

Imagerie du métabolisme cérébral par couplage d'ultrasons et de photons

Présentation générale

Comprendre et soigner le cerveau représente un des défis majeurs de la science pour les années à venir. Un tel défi ne pourra être relevé sans l'implémentation et le développement de concepts et techniques nouveaux, issus de disciplines très variées. Le projet représente une opportunité unique de franchir un pas pouvant être décisif dans cette direction.

En s'appuyant sur des expertises reconnues en neurophysiologie et en physique, et dans le prolongement de réalisations déjà abouties, le projet envisage une approche véritablement globale du fonctionnement cérébral avec ses composantes informationnelles et métaboliques. Les travaux déjà effectués ont permis grâce au couplage de méthodes d'électrophysiologie (EEG) et d'enregistrements ultrasons (hémodynamique) d'asseoir les bases d'une telle approche. Cependant le schéma informationnel-métabolique ne pourra être complet que si on accède simultanément à l'imagerie précise de la teneur en oxygène dans le sang, mesure non permise par les méthodes utilisées ou existantes. Dans le cadre du projet, il s'agira de franchir ce pas décisif en développant une approche acousto-optique de pointe, venant compléter les autres approches déjà développées. Il est important de souligner que les membres de l'équipe sont actuellement les seuls au monde pouvant réaliser ce développement. Par ailleurs, au-delà même de l'aspect « prouesse méthodologique », le projet doit aussi innover sur le plan conceptuel pour intégrer dans un cadre cohérent des informations aussi diverses, ouvrant une fenêtre sur le fonctionnement cérébral et sur les dysfonctionnements notamment dans le modèle épileptique.

Contexte

L'imagerie cérébrale fonctionnelle basée sur les modifications hémodynamiques, telles que l'imagerie par résonance magnétique (IRMf), a permis d'importantes avancées dans la recherche sur le cerveau [Ogawa 1990, Logothetis 2008]. Récemment nous avons mis au point une technique d'imagerie fonctionnelle par ultrasons qui offre une sensibilité fortement accrue et une flexibilité d'utilisation permettant d'effectuer des études sur des rongeurs mobiles, ce qui a ouvert l'imagerie à de nouveaux champs expérimentaux [Macé 2011, Sieu 2015, Bergel 2018, Bergel 2020]. Cette technique permet de visualiser les variations hémodynamiques (vasodilatation et vasoconstriction) mais n'apporte aucune information sur la teneur en oxygène du sang. Par conséquent, l'étude des phénomènes métaboliques, tels que ceux associés aux crises d'épilepsie reste un défi [Scharfman 2015].

Une approche classique pour mesurer la teneur en oxygène du sang est la spectroscopie infrarouge, basée sur la différence de couleur entre hémoglobine oxygénée et désoxygénée [Roche-Labarbe 2012]. Ces mesures optiques offrent une excellente résolution temporelle, mais la résolution spatiale est limitée à une profondeur maximale de l'ordre du millimètre par la diffraction de la lumière dans le tissu nerveux. Un cerveau de rongeur a une épaisseur de 10-15mm, de sorte que la plupart des structures sont inaccessibles par des techniques optiques standards.

Au cours des dernières années, des techniques d'imagerie multimodale optique/ultrason ont été développées pour observer en profondeur des échantillons diffractant la lumière. Le montage acousto-optique applique simultanément des ultrasons et de la lumière à l'échantillon à explorer. On peut ainsi mesurer en temps réel des propriétés optiques localisées avec la résolution des ultrasons. Ainsi, avec des ultrasons à 15MHz, la résolution est de 150µm et la profondeur maximale de 15mm. Cette détection est basée sur l'effet acousto-optique où la vibration mécanique du tissu induite par les ultrasons module le chemin optique des photons qui le traverse. Ainsi ces photons sont décalés en fréquence de +/- la fréquence des ultrasons. Ce marquage des photons par les ultrasons forme la base théorique des mesures acousto-optiques.

L'identification des photons marqués par les ultrasons est réalisée par interférométrie, en comparant les photons ayant traversé l'échantillon avec un faisceau de référence hors échantillon. Plutôt que d'analyser des taches de speckle au moyen de caméra rapide, il est apparu qu'il est possible d'utiliser des cristaux photo-réfractifs pour quantifier les photons

marqués avec un rapport signal/bruit augmenté par un facteur 10 000 par rapport à l'analyse de speckle [Murray 2004, Ramaz 2004]. Cette approche permet en outre une mesure en temps réel.

