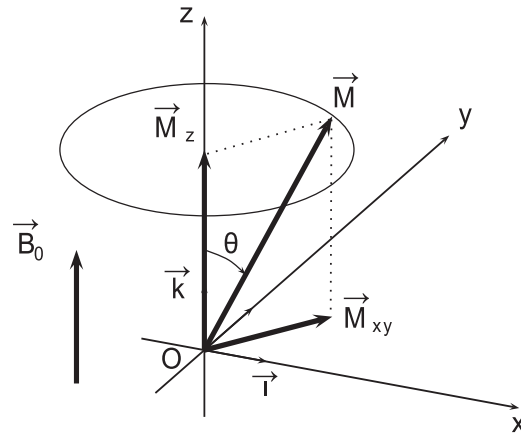


FIGURE 1.3: Composantes longitudinale et transversale de l'aimantation. <http://eos.univ-reims.fr/LSD//JmnSoft/livre.pdf>.

(Eqs. (1.24)) qu'on appelle *Relaxation*. Cette relaxation est caractérisée par des constantes de temps appelées ; temps de relaxation magnétique nucléaire  $T_1$  et  $T_2$ .  $T_1$  est le temps de relaxation magnétique *spin-réseau*. Ce processus de relaxation implique un échange d'énergie entre le système de spin (dans notre cas, les protons) et le réseau (environnement moléculaire dans lequel les protons sont noyés). En outre, les spins peuvent échanger de l'énergie entre eux via des interactions d'échanges qui vont provoquer une perte de cohérence de phase des moments magnétiques dans leur mouvement autour de  $\vec{B}_0$ . Cela donne lieu à la relaxation *spin-spin* avec un temps caractéristique  $T_2$ . Tenant compte de ces deux mécanismes de relaxation, il s'en suit donc simultanément une destruction de l'aimantation sur le plan transversal  $M_{xy}(t)$  et une construction de l'aimantation suivant l'axe longitudinal  $M_z(t)$ , selon les équations :

$$M = \begin{cases} M_z(t) = M_0 \times (1 - e^{(-\frac{t}{T_1})}) \\ M_x(t) = M_0 \times e^{(-\frac{t}{T_2})} \cos(\omega_0 t) \\ M_y(t) = M_0 \times e^{(-\frac{t}{T_2})} \sin(\omega_0 t) \end{cases} \quad (1.24)$$

$T_1$  et  $T_2$  sont également fortement dépendants, entre autre, de la nature du noyau considéré, de l'état de l'échantillon (solide ou liquide), de la température et des mouvements moléculaires [13][14], comme nous le verrons plus loin.

## 1.5 Bases physique de l'imagerie RMN

Pour pouvoir construire une image RMN, on doit introduire l'information spatiale. C'est-à-dire, discriminer spatialement toutes les contributions, des éléments de volume (voxels) de la coupe sélectionnée au signal total. La détermination de cette information spatiale est obtenue au moyen de l'application séquentielle de trois gradients (un gradient de champ linéaire est généré par l'application d'un courant électrique dans une bobine) de champ magnétique d'amplitudes  $G_x$ ,  $G_y$  et  $G_z$  ( $mT/m$ ). On applique d'abord un gradient de sélection  $G_z$  qui permet de

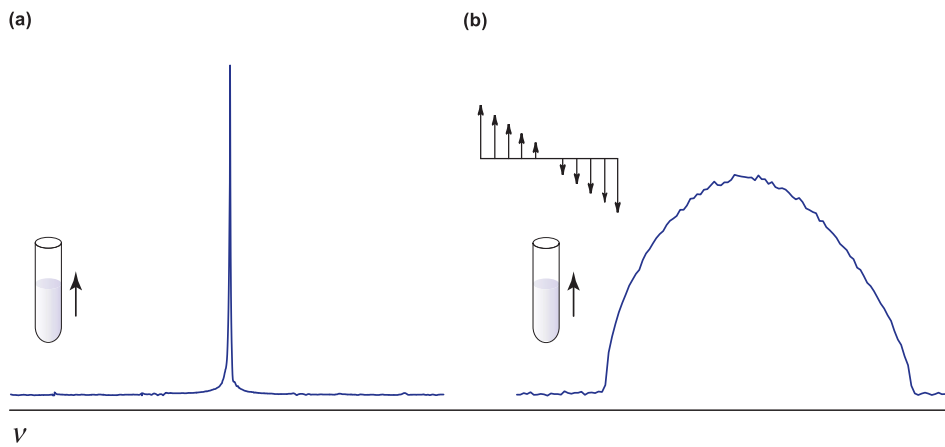


FIGURE 1.4: Illustration du principe de codage spatial du signal RMN. (a) spectre RMN d'un tube rempli d'eau. Une seule raie, tous les protons résonnent à la même fréquence. La flèche indique la direction de  $B_0$ . (b) un spectre est enregistré pour le même tube d'eau après l'application d'un gradient de champ magnétique. La variation de l'intensité du champ magnétique total ( $B_0 + \text{gradient}$ ) est représentée par la rampe de flèches. Sur le côté gauche du tube, le gradient s'ajoute à  $B_0$ , en revanche sur le côté droit le gradient décroît le champ  $B_0$ . Il en résulte, que les protons de tube d'eau vont résonner à des fréquences dépendant de leurs position suivant l'axe d'application du gradient, d'où cet éclatement en fréquence de l'échantillon.

sélectionner une coupe. Ensuite, chaque point de coordonnées  $(x,y)$  à l'intérieur de la coupe sera codé verticalement par l'application d'un gradient de phase  $G_y$ , et horizontalement par un gradient de codage par la fréquence  $G_x$ . L'intensité de ces gradients est directement proportionnelle à l'intensité du courant qui traverse la bobine correspondante. Lorsque un gradient de champ est appliqué, le champ magnétique augmente et diminue linéairement à partir du centre (Eq. (1.25)). Il en découle que le champ magnétique auquel sont réellement soumis les spins sera une superposition du champ magnétique  $B_0$  et des gradients du champ appliqués, il vient [39] :



$$\begin{aligned}
B(x, y, z) &= B_0 + \frac{dB_x}{dx}x + \frac{dB_y}{dy}y + \frac{dB_z}{dz}z \\
&= B_0 + G_x x + G_y y + G_z z
\end{aligned}
\tag{1.25}$$

Les spins tournent soit plus rapidement ou plus lentement par rapport à la fréquence centrale  $\omega_0$ , ils sont à des fréquences de résonance différentes. Ces gradients de champ peuvent être appliqués indépendamment ou de manière corrélée. Ainsi, on peut réaliser des coupes dans toutes les directions, ce qui est un atout majeur pour cette technique d'imagerie. La transformée de *Fourier* est l'outil mathématique qui va nous permettre d'identifier la contribution de chaque fréquence au signal total. Chaque fréquence est associée à une position suivant l'axe d'application du gradient, et l'intensité déterminera le niveau du gris du voxel.

### 1.5.1 Gradient de sélection de coupe

En imagerie RMN, une coupe anatomique est sélectivement excitée par l'application simultanée d'un gradient de sélection  $G_z$  et d'une impulsion RF de sélection de différents profils (sinc, gaussien ...). En présence du gradient  $G_z$  appliqué selon l'axe  $z$ , le champ magnétique total perçu par les spins vaut  $B_0 + zG_z$ . Ce dernier est à sa valeur initiale  $B_0$  au point  $z_0 = 0$ . L'impulsion RF de sélection est appliquée avec une largeur spectrale  $\Delta\omega$  autour de la fréquence centrale  $\omega_0$ , dans ce cas on aura excité uniquement les spins situés à la position :

$$\Delta z = \frac{\Delta\omega}{\gamma G_z} \tag{1.26}$$

Par conséquent, tous les spins sélectivement excités à  $z_1 \leq z_0 \leq z_2$  seront caractérisés par un intervalle de fréquence étroit  $\gamma(B_0 + G_z z_1) \leq \omega_0 \leq \gamma(B_0 + G_z z_2)$ . Les spins situés à l'extérieur de cette coupe sont hors résonance, et ne seront pas excités. Par ailleurs, deux incidences découlent de l'Eq. (1.26) :

- on peut moduler l'épaisseur de coupe en agissant soit, sur l'amplitude du gradient  $G_z$  ou bien sur la largeur de la bande passante du pulse de sélection.
- la position de la coupe peut être modifiée en déplaçant le spectre de fréquence de l'impulsion de sélection.

### 1.5.2 Codage spatial par la fréquence

La fréquence et la phase de l'aimantation en mouvement de précession, peuvent être exprimées comme étant une fonction dépendante des coordonnées spatiales dans la coupe. L'application d'un gradient de champ linéaire  $G_x$  dans la direction  $x$ , aura pour conséquence de lier la fréquence de résonance de chaque voxel à sa position  $x$ , selon :

$$\omega(x) = \omega_0 + \gamma G_x x \tag{1.27}$$

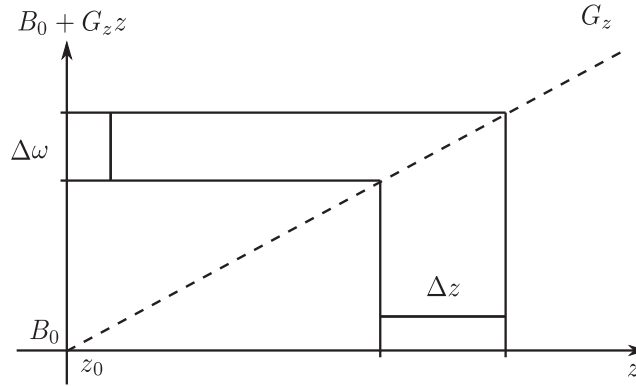


FIGURE 1.5: Illustration de la sélection de coupe lors de l'application d'un pulse de sélection en présence du gradient  $G_z$ .

Le signal total s'écrit comme une somme de toutes les contributions des voxels, suivant :

$$S(k_x) = \int \underbrace{\int \rho(x, y) dy}_{\text{projection}} \exp(-jk_x x) dx \quad (1.28)$$

$\rho(x, y)$  représente la densité de protons à la position  $(x, y)$  dans la coupe.  $k_x$  est un vecteur d'onde qui dépend de l'amplitude du gradient de codage par la fréquence  $G_x$  et de sa durée d'application  $t_x$ ,  $k_x = \gamma G_x t_x$ .

### 1.5.3 Codage spatial par la phase

La construction finale de l'image est achevée par l'application d'un autre codage du signal suivant la direction  $y$ . Ce dernier est établi au moyen d'un gradient supplémentaire qu'on appelle gradient de phase  $G_y$ . Comme précédemment, cette variation linéaire de l'intensité du champ magnétique va modifier la fréquence de précession de l'aimantation suivant la direction  $y$ , selon :

$$\omega(y) = \omega_0 + \gamma G_y y \quad (1.29)$$

Ce gradient de phase d'amplitude variante est appliqué pendant une durée constante  $t_y$  et est éteint juste avant l'acquisition du signal. Donc à l'arrêt de ce gradient, l'aimantation de chaque voxel va précesser à sa fréquence de résonance  $\omega_0$ , mais elle aura accumulée un déphasage  $\varphi(y)$  fonction de la position  $y$ . À l'instant  $t$ , les spins auront tourné d'un angle [21] :

$$\varphi(y, t) = \int_0^{t_y} \omega(y, \tau) d\tau = \gamma y G_y t_y \quad (1.30)$$

L'angle de rotation est proportionnel à l'ordonnée  $y$  et à l'aire du gradient de phase. En utilisant ces gradients de codage par la fréquence  $G_x$  et par la phase  $G_y$ , nous avons repéré chaque aimantation dans la coupe sélectionnée avec un couple unique de fréquence  $\omega$  et de phase  $\varphi$ . Ce couple s'écrit aussi comme une fonction qui dépend des positions  $x$  et  $y$  dans l'espace de la coupe. Le signal total qui émane des gradients est donné par [22] :

$$\underbrace{S(k_x, k_y)}_{k\text{-space}} = \iint \underbrace{\rho(x, y)}_{\text{real-space}} \underbrace{\exp(-j(k_x x + k_y y))}_{\text{phase-factor}} dx dy \quad (1.31)$$

L'image dans l'espace réel est obtenue, selon :

$$\rho(x, y) = \iint S(k_x, k_y) \exp(j(k_x x + k_y y)) dk_x dk_y \quad (1.32)$$

La fréquence spatiale  $k_y = \gamma n \Delta G_y t_y$  est incrémentée pour différentes valeurs de  $n \Delta G_y$  avant l'acquisition du signal, alors que  $k_x = \gamma G_x n \Delta t_x$  est échantillonné à des intervalles de temps régulier pendant l'acquisition du signal. De cette façon l'espace  $k$  est rempli ligne par ligne. Après l'acquisition complète des couples  $(k_x, k_y)$ , la distribution de la densité de proton est obtenue par Transformée de *Fourier* inverse à deux dimensions (TFI-2D). À la lumière de ce qui a été rapporté dans cette section, la résolution spatiale dans le plan des images s'écrit comme :

$$\Delta x = \frac{2\pi}{\gamma G_x n \Delta t_x} = \frac{2\pi}{\gamma G_x t_{acq}} \quad (1.33)$$

$$\Delta y = \frac{2\pi}{\gamma n \Delta G_y t_y} = \frac{2\pi}{\gamma G_y^{max}} \quad (1.34)$$

Avec,  $G_y^{max}$  est l'amplitude maximale du gradient de phase et  $t_{acq}$  est le temps d'acquisition des  $n$  échantillons (acquisition d'une seule ligne, selon  $k_x$ , du plan de *Fourier*). Il vient à partir des Eqs. (1.33) et (1.34), plus le plan de *Fourier* est étendu, meilleur est la résolution spatiale. En imagerie RMN, on fait toujours en sorte de trouver un compromis entre la résolution spatiale, le rapport SB et le temps d'acquisition des images.

## 1.6 Écho de spin

Une séquence d'imagerie RMN est une suite chronologique d'impulsions radiofréquence d'angles  $\theta$  et des gradients de champs magnétique. La Fig. 1.6 décrit le chronogramme de la séquence d'écho de spin. La coupe est sélectionnée par l'application de l'impulsion de radiofréquence (A) et le gradient de sélection  $G_z$  (C). Durant l'application de l'impulsion (A), la composante transversale de l'aimantation croît et atteint son maximum d'amplitude à  $\theta = \frac{\pi}{2}$ . À l'arrêt de cette excitation, l'aimantation basculée revient à son état d'équilibre thermique, sous l'influence des phénomènes de relaxation que nous avons déjà décrit. Ainsi on aura simultanément, une destruction de la composante  $\vec{M}_{x,y}$  dans le plan transversal suivant un rythme  $\frac{1}{T_2}$  et une construction de l'aimantation de la composante longitudinale  $\vec{M}_z$  suivant

un rythme  $\frac{1}{T_1}$ . Le gradient de sélection est inversé (D) pour rephaser tout les spins de la coupe excités. Le gradient de sélection en (E) nous permet de travailler toujours sur la coupe sélectionnée en (C). Le gradient de phase (F), est appliqué dans le même intervalle de temps et à différentes amplitudes. Un gradient de lecture (G) de préphasage est appliqué simultanément. Ensuite, un gradient de lecture (H) est appliqué pour l'acquisition de l'écho de *Hahn* (I). Notons que dans le plan transverse, la perte de l'amplitude de la composante  $\vec{M}_{x,y}$  est dû aux déphasage des spins, sous l'effet des interactions dipolaires ( $T_2$ ) et des inhomogénéités du champ  $B_0$  ( $T_2^*$ ). Ce déphasage s'opère tout au long de l'intervalle de temps  $\frac{T_E}{2}$ , après l'excitation à  $\theta = \frac{\pi}{2}$ . Après cet intervalle de temps, (B) on applique une impulsion de rephasage de  $180^\circ$  ( $\theta = \pi$ ). Les spins retrouvent leurs cohérence de phase et l'aimantation transverse atteint de nouveau son maximum d'amplitude à  $T_E$ . Cette deuxième impulsion ( $\theta = \pi$ ) permet de s'affranchir du déphasage dû aux inhomogénéités constantes  $\gamma\Delta B_0$  de  $B_0$ . Chaque fois qu'une nouvelle impulsion de  $\theta = \frac{\pi}{2}$  est envoyée, un écho provenant de l'ensemble des protons de la coupe est recueilli et numérisé. Chaque point de l'écho représente tout les protons qui ont subi  $G_y$  pendant  $t_y$  et un  $G_x$  pendant un temps  $t_x$  qui augmente au cours de la lecture. En répétant régulièrement le pulse de  $180^\circ$ , on peut générer une série d'échos.

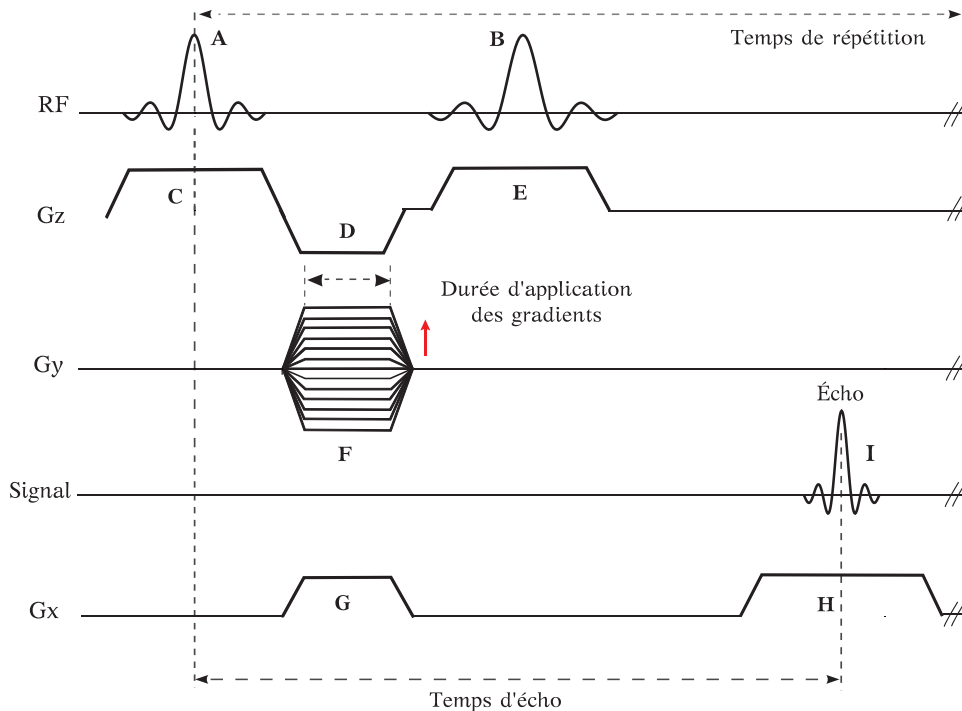


FIGURE 1.6: Chronogramme de la séquence d'écho de spin.

Le temps entre l'impulsion de sélection et l'acquisition de l'écho est appelé *temps d'écho*. Le *temps de répétition* est le temps entre deux pulses de sélection (deux cycles successifs). La séquence est répétée par l'incrémentement du gradient de codage de phase, jusqu'à ce que tout l'espace de *Fourier* (espace-k) soit rempli.

Chaque cycle de séquence est répété avec le nombre d'accumulation  $n$  désiré, de telle façon à améliorer le rapport SB des images. Ainsi, le temps d'acquisition  $t_{aq}$  de la séquence est donné par :

$$t_{aq} = T_R \times N_y \times n \quad (1.35)$$

Avec  $T_R$ , le temps de répétition de la séquence,  $N_y$  est le nombre de lignes de codage par la phase et  $n$  est le nombre d'accumulation (c'est-à-dire le nombre d'acquisition de chaque ligne de codage par la phase).

Pour la séquence d'écho de spin, l'expression mathématique du signal qui provient de chaque voxel de la coupe sélectionnée est exprimée par [16] :

$$S = M_0 \times \frac{\left(1 - 2e^{\left(\frac{-T_R - T_E}{T_1}\right)}\right) + e^{\left(\frac{-T_R}{T_1}\right)}}{1 + e^{\left(\frac{-T_R}{T_1}\right)} \cos \theta} \sin \theta \times e^{\left(\frac{-T_E}{T_2}\right)} \quad (1.36)$$

Très souvent la séquence d'écho de spin est utilisée pour des pulses  $\theta = \frac{\pi}{2}$ , de l'Eq. (1.36), il vient :

$$S = M_0 \times \left(1 - 2e^{\left(\frac{-T_R - T_E}{T_1}\right)} + e^{\left(\frac{-T_R}{T_1}\right)}\right) \times e^{\left(\frac{-T_E}{T_2}\right)} \quad (1.37)$$

## 1.7 Écho de gradient

La Fig. 1.7 décrit le chronogramme de la séquence d'écho de gradient avec destruction de l'aimantation transversale résiduelle. Suite à la sélection de la coupe par l'application d'un pulse de sélection (A) et d'un gradient de sélection (B). Le gradient de sélection est inversé (C) pour rephaser tout les spins de la coupe excitée. Le gradient de phase (D) est appliqué dans le même intervalle de temps. Un gradient de lecture (E) de déphasage est appliqué simultanément. Ensuite, un gradient de lecture (F) est appliqué à la fois pour rephaser les spins au milieu de l'écho et pour l'acquisition de l'écho de gradient (G). Des gradients (H) supplémentaires (spoilers) sont employés après l'acquisition de l'écho de gradient afin de détruire l'aimantation transversale résiduelle. Notons qu'au cours de l'intervalle de temps  $T_E$ , le signal décroît en  $T_2^*$ , ainsi en écho de gradient les images sont pondérées  $T_2^*$  car les hétérogénéités de champs constants  $\gamma \Delta B_0$  ne sont pas compensées. L'expression mathématique du signal de la séquence d'écho de gradient, qui émane de chaque voxel de la coupe considérée est donnée par :

$$S = M_0 \times \underbrace{\frac{\left(1 - e^{\left(\frac{-T_R}{T_1}\right)}\right)}{1 - e^{\left(\frac{-T_R}{T_1}\right)} \cos \theta}}_{T_1 \text{ factor}} \sin \theta \times \underbrace{e^{\left(\frac{-T_E}{T_2^*}\right)}}_{T_2^* \text{ factor}} \quad (1.38)$$

Cette relation dépend à la fois des paramètres naturels des tissus ( $T_1$ ,  $T_2$  et  $M_0$ ) et des paramètres de la séquence à savoir, le temps d'écho  $T_E$ , le temps de répétition

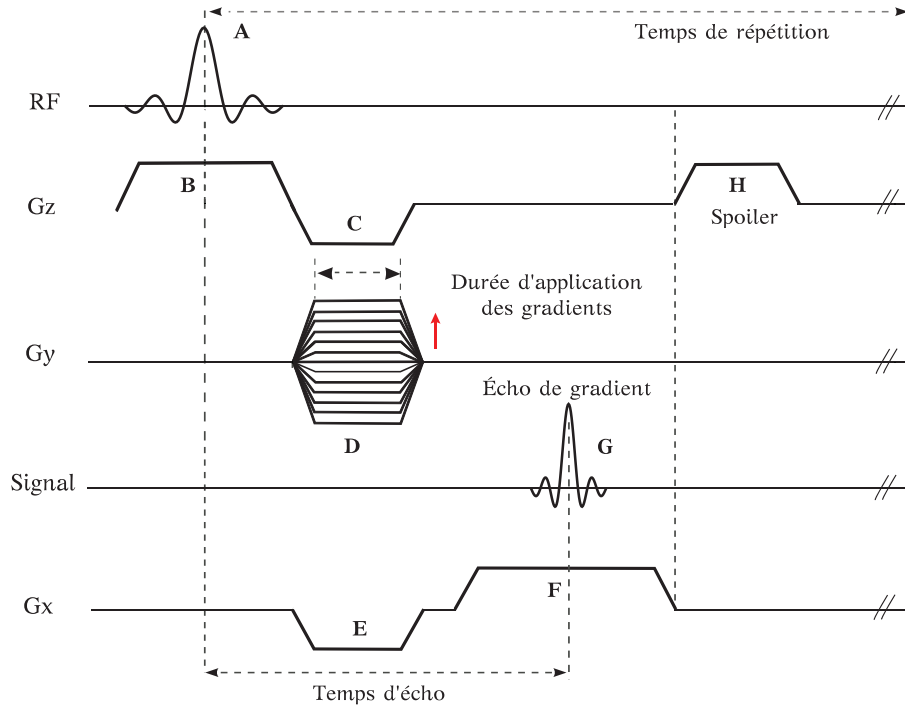


FIGURE 1.7: Chronogramme de la séquence d'écho de gradient.

$T_R$  et l'angle de bascule de l'aimantation  $\theta$ . La séquence d'écho de gradient autorise l'utilisation des angles de bascule inférieurs à  $90^\circ$ . Ceci a pour incidence de réduire les temps de répétitions et ainsi, diminuer le temps d'enregistrement des images ce qui donnera accès à des acquisitions rapides.

## 1.8 Contraste en imagerie RMN

Pour réaliser une analyse pertinente et rigoureuse sur les images, il faut disposer d'un contraste optimal et d'un niveau de signal suffisant entre les différentes structures tissulaires. Le contraste est déterminé à la fois par les paramètres intrinsèques des tissus et les paramètres extrinsèques. Cette variabilité de paramètres offre la possibilité d'améliorer le contraste des images pour mieux segmenter les différents tissus. Cette optimisation du contraste est obtenue, en sélectionnant précisément le type de séquence et les différents paramètres d'acquisition correspondants. On peut encore aller plus loin en calculant voxel-par-voxel des cartographies de  $T_1$ , de  $T_2$  et de  $M_0$  à partir des images obtenues avec différentes pondérations. L'avantage de ces cartographies est qu'elles offrent généralement un meilleur contraste que les images pondérées. Par définition [34], le contraste entre deux tissus adjacents  $A$  et  $B$  est exprimé par la valeur absolue de la différence des signaux  $S_A$  et  $S_B$ , selon :

$$C_{AB} = |S_A - S_B| \quad (1.39)$$

Dans la section suivante, nous allons illustrer l'influence des paramètres tissulaires et d'acquisition sur le contraste des images, nous travaillerons sur la séquence

d'écho de spin. Le raisonnement est analogue pour n'importe quelle séquence d'imagerie. On se focalisera dans la suite de cette partie, uniquement sur les trois mécanismes du contraste  $T_1$ ,  $T_2$  (ou  $T_2^*$  en écho de gradient) et  $M_0$ . Nous verrons dans les prochains chapitres, que le contraste des images en  $T_1$  et  $M_0$  acquises par une séquence d'écho de gradient est affecté non seulement par le  $T_R$  et le  $T_E$ , mais aussi par le choix de l'angle de bascule  $\theta$ .

### 1.8.1 Contraste $M_0$

Afin d'obtenir un contraste densité de proton, la dépendance du signal de la séquence d'écho de spin en  $T_1$  et  $T_2$  doit être minimisée. La minimisation des effets  $T_1$  et  $T_2$  est atteinte par un choix judicieux des paramètres  $T_R$  et  $T_E$ . À partir de l'équation du signal de la séquence d'écho de gradient (Eq. (1.37)) et pour un  $T_R \gg T_E$  (cette inégalité est systématiquement respectée pour la spin écho), il vient :

$$C_{AB} = M_{0,A} (1 - e^{-T_R/T_{1,A}}) \times e^{-T_E/T_{2,A}} - M_{0,B} (1 - e^{-T_R/T_{1,B}}) \times e^{-T_E/T_{2,B}} \quad (1.40)$$

$$T_E \ll T_{2,A,B} \implies e^{-\frac{T_E}{T_2}} \longrightarrow 1 \quad (1.41)$$

$$T_R \gg T_{1,A,B} \implies e^{-\frac{T_R}{T_1}} \longrightarrow 0 \quad (1.42)$$

de l'Eq. (1.40), on aura :

$$C_{AB} \simeq M_{0,A} - M_{0,B} \quad (1.43)$$

Le contraste densité de proton est proportionnel à la différence des densités protoniques des deux tissus  $A$  et  $B$ . Cela donne la règle générale pour avoir un contraste principalement dû à la densité de proton : maintenir le  $T_R$  à une valeur supérieure au  $T_1$  le plus long, et le  $T_E$  à une valeur inférieure au  $T_2$  le plus faible des tissus [15].

### 1.8.2 Contraste $T_1$

Les contrastes  $T_1$  et  $T_2$  ont une dépendance exponentielle pour les valeurs  $T_1$  et  $T_2$  des tissus. Les tissus mous ont généralement une faible variation de  $M_0$ , en revanche ils présentent des valeurs de  $T_1$  très différentes [14]. Par conséquent, une image pondérée  $T_1$  conduira à un bon contraste entre ces deux tissus. Pour ce faire on doit donc minimiser les effets  $T_2$  dans la séquence d'écho de spin, mais la contribution de la densité de proton ne peut être négligée. Un choix judicieux du  $T_E$  entraînera donc une réduction de la contribution de  $T_2$ , il vient :

$$T_E \ll T_{2,A,B} \implies e^{-\frac{T_E}{T_2}} \longrightarrow 1 \quad (1.44)$$

À partir de l'Eq. (1.40), on aura :

$$C_{AB} = (M_{0,A} - M_{0,B}) - (M_{0,A} e^{-T_R/T_{1,A}} - M_{0,B} e^{-T_R/T_{1,B}}) \quad (1.45)$$

On observe une certaine corrélation de  $T_1$  et de  $T_2$  avec la densité de proton. En d'autres mots, les tissus présentant une forte densité protonique ont souvent des valeurs élevées de  $T_1$  et de  $T_2$ , et les tissus à faible densité protonique sont caractérisés par de faibles valeurs de  $T_1$  et de  $T_2$ . La pondération  $T_1$  exprime les tissus ayant de fortes valeurs de  $T_1$  en hyposignal, et les tissus avec de faibles valeurs de  $T_1$  en hypersignal. Néanmoins, la densité de protons contrecarre cette tendance. Dans le but de minimiser son effet, on a alors intérêt à optimiser le  $T_R$  de façon à favoriser le contraste  $T_1$ . En annulant la dérivée de  $C_{A,B}$  par rapport à la variable  $T_R$ , on écrit :

$$\frac{M_{0,A}e^{-T_R/T_{1,A}}}{T_{1,A}} = \frac{M_{0,B}e^{-T_R/T_{1,B}}}{T_{1,B}} \quad (1.46)$$

En tirant le  $T_R$  optimal de cette relation, on obtient :

$$T_{R,opt} = \frac{\ln\left(\frac{M_{0,B}}{T_{1,B}}\right) - \ln\left(\frac{M_{0,A}}{T_{1,A}}\right)}{\left(\frac{1}{T_{1,B}} - \frac{1}{T_{1,A}}\right)} \quad (1.47)$$

Cette valeur optimale du temps de répétition  $T_{R,opt}$  peut être également déterminée graphiquement, en traçant  $C_{A,B}$  en fonction du  $T_R$  [15].

### 1.8.3 Contraste $T_2$

À partir d'une démarche similaire à celles des mécanismes de contraste  $M_0$  et  $T_1$ , dans le but de favoriser le contraste  $T_2$ , on doit alors minimiser autant que possible l'effet  $T_1$ , selon :

$$T_R \gg T_{1,A,B} \implies e^{-\frac{T_R}{T_1}} \longrightarrow 0 \quad (1.48)$$

Et à partir de l'Eq. (1.40), on aura la relation :

$$C_{AB} = (M_{0,A}e^{-T_E/T_{2,A}}) - (M_{0,B}e^{-T_E/T_{2,B}}) \quad (1.49)$$

En annulant la dérivée de  $C_{A,B}$  par rapport à la variable  $T_E$ , on aura un maximum de contraste pour une valeur optimale du temps d'écho  $T_{E,opt}$ , selon :

$$T_{E,opt} = \frac{\ln\left(\frac{M_{0,B}}{T_{2,B}}\right) - \ln\left(\frac{M_{0,A}}{T_{2,A}}\right)}{\left(\frac{1}{T_{2,B}} - \frac{1}{T_{2,A}}\right)} \quad (1.50)$$

En règle générale, pour avoir une pondération  $T_2$  ou  $T_2^*$ , on doit disposer d'un temps de répétition le plus long possible et d'un temps d'écho de l'ordre de  $T_2$  des tissus [15].



## 1.9 Conclusion

De nombreux concepts fondamentaux pour la compréhension des bases physiques de la RMN/imagerie RMN ont été décrits dans ce chapitre. Nous avons vu au cours de ces rappels, que l'imagerie RMN repose entièrement sur les fondements et les concepts théoriques de la RMN. Cependant, cette technique d'imagerie se distingue par l'introduction de l'information spatiale qui est obtenue via l'application de gradients de champ magnétique dans les trois directions de l'espace. Il a été mis en avant entre autre, que l'atout incontestable de cette technique d'imagerie tient au fait qu'elle dispose d'une panoplie de paramètres d'optimisation du contraste entre les tissus. Toutefois, afin de réussir cette opération d'optimisation, l'expérimentateur doit faire un choix judicieux des paramètres de la séquence en fonction de sa connaissance à priori des caractéristiques intrinsèques du matériau soumis à l'étude. Par ailleurs, nous avons mis en valeur le fait que la RMN est intrinsèquement peu sensible. Dans le chapitre qui suit, nous allons montrer qu'il existe un moyen d'influencer artificiellement le signal RMN en injectant dans l'échantillon soumis à l'étude, des nanoparticules magnétiques, qu'on appelle *Agents de contraste*. Dans le second chapitre, nous expliquerons ce que sont les agents de contraste, leur mode d'action et comment ils interagissent avec les protons de l'eau des tissus biologiques pour améliorer le contraste des images. Ensuite, nous allons mettre en avant les modèles mathématiques qui régissent leurs interactions et nous présenterons les paramètres importants qui influencent leurs efficacités.

# Contexte de l'étude

Cette thèse s'est inscrite dans le cadre d'un projet de recherche regroupant quatre laboratoires, L2C (Laboratoire Charles Coulomb, Montpellier), IES (Institut d'Électronique, Montpellier), ICG (Institut Charles Gerhardt, Montpellier) et PSH (Plantes et Systèmes de culture Horticoles, INRA - Avignon). L'objectif principal est la mise en synergie de cette pluridisciplinarité afin de mettre en œuvre des techniques innovantes en imagerie RMN pour étudier les aspects fondamentaux de la biologie végétale pour les sciences agronomiques. Les thématiques abordées dans le cadre de cette collaboration sont : (1) promotion de la qualité des produits agronomiques (PSH). (2) développement instrumental et de techniques quantitatives en imagerie RMN (L2C et IES). (3) conception et synthèse d'agents de contraste efficaces et bio-compatibles (ICG).

Au cours de ces deux dernières décennies, la technique d'imagerie RMN s'est imposée comme un outil d'analyse qualitatif et quantitatif de premier plan, pour l'étude des propriétés physiologiques et morphologiques des végétaux [1][2]. Grâce à son abondance dans les tissus biologiques, le noyau le plus étudié est l'hydrogène  $^1\text{H}$ . D'autres noyaux d'intérêt biologique comme le phosphore  $^{31}\text{P}$  ou le sodium  $^{23}\text{Na}$  sont également étudiés. Sauf mention contraire, toutes les mesures des temps de relaxation magnétique ( $T_1$  et  $T_2$ ) et les images RMN sont réalisées par rapport au noyau  $^1\text{H}$ . Dans ce qui suit, nous tâcherons de relater les principales études qui portent sur l'application des techniques RMN/imagerie RMN à la plante de la tomate, prise comme modèle agronomique. Nous mettrons en exergue l'originalité de notre contribution à cette étude, par rapport à ce qui existait déjà dans la littérature.

*Muse M. et al* ont déterminé, par relaxométrie RMN, la répartition des temps de relaxation magnétique  $T_2$  dans le péricarpe de la tomate. Cette étude a été menée à bas champ, à la fréquence de résonance de  $20\text{ MHz}$  ( $0.47\text{ T}$ ). Les auteurs ont avancé l'existence de plusieurs compartiments de distribution des  $T_2$ . Chacune des distributions correspond à un compartiment qui traduit l'état physique de l'eau (quantité d'eau, mobilité et interaction des molécules d'eau avec les macromolécules). Ils ont mis en évidence également, que plus les distributions de  $T_2$  se déplacent vers les  $T_2$  courts et plus les molécules d'eau présentent une mobilité réduite. Et inversement, plus ces distributions se rapprochent des  $T_2$  longs

et plus les molécules d'eau sont mobiles. Les compartiments (caractérisés par la valeur moyenne  $T_2$  pour chaque distribution et la proportion d'eau correspondante  $I_0$  %) mis en évidence sont : compartiment vacuolaire ( $I_0 = 68$  % et  $T_2 = 1528$  ms), compartiment cytoplasmique ( $I_0 = 20$  % et  $T_2 = 551$  ms), compartiment extra-cellulaire ( $I_0 = 9$  % et  $T_2 = 134$  ms) et compartiment des parois cellulaires ( $I_0 = 4$  % et  $T_2 = 18$  ms) [23]. Le même nombre de compartiments a été corroboré par les travaux de *Duval F. et al* [24], *Marigheto N. A. et al* [25] et *Sibgatullin T. A. et al* [26].

*Zhang L. et al* ont appliqué cette technique d'imagerie RMN, pour révéler des changements physiologiques de la tomate au cours des différents stades de maturation. Cette étude a été conduite, en exploitant la variation et la distribution de l'intensité des signaux des images en écho de spin (par des régions d'intérêt) dans les tissus du péricarpe [27].

*Cheng Y. et al* ont montré que pendant le processus de maturation, les fruits et légumes subissent des modifications physico-chimiques qui influent sur leurs qualités (couleur, texture, aspect et la teneur en sucre). Pour la tomate, le changement de couleur est le principal indice du stade de la maturation, et il est associé au lycopène métabolisé. Ils ont pu déterminer les changements internes des contenus en sucre et en lycopène par imagerie de déplacement chimique. Les résultats d'imagerie ont indiqué que la variation du contenu en sucre n'avait pas une tendance constante, tandis que la teneur en lycopène augmentait de façon significative dans le péricarpe et la columelle [28].

*Muse M. et al* ont étudié les aspects structurels de la tomate par imagerie RMN. Ainsi, des images en écho de spin ont été acquises pour la visualisation de sa macrostructure. Le contenu en bulle d'air, dans les tissus a été évalué par l'exploitation des effets de susceptibilité magnétique à partir de multiples images en écho de gradient. Ils ont rapporté, que la teneur en bulle d'air varie en fonction des tissus. Les cartographies  $T_1$  et  $T_2$ , ont montré que le contraste est meilleur entre les différentes structures tissulaires. Ces mêmes auteurs, ont étudié la microstructure de la tomate en mesurant la distribution des temps de relaxation magnétique nucléaire  $T_1$  et  $T_2$  [29].

*Ishida N. et al* ont étudié la variation de l'activité physiologique dans les différents tissus de la tomate, au cours de sa maturation. Cette étude a été menée en exploitant les variations du  $T_1$  des différents tissus, à partir de multiples images acquises à différents temps de répétition à l'aide de la séquence saturation-récupération. La mobilité des molécules d'eau est considérée comme le facteur principal de régulation de l'activité physiologique dans les tissus. Ils ont montré que cette activité est beaucoup plus importante dans le péricarpe externe et dans les graines. Ces mêmes auteurs, ont également avancé que la quantité et la mobilité de l'eau sont fortement corrélées à des processus métaboliques et

enzymatiques dans les cellules des tissus. Ils ont montré aussi que le placenta dans les tomates immatures, est le tissu qui assure le stockage des produits de la photosynthèse avant que le transport de ces produits s'achève dans les graines [30].

*Windt C. W. et al* ont étudié le transport dans le phloème et le xylème dans la tige principale de la tomate. La capacité des transports de l'eau et des nutriments est essentielle pour le bon fonctionnement des plantes. Le transport dans les plantes se produit le long de deux vaisseaux parallèles, le xylème et le phloème. Le xylème est responsable du transport de l'eau et des nutriments du sol vers les feuilles, tandis que le phloème se charge d'importer les produits de la photosynthèse à partir des feuilles au reste de la plante. Les flux des deux systèmes de transport sont entraînés par des différences de pression. Ils ont déterminé, à l'aide de la séquence d'imagerie Pulsed Field Gradient - Spin Echo - Turbo Spin Echo (PFG-SE-TSE), des cartographies des flux volumiques du xylème et du phloème. Toujours dans la tige de la tomate, ils ont observé une faible différence dans les profils des flux, du cycle diurne du phloème. Les flux volumiques moyens enregistrés passent de  $0.4 \text{ mm}^3/\text{s}$  le jour à  $0.35 \text{ mm}^3/\text{s}$  la nuit. En revanche, les flux du xylème ont montré des différences appréciables dans les profils des flux du cycle diurne. Ainsi, ces valeurs passent de  $8 \text{ mm}^3/\text{s}$  durant la journée à  $2.2 \text{ mm}^3/\text{s}$  la nuit, soit une réduction de (72 %) [31].

*Windt C. W. et al*, comparent les contributions au transport du xylème et du phloème dans la tomate. Le xylème et le phloème sont reconnaissables par leurs directions opposées dans la tige. Les fruits sont des organes terminaux qui dépendent complètement du transport. Afin de les fournir en eau et en sucre pour leurs croissances, l'eau est importée par le biais du phloème et du xylème, alors que les sucres sont seulement importés via le phloème. C'est pour cette raison que le xylème devrait être sensible aux changements hydriques de la plante. L'eau est nécessaire pour permettre la transpiration, l'absorption de  $CO_2$ , la photosynthèse et la croissance des plantes. Les fruits sont donc en concurrence pour l'eau avec le reste de la plante. La mesure des contributions du phloème et du xylème au transport de l'eau est menée sur une tomate, pendant huit semaines de croissance. D'après la littérature [32][33], 90 % de l'eau entrant dans le fruit se fait par le biais du phloème, et le xylème ne contribue que de 10 % et devient dysfonctionnel à stade précoce. Les auteurs expliquent, que cette faible contribution du xylème au transport est due à la présence d'une forme de restriction dans la connexion (articulation) entre la plante et le fruit. Toutefois, les résultats rapportés par *Windt C. W. et al*, ne corroborent pas ces conclusions. En effet, ils ont trouvé que le transport dans le xylème est resté fonctionnel pendant les huit semaines de croissance de la tomate. Ainsi, 75 % du transport se produit via le xylème et 25 % est assuré par la région pérимédullaire qui contient à la fois le xylème et le phloème. Ces auteurs ont conclu donc que la plus grande quantité d'eau qui arrive dans le fruit est importée par le xylème [34].

Il est bien connu que le comportement de la relaxation de l'eau dans les maté-

riaux végétaux poreux est influencé par le diamètre des pores [35]. *Windt C. W.*, a étudié à l'aide de la séquence d'imagerie (PFG-SE-TSE), comment le comportement de relaxation  $T_2$  de la sève xylémique (plante entière) est affecté par le diamètre des vaisseaux du xylème. Il a montré que le  $T_2$  des flux d'eau diminue avec la taille des pores. Il a également mis en évidence une corrélation entre le  $T_2$  et la vitesse des flux dans ces vaisseaux de transport. Cette étude a été réalisée au niveau de la tige de deux type de tomate, l'une est cultivée dans un milieu humide, et l'autre dans un milieu sec. Le  $T_2$  passe de la valeur de 541  $ms$  pour celle en milieu humide (sur sol mouillé) à 384  $ms$  en milieu sec. Ainsi, il a conclu que plus le diamètre des pores des vaisseaux est faible, plus le temps de relaxation  $T_2$  diminue. À partir de la même séquence d'imagerie (PFG-SE-TSE), il a pu déterminer la distribution des rayons des pores de ces vaisseaux. Toujours sur la tige de la tomate, cette distribution s'étend de 20  $\mu m$  jusqu'à 100  $\mu m$ . La vitesse des flux d'eau mesurée dans la tige s'étale sur 0.4–3.8  $mm/s$  [36]. Une étude comparable a été réalisée par *Van As H. et al* [37].

*Edzes H. T. et al* ont déterminé, au moyen de la séquence d'imagerie Multi-spin écho, des images paramétriques  $T_2$  et  $M_0$  (densité de proton). L'étude a été menée sur une tomate cerise. Le nombre d'écho utilisés dans cette séquence est choisi afin de couvrir toute la gamme des  $T_2$  (5 à 2000  $ms$ ). À partir de ces images paramétriques, les auteurs ont pu relier les paramètres naturels des tissus à des informations physiologiques telles que, l'échange des molécules d'eau entre les différents compartiments subcellulaires. Ensuite, ils ont caractérisé l'effet de l'intensité du champ magnétique statique, la résolution spatiale et le temps d'écho sur les valeurs calculées du  $T_2$ . Ils ont mis en exergue que la combinaison, d'une intensité du champ magnétique relativement basse, un temps d'écho court et une résolution spatiale moyenne induit un excellent contraste entre les différentes structures tissulaires [38].

*Ishida N. et al* ont étudié l'influence des temps de répétition et le temps d'écho sur le contraste des images pondérées  $T_1$  des tissus de la tomate, au moyen de la séquence d'écho de spin. Ils ont ensuite relié les intensités des signaux pondérées  $T_1$  et  $T_2$  à la mobilité des molécules d'eau dans les différents tissus. À cet égard, ils ont montré que la mobilité de l'eau associée aux cellules est le facteur clé qui régule le métabolisme cellulaire, la croissance et que tout les évènements cellulaires se rapportent à l'état physique de l'eau. En concluant, ces auteurs ont mis en avant, que l'intensité du signal des images et la variation des temps de relaxation  $T_1$  et  $T_2$  sont étroitement liées à l'état physiologique des tissus [39].

