

Utilisation de l'imagerie CEST du glutamate pour l'étude des maladies neurodégénératives par IRM

JULIEN FLAMENT

CEA-MIRCen, 18 route du Panorama, 92260 Fontenay-aux-Roses, France

Intérêt de l'imagerie métabolique pour l'étude des maladies neurodégénératives

Parmi toutes les modalités d'imagerie, l'IRM est l'une des techniques les plus prometteuses pour suivre les maladies neurodégénératives chez les patients. En effet, la disponibilité croissante d'IRM à champ élevé permet d'acquérir des images à haute résolution du cerveau. De plus, l'IRM est capable de quantifier l'atrophie cérébrale ou les modifications des paramètres de relaxation qui sont à l'origine du contraste dans les images, ce qui aide beaucoup les cliniciens à établir un diagnostic avec une mesure objective et quantitative. Un bon exemple est la maladie de Huntington qui est caractérisée par une atrophie du striatum chez les patients. Cependant, de telles mesures macroscopiques sont peu spécifiques de la maladie car elles reflètent les conséquences à long terme de la pathologie. De plus, elles fournissent peu d'informations sur la voie biologique impliquée dans la pathologie. D'autres modalités telles que la spectroscopie RMN du ^1H sont capables de fournir des mesures plus spécifiques des processus biologiques relatifs à une population spécifique de cellules cérébrales. Toutefois, cette technique souffre d'une faible résolution spatiale dû à une sensibilité de détection très limitée. Par ailleurs, le temps d'acquisition des spectres *in vivo* étant relativement long, l'expérimentateur doit choisir en amont le positionnement du voxel dans lequel la mesure est réalisée, ce qui limite l'exploration de différentes zones du cerveau lors du même examen.

L'intérêt de l'IRM-CEST (pour *Chemical Exchange Saturation Transfer*) est de combiner les avantages de l'imagerie anatomique et de la spectroscopie RMN. On parle alors d'imagerie métabolique par IRM-CEST. Cette modalité d'imagerie par IRM propose la détection d'un panel relativement large de molécules impliquées dans le

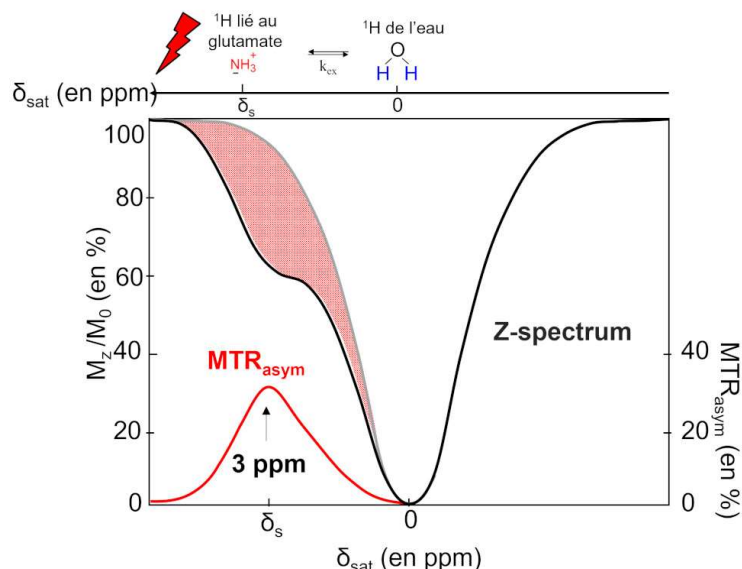
métabolisme cérébral. On peut notamment citer des molécules comme le glutamate, le glucose et la créatine, ou de façon plus anecdotique le lactate et le myo-inositol, même si pour ces deux derniers exemples, la sensibilité de détection et la faible spécificité de leur signal CEST limite leur intérêt *in vivo*. La possibilité de détecter ces molécules avec de très bonnes résolutions temporelle et spatiale permet d'imager de façon non-invasive l'évolution des différents taux métaboliques, ce qui est particulièrement important dans le cadre de maladies neurodégénératives où les concentrations de ces différents métabolites peuvent être impactées. En plus de l'intérêt indéniable que revêt cette mesure dans un cas pathologique, l'accès à ces informations permet également de mieux comprendre le fonctionnement des processus métaboliques dans le cerveau sain.

