

Etude comparative des performances des Microantennes implantables et antennes de surface: Applications en Microspectroscopie RMN localisée

L. Fakri-Bouchet ^{*†}, A. Kadjo ^{*}, N. Baxan ^{*♣}, A. Briguet ^{*}, D. Graveron-Demilly ^{*}.

^{*} Université Lyon1, CREATIS-LRMN CNRS UMR 5220, F-69622, Villeurbanne, France,

[†] IUT B de Villeurbanne, 17, rue de France 69100 Villeurbanne: Départements : Génie Mécanique et Productique et Génie Electrique et Informatique Industrielle

[♣] University Hospital Freiburg, Dept. of Diagnostic Radiology, Medical Physics, Freiburg, Germany.

LATIFA.BOUCHET@iutb.univ-lyon1.fr; Kadjo@univ-lyon1.fr; danielle.graveron-demilly@univ-lyon1.fr; andre.briguet@univ-lyon1.fr; nicoleta.baxan@uniklinik-freiburg.de

Sections de rattachement : 63^{ème}
Secteur : Secondaire

Résumé : La spectroscopie par résonance magnétique nucléaire SRMN est une technique d'investigation des plus utilisées pour l'étude du métabolisme. Une des tendances actuelles, est l'analyse d'échantillons de faibles volumes de l'ordre du microlitre (μ l). L'instrumentation RMN conventionnelle (antennes et résonateurs) conduit à un rapport signal/bruit (S/B) faible, la raison principale étant les grandes dimensions des capteurs par rapport à ceux des échantillons. En adaptant ces dimensions, le facteur de remplissage est augmenté et par conséquent le rapport signal sur bruit (S/B) est amélioré ce qui permet d'optimiser la résolution spatiale et temporelle des acquisitions ainsi que la sensibilité des mesures. Le but de cette étude est de comparer les performances de la microantenne implantable, avec une antenne de surface conventionnelle, en mesurant les limites de détection (LOD), et de déterminer en conséquence le facteur de gain définie par la formule : $FOD = LOD_{\text{antenne_surface}} / LOD_{\text{microantenne}}$

Mots-Clés. Micro antennes implantables, antenne de surface, sensibilité en fonction de la concentration et de la masse (S_c et S_m), Limites de détection (LOD), métabolites cérébraux, spectroscopie localisée.

1. Introduction

Nous avons montré dans nos articles précédents (Fakri-Bouchet et al., 2006 ; 2007 et 2008) que les microantennes sont des outils d'investigation qui permettent une bonne localisation, vérifiée par IRM, ainsi qu'une reproductibilité satisfaisante au cours d'analyses effectuées in vitro.

Dans la littérature, les études sur l'utilisation de microantennes en IRM/SRM in vivo sont peu nombreuses. Il existe deux tendances de recherche principales : la première correspond à l'obtention d'images haute-résolution par microscopie RMN (Hsu et al., 1997). La deuxième porte sur l'investigation par micro-spectroscopie des profils métaboliques issus des divers prélèvements animaux (Grant et al., 2000).

Le travail rapporté dans cet article est la mise au point d'un nouveau concept de micro capteurs radiofréquence fabriqués à l'aide de techniques de micro électronique (Fakri-Bouchet et al., 2006), utilisé pour l'étude SRM d'échantillons de faibles volumes et de faibles concentrations. Les paramètres pris en considération dans le choix de ces micro antennes et établis comme figure de mérite (Lacey et al., 1999) sont : le rapport signal sur bruit ramené à la concentration en $[mM^{-1}]$, $S_c=SNR/C$, et défini comme sensibilité en fonction de la concentration, la sensibilité en fonction de la masse définie par $S_m=SNR/mol$ (mol : moles de l'échantillon). Les limites de détection définies par $LOD_c=3/S_c$, $LOD_m=3/S_m$ et leurs valeurs normalisées par rapport au temps d'acquisition $nLOD_c$ et $nLOD_m$.