Chez les plantes, le transport de l'eau et l'accumulation de la matière sèche dans les différents organes et tissus sont déterminant pour leurs croissance et composition finale. Les flux d'eau et de carbone montrent des fluctuations importantes à des courtes échelles de temps au cours du cycle diurne et à une échelle de temps plus longue au cours des cycles de production, en fonction de l'environnement de la plante [40]. Les méthodes actuelles d'évaluation de ces flux sont soit destructives

ou limitées à certains organes. Dans les fruits qui sont composés de divers tissus ayant de fortes hétérogénéités de structure et de composition, la mesure des flux hydriques et la cartographie de l'eau et d'autres constituants du transport n'est pas simple, bien que très importante pour comprendre la croissance des fruits et la qualité finale en réponse à des stimuli internes ou externes. Le développement de méthodes à haute résolution temporelle et spatiale qui permettraient de suivre ces informations *in vivo* au niveau des tissus voire à des échelles cellulaires, leurs quantification et leurs localisation dans le fruit constituent donc un véritable enjeu pour comprendre leur fonctionnement. Très peu de travaux ont été consacrés à l'étude du transport et la distribution de l'eau dans les produits agronomiques. Une des raisons à cela est que les tissus vasculaires sont extrêmement sensibles à l'expérimentation invasive. Ce transport repose sur des gradients de pression qui sont très facilement perturbés par la coupe ou la perforation [36]. Presque toutes les études d'imagerie RMN des flux d'eau ont été réalisées sur la tige principale des plantes. Cette dernière conduit de grands flux et elle est robuste et stable. Mais la mesure des flux vers le fruit est plus difficile car les flux sont faibles et les tiges des fruits sont courtes, minces et fragiles. Afin de contourner ces limitations, des méthodes non-invasives comme l'imagerie RMN combinée avec des agents de contraste fonctionnels et efficaces en terme de relaxivité, sont indispensables. Au-delà de son caractère totalement non-invasif et non-destructif, cette technique fournit aussi une information spatiale sur la dynamique du transport moléculaire

C'est dans ce contexte que ce travail de thèse a émergé. Dans le but de surmonter la difficulté de mesurer des faibles flux d'eau qui arrivent dans le fruit de manière entièrement non-invasive, nous avons combiné cette modalité d'imagerie avec des agents de contraste fonctionnalisés. Ces derniers, nous ont servi de marqueurs de la mobilité des flux d'eau dans le fruit. Les agents de contraste utilisés dans cette étude, sont des nanoparticules de polymère de coordination à base du  $Gd^{3+}$  avec un diamètre de 3.4 nm et des nanoparticules d'oxyde de fer super-paramagnétiques de diamètre 6 et 18 nm. Les deux types de nanoparticules sont formées d'une entité minérale, et d'un motif organique de type osidique. Ces agents ont été sélectionnés d'une part, pour leur forte relaxivité et d'autre part, pour leur bio-compatibilité avec le milieu physiologique de notre étude. Le suivi de ces agents de contraste dans la plante de la tomate *in vivo*, nous a conduit à quantifier la quantité d'eau absorbée par le fruit et sa localisation en fonction des tissus. À cet égard, nous avons choisi d'exploiter l'effet  $T_1$  (rehaussement du signal) des agents de contraste avec des séquences d'écho de gradient rapides (séquence d'imagerie FLASH) afin de pouvoir réaliser des acquisitions dynamiques. Dans le but de maximiser cet effet  $T_1$ , nous avons travaillé sur une séquence FLASH fortement pondérée  $T_1$ . Cette séquence d'imagerie rapide, a été implémentée, validée et optimisée sur un spectromètre de 4.7 Tesla (Tecmag, Apollo) à la fréquence de résonance de 200 MHz. La validation de la séquence a été conduite sur fantôme formé d'une batterie de tubes avec différentes concentration en agent de contraste. Les concentrations ont été choisies, de façon à couvrir toute la gamme des temps de relaxation

$T_1$  du fruit modèle. Les temps de relaxation  $T_1$  mesurés sur cette batterie de tubes par spectroscopie RMN sont considérés comme référence. Ces  $T_1$ , nous ont ensuite permis de valider les  $T_1$  calculés par imagerie au moyen de la séquence FLASH. L'optimisation de cette séquence d'imagerie, a pour but d'augmenter le contraste entre les différentes structures tissulaires, sans pour autant perdre en *resolution spatiale* et la qualité du rapport signal-sur-bruit (SB). Le choix de cette séquence d'imagerie a été fortement motivé par des temps d'acquisition des images rapides, ce qui permet d'améliorer la résolution temporelle. Ses principales caractéristiques sont, l'utilisation des angles de la bascule de l'aimantation inférieur à  $90^\circ$ . Cette réduction de l'angle de bascule entraîne une diminution substantielle du temps de répétition de la séquence du fait de l'existence d'une aimantation longitudinale résiduelle. Cette réduction du temps de répétition permet à l'aimantation de récupérer rapidement sa valeur à l'équilibre. Par ailleurs, le rephasage des spins pour l'acquisition de l'écho de gradient est assuré non pas par un pulse de  $180^\circ$ , mais par un gradient bipolaire appliqué suivant l'axe de la lecture du signal.



# Agents de contraste en imagerie RMN

## Sommaire

---

2.1	Contraste naturel des tissus . . . . .	49
2.1.1	Origine de la relaxation $T_1$ et $T_2$ . . . . .	49
2.2	Mode d'action des agents de contraste $T_1$ . . . . .	50
2.2.1	Mécanisme de la sphère interne . . . . .	51
2.2.2	Mécanisme de la sphère externe . . . . .	52
2.3	Mode d'action des agents de contraste $T_2$ . . . . .	53
2.4	Section expérimentale . . . . .	54
2.4.1	Nanoparticules de $Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/Mannitol$ . . . . .	54
2.4.2	Mesure des relaxivités $r_1$ et $r_2$ . . . . .	55
2.5	Conclusion . . . . .	62

---

Comme il a été montré au premier chapitre, l'imagerie RMN offre plusieurs possibilités d'optimisation du contraste dans les images. Elle permet d'accéder à une différenciation optimale entre les différentes structures tissulaires de l'échantillon soumis à l'étude. Cette opération d'optimisation est réalisée par un choix judicieux des paramètres extrinsèques et de la technique d'acquisition des images. Nous avons également mis en avant le fait que la RMN, souffre intrinsèquement de manque de sensibilité pour les raisons énumérées dans le premier paragraphe du chapitre précédent. Un faible contraste est dû aussi au fait que les différents tissus présentent des  $T_1$ ,  $T_2$  et  $M_0$  très comparables ce qui rend leurs discrimination très difficile. Ceci nous amène à dire que très souvent, une simple optimisation des paramètres de la séquence d'imagerie peut s'avérer insuffisante pour fournir des images pertinentes afin de mener à bien les analyses qualitatives et quantitatives. Dans le but de remédier à ce faible contraste, l'emploi d'agents de contraste efficace en terme de relaxivité, se révèle être un moyen efficace pour conduire à une meilleure différenciation entre les différentes structures tissulaires présentant un contraste naturel (sans agent de contraste) faible.



On distingue deux types d'agents de contraste selon leurs propriétés physico-chimiques et leur mode d'action [6]. Les agents de contraste dits *positif*, dont l'effet principal se manifeste par une diminution de temps de relaxation magnétique nucléaire longitudinale ( $T_1$ ) des protons. Ce sont principalement des complexes paramagnétiques de petites tailles, de l'ordre de 4 nm, ayant un ion métallique avec des électrons non appariés, le plus utilisé étant le gadolinium ( $Gd^{3+}$ ). L'autre type d'agents de contraste, sont les agents dits *negatifs* où l'effet principal se traduit par une diminution de temps de relaxation magnétique nucléaire transversal ( $T_2$ ) des protons. Ils sont formés de nanoparticules d'oxyde de fer super-paramagnétiques dont le diamètre peut varier entre 5 et 200 nm. Dotées d'un fort moment magnétique, ce dernier crée localement une grande hétérogénéité du champ magnétique dans la région où diffusent les molécules d'eau. Cette hétérogénéité magnétique induit une accélération du déphasage des spins nucléaires des protons, qui se manifeste par une perte du signal RMN par effet  $T_2$  ou  $T_2^*$ . Selon la taille de ces nanoparticules, on distingue les *SPIO* (Super Paramagnetic Iron Oxide) ayant un diamètre supérieur à 50 nm et les *USPIO* (Ultra-small Super Paramagnetic Iron Oxide) pour celles présentant un diamètre inférieur à 50 nm. Parmi ces agents de contraste commercialisés, on peut citer : Endorem®(Guerbet, France), Feridex®(Berlex, USA) et Resovist®(Schering AG, Allemagne).

Compte tenu de ce qui a été rapporté au chapitre précédent, l'intensité du signal RMN est modulé par de nombreux paramètres tel que le  $T_1$  et le  $T_2$ . L'agent de contraste interagit avec les protons de l'eau dans les tissus en question, ce qui permet de modifier les propriétés intrinsèques ( $T_1$ ,  $T_2$  et  $M_0$ ) de ces tissus et donc de créer un contraste avec la zone sans agents de contraste. Dans ces tissus biologiques, les noyaux d'hydrogènes se présentent sous trois formes distinctes : les protons de l'eau libre, les protons des macromolécules (protéines, glucides, lipides ...) et les protons de l'eau liée chimiquement ou adsorbée par les macromolécules. Notons toutefois, qu'au sein de ces tissus, les agents de contraste ne sont pas directement visualisés sur les images. C'est leur effet de raccourcissement des temps de relaxation magnétiques des protons qui est détecté. De nombreuses études ont montré que l'évolution temporelle de la concentration en produit de contraste est étroitement liée à la nature du tissu et permet, entre autre, de nous informer sur ses caractéristiques morphologiques et physiologiques [41][42].

Par ailleurs, le développement de nouveaux agents de contraste offre des défis intéressants pour des chercheurs de divers horizons, aussi bien en science physique, chimique et biologique. Ces challenges comprennent la conception et la synthèse de substances paramagnétiques et super-paramagnétiques, stables en solution aqueuse, non toxiques et bio-compatibles. En outre, une compréhension quantitative de leur incidence sur le comportement de la relaxation nucléaire en solution et dans les tissus vivant s'avère indispensable afin de maximiser la relaxivité *in vivo*.

Dans ce chapitre nous discuterons dans un premier temps, l'origine de la modifi-

cation naturelle (sans intervention des agents de contraste) des temps de relaxation. Cette étape s'avère primordiale pour comprendre le phénomène et la genèse, d'un point de vu physique, des paramètres de relaxation RMN. Dans un second temps, nous montrerons comment les agents de contraste agissent afin de modifier localement ces paramètres. Dans la section expérimentale nous aborderons les différentes techniques spectroscopiques que nous avons implémenté sur le spectromètre, dédiées à la mesure des  $T_1$  et  $T_2$  des agents de contraste synthétisés. Les résultats expérimentaux des relaxivités de l'ensemble des agents de contraste sont présentés.

## 2.1 Contraste naturel des tissus

### 2.1.1 Origine de la relaxation $T_1$ et $T_2$

Dans cette section nous allons tenter d'expliquer les variations naturelles de  $T_1$  et de  $T_2$ . Pour appréhender le formalisme qui régit la relaxation naturelle des protons des molécules d'eau, nous nous focaliserons sur les mécanismes d'interactions dipolaires entre moments magnétiques nucléaires identiques (spins des protons des molécules d'eau). En milieu liquide, les propriétés de magnétisme nucléaire sont le siège d'importants changements. Ces derniers sont dus à l'existence dans ces échantillons de mouvements moléculaires rapides de grandes amplitudes et de nature aléatoire [30][31]. Parmi ces mouvements on peut citer principalement, les mouvements rotationnels et translationnels des molécules individuelles. Une façon d'expliquer l'origine de cette relaxation, est de considérer que chaque spins "ressent" un champ magnétique fluctuant généré par un voisin qui induit des transitions parmi ses niveaux d'énergie [18].

Souvent les mouvements aléatoires (rotationnels et translationnels), sont décrits par une fonction qu'on appelle *fonction de corrélation* qui est exprimée par,  $e^{-|\tau|/\tau_c}$  où la constante  $\tau_c$ , est le temps de corrélation, qui est une caractéristique du milieu. La Transformée de *Fourier* d'une telle fonction s'écrit alors [15] :

$$J(\omega) = \frac{2\tau_c}{1 + \omega^2\tau_c^2} \quad (2.1)$$

$J(\omega)$  est la fonction de densité spectrale qui exprime la probabilité par unité de temps pour qu'un mouvement aléatoire  $\tau_c$  présente une pulsation  $\omega$ . À partir de cette relation et pour une fréquence donnée  $\omega$ , la fonction  $J(\omega)$  présente un maximum pour  $\tau_c = \frac{1}{\omega}$ . Ce résultat traduit le fait que la probabilité de transition de relaxation induite est maximum lorsque le temps de corrélation  $\tau_c$  est de l'ordre de  $\frac{1}{\omega}$ , c'est-à-dire de la période de *Larmor*.

Parmi les interactions responsables de la relaxation  $T_1$ , on peut distinguer celles qui sont d'origines intra-moléculaires, entre spins d'une même molécule, et celles d'origines intermoléculaires qui se produisent entre spins de molécules

différentes. Pour les interactions intramoléculaires, le couplage dipolaire provient essentiellement de la rotation de la molécule [30][31]. En revanche, dans le cas des interactions intermoléculaires, interviennent les deux mouvements de rotation et de translation [30][31]. Ainsi, compte tenu de la forme de la fonction de corrélation écrite précédemment. Les mécanismes de relaxation, exprimés en terme de taux de relaxation longitudinal et transversal dus à ces mouvements aléatoires pour un système de protons (spins  $I$  identiques) où les sommes sont prises sur les  $i$  voisins, sont décrits par [17] :

$$\frac{1}{T_1} = \frac{3}{2} \gamma^2 \hbar^2 I(I+1) \sum \left( J_{ik}^{(1)}(\omega_I) + J_{ik}^{(2)}(2\omega_I) \right) \quad (2.2)$$

$$\frac{1}{T_2} = \gamma^2 \hbar^2 I(I+1) \sum \left( \frac{3}{8} J_{ik}^{(2)}(2\omega_I) + \frac{15}{4} J_{ik}^{(1)}(\omega_I) + \frac{3}{8} J_{ik}^{(0)}(0) \right) \quad (2.3)$$

Avec,  $J^{(n)}$  représente la densité spectrale d'ordre  $n$  des mouvements moléculaires associés aux protons et  $\omega_I$  leur fréquence de Larmor. Dans la section suivante, nous allons mettre en avant les mécanismes d'action des deux types d'agents de contraste et montrer comment ils modifient localement ces temps de relaxation.

## 2.2 Mode d'action des agents de contraste $T_1$

La première théorie qui a formalisé les mécanismes de relaxation induit par des substances paramagnétiques dissoutes dans un solvant aqueux est développée par *Solomon-Bloembergen* [43]. Ces mécanismes sont expliqués en terme d'interaction d'origine dipolaire entre le moment magnétique électronique du cation métallique (lanthanides et métaux de transition) et le moment magnétique nucléaire des protons des molécules d'eau. Pour une meilleure compréhension théorique des propriétés de relaxation RMN des noyaux en présence de spin d'électrons non appariés, une théorie très détaillée est disponible dans les références [44][45][46].

Les agents paramagnétiques induisent une exaltation des taux de relaxation longitudinal ( $\frac{1}{T_1}$ ) et transversal ( $\frac{1}{T_2}$ ) des protons des molécules d'eau avoisinantes. Les contributions diamagnétiques (sans agents de contraste) et paramagnétiques aux taux de relaxation sont additives, selon [47] :

$$\left( \frac{1}{T_1} \right)_{obs} = \left( \frac{1}{T_1} \right)_{dia} + \left( \frac{1}{T_1} \right)_{para} \quad (2.4)$$

$\left( \frac{1}{T_1} \right)_{obs}$  représente le taux de relaxation en présence d'agents paramagnétiques,  $\left( \frac{1}{T_1} \right)_{dia}$  est le taux de relaxation diamagnétique du solvant (en absence d'agents paramagnétiques) et  $\left( \frac{1}{T_1} \right)_{para}$  représente la contribution paramagnétique additionnelle. Cette composante paramagnétique contribue par l'amplitude et les fluctuations du champ magnétique local créé par l'ion paramagnétique qui modifie la relaxation des protons avoisinants. L'influence de ce champ local diminue rapidement avec

la distance *métal-proton*. En effet, les mouvements translationnels relatifs, les mouvements de rotation du complexe paramagnétique et les interactions chimiques qui attirent les molécules d'eau près de l'ion métallique jouent un rôle clé dans la transmission de l'effet paramagnétique. De plus, chaque type d'interactions chimiques peut ou pas donner une relaxation efficace, car elles sont contrôlées à la fois par la distance *métal-proton* et par le temps de résidence de la molécule d'eau à proximité de l'ion métallique. La relaxivité de l'agent paramagnétique est alors donnée par [43] :

$$\left(\frac{1}{T_1}\right)_{para} = \left(\frac{1}{T_1}\right)_{si} + \left(\frac{1}{T_1}\right)_{se} \quad (2.5)$$

Avec les  $\left(\frac{1}{T_1}\right)_{si}$  et  $\left(\frac{1}{T_1}\right)_{se}$  sont respectivement les contributions de la *sphère interne* et la *sphère externe* à la relaxivité. La section suivante souligne les différentes approches quantitatives pour comprendre les mécanismes de relaxivité des *sphères interne* et *externe*.

### 2.2.1 Mécanisme de la sphère interne

Nous allons expliquer ce mécanisme de relaxation on se basant sur l'équation de *Solomon-Bloembergen*. Dans cette théorie la contribution de la *sphère interne* à la relaxivité longitudinale résulte d'un échange chimique de molécules d'eau entre la première sphère de coordination du centre paramagnétique (sphère d'hydratation) et le solvant, il vient [43][48] :

$$\left(\frac{1}{T_1}\right)_{si} = \frac{f_m q}{T_{1m} + \tau_m} \quad (2.6)$$

$$\left(\frac{1}{T_2}\right)_{si} = \frac{f_m}{\tau_m} \times \frac{T_{2m}^{-2} + \tau_m^{-1} T_{2m}^{-1} + \Delta\omega_m^2}{(\tau_m^{-1} + T_{2m}^{-1})^2 + \Delta\omega_m^2} \quad (2.7)$$

$f_m$  est la fraction molaire de l'ion métallique,  $q$  représente le nombre de molécules d'eau liées par ion métallique,  $T_{1m}$  et  $T_{2m}$  sont respectivement les temps de relaxation longitudinal et transversal de l'eau liée,  $\tau_m$  est le temps de résidence de l'eau liée dans la première sphère de coordination et  $\Delta\omega_m^2$  est la différence du déplacement chimique entre l'eau liée et l'eau libre. Les  $T_{1m}$  et  $T_{2m}$  sont donnés par les équations de *Solomon-Bloembergen* selon [43][48] :

$$\left(\frac{1}{T_{im}}\right) = \left(\frac{1}{T_i}\right)_{DD} + \left(\frac{1}{T_i}\right)_{SC} \quad i = 1, 2 \quad (2.8)$$

$$\left(\frac{1}{T_1}\right)_{DD} = \frac{2\gamma_I^2 g^2 S(S+1)\mu_\beta^2}{15r^6} \times \left(\frac{\mu_0}{4\pi}\right)^2 \times \left(\frac{7\tau_{c2}}{1 + \omega_s^2 \tau_{c2}^2} + \frac{3\tau_{c1}}{1 + \omega_I^2 \tau_{c1}^2}\right) \quad (2.9)$$

$$\left(\frac{1}{T_1}\right)_{SC} = \frac{2S(S+1)}{3} \times \left(\frac{A}{\hbar}\right)^2 \times \left(\frac{\tau_{e2}}{1 + \omega_s^2 \tau_{e2}^2}\right) \quad (2.10)$$

$$\left(\frac{1}{T_2}\right)_{DD} = \frac{\gamma_I^2 g^2 S(S+1) \mu_\beta^2}{15r^6} \times \left(\frac{\mu_0}{4\pi}\right)^2 \times \left(\frac{13\tau_{e2}}{1 + \omega_s^2 \tau_{e2}^2} + \frac{3\tau_{e1}}{1 + \omega_I^2 \tau_{e1}^2} + 4\tau_{e1}\right) \quad (2.11)$$

$$\left(\frac{1}{T_2}\right)_{SC} = \frac{S(S+1)}{3} \times \left(\frac{A}{\hbar}\right)^2 \times \left(\frac{\tau_{e2}}{1 + \omega_s^2 \tau_{e2}^2} + \tau_{e1}\right) \quad (2.12)$$

$g$  est le facteur de Landé pour l'électron libre ( $g = 2$  pour le  $Gd^{+3}$ ),  $\mu_0$  correspond à la perméabilité magnétique du vide,  $S$  spin électronique total de l'ion métallique,  $\mu_\beta$  est le magnéton de Bohr,  $r$  est la distance métal-proton,  $\omega_s$  et  $\omega_I$  sont respectivement les fréquences de Larmor électronique et nucléaire (proton).  $\frac{A}{\hbar}$  constante qui tient compte du couplage électron-noyau. Cette relation exprime la contribution d'une interaction dipolaire (à travers l'espace, notée DD) et d'une interaction scalaire ou de contact (à travers les liaisons de coordination ou les liaisons chimiques, notée SC). Ces deux composantes sont modulées respectivement, par les temps de corrélation  $\tau_c$  et  $\tau_e$ , donnés par :

$$\frac{1}{\tau_{ci}} = \frac{1}{\tau_R} + \frac{1}{T_{ie}} + \frac{1}{\tau_m} \quad i = 1, 2 \quad (2.13)$$

$$\frac{1}{\tau_{ei}} = \frac{1}{T_{ie}} + \frac{1}{\tau_m} \quad i = 1, 2 \quad (2.14)$$

$T_{1e}$  et  $T_{2e}$  sont respectivement les temps de relaxation longitudinal et transversal du spin électronique de l'ion métallique et  $\tau_R$  représente le temps de corrélation de rotation de l'agent paramagnétique.

## 2.2.2 Mécanisme de la sphère externe

La contribution de la *sphère externe* à la relaxivité a reçue moins d'attention que celle de la *sphère interne* pour appréhender le mode d'action des agents de contraste paramagnétiques. La plupart des études ont porté sur des agents paramagnétiques en solution aqueuse ( $q$  élevé) ou chélatés par de macromolécules ( $\tau_R$  long), où la composante de la *sphère interne* est plus prédominante. Néanmoins, il a été constaté, que lors de la conception d'agents de contraste pour l'imagerie RMN, l'utilisation de ligands polydentés pour assurer leurs stabilité *in vivo* réduit le nombre de molécules d'eau liées à la première sphère de coordination. La contribution de la *sphère externe* pour les complexes de faible poids moléculaire devient très importante. Contrairement à la composante *sphère interne* qui est fondamentalement régit par des échanges chimiques entre deux sites (ion métallique et proton). Le mode d'action de la *sphère externe* est un problème plus complexe. Elle intervient par des aspects relatifs à la dynamique de solvation du complexe [49]. La théorie de la *sphère externe* est traitée dans le cas limite où il n'existe pas

d'interactions chimiques ou électrostatiques entre les protons et l'ion métallique [49].

La forme la plus générale de cette théorie tient compte des effets des fluctuations dues à la relaxation électronique (pour le cation) ainsi qu'à celle due à la diffusion translationnelle relative des deux espèces (métal et proton) [47][50]. Le formalisme mathématique décrivant cette interaction présente des similitudes avec celui décrit par *Solomon-Bloembergen* écrit précédemment, il vient :

$$\left(\frac{1}{T_1}\right)_{se} = \frac{\pi N_s \gamma_I^2 \gamma_s^2 S(S+1) \hbar^2}{d^3 \tau_D} \times (7J(\omega_s, \tau_D, T_{1e}) + 3J(\omega_I, \tau_D, T_{1e})) \quad (2.15)$$

$N_s$  est le nombre d'ion métallique par  $cm^3$ ,  $d$  est la distance de rapprochement de la molécule d'eau de l'ion métallique et  $\tau_D$  est le temps de corrélation de diffusion par translation.  $J(\omega_s, \tau_D, T_{1e})$  et  $J(\omega_I, \tau_D, T_{1e})$  sont les densités spectrales. Plus de détails sur la forme de ces densités spectrales sont disponibles dans la référence [50].

Il en ressort de ce qui a été rapporté dans cette section, que la relaxivité *sphère interne* dépend de nombreux paramètres (taux d'échange de proton  $k_e = \frac{1}{\tau_m}$ , le temps de corrélation rotationnel  $\tau_R$ , les temps de relaxation électronique  $T_{ie}$ , la distance métal-proton  $r$  et le nombre de molécules d'eau dans la première sphère de coordination  $q$ ). Pour maximiser la relaxivité, le contrôle et l'optimisation de ces paramètres sont des étapes cruciales.

### 2.3 Mode d'action des agents de contraste $T_2$

De nombreux travaux de recherches ont été consacrés à l'étude des propriétés relaxométriques des nanoparticules super-paramagnétiques [51][52]. Toutes ces études ont pour but principal, la quantification des différents paramètres qui influencent la relaxivité de ce type d'agents de contraste. Comme nous l'avons souligné précédemment, les *SPIO* (Super Paramagnetic Iron Oxide) et les *USPIO* (Ultra-small Super Paramagnetic Iron Oxide) ont une relaxation  $r_2$  plus prépondérante que celle qui est due à l'effet  $r_1$ . Très souvent se sont des suspensions de nanoparticules super-paramagnétiques d'oxyde de fer fonctionnalisées avec divers groupements chimiques. Dotées d'un fort moment magnétique et en présence du champ magnétique statique  $B_0$ , ces nanoparticules créent autour d'elles un gradient de champ magnétique, noté  $\delta B_z$ . Pour une nanoparticule sphérique repérée à l'origine des coordonnées sphériques, cette perturbation  $\delta B_z$  à la position  $(r, \theta)$ , s'écrit selon [53] :

$$\delta B_z(r, \theta) = \frac{1}{3} B_0 \Delta\chi \left(\frac{R}{r}\right)^3 (3\cos^2\theta - 1) \quad (2.16)$$

Avec  $R$  est le rayon de la particule et  $\Delta\chi$  est la différence de susceptibilité magnétique entre la nanoparticule et le milieu. À partir de cette relation, nous



remarquons que ce gradient de champ est directement proportionnel à la taille ( $R$ ) et aux propriétés magnétiques de la nanoparticule ( $\Delta\chi$ ). Lorsque les molécules d'eau diffusent à travers cette région où règne le  $\delta B_z$ , les protons de ces molécules se déphasent et par conséquent le signal RMN décroît par effet  $T_2$  ou  $T_2^*$ . Néanmoins, ce champ magnétique local généré par le moment magnétique de la nanoparticule chute rapidement avec la distance en  $(\frac{1}{r^3})$ .

## 2.4 Section expérimentale

### 2.4.1 Nanoparticules de $Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/Mannitol$

Dans cette section, nous présentons brièvement le principe de la synthèse et de la caractérisation des nanoparticules de  $Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/Mannitol$  utilisées comme agent de contraste. Ajouter à une solution aqueuse de  $K_3Fe(CN)_6$  ( $3,9 \times 10^{-2} M$ ,  $65 mg$ ,  $5 mL$ ) contenant  $5 \times 10^{-5} mol$  de D-Mannitol, une solution aqueuse de  $Gd(NO_3)_3, 6H_2O$  ( $4 \times 10^{-2} M$ ,  $91 mg$ ,  $5 mL$ ) contenant  $5 \times 10^{-5} mol$  de D-Mannitol. Après  $18 h$  de réaction, filtrer la solution avec un filtre seringue de  $0,45 \mu m$ . Précipiter les nanoparticules à l'acétone puis centrifuger pendant  $10 min$  à  $20000 rpm$ . Faire deux lavages  $H_2O$ /acétone. Sécher le solide sous vide,  $m = 77 mg$ . Nous rappellerons que les synthèses de tous les agents de contraste utilisés dans le cadre de cette thèse, ont été réalisées par les chimistes de l'Institut Charles Gerhardt de Montpellier.

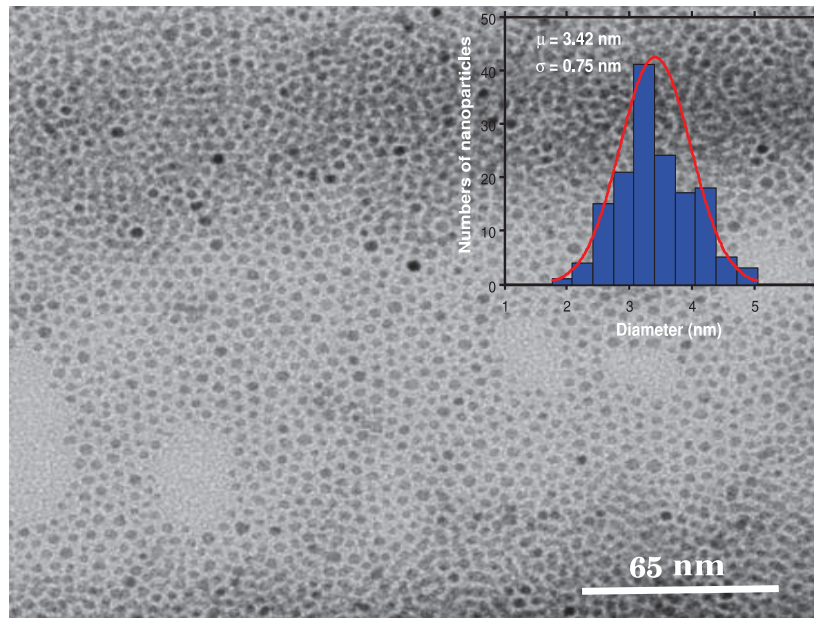


FIGURE 2.1: Image TEM et la distribution de taille des nanoparticules.

La structure chimique du Mannitol et le diffractogramme de ces nanoparticules sont disponibles dans l'annexe B.

## 2.4.2 Mesure des relaxivités $r_1$ et $r_2$

L'efficacité d'un agent de contraste se mesure par la valeur de ses relaxivités. En effet, plus les valeurs de relaxivité sont importantes plus l'agent de contraste est efficace et il entraînera un raccourcissement significatif des  $T_1$  et  $T_2$  des protons avoisinants. Les relaxivités longitudinale ( $r_1$ ) et transversale ( $r_2$ ) sont données par la pente de la droite des taux de relaxation ( $R_{1,2}$ ) en fonction de la concentration en agent de contraste  $C$ , selon :

$$R_{1,2} = R_{1,2}^0 + r_{1,2} \times C \quad (2.17)$$

Avec,

$$R_{1,2} = \left( \frac{1}{T_{1,2}} \right)_{obs} \quad (2.18)$$

$$R_{1,2}^0 = \left( \frac{1}{T_{1,2}} \right)_{dia} \quad (2.19)$$

$$r_{1,2} = \frac{\left( \frac{1}{T_{1,2}} \right)_{para}}{C} \quad (2.20)$$

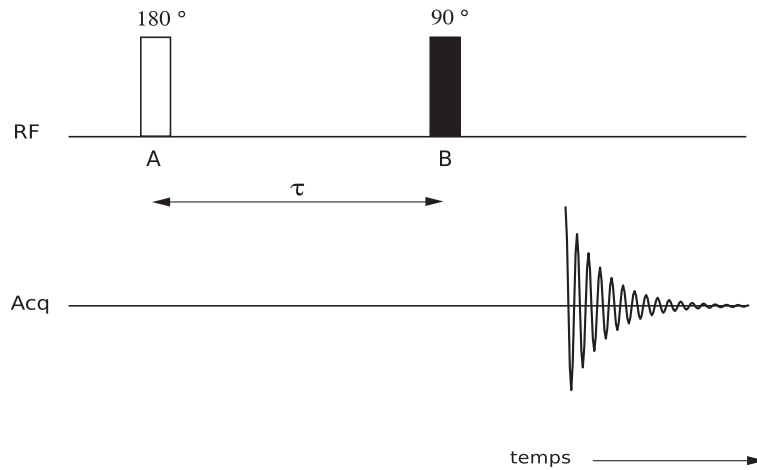
$R_{1,2}$  sont les taux de relaxation ( $s^{-1}$ ) respectivement longitudinal et transversal en présence de l'agent de contraste,  $R_{1,2}^0$  ( $s^{-1}$ ) sont les taux de relaxation en absence de l'agent de contraste,  $C$  ( $mM$ ) est la concentration de l'agent de contraste et  $r_{1,2}$  sont respectivement les relaxivités longitudinale et transversale ( $mM^{-1} s^{-1}$ ).

### 2.4.2.1 Mesure du $T_1$

Les temps de relaxation  $T_1$  ont été systématiquement mesurés au moyen de la séquence *inversion-récupération* que nous avons implémentée sur un spectromètre (tecmag, apollo) de 4.7 *Tesla* opérant à la fréquence de résonance des protons de 200 *MHz*. Le principe de la mesure du  $T_1$  par cette séquence, consiste à basculer l'aimantation  $M_0$  dans un état hors équilibre, puis durant un certain délai  $\tau$  (table de délais), une séquence de lecture est appliquée afin de mesurer la valeur de l'aimantation pour les différents délais. La Fig. 2.2 illustre le chronogramme de la séquence *inversion-récupération*.

Avant l'application de l'impulsion RF d'inversion  $\theta = 180^\circ$ , le vecteur magnétisation est à sa position d'équilibre le long de l'axe  $z$ , tel que  $\vec{M} = (0, 0, M_0)$ . (A) inversion de l'aimantation à l'équilibre  $M_0$  suite à l'application du *pulse d'inversion*. Après cette inversion, les composantes transversale et longitudinale de l'aimantation sont données respectivement, par  $M_{x,y} = M_0 \sin \theta_{inv}$  et  $M_z = M_0 \cos \theta_{inv}$ . (B) lecture du signal à l'instant  $\tau$  après une impulsion de radiofréquence  $\theta = \frac{\pi}{2}$ .




 FIGURE 2.2: Chronogramme de la séquence *inversion-récupération*.

L'enregistrement de la valeur de l'aimantation pour des  $\tau$  strictement inférieurs à  $\log(2) \times T_1$ , donne des valeurs négatives. Pour une valeur particulière du *temps d'inversion*  $\tau = \log(2) \times T_1$  l'aimantation est nulle. Des valeurs positives de l'aimantation sont enregistrées pour des  $\tau$  strictement supérieures à  $\log(2) \times T_1$ . L'évolution de l'aimantation  $M(\tau)$  pour différentes valeurs de  $\tau$ , est une courbe croissante de  $-M_0$  à  $+M_0$ , selon :

$$M_z(\tau) = M_0 \times (1 - (1 - \cos \theta_\pi) \times e^{-\tau/T_1}) \quad (2.21)$$

$M_0$  et  $T_1$  étant les paramètres d'ajustement. La liste des délais  $\tau$  est choisie de façon à ce que l'aimantation  $M(\tau_{inv})$  retrouve systématiquement sa valeur maximale  $+M_0$  (aimantation à l'équilibre thermique). Pour s'assurer que l'aimantation soit à l'équilibre après chaque répétition de la séquence, un *temps de répétition* ( $T_R$ ) de l'ordre de  $5 T_1$  est choisi.

#### 2.4.2.2 Mesure du $T_2$

Les temps de relaxation  $T_2$  ont été mesurés au moyen de la séquence *echo de spin CPMG* (Carr-Purcell Meiboom Gill) que nous avons implémentée sur le spectromètre. La Fig. 2.3 illustre le chronogramme de la séquence *echo de spin*.

L'amplitude de l'aimantation décroît dans le plan transverse selon :

$$M_{x,y}(t) = M_0 \times \sin \theta_{\pi/2} \times (e^{-t/T_2}) \quad (2.22)$$

Avec  $t = nT_E$ ,  $n$  est le nombre d'écho enregistrés.  $M_0$  et  $T_2$  étant les paramètres d'ajustement. Les temps de relaxation  $T_1$  et  $T_2$  (Figs. 2.4 et 2.5) des protons

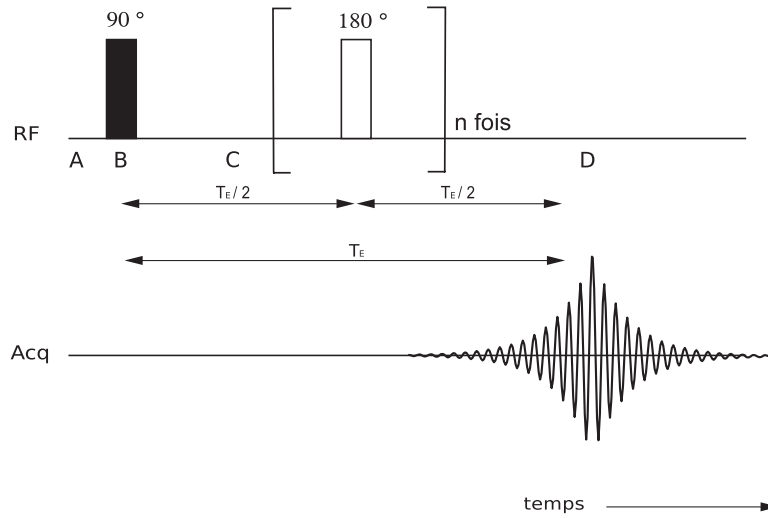


FIGURE 2.3: Illustration du principe de la mesure du  $T_2$  par la séquence d'écho de spin. Polarisation de l'aimantation suivant l'axe longitudinal (A). Basculement de l'aimantation dans le plan transverse suite à l'application de l'impulsion RF de  $90^\circ$  (B), l'aimantation présente une amplitude maximale. Une fois la RF arrêtée, les spins se déphasent (C). L'application de l'impulsion RF de  $180^\circ$  aura pour effet de rephaser les spins et l'amplitude de l'aimantation transversale atteint son maximum (D) au temps d'écho (délai entre B et D). En répétant régulièrement la RF  $180^\circ$ , on peut générer une série d'écho.

en solution aqueuse colloïdale ont été mesurés à différentes concentrations des nanoparticules magnétiques ( $Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/Mannitol$ ). Les valeurs de  $T_1$  et de  $T_2$  ont été obtenues respectivement par ajustement des Eqs. (2.21) et (2.22). La procédure d'ajustement a été conduite par l'Algorithme non linéaire de Levenberg-Marquardt que nous avons implémenté dans le logiciel MATLAB (The MathWorks, Natick, MA). L'échelle semi-logarithmique est utile pour détecter un éventuel comportement multi-exponentiel (agrégation des nanoparticules) de la relaxation.

Les résultats des temps de relaxation  $T_1$  et  $T_2$  mesurés, sont énumérés sur les Figs. 2.4 et 2.5. D'après ces valeurs, on observe systématiquement une diminution des  $T_1$  et  $T_2$  lorsque la concentration des nanoparticules magnétiques en solution aqueuse augmente. Cette corrélation est observée pour toute la gamme de concentrations. Ces résultats sont en bon accord avec ceux escomptés, étant donné que l'ajout d'un matériau magnétique raccourcit les temps de relaxation [54][55]. Cette corrélation positive entre les taux de relaxation ( $T_{1,2}^{-1}$ ) et la concentration des agents de contraste est une caractéristique utile dans des applications en imagerie RMN dynamiques où l'effet détecté de ces substances sur le signal est corrélé à la concentration des agents de contraste dans les tissus vivants [41][42]. De plus, le comportement mono-exponentiel de la relaxation observé dans ces expériences montre clairement que les nanoparticules sont bien dispersées.

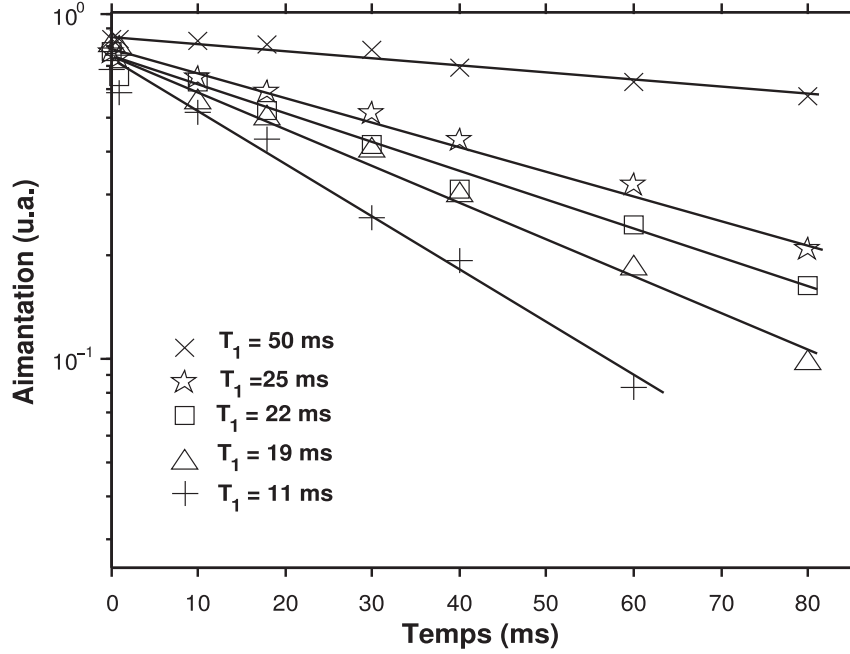


FIGURE 2.4:  $T_1$  mesurés par la séquence *inversion-récupération* et évolution de l'aimantation en  $\log(1 - \frac{M}{M_0}) - \log(2)$  en fonction de temps de récupération de l'aimantation longitudinale pour différentes concentrations des nanoparticules de  $Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/Mannitol$ . La gamme de concentrations est de :  $\times$  : 2 mM,  $\star$  : 5 mM,  $\square$  : 7.5 mM,  $\triangle$  : 10 mM et  $+$  : 20 mM.

Les paramètres de la séquence *inversion-récupération* sont : point1D (nombre de point pour chaque spectre) = 2048, point2D (nombre de spectre; partie réelle de la TF) = 20, temps de répétition = 8 s, période d'échantillonnage = 50  $\mu s$ , nombre de d'accumulation = 4, durée du pulse  $\pi/2$  = 150  $\mu s$  et atténuation du pulse = 23 db. La table des délais  $\tau$  est fixée de telle sorte que l'aimantation  $M_z$  retrouve systématiquement sa valeur à l'équilibre  $M_0$  pour toutes les concentrations des agents de contraste. Le cyclage de phase a été réalisé comme suit : 0(x) 2(-x) 2(-x) 0(x) 1(y) 3(-y) 3(-y) 1(y) pour le pulse  $\pi$ , 0(x) 0(x) 2(-x) 2(-x) 1(y) 1(y) 3(-y) 3(-y) pour le pulse  $\pi/2$  et 0(x) 0(x) 2(-x) 2(-x) 1(y) 1(y) 3(-y) 3(-y) pour la réception du signal.

Les paramètres de la séquence *écho de spin* sont : acq.pts (nombre de point de chaque écho) = 64, temps de répétition = 5 s, période d'échantillonnage = 50  $\mu s$ , nombre de d'accumulation = 8, durée du pulse  $\pi/2$  = 132  $\mu s$  et atténuation du pulse = 20.5 db. Le temps inter-écho = 3.2 ms. Le nombre d'écho est choisi de telle sorte que l'aimantation  $M_{x,y}$  décroît complètement pour toutes les concentrations des agents de contraste. Le cyclage de phase a été réalisé comme suit : 0(x) pour le pulse  $\pi/2$ , 1(y)3(-y) pour le pulse  $\pi$  et 0(x) pour la réception de l'écho.

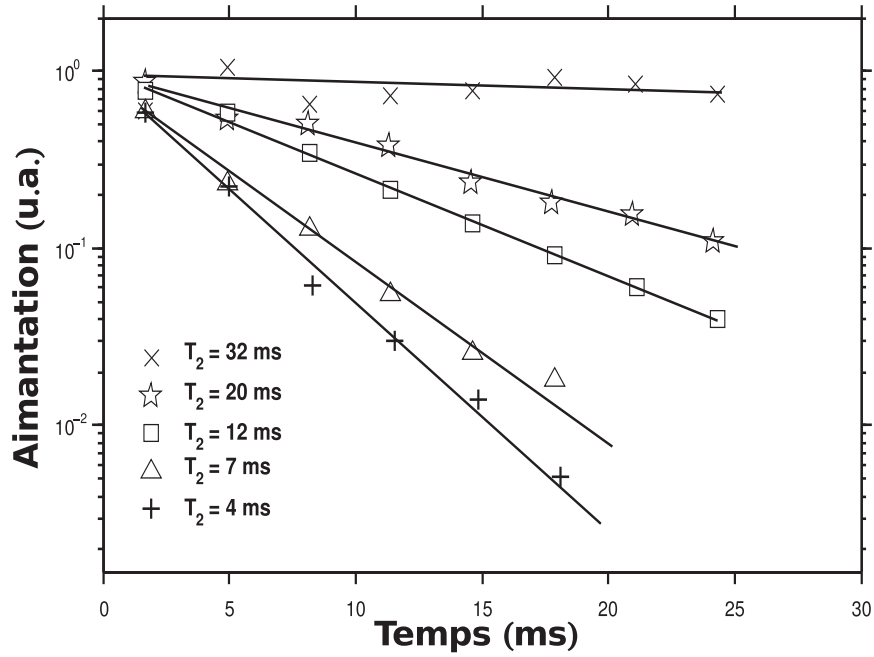


FIGURE 2.5:  $T_2$  mesurés par la séquence *CPMG* et évolution de l'aimantation en  $\log(\frac{M}{M_0})$  en fonction de temps de destruction de l'aimantation transversale pour différentes concentrations des nanoparticules de  $Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/Mannitol$ . La gamme de concentrations est de :  $\times$  : 2 mM,  $\star$  : 5 mM,  $\square$  : 7.5 mM,  $\triangle$  : 10 mM et  $+$  : 20 mM.

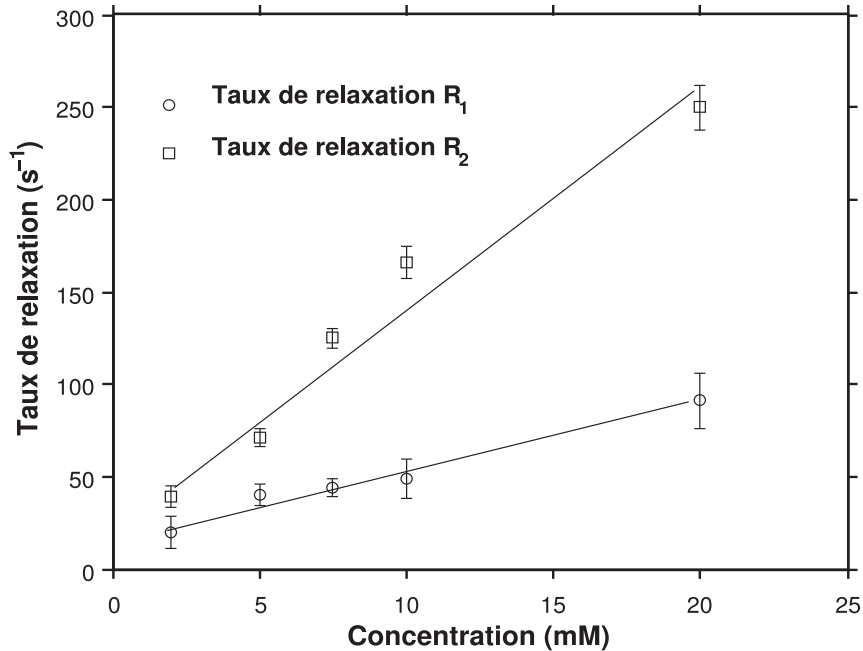


FIGURE 2.6: Représentation des taux de relaxation longitudinal et transversal ( $s^{-1}$ ) en fonction de la concentration (mM) des nanoparticules de  $Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/Mannitol$

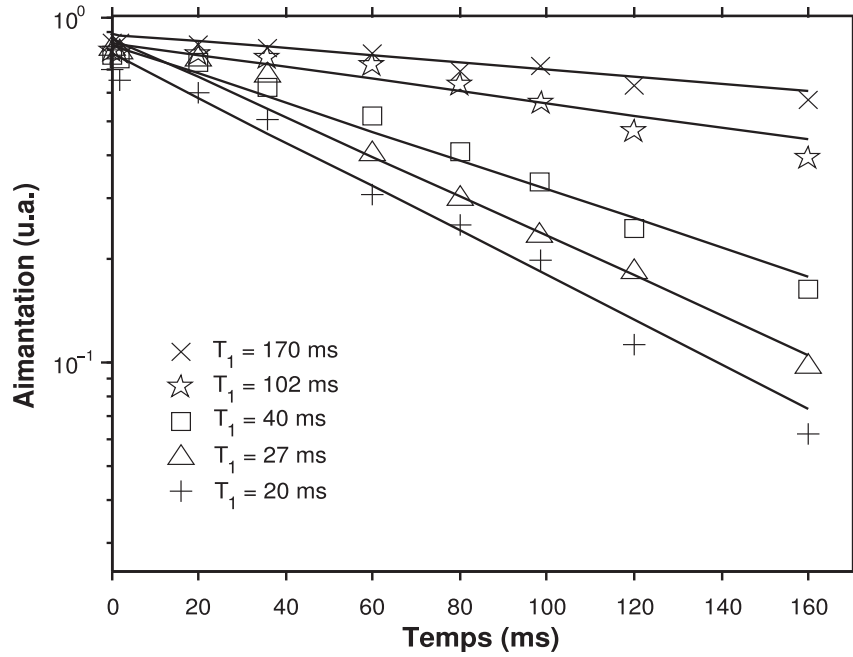


FIGURE 2.7:  $T_1$  mesurés par la séquence *inversion-récupération* et évolution de l'aimantation en  $\log(1 - \frac{M}{M_0}) - \log(2)$  en fonction de temps de récupération de l'aimantation longitudinale pour différentes concentrations du Dotarem®. La gamme de concentrations est de :  $\times$  :  $1\text{mM}$ ,  $\star$  :  $2\text{mM}$ ,  $\square$  :  $5\text{mM}$ ,  $\triangle$  :  $7.5\text{mM}$  et  $+$  :  $10\text{mM}$ .