Par ailleurs, l'imagerie CEST est une méthode translationnelle. En effet, elle ne nécessite pas d'équipement particulier et peut être appliquée sur n'importe quel IRM. L'IRM-CEST des glioblastomes par exemple est particulièrement efficace, y compris sur des IRM 3T qui équipent la plupart des services hospitaliers. On notera toutefois que la détection de certaines molécules en IRM-CEST dépend du champ magnétique. Cependant, grâce à l'avènement des hauts champs magnétiques ($\geq 7\text{T}$), y compris pour les systèmes cliniques, la plupart des molécules citées précédemment peuvent être détectées *in vivo* dans des sujets allant de la souris à l'homme.

Principe de la méthode CEST

Le CEST est une modalité récente de contraste en IRM qui a été proposé pour détecter de manière indirecte des molécules diluées, classiquement indétectables en IRM

Figure 1 : Représentation schématique d'un Z-spectrum et d'un MTR_{asym} dans un cas simple à 2 groupes de protons en échange. L'éclair rouge représente l'irradiation radiofréquence. La zone en rosé représente le rapport asymétrique CEST attestant la spécificité de l'effet CEST observé (détail dans le texte).



conventionnelle (1). Certaines molécules possèdent des protons échangeables, tels que les groupes amine ($-NH_2$), amide ($-NH$) ou hydroxyle ($-OH$) qui sont en échange avec l'eau libre environnante. Ces protons, se trouvant dans un environnement chimique différent, présentent une fréquence de résonance décalée par rapport à celle des protons de l'eau libre. Ainsi, ces protons échangeables peuvent être saturés de manière sélective à l'aide d'une irradiation radiofréquence. La saturation permet de déphaser spécifiquement l'aimantation de ces protons, ce qui annule leur contribution au signal. La saturation est ensuite transférée à l'eau libre grâce à l'échange entre les protons du soluté et ceux de l'eau. Étant donné que la concentration de l'eau est bien plus élevée que celle du soluté (environ 110 M pour l'eau contre quelques mM pour le soluté), chaque proton saturé est remplacé par un « nouveau proton non saturé », qui est ensuite saturé à son tour, ce qui conduit à une amplification de la saturation. Par conséquent, une diminution du signal de l'eau libre (qui est à l'origine du signal mesuré en IRM) est observée lorsque la saturation est appliquée, créant ainsi un contraste par rapport au signal de référence sans saturation.

Dans une expérience CEST classique, plusieurs images sont acquises avec une irradiation radiofréquence (Figure 1, éclair rouge) appliquée à différentes fréquences de résonance. L'évolution du signal de l'eau libre (M_z), normalisé par le signal de référence (M_0) est tracée en fonction de la fréquence de saturation ; c'est ce que l'on appelle un Z-spectrum (Figure 1). Afin d'isoler l'effet CEST spécifique d'une molécule donnée, un rapport asymétrique CEST (MTR_{asym}, Figure 1, zone colorée) est calculé en soustrayant l'aimantation mesurée à une fréquence de saturation $M_z(\delta_{sat})$ de celle mesurée à la fréquence opposée $M_z(-\delta_{sat})$, le tout normalisé par M_0 :

$$MTR_{asym} = 100 \times (M_z(-\delta_{sat}) - M_z(\delta_{sat})) / M_0.$$

Par exemple, il a été démontré que le glutamate présente un effet CEST en raison d'un échange favorable entre les protons amine $-NH_3^+$ et ceux de l'eau libre à 3 ppm (2). On parle alors d'imagerie gluCEST.