L'équipe de François Ramaz, à l'Institut Langevin, est la seule à disposer de cristaux adaptés pour analyser la lumière dans la gamme utile pour les tissus biologiques (700-1000nm) [Farahi 2010, 2012]. Ainsi des résultats récents ont montré que l'approche acousto-optique permet d'obtenir les propriétés optiques d'un échantillon biologique en tout point [Laudereau 2015, Katz 2019]. De plus, l'utilisation d'onde ultrasonore plane permet d'augmenter drastiquement la fréquence d'imagerie [Laudereau 2016], tout en offrant de collecter simultanément les données hémodynamiques et métaboliques [Bocoum 2018, 2019].

Un montage acousto-optique adapté au cerveau de rongeur, prolongement naturel du système expérimental fUS, permettrait d'extraire des informations optiques dans la gamme rouge-infrarouge, au-delà de la profondeur limite de diffraction, et ainsi d'imager en temps réel la saturation sanguine en oxygène. Cette information permettrait d'identifier les variations métaboliques susceptibles de causer les variations hémodynamiques, et ainsi de désigner les tissus et les mécanismes à l'origine de ces événements métaboliques.

Objectifs

Ce projet est dédié au développement d'un banc expérimental de mesure acousto-optique sur le cerveau de rat permettant de réaliser la première imagerie non invasive de la saturation en oxygène sur toute la profondeur du tissu. Avec ce nouvel outil, nous voulons obtenir les premières cartographies métaboliques des crises épileptiques à haute résolution spatio-temporelle pour répondre aux questions cruciales de cette pathologie complexe. Deux objectifs principaux sont identifiés :

- L'objectif technologique. Dans cette partie nous voulons développer une technologie acousto-optique spécialement dédiée à l'imagerie des événements métaboliques du cerveau du petit animal. En développant la collecte maximale de photon sur une préparation de rongeur pour l'imagerie cérébrale ultrasonore nous pourrions optimiser le tri des photons marqués par les ultrasons. Les séquences mises en place mesureront les variations hémodynamiques et l'oxygénation sanguine, afin de déterminer le taux de consommation métabolique (CMRO₂). Le système sera couplé à un système d'enregistrement EEG afin d'avoir une plateforme combinant enregistrements de saturation et signaux électrophysiologiques. Le système final aura un grand potentiel sur de nombreuses applications qui ont besoin d'imager le métabolisme cérébral.

- Application à l'épilepsie. Nous voulons utiliser ce système pour la recherche sur l'épilepsie en étudiant des modèles rongeurs. Deux modèles seront testés: un modèle d'épilepsie induite par une lésion focale et un modèle génétique d'absence [Depaulis 2016]. L'activité métabolique associée à l'hyperactivité des crises permettra de localiser les aires anatomiques associées à l'initiation et la propagation des crises [Zheng 2012]. En imageant simultanément hémodynamique et saturation en oxygène il sera possible d'étudier la contribution des mécanismes d'origine métabolique à l'initiation et au maintien des crises [Osharina 2010, van Raay 2012, Ma 2013, Sada 2015]. Ces informations peuvent être critiques pour sélectionner les régions spécifiques à étudier in vitro au niveau neuronal.

Impact scientifique

L'imagerie de saturation en oxygène par acousto-optique peut devenir un outil puissant de recherche sur le cerveau en permettant de cibler les questions métaboliques. Sa résolution spatiale, sa profondeur de pénétration et son faible coût sont remarquables. Beaucoup d'autres sujets de recherche sur le cerveau peuvent bénéficier de cet outil.

Les résultats sur des modèles animaux d'épilepsie pourraient être très utiles pour progresser dans la compréhension de cette pathologie. Ces travaux vont fournir une première description des mécanismes métaboliques associés à l'initiation des crises d'épilepsie.