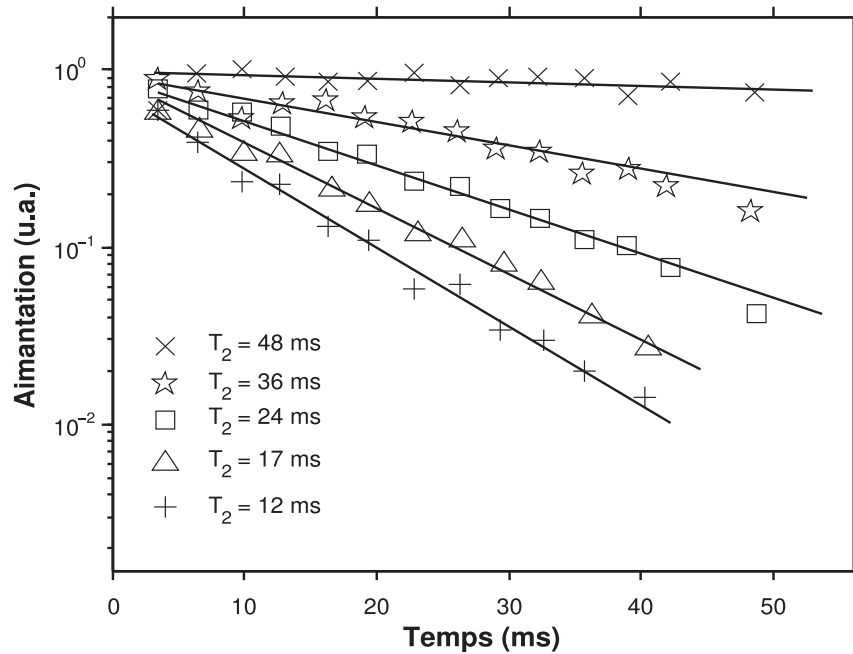


FIGURE 2.8:  $T_2$  mesurés par la séquence *CPMG* et évolution de l'aimantation en  $\log(\frac{M}{M_0})$  en fonction de temps de destruction de l'aimantation transversale pour différentes concentrations du Dotarem®. La gamme de concentrations est de :  $\times$  :  $1\text{mM}$ ,  $\star$  :  $2\text{mM}$ ,  $\square$  :  $5\text{mM}$ ,  $\triangle$  :  $7.5\text{mM}$  et  $+$  :  $10\text{mM}$ .

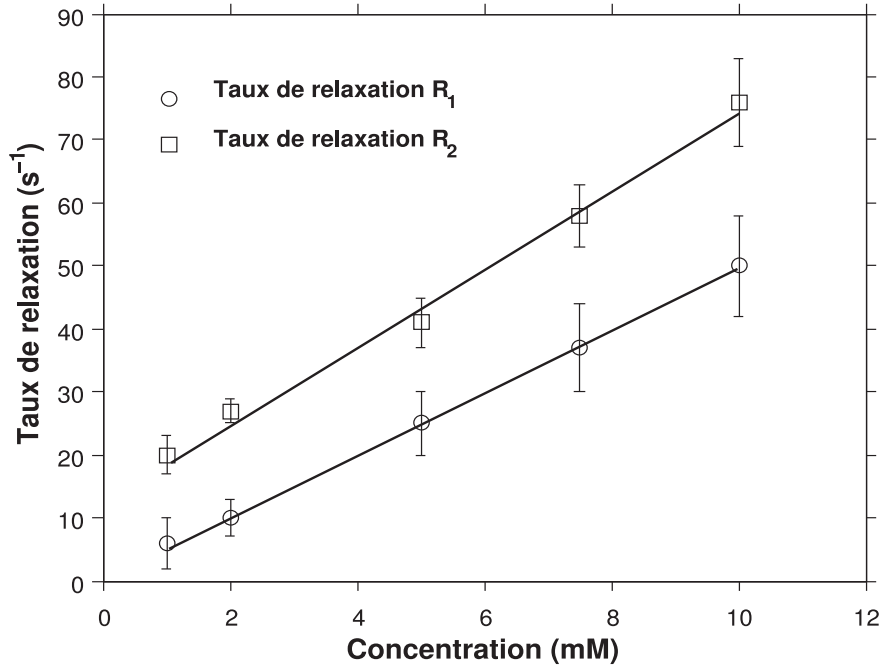


FIGURE 2.9: Représentation des taux de relaxation longitudinal et transversal ( $s^{-1}$ ) en fonction de la concentration ( $mM$ ) du Dotarem®.

À partir des Figs. 2.6 et 2.9, il apparaît clairement que la linéarité entre la gamme de concentration des nanoparticules et les taux de relaxation a été conservée. Une concentration des nanoparticule trop forte aura certainement pour conséquence une déviation dans le comportement linéaire [54][55]. Cette perte de linéarité ne se pose pas pour les faibles concentration des nanoparticules magnétiques. Ainsi, la conservation de cette linéarité est très importante si l'on souhaite relier les variations des temps de relaxation à la concentration des agents de contraste dans les tissus biologiques, comme on pourra le voir au chapitre 4.

Les valeurs mesurées des relaxivités longitudinale et transversale des divers agents de contraste sont reportées dans le tableau suivant :

TABLE 2.1: Relaxivités longitudinale et transversale mesurées pour les différents agents de contraste

agents de contraste	$r_1$ ( $s^{-1} \times mM^{-1}$ )	$r_2$ ( $s^{-1} \times mM^{-1}$ )	taille(nm)
Dotarem®	3.50	5.40	/
$Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}PEG$	6.50	9.55	7.85
$Gd^{3+}[Co(CN)_6]^{3-}PEG$	4.82	5.52	2.50
$Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}PEGN$	10.82	11.21	4.20
$Ni^{2+}[Fe(CN)_6]^{3-}PEGN$	0.13	4.98	5.95
$Tb^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}PEGN$	0.08	0.73	3.55
$Gd^{3+}[Cr(CN)_6]^{3-}PEG$	6.61	9.67	3.50
$Tb^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}PEG$	0.11	2.45	2.80
$Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}NAD$	9.90	13.21	3.18
$Tb^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}PEGN$	0.15	3.60	3.02
$Gd^{3+}[Cr(CN)_6]^{3-}PEGN$	6.15	9.51	3.10
$Fe_4[Fe(CN)_6]^{4-}PEGN$	0.10	1.98	/
$Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}MAN$	12.18	13.85	3.40
$Ni^{2+}[Fe(CN)_6]^{3-}PEG$	0.10	1.32	/
$Cu^{2+}[Fe(CN)_6]^{3-}PEG$	0.26	1.10	/
$Y^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}PEG$	0.01	0.05	/

Les agents de contraste présentés dans ce tableau diffèrent, d'un point de vue chimique, par la combinaison deux à deux des centres paramagnétiques et la nature des motifs d'enrobage. Tenant compte de ces valeurs de relaxivités, nous remarquons que le  $Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/Mannitol$  est quatre fois plus efficace que le Dotarem® (utilisé comme référence). Ce facteur va se révéler (cf. chapitre 4) déterminant pour visualiser des effets significatifs de rehaussement du signal. En outre, le rapport  $r_2/r_1 < 2$  ce qui signifie que le  $Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/Mannitol$  est un agent de contraste positif ( $T_1$ -relaxant) [6].

## 2.5 Conclusion

Nous comprenons bien, tenant compte de ce qui a été rapporté dans ce chapitre, que la conception de nouveaux agents de contraste efficaces pour l'imagerie RMN, nécessite une bonne compréhension de tous les facteurs et les mécanismes qui impactent la relaxivité des protons. Les agents de contraste agissent en augmentant le taux de relaxation des protons de l'eau présents dans les tissus biologiques, grâce à leurs paramagnétismes. La majorité des agents utilisés actuellement sont des chélates de gadolinium (III) stables en solution. Cet ion appartenant à la famille des Lanthanides possède le plus grand nombre d'électrons non appariés (7 électrons) et un temps de relaxation électronique ( $T_{1e}$ ) long. Ces deux caractéristiques font

du  $Gd^{3+}$  l'ion le plus paramagnétique parmi les ions stables. La relaxation paramagnétique des protons de l'eau est une conséquence des interactions dipolaires entre le spin nucléaire du proton et les fluctuations du champ magnétique local généré par les électrons célibataires du centre paramagnétique. Il existe deux contributions principales à la relaxation paramagnétique qui conduisent à l'exaltation de la relaxivité des protons. La contribution *sphère interne* qui est due à des interactions entre les spins électroniques du centre paramagnétique et les protons de l'eau de la première sphère de coordination et à l'échange chimique entre ces protons et ceux du solvant. La diffusion relative par translation des molécules d'eau au voisinage de l'ion métallique constitue la contribution de la *sphère externe*. À la lumière de ce qui a été discuté dans ce chapitre, le développement et la conception de nouveaux agents de contraste passent inéluctablement par une meilleure compréhension des facteurs gouvernant les contributions *sphère interne* et *sphère externe*. En effet, une façon d'influencer efficacement les propriétés relaxométriques des agents de contraste  $T_1$  consiste à augmenter le nombre de site de coordination des molécules d'eau dans le première sphère de coordination. Cette augmentation ne doit pas se faire au détriment de la toxicité du chélate. Nous avons constaté également que l'interaction dipolaire, entre le spin  $I$  des protons de l'eau liée et le spin  $S$  des électrons non appariés du centre paramagnétique séparée par une distance de contact  $r$ , chute en  $\frac{1}{r^6}$ . Donc une manière d'augmenter la relaxivité est de réduire cette distance. Nous avons relevé aussi que la diminution du temps de corrélation rotationnel  $\tau_R$ , correspondant à une augmentation du poids moléculaire de l'agent de contraste, contribue à majorer la relaxivité. Un allongement du temps de relaxation du spin électronique ( $10^{-8}$  à  $10^{-9}$  s pour les ions  $Gd(III)$ ,  $Mn(II)$  et  $Fe(III)$ ) contribue aussi à augmenter la relaxivité. Les deux termes *sphère interne* et *sphère externe* contribuent plus au moins à l'augmentation du taux de relaxation paramagnétique. Notons toutefois, que la notion d'agents de contraste positif ou négatif est sujette à discussion. En effet, chaque agent qu'il soit paramagnétique ou super-paramagnétique, peut agir sur le signal RMN par des effets de *sphère interne* et/ou *sphère externe*. Donc on comprend que le nature du contraste n'est pas exclusivement inhérente à la molécule utilisée mais dépend, de sa concentration dans le milieu et des paramètres instrumentaux.

Dans cette étude, les nanoparticules de  $Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/Mannitol$  ont été utilisées comme agent de contraste  $T_1$ -relaxant (effet positif). Elles présentent plusieurs avantages pour mener des investigations *in vivo* des propriétés morphologiques et physiologiques des tissus des produits agricoles, on peut en citer : (1) elles présentent une relaxivité  $r_1$  quatre fois plus importante que celle des agents de contraste commerciaux (comme le Dotarem®). (2) elles sont solubles dans l'eau et mono-disperses. (3) elles ont une taille suffisamment petites 3.4 nm qui leur permettent de circuler dans les vaisseaux de transport des tissus biologiques. (4) elles sont enrobées par un dérivé de sucre (*Mannitol*). Ce ligand assure la bio-compatibilité de ces nanoparticules leurs permettant ainsi d'être transportées par les flux hydriques en milieu physiologique.



# Chapitre 3

## Implémentation, validation et optimisation de la séquence FLASH

### Sommaire

---

3.1	Séquence FLASH . . . . .	65
3.1.1	Imperfections techniques de $B_0$ . . . . .	66
3.1.2	Effets de la susceptibilité magnétique . . . . .	66
3.2	Analyse de la séquence FLASH . . . . .	67
3.3	Application de la séquence FLASH . . . . .	70
3.4	Zone d'homogénéité du champ $B_0$ . . . . .	72
3.5	Cartographie du champ $B_1$ . . . . .	73
3.6	Cartographie du $T_2^*$ . . . . .	76
3.7	Validation de la séquence FLASH : Application sur fantôme . . . . .	78
3.8	Optimisation de $\theta_1$ et $\theta_2$ . . . . .	80
3.9	Conclusion . . . . .	82

---

Les séquences d'imagerie conventionnelles (écho de spin, inversion-récupération, saturation-récupération ...) utilisant des angles de bascule de l'aimantation  $\theta = 90^\circ$  sont très consommatrices en terme de temps d'acquisition des images. Pour ces séquences un  $T_R$  long est nécessaire pour que l'aimantation récupère entièrement après chaque accumulation (acquisition d'une ligne du plan de *Fourier*) et ainsi éviter toute saturation du signal. En effet, afin d'acquérir des images avec un rapport SB acceptable, le temps de répétition de ces séquences devra être de l'ordre de  $5 T_1$  ( $T_1$  du tissu le plus long). Ce temps d'acquisition long peut se révéler très contraignant pour suivre et étudier la dynamique des processus physiologiques associés aux transport et à la diffusion de l'eau, qui s'opèrent chez les végétaux. Une des alternatives à cela, consiste à utiliser des séquences d'imagerie qui fonctionnent avec des temps de répétition relativement courts conduisant ainsi à des acquisitions dynamiques avec une bonne résolution temporelle. La FLASH (Fast Low Angle

SHot) en est un parfait exemple de ce type de séquence d'imagerie RMN [15][16].

Dans le but d'étudier le transport et la bio-distribution de l'agent de contraste dans un fruit modèle, la séquence doit fournir une résolution temporelle suffisante pour suivre les modifications de  $T_1$  dans les tissus. Il est important de souligner que cet accroissement de la résolution temporelle ne doit pas se faire au détriment du rapport SB et donc sur la qualité des images. Un compromis doit être systématiquement trouvé entre le temps d'acquisition des images, la résolution spatiale et le rapport SB.

Le principe de l'analyse des acquisitions dynamiques des images, consiste à relier les variations des intensités du signal de chaque pixel, provoquées par les modifications du  $T_1$  suite à l'arrivée de l'agent de contraste dans les tissus. À partir de cette variation du  $T_1$ , nous pourrions ensuite remonter à une localisation spatiale des flux hydriques dans le fruit. Par ailleurs, un champ  $B_0$  et/ou un champ  $B_1$  inhomogènes sont sources d'erreurs pour la quantification du  $T_1$  et donc de la concentration de l'agent de contraste aux seins des tissus. Par conséquent, l'évaluation de ces inh- ou homogénéités est un élément important à prendre en considération pour disposer d'une mesure fiable sur la quantification du  $T_1$ . Dans ce chapitre, nous tâcherons de mettre en exergue les principales caractéristiques (expression analytique de l'intensité du signal, contraste de la séquence et *Angle de Ernst*) de la séquence FLASH, qui a été implémentée dans le cadre de cette étude. Nous présenterons également les méthodes expérimentales mises en œuvre pour la quantification des variations spatiales des champs  $B_0$  et  $B_1$ . Afin d'évaluer l'influence de la pondération  $T_2^*$  sur les images, nous avons mené à cet effet une étude sur la quantification de la cartographie  $T_2^*$ . La valeur moyenne estimée à partir de cette cartographie nous permettra d'évaluer l'ampleur de l'atténuation des images, notamment celles acquises à des angles de bascule faibles. Une simulation des angles de bascule optimaux sera également présentée.

### 3.1 Séquence FLASH

Dans un premier temps nous avons implémenté la séquence FLASH (chronogramme de la Fig. 1.7) sur le spectromètre (Tecmag, Apollo) de 4.7 T (200 MHz). Cette séquence n'existait pas dans le spectromètre. L'interface Tecmag utilisée à cet effet présente l'avantage d'être un système totalement ouvert et doté d'une grande flexibilité. Par voie de conséquence, l'expérimentateur peut gérer lui-même les multiples relations qui permettent de contrôler, en fonction des résolutions spatiale et temporelle souhaitées, tous les paramètres qui interviennent dans la séquence choisie. Parmi ces paramètres, on peut citer à titre illustratif : les phases d'émission des RF et celles de la réception des signaux RMN, les intervalles du temps et les amplitudes de gradient, la forme et l'intensité des impulsions RF et les différents intervalles du temps pendant lesquels ces champs sont appliqués. Comme

nous l'avons mentionné au premier chapitre, les deux principales caractéristiques de la séquence FLASH sont, l'utilisation d'un angle de bascule de l'aimantation inférieur à  $90^\circ$  et l'absence de l'impulsion de rephasage de  $180^\circ$ . Le signal d'écho est généré uniquement par l'inversion de la polarité du gradient de lecture qui rétablit la cohérence de phase des spins. La principale incidence de cette diminution de l'angle de bascule est la réduction de la proportion de l'aimantation basculée dans le plan transverse. Par conséquent, le retour à l'équilibre (avant le basculement) s'établit plus rapidement. Cette récupération rapide de l'aimantation basculée est due à l'existence d'une aimantation résiduelle selon l'axe longitudinal. Cette première caractéristique conduit à un raccourcissement du temps de répétition ( $T_R$ ) de la séquence et permet ainsi d'atteindre des acquisitions dynamiques. L'absence de l'impulsion de rephasage de  $180^\circ$  rend cette séquence sensible aux artefacts de susceptibilité magnétique, car les hétérogénéités du champ constantes  $\gamma\Delta B_0$  ne sont pas compensées. Ainsi, l'aimantation transversale  $M_{xy}$  décroît non pas en  $T_2$  (d'origine moléculaire) mais en une constante du temps, notée  $T_2^*$ . Ce temps de relaxation apparent ( $T_2^*$ ) est d'autant plus faible (décroissance rapide du signal) que les inhomogénéités ( $\gamma\Delta B_0$ ) du champ  $B_0$  sont importantes. La relation entre  $T_2$ ,  $T_2^*$  et  $\gamma\Delta B_0$  est donnée par [16] :

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{\gamma\Delta B_0}{2} \quad (3.1)$$

On peut citer, entre autre, deux origines des inhomogénéités du champ magnétique statique  $B_0$  :

### 3.1.1 Imperfections techniques de $B_0$

Ces inhomogénéités de  $B_0$  augmentent avec la distance par rapport au centre de l'aimant (zone d'homogénéité de  $B_0$ ) et elles peuvent causer une perte importante du signal. Par conséquent, lors de l'utilisation de la séquence FLASH, il faut faire en sorte que l'échantillon à imager ne soit pas trop loin du centre de l'aimant (dans nos expériences, le repérage du centre de l'aimant est réalisé par l'étude du profil de l'échantillon au moyen de la séquence de *one pulse*). La détermination expérimentale de la zone d'homogénéités du champ  $B_0$  est détaillé dans la section 3.4.

### 3.1.2 Effets de la susceptibilité magnétique

La distribution du champ  $B_0$  à l'intérieur de l'échantillon soumis à l'imagerie, dépend de la position, la taille, la forme et la susceptibilité magnétique (SM) des différentes structures tissulaires de l'échantillon. Les différences de susceptibilité magnétique se manifestent à l'interface des tissus. Elles peuvent être suffisamment violentes pour entraîner, par une réduction du  $T_2^*$ , une perte significative du signal au voisinage des interfaces. On peut observer cet effet avec des images acquises en écho de gradient, principalement aux l'interfaces Air-Tissus [56]. Afin de minimiser ces artefacts de susceptibilité magnétique, on peut soit réduire le temps d'écho

( $T_E$ ) de la séquence et/ou par la réduction de la taille des voxels (minimisation des effets de volume partiel). Dans ce chapitre, les effets de la SM sont évalués en terme de la cartographie  $T_2^*$ , obtenue à partir de deux images acquises à deux temps d'écho différents. En considérant ces caractéristiques, il en découle que l'avantage majeur de l'implémentation de la séquence FLASH serait donc le gain de temps, qui servira à augmenter la résolution temporelle et permettre ainsi des acquisitions dynamiques. Afin d'éviter la formation des échos stimulés, nous avons appliqué des *spoilers* (gradients de champs appliqués dans les trois directions de l'espace) pour détruire l'aimantation transversale résiduelle. En conséquence, seul l'aimantation longitudinale contribue pour chaque répétition du pulse de sélection.

Les paramètres de la séquence implémentée, via l'interface Tecmag Apollo, dans le spectromètre sont donnés comme suit : la durée de l'impulsion RF de sélection vaut  $2\text{ ms}$ ,  $T_R = 110\text{ ms}$ ,  $T_E = 6\text{ ms}$ , acp.point1D (nombre de point de chaque écho) = 256 (qui correspond aussi au nombre d'échantillons acquis suivant la direction du gradient de lecture), le temps d'échantillonnage =  $50\text{ }\mu\text{s}$ , temps de montée des gradients =  $200\text{ }\mu\text{s}$ , temps d'application des gradients =  $2\text{ ms}$ , le gradient de phase est incrémenté de 129 ( $-64$  à  $+64$ ) amplitudes, temps d'application des spoilers =  $3\text{ ms}$ , l'atténuation du pulse  $\theta$  varie en fonction de l'angle de bascule que l'on désire appliquer. Nous avons respectivement des atténuations de  $31\text{ db}$  et  $46\text{ db}$  pour des angles de bascule de  $60^\circ$  et  $8^\circ$ . Le cyclage de phase a été réalisé suivant :  $0(x)1(y)2(-x)3(-y)$  pour le pulse d'excitation  $\theta$  et le même cyclage a été maintenu pour la réception de l'écho.

## 3.2 Analyse de la séquence FLASH

Très souvent la séquence de train de pulse :  $\theta - T_R - \theta - T_R \dots$ , est utilisée pour analyser l'aimantation des séquences d'imagerie de type d'écho de gradient [16][57]. L'aimantation à l'état d'équilibre (ou équilibre dynamique) est le concept utilisé pour l'étude des séquences d'écho de gradient. Pour cette classe de séquence, l'état d'équilibre est considérée à la fois pour l'aimantation transversale et longitudinale. Lorsque des angles de bascule  $\theta < 90^\circ$  sont appliqués, l'aimantation transverse crée ( $M_{xy}$ ) est largement supérieure à celle perdue suivant l'axe longitudinal. Cette propriété est exprimée par la relation  $M_{xy} \gg (M_0 - M_z)$ . Quantitativement cette relation peut être mise en évidence, en rappelant que pour un  $\theta \ll 1\text{ rad}$ ,  $\sin \theta \approx \theta$  est supérieur à  $1 - \cos \theta \approx \frac{\theta^2}{2}$ .

Dans cette analyse de l'état d'équilibre de l'aimantation longitudinale, nous supposons que l'aimantation transverse résiduelle est complètement détruite (avec des gradients de champ ou des RF avec des phases aléatoire) avant chaque pulse d'excitation. En se référant à la Fig. 3.1, si l'aimantation longitudinale au point A vaut  $M_{z,A}$ , alors après le pulse d'excitation  $\theta$ , on a [16] :

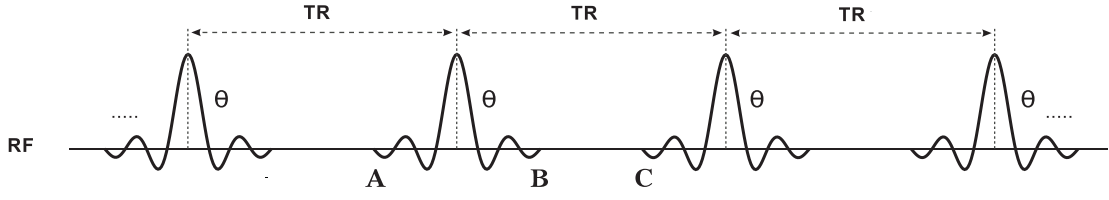


FIGURE 3.1: Train de pulse pour l'analyse de la séquence FLASH : aimantation en régime d'équilibre imposé par des impulsions périodiques ( $\theta$ ) espacées d'un délai  $T_R$ .

$$M_{z,B} = M_{z,A} \times \cos \theta \quad (3.2)$$

Dans l'intervalle du temps de répétition, entre les points B et C, l'aimantation longitudinale est soumise à la relaxation  $T_1$  en accord avec les équations de *Bloch*, ainsi :

$$M_{z,C} = M_{z,B} \times e^{\left(\frac{-T_R}{T_1}\right)} + M_0 \times \left(1 - e^{\left(\frac{-T_R}{T_1}\right)}\right) \quad (3.3)$$

Lorsque l'état d'équilibre de l'aimantation longitudinale est atteint, il se traduit par l'égalité suivante :

$$M_{z,A} = M_{z,C} \quad (3.4)$$

Par substitution dans les Eqs. (3.2), (3.3) et (3.4), il vient :

$$\frac{M_{z,A}}{M_0} = \frac{1 - e^{\left(\frac{-T_R}{T_1}\right)}}{1 - \cos \theta e^{\left(\frac{-T_R}{T_1}\right)}} \equiv M_{ss}^z \quad (3.5)$$

Avec,  $M_{ss}^z$  est une mesure adimensionnelle de l'état d'équilibre de l'aimantation. L'indice *ss*, traduit le terme anglais *steady state*. Comme nous l'avons déjà mis en avant, le signal (l'écho de gradient) est produit par un gradient bipolaire et atteint son maximum au temps d'écho, et est donné par  $M_{z,A} \sin \theta e^{(-T_E/T_2^*)}$ . Ainsi, à partir de l'Eq. (3.5), l'intensité du signal de la séquence d'écho de gradient qui émane de chaque voxel dépend des paramètres extrinsèques ( $T_R$ ,  $T_E$  et  $\theta$ ) et intrinsèques ( $T_1$ ,  $T_2^*$  et  $M_0$ ), selon :

$$S = M_0 \times \underbrace{\frac{\left(1 - e^{\left(\frac{-T_R}{T_1}\right)}\right)}{1 - \cos \theta e^{\left(\frac{-T_R}{T_1}\right)}}}_{T_1 \text{ factor}} \sin \theta \times \underbrace{e^{\left(\frac{-T_E}{T_2^*}\right)}}_{T_2^* \text{ factor}} \quad (3.6)$$

Le terme  $\sin \theta$  de l'Eq. (3.6) traduit la proportion de l'aimantation longitudinale à l'équilibre basculée dans le plan transverse.

Afin de comprendre la dépendance et l'influence de l'angle de bascule  $\theta$  sur le signal provenant de chaque voxel, caractérisé par  $T_1$ ,  $T_2$  et  $M_0$ , nous avons tracé l'évolution de l'intensité du signal en fonction de  $\theta$  pour différentes valeurs de  $T_R$ . Cette étude est menée sur le fruit de la tomate cerise. Notons également que nous avons travaillé avec un  $T_E = 6 \text{ ms} \Rightarrow e^{-\frac{T_E}{T_2^*}} \rightarrow 1$ . Ce fruit (tomate, *Solanum lycopersicum*) nous a été fourni par l'INRA (Institut National de la recherche Agronomique, France).

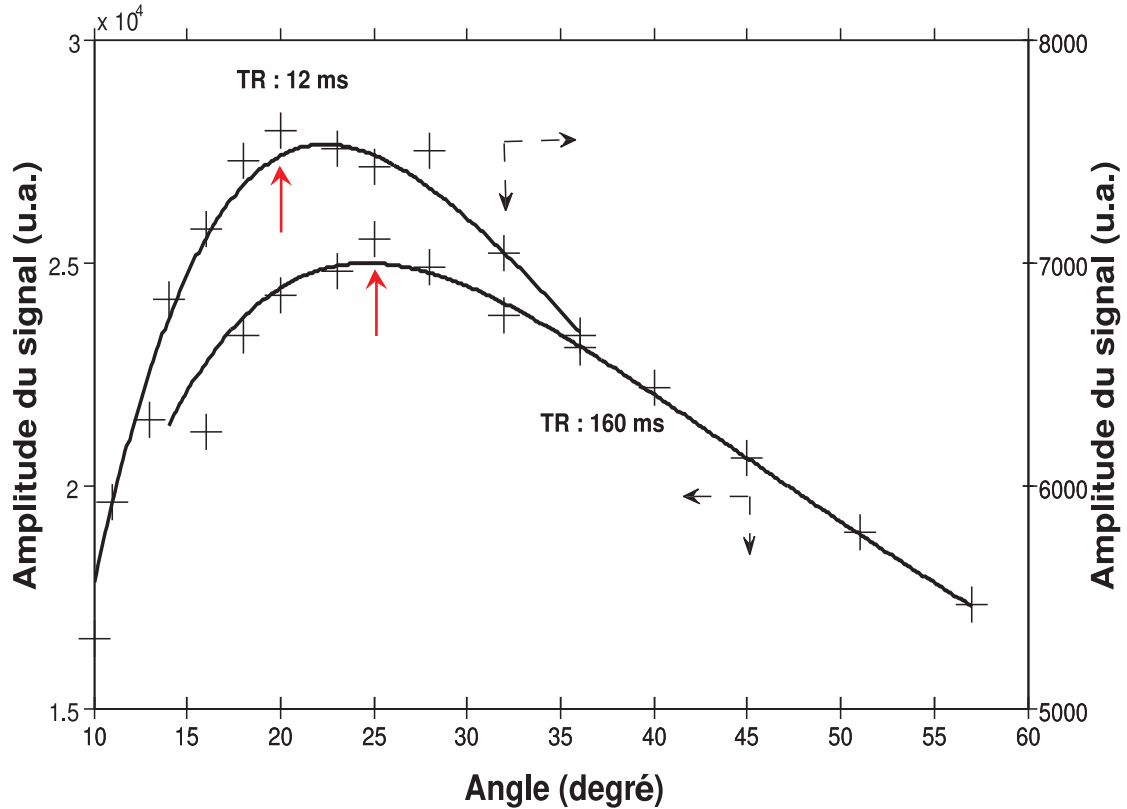


FIGURE 3.2: Influence des paramètres d'acquisition  $T_R$  et  $\theta$  sur l'intensité du signal de la séquence FLASH

À partir de ce graphique, nous observons que pour un  $T_R$  donné (imposé par les conditions de la mesure, ie : le type d'information recherchée) il existe un angle particulier pour lequel l'intensité du signal passe par un maximum. Cet angle qui maximise l'intensité du signal est appelé *Angle de Ernst* qui s'écrit :

$$\cos \alpha_E = e^{-\frac{T_R}{T_1}} \quad (3.7)$$

Nous relevons également, que plus le  $T_R$  augmente plus cet angle optimal ( $\theta_E$ ) se déplace vers les grandes valeurs. Compte tenu de cette évolution du signal, deux remarques importantes peuvent être mise en évidence, à savoir :

- Pour un même temps d’acquisition des images, la séquence FLASH ( $\theta < 90^\circ$ ) donne beaucoup plus de signal pour des  $T_R$  courts, comparativement aux séquences conventionnelles qui fonctionnent avec un  $\theta = 90^\circ$ .
- Pour des faibles valeurs de  $\theta$  et pour des  $T_R < T_1$ , le signal de la séquence FLASH est indépendant du  $T_1$ .

### 3.3 Application de la séquence FLASH

Nous avons appliqué la séquence FLASH implémentée sur une tomate cerise commerciale, Fig. 3.3. Les paramètres d’acquisition de l’image sont :  $T_R = 110$  ms,  $T_E = 6$  ms,  $\theta = 28^\circ$  (l’Angle de Ernst), la résolution spatiale dans le plan  $60 \mu m \times 60 \mu m$ , l’épaisseur de coupe  $500 \mu m$ , la taille des voxels  $60 \mu m \times 60 \mu m \times 500 \mu m$ , la taille de la matrice  $256 \times 129$  ( $512 \times 512$  après zero filling) et le temps d’acquisition de l’image est de 10 mn. L’image présente une grande résolution spatiale, quand on sait que la taille des cellules du placenta et des columelles par exemple, est en moyenne de  $100 \mu m$  (celles du péricarpe peuvent être supérieures à  $200 \mu m$ ) [58]. Tout les constituants anatomiques du fruit de la tomate sont facilement identifiables. Comme attendu, l’acquisition de l’image à l’Angle de Ernst nous a permis d’acquérir un rapport SB très élevé en dépit d’un temps d’acquisition relativement court. De plus, l’image est dépourvue de toute

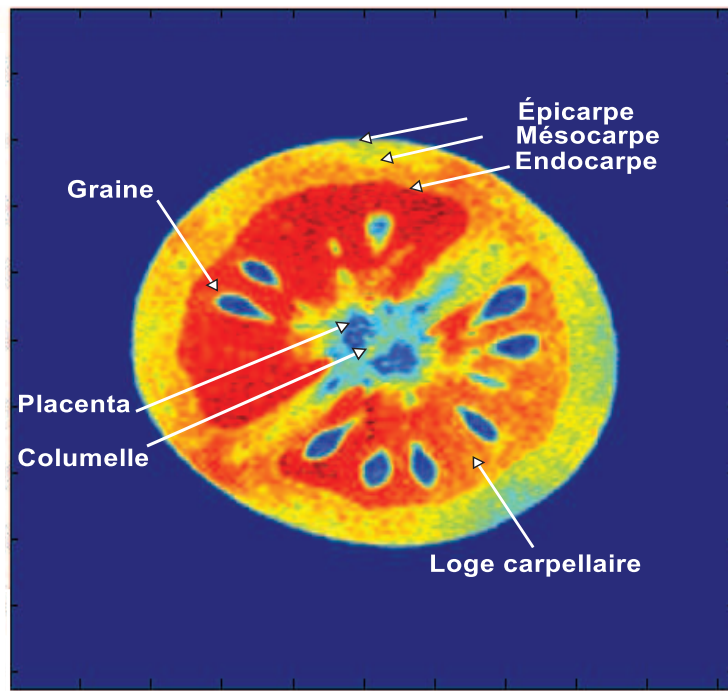


FIGURE 3.3: Application de la séquence FLASH implémentée sur une tomate cerise et annotation de ses différents tissus.



information artéfactuelle. Ainsi, l'ensemble de ces résultats viennent confirmer le fait que tous les paramètres (paramètres décrits dans le dernier paragraphe de la section 3.1) de la séquence ont été implémentés avec succès sur l'interface *Tecmag Apollo*. Par ailleurs, nous avons observé (les résultats ne sont pas présentés) que pour un rapport SB comparable, la séquence FLASH est six fois plus rapide que la séquence d'écho de spin. Pour examiner le contraste de cette séquence, nous avons réalisé une simulation à partir de deux tissus de la tomate, le péricarpe (noté tissu A) et le placenta (noté tissu B). À l'aide des Eqs. (1.39) et (3.6), nous avons tracé l'évolution du contraste en fonction du temps de répétition ( $T_R$ ) et de l'angle de bascule de l'aimantation ( $\theta$ ). Le temps d'écho a été maintenu à 6 ms et donc le terme dépendant de  $T_2^*$  tend vers l'unité.

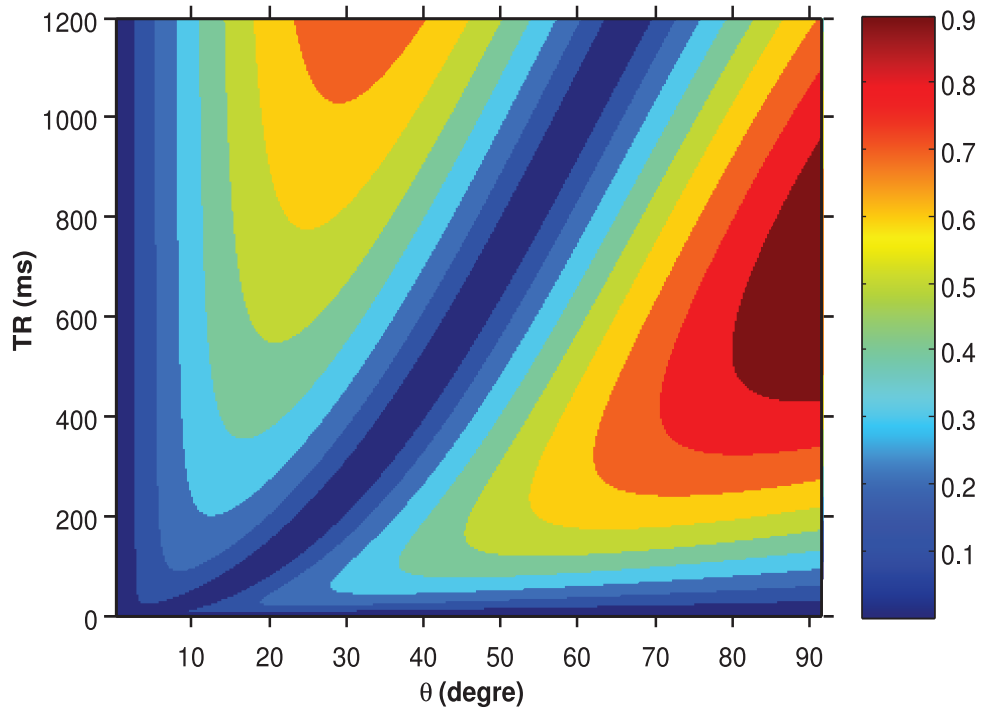


FIGURE 3.4: Contraste de la séquence FLASH obtenu à partir des tissus du péricarpe et du placenta. Cette évolution du contraste est tracée en fonction du  $T_R$  et  $\theta$  pour un  $T_E \ll T_2^*$ . Les paramètres de la simulation sont de  $M^A = 90\%$ ,  $T_1^A = 1200\text{ ms}$ ,  $M^B = 80\%$  et  $T_1^B = 800\text{ ms}$  respectivement pour le péricarpe et le placenta. Ces paramètres ont été déterminés par la séquence *saturation-récupération*, via des régions d'intérêt pour chaque tissu d'une tomate cerise verte.

À partir de la Fig. 3.4, nous constatons l'existence de deux zones de maximum de contraste séparées par une région centrale où le contraste est quasiment nul. Il en ressort que pour des  $\theta$  faibles (inférieurs à  $25^\circ$ ) et pour des  $T_R$  longs (supérieurs au  $T_1$  le plus élevé des deux tissus), on a une première zone de maximum de contraste qui est associée à des différences de densité de protons entre les deux tissus. Il vient



également, que pour des  $T_R$  de l'ordre de grandeur des  $T_1$  des deux tissus et au fur et à mesure que  $\theta$  augmente, on constate une deuxième zone de maximum de contraste qui correspond à la différence des  $T_1$  entre les deux tissus. Compte tenu de cette analyse du contraste, nous convenons bien que pour un  $T_R$  fixe (généralement imposé par l'échelle du temps des dynamiques physiologiques à suivre), le choix de l'angle de bascule de l'aimantation est une étape clé pour une meilleure discrimination des différentes structures tissulaires. Par voie de conséquence, cette opération aboutit à une meilleure analyse quantitative et qualitative sur les images.

### 3.4 Zone d'homogénéité du champ $B_0$

Une approche expérimentale portant sur l'étude de l'homogénéité du champ  $B_0$  (Fig. 3.5) suivant la direction  $oz$ , a été conduite sur un tube d'eau de 2 cm de hauteur et de 2 mm de diamètre. L'objectif de cette étude était la détermination de la zone d'homogénéité du champ  $B_0$  selon l'axe longitudinal. L'idée de base de cette approche, consistait à suivre la fréquence de résonance de l'eau en fonction de la position du tube dans l'aimant. Nous avons fait l'acquisition de onze spectres pour une zone de balayage de 2.5 cm. Cette zone est balayée par un incrément de 0.2 cm. La position du tube dans l'aimant a été pilotée par une platine à déplacement millimétrique (*Newport - Universal Motion Controller. Model ESP300*).

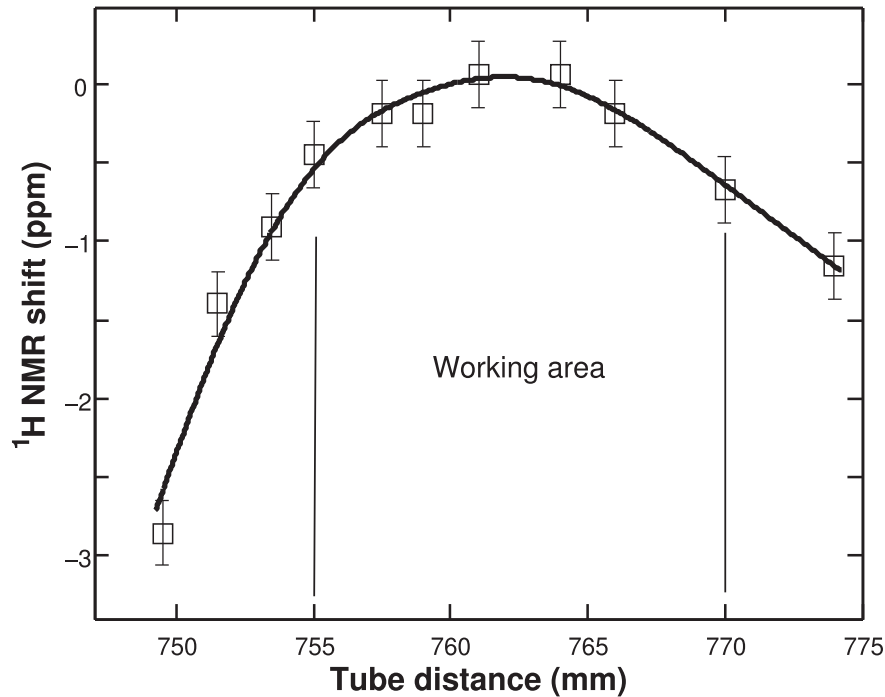


FIGURE 3.5: Zone d'homogénéité du champ  $B_0$ .

Les spectres ont été acquis au moyen de la séquence *one pulse* que nous avons implémenté. Les paramètres de la séquence étaient de : durée du pulse  $\pi/2 = 132 \mu\text{m}$ ,

point1D (nombre de point pour chaque spectre) = 2048, temps d'échantillonnage =  $25\mu s$  et  $T_R = 3s$ . Le cyclage de phase a été réalisé comme suit :  $0(x)2(-x)1(y)3(-y)$  pour le pulse  $\pi/2$  et le même cycle de phase a été maintenu pour la réception du signal. La barre d'erreur portée sur la Fig. 3.5, a été estimée à partir de la largeur du spectre. Compte tenu de ce graphique, il en ressort que notre zone de travail ( $1.5\text{ cm}$ ) correspond à une inhomogénéité du champ  $B_0$  de  $1\text{ ppm}$  soit  $200\text{ Hz}$ . L'éclatement en fréquence de notre modèle agronomique s'étend sur une gamme de fréquence de  $34\text{ kHz}$  (pour un  $G = 10\text{ mT/m}$ ), soit une variation de  $0.6\%$  de l'intensité du champ  $B_0$ . À partir de ce résultat, on peut affirmer que nous avons travaillé dans un champ  $B_0$  homogène.

### 3.5 Cartographie du champ $B_1$

Toute quantification du  $T_1$ , exige une évaluation préalable de l'homogénéité du champ  $B_1$ . Elle a été conduite par la méthode DAM (Double Angle Method) sur un objet test, constitué d'une bouteille (Fig. 3.6(b)) d'eau de  $28\text{ mm}$  de diamètre. Cette méthode présente l'avantage par sa facilité d'implémentation, mais exige des  $T_R$  long pour que l'aimantation récupère sa valeur à l'équilibre. Elle a été introduite pour la première fois en 1993 par *Insko* et *Bolinger* [59]. Elle peut être implémentée soit avec une séquence d'écho de gradient ou spin écho. L'angle de bascule effectif est évalué à partir du rapport d'une image acquise à  $\theta$  par une image acquise à  $2\theta$ , tout les autres paramètres de la séquence sont constants. En effet, pour un  $T_R \gg T_1$  et à partir de l'Eq. (3.6), on peut écrire :

$$S_\theta = M_0 \times \sin \theta \quad (3.8)$$

$$S_{2\theta} = M_0 \times \sin 2\theta \quad (3.9)$$

En utilisant la relation trigonométrique,  $\sin 2\theta = 2 \sin \theta \cos \theta$ , et en combinant les Eqs.(3.8) et (3.9), il vient :

$$\theta_{eff} = \arccos \left( \frac{S_{2\theta}}{2S_\theta} \right) \quad (3.10)$$

En considérant la Fig. 3.6, il apparait que la gamme des angles de bascule estimés à l'aide de la méthode DAM, sont assez uniformes et correspondent aux angles de bascule prescrits. Le profil illustré sur la Fig. 3.6, a été calculé à partir de la moyenne des cercles concentriques pour différent incrément du rayon de la bouteille d'eau. La valeur moyenne estimée à partir du profile est de  $28.8^\circ$  soit une variation de  $4\%$  par rapport à l'angle prescrit. Cependant, il a été montré [60][61] que la précision des méthodes de cartographie du champ  $B_1$  se détériore pour les faibles angles de bascule. Parmi ces sources d'erreur on peut citer, un défaut de linéarité de la chaine d'émission du champ  $B_1$  (les atténuateurs RF perdent leur linéarité pour les fortes atténuations) et un rapport SB faible pour les petits angles. En effet, nous avons vérifié ce résultat par une étude comparative

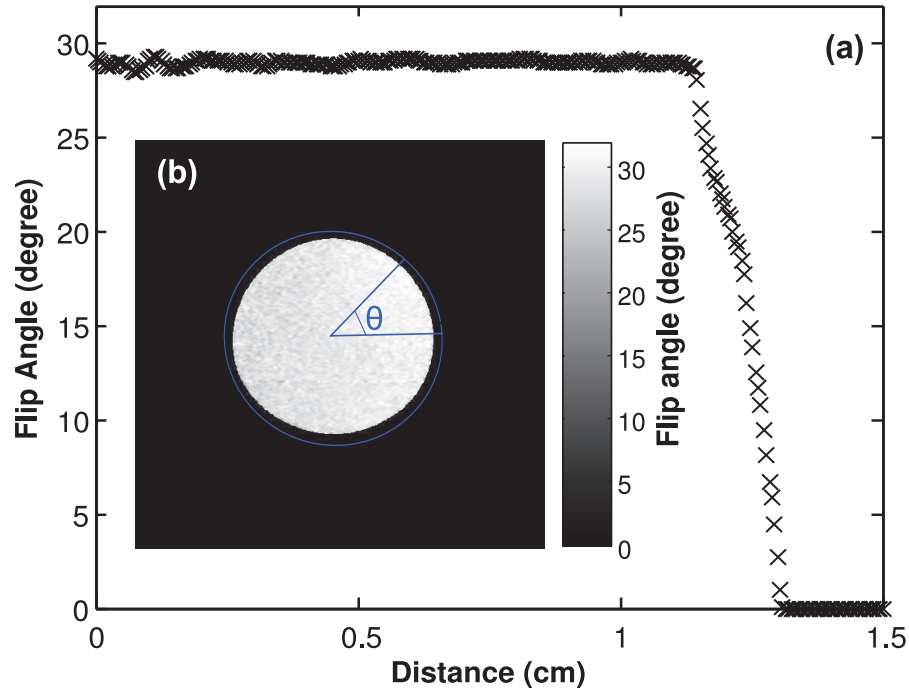


FIGURE 3.6: Cartographie des angles de bascule. L'angle prescrit utilisé est de  $\theta = 30^\circ$  et le  $T_R = 6 s$ .

entre les angles de bascule théoriques et ceux effectivement mesurés (Fig. 3.7). Se basant sur la formule de l'atténuation de la puissance électrique du champ  $B_1$ ,  $att = att_{90^\circ} + 20 \log_{10}(\theta_{90^\circ}/\theta)$ , nous avons tracé l'évolution des angles théoriques (variation supposée parfaitement linéaire entre l'amplitude du champ  $B_1$  et l'angle prescrit) pour une gamme des atténuations de 22 à 50 db. L'approche expérimentale est basée sur la mesure de l'amplitude (*volt*), au moyen d'un oscilloscope (*LeCroy waveJet, 500 MHz*), de la puissance effective du champ  $B_1$ .