Le but de cette étude et la comparaison des performances de cette nouvelle génération de micro antennes avec celles des capteurs RMN classiques (Antennes de surface). Les résultats obtenus démontrent que ces microcapteurs offrent un gain en sensibilité supérieur à celui des antennes de surface d'un facteur de 2,4. Ainsi ces microantennes RMN associées à des techniques d'édition de spectroscopie localisée permettront une nouvelle approche pour l'analyse d'échantillons de faibles concentrations et de faibles volumes.

2. Matériels et Méthodes

2.1. Installation d'imagerie et de spectroscopie RMN

Les expérimentations en imagerie et en spectroscopie RMN, ont été réalisées sur un système Bruker 4,7T avec des gradients de 270 mT/m et une ouverture de 10 cm. L'émission est assurée à l'aide d'une antenne type cage d'oiseau (Rapid Biomedical, $\varnothing=6,9$ cm). La réception est réalisée à l'aide d'une micro antenne planaire ou d'une antenne de surface commerciale. Le découplage entre l'antenne émettrice et l'antenne réceptrice est de type actif, commandé par la console Bruker (Fakri-Bouchet *et al.*, 2006).

2.2. Séquences de spectroscopie :

Les expérimentations ont été réalisées à l'aide de la séquence de spectroscopie localisée PRESS (*Point RESolved Spectroscopie*). PRESS est une séquence utilisant la technique de localisation mono-voxel fondée sur l'écho de spins. Les acquisitions ont été effectuées en 4096 points complexes, (256 accumulations, TR=5 s, TE=20 ms, taille du voxel $1.5*1.5*1.5 \text{ mm}^3$, temps d'acquisition 21 minutes). La suppression du signal de l'eau est réalisée à l'aide de la séquence VAPOR (Variable pulse power and optimized relaxation delays).

2.3. Quantification

La quantification des données obtenues par spectroscopie RMN se fait à l'aide du logiciel jMRUI : logiciel développé dans notre laboratoire et distribué à travers le monde (<http://www.mrui.uab.es/mrui/>), ce logiciel utilise des éléments de « connaissance *a priori* » (positions spectrales notamment) des signaux qui seront analysés.

Les signaux recueillis par la micro antenne ont été traités dans le domaine temporel pour la suppression des composantes résiduelles de l'eau avec un algorithme de décomposition en valeurs singulières Hankel-Lanczos (HLSVD, jMRUI) (Vanhamm *et al.*, 1997), et ont été quantifiés à partir des « connaissances *a priori* » sur les signaux à analyser en utilisant la méthode QUEST (Ratiney *et al.*, 2002). La méthode QUEST modélise les signaux RMN par une combinaison linéaire de signaux de métabolites simulés par mécanique quantique à l'aide de « NMR-SCOPE » (D.Graveron-Demilly, *et al.*, 1993), en utilisant l'ajustement des facteurs. NMR-SCOPE est fondé sur le formalisme des produits d'opérateurs et il est compatible avec la majorité des séquences de spectroscopie RMN comme la séquence PRESS utilisée dans notre cas.

3. Description des antennes utilisée

3.1. Microantenne

La microantenne utilisée est de type planaires de géométrie ellipsoïdale constituée de 4 spires de 22 μm de large et 20 μm d'espace inter spires, la plus grande spire mesure 500 μm de large pour 1000 μm de long Figure 1 (b)). Cette antenne repose sur un substrat en verre, le tout formant une sorte d'aiguille de section carrée suffisamment faible pour ne pas causer de lésions en cas d'implantation (Sorli *et al.*, 2006).

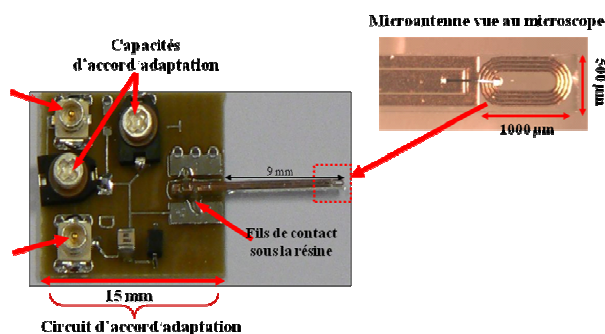


Figure 1. (a) Microcapteur configuration implantable avec le circuit d'accord et d'adaptation ; (b) 4 spires constituant la bobine de surface, partie active de la microantenne.