Le glutamate comme biomarqueur précoce des maladies neurodégénératives

Le gluCEST est une technique très prometteuse, et de nombreuses applications ont été proposées depuis l'étude pionnière qui a permis d'établir pour la première fois la faisabilité de la mesure *in vivo* sur un modèle rongeur d'occlusion de l'artère cérébrale moyenne et sur des sujets sains (2). En particulier, plusieurs travaux ont démontré la possibilité de détecter spécifiquement le glutamate par imagerie CEST, et de cartographier ses concentrations à haut champ magnétique (≥ 7 T), aussi bien chez l'homme que chez le rongeur (2,3), ainsi que dans la moelle épinière humaine. Cette technique a également été utilisée pour étudier les altérations du glutamate dans la maladie d'Alzheimer (4), chez des patients atteints d'épilepsie du lobe temporal (5), ou encore dans un contexte de réactivité astrocytaire induite par la transfection d'un vecteur lentiviral (6).

Dans la majorité de ces études, des variations concordantes du contraste gluCEST et des concentrations en glutamate mesurées par spectroscopie RMN du proton ont été rapportées, suggérant que les deux méthodes détectent le glutamate présent dans le même compartiment, à savoir le glutamate métabolique (le glutamate servant à la neurotransmission étant trop faiblement concentré pour être détectable). De plus, ces variations en glutamate étaient souvent associées à une diminution du N-acétyl-aspartate (NAA), un autre métabolite principalement localisé dans le compartiment neuronal. Ces observations renforcent l'hypothèse d'une

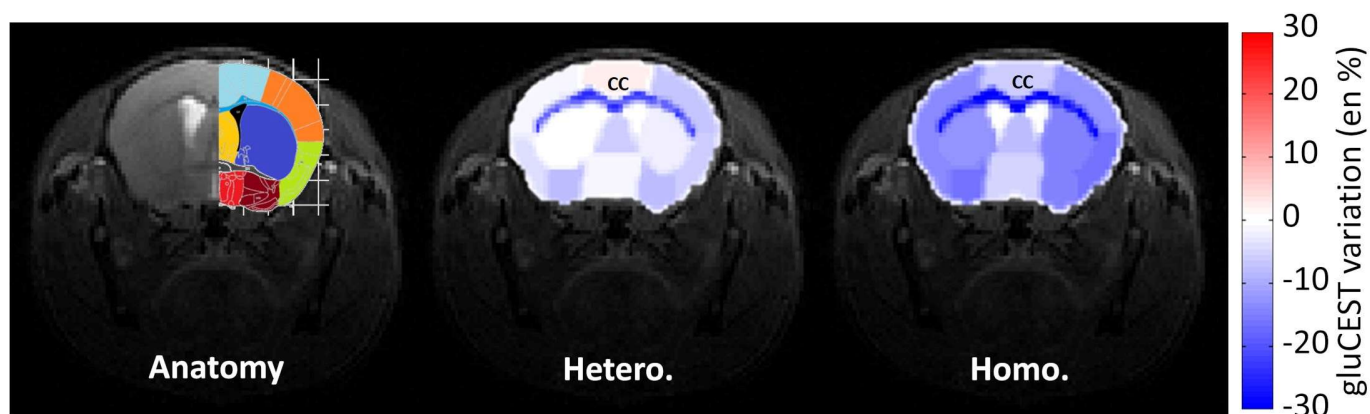


Figure 2 : Cartes de variations d'effet gluCEST mesurées dans le cerveau de souris Ki140CAG hétérozygotes (« Hetero » image du milieu) et homozygotes (« Homo » image de droite) pour le gène codant pour la huntingtine. Les régions d'intérêt sont représentées sur l'image de gauche « Anatomy ». CC corps calleux.

altération de l'intégrité ou du fonctionnement neuronal dans la plupart des pathologies étudiées.