Comme le montre la Fig. 3.7, la justesse de l'angle de bascule est maximale pour les grands angles ( $> 30^\circ$ ) et décroît au fur et à mesure qu'on se déplace vers les petit angles. Nous avons estimé une variation (erreur relative) de 5% pour la gamme des angles de  $3^\circ$  à  $5^\circ$  et de 3% pour la gamme des angles de  $7^\circ$  à  $20^\circ$ . Pour des angles inférieurs à  $3^\circ$ , le signal RF n'est plus détectable. Récemment une nouvelle méthode (*Low Angle Mapping*) a été proposé [62] pour la détermination de la cartographie des angles de bascule très faibles ( $< 5^\circ$ ). Cette méthode est basée sur le principe de calcul du rapport (en arcsin) entre une image acquise à angle de bascule très faible par une image acquise à  $90^\circ$  (considérée comme étant insensible aux inhomogénéités du champ  $B_1$ ). Après avoir déterminé les variations du champ  $B_1$  dans le plan  $xoy$ , nous avons jugé utile de quantifier cette inhomogénéité sur l'axe  $oz$ . Note démarche consistait, toujours sur le même objet test, à évaluer simplement la variation de l'intensité du signal à différents offsets. Après conversion fréquence-distance, les offsets étaient de  $-6.4$ ,  $-3.2$ ,  $0$ ,  $3.2$  et  $6.4 mm$ . Nous avons chiffré les variations de l'intensité du signal, dans l'ordre croissant des offsets, à 12%, 1.5%, 4% et 8%

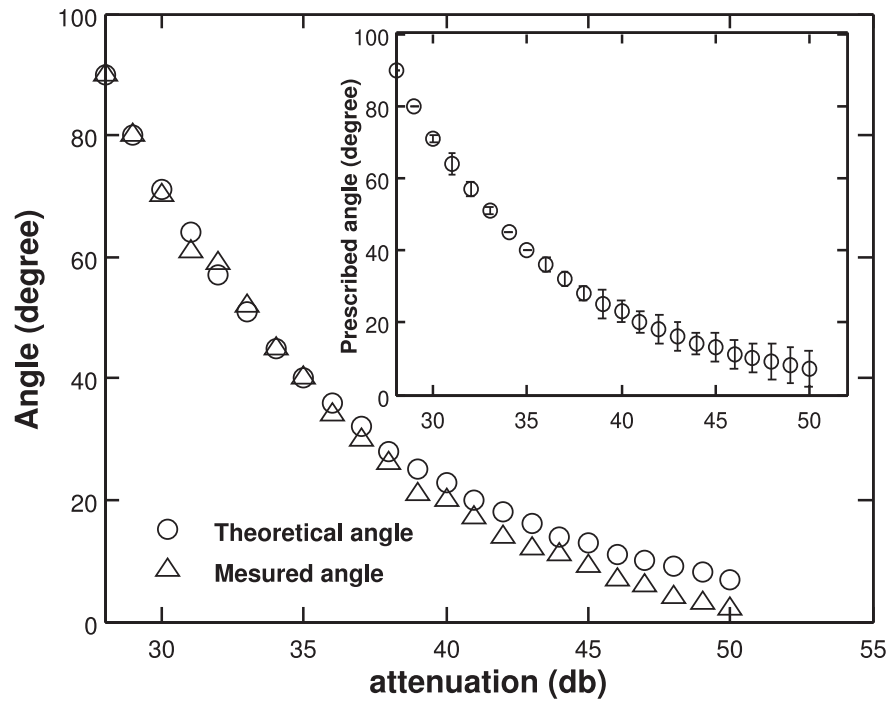


FIGURE 3.7: Étude comparative entre les angles de bascule théoriques et ceux effectivement mesurés,  $att_{90^\circ} = 28 \text{ db}$ .

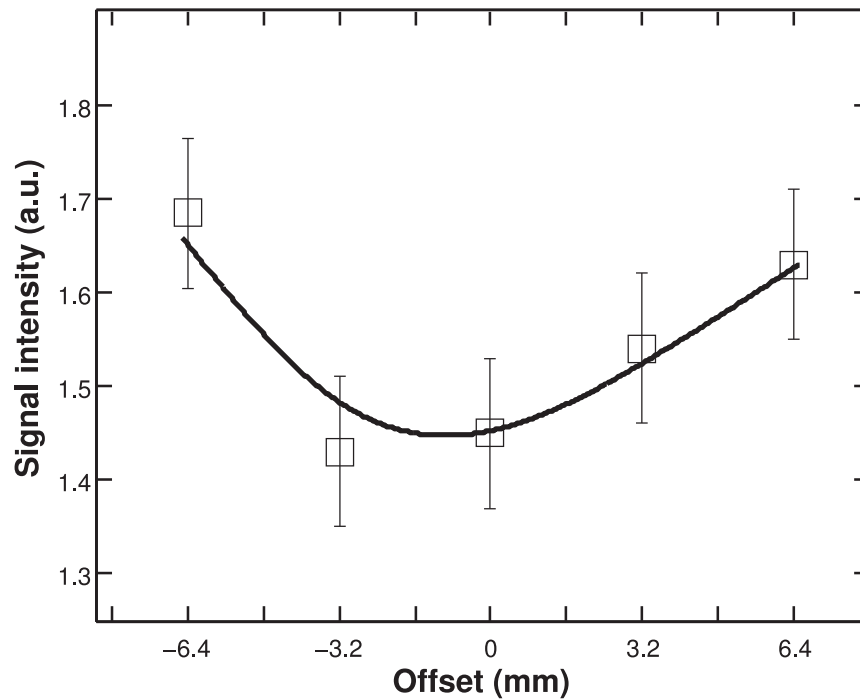


FIGURE 3.8: Variation de l'intensité du signal en fonction de la position des offsets.

(Fig. 3.8). Ces pourcentages ont été obtenus par rapport à la valeur au centre de l'aimant. Notons également que la barre d'erreur de la Fig. 3.8 a été évaluée à partir de la valeur maximale de la distribution des pixels du fond de l'image magnitude. Il en découle de ces résultats, que le champ  $B_1$  devient inhomogène à mesure que l'on s'éloigne du centre de l'aimant.

### 3.6 Cartographie du $T_2^*$

Comme il a été mentionné précédemment, la relaxation  $T_2^*$  traduit la décroissance de l'aimantation transverse provoquée par la relaxation spin-spin et les inhomogénéités du champ magnétique local. Ces déphasages ( $\Delta\varphi = 2\pi\gamma\Delta BT_E$ ) supplémentaires proviennent des inhomogénéités du champ magnétique principal, des différences de SM entre les différents tissus, des déplacements chimiques et des gradients appliqués pour le codage spatial. Une forte pondération  $T_2^*$  est obtenue pour un  $\theta$  faible, un temps d'écho long et aussi un temps de répétition long. En effet, un faible angle de bascule réduit l'effet  $T_1$ . Plus le temps d'écho est long plus la perte de cohérence des spins est importante, par conséquent la perte du signal est plus accrue. Un temps de répétition élevé minimise également l'effet  $T_1$ . La notion de petit angle de bascule mérite d'être commentée. Il est généralement admis que la qualification d'angle petit vérifie la condition :  $\theta^2 < 2T_R/T_1$  [62].

Connaitre la distribution des  $T_2^*$  est une information utile dans la mesure où elle nous permettra d'évaluer l'influence de la pondération  $T_2^*$  résiduelle, notamment pour les images acquises à  $\theta$  faible. Afin de calculer la cartographie  $T_2^*$ , nous avons eu recours au rapport des signaux de l'équation de la FLASH pour deux valeurs de temps d'écho ( $T_{E1} = 5 \text{ ms}$  et  $T_{E2} = 15 \text{ ms}$ ). Ainsi, la carte  $T_2^*$  a été calculée voxel-par-voxel via la relation :  $T_2^* = (T_{E2} - T_{E1})/\log(S_1/S_2)$ . Les images acquises à  $T_{E1}$  et à  $T_{E2}$  ainsi que la cartographie  $T_2^*$  sont montrés sur la Fig. 3.9.

L'hyposignal détecté au niveau de la loge carpéllaire haute, est un artéfact probablement provoqué par le fait que le fruit a bougé sur le support. Les pixels bleus (Not a Number) visibles sur l'image de la cartographie  $T_2^*$ , caractérisent les zones où le rapport SB est tellement faible que le calcul donne des valeurs aberrantes. À partir de la carte  $T_2^*$ , nous avons estimé une valeur moyenne de  $61.22 \pm 5.7 \text{ ms}$ . Comme le montre clairement la Fig. 3.9, l'allongement du temps d'écho accroît la pondération  $T_2^*$ . Cette chute de l'intensité du signal s'explique par déphasage supplémentaire des protons en présence du gradient de lecture (d'amplitude  $G_x = 10 \text{ mT/m}$  et de durée  $= 2 \text{ ms}$ ) mais probablement aussi par la présence des interfaces air-tissus (zones caractérisées par des différences de SM). Ceci est d'autant plus vrai pour un champ  $B_0 = 4.7 \text{ T}$  ( $\text{SM} \simeq B_0^2$ ). La carte  $T_2^*$  nous informe que ces inhomogénéités sont significatives au niveau des columelles, placenta et les graines. Une étude intéressante menée par [58], dans laquelle les auteurs montrent une très forte concentration de bulles d'air au niveau des tissus des columelles et du placenta. À ce stade de la dis-

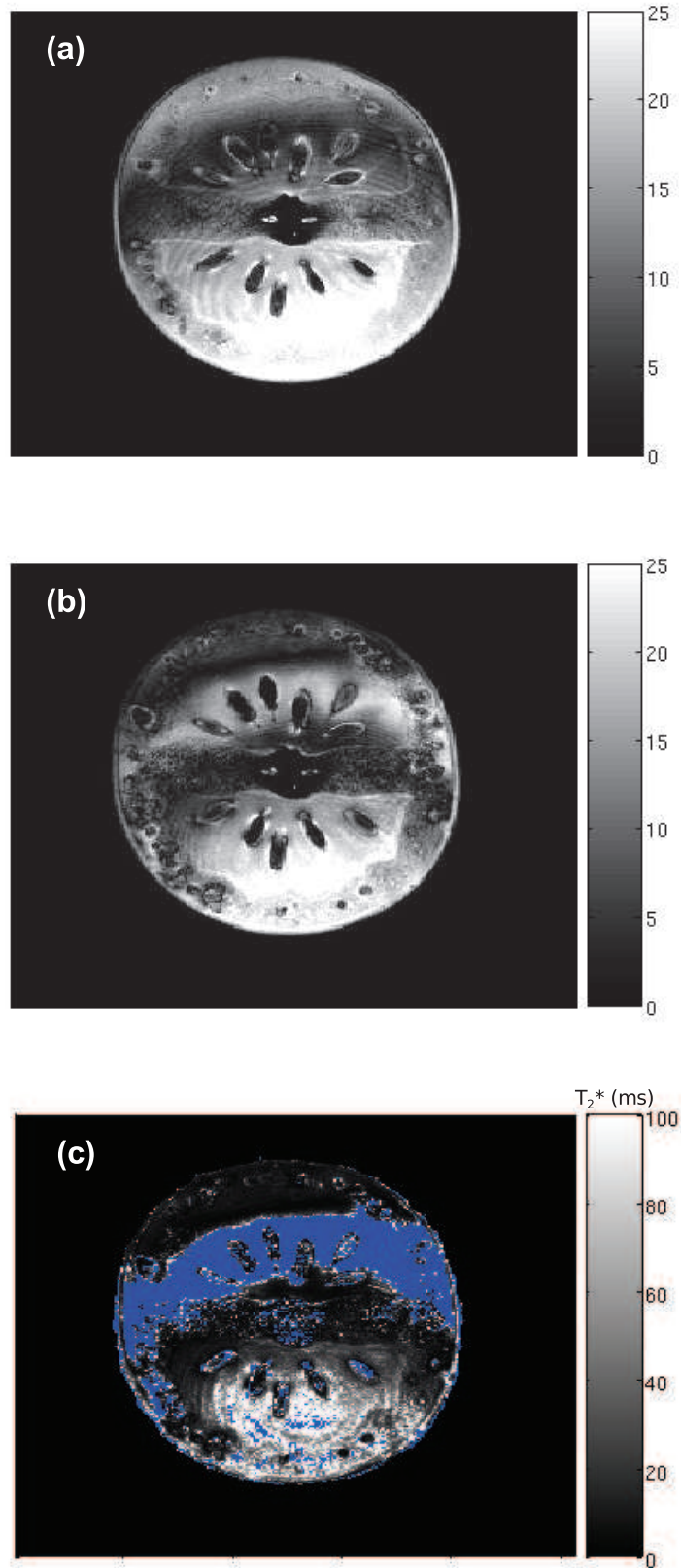


FIGURE 3.9: (a) image enregistrée à  $T_{E1} = 5 \text{ ms}$ . (b) image enregistrée à  $T_{E2} = 15 \text{ ms}$ . (c) carte  $T_2^*$ . Les autres paramètres de la séquence sont :  $\theta = 30^\circ$ ,  $T_R = 500 \text{ ms}$ .

cussion il s'avère difficile de séparer les contributions du gradient de lecture et de la SM à la décroissance du  $T_2^*$ . Il faut noter que l'imagerie de SM n'est pas simplement une approche d'imagerie  $T_2^*$  pondérée, elle consiste à utiliser à la fois l'information sur la magnitude et la phase du signal.

### 3.7 Validation de la séquence FLASH : Application sur fantôme

Avant d'appliquer l'Eq. (4.7) pour calculer les variations du  $T_1$  par imagerie et suivre ainsi le transport et la bio-distribution *in vivo* de l'agent de contraste dans le fruit. Nous avons évalué et validé cette quantification du  $T_1$ , via l'Eq. (4.7), sur un fantôme formé d'une batterie de tubes (cinq tubes) remplis avec l'agent de contraste  $Gd^{3+}/[Fe(CN)_6]^{3-}$  Mannitol à différentes concentrations. Cette gamme de concentrations en agent de contraste a été choisie de telle sorte à couvrir tout les  $T_1$  possibles de la tomate cerise. Pour les tissus des plantes la gamme de variation des  $T_1$  est très versatile, en moyenne elle peut s'étendre de 200 à 1500 ms [19]. Notre approche consistait à établir une analyse comparative entre les valeurs de  $T_1$  mesurées au moyen de la séquence *inversion-récupération* (Fig. 3.10), ces mesures sont prises comme référence, et les valeurs du  $T_1$  calculées par le biais de l'Eq. (4.7).

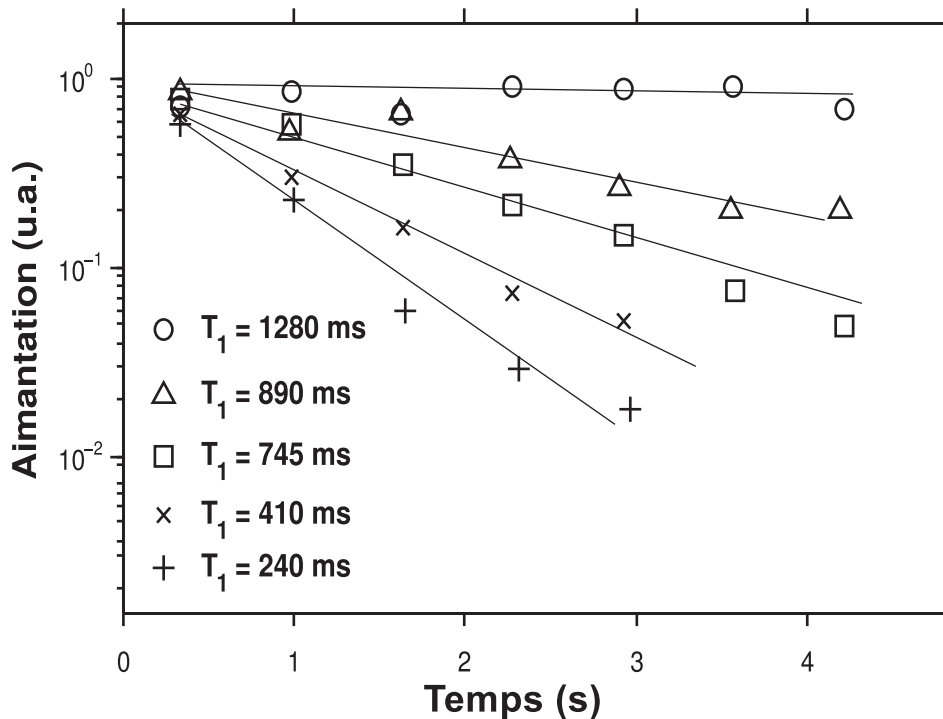


FIGURE 3.10:  $T_1$  mesurés par la séquence *inversion-récupération* pour les cinq tubes à différentes concentrations en agents de contraste et évolution de l'aimantation en  $\log(1 - \frac{M}{M_0}) - \log(2)$  en fonction du temps de récupération. La gamme de concentrations est de : + : 1 mM,  $\times$  : 0.25 mM,  $\square$  : 0.1 mM,  $\Delta$  : 0.08 mM et O : 0.05 mM.

Nous avons réalisé une série d'images (dix-huit images) sur fantôme pour différentes valeurs de  $\theta$ . La Fig. 3.11 illustre deux images qui ont été acquises avec des angles de bascule  $\theta_1 = 12^\circ$  et  $\theta_2 = 58^\circ$ . Chaque numéro figurant sur l'image est associé à une concentration de l'agent de contraste. Le contraste existant entre les différents tubes, pour  $\theta_1 = 12^\circ$ , est certainement engendré par une pondération  $T_2^*$  résiduelle.

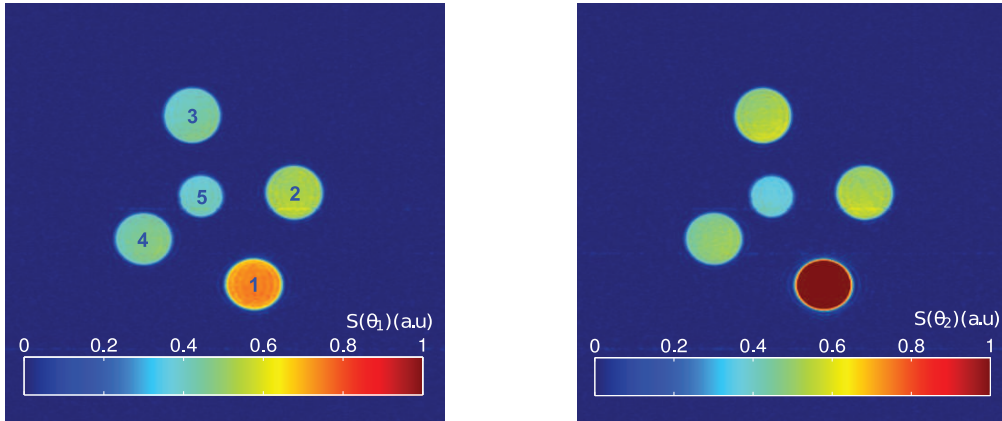


FIGURE 3.11: Principe de mesure du  $T_1$  par imagerie RMN sur fantôme. À gauche l'image pondérée  $M_0$  ( $\theta_1 = 12^\circ$ ) et à droite celle pondérée  $T_1$  ( $\theta_2 = 58^\circ$ )

Comme le montre la Fig. 3.12, nous remarquons un bon accord entre les  $T_1$  de référence et ceux calculés par imagerie. Néanmoins, une variation de 20 % a été constatée pour la  $T_1$  (tube 5) le plus long. Ceci s'explique par le faible rapport SB enregistré pour ce tube, car on sait pertinemment qu'une légère diminution de ce rapport affecte beaucoup plus les  $T_1$  longs que les  $T_1$  courts. Toutefois, cette valeur de  $T_1$  n'est pas incluse dans la gamme des  $T_1$  affectés par l'agent de contraste, comme on pourra le voir au chapitre 4.



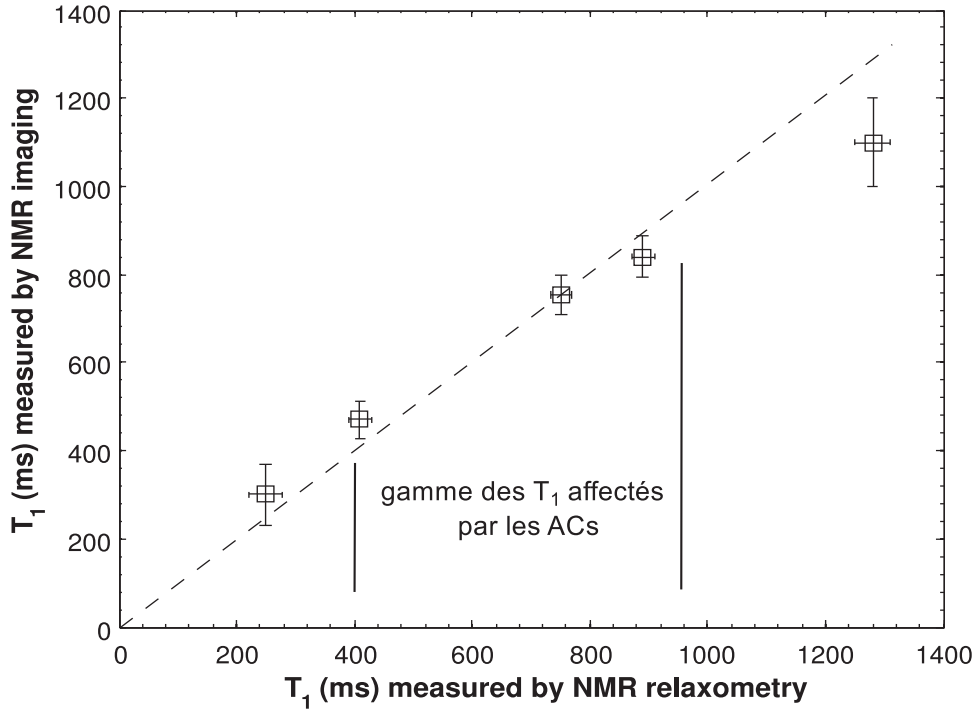


FIGURE 3.12: Comparaison des valeurs de  $T_1$  mesurés par la séquence *inversion-récupération* ( $T_1$  de références) et ceux mesurés par imagerie. La ligne en pointillés représente le cas idéal.

### 3.8 Optimisation de $\theta_1$ et $\theta_2$

Dans le quatrième chapitre, afin de mettre en évidence des différences dans les caractéristiques morphologique et physiologique des tissus biologiques, nous nous baserons sur l'évaluation quantitative *in vivo* des variations du  $T_1$ . Ce temps de relaxation sera quantifié par le biais de l'Eq. (3.6) pour deux angles de bascule ( $\theta_1$  et  $\theta_2$ ) différents. Il en découle que la précision sur le calcul du  $T_1$  dépendra fortement des valeurs des angles  $\theta_1$  et  $\theta_2$ , nous avons ainsi jugé important d'optimiser ce couple d'angle. Le principe de cette opération d'optimisation porte sur la minimisation des erreurs entre les  $T_1$  mesurés pour chaque tube du fantôme et les  $T_1$  simulés (pour plus de détails, le programme informatique est disponible dans l'annexe C). Les résultats de la simulation sont présentés sur les Figs. 3.13 et 3.14. L'angle optimal  $\theta_1$  se situe dans une gamme très étroite, entre  $6^\circ$  et  $8^\circ$ . Nous observons clairement qu'au-delà de  $8^\circ$ , une faible variation de  $\theta_1$  engendre un accroissement important de l'erreur sur le  $T_1$ . L'allure de l'erreur sur le  $T_1$  en fonction de  $\theta_2$  est différente, ainsi l'angle optimal  $\theta_2$  se déplace vers les grands angles et l'erreur diminue de façon exponentielle. Ces résultats corroborent ceux obtenus dans la section 3.5. Il ressort de cette simulation que le couple d'angles de bascule optimal respectivement, pour les petits et grands angles sont de :  $\theta_{1,opti} = 8^\circ$  et  $\theta_{2,opti} = 60^\circ$ .

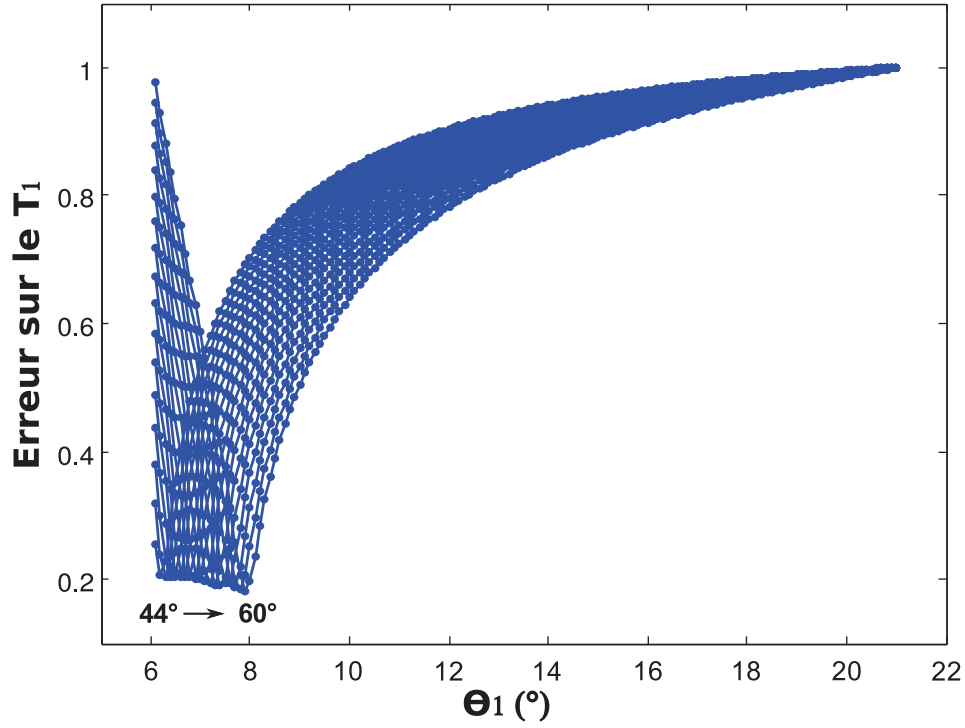


FIGURE 3.13: Évaluation (échelle normalisée) de l'angle de bascule optimal  $\theta_1$ . Les différentes courbes ont été tracées pour une gamme de  $\theta_2$  allant de  $44^\circ$  à  $60^\circ$ .

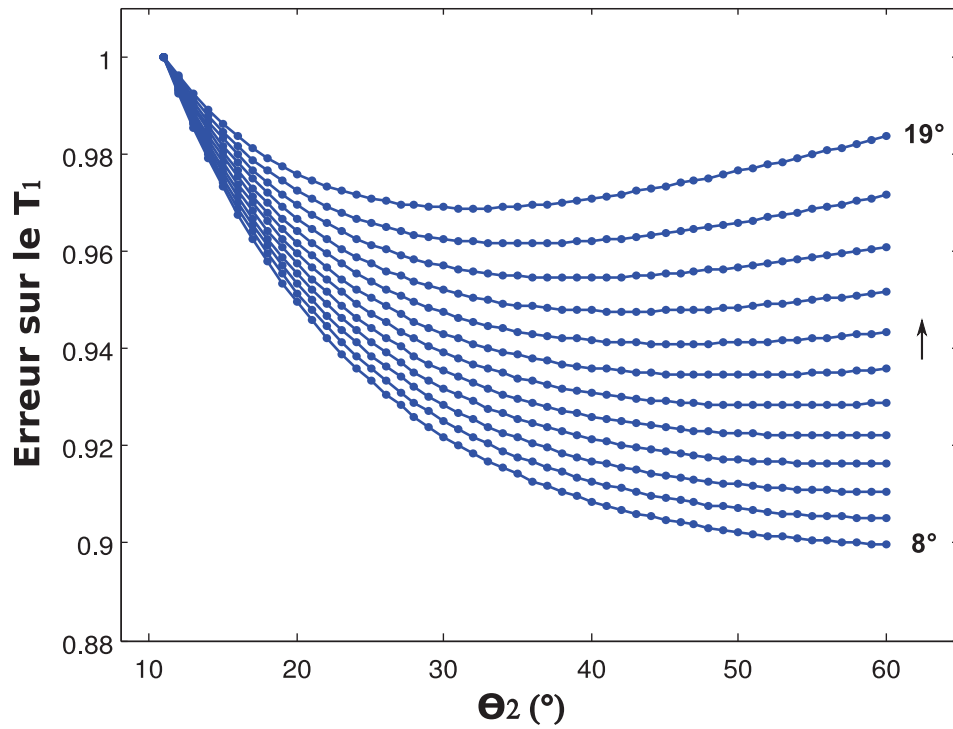


FIGURE 3.14: Évaluation (échelle normalisée) de l'angle de bascule optimal  $\theta_2$ . Les différentes courbes ont été tracées pour une gamme de  $\theta_1$  allant de  $8^\circ$  à  $19^\circ$ .

### 3.9 Conclusion

Dans ce chapitre nous avons décrit en détail les caractéristiques principales de la séquence FLASH. Nous avons pu analyser l'origine de son signal et étudier les différents paramètres qui impactent directement le contraste tissulaire. Nous avons vu que pour ce type de séquence d'imagerie le signal atteint son optimum si l'angle *Ernst* est employé comme pulse d'excitation. Cet angle assure un rapport SB maximal pour le temps de répétition considéré. Néanmoins comme nous l'avons démontré dans ce chapitre, cet angle ne garantit pas nécessairement un contraste maximum entre les différentes structures tissulaires. Comparativement aux séquences conventionnelles, le contraste de la séquence FLASH dépend à la fois du temps de répétition et de l'angle du pulse d'excitation si l'on décide de minimiser l'effet  $T_2^*$ . Il en découle que l'optimisation du contraste est une opération décisive pour avoir des images les plus informatives possibles et conduire ainsi l'étape d'interprétation dans de bonnes conditions. L'étude de validation menée sur fantôme était nécessaire afin de vérifier la précision du calcul du  $T_1$  par imagerie. Les résultats ont révélé un bon accord entre les valeurs de références et celles calculées par imagerie. Nous avons mis en avant que l'atout majeur d'une telle séquence est la réduction du temps d'acquisition des images. C'est une condition fondamentale pour atteindre des résolutions temporelles suffisante afin de suivre les modifications physiologiques liées au mouvement de l'eau dans les tissus des végétaux. Nous avons souligné également que les images acquises à l'aide des séquences d'écho de gradient doivent être interprétées avec une attention particulière en tenant compte des effets d'artefacts de SM et des inhomogénéités du champ magnétique statique. Ces effets apparaissent notamment au niveau des interfaces air-eau. Ils ont été évalués via la détermination de la carte  $T_2^*$ . Dans ce chapitre, nous avons également quantifié les inhomogénéités des champs  $B_0$  et  $B_1$ . Les résultats ont mis en exergue le fait que nous avons travaillé dans un champ  $B_0$  homogène et dans un champ  $B_1$  homogène suivant le plan transverse et relativement inhomogène, selon l'axe longitudinal. Par ailleurs, une simulation des angles de bascule optimaux a été mise au point. À partir de cette simulation, nous avons observé une évolution différente de l'erreur sur le  $T_1$  pour les faibles et grandes valeurs de  $\theta$ . L'erreur sur le  $T_1$  est beaucoup plus sensible pour les petits angles de bascule.

# Applications en agronomie et modélisation compartimentale

## Sommaire

---

4.1	Matériels et méthodes . . . . .	84
4.1.1	Caractérisation des distributions de $T_1$ et de $T_2$ . . . . .	84
4.1.2	Dispositif expérimental . . . . .	87
4.1.3	Calcul des cartographies $T_1$ et $M_0$ . . . . .	88
4.1.4	Cartographie des erreurs . . . . .	93
4.1.5	Estimation du bruit . . . . .	95
4.2	Résultats et discussion . . . . .	100
4.3	Étude du transport de l'agent de contraste . . . . .	108
4.4	Modélisation compartimentale . . . . .	110
4.5	Dépendance temporelle de la quantité d'eau . . . . .	115
4.6	Conclusion . . . . .	119

---

Si l'on considère exclusivement les tissus mous, la proportion d'eau dans le fruit de la tomate représente environ 90 à 95 % rapportée à la matière fraîche. Cette proportion varie en fonction du stade de développement du fruit. Il est évident de comprendre que la contribution majeure au signal IRM prend origine des protons de l'eau bien que d'autres protons de type lipidique et osidique peuvent faiblement participer au signal. L'activité cellulaire entraîne des variations de  $T_1$  et de  $T_2$  qui permettent à l'imagerie RMN d'avoir une dimension fonctionnelle. Ces variations des temps de relaxation sont la conséquence des modifications de structure et des propriétés physico-chimiques de l'eau libre et de l'eau liée. Dans l'eau pure, le  $T_1$  et le  $T_2$  sont de l'ordre de grandeur de la seconde, dans les tissus ils diminuent, mais le  $T_2$  décroît beaucoup plus que le  $T_1$  (voir annexe E). Il est bien connu que dans les tissus biologiques et pour une même proportion d'eau libre, le  $T_2$  peut être dix fois plus petit que le  $T_1$  [11].

Tandis que les intensités relatives du contraste des structures tissulaires dépendent de type de la séquence choisie, les paramètres intrinsèques ( $T_1$ ,  $T_2$  et  $M_0$ ) mesurés traduisent les caractéristiques physiques des tissus et sont donc indépendants des paramètres de la séquence d'imagerie. En réalité, ils dépendent de la composition chimique des tissus, des structures microscopiques et tissulaires et sont pour cette raison autant de moyens pour l'expérimentateur afin de caractériser les matériaux végétaux. Plus précisément, le paramètre densité de proton (nombre de proton contenu dans un voxel) est uniquement sensible à la composition chimique, par contre les autres paramètres ( $T_1$  et  $T_2$  ou  $T_2^*$ ) sont sensibles à la fois à la composition chimique et à la structure des tissus biologiques. C'est pourquoi nous avons eu recours systématiquement à la mesure de ces paramètres naturels afin d'en extraire des informations physiologique et structurelle. À cet effet, notre choix s'est porté sur l'étude de la modification de  $T_1$  et de  $M_0$  des tissus sur un modèle agronomique. Notons toutefois, que les  $T_1$ ,  $T_2$  et  $M_0$  sont dépendants de l'intensité du champ magnétique statique  $B_0$ . Dans ce chapitre, une approche robuste et précise du calcul des cartographies  $T_1$  et  $M_0$  basée sur une analyse voxel-par-voxel est présentée. Nous avons également mis en œuvre, une procédure d'évaluation des incertitudes sur les paramètres  $T_1$  et  $M_0$  associées à chaque voxel des images quantitatives. Une méthode de segmentation a été développée afin de localiser les tissus où un rehaussement de l'intensité du signal a été détecté. Sur la base de cette segmentation, les caractéristiques physiologiques de la tomate cerise verte ont été examinées par l'étude du transport du  $Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/Mannitol$ , utilisé comme agent de contraste, dans le fruit. Ces nanoparticules paramagnétiques ont été utilisées pour tracer les flux hydriques qui arrivent dans le fruit pendant sa croissance *in vitro*. L'étude cinétique a été suivie par la mise en œuvre d'une modélisation compartimentale.

## 4.1 Matériels et méthodes

### 4.1.1 Caractérisation des distributions de $T_1$ et de $T_2$

Avant d'entreprendre l'étude par imagerie, une compréhension et une connaissance a priori des  $T_1$  et  $T_2$  est un élément indispensable pour maximiser le contraste entre les divers tissus de l'échantillon soumis à l'étude. Il est bien connu que ces temps de relaxation sont fortement dépendant de l'état physico-chimique de l'eau (sa teneur, sa mobilité et son interaction avec les macromolécules) et à la microstructure (la forme, la porosité, la taille, l'épaisseur et la nature des cellules) des tissus biologiques [63][64]. Il est clair que toutes ces hétérogénéités de composition et de structure impliquent des distributions de  $T_1$  et de  $T_2$ . Par ailleurs, des informations quantitatives sur les compartiments sub-cellulaires par l'intermédiaire de ces temps de relaxation peuvent être particulièrement utiles pour étudier les différents processus physiologiques se produisant dans ces tissus, comme par exemple : la maturation, la déshydratation osmotique et le stress hydrique [65]. Il convient de rappeler que le taux d'échange entre les compartiments est contrôlé par la perméabilité des membranes les séparant et/ou par la diffusion par laquelle les

molécules d'eau atteignent les parois membranaires (voir Fig. 3). Comparativement au  $T_1$ , il a été mis en avant que les mesures du  $T_2$  fournissent des informations plus détaillées sur la répartition et le transport des molécules d'eau à des niveaux sub-cellulaires dans les tissus végétaux [66]. C'est dans cette optique et compte tenu de ce qui a été rapporté dans cette section, nous avons initialement commencé par déterminer les distributions de  $T_1$  et de  $T_2$  du fruit de la tomate cerise verte. Ces distributions ont été obtenues par le calcul de la transformée de *Laplace*, suivant :

$$M = \int_0^u \rho(u) \times e^{-t/u} du \quad (4.1)$$

Avec  $\rho(u)$ , une distribution *Gaussienne* multi-modale :

$$\rho(u; M_0^i, T_2^i, \sigma_i) = \sum_i^n M_0^i \times e^{-\frac{(u - T_2^i)^2}{2\sigma_i^2}} \quad (4.2)$$

Les paramètres d'ajustement sont :  $M_0^i$ ,  $T_2^i$  et  $\sigma_i$ .  $n$ , étant le nombre de compartiment d'eau. La même approche a été adoptée pour calculer la distribution de  $T_1$  :

$$M = \int_0^u \rho(u) \times (1 - 2 \times e^{-t/u}) du \quad (4.3)$$

Soulignons en outre, que la minimisation de l'erreur quadratique  $\chi^2$  est le critère considéré afin de fixer le nombre de terme de  $\rho(u)$  pour décrire les courbes de relaxation. Généralement, les distributions *Gaussienne*, *Lorentzienne* et *exponentielle étirée* sont les plus largement utilisées pour décrire la relaxation des protons des tissus biologiques. Nous avons testé les trois fonctions. La *Gaussienne* s'est révélée la plus représentative (meilleur ajustement) des données expérimentales. Les transformées de *Laplace* (Eqs. (4.1) et (4.3)) ont été résolues numériquement au moyen de l'Algorithme d'ajustement non-linéaire de *Levenberg-Marquardt*.

À partir des distributions de  $T_1$  et de  $T_2$  (Figs. 4.2 et 4.1), on remarque que le rapport  $T_1/T_2$  est systématiquement supérieur à l'unité. Ce résultat est en adéquation avec la nature de ces tissus (tissus mous). Les temps de relaxation moyens sont de :  $T_2^a = 88 \text{ ms}$ ,  $T_2^b = 360 \text{ ms}$ ,  $T_2^c = 1518 \text{ ms}$  et  $T_1 = 1530 \text{ ms}$ . Les écart-types des populations de proton (a), (b) et (c) du  $T_2$  sont respectivement, de 124, 13 et 128 *ms*. Il en découle que la gamme des  $T_2$  des tissus de la tomate, à son stade de développement, se répartissent en moyenne entre 88 et 1518 *ms*. À partir de la distribution des  $T_2$ , les intensités relatives (proportion des densités protoniques) sont de : 16.30 %, 4.60 % et 79.10 % respectivement, pour les  $T_2^a$ ,  $T_2^b$  et  $T_2^c$ . Ces intensités ont été estimées en calculant l'intégrale (la surface) de chaque population de  $T_2$ . Très souvent dans la littérature [67][68][69], on attribue

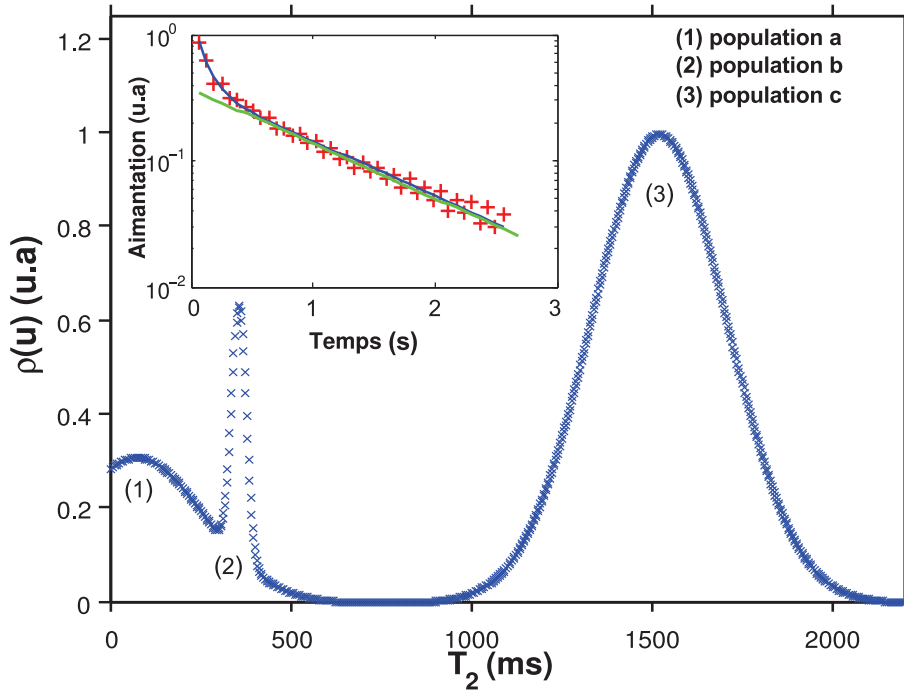


FIGURE 4.1: Distribution de  $T_2$  dans la tomate cerise. Inset : aimantation en  $\log(\frac{M}{M_0})$  en fonction du temps de destruction de l'aimantation transversale.

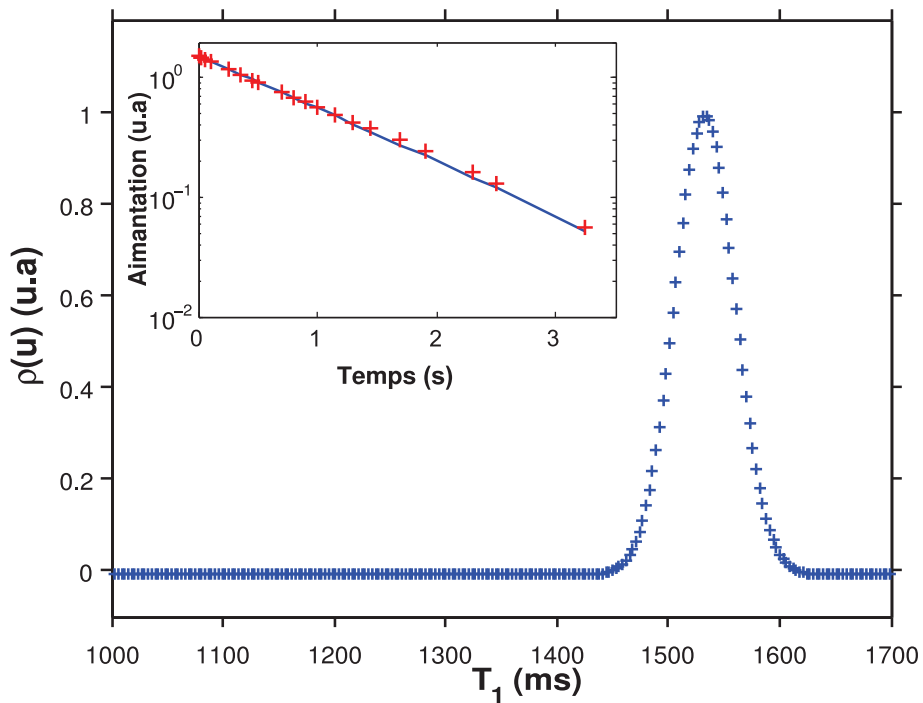


FIGURE 4.2: Distribution de  $T_1$  dans la tomate cerise. Inset : aimantation en  $\log(1 - \frac{M}{M_0}) - \log(2)$  en fonction du temps de récupération de l'aimantation longitudinale.

ces distributions multi-modales aux compartiments sub-cellulaires (voir Fig. 1) de la cellule végétale. Le  $T_2^c = 1518$  et le  $T_1 = 1530$  ms enregistrés sont ainsi affectés à la vacuole. Les  $T_1$ ,  $T_2$  et l'intensité relative (79.10 %) obtenus dans ce compartiment sub-cellulaire sont en adéquation avec la teneur en eau libre naturellement présente dans la vacuole. Ce constituant cellulaire est le compartiment le plus riche en eau libre (voir Fig. 1). La quantité d'eau dans la vacuole croît en fonction de l'âge de la cellule. Elle a un rôle de maintien de l'équilibre de l'eau et de la forme de la cellule [9]. Ces caractéristiques sont communes à toutes les structures cellulaires de la matière végétale. La population de  $T_2$  ayant pour valeur moyenne,  $T_2^b = 360$  ms, est associée au compartiment cytoplasmique. Les  $T_2$  enregistrés pour ce compartiment sont en accord avec son aspect gélatineux (ses protons présentent une mobilité intermédiaire entre les protons de la vacuole et ceux fortement liés aux macromolécules). En revanche, l'assignation du  $T_2^a = 88$  ms est moins évidente car divers constituants sub-cellulaires sont susceptibles de prétendre à une telle valeur de  $T_2$ . Selon ces auteurs [67], le  $T_2^a$  peut être attribué à la paroi cellulaire. La composition chimique des parois cellulaires est principalement polysaccharidique et protéique (protons fortement liés ce qui implique une mobilité très réduite) ce qui explique les faibles valeurs de  $T_2$  obtenues pour ce compartiment. Il a été démontré [68][69] que lorsque les cellules végétales sont soumises à un stress hydrique, la vacuole alimente les autres compartiments sub-cellulaires (cytoplasme, parois cellulaires et l'espace extra-cellulaire) assurant ainsi la résistance de la cellule.

La question légitime qu'on peut se poser, pourquoi la répartition des  $T_1$  est unimodale (un seul compartiment hydrique) contrairement à celle des  $T_2$  ?. La réponse à cette question, tient au fait que le  $T_1$  augmente avec la fréquence (en  $\omega_0^2$ ) donc il est sensible aux fluctuations rapide des mouvements moléculaires (translation et rotation) de l'eau alors que le  $T_2$  est sensible aux fluctuations rapides comme aux fluctuations lentes à cause du terme indépendant de  $\omega_0$  dans l'expression non simplifiée (Voir Eq. (E2), annexe E). Cette relaxation multi-exponentielle, fréquemment observée pour le  $T_2$ , dénote un échange de protons très limité. Ceci s'explique par une faible perméabilité membranaire ou bien par la fait que les dimensions physiques des compartiments sont grands par rapport à la distance pour laquelle les protons diffusent dans l'échelle du temps de la décroissance (à titre indicatif, en 50 ms le libre parcours moyen de la molécule d'eau est de 20  $\mu m$ ). À la lecture de la Fig. 4.1, on peut affirmer qu'on se trouve dans le cas où le temps de résidence dans chaque compartiment tend vers l'infini. Si on était en présence d'un échange rapide de protons, les temps de relaxation auraient été tirés vers les faibles valeurs (effet moyen) à cause des protons fortement liés [70].