3.2. Antenne de surface

L'antenne de surface utilisée est une antenne commerciale (RAPID-Biomédical) pour le proton ^1H , ($\Phi = 4.2\text{cm}$), dédiée à l'imagerie et la spectroscopie de cerveau de rat, associée à un préamplificateur faible bruit.



Figure 2. Photographie de l'antenne de surface RAPID-Biomédical (<http://www.rapidbiomed.de/>).

4. Protocole de l'étude comparative

Les expériences de SRM sont réalisées sur deux fantômes, adaptés pour chaque type d'antenne Figure 3.

Les deux antennes sont employées avec les mêmes conditions expérimentales (Mode réception uniquement, accord, adaptation et préamplification). La reproductibilité des mesures a été établie en utilisant cinq prototypes microantennes pour l'analyse du même échantillon.

La microantenne (partie aiguille), est immergée dans un tube contenant la solution de 10 métabolites cérébraux,

L'antenne de surface a été posée sur un fantôme (fait maison) dont les dimensions se rapprochent de celle du cerveau de rat.

Pour chaque antenne, un même voxel, de dimensions $1.5 \times 1.5 \times 1.5 \text{ mm}^3$, a été sélectionné par la séquence PRESS. Ce voxel a été placé à une profondeur de 9 mm afin de simuler la situation *in vivo*.

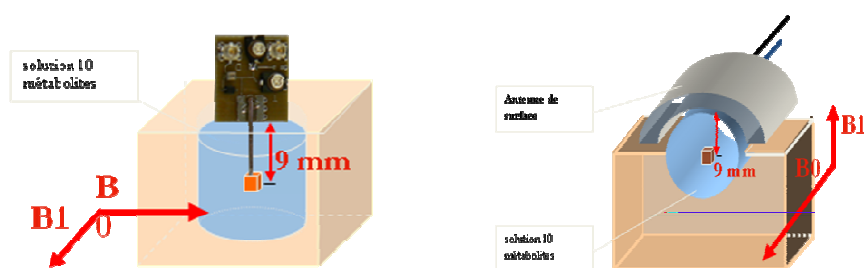


Figure 3. (a) Microantenne (partie aiguille) immergée dans un tube contenant la solution des métabolites cérébraux, (b) antenne de surface (RAPID-Biomédical).

5. Résultats

La sensibilité spectrale de la microantenne a été déterminée en utilisant une solution de 10 métabolites du proton (^1H) observables dans le cerveau humain : choline (Cho), lactate (Lac), acide gamma-aminobutyric (GABA), N-Acetyl Aspartate (NAA), Glutamine(Gln), Glutamate(Glu), myo-Inositol(m-Ins), Aspartate(Asp), avec différentes concentrations $c=100, 50, 25 \text{ mM}$, Figure 4.

Les expérimentations ont été réalisées à l'aide de la séquence de spectroscopie localisée PRESS pour permettre de sélectionner la région d'intérêt en regard avec la partie active de la microantenne.