Le principal avantage de l'imagerie gluCEST par rapport à la ^1H -MRS réside dans sa meilleure résolution spatiale, typiquement du même ordre de grandeur que les IRM classiques (environ 200 μm), permettant d'évaluer les altérations du glutamate dans l'ensemble du cerveau, y compris dans des structures de petite taille. Cet avantage a été particulièrement mis en évidence dans une étude récente ayant exploré l'imagerie gluCEST comme biomarqueur potentiel de la maladie de Huntington (7). Dans cette étude, un modèle murin knock-in de la maladie (Ki140CAG) a été utilisé pour évaluer les altérations du glutamate cérébral, non seulement dans le striatum — région classiquement atteinte dans la maladie de Huntington — mais aussi dans d'autres structures cérébrales. Ce modèle, caractérisé par une progression lente des symptômes, incluait des souris hétérozygotes et homozygotes pour le gène muté codant la huntingtine, la protéine à l'origine de la maladie de Huntington, comparées à leurs congénères non-transgéniques, afin d'évaluer l'influence du génotype sur les variations du glutamate.

Dans les deux groupes mutés, les niveaux de gluCEST étaient globalement plus faibles que chez les animaux témoins, dans la majorité des régions. Cependant, grâce à la bonne résolution spatiale, le cerveau a pu être segmenté en différentes régions d'intérêt (Figure 2, image de gauche). Afin d'évaluer l'imagerie gluCEST comme biomarqueur potentiel dans la maladie de Huntington, les contrastes gluCEST ont été comparés entre souris contrôles et hétérozygotes (Figure 2, image centrale), puis entre souris contrôles et homozygotes (Figure 2, image de droite). En plus d'une diminution globale du contraste gluCEST dans l'ensemble du cerveau, le résultat le plus marquant fut la baisse forte et significative des niveaux de glutamate dans le corps calleux, observée

à la fois chez les souris homozygotes et hétérozygotes. Un tel résultat, inattendu, suggère que le corps calleux, structure reliant les deux hémisphères cérébraux, pourrait être particulièrement vulnérable dans la maladie de Huntington. Ces travaux ont ensuite été confirmés par une autre étude menée sur une autre cohorte de souris Ki140CAG et ont également mis en évidence que le signal gluCEST était même un biomarqueur plus précoce de modifications liées à la maladie de Huntington que des biomarqueurs traditionnellement utilisés comme l'atrophie du striatum (8).

Vers un outil d'imagerie quantitatif

L'imagerie gluCEST offre un fort potentiel comme outil de diagnostic, et sa capacité de quantification peut être optimisée en tenant compte de différents paramètres, particulièrement *in vivo*. Par exemple, les contributions d'autres groupes de protons ou de molécules comme la créatine, enrichissent le signal global et peuvent être intégrées dans l'analyse pour isoler plus précisément l'effet CEST spécifique du glutamate.

Un outil de quantification reposant sur l'ajustement des Z-spectra expérimentaux à l'aide d'un modèle d'échange de protons a été proposé récemment (9). Il permet de prendre en compte ces effets concomitants et d'obtenir une carte quantitative de distribution du glutamate dans le cerveau. Comparée au contraste gluCEST conventionnel, cette cartographie quantitative de glutamate permet une identification plus fiable de la répartition du glutamate dans plusieurs régions cérébrales et fournit une mesure plus universelle que le MTRasym. Ainsi, cela ouvre de nombreuses perspectives à l'imagerie gluCEST comme modalité d'imagerie moléculaire quantitative utilisable pour le suivi des maladies neurodégénératives, pour la compréhension des mécanismes pathologiques impliqués dans ces maladies ou encore comme

biomarqueur pertinent pour tester l'efficacité thérapeutique de futurs traitements.

julien.flament@cea.fr

Références

- (1) Ward K.M. et al. (2000). JMR 143 (1):79-87
- (2) Cai K. et al. (2012). Nat Med 18 (2):302-306
- (3) Cai K. et al. (2013). NMR Biomed 26 (10):1278-1284
- (4) Crescenzi R. et al. (2014). Neuroimage 101:185-192
- (5) Davis K.A. et al. (2015). Sci Transl Med 7 (309):309ra161
- (6) Carrillo-de Sauvage M.A. et al. (2015). JCBFM 35 (6):917-921
- (7) Pepin J. et al. (2016). Neurolmage 139:53-64
- (8) Pérot J.B. et al. (2022). Hum Mol Genet 31(21):3581–3596
- (9) Maguin C. et al. (2025). MRM 93 (3): 1394-1410