

Développement et validation d'une méthode de spectroscopie de diffusion par résonance magnétique pour des applications biomédicales

S. Bonnet¹, F. Franconi^{1,2}, L. Lemaire^{1,2}, M. Musse^{1,3}, G. Collewet^{1,3}, F. Mariette^{1,3}, F. Noury^{1,4}, P.A. Eliat^{1,5,6}

¹ PRISM, Biogenouest, Angers-Rennes, France ; ² MINT, Univ Angers, Inserm, CNRS, SFR ICAT, Angers, France ; ³ INRAE UR OPAALE, Rennes, France ; ⁴ Univ Rennes, INSERM, LTSI – U1099, F-35000 Rennes, France ; Univ Rennes, ⁵ CNRS, INSERM, BIOSIT – UMS 3480, US_S 018, F-35000 Rennes, France ; ⁶ Univ Rennes, INRAE, INSERM, Institut NUMECAN – UMR_A 1341, UMR_S 1241, F-35000 Rennes, France

Introduction

La **spectroscopie de diffusion** par résonance magnétique nucléaire (RMN) est une technique couramment employée dans les domaines de la chimie et du biomédical, notamment pour des caractérisations *in vitro*. Malheureusement, les spectromètres RMN ne sont pas adaptés pour mener des études *in vivo*. À l'inverse, les **imageurs par résonance magnétique (IRM)**, avec leur large tunnel et leur capacité à localiser le signal, sont très employés dans le cadre d'études pré-clinique et clinique. Toutefois, il n'existe actuellement pas de séquence dédiée pour réaliser de la spectroscopie localisée de diffusion sur les imageurs. Cet outil ouvrirait pourtant de nouvelles perspectives pour mesurer le coefficient de diffusion de signaux autres que celui de l'eau (molécules endogènes, médicaments, etc...), tout particulièrement lors du **suivi de thérapies *in vivo*** chez le petit animal.

Matériel & Méthodes

✓ Développement d'une méthode de diffusométrie par spectroscopie localisée (DW-MRS)

- Méthode basée sur une séquence de spectroscopie localisée PRESS⁽¹⁾ à laquelle un motif de pondération en diffusion a été ajouté.
- Implémentation sur deux imageurs précliniques de la plateforme PRISM.
- Elle permet l'acquisition d'une série de spectre avec différentes valeurs de pondérations en diffusion (b).

✓ Validation *in vitro* de la méthode

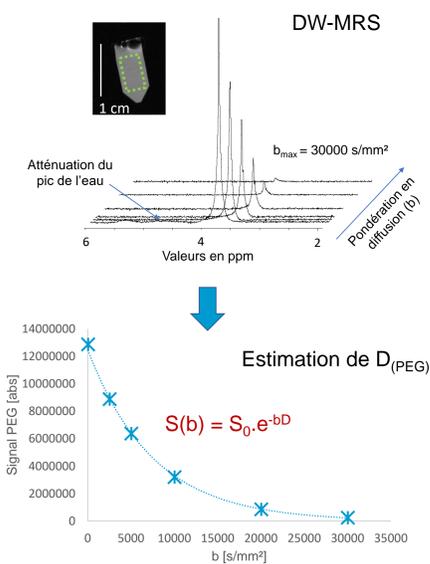
- Estimation des coefficients de diffusion (D) de solutions de polyéthylène glycol (PEG) de différentes masses molaires (4 kDa ; 17,5 kDa ; 200 kDa) et à différentes concentrations à T = 32°C.

Paramètres	PEG 4 kDa	PEG 17,5 kDa	PEG 200 kDa
Concentrations*	C ₁ = 23,7 g/L C ₂ = 47,6 g/L C ₃ = 94,8 g/L	C ₁ = 23,7 g/L C ₂ = 47,6 g/L C ₃ = 29,3 g/L	C ₁ = 23,7 g/L C ₂ = 47,6 g/L C ₃ = 4,6 g/L
6 valeurs de b	0 → 60000 s/mm ²	0 → 60000 s/mm ²	0 → 100000 s/mm ²
Volume de voxel	3 × 3 × 6 mm		
Estimation des D	Mesure de l'aire du pic des PEGs Ajustement par méthode des moindres carrés de la décroissance du signal PEG en fonction de b selon modèle S(b) = S ₀ e ^{-bD}		