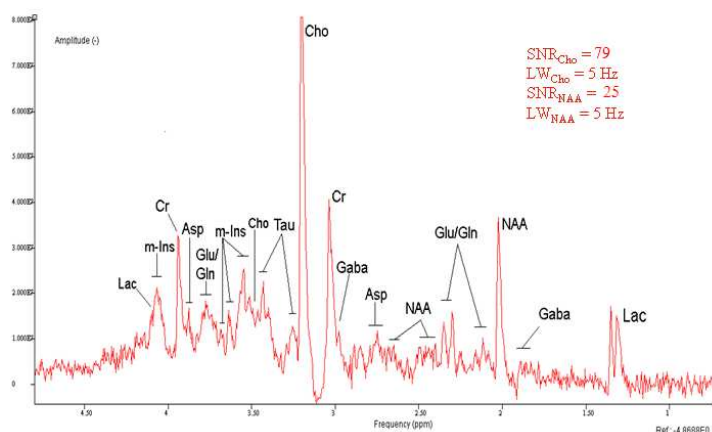


Figure 4. Spectre 1H de 10 métabolites cérébraux avec une concentration fixée à 50 mM: Lactate, Gaba, N-acétylaspartate, Glutamine, Glutamate, Aspartate, Créatine, Choline, Taurine, myo-Inositol, obtenu à 4,7T à l'aide de la séquence Press (TR/TE = 5000 /20 ms, Nacc = 256, Texp = 20 minutes).

A partir des calculs du rapport signal sur bruit RSB pour les différents spectres obtenus, les valeurs de sensibilités S_c , S_m ; les limites de détection LOD_c , LOD_m , $nLOD_c$ et $nLOD_m$ ont été calculées pour chaque métabolite, et comparées pour les deux types d'antennes, Tableau 1.

Métabolites 3 Antennes	Créatine 3.91ppm	Choline 3.18ppm	Créatine 3.02ppm	NAA 2ppm	Lactate 1.34ppm	Lactate 1.3ppm
S_c [µM]⁻¹	0.38	1.58	0.49	0.50	0.19	0.19
S_m [nmol]⁻¹	0.019	0.077	0.024	0.024	0.009	0.009
LOD_c [µM] <i>Nacc=256</i>	7.82	1.89	6.10	6.04	15.82	15.40
LOD_m [nmol] <i>Nacc=256</i>	10.12	39.20	7.9	7.8	20.5	20
$nLOD_c$ [µM]	125.13	30.30	97.52	96.58	253.16	246.41
$nLOD_m$ [nmol]	162	627	126	125	328	319

Tableau 1. Les valeurs des limites de détection calculées pour chaque signal à l'aide de l'algorithme QUEST du logiciel jMRUI.

La Figure 5., montre le facteur de gain FOG calculé pour la Cho, NAA, Cr et Lac pour différentes concentrations 25, 50, 100 mM. On constate que le LOD avec l'antenne de la surface est beaucoup plus grand que celle de la microantenne. La valeur de FOG calculée est comprise entre 2 et 2,4.

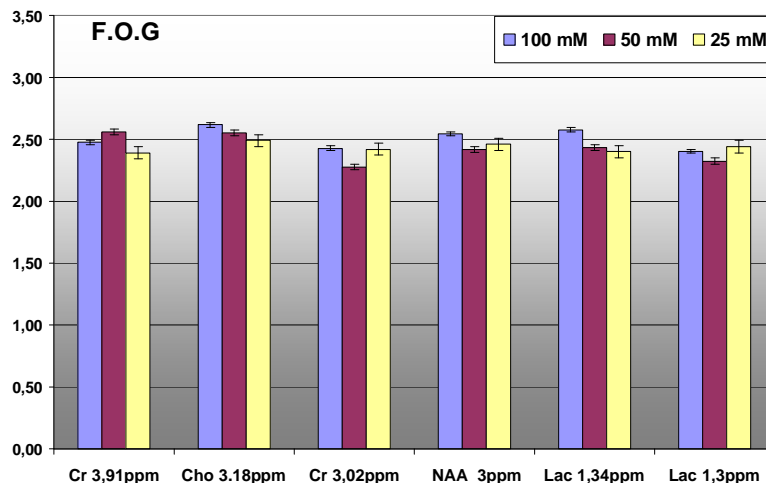


Figure 5. Le facteur de gain Cho, Cr, NAA et Lac avec concentration de 25(jaune), 50(rose), 100(bleu) mM.

6. Conclusion et Discussion

Le spectre de métabolites cérébraux observables par RMN présenté sur la Figure 4., traduit les performances actuelles de la micro antenne. L'étude du signal effectuée par simulation de la distribution de champ radiofréquence et validée par imagerie RMN a permis de définir un volume actif d'observation de la micro antenne de 2 μ L, cette valeur permet une localisation assez précise du « voxel » pour les investigations en spectroscopie RMN, à cette échelle.