### 4.1.2 Dispositif expérimental

Dans cette section, nous présenterons les conditions et le dispositif expérimental mis en place afin de suivre le transport et la bio-distribution des molécules d'eau dans le fruit de la tomate verte (*Solanum, lycopersicom*) en croissance *in vitro*. À cet



effet, l'agent de contraste  $Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/Mannitol$  est utilisé comme marqueur de cette mobilité. Les fruits détachés ont été fournis par l'INRA (Institut National de la Recherche Agronomique, France). Les tomates vertes en croissance étaient placées dans des conditions stériles, dans des tubes en verres remplis d'une solution nutritive MS (4.4 g/l de solution Murashing & Skoog (MS 5519, Sigma-Aldrich, Saint Louis,  $M_0$ ) et 60 g/l de saccharose) [71]. Le pédicelle du fruit a été maintenu dans le milieu de nutrition au cours des expériences. La hauteur totale du fruit + pédicelle était d'environ 4.4 cm (3 cm pour le pédicelle et 1.4 cm pour le fruit). La concentration de l'agent de contraste dans le récipient était de 10 mM. Une bobine en forme de cage d'oiseaux avec un diamètre intérieur de 3 cm est enroulée autour du tube contenant le fruit, transmet les impulsions RF d'excitation et reçoit le signal RMN. Des impulsions sinus-cardinal de durée de 2 ms ont été appliquées pour l'excitation sélective. Notons enfin, pour l'acquisition des images un cyclage de phase alternée a été utilisé sur les impulsions RF afin d'éviter les effets cumulatifs du pulse. Le cyclage de phase a été réalisé comme suit : 0(x) 1(y) 2(-x) 3(-y) pour le pulse d'excitation  $\theta$  et le même cyclage a été maintenu pour la réception des échos de gradient. Les angles de bascule  $\theta_1 = 8^\circ$  et  $\theta_2 = 60^\circ$  correspondent respectivement aux atténuations : 46 db et 31 db. Le système (tube + fruit) a été chargé dans l'aimant 4.7 T (200 MHz) (Fig. 4.3). La dynamique du traceur a été étudiée pendant une durée de cinq jours au moyen de la séquence d'imagerie FLASH. Les conditions de température à l'intérieur de l'aimant étaient de  $21 \pm 1$  °C durant la journée et de  $19 \pm 1$  °C durant la nuit.

Dans cette étude nous avons fait le choix d'exploiter l'effet  $T_1$  (rehaussement de l'intensité du signal) pour l'acquisition des images. Ce choix a été motivé d'une part, par le fait que l'effet  $T_2$  ou  $T_2^*$  peut être facilement confondu aux effets d'in-homogénéités de  $B_0$ , aux artefacts de susceptibilité magnétique et aux bruits de fond. Et d'autre part, pour des valeurs de relaxivités  $r_1$  et  $r_2$  très proches (ce qui est notre cas), la modification observée sur le signal et donc sur le contraste, sera plus importante en pondération  $T_1$  qu'en pondération  $T_2$ . L'agent de contraste utilisé est pourvu d'un effet  $T_1$  prépondérant ( $r_2/r_1 < 2$ ). En effet, dans l'objectif de maximiser cette exaltation du signal due aux agents de contraste, nous avons opté pour des acquisitions dynamiques avec une séquence d'imagerie FLASH fortement pondérée  $T_1$ . Les paramètres de la séquence utilisés sont : temps de répétition ( $T_R = 110$  ms), temps d'écho ( $T_E = 6$  ms) et l'angle de bascule de l'aimantation  $\theta_1 = 8^\circ$  pour l'image pondérée  $M_0$  et  $\theta_2 = 60^\circ$  pour l'image pondérée  $T_1$ . Nous tenons à préciser, entre autre, que dans toutes nos acquisitions, nous avons eu recours à l'utilisation d'un profil temporel pour les impulsions RF en *sinus cardinal*. La TF d'une telle fonction est une *fonction porte* et nous obtenons ainsi des coupes de profil rectangulaires.

### 4.1.3 Calcul des cartographies $T_1$ et $M_0$

Il a été mis en avant que les changements physiologiques associés aux transport de l'eau dans les plantes peuvent évoluer sur une échelle de temps de l'ordre d'une

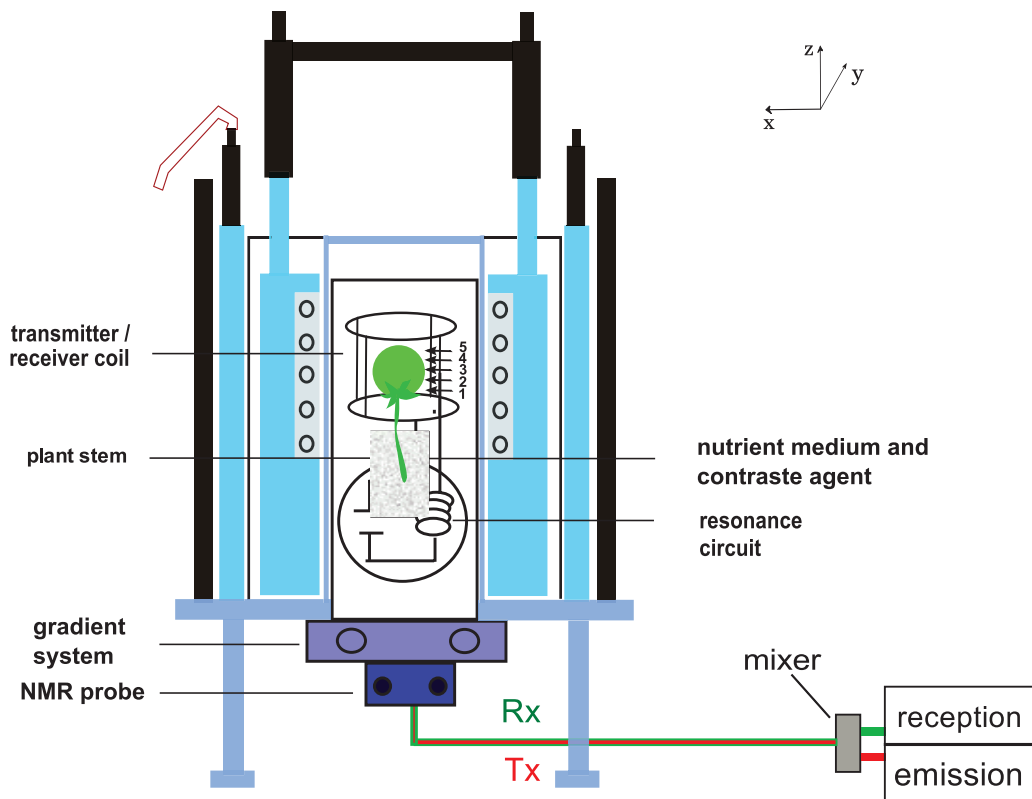


FIGURE 4.3: Illustration schématique de l'installation de l'imagerie RMN appliquée sur le modèle agronomique. La bobine  $RF$  est disposée autour du fruit.  $Tx$  et  $Rx$  symbolisent respectivement, la transmission des RF et la réception du signal RMN.

demi-heure [72][73]. Il en découle donc que toute étude des processus dynamiques des végétaux doit tenir compte de cette échelle du temps. En d'autres mots, disposé d'un moyen rapide de réalisation des expériences d'imagerie RMN est nécessaire pour étudier les modifications physiologiques qui s'opèrent dans ce type d'échantillon. Il est bien connu [74] que le rapport SB est proportionnel à l'intensité du champ magnétique ( $B_0$ ), au rayon de la bobine de réception ( $r^{-1}$ ), au volume de voxel ( $v$ ), au nombre d'accumulation ( $N^{1/2}$ ), à la largeur spectrale ( $\Delta f^{-1/2}$ ) et à un facteur dépendant de la géométrie de la bobine  $RF$ . Nous comprenons ainsi qu'il appartient à l'expérimentateur d'optimiser ces paramètres en fonction de l'information recherchée. Nous devons donc systématiquement essayer de trouver un compromis entre la résolution spatiale, la qualité du rapport SB et la durée d'acquisition des images. Tous les traitements des données présentés dans ce travail, ont été réalisés en utilisant le logiciel MATLAB (The MathWorks, Natick, MA). L'analyse quantitative est obtenue par l'application d'une série d'étapes de traitement. Au commencement, les données brutes (sous forme binaire) acquises par l'imageur IRM (Apollo Tecmag, 4.7 T) ont été respectivement traitées au moyen des opérations mathématiques suivantes : correction de la ligne de base des échos, apodisation, zero filling et transformée de *Fourier* 2D (voir l'annexe D, pour de ample détail). Ces pré-traitements mis au point visent à prévenir l'obtention d'images contenant des informations artéfactuelles. La Fig. 4.4 illustre les différentes étapes mises en œuvre afin d'isoler l'objet d'intérêt du fond de l'image. Toutes les images brutes ont subi les mêmes traitements mathématiques.

Une fois les images construites, les cartographies  $T_1$  ont été obtenues par l'Eq. (4.7) déterminée à partir de deux images acquises à différents angles de bascule,  $\theta_1 = 8^\circ$  pour la pondérée  $M_0$  ( $S_1$ ) et  $\theta_2 = 60^\circ$  pour la pondérée  $T_1$  ( $S_2$ ). Par la suite, les images  $T_1$  sont converties par un calcul voxel-par-voxel en cartes de concentration de l'agent de contraste par le biais de l'Eq. (4.10). Se servant de la séquence FLASH implémentée, cinq coupes transversales ont été acquises à différents offsets du fruit. Après la conversion fréquence-distance, les offsets étaient de : 1.1, 4.3, 7.5, 10.7 et 13.9 mm, par rapport à l'extrémité du fruit. Le gap entre les coupes était de 3,2 mm. Pour chaque offset, nous avons enregistré une image pondérée  $T_1$  suivie par une autre pondérée  $M_0$ . Nous avons fait l'acquisition de soixante images pour chaque coupe (trente images pondérée  $T_1$  et trente autres pondérées  $M_0$ , ce qui signifie un total de 300 images (5 coupes  $\times$  2 pondérations  $\times$  30 acquisition pour chaque pondération)) au cours de 112 hr d'expérimentation. Le calcul des images paramétriques  $T_1$  a été conduit sur la base de deux images  $S_1$  et  $S_2$ , selon :

$$S_2 = M_0 \times \frac{\left(1 - e^{\left(\frac{-T_R}{T_1}\right)}\right)}{1 - e^{\left(\frac{-T_R}{T_1}\right)} \cos \theta_2} \sin \theta_2 \times e^{\left(\frac{-T_E}{T_2^*}\right)} \quad (4.4)$$

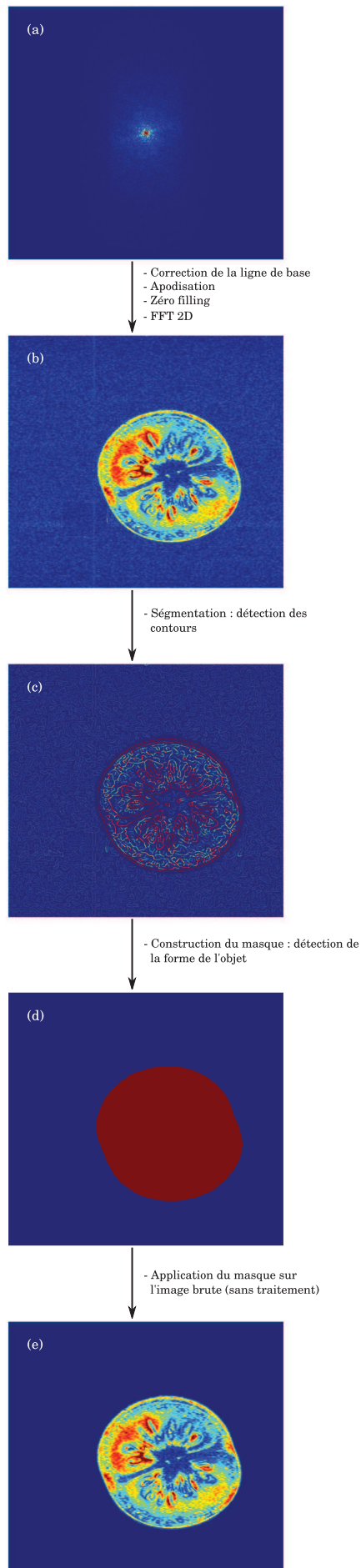


FIGURE 4.4: Les différentes étapes de traitement des images.

$$S_1 = M_0 \times \frac{\left(1 - e^{\left(\frac{-T_R}{T_1}\right)}\right)}{1 - e^{\left(\frac{-T_R}{T_1}\right)} \cos \theta_1} \sin \theta_1 \times e^{\left(\frac{-T_E}{T_2^*}\right)} \quad (4.5)$$

Les images  $S_1$  et  $S_2$  sont obtenues, respectivement, avec les paramètres suivants : ( $T_R = 110 \text{ ms}$ ,  $T_E = 6 \text{ ms}$  et  $\theta_1 = 8^\circ$ ) et ( $T_R = 110 \text{ ms}$ ,  $T_E = 6 \text{ ms}$  et  $\theta_2 = 60^\circ$ ). La taille des matrices  $256 \times 129$  ( $512 \times 512$  après zero filling). Le temps d'acquisition d'une image est de  $24 \text{ min}$ . Le rapport des équations des intensités du signal  $S_1$  et  $S_2$ , est donné par :

$$\frac{S_2}{S_1} = \frac{1 - e^{\left(\frac{-T_R}{T_1}\right)} \cos \theta_1}{1 - e^{\left(\frac{-T_R}{T_1}\right)} \cos \theta_2} \times \frac{\sin \theta_2}{\sin \theta_1} \quad (4.6)$$

À partir de l'Eq. (4.6), on tire le  $T_1$ . Ainsi, les images paramétriques  $T_1$  ont été calculées voxel-par-voxel, selon :

$$T_1 = \frac{-T_R}{\log \left( \frac{S_1 \sin \theta_2 - S_2 \sin \theta_1}{S_1 \cos \theta_1 \sin \theta_2 - S_2 \cos \theta_2 \sin \theta_1} \right)} \quad (4.7)$$

L'Eq. (4.7) a été résolue compte tenu de la contrainte suivante :

$$0 < \frac{S_1 \sin \theta_2 - S_2 \sin \theta_1}{S_1 \cos \theta_1 \sin \theta_2 - S_2 \cos \theta_2 \sin \theta_1} < 1 \quad (4.8)$$

Cette contrainte assure une mesure fiable et raisonnable de  $T_1$  en excluant des valeurs aberrantes, telles que les valeurs négatives et complexes. Les images densité de proton  $M_0$  sont calculées voxel-par-voxel, au moyen de la relation :

$$M_0 = S_2 \times \frac{1 - e^{\left(\frac{-T_R}{T_1}\right)} \cos \theta_2}{\left(1 - e^{\left(\frac{-T_R}{T_1}\right)}\right) \sin \theta_2} \quad (4.9)$$

Les cartographies  $M_0$  ont été calculées à partir des images  $S_2$ , car le rapport SB est meilleur que celui des images  $S_1$ . Compte tenu du temps d'écho court ( $TE = 6 \text{ ms}$ ) utilisé, l'effet de la relaxation  $T_2^*$  est fortement réduit dans cette étude (Fig. 4.21). La conversion voxel-par-voxel du temps de relaxation magnétique longitudinal à la concentration du traceur  $C(t)$ , est réalisée par [70] :

$$C(t) = \frac{1}{r_1} \left( \frac{1}{T_1(t)} - \frac{1}{T_1(0)} \right) \quad (4.10)$$

Nous précisons que le  $T_1(0)$  (sans agent de contraste) a été calculé sur les moyennes des distributions de  $S_1$  et  $S_2$  dans chaque tissu (voir Fig. 4.5). Les  $T_1(0)$

estimés étaient de 1055 *ms* pour les columelles (sur les quatre première images) et de 900 *ms* pour l'enveloppe des graines (première image).

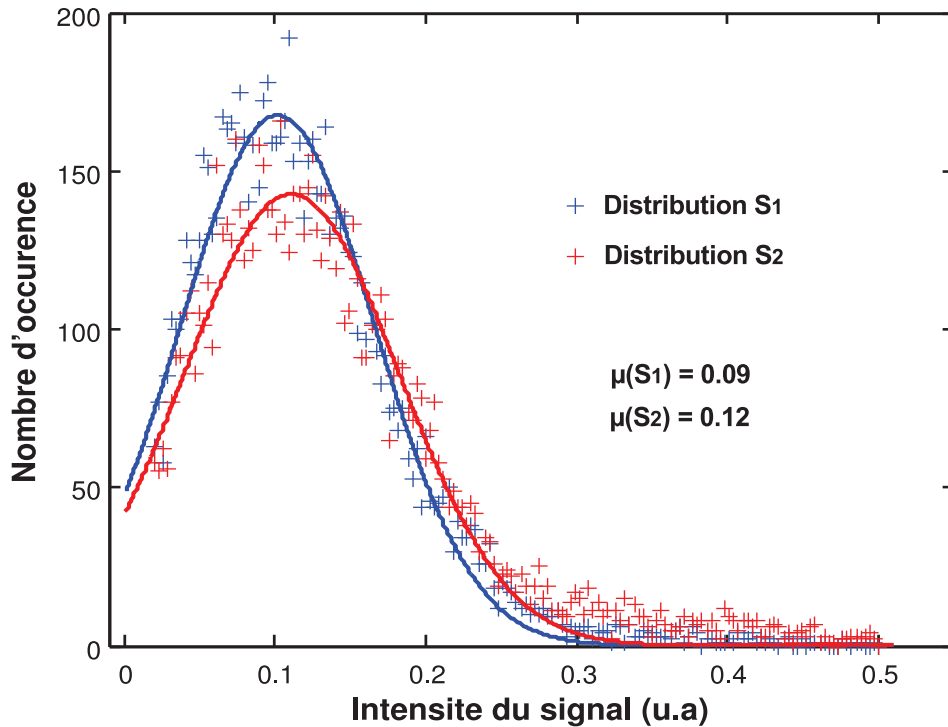


FIGURE 4.5: Estimation du  $T_1(0)$ .

#### 4.1.4 Cartographie des erreurs

La précision des méthodes de calcul dépend de l'amplitude des erreurs systématiques et aléatoires. Diverses sources d'erreurs dans les expériences d'imagerie RMN conduisent à la détérioration de la qualité des images et peuvent même fausser tous les calculs et donc l'interprétation des résultats. Le bruit peut être généré à l'intérieur de la bobine réceptrice et d'autres composants électroniques. Les non-linéarités des amplificateurs et des gradients de champ magnétique sont également des sources d'erreur inhérentes aux expérimentations pour ce type d'imagerie. Il est clair que les voxels présentant de faibles intensités des signaux (tissus à faible densité de proton et/ou caractérisés par un long  $T_1$ ) seront les plus affectés. Par conséquent, il est nécessaire d'utiliser une méthode robuste (sans approximations) pour quantifier et réduire autant que possible ces erreurs. Une procédure d'évaluation des incertitudes commises sur les paramètres  $T_1$  et  $M_0$  dans chaque voxel sur les images paramétriques a été mise au point en calculant la différentielle totale de  $T_1$  et de  $M_0$ . Le  $T_1$  qui s'exprime en fonction des variables  $S_1$  et  $S_2$ , son accroissement infinitésimal  $dT_1$  s'écrit sous la forme :

$$dT_1 = \frac{\partial T_1}{\partial S_1} dS_1 + \frac{\partial T_1}{\partial S_2} dS_2 \quad (4.11)$$

On cherche la différentielle totale qui s'écrit comme :

$$\frac{\Delta T_1}{T_1} = |\Psi_1| \frac{\Delta S_1}{S_1} + |\Psi_2| \frac{\Delta S_2}{S_2} \quad (4.12)$$

On calcul donc :

$$\Psi_1 = \frac{\partial T_1}{\partial S_1} \frac{S_1}{T_1} \quad \Psi_2 = \frac{\partial T_1}{\partial S_2} \frac{S_2}{T_1} \quad (4.13)$$

Le calcul de  $\Psi_1$  et de  $\Psi_2$  conduit aux expressions analytiques suivantes :

$$\begin{aligned} \Psi_1 = & \frac{(\sin \theta_1 \cos \theta_2 - \cos \theta_1 \sin \theta_1) \sin \theta_2 S_1 S_2}{(\sin^2 \theta_1 \cos \theta_2 S_2^2 + (-\sin \theta_1 \cos \theta_2 - \cos \theta_1 \sin \theta_1) \sin \theta_2 S_1 S_2 + \cos \theta_1 \sin^2 \theta_2 S_1^2)} \\ & \times \frac{1}{\log \left( \frac{S_1 \sin \theta_2 - S_2 \sin \theta_1}{S_1 \cos \theta_1 \sin \theta_2 - S_2 \cos \theta_2 \sin \theta_1} \right)} \end{aligned} \quad (4.14)$$

$$\begin{aligned} \Psi_2 = & - \frac{(\sin \theta_1 \cos \theta_2 - \cos \theta_1 \sin \theta_1) \sin \theta_2 S_1 S_2}{(\sin^2 \theta_1 \cos \theta_2 S_2^2 + (-\sin \theta_1 \cos \theta_2 - \cos \theta_1 \sin \theta_1) \sin \theta_2 S_1 S_2 + \cos \theta_1 \sin^2 \theta_2 S_1^2)} \\ & \times \frac{1}{\log \left( \frac{S_1 \sin \theta_2 - S_2 \sin \theta_1}{S_1 \cos \theta_1 \sin \theta_2 - S_2 \cos \theta_2 \sin \theta_1} \right)} \end{aligned} \quad (4.15)$$

Au signe près, nous avons  $\Psi = |\Psi_1| = |\Psi_2|$

$$\frac{\Delta T_1}{T_1} = \Psi \frac{\Delta S_1}{S_1} + \Psi \frac{\Delta S_2}{S_2} \quad (4.16)$$

La même méthode de calcul a été élaborée pour estimer l'erreur relative sur les cartographies  $M_0$ , selon :

$$\frac{\Delta M_0}{M_0} = \left| \frac{\partial M_0}{\partial S_2} \frac{S_2}{M_0} \right| \frac{\Delta S_2}{S_2} + \left| \frac{\partial M_0}{\partial T_1} \frac{T_1}{M_0} \right| \frac{\Delta T_1}{T_1} \quad (4.17)$$

Toutes ces expressions analytiques ont été calculées à l'aide du logiciel de calcul formel *Maxima 5.29.1*.

## 4.1.5 Estimation du bruit

### 4.1.5.1 Étude théorique et expérimentale

L'estimation du bruit en imagerie RMN s'impose comme une étape importante et incontournable, car elle est porteuse d'une information sur la qualité de la mesure. La valeur du bruit est très souvent utilisée comme paramètre d'entrée pour les différentes opérations de post-traitement effectuées sur les images et elle a aussi une influence sur le contraste et la résolution spatiale. De nombreuses méthodes ont été proposées dans la littérature pour l'estimation de niveau du bruit [76][77]. Il est bien connu [78] que les données brutes (valeurs complexes) du plan de *Fourier* sont normalement distribuées avec une moyenne nulle. Après la TF inverse (construction de l'image), le bruit sera toujours distribué selon une *loi Normale* pour les composantes réelle et imaginaire en raison de la linéarité et l'orthogonalité de la TF. En prenant la magnitude des données complexes, le bruit est réparti selon une distribution de *Rice* [78]. Dans cette partie, nous présenterons une méthode précise et fiable pour l'évaluation de niveau du bruit sur les images reconstruites à partir de la magnitude des signaux.

Dans cette section, nous examinerons les distributions théoriques du bruit dans les images construites à partir de la magnitude. Le signal est mesuré par une détection en quadrature qui fournit les composantes imaginaires et réelles. Le bruit dans chaque composante est distribué selon une *Gaussienne* avec moyenne nulle et ayant la même variance du bruit. Le bruit associé à la résistance de la bobine de réception est la contribution majeure qui influence le rapport SB dans les images réelles et imaginaires. Les images en magnitude sont construites à partir des images réelles et imaginaires par un calcul voxel-par-voxel. Il s'agit d'une cartographie non linéaire et donc la distribution du bruit n'est plus *Gaussienne*. Dans ce cas, le bruit se distribue selon une distribution de *Rice*. L'intensité des pixels de l'image en l'absence de bruit est désigné par  $A$  et l'intensité des pixels mesurés par  $m$ . La distribution de probabilité de *Rice* est donnée par :

$$d_m = \frac{m}{\sigma^2} \times e^{-\left(\frac{m+A}{\sqrt{2}\sigma}\right)^2} \times J_0\left(\frac{Am}{\sigma^2}\right) \quad (4.18)$$

où  $J_0$  est la fonction de Bessel d'ordre zéro de première espèce et  $\sigma$  désigne l'écart-type du bruit *Gaussien* dans les images réelles et imaginaires. Un cas particulier de la distribution de *Rice* est obtenue dans les régions de l'image, où seul le bruit est présent,  $A = 0$ . Dans ce cas nous avons une distribution de *Rayleigh* [77] et l'Eq. (4.18) se réduit à :

$$d_m = \frac{m}{\sigma^2} \times e^{-\left(\frac{m}{\sqrt{2}\sigma}\right)^2} \quad (4.19)$$



La variance du bruit à partir de l'image magnitude est évaluée en cherchant la valeur de  $m$  pour laquelle cette distribution atteint son maximum :

$$\frac{\partial d_m}{\partial m} = 0 \implies \left(1 - \frac{m^2}{\sigma^2}\right) = 0 \quad (4.20)$$

De ce fait, il est clair que l'estimation de l'écart type du bruit est simplement donnée par :

$$\sigma = m_{max} \quad (4.21)$$

Une autre limite intéressante de l'Eq. (4.18), se manifeste lorsque le rapport SB devient élevé :

$$d_m = \frac{1}{\sqrt{\sigma^2 2\pi}} \times e^{-\left(\frac{m - \sqrt{A^2 + \sigma^2}}{\sqrt{2}\sigma}\right)^2} \quad (4.22)$$

Cette équation montre que pour les régions d'image caractérisées par un rapport SB élevé, la répartition du bruit peut être considérée comme une distribution *Gaussienne* avec  $\sigma^2$  la variance et la moyenne  $\sqrt{A^2 + \sigma^2}$ . Cette tendance est parfaitement visible sur la Fig. 4.8.

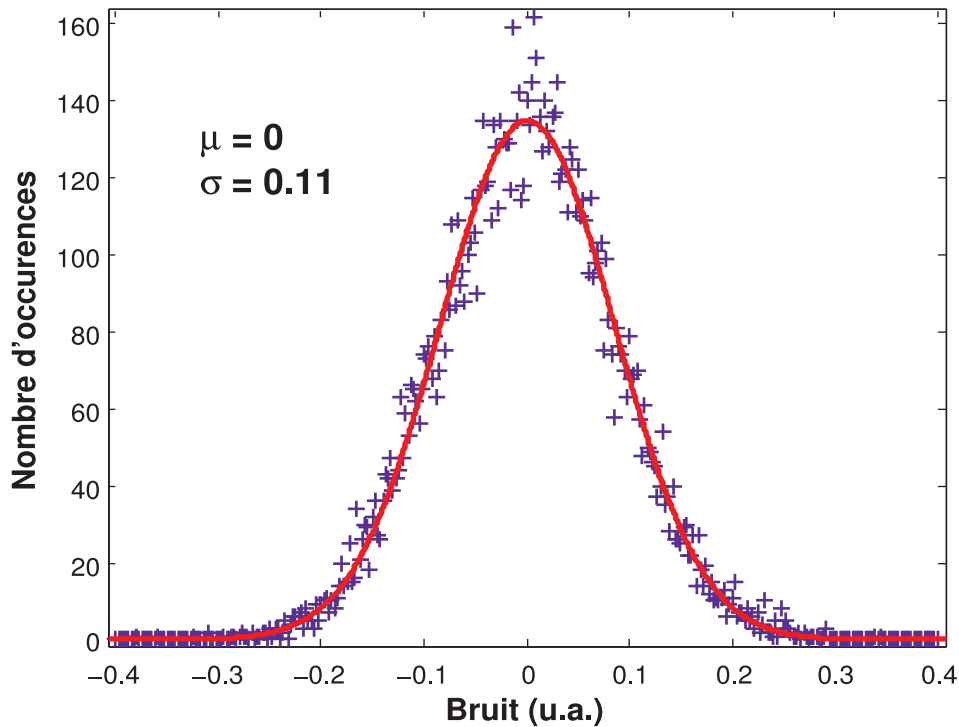


FIGURE 4.6: Distribution du bruit sur l'image de la composante réelle.

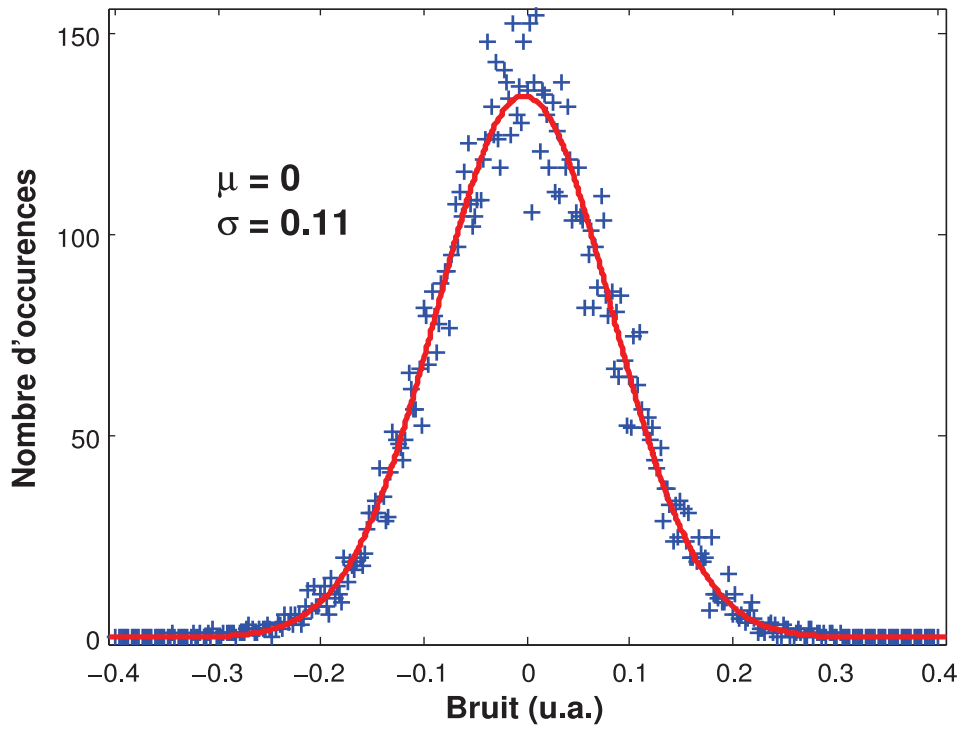


FIGURE 4.7: Distribution du bruit sur l'image de la composante imaginaire.

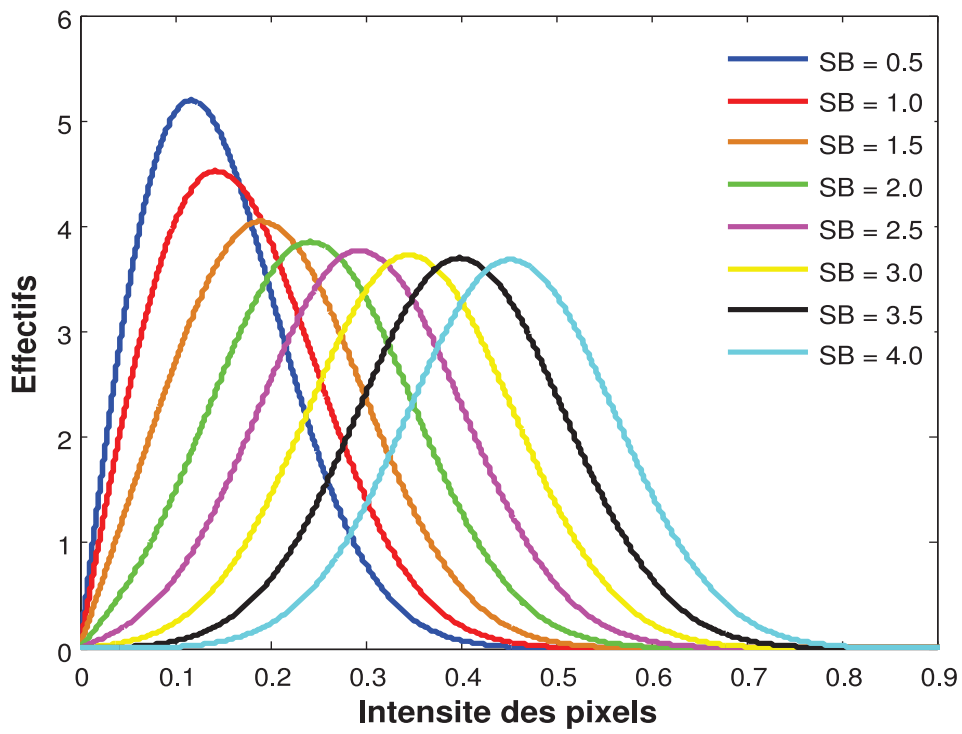


FIGURE 4.8: Allure de la distribution de *Rice* pour différentes valeurs du rapport SB.

Nous observons qu'au fur et à mesure que le rapport SB augmente, la distribution de *Rice* se symétrise. Ainsi, pour un rapport SB supérieur à 2, cette distribution suit la *loi Normale* (Fig. 4.8). Nous avons également mis en œuvre une étude par simulation pour déterminer la meilleure estimation du bruit. Pour cela nous sommes intéressés au calcul de l'écart-type, la moyenne et le mode de la distribution des pixels du fond de l'image magnitude pour différents niveaux du rapport SB.

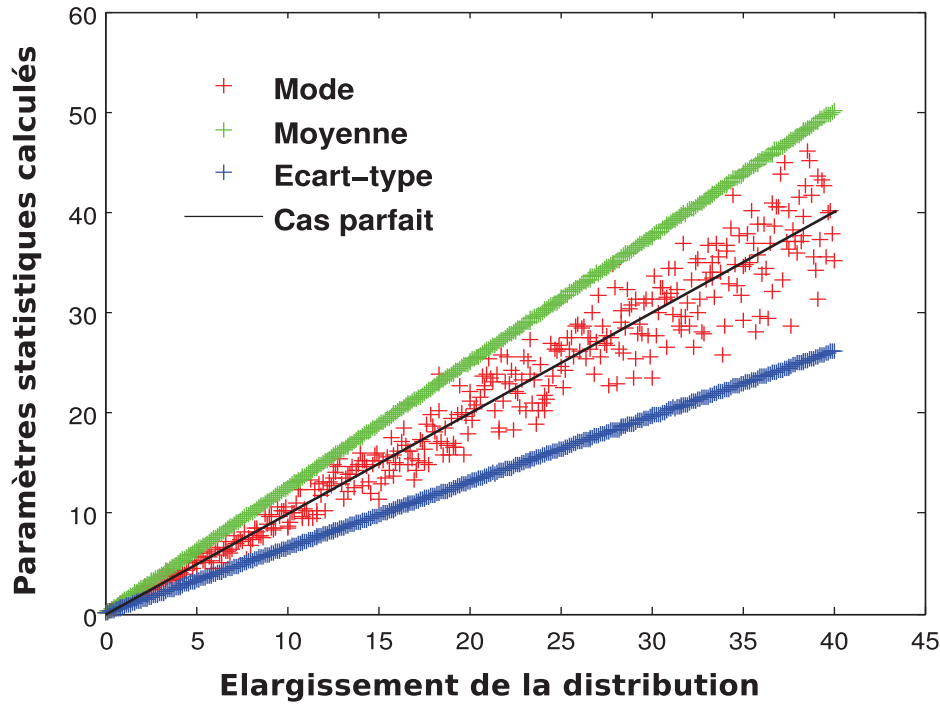


FIGURE 4.9: Effet du rapport SB sur l'estimation du bruit à partir des paramètres statistiques. Pour le cas  $SB = 0.5$ . L'axe des abscisses, représente l'élargissement des distributions des composantes réelle et imaginaire.

À partir des résultats obtenus, nous avons remarqué que pour un rapport SB qui tend vers zéro (premier cas limite, voir Fig. 4.9), la meilleure estimation du bruit serait la valeur de la magnitude correspondant au maximum (mode de l'histogramme) de la distribution. Pour un rapport SB qui tend vers l'infini (deuxième cas limite, voir Fig. 4.11), la meilleure estimation du bruit serait l'écart-type de la distribution. Pour le cas intermédiaire (voir Fig. 4.10), le bruit des distributions piquées est mieux estimé par l'écart-type et au fur et à mesure que ces distributions s'aplatissent, le mode devient la meilleure estimation du bruit.

En vertu de ce qui a été mis en avant dans cette section, les niveaux du bruit ( $\Delta S_1$  and  $\Delta S_2$ ) ont été estimés à partir du Mode de la distribution des intensités de pixels du fond de l'image magnitude (voir Fig. 4.12). Tous les pixels présentant une erreur relative supérieure à 15 % ont été éliminés et donc n'ont pas été inclus dans les calculs.

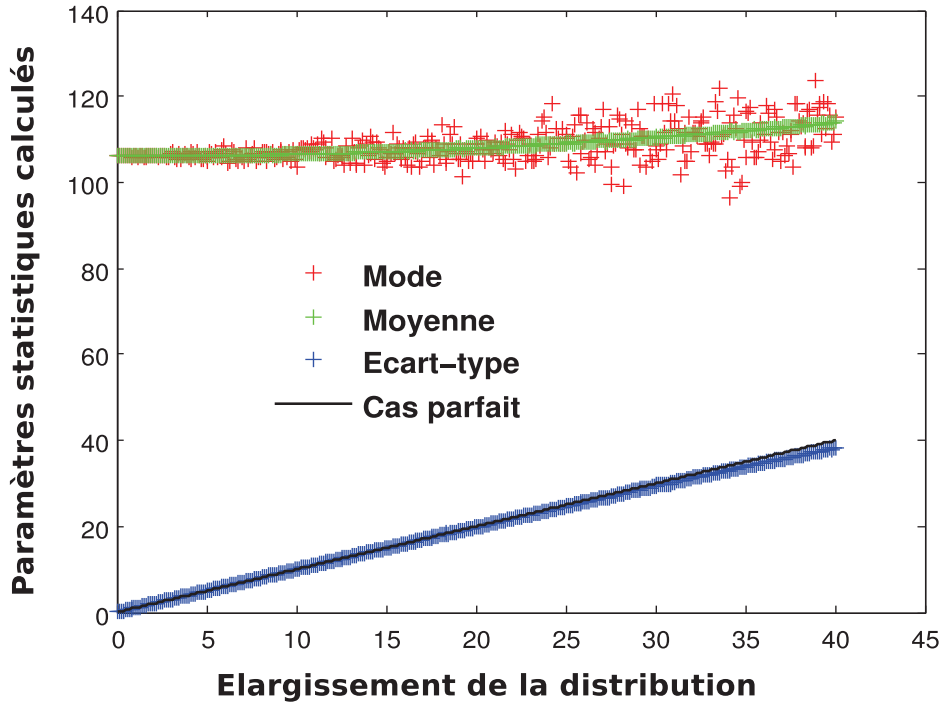


FIGURE 4.10: Effet du rapport SB sur l'estimation du bruit à partir des paramètres statistiques. Pour le cas  $SB = 4.0$ . L'axe des abscisses, représente l'élargissement des distributions des composantes réelle et imaginaire.

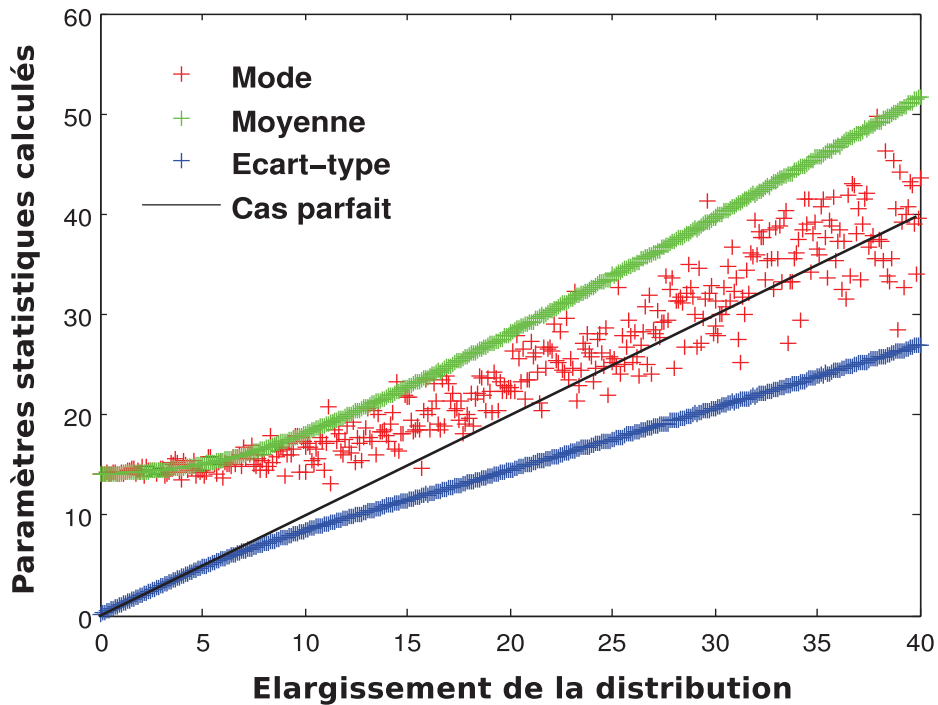


FIGURE 4.11: Effet du rapport SB sur l'estimation du bruit à partir des paramètres statistiques. Pour le cas  $SB = 2.0$ . L'axe des abscisses, représente l'élargissement des distributions des composantes réelle et imaginaire.

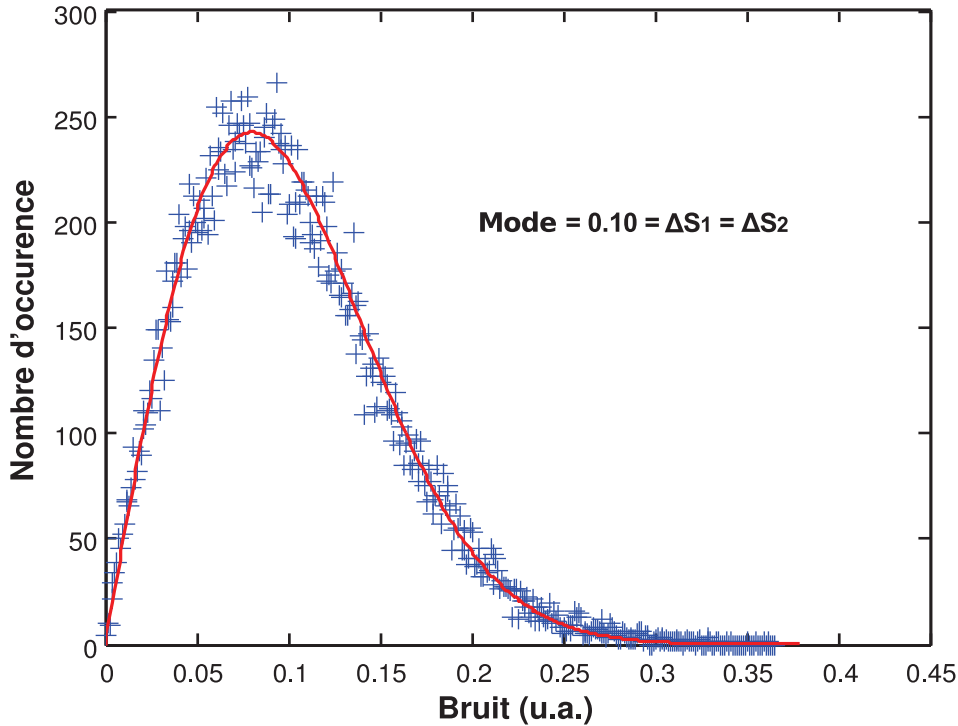


FIGURE 4.12: Estimation du bruit de l'image magnitude.

## 4.2 Résultats et discussion

Les Figs. 4.13, 4.14, 4.15 et 4.16 illustrent respectivement, les images pondérées  $T_1$  et  $M_0$  des coupes 1, 2, 3 et 4 obtenues à différents offsets (voir Fig. 4.3). La coupe 5 n'est pas montrée car aucune structure anatomique n'a été observée à cette hauteur. Les Figs. 4.18 et 4.19 montrent les séquences dynamiques d'images respectivement, pour les coupes 2 et 3. Toutes les images dans ce manuscrit sont représentées avec le modèle RGB (Red Green Blue). Ce modèle colorimétrique consiste à exprimer l'espace des couleurs à partir des trois couleurs primaires : le rouge (Red), le vert (Green) et le bleu (Blue). Chaque intensité d'un pixel s'exprime via un triplet de valeurs dans cet espace avec un codage des couleurs indexées. Ces images pondérées ne recèlent pas d'informations quantitatives qui permettent la caractérisation des tissus, néanmoins elles sont utiles pour décrire globalement les différences dans les intensités des signaux des structures anatomiques. Les variations dans les intensités des signaux observées entre les différents slices sont causées, comme il a été montré au chapitre précédent, par un défaut d'homogénéité du champ  $B_1$  selon la direction longitudinale. La présentation des images en volume (Figs. 4.18 et 4.19) est très utile pour visualiser l'évolution globale des intensités des signaux des différents tissus pendant toute la période d'acquisition. Ces séries dynamiques d'images ont une dimension fonctionnelle dans la mesure où elles permettent l'étude de l'évolution des processus physiologiques au cours du temps.

Avant de traiter les images paramétriques  $T_1$  et  $M_0$ , nous avons dans un premier temps analysé les incertitudes commises sur les paramètres  $T_1$  et  $M_0$  dans

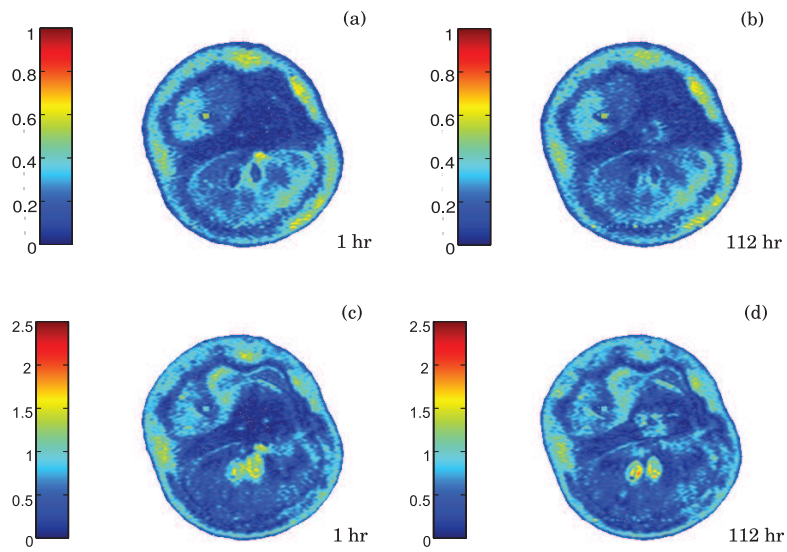


FIGURE 4.13: images  $^1\text{H}$  RMN à travers le plan transversal (coupe 1) de la tomate cerise verte. (a) et (b) images pondérées  $M_0$ . (c) et (d) images pondérées  $T_1$ . Elles ont été acquises avec la dimension  $256^2$  ( $512^2$  après le zero filling). La résolution spatiale est de :  $100 \mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$  et l'épaisseur de coupe vaut :  $750 \mu\text{m}$ .

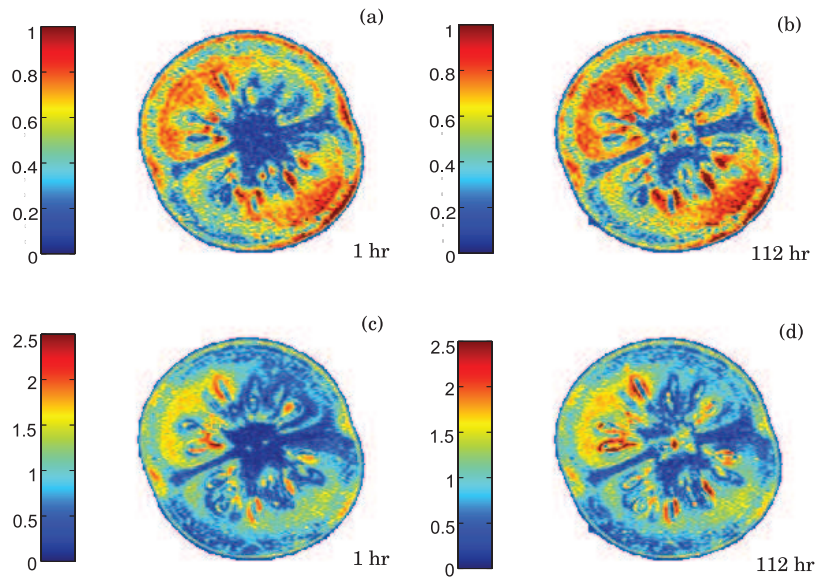


FIGURE 4.14: images  $^1\text{H}$  RMN à travers le plan transversal (coupe 2) de la tomate cerise verte. (a) et (b) images pondérées  $M_0$ . (c) et (d) images pondérées  $T_1$ .