* C₃ = « overlap concentration »^(2,3)

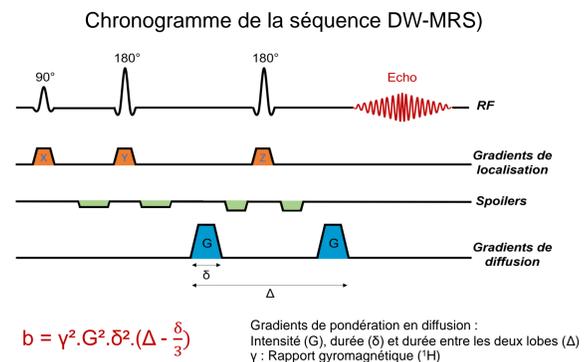
- Comparaison avec les valeurs référence obtenues la méthode DOSY⁽⁴⁾ par spectroscopie RMN haute résolution (Plateforme PRISM, Rennes).

Paramètres	PEG 4 kDa	PEG 17,5 kDa	PEG 200 kDa
Spectromètre	Bruker AVANCE III HD 500 MHz		
Séquence / Tube / T°C	Step1s / 3 mm / T = 32°C		
Valeurs de b	0 → 20800 s/mm ²	0 → 100000 s/mm ²	0 → 200000 s/mm ²
Estimation des D	Mesure de l'aire du pic des PEGs Ajustement par méthode des moindres carrés de la décroissance du signal PEG en fonction de b selon modèle S(b) = S ₀ e ^{-bD}		



Valeurs de référence de coefficient de diffusion (spectromètre RMN 500 MHz)

Résultats

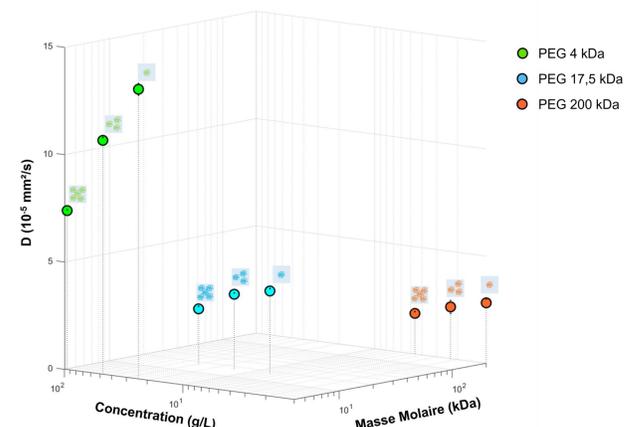


Imageur 7T Angers (Bruker BioSpec 70/20)

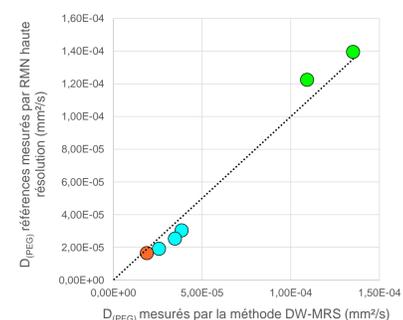


Imageur 4,7T Rennes (Bruker BioSpec 47/40)

La séquence DW-MRS est fonctionnelle sur deux imageurs précliniques.



Le coefficient de diffusion des PEGs diminue lorsque leur concentration ou leur taille augmente.



Cette nouvelle méthode permet d'estimer correctement les coefficients de diffusion des PEGs *in vitro*.

Conclusion

Cette **méthode innovante** est en mesure d'évaluer des coefficients de diffusion de signaux autres que ceux de l'eau, comme ceux des PEGs, très employés dans le secteur pharmaceutique. Cette méthode peut aussi permettre de caractériser d'autres molécules, comme les lipides. Ces résultats ouvrent la voie à la transposition de cette méthode pour des études *in vivo* d'évaluation de l'intégrité **post-administration de thérapie**, comme par exemple les nanomédicaments.