Dans cette étude comparative des performances de la microantenne et celle d'une antenne de surface commerciale, la configuration électronique pour les deux types d'antenne était identique (mode de fonctionnement en réception uniquement, gain à l'entrée du spectromètre, shim, fantôme). L'étude a été faite en utilisant cinq microantennes prototypes afin de vérifier la reproductibilité des mesures. Les valeurs de la sensibilité, LOD et FOG trouvés, montrent que malgré un volume sensible réduit, la microantenne présente un avantage pour détecter et analyser de faibles concentrations de métabolites dans un petit volume de l'ordre du microlitre (μ l) par rapport à l'antenne de surface.

Les résultats de cette étude *in vitro* augurent d'une ouverture à plus large applications biomédicales réservés à l'exploration cérébrale *in vivo*. En effet, la valeur de LOD = 1.89 mM dans le cas de la choline, est relativement proche des concentrations de métabolites *in vivo* (de l'ordre de 1 à 10 mM).

La spécificité de cette étude repose sur la création d'un ensemble d'outils et méthodes entièrement originaux et ouvrant des possibilités d'exploration tissulaire par RMN biomédicale à faible échelle spatiale.

Bibliographie

Fakri-Bouchet L., Baxan N., Rengle A., Châteaux J-F., Pasquet G., Morin P., Briguet A. «*Micro-antenne implantable pour la micro- spectroscopie RMN* » CNR IUT, 2006.

Fakri-Bouchet L., Baxan N., Rengle A., Rabeson H., Pasquet G., Châteaux J-F., Briguet A., Morin P., Graveron-Demilly D. «*Micro Spectroscopie RMN: Limite de détection de métabolites cérébraux (~100 nL)* ». *CNRIUT*, Thionville 2007.

L. Fakri-Bouchet, N. Baxan, A. Kadjo, R. Cespuglio, J-F. Châteaux, P. Morin, D. Graveron-Demilly, A. Briguet. «*Microantennes RMN implantables : perspectives d'étude in vivo* ». *CNRIUT*, Lyon 2008.

Grant S.C., Aiken N.R., Plant D., Gibbs S., Mareci T.H., Webb A.G., Blackband S.J., «*NMR spectroscopy of single neurons*», *Magnetic Resonance in Medicine* 44, 2000, p.19-22.

Graveron-Demilly D., Diop A., Briguet A., Fenet B., «*Product-Operator Algebra for Strongly Coupled Spin Systems*», *J.Magn.Reson.* A101, 1993, p. 233-239.

<http://www.mrui.uab.es/mrui/>

<http://www.rapidbiomed.de/>

Hsu E.W., Aiken N.R., Blackb and S.J., «*A study of diffusion isotropy in single neurons using NMR microscopy*», *Magnetic Resonance in Medicine* 37, 1997, p. 624-636.

Lacey M. E., Subramanian R., Olson D. L., Webb A. G., Sweedler J. V., «*High-Resolution NMR Spectroscopy of sample volumes from 1µL to 10µL*», *Chem. Rev.* 99, 1999, p. 3133-3152.

Sorli B., Chateaux J. F., Pitaval M., Chahboune H., Fabre B., Briguet A., Morin P., «*Micro-spectrometer for NMR : analysis of small quantities in vitro*», *Institute of Physics Publishing, Meas. Sci. Technol.* Vol. 15, pp. 877-880, 2004.

Ratiney H., Mitri F., Coenradie Y., Cavassila S., van Ormond D., Graveron-Demilly D., «*Quest: Time-domain quantitation with advanced prior knowledge*», *MAGMA*, 2002, vol. 15, p. 373.

Vanhamme L., Van den Boogaart A, and Van Huffel S. «*Improved method for accurate and efficient quantification of MRS data with use of prior knowledge*». *J Magn Reson*
Paxinos, Ch. Walton, «*The rat brain in stereotaxic coordinates*», *Academic Press*; San Diego, 1998.