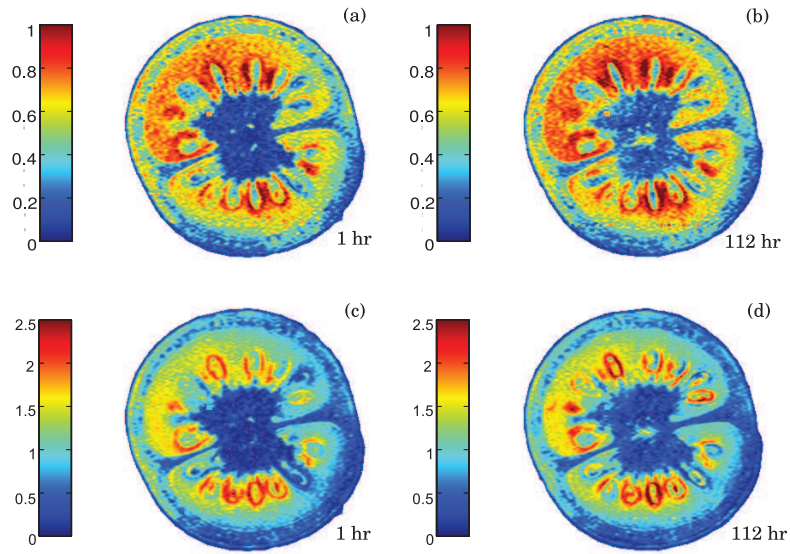


FIGURE 4.15: images  $^1\text{H}$  RMN à travers un plan transversal (coupe 3) de la tomate cerise verte. (a) et (b) images pondérées  $M_0$ . (c) et (d) images pondérées  $T_1$ .

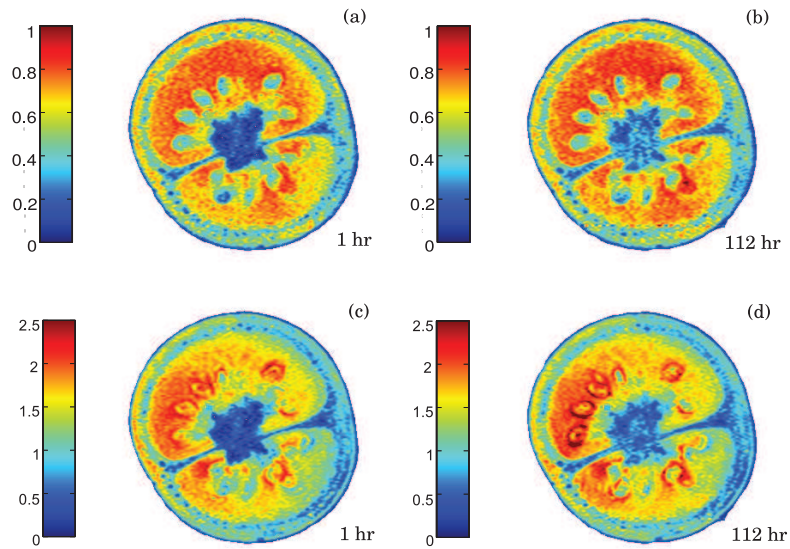


FIGURE 4.16: images  $^1\text{H}$  RMN à travers le plan transversal (coupe 4) de la tomate cerise verte. (a) et (b) images pondérées  $M_0$ . (c) et (d) images pondérées  $T_1$ .



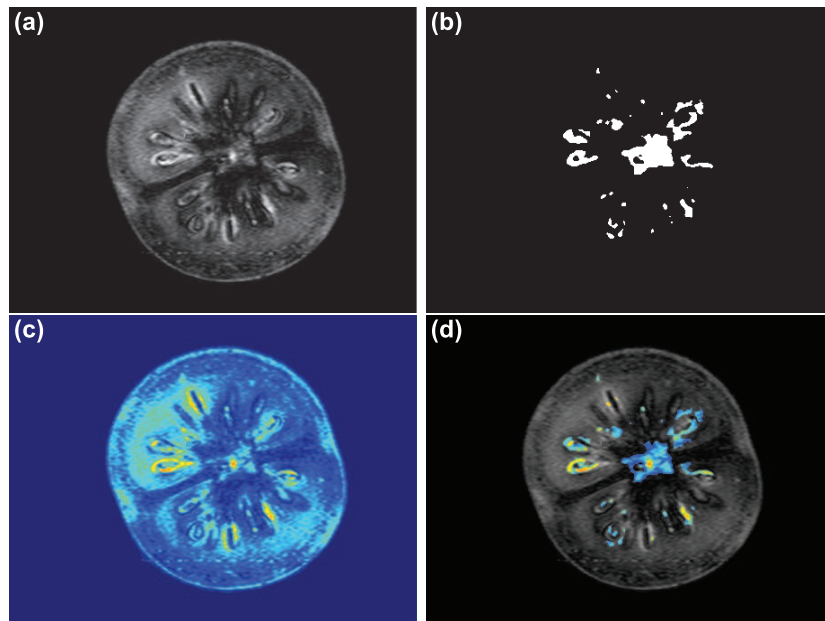


FIGURE 4.17: Localisation de l'effet du rehaussement de l'intensité du signal. (a) image originale en niveaux de gris. (b) masque binaire de la zone du rehaussement. (c) image RGB. (d) superposition des zones du rehaussement de l'intensité du signal sur une image anatomique en niveau de gris.

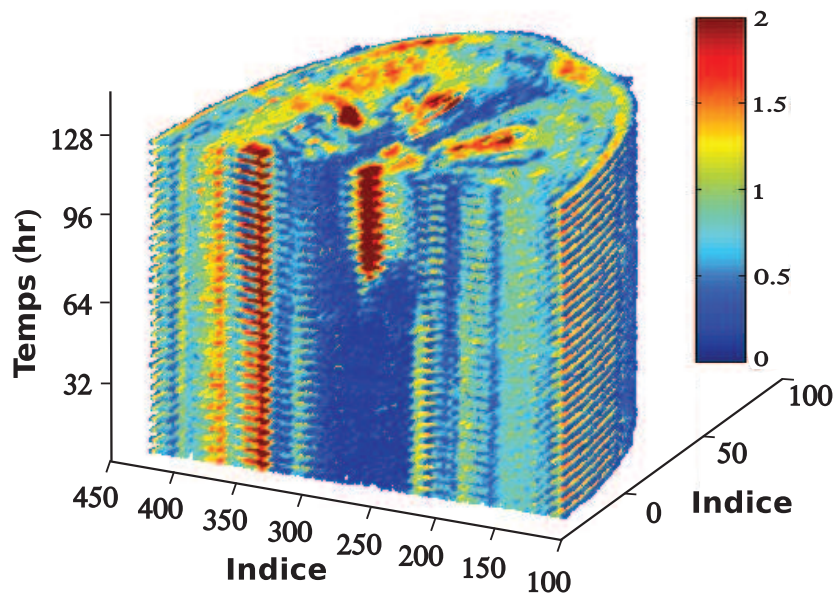


FIGURE 4.18: Pile d'images de la coupe 2 en fonction du temps d'acquisition.



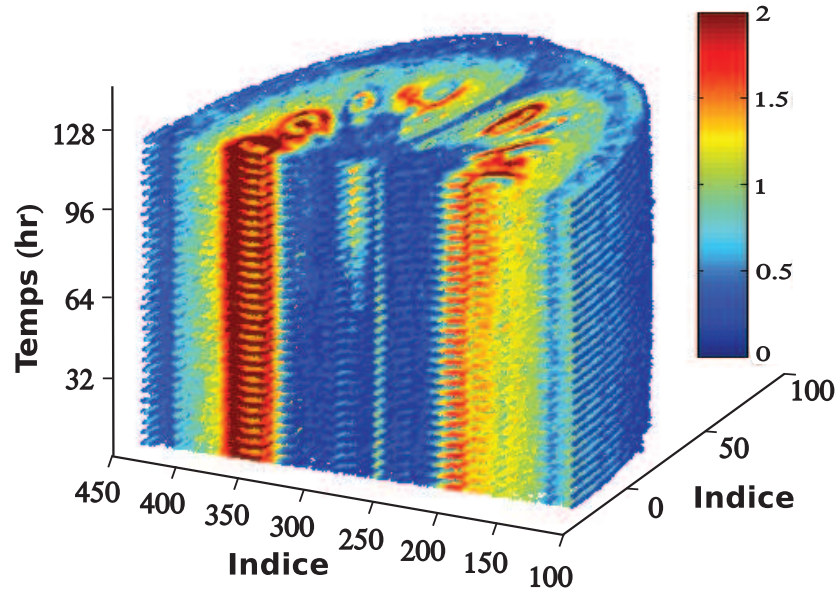


FIGURE 4.19: Pile d'images de la coupe 3 en fonction du temps d'acquisition.

chaque voxel. C'est une étape essentielle pour assurer une interprétation fiable des images. Les résultats des cartographies  $T_1$ ,  $M_0$ ,  $\frac{\Delta T_1}{T_1}$  et  $\frac{\Delta M_0}{M_0}$  sont montrées dans la Fig. 4.20. Les images présentées sont celles de la coupes 2 (voir Fig. 4.3). Au vu de ces résultats, les images  $T_1$  et  $M_0$  fournissent une bonne discrimination des caractéristiques morphologiques et structurales des tissus. Tous les tissus anatomiques (péricarpe, les graines, les enveloppes des graines, la gelée et les columelles) composant la tomate cerise sont identifiés. Les images, Fig. 4.20 (b) et (e), illustrent les cartographies des erreurs relatives  $\frac{\Delta T_1}{T_1}$ ,  $\frac{\Delta M_0}{M_0}$  calculées dans la coupe sélectionnée en utilisant respectivement, les Eqs. (4.16) et (4.17). Les erreurs relatives sont systématiquement plus élevées dans les voxels des parois radiales du péricarpe, des columelles et du placenta comparativement aux autres tissus. Ce résultat indique que les valeurs de  $M_0$  et de  $T_1$  sont surestimées. Les plus fortes erreurs ont ainsi été enregistrées dans les tissus caractérisés par des  $T_1$  longs et par de faibles densités de protons (faible valeur de  $M_0$ ). Ce résultat reflète certainement les faibles rapports SB provenant des images pondérées  $T_1$  et  $M_0$  (voir Figs. 4.13, 4.14, 4.15 et 4.16), détectés dans ces tissus. Notons également que ces derniers ont la propriété d'être des tissus plus rigides que les autres. Par conséquent, il est irréaliste de quantifier les paramètres intrinsèques dans ces zones, comme on peut le voir dans les images de la Fig. 4.20 (a), (d), (g) et (j). En effet, toutes les cartographies  $T_1$  et  $M_0$  ont été corrigées en ne conservant que les pixels présentant une erreur relative inférieure ou égale à un seuil statistique de 15 %. L'ensemble des pixels dans ces régions ont été ainsi éliminés (pixels noirs), comme on peut le constater sur les images de la Fig. 4.20 (c) et (f). Nous avons remarqué que ces erreurs relatives diminuent progressivement en fonction de l'augmentation des quantités d'agent de contraste et de la prise d'eau au cours de la croissance du fruit (voir, Fig. 4.20 (h) et (k)).

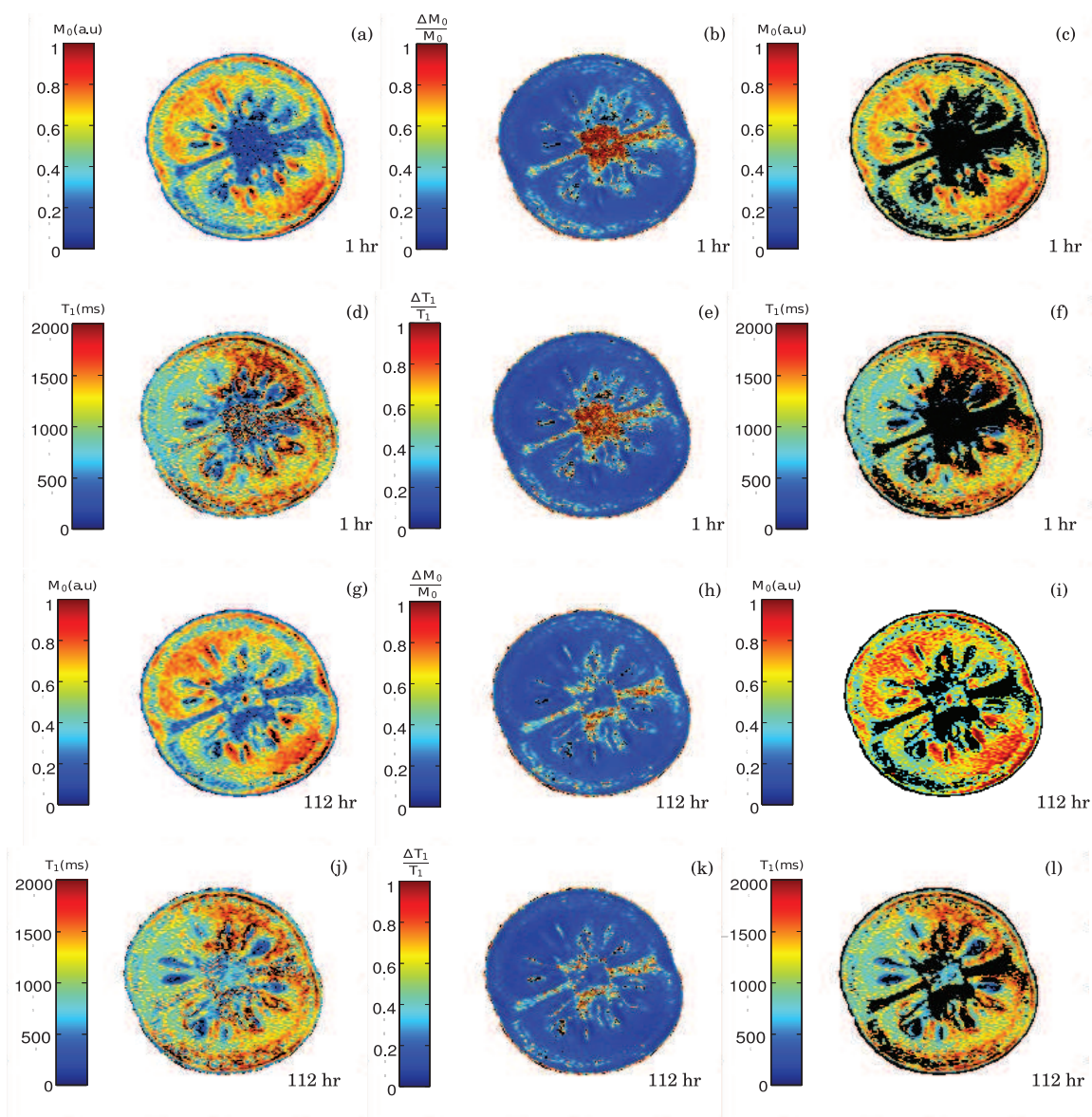


FIGURE 4.20: Images paramétriques ( $T_1$ ,  $M_0$ ,  $\frac{\Delta T_1}{T_1}$  et  $\frac{\Delta M_0}{M_0}$ ) transversales du fruit (coupe 2) obtenues par un calcul basé sur une analyse voxel-par-voxel. Ces résultats correspondent respectivement, à 1 *hr* (a, b, c, d, e et f) et à 112 *hr* (g, h, i, j, h et l) de contact avec l'agent de contraste. Dans toutes les images, les pixels noirs (Not a Number) représentent des zones exclues du calcul car l'erreur a dépassé un seuil statistique de 15 %.

Il a été discuté dans plusieurs études [79][80], que les tissus riches en eau libres sont les zones clés dans lesquelles des réactions biologiques se produisent. Il en découle que la mobilité des molécules d'eau dans les cellules est considérée comme régulatrice de l'activité physiologique dans les tissus vivants. La distribution de l'eau caractérisée par une grande mobilité implique les régions où le métabolisme actif se produit [81]. Ces auteurs ont également souligné que la quantité et la mobilité de l'eau sont fortement corrélées aux réactions biologiques des processus enzymatiques et métaboliques dans les cellules des tissus. Par ailleurs, la compréhension de la répartition de l'eau dans les tissus biologiques est fondamentale afin d'appréhender le transport macroscopique de l'eau à travers les tissus qui est essentiellement régi par la diffusion microscopique de l'eau et de l'air sur une échelle de distance cellulaire et par l'étendue de la perméabilité membranaire. Dans ce travail, nous avons vérifié que l'effet de relaxation  $T_2^*$  n'a pas significativement atténué les images de densité proton (voir, Fig. 4.21). À partir de l'image Fig. 4.20 (c), on observe un hypersignal dans le péricarpe, la gelée et dans une moindre mesure au niveau des enveloppes de graines. Dans le péricarpe, l'intensité du signal croît de l'intérieur vers l'extérieur du péricarpe. En revanche, des faibles densités protoniques sont observées dans les columelles et la paroi radiale du péricarpe. Une forte hétérogénéité de la distribution des  $T_1$  est détectée dans la paroi radiale du péricarpe. Ce tissu est considéré comme un compartiment de stockage temporaire où l'eau libre se lie au fur et à mesure aux macromolécules, ce qui peut expliquer cette hétérogénéité. La densité de protons la plus faible a été enregistrée dans les graines. Cette faible densité protonique est probablement dû au fait que les graines ont cessé de croître. Dans un même tissu du fruit, nous remarquons des distributions hétérogènes de  $T_1$  et de  $M_0$ . Ceci reflète la présence à la fois de l'eau libre ( $T_1$  long et une forte valeur de  $M_0$ ) et liées (faibles valeurs de  $T_1$  et de  $M_0$ ). La densité cellulaire, la diversité de taille et de la forme des cellules qui constituent ces tissus peuvent également contribuer à cette hétérogénéité [82]. Les petites cellules homogènes sont situées à l'intérieur (près des loges) et à l'extérieur (proche de l'épiderme) du péricarpe alors que le mésocarpe est constitué de grandes cellules hétérogènes [83]. La columelle est un tissu parenchymateux, constitué par des cellules de grandes tailles ( $\simeq 100 \mu m$ ) et est pourvue d'une forte présence de bulles d'air. Selon les images Fig. 4.20 (c) et (f), nous constatons une corrélation positive entre les valeurs de  $M_0$  et de  $T_1$  à la fois dans le péricarpe et dans les enveloppes de graines. Ainsi, plus le tissu est riche en eau libre et plus son  $T_1$  est long. Cette proportionnalité est partiellement observée dans la gelée. Les images Fig. 4.20 (i) et (l), reflètent les distributions du  $T_1$  et de la densité de protons à la fin de l'expérience. L'absence de toute tendance temporelle de la densité de proton mesurée dans les différents tissus montre que l'eau n'a pas été redistribuée parmi ces tissus. Une augmentation significative de la densité protonique au cours du développement du fruit a été détectée au niveau des enveloppes des graines, les columelles et s'est répandue autour des tissus environnant ces derniers. Cet élargissement de la zone en hypersignal dans les tissus autour des columelles, peut s'expliquer par l'existence d'un transport radial. Il est interprété en termes de diffusion moléculaire et de perméabilité (en fonction de la perméabilité

sélective des membranes) inter et intracellulaires dans les tissus du fruit [84]. En outre, il a été démontré que cet élargissement est proportionnel à l'amplitude du transport radial. Étonnamment, un très léger rehaussement de l'intensité du signal a été enregistré au niveau du péricarpe. Ce résultat suggère que dans ces conditions, l'eau et l'agent de contraste se transportent préférentiellement à travers les vaisseaux vasculaires centraux du fruit (peut-être de plus grande taille) et non pas dans les vaisseaux situés à la périphérie du fruit. Nous pouvons également envisager une forte évaporation dans ce tissu qui se situe à la surface du fruit. L'accroissement de l'intensité du signal dans les enveloppes des graines confirme que ces tissus sont des puits actifs, à cette période du développement du fruit, qui sont principalement alimentés par des branches du système vasculaire interne. Il convient de noter qu'à la fin de l'expérience, le volume du fruit a augmenté de 17 % par rapport à son volume initial (Fig. 4.22).

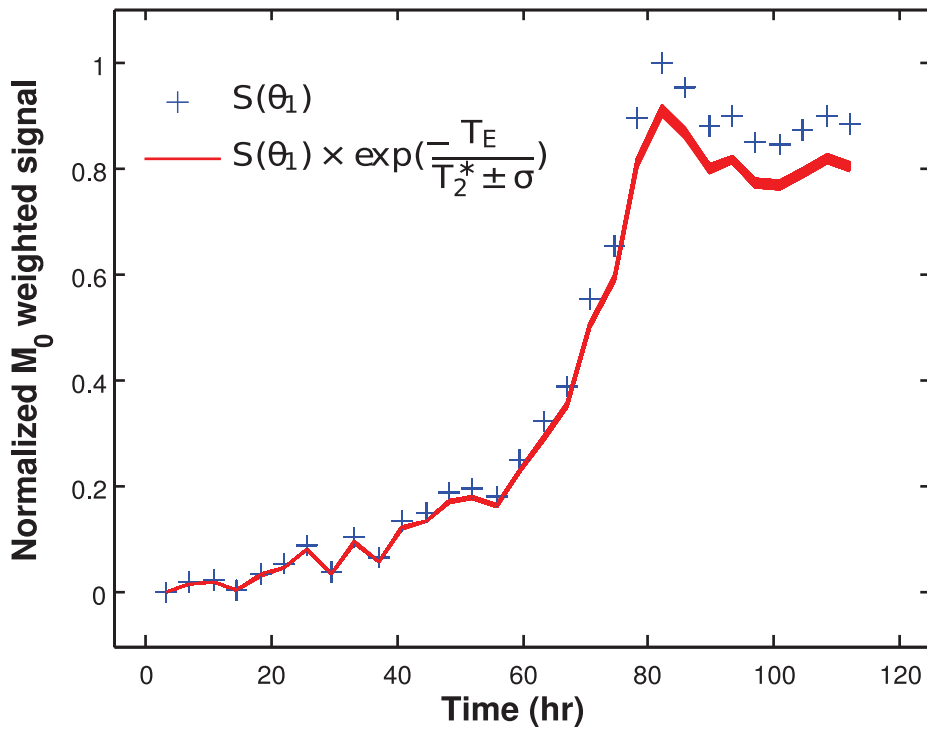


FIGURE 4.21: Effet  $T_2^*$  sur la variation de l'intensité du signal  $S(\theta_1)$  pour le slice 2.

Nous avons vérifié, Fig. 4.21, l'influence de l'effet  $T_2^*$  sur l'image acquise à  $\theta_1$ . Notre démarche portait sur la comparaison de l'intensité du signal  $S(\theta_1)$  (sans prise en compte de l'effet  $T_2^*$ ) à celle où l'effet  $T_2^*$  est pris en considération via le terme,  $\exp(-T_E/T_2^* \pm \sigma)$ . La valeur de  $T_2^*$  prise en compte correspond à la moyenne ( $61.22 \pm 5.7 \text{ ms}$ ) déterminée à partir de la carte  $T_2^*$  (voir, Fig. 3.9). Les courbes en rouges de la Fig. 4.21, traduisent les allures pour les différentes valeurs du  $T_2^*$ , allant de  $T_2^* - \sigma$  à  $T_2^* + \sigma$ . Il découle de ce graphique une surestimation de 9% de l'intensité du signal  $S(\theta_1)$  et donc de  $M_0$ , par rapport à sa variation effective.

À partir de la Fig. 4.23, nous constatons que la distribution de l'agent de

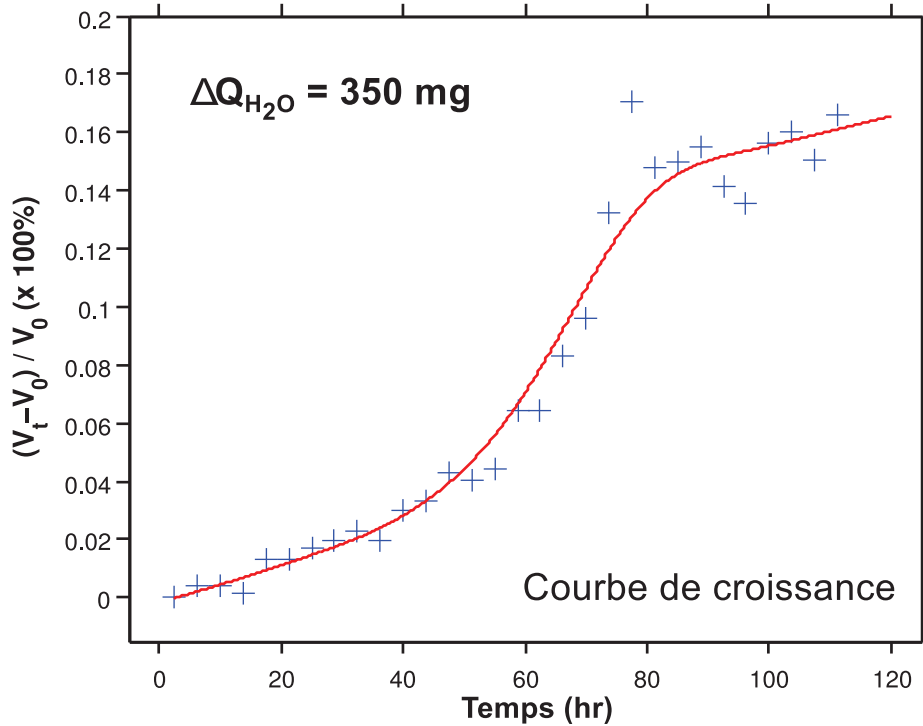


FIGURE 4.22: Variation de volume au cours de la croissance du fruit. Le volume a été estimé par une extrapolation du volume de la coupe médiane à un volume sphérique. La courbe continue, représente l'ajustement de la fonction de répartition de la loi logistique.

contraste est dépendante des tissus et elle est homogène pour un tissu donné. Sa présence dans ces tissus indique que l'activité cellulaire est très forte dans l'enveloppe des graines, les columelles et ses tissus environnants. Sa bio-distribution dans le fruit peut se produire par un flux massique ou par transport actif qui revêtent une importance similaire à ce stade du développement du fruit. Ces résultats prouvent que ce traceur présente une taille suffisamment petite pour se mouvoir dans les vaisseaux conducteurs par le biais de la sève phloémique. Conformément aux observations expérimentales de *Bussièrès et al.* [71], les diamètres des pores des vaisseaux de phloème sont autour de  $0.5 \mu m$ .

### 4.3 Étude du transport de l'agent de contraste

Avant de lancer l'étude, nous avons d'abord segmenté les tissus où un rehaussement de l'intensité du signal a été observé. Ces tissus ont été segmentés avec succès comme le montre la Fig. 4.24. L'opération de segmentation a été menée en calculant le maximum de la dérivée après un lissage *Gaussien* des images. L'intérêt d'appliquer ce filtre est d'atténuer les fortes transitions des signaux et d'éliminer ainsi autant que possible les maxima locaux afin de se prémunir des problèmes de la sur-segmentation. Chaque couleur dans les images segmentées constitue une nuée de pixels ayant la même évolution de l'intensité du signal au cours de l'expérimentation *in vitro*. Les pixels bleus reflètent les tissus où aucun effet significatif de rehausse-



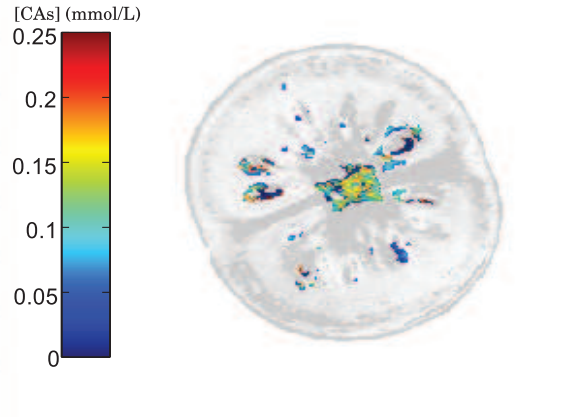


FIGURE 4.23: Cartographie de la concentration (obtenue à la fin de la croissance du fruit) de l'agent de contraste (CAs) superposée sur une image anatomique (coupe 2) en niveau de gris.

ment du signal n'a été observé. Les pixels rouges et jaunes mettent en valeur les tissus où des effets significatifs d'exaltation du signal ont été détecté. Le volume des voxels rouges sont respectivement, de : 4.45, 11.30, 1.55 et 0.82  $mm^3$  pour les slices 1, 2 et 3. Le volume des voxels jaunes sont respectivement, de : 14.90, 10.70 et 11.35  $mm^3$  pour les slices 1, 2 et 3. Les enveloppes des graines, columelles et ses tissus environnants sont clairement identifiés. Les enveloppes des graines n'ont pas été observées pour les coupes 1 et 5 car elles sont situées dans les parties extrêmes du fruit, comme on peut le voir sur la Fig. 4.3. Aucun rehaussement du signal n'a été révélé dans le coupe 5, ce qui suggère que l'eau contenant des nanoparticules d'agent de contraste n'a pas atteint cette partie du fruit.

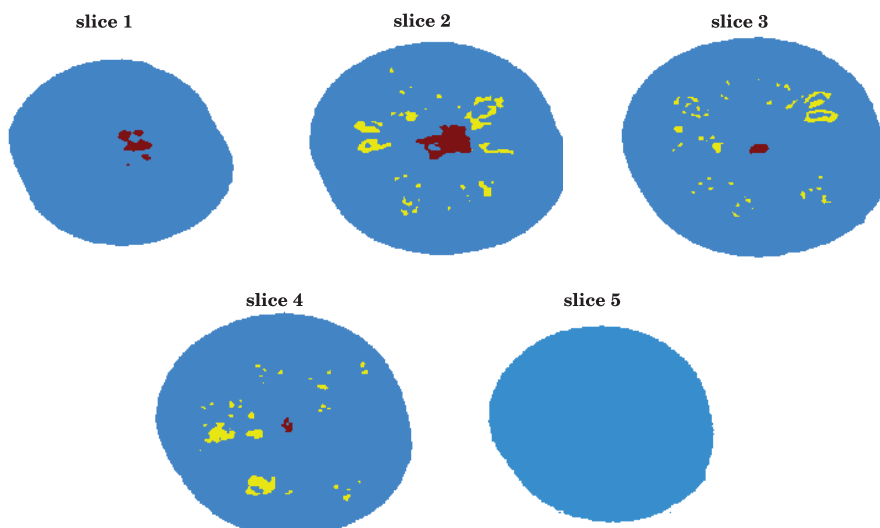


FIGURE 4.24: Segmentation des images. Les pixels rouges mettent en valeur les columelles et ses tissus environnant. Les pixels jaunes reflètent les enveloppes des graines alors que les pixels bleus sont ceux des autres tissus.

## 4.4 Modélisation compartimentale

L'étude de la dynamique d'un traceur dans un environnement chimique donné est complexe. Pour des applications *in vivo*, on a souvent recours à suivre l'évolution de sa concentration en fonction du temps de résidence dans les différents compartiments. Il est bien évidemment très difficile de prendre en compte l'ensemble des interactions auxquelles l'agent de contraste est soumis. L'étude du transport du traceur a été conduite sur les tissus segmentés. Les variations de sa concentration dans les columelles sont décrites par le transport entre compartiments qui représentent des régions séparées. Le taux de transfert d'un compartiment à un autre est proportionnel à la concentration dans la compartiment d'origine et à une constante de vitesse ( $k_1$ ,  $k_{m1}$ ,  $k_{12}$ ,  $k_{23}$  et  $k_{34}$  ( $h^{-1}$ )). La constante de vitesse  $k_1$  est associée à la précipitation de l'agent de contraste. Fig. 4.25 illustre les différents compartiments. Chaque compartiment est associé à une coupe ( $c_i$ ). Le premier compartiment est le milieu nutritif à partir duquel le traceur progresse aux compartiments supérieurs.

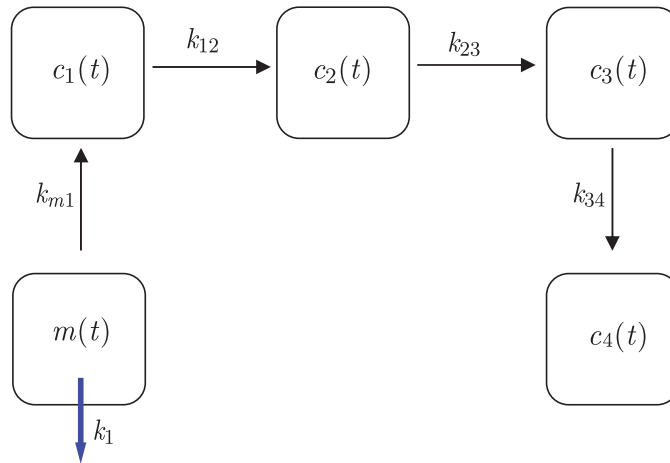


FIGURE 4.25: Modélisation compartimentale du transport de l'agent de contraste dans les columelles à travers les différentes coupes.

En pratique, on a souvent recours à des modèles basés sur des équations différentielles pour décrire les échanges entre les différents compartiments mis en jeu. Le transport  $k_i$  ( $h^{-1}$ ) est supposé être lié linéairement à la différence de concentration entre deux compartiments. En appliquant la loi de conservation de la quantité d'agent de contraste dans chacun des compartiments, le système d'équations différentielles est écrit au temps  $t$  par :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dm(t)}{dt} = -(k_1 + k_{m1}) \times m(t) \\ \frac{dc_1(t)}{dt} = k_{m1} \times m(t) - k_{12} \times c_1(t) \\ \frac{dc_2(t)}{dt} = k_{12} \times c_1(t) - k_{23} \times c_2(t) \\ \frac{dc_3(t)}{dt} = k_{23} \times c_2(t) - k_{34} \times c_3(t) \\ \frac{dc_4(t)}{dt} = k_{34} \times c_3(t) \end{array} \right. \quad (4.23)$$

Où  $m(t)$ ,  $c_1(t)$ ,  $c_2(t)$ ,  $c_3(t)$  et  $c_4(t)$  sont les concentrations du traceur au temps  $t$  pour chacun des compartiments. La solution générale de ces équations différentielles pour un compartiment  $i$  s'écrit :

$$c_i(t) = c_i(0)e^{-kt} + k' \int_0^t c_{i-1}(u)e^{-k(t-u)} du \quad (4.24)$$

La concentration initiale ( $t = 0$ ) de l'agent de contraste dans chaque coupe est nulle  $c_i(0) = 0$ , alors l'Eq. (4.24) s'écrit :

$$c_i(t) = k' \int_0^t c_{i-1}(u)e^{-k(t-u)} du \quad (4.25)$$

La solution analytique de l'Eq. (4.25) pour chaque compartiment s'écrit comme suit :

$$\left\{ \begin{array}{l} c_1(t) = k_{m1} \times \int_0^t m(u)e^{-k_{12}(t-u)} du \\ c_2(t) = k_{12} \times \int_0^t c_1(v)e^{-k_{23}(t-v)} dv \\ c_3(t) = k_{23} \times \int_0^t c_2(w)e^{-k_{34}(t-w)} dw \end{array} \right. \quad (4.26)$$

Ces intégrales ont été résolues numériquement. Un autre paramètre important pour caractériser ce comportement dynamique, est le temps de latence ( $t_0$ ) qui est déterminé par :

$$c_i(t) = \begin{cases} c_i(t - t_0) & \Rightarrow t \geq t_0 \\ 0 & \Rightarrow t < t_0 \end{cases} \quad (4.27)$$

Tous les paramètres d'ajustement (constante de vitesse et le temps de latence) du modèle compartimental ont été obtenus par l'Algorithme d'ajustement non-linéaire de *Levenberg-Marquardt* que nous avons implémenté dans le logiciel Matlab. Afin d'assurer une meilleure précision des paramètres, nous avons répété pour chaque



paramètre, l'ajustement pour plusieurs choix de valeurs initiales. Ainsi, seuls ceux qui ont minimisé l'erreur quadratique  $\chi^2$  ont été retenus.

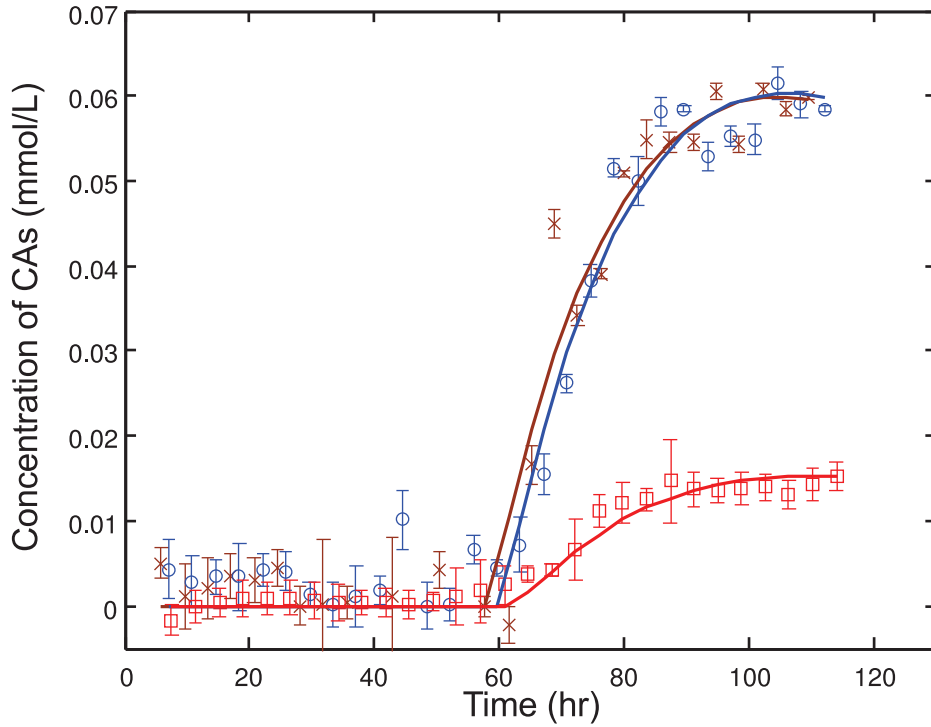


FIGURE 4.26: Ajustement des courbes (trait plein) de la variation de la concentration d'agent de contraste (CAs) dans les columelles pour les différentes coupes ( $\times$  : coupe 1,  $\circ$  : coupe 2,  $\square$  : coupe 3).

Les différents paramètres d'ajustement obtenus à partir de cette modélisation sont énumérés dans le tableau suivant :

TABLE 4.1: Paramètres d'ajustement

$index$	$k_{index} (hr^{-1})$	$t_0 (hr)$
1	0.0211	/
m1	0.0128	58.25
12	0.6986	60.90
23	0.5036	63.40
34	0.2101	/

À la lecture de ces paramètres, on constate que les nanoparticules d'agent de contraste arrivent dans le fruit, par le biais des columelles, après 58  $hr$  d'expérimentation. Ensuite par pas de 2  $hr$  aux coupes supérieures. Nous avons un facteur 54 entre ce qui arrive du milieu nutritif vers la coupe 1 et de cette dernière vers la coupe qui lui est supérieure. Nous observons également une tendance à la

diminution des constantes de vitesse, ce qui s'explique par le fait qu'il y a de moins en moins de nanoparticules d'agent de contraste qui arrivent au fur et à mesure que l'on s'éloigne du pédicelle du fruit.

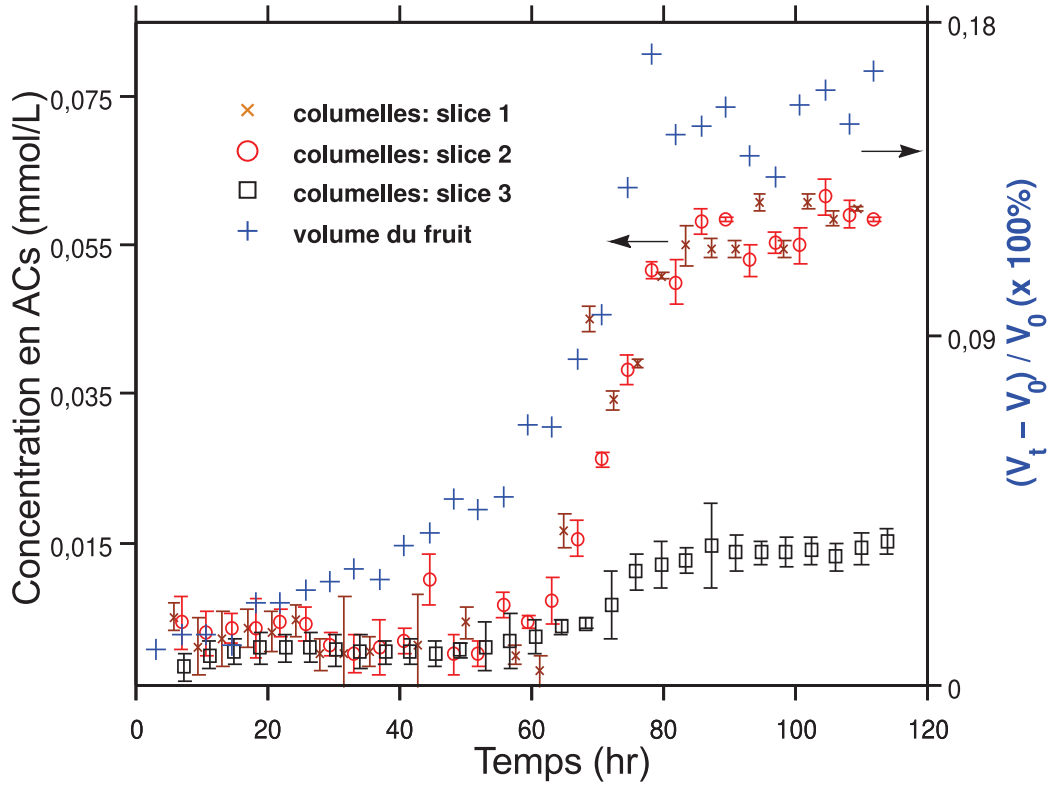


FIGURE 4.27: Progression des nanoparticules d'agent de contraste dans les columelles et croissance en volume du fruit.

Comme le montre les Figs. 4.26 et 4.27, dans les columelles, le rehaussement du signal apparaît après environ 58 heures d'acquisition des images. Comme en témoigne la Fig. 4.22, il est évident que le fruit pendant cette période se charge en eau et croît (volume du fruit augmente régulièrement suivant une courbe sigmoïde). Cette arrivée tardive peut s'expliquer par les hypothèses suivantes : (1) Les enveloppes des graines sont un espace d'accumulation des agents de contraste tandis que les columelles sont un lieu de leur passage (vaisseaux conducteurs). Par conséquent, les agents de contraste sont mieux visibles là où ils s'accumulent. (2) sur la base de la courbe de croissance (Fig. 4.22), à environ  $t = 58 \text{ hr}$ , le flux volumique augmente ce qui pourrait entraîner une grande quantité d'agent de contraste dans les columelles et éventuellement la présence d'un effet de saturation dans les enveloppes des graines. Il a été rapporté [58] une présence significative de bulles d'air dans les columelles. Ces bulles d'air créent des gradients de champ magnétique locaux dans leurs voisinages qui atténuent le signal RMN et par conséquent, aucun rehaussement du signal n'a pu être observé pendant les premières heures. Toutefois, le rehaussement du signal apparaît lorsque le débit est maximal (ce débit correspond au point d'inflexion de la courbe de croissance, voir Fig. 4.22).

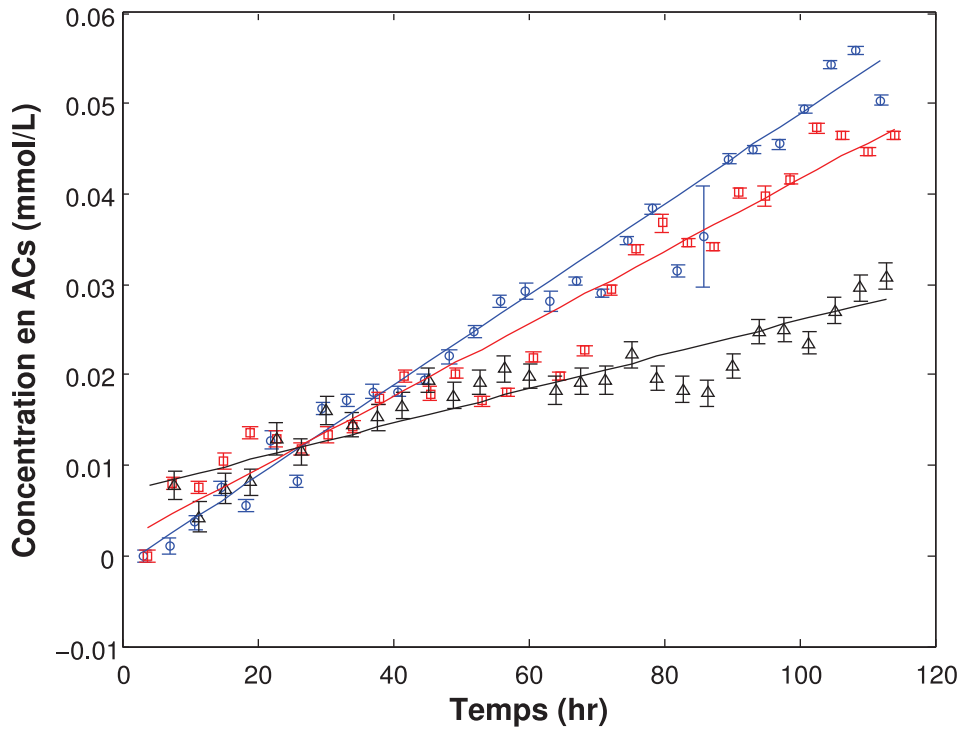


FIGURE 4.28: Variation de la concentration de l'agent de contraste (CAs) dans les enveloppes des graines pour les différentes coupes ( $\circ$  : coupe 2,  $\square$  : coupe 3,  $\triangle$  : coupe 4).

Contrairement aux columelles, dans les enveloppes des graines, l'effet de rehaussement de l'intensité du signal était visible dès les premières images. Comme on peut le voir sur la Fig. 4.28, le traceur apparaît au début de l'expérience. De plus, la concentration d'agent de contraste dans ces tissus évolue linéairement avec le temps. Comme illustré sur la Fig. 4.29, dans les enveloppes des graines, la courbe de variation de  $T_1$  ne suit pas celle de la prise d'eau (Fig. 4.30). Une corrélation similaire a été observée dans les columelles et ses tissus environnants (Fig. 4.31). Ce résultat indique que la réduction du  $T_1$  observée dans ce tissu n'était pas liée à un effet physiologique (modifications dans les aspects structurels des tissus) mais elle a été provoquée par la présence de l'agent de contraste. Nous avons confirmé ce résultat à travers l'étude d'une tomate témoin (sans agent de contraste). Dans la tomate témoin nous avons constaté une corrélation positive entre les variations de  $T_1$  et de  $M_0$  (voir Fig. 4.32). La variation du  $T_1$  est discontinue, progressive et régulière au début (liée à la charge de l'eau libre), ensuite elle devient constante pendant un certain temps (probablement due à la liaison de l'eau libre aux macromolécules tel que les lipides, sucres, protéines ...). Notons également que les modifications du  $T_1$  sont liées aux cycles de transpiration (transpiration active et lente) du fruit [85]. Cet effet est beaucoup plus prononcé pour les tissus situés à la surface du fruit. Cette corrélation positive (entre  $T_1$  et  $M_0$ ) est une caractéristique typique d'un effet purement physiologique déjà observée dans les tissus biologiques [11].

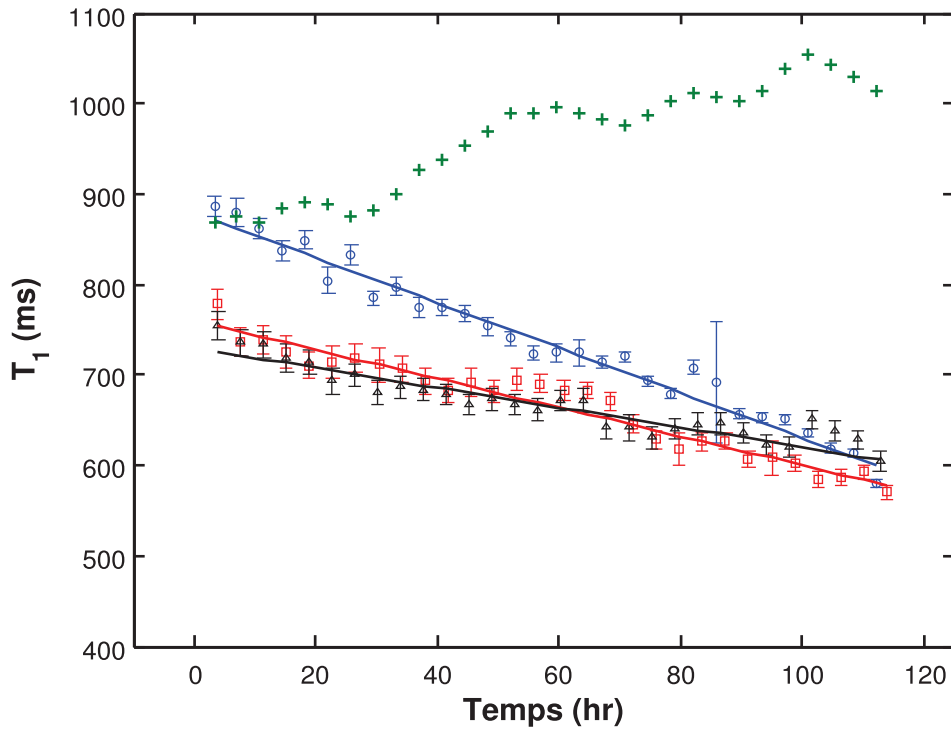


FIGURE 4.29: Variation du  $T_1$  dans les enveloppes des graines ( $\circ$  : coupe 2,  $\square$  : coupe 3,  $\triangle$  : coupe 4,  $+$  : tomate témoin).

## 4.5 Dépendance temporelle de la quantité d'eau

Nous avons estimé la quantité totale de la prise d'eau en extrapolant le volume de la coupe médiane à un volume sphérique (Fig 4.22). À partir de ce calcul, nous avons évalué une quantité de 350 mg. Dans un deuxième temps et afin de quantifier la quantité totale de la prise du traceur par le fruit tout au long de l'expérience, nous avons construit un modèle basé sur des volumes trapézoïdaux. Ce modèle a été construit comme suit : connaissant la quantité totale d'agent de contraste dans les coupes 1, 2, 3 et 4, les quantités intermédiaires (entre coupes) ont été évaluées en considérant un volume trapézoïdal. Les bases des trapèzes sont les surfaces de chaque tissu segmenté et leurs hauteurs est égale à l'épaisseur de la coupe correspondante. La même méthode de calcul a servi à évaluer le volume total dans les enveloppes des graines et dans les columelles. Sur la base de cette approche, les quantités totales d'agent de contraste obtenues à la fois dans les columelles et dans les enveloppes des graines dans le fruit étaient respectivement de 18,65 et 30,58 mg. Ces quantités correspondent aux volumes : 59,86 mm<sup>3</sup> pour les columelles et de 98,72 mm<sup>3</sup> pour les enveloppes des graines. A la fin de l'expérience, la quantité d'agent de contraste contenue dans 15 g d'eau était de 1,4 mg. Ainsi, à partir de la quantité totale de la prise d'agent de contraste par le fruit, nous pouvons prédire la quantité totale d'eau en utilisant cette relation de proportionnalité.

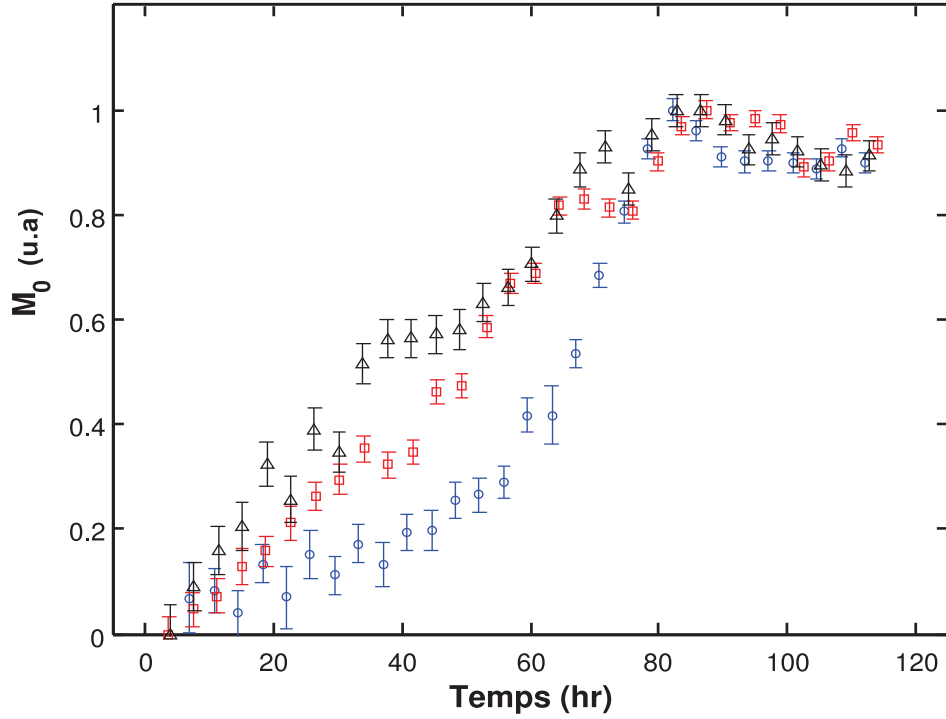


FIGURE 4.30: Variation de la densité de protons dans les enveloppes des graines (○ : coupe 2, □ : coupe 3, △ : coupe 4).

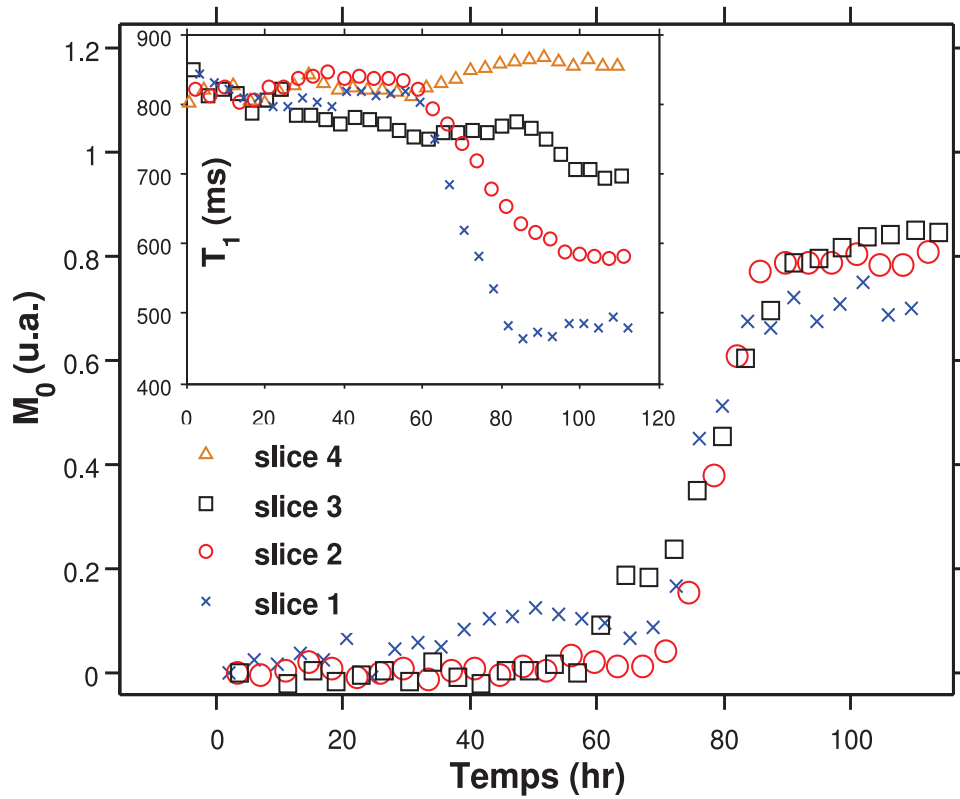


FIGURE 4.31: Variation de la densité de protons et du  $T_1$  dans les columelles et ses tissus environnants.

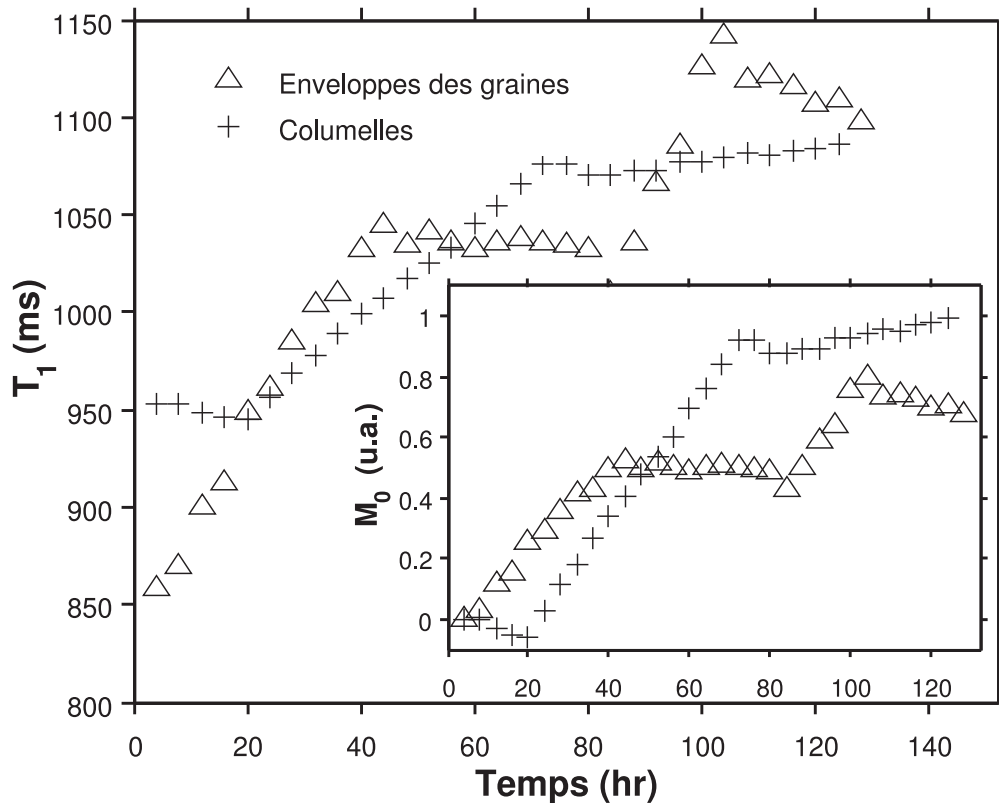


FIGURE 4.32: Variation du  $T_1$  dans les columelles et dans les enveloppes des graines du fruit de la tomate sans agent de contraste. Inset : Variations normalisées des densités de protons correspondantes.

Les quantités totales et les débits moyens d'eau estimés étaient de : 198 *mg*, 1,76 *mm*<sup>3</sup>/*h* pour les columelles et de 326 *mg*, 2,91 *mm*<sup>3</sup>/*h* pour les enveloppes des graines. La Fig. 4.33 traduit l'évolution de la quantité d'eau au niveau des enveloppes des graines, les columelles et le fruit pendant toute la durée de croissance.

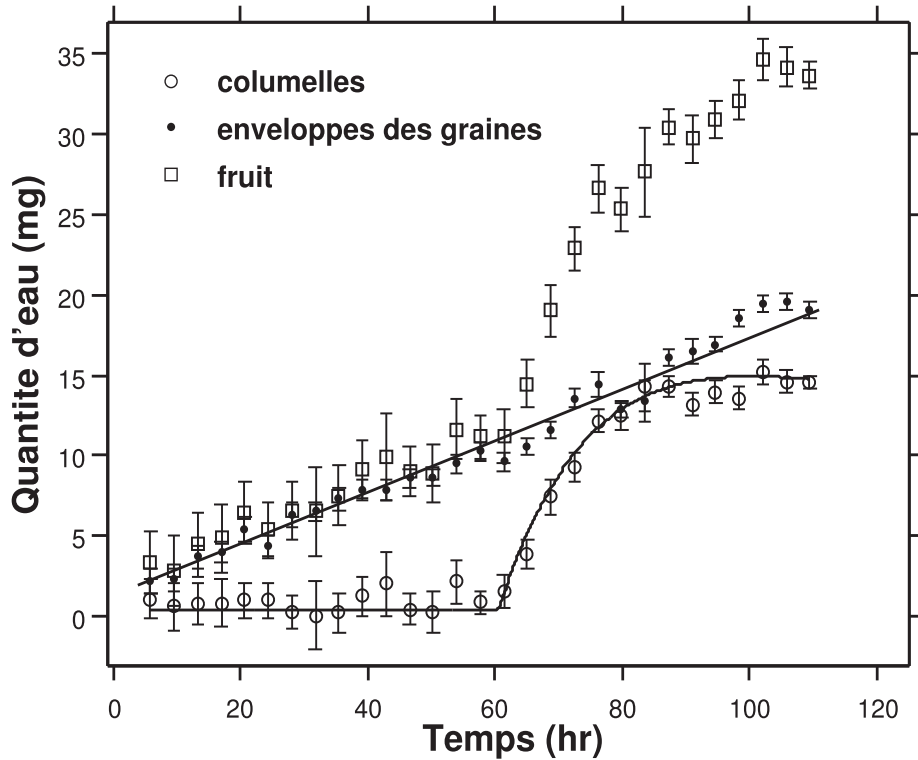


FIGURE 4.33: Évolution temporelle de la quantité d'eau au niveau des columelles, l'enveloppe des graines et le fruit au cours de croissance.

La quantité totale de la prise d'eau par le fruit était de 524 *mg* pendant les 112 *hr* de croissance, soit un débit de 4.70 *mg/h*. Cette quantité est en bon accord avec la quantité estimée (350 *mg*) à partir de la courbe de croissance (voir Fig. 4.22). Nous avons également confronté nos résultats de la prise d'eau avec ceux déterminés de façon totalement destructive, Fig. 4.34. En comparant nos résultats (Fig. 4.33), obtenus de façon totalement non-destructive à ceux obtenus par des mesures destructives (une prise d'eau de 650 *mg* en 120 *h*, soit un débit de 5.41 *mg/h*), il en découle un excellent accord entre les deux méthodes. De plus, avec l'imagerie RMN on a pu localiser précisément les tissus responsables de cette prise d'eau. L'absence du péricarpe peut s'expliquer probablement par une forte évaporation dans ce tissu. En s'appuyant sur ces résultats, on peut confirmer que le  $Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/Mannitol$  a efficacement tracé une partie des flux d'eau dans le fruit de la tomate cerise.

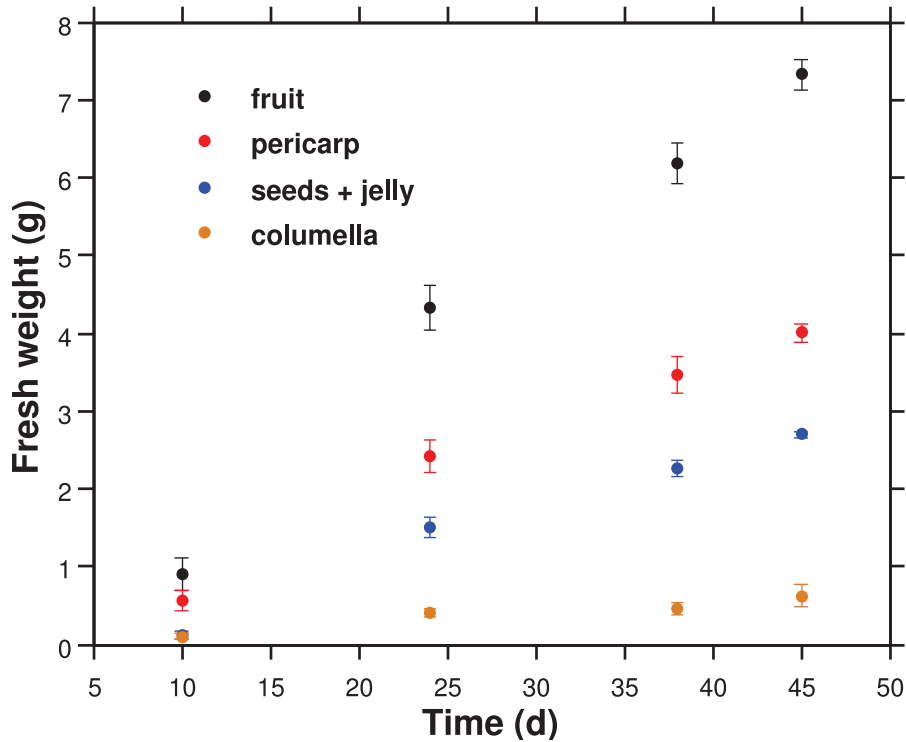


FIGURE 4.34: Prise d'eau en fonction des différents tissus. Ces résultats nous ont été fournis par les agronomes de l'INRA - Avignon dans le cadre de notre collaboration.

## 4.6 Conclusion

Si l'on ne considère que des mécanismes de relaxation mono-exponentielle (échange rapide entre l'eau libre et l'eau liée) et/ou multi-exponentielle (échange lent entre l'eau libre et l'eau liée), dans ce cas les  $T_1$  et  $T_2$  traduisent un comportement moyen de la relaxation des protons. Dans ce modèle on ne tient pas compte de la complexité structurelle et compositionnelle de la matière végétale et traduit l'incapacité d'affecter les temps de relaxation aux compartiments sub-cellulaires. C'est pourquoi dans cette étude, nous avons eu recours à la caractérisation des distributions de ces temps de relaxation magnétiques. Cette étape est un préalable pour pouvoir bien choisir les paramètres de la séquence d'imagerie de telle façon à maximiser autant que possible le contraste entre les tissus. La détermination des distributions de  $T_1$  et de  $T_2$  a été menée par le biais des *transformées de Laplace*. D'autre part, nous avons vu que contrairement au cas de  $T_1$ , les courbes de décroissance de  $T_2$  ne sont pas mono-exponentielles et que l'on est obligé d'envisager des échanges lents. Ces investigations menées à des échelles sub-cellulaires reflètent bien la puissance de la technique RMN pour l'étude des végétaux. Dans ce chapitre, la quantité totale d'eau prise par le fruit au cours de croissance a été quantifiée par l'étude quantitative de la dynamique de progression de l'agent de contraste durant 112 *hr*. Les résultats obtenus ont mis en évidence que la séquence FLASH associée à des agents de contraste efficaces et bio-compatibles offre la possibilité d'évaluer et de suivre quantitativement



des processus dynamiques liés au transport de l'eau dans les produits agronomiques.

La teneur et le transport de l'eau sont les principaux facteurs contrôlant la morphologie et le développement des fruits. Il a été démontré que la connaissance des distributions de  $T_1$  et de  $M_0$  sont plus informatives pour la caractérisation de l'état physique de l'eau dans les tissus biologiques comparativement à une simple interprétation visuelle des images pondérées. Cette mobilité de l'eau est directement associée à l'activité cellulaire dans les tissus. Une bonne compréhension de cette activité a une importance fondamentale dans la physiologie des plantes. La méthodologie proposée, présente plusieurs avantages :

- elle permet (méthode à double angles) un accès rapide aux paramètres intrinsèques sans recourir aux Algorithmes d'ajustement. Cette tâche est très consommatrice en terme de temps de calcul et peut s'avérer particulièrement imprécise dans le cas où les pixels de l'image présenteraient un rapport SB faible.
- l'étude de validation de la méthode de calcul conduite sur le fantôme est nécessaire afin de vérifier la précision de la quantification du  $T_1$ . Les résultats ont montré un bon accord entre les valeurs calculées par relaxométrie et par imagerie.
- une nouvelle approche pour l'estimation de la variance du bruit des images en magnitude a été proposée. Nous avons conclu que la meilleure estimation du bruit, serait le mode de la distribution de pixels.
- afin d'obtenir une estimation fiable des incertitudes commises sur les paramètres  $M_0$  et  $T_1$  dans chaque voxel, le calcul d'erreur a été réalisé sans approximations en utilisant des expressions analytiques. Comme indiqué dans ce chapitre, l'évaluation des incertitudes dans le calcul paramétrique sur des tissus biologiques devraient être une partie de chaque étude de l'analyse des images RMN.
- l'opération de segmentation des images a été réalisée avec succès. Elle nous a permis d'identifier les tissus où un rehaussement du signal a été détecté.
- l'agent de contraste sélectionné a fourni une bonne bio-compatibilité et bio-distribution en milieu physiologique.
- la mise en œuvre de la modélisation compartimentale nous a permis de quantifier les paramètres cinétiques des tissus des fruits.

Il a été rapporté dans ce chapitre que la distribution de l'agent de contraste dans le fruit est dépendante des tissus et homogène pour un tissu donné. En effet, le

traceur s'est accumulé préférentiellement dans les enveloppes de graines et dans les tissus entourant les columelles. À partir de ce résultat et à ce stade de développement du fruit, nous avons souligné que ces tissus sont des puits actifs de croissance. Les flux hydriques dans les columelles et les enveloppes des graines ont été déterminés, via la construction d'un modèle trapézoïdal. Le flux enregistré dans les enveloppes des graines était deux fois plus important que celui dans les columelles. Nous avons pu distinguer deux mécanismes de transport dans le fruit modèle. Un premier mécanisme linéaire au niveau des enveloppes des graines et un second mécanisme lié à la croissance du fruit dans la columelle. Il en ressort que la connaissance de la distribution du réseau vasculaire est primordiale pour comprendre les voies de transport dans le fruit. Ces investigations ouvrent de nouvelles perspectives pour l'utilisation de ce type d'agents de contraste dans les produits agronomiques pour des études plus systématiques. En continuité de cette étude, il serait intéressant d'étudier le processus de bio-distribution de ces nanoparticules paramagnétiques fonctionnalisées par du glucose ou du fructose. Ces sucres sont les principaux éléments responsables de la croissance des tissus chez les végétaux.

# Conclusion générale

Les récents développements technologiques, instrumentaux et théoriques de l'imagerie RMN ont favorisé l'émergence des travaux de recherches dédiés à l'étude multi-échelles de la matière végétale. Bien que cette modalité d'imagerie a été très largement utilisée comme technique de diagnostic chez les animaux et les humains, elle a rencontré un intérêt limité pour l'étude des végétaux. Ce constat peut probablement être expliqué par le fait que les tissus des végétaux sont constitués d'un grand nombre de structures de formes et de tailles diverses (cellules, membranes, vaisseaux ...), cette complexité structurale et fonctionnelle rend l'interprétation des images plus difficile. L'objectif principal de ce travail de thèse était de mettre en exergue le potentiel de cette technique d'imagerie pour l'investigation et la quantification des propriétés physiologiques et morphologiques associées au transport de l'eau dans les produits agronomiques au cours de leur développement et de leur maturation. À partir de l'ensemble des résultats relatés dans ce manuscrit, nous avons pu montrer qu'elle est un outil très prometteur pour explorer et mieux comprendre l'architecture et le fonctionnement des végétaux. Le choix de la tomate cerise comme modèle a été dicté d'une part, par le fait que ce fruit est riche en eau, ce qui fait de lui un candidat naturel pour cette modalité d'imagerie et d'autre part, il constitue une espèce modèle pour les généticiens et les physiologistes (génomome séquencé) donc très étudiée.

Dans un premier temps, notre démarche a consisté à implémenter un outil d'acquisition des images et à la mise au point d'une méthodologie de calcul robuste afin d'extraire de l'information physiologique et structurale sur les images. Effectivement, nous avons commencé par l'implémentation d'une séquence d'imagerie rapide de type FLASH (Fast Low Angle SHot) qui prend origine de la séquence classique d'écho de gradient. Cette séquence a été implémentée sur un spectromètre (tecmag, Apollo) 4.7 T, opérant à la fréquence de résonance des protons de 200 MHz. Comme il a été mentionné au troisième chapitre, l'interface Tecmag utilisée pour l'acquisition des images présente l'avantage d'être un système totalement ouvert et dotée d'une grande flexibilité. Ainsi, l'expérimentateur peut gérer lui-même les multiples relations qui permettent de contrôler, en fonction des résolutions spatiale et temporelle souhaitées, tout les paramètres qui interviennent dans la séquence d'imagerie. Nous avons vu que la principale caractéristique de cette

séquence, était l'utilisation des angles de bascule de l'aimantation inférieurs à  $90^\circ$ . Cette caractéristique conduit à une diminution substantielle du temps d'acquisition des images. Nous avons conclu que l'avantage majeur qui nous a guidé à choisir cette séquence était l'augmentation de la résolution temporelle afin d'atteindre des acquisitions dynamiques. Dans le but de s'affranchir de la sensibilité de cette séquence aux effets d'inhomogénéités de  $B_0$ , nous avons travaillé avec un temps d'écho ( $T_E = 6 \text{ ms}$ ) relativement faible. Ensuite, à partir de l'équation analytique de cette séquence, nous avons réalisé une simulation du contraste entre deux structures tissulaires. Le but principal de cette opération visait à comprendre l'influence des différents paramètres d'acquisition ( $T_R$ ,  $T_E$  et  $\theta$ ) sur le contraste des différents tissus du modèle agronomique. Très souvent le temps de répétition ( $T_R$ ) est imposé par le type d'informations recherchées. En règle générale, un compromis doit être trouvé entre le temps d'acquisition des images, les résolutions spatiale et temporelle et l'échelle du temps de la dynamique des processus physiologiques à observer. L'étude de la physiologie et de l'anatomie du modèle agronomique a été menée par le biais de la quantification des paramètres intrinsèques  $T_1$  et  $M_0$ . Les cartographies  $T_1$  ont été calculées voxel-par-voxel, à partir de deux angles de bascule  $\theta_1 = 8^\circ$  pour acquérir des images pondérées  $M_0$  et un  $\theta_2 = 60^\circ$  pour atteindre des pondérations  $T_1$ .

Une fois la séquence implémentée et les paramètres influençant son contraste déterminés, nous l'avons ensuite validé sur fantôme. Le principe de base de cette validation comportait une comparaison quantitative entre les temps de relaxation  $T_1$  de référence, mesurés au moyen de la séquence *inversion-récupération*, et les  $T_1$  calculés par imagerie à l'aide de la séquence FLASH. Le fantôme était formé d'une batterie de cinq tubes remplis avec différentes concentrations en agent de contraste. La gamme de concentrations avait été sélectionnée de façon à couvrir tout les  $T_1$  possibles du fruit de la tomate cerise. La comparaison a montré un bon accord entre les  $T_1$  de référence et ceux calculés par imagerie.

Dans le deuxième chapitre, il a été question d'une étude détaillée sur les divers mécanismes d'interaction des agents de contraste avec les protons de l'eau. Ainsi, il a été avancé que les taux de relaxation (relaxivités  $r_1$  et  $r_2$ ) des protons en présence d'agents de contraste paramagnétiques, peuvent être interprétés en terme de deux contributions :

- relaxivité de sphère externe, engendrée par des interactions longue portée avec les protons de molécules d'eau libres, la diffusion des molécules d'eau au voisinage du complexe provoque des fluctuations du champ magnétique local vu par les protons.
- relaxivité de sphère interne, engendrée par des interactions à courte portée avec les protons de molécules d'eau directement coordonnées au centre paramagnétique et l'échange chimique des molécules d'eau entre le milieu et la sphère d'hydratation.

Nous avons vu que pour influencer positivement la conception d'agents de contraste paramagnétiques, efficaces en terme de relaxivité, l'optimisation du mécanisme de la sphère interne est une étape cruciale pour y parvenir. Les mesures de relaxivités transversale et longitudinale ( $r_2$  et  $r_1$ ), effectuées sur l'agent de contraste paramagnétique  $Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/Mannitol$ , ont révélé que ce dernier avait un effet  $T_1$  prépondérant. Cet agent a été utilisé tout au long de nos travaux. Il est toutefois important de signaler que sa relaxivité longitudinale est multipliée par un facteur quatre par rapport au  $Gd$  commercial (Dotarem®), mesuré dans les mêmes conditions). Ce facteur multiplicatif s'est révélé décisif pour permettre la visualisation des effets du rehaussement de l'intensité des signaux sur les images.

Au cours de cette étude, nous avons fait valoir l'effet  $T_1$  du rehaussement du signal (hypersignal) au détriment de l'effet  $T_2$  (hyposignal). Ce choix avait été motivé d'une part, par le fait que les effets  $T_2$  et  $T_2^*$  sont très sensibles aux inhomogénéités du champ  $B_0$ , aux artefacts de susceptibilité magnétique et au bruit de fond. De plus, le  $Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/Mannitol$  présentait un effet  $T_1$  prépondérant. Ces nanoparticules paramagnétiques nous ont servi de marqueur pour tracer les flux hydriques et pour déterminer la distribution spatiale des molécules d'eau dans le fruit. Notre approche a donc consisté à maximiser le rehaussement de l'intensité du signal, par un agent de contraste à effet  $T_1$  en combinaison avec une séquence d'imagerie fortement pondérée  $T_1$ . Par ailleurs, ces nanoparticules ont été fonctionnalisées par un motif de type osidique (Mannitol). Cette fonctionnalisation avait pour but d'augmenter sa bio-compatibilité et par voie de conséquence d'être absorbé par le fruit au cours de sa croissance *in vitro* dans l'aimant.

Comme il a été illustré sur le schéma de l'expérimentation au quatrième chapitre, nous avons placé le fruit avec son pédicelle émergé dans un pot rempli d'agent de contraste à la concentration 10 *mM*. L'objectif était de quantifier et de tracer, à l'aide de ce traceur, les flux hydriques qui arrivaient dans le fruit. Pour cela, on a réalisé des acquisitions d'images avec des pondérations alternées (une pondération  $T_1$  suivie d'une autre pondération  $M_0$ , sur la même coupe), à différents offsets (cinq coupes) pendant 112 *hr*. Le principe de base de notre démarche était de visualiser les effets du rehaussement du signal causés par l'arrivée de l'agent de contraste. Lorsque les molécules d'agent de contraste arrivent dans le fruit, ils raccourcissent les temps de relaxation  $T_1$  des protons des molécules d'eau avoisinantes. Ce raccourcissement des  $T_1$  s'accompagne d'une exaltation de l'intensité du signal RMN dans les régions où ces nanoparticules s'accumulent.

La caractérisation des temps de relaxation a été menée par le biais de la *transformée de Laplace*. Cette étape est primordiale afin de pouvoir maximiser autant que possible le contraste entre les tissus, par un choix judicieux des paramètres de la séquence. En outre, la détermination des distributions des temps de relaxation nous a permis d'avoir accès à des informations à des échelles sub-cellulaires. Les

compartiments de la *vacuole*, *cytoplasme* et de la *paroi cellulaire* ont pu être identifiés. Nous avons également indiqué que l'estimation des incertitudes commises dans les calculs paramétriques est une opération clé et devrait être une partie de chaque étude quantitative menée sur les tissus des végétaux. Nous avons aussi mis au point un algorithme de segmentation des images qui nous a conduit à l'identification des tissus où un rehaussement du signal, causé par l'agent de contraste, a été détecté. À partir de cette opération de segmentation, une forte activité cellulaire a été observée dans les enveloppes des graines et dans les tissus entourant les columelles. La quantité d'eau prise par le fruit et les flux hydriques enregistrés dans ces tissus actifs ont été quantifiés par la construction d'un modèle trapézoïdal. Nous avons pu distinguer deux mécanismes de transport dans le fruit modèle. Un premier mécanisme linéaire au niveau des enveloppes des graines et un second mécanismes lié à la croissance du fruit dans la columelle.

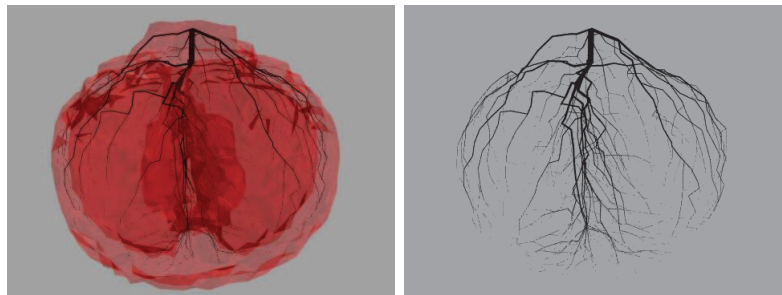
L'imagerie RMN possède des atouts incontestables pour l'étude des plantes. Grâce aux différents paramètres naturels des tissus ( $T_1$ ,  $T_2$  et  $M_0$ ) et les paramètres instrumentaux ( $T_R$ ,  $T_E$  et  $\theta$ ), l'expérimentateur dispose d'une myriade de moyens d'étude multi-échelles des transformations physiologiques et morphologiques des structures tissulaires dans les végétaux. Ses caractères non-invasif et non-destructif font d'elle une méthode de choix pour mener des recherches *in vivo*. Nous avons pu mettre en avant dans cette étude, que cette modalité d'imagerie combinée avec des agents de contraste efficaces et bio-compatibles a le potentiel de devenir un outil prometteur et indispensable pour la recherche agronomique. Finalement et en guise de conclusion, nous estimons avoir apporté des outils qui permettent la rationalisation des choix méthodologiques qui ont pour but l'étude et l'optimisation de ce type de protocole d'imagerie RMN appliqué aux végétaux.

## Perspectives

Les expériences menées dans ces travaux de thèse, ont été réalisées au cours de la culture de fruits détachés dans un milieu de composition connu. Il serait intéressant d'envisager la même démarche sur une plante entière. Cela suppose une amélioration et une adaptation du dispositif expérimental. Le but serait de tracer, via la tige principale, les flux d'eau et osidique (fructose et glucose) entre la plante et les organes puits. En effet, les apport en sucres (constituants majeurs de la matière sèche et principale source d'énergie) via le phloème et leur devenir (bio-distribution et stockage) dans le fruit impactent fortement la saveur du fruit. Ces sucres sont également les principaux éléments responsables de la croissance et du développement des tissus des produits agronomiques. Ce marquage sera atteint par la conception d'agents de contraste multifonctionnel possédant un motif de reconnaissance propre au transport des sucres et d'un cœur magnétique permettant le suivi du devenir de l'objet par imagerie RMN. On peut envisager également de suivre d'autres composés comme la vitamine C et les acides (Malique et Citrique),

ces derniers interviennent dans la qualité gustative et nutritive des fruits. Le marquage des hormones peut s'avérer très important dans la signalisation des stress en réponse à des stimuli exogène ou endogène.

Une connaissance de l'architecture du réseau vasculaire des fruits s'avère primordiale afin de fournir des interprétations rigoureuses sur les voies du transport au sein du fruit. Ceci pourra se réaliser par une corrélation des images RMN 3D (séquence FLASH 3D) avec des modèles informatiques, dans le cadre de notre collaboration avec l'équipe Virtual Plants de l'INRIA. Les images ci-dessous, illustrent le réseau vasculaire du fruit de la tomate cerise, construit à partir de simulations informatiques.



Dans la continuité de l'étude menée pour la caractérisation des distributions des temps de relaxation, on pourra envisager une étude sur la dépendance temporelle des proportions d'eau de chaque population des constituants sub-cellulaires, soumis à un stress hydrique (via par exemple un flux d'air chaud). L'objectif serait de comprendre comment l'eau se réorganise au niveau cellulaire en réponse à ce stimuli.

D'un point de vu instrumental, le développement de l'instrumentation à base de microsonde devrait améliorer le SB et les résolutions spatiale et spectrale pour des mesures plus localisées.

# Annexe A

## A.1 Établissement des équations de Bloch

Pour une population de noyaux placée dans un champ magnétique  $\vec{B}$  :

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma \vec{M} \wedge \vec{B} \quad (\text{A1})$$

Soit,

$$\frac{d\vec{M}}{dt} = \gamma (M_x \vec{i} + M_y \vec{j} + M_z \vec{k}) \wedge (B_x \vec{i} + B_y \vec{j} + B_z \vec{k}) \quad (\text{A2})$$

Le produit vectoriel étant distributif, il vient :

$$\frac{d}{dt} (M_x \vec{i} + M_y \vec{j} + M_z \vec{k}) = \gamma (M_y B_z - M_z B_y) \vec{i} + \gamma (M_z B_x - M_x B_z) \vec{j} + \gamma (M_x B_y - M_y B_x) \vec{k} \quad (\text{A3})$$

Les composantes  $M_x$ ,  $M_y$  et  $M_z$  évoluent selon :

$$\frac{dM_x}{dt} = -\frac{M_x}{T_2}, \quad \frac{dM_y}{dt} = -\frac{M_y}{T_2}, \quad \frac{dM_z}{dt} = \frac{M_0 - M_z}{T_1} \quad (\text{A4})$$

Les équations de Bloch s'écrivent :

$$\frac{dM_x}{dt} = \gamma (M_y B_z - M_z B_y) - \frac{M_x}{T_2} \quad (\text{A5})$$

$$\frac{dM_y}{dt} = \gamma (M_z B_x - M_x B_z) - \frac{M_y}{T_2} \quad (\text{A6})$$

$$\frac{dM_z}{dt} = \gamma (M_x B_y - M_y B_x) + \frac{M_0 - M_z}{T_1} \quad (\text{A7})$$

## A.2 Résolution des équations de Bloch

Il s'agit d'un système différentiel du premier ordre à second membre variable que l'on résout par la méthode de Lagrange, dite de variation de paramètres. On pose d'abord :



$$\frac{dM_x}{dt} = -\frac{M_x}{T_2} \implies M_x = k_x e^{-t/T_2} \quad (\text{A8})$$

$$\frac{dM_y}{dt} = -\frac{M_y}{T_2} \implies M_y = k_y e^{-t/T_2} \quad (\text{A9})$$

$$\frac{dM_z}{dt} = \frac{M_0 - M_z}{T_1} \implies M_0 - M_z = k_z e^{-t/T_1} \quad (\text{A10})$$

On considère maintenant les  $k_x$ ,  $k_y$  et  $k_z$  comme des variables et on dérive, il vient :

$$\frac{dk_x}{dt} e^{-t/T_2} - \frac{k_x}{T_2} e^{-t/T_2} = \gamma(M_y B_z - M_z B_y) - \frac{M_x}{T_2} \implies \frac{dk_x}{dt} = \gamma e^{t/T_2} (M_y B_z - M_z B_y) \quad (\text{A11})$$

Un raisonnement analogue sur  $k_y$  et  $k_z$  conduit aux équations :

$$\frac{dk_y}{dt} = \gamma e^{t/T_2} (M_z B_x - M_x B_z) \quad (\text{A12})$$

$$\frac{dk_z}{dt} = \gamma e^{t/T_1} (M_y B_x - M_x B_y) \quad (\text{A13})$$

Les Eqs. (A8), (A9) et (A10) s'écrivent :

$$M_x = \gamma e^{-t/T_2} \int e^{t/T_2} (M_y B_z - M_z B_y) dt \quad (\text{A14})$$

$$M_y = \gamma e^{-t/T_2} \int e^{t/T_2} (M_z B_x - M_x B_z) dt \quad (\text{A15})$$

$$M_0 - M_z = \gamma e^{-t/T_1} \int e^{t/T_1} (M_y B_x - M_x B_y) dt \quad (\text{A16})$$

### A.3 Calcul des composantes $M_x$ , $M_y$ et $M_z$

En portant dans l'Eq. (A16) les valeurs de  $M_x$  et de  $M_y$ , on aura :

$$M_0 - M_z = \gamma e^{-t/T_1} \int e^{t/T_1} \left( e^{-t/T_1} \int e^{t/T_1} (B_x (M_z B_x - M_x B_z) - B_y (M_y B_z - M_z B_y)) dt \right) dt \quad (\text{A17})$$

$$M_0 - M_z = \gamma e^{-t/T_1} \int e^{t/T_1} (T_1 (M_z B_x^2 - B_z M_x B_x - B_z M_y B_y + M_z B_y^2)) dt \quad (\text{A18})$$

$$M_0 - M_z = e^{-t/T_1} \int e^{t/T_1} \gamma^2 T_1 M_z (B_x^2 + B_y^2) dt - e^{-t/T_1} \int e^{t/T_1} \gamma^2 T_1 B_z (M_x B_x + M_y B_y) dt \quad (\text{A19})$$

$$\begin{aligned}
M_0 - M_z &= e^{-t/T_1} \int e^{t/T_1} \gamma^2 T_1 \left( \int \frac{dM_z}{dt} (B_x^2 + B_y^2) dt \right) dt \\
&\quad - e^{-t/T_1} \int e^{t/T_1} \gamma^2 T_1 B_z (M_x B_x + M_y B_y) dt
\end{aligned} \tag{A20}$$

Soit avec  $B_x = B_1 \cos \theta$ ,  $B_y = -B_1 \sin \theta$  et  $B_z = B_1$

$$\begin{aligned}
M_0 - M_z &= e^{-t/T_1} \int e^{t/T_1} \gamma^2 T_1 T_2 B_1^2 \left( \int \frac{dM_z}{dt} dt \right) dt - \gamma^2 T_2 B_0 e^{-t/T_1} \int e^{t/T_1} \\
&\quad \left( e^{-t/T_1} \int \gamma e^{t/T_1} (B_x (M_y B_z - M_z B_y) + B_y (M_z B_x - M_x B_z)) dt \right) dt
\end{aligned} \tag{A21}$$

$$\begin{aligned}
M_0 - M_z &= \gamma^2 T_1 T_2 B_1^2 M_z - \gamma^2 T_2 B_0 e^{-t/T_1} \\
&\quad \left( \int e^{t/T_1} \gamma T_2 (B_x B_z M_y - B_x B_y M_z + B_x B_y M_z - B_y B_z M_x) dt \right) dt
\end{aligned} \tag{A22}$$

$$M_0 - M_z = \gamma^2 T_1 T_2 B_1^2 M_z - \gamma^2 T_2^2 B_0^2 \left( e^{-t/T_1} \int \gamma e^{t/T_1} (B_x M_y - M_z B_y) dt \right) \tag{A23}$$

Le terme entre parenthèses est égale à  $M_0 - M_z$  d'où

$$\begin{aligned}
M_0 - M_z &= \gamma^2 T_1 T_2 B_1^2 M_z - \gamma^2 T_2^2 B_0^2 (M_0 - M_z) \\
&\implies (M_0 - M_z) (1 + \gamma^2 T_2^2 B_0^2) = \gamma^2 T_1 T_2 B_1^2 M_z
\end{aligned} \tag{A24}$$

$$\boxed{M_z = M_0 \frac{1 + \gamma^2 T_2^2 B_0^2}{1 + \gamma^2 T_2^2 B_0^2 + \gamma^2 T_1 T_2 B_1^2 M_z}} \tag{A25}$$

En portant  $M_y$  dans  $M_x$ , on obtient :

$$M_x = \gamma e^{-t/T_2} \int e^{t/T_2} \left( B_z \left( e^{-t/T_2} \int e^{t/T_2} (M_z B_x - M_x B_z) dt \right) - M_z B_y \right) dt \tag{A26}$$

$$M_x = \gamma e^{-t/T_2} \int e^{t/T_2} (B_z T_2 \gamma (M_z B_x - M_x B_z) - M_z B_y) dt \tag{A27}$$

$$M_x = \gamma e^{-t/T_2} \int e^{t/T_2} (B_0 T_2 \gamma M_z B_x - M_x B_0^2 \gamma T_2 - M_z B_y) dt \tag{A28}$$

$$M_x = e^{-t/T_2} (\gamma e^{t/T_2} T_2 (M_z (B_0 T_2 \gamma B_x - B_0^2 \gamma T_2 M_x))) \tag{A29}$$

$$M_x (1 + \gamma^2 B_0^2 T_2^2) = M_0 \gamma T_2 B_1 \frac{1 + \gamma^2 B_0^2 T_2^2}{1 + \gamma^2 B_0^2 T_2^2 + \gamma^2 B_1^2 T_2 T_1} (\gamma B_0 T_2 \cos \omega t + \sin \omega t) \tag{A30}$$

$$\boxed{M_x = \frac{M_0 \gamma^2 B_1 T_2 (\gamma B_0 T_2 \cos \omega t + \sin \omega t)}{1 + \gamma^2 B_0^2 T_2^2 + \gamma^2 B_1^2 T_2 T_1}} \tag{A31}$$

En portant  $M_x$  dans  $M_y$ , il vient :

$$M_y = \gamma e^{-t/T_2} \int e^{t/T_2} \left( M_z B_x - B_z e^{-t/T_2} \left( \int e^{t/T_2} (M_y B_z - M_z B_y) dt \right) \right) dt \quad (\text{A32})$$

$$M_y = \gamma e^{-t/T_2} \int e^{t/T_2} (M_z B_x - \gamma T_2 B_0^2 M_y + \gamma T_2 B_0 M_z B_y) dt \quad (\text{A33})$$

$$M_y = -\gamma^2 T_2 B_0^2 \int dM_y dt + e^{-t/T_2} \int e^{t/T_2} \left( \int \frac{dM_z}{dt} (B_x + \gamma T_2 B_0 B_y) dt \right) dt \quad (\text{A34})$$

$$M_y (1 + \gamma^2 B_0^2 T_2^2) = \gamma T_2 B_1 M_z (\cos \omega t - \gamma T_2 B_0 \sin \omega t) \quad (\text{A35})$$

$$\boxed{M_y = \frac{M_0 \gamma^2 B_1 T_2 (\cos \omega t - \gamma T_2 B_0 \sin \omega t)}{1 + \gamma^2 B_0^2 T_2^2 + \gamma^2 B_1^2 T_2 T_1}} \quad (\text{A36})$$

Toutes les composantes dépendent du champ radiofréquence  $B_1$  et deviennent négligeables lorsque  $B_1$  est élevé, si bien qu'on ne peut plus rien observer, on dit alors qu'il y a saturation. Le terme  $\gamma^2 B_1^2 T_2 T_1$  est appelé facteur de saturation. Afin d'éviter cette saturation, on le prend toujours négligeable devant l'unité. La courbe de dispersion et la courbe de résonance sont des parties de ces composantes pour  $t = 0$ , alors :

$$M_x = \frac{M_0 \gamma^2 B_0 B_1 T_2^2}{1 + (\gamma B_0)^2 T_2^2} \quad (\text{A37})$$

$$M_y = \frac{M_0 \gamma B_1 T_2}{1 + (\gamma B_0)^2 T_2^2} \quad (\text{A38})$$

Ces démonstrations ont été tirées à partir de [86].

## A.4 Détection du signal RMN

Les ondes électromagnétiques mises en jeu en résonance magnétique nucléaire (spectroscopie et imagerie) ont des fréquences dans la gamme de quelques mégahertz à plusieurs centaines de mégahertz. La digitalisation de tels signaux exige l'acquisition d'un grand nombre d'échantillon. Il est donc très délicat de numériser de telles fréquences avec une bonne dynamique. Afin de remédier à cette limitation, on a recours à diminuer la fréquence du signal avant de le digitaliser. Le schéma de la figure ci-dessous illustre le principe utilisé dans les spectromètre et imageur par RMN pour abaisser cette fréquence.

Afin de mieux illustrer notre propos, nous allons considérer que la fréquence du signal (fréquence de *Larmor*) est de  $\omega_0 = 200 \text{ MHz}$ . Le signal est mixer (de façon analogique) avec un signal émanant du synthétiseur à la fréquence  $\omega_{syn} = 199.99 \text{ MHz}$ . La représentation mathématique du signal qui sort du mixeur s'écrit comme suit :

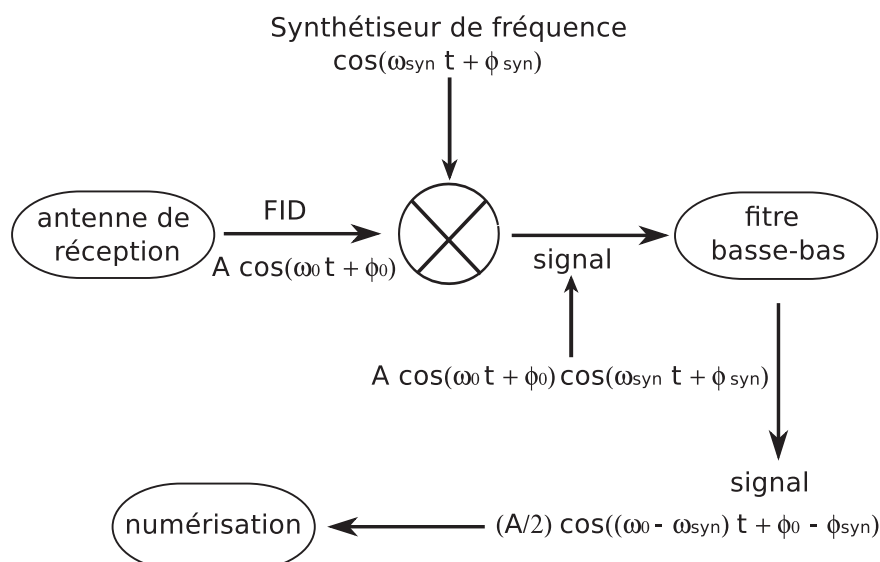


Fig. 1A: Détection simple du signal RMN.

$$A \cos(\omega_0 t + \phi_0) \times \cos(\omega_{syn} t + \phi_{syn}) = \frac{A}{2} [\cos((\omega_0 + \omega_{syn})t + \phi_0 + \phi_{syn}) + \cos((\omega_0 - \omega_{syn})t + \phi_0 - \phi_{syn})] \quad (\text{A39})$$

À partir de cette équation on observe aisément que le signal contient deux fréquences  $\omega_0 + \omega_{syn}$  ( $399.99 \text{ MHz}$ ) et  $\omega_0 - \omega_{syn}$  ( $0.01 \text{ MHz}$ ). Le filtre passe-bas élimine la composante haute fréquence  $\omega_0 + \omega_{syn}$ . À partir de ce procédé, la composante basse fréquence  $0.01 \text{ MHz}$  peut être facilement numériser avec une bonne dynamique.

Le schéma de la Fig. 2A illustre le principe de la détection en quadrature du signal RMN. Le signal qui sort des filtres est sous forme complexe et il a pour expression :  $s(t) = \exp[j((\omega_0 - \omega_{syn})t + \phi_0 - \phi_{syn})]$ .

Il en découle que le signe de  $\omega_0 - \omega_{syn}$  est préservé contrairement à la détection simple (pas possible de savoir si  $\omega_0 > \omega_{syn}$  ou l'inverse). En outre, la TF de ce signal complexe donne une seule raie (deux raies symétriques d'amplitude  $A/4$  en détection simple) d'amplitude  $A/2$ . La détection en quadrature permet d'acquérir un signal d'amplitude deux fois plus importante par rapport à celle en détection simple.

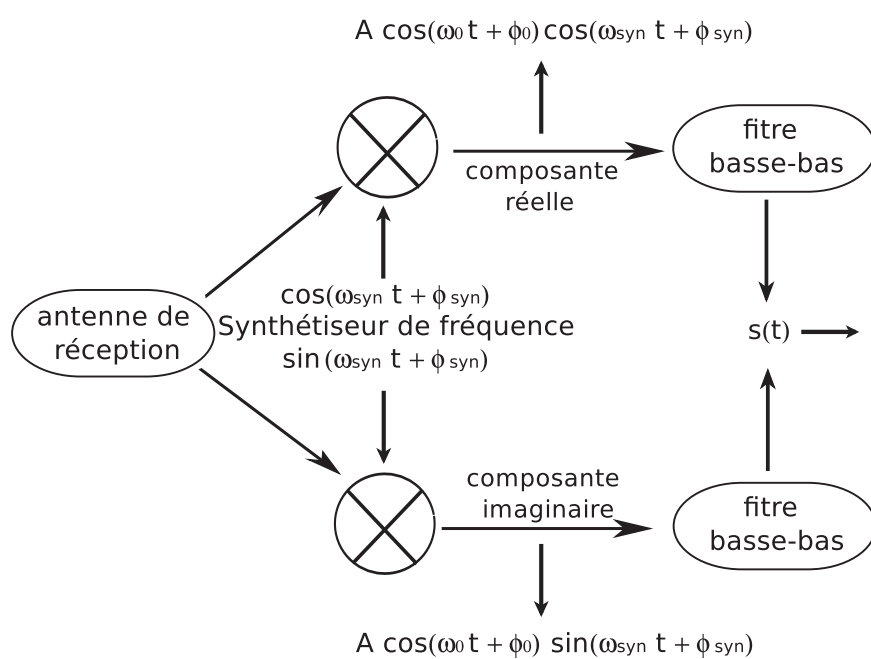


Fig. 2A: Détection en quadrature du signal RMN.

## Annexe B

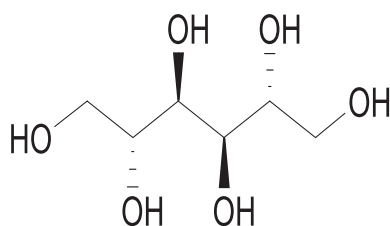


Fig. 1B: Representation du *Mannitol*.

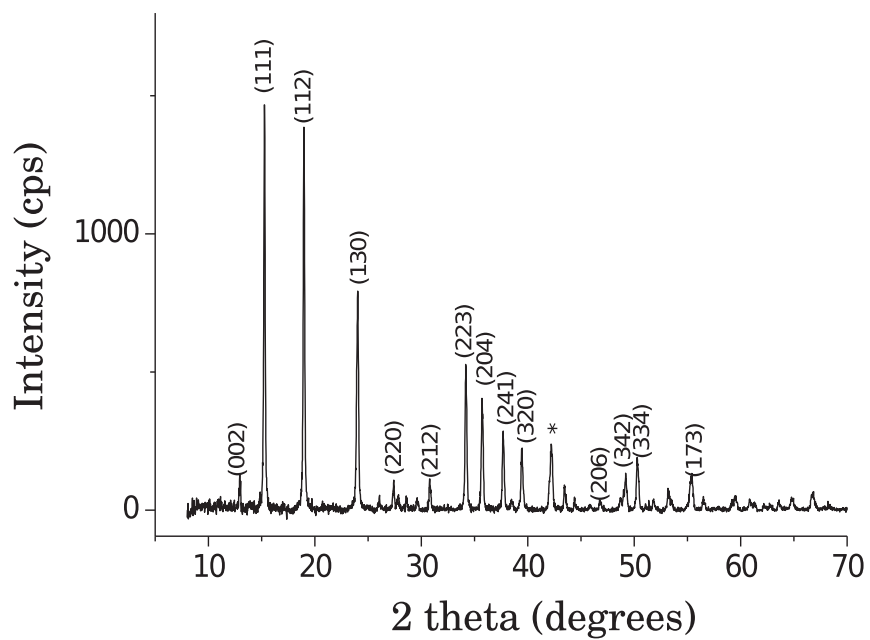


Fig. 2B: Diffractogramme DRX du  $Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/Mannitol$ .

## Annexe C

```
1 clear all;
2 clc;
3 close all;
4
5 int1 = load('/home/samir/DataTxt/tube1.txt');
6 int2 = load('/home/samir/DataTxt/tube2.txt');
7 int3 = load('/home/samir/DataTxt/tube3.txt');
8 int4 = load('/home/samir/DataTxt/tube4.txt');
9 int5 = load('/home/samir/DataTxt/tube5.txt');
10
11 S2 = [int1(12 deg) , int2(12 deg) , int3(12 deg) , int4(12 deg) , int5(12 deg)];
12 S1 = [int1(58 deg) , int2(58 deg) , int3(58 deg) , int4(58 deg) , int5(58 deg)];
13
14 theta1min = initialisation de la valeur minimale;
15 theta1max = initialisation de la valeur maximale;
16 theta2min = initialisation de la valeur minimale;
17 theta2max = initialisation de la valeur maximale;
18
19 er = 0.10; erreur de 10%
20 ntheta1 = nombre d'itération pour theta1;
21 ntheta2 = nombre d'itération pour theta2;
22 nD = 10;
23
24 T1 = [240, 410, 745, 890, 1280]; % T1 mesurés par la séquence
25 inversion-récupération
26
27 for itheta1 = 1:ntheta1
28     for itheta2 = 1:ntheta2
29
30     theta1 = (theta1max - theta1min)*itheta1/ntheta1 + theta1min;
31     theta2 = (theta2max - theta2min)*itheta2/ntheta2 + theta2min;
32
33     theta1 = theta1.*pi/180;
```

```

34 theta2 = theta2.*pi/180;
35
36     for ii = 1:5
37
38 xi(itheta1,itheta2) = 0;
39
40         for it1 = -nD:nD
41             for it2 = -nD:nD
42
43 alpha1 = theta1*(1+er*it1/nD);
44 alpha2 = theta2*(1+er*it2/nD);
45
46 NUMER = S1(ii)*sin(theta2)-S2(ii)*sin(theta1);
47 DENUM = S1(ii)*cos(theta1)*sin(theta2)-S2(ii)*cos(theta2)*sin(theta1);
48
49 expo = NUMER./DENUM;
50
51 expo(expo < 0) = NaN;
52 expo(expo > 1) = NaN;
53
54 T1imagerie(itheta1,itheta2) = -110./log(expo);
55
56 xi(itheta1,itheta2) = xi(itheta1,itheta2) + abs(T1(ii) -
57 T1imagerie(itheta1,itheta2));
58
59         end
60     end
61 end
62 end
63 end
64
65 [iteta1opti, iteta2opti] = find(xi==min(xi(:)));
66
67 teta1opti = (theta1max - theta1min)*iteta1opti/ntheta1 + theta1min;
68 teta2opti = (theta2max - theta2min)*iteta2opti/ntheta2 + theta2min;
69
70 fig1 = figure('color',[1 1 1]);
71 contourf(xi./max(xi(:)))
72 colorbar
73 set(gca,'XTickLabel',xhandle,'YTickLabel', yhandle)
74 xlabel('\theta_2 (degrees)')
75 ylabel('\theta_1 (degrees)')

```



# Annexe D

## D.1 Traitement du signal RMN

Dans cette annexe, nous tenterons de décrire succinctement les différentes étapes de traitement du signal RMN que nous avons effectué par programmation informatique sous *MATLAB* pour traiter les données. Tout d'abord on récupère les fichiers de données (FID) brut (en binaire) au format (\*.tnt) que nous lisons sous *MATLAB*. Une fois le fichier est lu, nous procédons à une série d'étapes du traitement (prétraitement) de la FID. Cette étape de prétraitement a pour objectif principal l'amélioration de la qualité des images après *Transformée de Fourier*. Les différentes procédures de traitement sont énumérées comme suit :

### D.1.2 Correction de la ligne de base

Cette opération vise à corriger la ligne de base des spectres et les échos. Elle permet d'en améliorer l'aspect ainsi que la précision des calculs (Amplitude, intégrale, temps de relaxation, largeur à mi-hauteur ...). Lorsque la ligne de base des spectres n'est pas totalement plane, l'identification des pics d'intérêt se révèle plus compliqué. On peut corriger cette ligne de base, en faisant un ajustement (fitting) de ses points par une fonction polynomiale, ou bien par une série de fonctions sinusoïdales ou par un simple calcul de leurs moyenne. Pour traiter nous données RMN, nous avons systématiquement procédé au calcul de la moyenne des points de la ligne de base, qu'on retranche ensuite au spectre.

### D.1.3 Zéro filling

La résolution spectrale pourrait être améliorée par le *Zéro filling*. Cette opération consiste à rajouter artificiellement des zéros dans la FID. Pour une FID acquise avec  $N$  points ( $N$  échantillons), sa *Transformée de Fourier* produira  $\frac{N}{2}$  points complexes. Si l'on s'intéresse uniquement à la partie réelle du spectre, on disposera que la moitié de l'information. Par ailleurs, si on rajoute, par exemple,  $N$  zéros à la FID on aurait récupéré les  $\frac{N}{2}$  informations restantes. Ceci résulte du fait que la *Transformée de Fourier* de  $2N$  points, nous donnera  $N$  informations sur la partie réelle et  $N$

informations sur la partie imaginaire du spectre. Afin de traiter nos données, nous avons systématiquement rajouté un *Zéro filling*.

### D.1.4 Apodisation

Très souvent en RMN, le signal est tronqué avant que ce dernier ait une valeur nulle de façon permanente. Alors, on observe une discontinuité brutale dans la FID. La *Transformée de Fourier* d'un tel signal va engendrer des oscillations d'amplitudes plus au moins grandes autour des pics d'intérêt. Ces oscillations sont pénalisantes car elles modifient l'allure des spectres et par conséquent, elles peuvent influencer négativement la qualité des images qui se manifestent par l'apparition de spots très intenses. Ceci peut également fausser l'interprétation des images. L'apodisation a pour but donc d'adoucir ces discontinuités de la FID. Mathématiquement, cette opération consiste à multiplier, dans le domaine temporel, le signal RMN par des *fonctions d'apodisation*. Parmi les fonctions les plus utilisées, on peut citer : *gaussienne*, *exponentielle*, *lorentzienne* et la *fonction triangle*. Pour le traitement de nos données nous avons eu toujours recours à la fonction gaussienne deux dimensions.

### D.1.5 Correction de phase

Mathématiquement, le signal RMN enregistré par une détection en quadrature, est sous forme complexe. La *Transformée de Fourier* d'un tel signal aura comme résultat une partie réelle  $R(\omega)$  et une partie imaginaire  $I(\omega)$ , déphasées de  $\frac{\pi}{2}$ . En raison des déphasages ( $\phi_0$  et  $\phi_1$ ), les composantes d'absorption  $A(\omega)$  et de dispersion  $D(\omega)$  pures, s'écrivent comme des combinaisons linéaires des parties réelle et imaginaire, selon :

$$R(\omega) = A(\omega) \cos(\phi) + D(\omega) \sin(\phi) \quad (\text{D1})$$

$$I(\omega) = A(\omega) \sin(\phi) - D(\omega) \cos(\phi) \quad (\text{D2})$$

La phase à corriger s'écrit comme suit :

$$\phi(\omega) = \phi_0 + \phi_1\omega \quad (\text{D3})$$

Avec  $\phi_0$  est le déphasage constant, associé au fait que la phase du récepteur n'est pas parfaitement alignée sur la phase d'émission.  $\phi_1$  décalage de phase associé à la précession des aimantations durant l'intervalle de temps qui sépare l'excitation de la détection. Ainsi, les composantes d'absorption et de dispersion pures sont recalculées par les expressions :

$$A(\omega) = R(\omega) \cos(\phi) + I(\omega) \sin(\phi) \quad (\text{D4})$$

$$D(\omega) = R(\omega) \sin(\phi) - I(\omega) \cos(\phi) \quad (\text{D5})$$

# Annexe E

## E.1 Temps de relaxation $T_1$ et $T_2$ dans les tissus

Dans les tissus biologiques, les molécules d'eau sont soumises à des mouvements de rotation (caractérisé par un temps de corrélation  $\tau_R$ ), de translation (caractérisé par un temps de corrélation  $\tau_T$ ) et des échanges de protons. Le schéma de la Fig. 1E illustre ces différents mouvements.

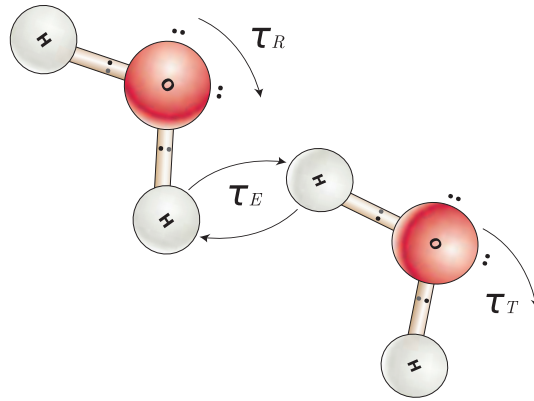


Fig. 1E: Structure dynamique de l'eau dans les tissus biologiques.

Bloembergen-Purcell et Pound ont montré que dans un mouvement moléculaire isotrope ( $\tau_R = \tau_T = \tau_c$ ), caractérisé par un temps de corrélation  $\tau_c$ . Les temps de relaxation  $T_1$  et  $T_2$  sont donnés par :

$$\frac{1}{T_1} = A \left( \frac{\tau_c}{1 + \omega_0^2 \tau_c^2} + \frac{4\tau_c}{1 + 4\omega_0^2 \tau_c^2} \right) \quad (\text{E1})$$

$$\frac{1}{T_2} = A \left( 3\tau_c + \frac{5\tau_c}{1 + \omega_0^2 \tau_c^2} + \frac{2\tau_c}{1 + 4\omega_0^2 \tau_c^2} \right) \quad (\text{E2})$$

$A$ , mesure l'intensité d'interaction dipolaire, c'est-à-dire le couplage inter et intramoléculaire. La structure dynamique de l'eau libre dans les tissus s'apparente à celle

de l'eau pure ( $\tau_c = 10^{-12}$  sec), il vient alors que  $\omega_0\tau_c \ll 1$ . Dans ce cas les  $T_1$  et  $T_2$  s'écrivent :

$$T_1 = \frac{1}{5A\tau_c} \quad (\text{E3})$$

$$T_2 = \frac{1}{10A\tau_c} \quad (\text{E4})$$

Il en ressort des Eqs. (E3) et (E4) que les temps de relaxation diminuent au fur à mesure que la mobilité des molécules d'eau est réduite. Les temps de corrélation de l'eau liée dans les tissus est de l'ordre :  $\tau_c = 10^{-6}$  à  $10^{-4}$  sec. Il en découle que  $\omega_0\tau_c \gg 1$ . Dans ce cas les  $T_1$  et  $T_2$  s'écrivent :

$$T_1 = \frac{\omega_0^2\tau_c}{2A} \quad (\text{E5})$$

$$T_2 = \frac{1}{3A\tau_c} \quad (\text{E6})$$

Le  $T_1$  augmente donc comme  $\omega_0^2$  dans les tissus. Les variations de  $T_1$  avec la fréquence dépendent des tissus et que leur contraste diminue quand  $\omega_0$  augmente. À partir des Eqs. (E5) et (E6), on observe qu'à  $\omega_0\tau_c = 1$  (la période des mouvements moléculaires est de l'ordre de celle de Larmor), le  $T_1$  augmente alors que le  $T_2$  continue de diminuer. Lorsque la structure devient rigide  $\Rightarrow T_1 \gg T_2$ .

## E.2 Modèles tissulaire

Dans l'eau pure, aux fréquences RMN standards, les molécules d'eau ont des mouvements rapides et le temps de corrélation correspondant est court ( $\omega_0\tau_c \ll 1$ ). Dans ce cas les temps de relaxation  $T_1$  et  $T_2$  sont égaux, ayant une valeur d'environ 3 s. La situation dans les tissus biologiques est radicalement différente. La relaxation *spin-spin* souvent ne peut être ajustée par une mono-exponentielle et doit être analysée en terme d'un processus multi-exponentiel. La relaxation *spin-réseau* dans les tissus est généralement mono-exponentielle. Un certain nombre de théorie ont été mise en avant au sujet de la nature de l'eau dans les tissus. Dans ce qui suit nous allons mettre en exergue la théorie la plus répandue, la *théorie de l'eau structurée*, afin d'expliquer la réduction des temps de relaxation dans les tissus. Elle présente aussi l'avantage du fait que certaines de ses prédictions les plus importantes peuvent être soumises à des testes expérimentaux. Dans cette théorie, les macromolécules et les ions confèrent à l'eau intracellulaire une sorte de semi-cristalinité, et c'est cette réduction de la liberté de mouvement qui explique les temps de relaxation courts. Cette théorie stipule que la majorité de l'eau des tissus se comporte exactement comme l'eau pure (eau libre), mais il existe une petite mais significative fraction d'eau liée aux macromolécules. À cet effet, il y a une preuve directe dans l'observation d'une certaine fraction d'eau des tissus qui reste non congelée à une température inférieure à 0 °C. Cette fraction caractérisée par une mobilité réduite est directement

associée à la phase liée. Toutefois, il faut reconnaître d'emblée que la nature structurale complexe de l'environnement cellulaire ne peut pas être correctement décrite par deux phases, deux temps de corrélation, particulièrement quand il s'agit de la relaxation *spin-spin*, pour laquelle l'effet du mouvement anisotrope peut bien être important. Cependant, un tel modèle offre une idée, d'au moins qualitativement, des processus de relaxation possibles dans les tissus biologiques.

### E.2.1 Modèles à échanges lents $T_i \ll \tau_{ei}$

Le  $\tau_{ei}$  étant les différents temps d'échange. Dans ces modèles, les courbes de relaxation ont un comportement multi-exponentiel correspondant à des phases qui ne sont pas en échange ou caractérisées par un échange entre phases extrêmement long, tel que :

$$M = M_0 \sum_i P_i e^{-\frac{t}{T_i}} \quad (\text{E7})$$

$T_i$ , temps de relaxation de la  $i^{\text{me}}$  phase.  $P_i$  représente, la proportion des protons dans chaque phase, de telle sorte qu'on aura :

$$\sum_i P_i = 1 \quad (\text{E8})$$

Dans ce modèle, chaque phase protonique relaxe indépendamment.

### E.2.2 Modèles à échanges rapides $T_i \gg \tau_{ei}$

Le  $\tau_e$  vaut environ  $10^{-6}$  sec, valeur négligeable devant les temps de relaxation habituellement mesurés dans les tissus. Ces modèles décrivent bien donc les échanges entre les protons des molécules d'eau libres et liées. Ainsi, les courbes de relaxation ont un comportement mono-exponentiel tel que :

$$M = M_0 e^{-t \sum_i \frac{P_i}{T_i}} \quad (\text{E9})$$

Le système de spin relaxe ainsi de façon exponentielle à un taux qui correspond à la moyenne pondérée des taux de relaxation dans les différentes phases, il vient :

$$\frac{1}{T_1} = \sum_{i=1}^n \frac{P_i}{T_i} \quad (\text{E10})$$

Dans ce modèle, les temps de relaxation présenteront des valeurs moyennes des différentes phases. Dans le cas intermédiaire (entre les échanges rapides et longs) les courbes de relaxation ne sont plus exponentielles.

### E.2.3 Relation entre teneur en eau et les temps de relaxation

Considérant maintenant que les proportions des protons libres ( $P_f$ , l'indice  $f$  pour "free") et liés ( $P_b$ , l'indice  $b$  pour "bound") sont caractérisées respectivement, par les temps de relaxation  $T_f$  et  $T_b$ . Notons que la structure dynamique de l'eau libre s'apparente à celle de l'eau pure. L'Eq. (E11) régit les échanges rapides entre l'eau libres et l'eau liées dans les tissus biologiques. Nous allons maintenant examiner la corrélation entre la proportion d'eau et le temps de relaxation  $T_1$ . Si on considère le modèle à deux phases avec échange rapide des protons des tissus et tenant compte de l'Eq. (E10), nous pouvons réécrire l'expression du taux de relaxation selon :

$$\frac{1}{T_1} = \left(\frac{1}{T_1}\right)_f + P_b \left( \left(\frac{1}{T_1}\right)_b - \left(\frac{1}{T_1}\right)_f \right) \quad (\text{E11})$$

Généralement dans les tissus biologiques, nous avons  $(1/T_1)_f \ll (1/T_1)_b$ . Il devient évident, à condition que le  $(1/T_1)_b$  n'est pas fonction de  $P_b$ , le taux de relaxation  $(1/T_1)$  est directement proportionnel à la fraction de l'eau liée. Donc on conclut que l'augmentation de la quantité d'eau modifie spontanément les temps de relaxation des protons tissulaires. De plus, l'accroissement de la fraction d'eau libre ( $P_f$ ) induit une augmentation du temps de relaxation.

L'étude présentée dans cette Annexe, a été menée sur la base des références [11][19][86].

# Publications et encadrements

Les travaux de recherche réalisés dans le cadre de cette thèse ont fait l'objet d'un certain nombre de publications, communications et encadrements d'étudiants.

## *Publications*

- **S. Kenouche**, J. Larionova, N. Bezzi, Y. Guari, M. Cieslak, M. Zanca, L. Lartigue, N. Bertin, C. Godin and C. Goze-Bac. NMR investigation of functionalized magnetic nanoparticles  $Fe_3O_4$  as  $T_1$  and  $T_2$  - contrast agents. *Powder Technology* ( **2013**), doi : 10.1016/j.powtec.2013.07.038.
- **S. Kenouche**, M. Perrier, N. Bertin, J. Larionova, A. Ayadi, M. Zanca, J. Long, N. Bezzi, P. Stein, Y. Guari, M. Cieslak, C. Godin and C. Goze-Bac. *In vivo* quantitative NMR imaging of fruit tissues during growth using spoiled gradient echo sequence. **Submitted to Magnetic Resonance Imaging.**
- M. Perrier, **S. Kenouche**, J. Long, T. Kalaivani, J. Larionova, C. Goze-Bac, A. Lascialfari, N. Baril, C. Guérin, B. Donnadiou, A. Trifonov and Y. Guari. *Investigation on NMR Relaxivity of Nano-Sized Cyano-Bridged Coordination Polymers.* **2013, Ameri. Chem. Soc. Inorg. Chem.**, 52, 13402-13414.
- E.M. Halidi, E. Nativel, L. Williame, M. Akel, **S. Kenouche**, E.C. Keleau, C. Coillot, E. Alibert, R. Schimpf, M. Zanca, P. C. Stein and C. Goze-Bac. *Evanescence Waves Nuclear Magnetic Resonance.* **2013**, under submission.
- M. Perrier, A. Gallud, A. Ayadi, J. Long, **S. Kenouche**, J. Larionova, C. Goze-Bac, M. Zanca, M. Garcia, M. Gary-Bobo, I. Basile, N. Baril and Y. Guari. *Cyano-Bridged Coordination Nanoparticles  $Gd^{3+}[Fe(CN)_6]^{3-}/D$  - mannitol as a new  $T_1$ -weighted MRI Contrast Agent.* **2013**, under submission.

## *Communications*

- **S. Kenouche**, N. Bezzi and C. Goze-Bac, Quantitative investigation in NMR imaging : a robust method for NMR parameters mapping of plant tissues. *Journée des doctorants, 21<sup>th</sup> édition. Campus St Priest Montpellier - France* (poster). **Mai 2013**

<http://www.doctiss2013.fr/programme/>

- M. Cieslak, F. Boudon, **S. Kenouche**, M. Zanca, C. Goze-Bac, M. Génard, C. Godin and N. Bertin, Generating 3D volumetric meshes of internal and external fruit structure. *Models for Plant Growth, Environmental Control and Farm Management in Protected Cultivation. Acta Horticulturae. Nanjing - China* (article conférence). **Novembre 2012**

<http://www-sop.inria.fr/virtualplants/Publications/2012/CBKZGGGB12/>

[http://www.actahort.org/books/957/957\\_27.htm](http://www.actahort.org/books/957/957_27.htm)

- **S. Kenouche**, G. Morrot, J. Larionova, N. Bezzi, Y. Guari, M. Cieslak, M. Zanca, N. Bertin, C. Godin and C. Goze-Bac, Spectroscopie et imagerie RMN appliquées en agronomie. *13<sup>ème</sup> Journées de la Matière Condensée de la Société Française de Physique. Montpellier - France* (oral). **Août 2012**

[http://jmc13.univ-montp2.fr/IMG/pdf/book\\_jmc13.pdf](http://jmc13.univ-montp2.fr/IMG/pdf/book_jmc13.pdf)

- **S. Kenouche**, J. Larionova, N. Bezzi, Y. Guari, M. Cieslak, M. Zanca, N. Bertin, C. Godin and C. Goze-Bac, NMR investigation of functionalized magnetic nanoparticles  $Fe_3O_4$  as  $T_1$  and  $T_2$  - contrast agents. *7<sup>ème</sup> colloque Science et Technologie des Poudres. Institut National Polytechnique Toulouse - France* (oral). **Juillet 2012**.

[http://inpact.inp-toulouse.fr/STP2012/images/Programme\\_STP2012\\_FINAL220612.pdf](http://inpact.inp-toulouse.fr/STP2012/images/Programme_STP2012_FINAL220612.pdf)

- **S. Kenouche**, N. Bezzi and C. Goze-Bac, Development and optimization of FLASH sequence in NMR imaging. *Journée des doctorants, 20<sup>th</sup> edition. Campus St Priest Montpellier - France* (oral). **Juin 2012**

<http://www.doctiss.info/programme/>

- M. Cieslak, M. Génard, **S. Kenouche**, C. Goze-Bac, C. Godin and N. Bertin, Towards a 3D virtual fruit model integrating fruit architecture and physiology. *IX International Symposium on Modelling in Fruit Research and Orchard Management - Canada* (article conférence). **Avril 2011**

<https://www-sop.inria.fr/virtualplants/Publications/2011/CGKGGB11/>

- **S. Kenouche**, N. Bezzi, N. Bertin, M. Zanca, M. Génard and C. Goze-Bac,



New contrast Nuclear Magnetic Resonance Imaging agents for agronomy. *Journée des doctorants, 19<sup>th</sup> edition. Campus St Priest Montpellier - France* (poster). **Mai 2011**

<http://www2.lirmm.fr/doctiss11/>

*Encadrements*

- Mars - Juin 2012 (Montpellier) : M. Vladimir Caillat, stagiaire en Licence Professionnelle "Contrôle et Mesure de la lumière et de la Couleur", de l'Université Montpellier 2. Le sujet de stage portait sur le "Traitement d'images IRM". Le stagiaire a été formé aux séquences IRM et à leur mise en œuvre sur un imageur 4.7 Tesla Tecmag ainsi qu'aux traitement des données et à leur interprétation sous le logiciel Matlab.
  
- Mai - Juillet 2012 (Montpellier) : M. Housseem Omrani, Master 2 Physique Recherche "Physique de la matière condensée" de l'Université de Sfax, Tunisie. Le sujet de stage portait sur les "Études RMN du graphène". Le stagiaire a été formé aux séquences RMN ainsi qu'au traitement des données et à leur interprétation sous le logiciel Matlab.

# Bibliographie

- [1] Borisjuk L., Rolletschek H. and Neuberger T., Surveying the plant's world by magnetic resonance imaging, *the plant journal*, 70, 129-146, 2012.
- [2] Chudek J. A. and Hunter G., Magnetic resonance imaging of plants, *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 31, 43-62, 1997.
- [3] Xia Y., Contrast in NMR Imaging and Microscopy, *Concepts in Magnetic Resonance*, 8, 3, 205-225, 1996.
- [4] Köckenberger W., Nuclear magnetic resonance micro-imaging in the investigation of plant cell metabolism, *J. Exp. Bot.*, 52, 356, 641-652, 2001.
- [5] Génard M., Robin C., Gautier H., Massot C., Bénard C., Larbat R., Bertin N., Le Bot J., Adamowicz S. and Bourgaud F., Elaboration de la qualité du fruit : composition en métabolites primaires et secondaires, *Innovations Agronomiques*, 9, 47-57, 2010.
- [6] Geraldès C. and Laurent S., Classification and basic properties of contrast agents for magnetic resonance imaging, *Contrast Media Mol. Imaging*, 4, 1-23, 2009.
- [7] De Souza J.A.R, Moreira D.A. and Coelho D.F., Growth and development physiology of tomato fertirrigated with wastewater from swine, *An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, 5, 80-93, 2010.
- [8] Hopkins W., Rambourg S. and Evard C.M., physiologie végétale, De Boeck, 2ème édition, 2003, USA.
- [9] Esnault R., Lance C., physiologie végétale, Dunod, 6ème édition, 2004, France.
- [10] Windt C. W., Nuclear magnetic resonance imaging of sap flow in plants, *Thesis : Wageningen University*, 2007, Netherlands.
- [11] Callaghan P. T., Principles of Nuclear Magnetic Resonance Microscopy, *Oxford science publication*, 1993.

- [12] Levitt M. H., spin dynamics : Basics of Nuclear Magnetic Resonance, *Wiley-Liss*, 2001.
- [13] Abragam A., Principles of Nuclear Magnetism, *Oxford science publication*, 1983.
- [14] Brown M. A., Richard C. and Semelka M. D., MRI : Basic Principles and Applications, *Wiley-Liss*, 2003.
- [15] Haacke E. M., Brown R. W., Thompson M. R. and Venkatesan R., magnetic resonance imaging : Physical Principles and Sequence Design, *Wiley-Liss*, 1999.
- [16] Bernstein M. A., King K. F. and Zhou X. J., MRI : Pulse Sequences, *Elsevier academic press*, 2004.
- [17] Abragam A., Les principes du magnétisme nucléaire, *Bibliothèque des sciences et techniques nucléaires*, 1961.
- [18] Canet D., La RMN : concepts et méthodes, *InterEditions*, 1991.
- [19] Martin M. L., Delpuech J. J. and Martin G. J., Practical NMR Spectroscopy, *Heyden & Son*, 1980.
- [20] Marshall A. and Verdun F., Transformée de Fourier : applications en RMN et IRM, *Masson*, 1995.
- [21] Rodriguez A. O., Principles of magnetic resonance imaging, *Revista mexicana de fisica*, 3, 5, 272-286, 2004.
- [22] Ramalho S. S., Borges N. M. and Filho W. W., Images by nuclear Magnetic Resonance. A Modified Version of the EPI Method, *Brazilian Journal of physics*, 31, 2, 308-316, 2001.
- [23] Muse M., Cambert M. and Mariette F., NMR study of water distribution inside tomato cells : Effect of water stress, *Applied Magnetic Resonance*, 38, 4, 455-459, 2010.
- [24] Duval F., Cambert M. and Mariette F., NMR study of tomato pericarp tissue by spin-spin relaxation and water self-diffusion, *Applied Magnetic Resonance*, 28, 2, 29-40, 2005.
- [25] Marigheto N. A., Moates G. K., Furfaro M. E., Waldron K. W. and Hills B. P., Characterization of Ripening and Pressure-Induced Changes in Tomato pericarp Using NMR Relaxometry, *Applied Magnetic Resonance*, 36, 1, 35-47, 2009.
- [26] Sibgatullin T. A., Anisimov A. V., Jager P. A., Vergeldt F. J., Gerkema E. and Van as H., Analysis of diffusion and relaxation behavior of water in parenchymal cells, *Biofizika*, 52, 2, 268-276, 2007.
- [27] Zhang L. and McCarthy M. J., Measurement and evaluation of tomato maturity using magnetic resonance imaging, *Postharvest Biology and Technology*, 67, 37-43, 2012.

- [28] Cheng Y., Wang T., Chen J. and Lin T., Spatial-temporal analyses of lycopene and sugar contents in tomatoes during ripening using chemical shift imaging, *Postharvest Biology and Technology*, 62, 17-25, 2011.
- [29] Musse M., Quellec S., Devaux M. F., Cambert M., Lahaye M. and Mariette F., An investigation of the structural aspects of the tomato fruit by means of quantitative nuclear magnetic resonance imaging, *Magnetic Resonance Imaging*, 27, 5, 709-719, 2009.
- [30] Ishida N., Kobayashi T., Koizumi M. and Kano H., NMR Imaging of Tomato Fruits, *Agric. Biol. Chem.*, 53, 9, 2363-2367, 1989.
- [31] Windt C. W., Vergeldt F. J., Jager P. A. and Van As H., MRI long-distance water transport : a comparison of the phloem and xylem flow characteristics and dynamics in poplar, castor, beam, tomato and tobacco, *Plant Cell and Environment*, 29, 1715-1729, 2006.
- [32] Guichard S., Gary C., Leonardi C. and Bertin N., Analysis of growth and water relations of tomato fruits in relation to air vapor pressure deficit and plant fruit load, *Journal of Plant Growth Regulation*, 24, 201-213, 2005.
- [33] Plaut Z., Grava A., Yehezkel C. and Matan E., How do salinity and water stress affect transport of water, assimilates and ions to tomato fruits?, *Physiologia Plantarum*, 122, 4, 429-442, 2004.
- [34] Windt C. W., Gerkema E. and Van As H., Most Water in the Tomato Truss Is Imported through the Xylem, Not the Phloem : A Nuclear Magnetic Resonance Flow Imaging Study, *American Society of Plant Biologists*, 151, 2, 830-842, 2009.
- [35] Van der Weerd L., Claessens M., Efde C. and Van As H., Nuclear magnetic resonance imaging of membrane permeability changes in plants during osmotic stress, *Plant Cell and Environment*, 25, 1539-1549, 2002.
- [36] Windt C. W., Nuclear Magnetic Resonance imaging of sap flow in plants, *Thèse de Doctorat*, Pays-Bas, 2007.
- [37] Van As H., Scheenan T. and Vergeldt F. J., MRI of intact plants, *Photosynth. Res.*, 102, 213-222, 2009.
- [38] Edzes H. T., Dusschoten D. V. and Van As H., Quantitative  $T_2$  imaging of plant tissues by means of multi-echo MRI microscopy, *Magnetic Resonance Imaging*, 16, 2, 185-196, 1998.
- [39] Ishida N., Koizumi M. and Kano H., The NMR Microscope : a Unique and Promising Tool for Plant Science, *Annals of Botany*, 86, 259-278, 2000.

- [40] Scheenen T. W. J., Vergeldt A. M., Heemskerk A. M. and Van As H., Intact plant Magnetic Resonance Imaging to Study Dynamic in Long-Distance Sap Flow Conducting Surface Area, *American Society of Plant Biologists*, 144, 2, 1157-1165, 2007.
- [41] Yang D., Ye Q., Williams M., Sun Y., Hu T.C.C., Williams D.S., Moura J.M.F., Ho C., USPIO-Enhanced Dynamic MRI : Evaluation of Normal and Transplanted Rat Kidneys, *Mag. Res. Med.* 46 , 1152-1163, 2001.
- [42] Varallyay C.G., Muldoon L.L., Gahramanov S., Wu Y.J., Goodman J.A., Li X., Pike M.M., Neuwel E.A., Dynamic MRI using iron oxide nanoparticles to assess early vascular effects of antiangiogenic versus corticosteroid treatment in a glioma model, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 29, 853-860, 2009.
- [43] Tóth E., Helm L. and Merbach A. E., Relaxivity of MRI Contrast Agents, *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*, 2002.
- [44] Bloembergen, N., Proton Relaxation Times in Paramagnetic Solutions, *J. Chem. Phys.* 27, 572-573, 1957.
- [45] Solomon I. and Bloembergen N., Proton Relaxation Times in Paramagnetic Solutions. Effects of Electron Spin Relaxation, *J. Chem. Phys.*, 34, 853-842, 1961.
- [46] Vishnevskaya G.P. and Kozyrev B.M., Paramagnetic relaxation and complexing in divalent manganese salt solutions, *Journal of Structural Chemistry* , 8, 562-568, 1967.
- [47] LAUFFER, R.E., Paramagnetic Metal Complexes as Water Proton Relaxation Agents for NMR Imaging : Theory and Design, *Chem. Rev.*, 87, 901-927, 1987.
- [48] Luz Z. and Meiboom S., Proton Relaxation in Dilute Solutions of Cobalt(II) and Nickel(II) Ions in Methanol and the Rate of Methanol Exchange of the Solvation Sphere, *J. Chem. Phys.* 40, 86-94, 1964.
- [49] Werner, E.J., High-Relaxivity MRI Contrast Agents : Where Coordination Chemistry Meets Medical Imaging, *Angew. Chemie. Intl. Ed.*, 47, 8568-8580, 2008.
- [50] Van Eldik R. and Bertini I., Advances in Inorganic Chemistry : Relaxometry of water-metal ion interactions, *Elsevier Academic Press*, 2005.
- [51] Cortia A., Lascialfaria E., Micottia A., Castellanod M., Donativid A., Quaratae P.D., Cozzolie L., Mannae T., Pellegrinoe P. and Sangregorio C., Magnetic properties of novel superparamagnetic MRI contrast agents based on colloidal nanocrystals, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 320, 320-323, 2008.

- [52] Gossuin Y., Gillis P., Hocq A. and Roch A., Magnetic resonance relaxation properties of superparamagnetic particles, *Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 1, 299-310, 2009.
- [53] Yang F., Li y., Chen Z., Zang Y., Wu J. and Gu. N., Superparamagnetic iron oxide nanoparticle-embedded encapsulated microbubbles as dual contrast agents of magnetic resonance and ultrasound imaging, *Biomaterials*, 30, 3882-3890, 2002.
- [54] Rhee I. and Kim C., Nanoparticles Concentration Dependence of the  $T_1$  and  $T_2$  Times of Hydrogen Protons in an Aqueous Colloidal Solution of Superparamagnetic Nanoparticles, *Journal of the Korean Physical Society*, 42, 175-177, 2003.
- [55] Rhee I., Kim K.Y. and Kim C., Anomalous of the  $T_2$  Relaxation time of Hydrogen Protons in a Highly Concentrated Iron-Ferrite Nanoparticle Solution, *Journal of the Korean Physical Society*, 45, 1037-1039, 2004.
- [56] Axenrod T. and Ceccarelli, NMR in Living Systems, *Nato Advanced Science*, 1984.
- [57] Ernst R. R., Bodenhausen G. and Wokann A., Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions, *Oxford science publications*, 1987.
- [58] Musse M., Quellec S., Devaux M.F., Cambert M., Lahaye M. and Mariette F., An investigation of the structural aspects of the tomato fruit by means of quantitative nuclear magnetic resonance imaging, *Magnetic Resonance Imaging*, 27, 719-709, 2009.
- [59] Insko and Bolinger., B1 mapping, *SMRI*, 1992.
- [60] Wade T. and Rutt B., Comparison of current b1-mapping techniques, *ISMRM*, 2007.
- [61] Morrell G.R. and Schabel M.C., An analysis of the accuracy of magnetic resonance flip angle measurement methods, *Physics in Medicine and Biology*, 55, 6155-6174, 2010.
- [62] Balezeau F., Eliat P.A, Cayam A.B. and Saint-Jalmes H., Mapping of low flip angles in magnetic resonance, *Physics in Medicine and Biology*, 56, 6635-6647, 2011.
- [63] De Graaf R.A., In vivo NMR spectroscopy : Principles and techniques, Wiley & Sons, USA, 2007.
- [64] Moris G.P., Nuclear Magnetic Resonance Imaging in Medicine and Biology, *Oxford Science Publications*, New York, 1986.

- [65] Capitani D., Brilli F., Mannina L., Proietti N. and Loreto F., In Situ Investigation of Leaf Water Status by Portable Unilateral Nuclear Magnetic Resonance, *Plant Physiol.*, 149, 1638-1647, 2009.
- [66] Hills B.P. and Remigereau B., NMR studies of changes in subcellular water compartmentation in parenchyma apple tissue during drying and freezing, *Int. J. Food Sci. Technol.*, 32, 51-61, 1997.
- [67] Sibgatullin T.A., Anisimov A.V., De Jager P.A., Vergeldt F.J, Gerkema E. and Van As H., Analysis of diffusion and relaxation behavior of water in apple parenchymal cells, *Biofizika*, 52, 268-276, 2007.
- [68] Marigheto N.A., Moates G.K., Furfaro M.E., Waldron K.W. and Hills B.P., Characterization of ripening and pressure-induced change in tomato pericarp using NMR relaxometry, *Appl. Magn. Reson.*, 36, 35-47, 2009.
- [69] Musse M., Cambert M. and Mariette F., NMR Study of Water Distribution inside Tomato Cells : Effects of Water Stress, *Appl. Magn. Reson.*, 38, 455-469, 2010.
- [70] Hazlewood C. F., Chang D. C. and Nichols B. L., Nuclear magnetic resonance transverse relaxation times of water protons in Skeletal muscle, *Biophysical Journal*, 14, 583-605, 1974.
- [71] Bussi eres P., Bertin N., Morris C.E., Vigne C., Orlando P., Glaux C., Floret H., Bernadac J, S ev enier V. and Korownikof S., High external sucrose concentration inhibits the expansion of detached tomato fruits grown in a novel semi-open device, *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 47, 751-743, 2011.
- [72] Scheenen T.W.J., Van Dusschoten D., De Jager P.A. and Van As H., Microscopic Displacement Imaging with Pulsed Field Gradient Turbo Spin-Echo NMR, *Journal of Magnetic Resonance*, 142, 215-207, 2000.
- [73] Chudek J.A. and Hunter G., Magnetic resonance imaging of plants. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 43, 31-62, 1997.
- [74] Hoult D.I. and Richards R.E., The Signal-to-Noise Ratio of the Nuclear Magnetic Resonance Experiment, *Journal of Magnetic Resonance*, 24, 85-71, 1976.
- [75] Hongsub B., Tanveer A., Ilsu R., Yongmin C., Seong-Uk J. and Sungwook H., Carbon-coated iron oxide nanoparticles as contrast agents in magnetic resonance imaging, *Nanoscale Research Letters*, 7, 1-5, 2012.
- [76] Bonny J.M., Renou J.P. and Zanca M., Optimal Measurement of Magnitude and Phase from MR Data, *Journal of Magnetic Resonance*, 113, 136-144, 1996.
- [77] Brummer M.E., Mersereau R.M., Eisner R.L. and Lewine R.R.J., Automatic detection of brain contours in MRI data sets. *IEEE Trans. Med. Imaging*, 12, 153-166, 1993.



- [78] Hákon G. and Samuel P., The Rician Distribution of Noisy MRI Data, *Magn. Reson. Med.*, 34, 910-914, 1995.
- [79] Zlatev Z. and Lidon F.C., An overview on drought induced changes in plant growth, relations and photosynthesis, *Emir. J. Food Agric.*, 24, 72-57, 2012.
- [80] Maurel C. and Chrispeels M.J., Aquaporins. A Molecular Entry into Plant Water Relations, *American Society of Plant Physiologists*, 125, 138-135, 2001.
- [81] Ortega J.K.E., Plant Cell Growth in Tissue. *American Society of Plant Physiologists*, 145, 1253-1244, 2010.
- [82] Kuchenbrod E., Haase A., Benkert R., Schneider H. and Zimmermann U., Quantification NMR Microscopy on Intact Plants, *Magnetic Resonance Imaging*, 13, 455-447, 1995.
- [83] Wang F., Sanz A., Brenner M.L. and Smith A., Sucrose Synthase, Starch Accumulation, and Tomato Fruit Sink Strength, *Plant Physiol.*, 101, 327-321, 1993.
- [84] Gussoni M., Greco F., Vezzoli A., Osuga T. and Zetta L., Magnetic resonance imaging of molecular transport in living morning glory stems, *Magnetic Resonance Imaging*, 19, 1322-1311, 2001.
- [85] Johnson G.A., Brown J. and Kramer P.J., Magnetic resonance microscopy of changes in water content in stems of transpiring plants, *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 84, 2755-2752, 1987.
- [86] Bresson Y., La résonance magnétique nucléaire, cours de Biophysique (1984), Amiens, France.