Collaboration

Partenaire 1: Sorbonne Université, IBPS-Neurosciences, équipe Réseaux corticaux et couplage neurovasculaire, directeur Bruno Cauli, encadrant Ivan Cohen

Partenaire 2: ESCPI, Institut Langevin, co-directeur François Ramaz

Bibliographie

- Bergel A, Tiran E, Deffieux T, Demené C, Tanter M & Cohen I. (2020) "Online" modulation of brain hemodynamics despite stereotyped running. *BioRxiv*. 2020 doi: <https://doi.org/10.1101/2020.01.11.902932>
- Bergel A, Deffieux T, Demené C, Tanter M & Cohen I. (2018) Local hippocampal fast gamma rhythms precede brain-wide hyperemic patterns during spontaneous rodent REM sleep. *Nat Commun*. 9:5364.
- Bocoum M, Gennisson JL, Laudereau JB, Louchet-Chauvet A, Tualle JM, Ramaz F. Structured ultrasound-modulated optical tomography. *Appl Opt*. 2019 Mar 10;58(8):1933-1940. doi: 10.1364/AO.58.001933.
- Bocoum M, Gennisson JL, Venet C, Chi M, Petersen PM, Grabar AA, Ramaz F. Two-color interpolation of the absorption response for quantitative acousto-optic imaging. *Opt Lett*. 2018 Feb 1;43(3):399-402. doi: 10.1364/OL43.000399.
- Depaulis A, David O, Charpier S (2016). The genetic absence epilepsy rat from Strasbourg as a model to decipher the neuronal and network mechanisms of generalized idiopathic epilepsies. *J Neurosci Methods*, 260:159-74
- Farahi S, Montemezzani G, Grabar AA, Huignard JP, Ramaz F (2010) Photorefractive acousto-optic imaging in thick scattering media at 790nm with a Sn2P2S6:Te crystal, *Opt. Lett.*, 35(11):1798-1800
- Farahi S, Benoit E, Grabar AA, Huignard JP, Ramaz F (2012) Time resolved three-dimensional acousto-optic imaging of thick scattering media. *Opt. Lett*. 37 :2754–2756
- Katz O, Ramaz F, Gigan S, Fink M. Controlling light in complex media beyond the acoustic diffraction-limit using the acousto-optic transmission matrix. *Nat Commun*. 2019 Feb 12;10(1):717. doi: 10.1038/s41467-019-08583-6.
- Laudereau JB, A La Guillaume EB, Servois V, Mariani P, Grabar AA, Tanter M, Gennisson JL, Ramaz F. Multi-modal acousto-optic/ultrasound imaging of ex vivo liver tumors at 790 nm using a Sn2 P2 S6 wavefront adaptive holographic setup. (2015) *J Biophotonics*. 8(5):429-36
- Laudereau JB, Grabar AA, Tanter M, Gennisson JL, Ramaz F. Ultrafast acousto-optic imaging with ultrasonic plane waves (2016) *Opt Express*. 24(4):3774-89
- Logothetis N (2008) What we can do and what we cannot do with fMRI. *Nature* 453:869–878
- Ma H, Zhao M, Schwartz TH. (2013) Dynamic neurovascular coupling and uncoupling during ictal onset, propagation, and termination revealed by simultaneous in vivo optical imaging of neural activity and local blood volume. *Cereb Cortex*. 23(4):885-99
- Macé E, Montaldo G, Cohen I, Baulac M, Fink M Tanter M (2011) Functional ultrasound imaging of the brain. *Nature Methods*, 8:662–664
- Murray TW, Sui L, Maguluri G, Roy RA, Nieva A, Blonigen F, and DiMarzio CA (2004) Detection of ultrasound-modulated photons in diffuse media using the photorefractive effect, *Opt. Lett*. 29:2509-2511
- Ogawa S, Lee TM, Kay AR, Tank DW. (1990) Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *PNAS* 87(24):9868-72
- Osharina V, Ponchel E, Aarabi A, Grebe R, Wallois F (2010) Local haemodynamic changes preceding interictal spikes: A simultaneous electrocorticography (ECoG) and near-infrared spectroscopy (NIRS) analysis in rats. *Neuroimage*, pp. 600-607
- Ramaz F, Forget BC, Gross M, Atlan M, Delaye P, Roosen G, Boccara AC (2004) Photorefractive detection of tagged photons in ultrasound modulated optical tomography of thick biological tissues. *Opt. Exp*. 12(22):5469-5474.
- Roche-Labarbe N, Fenoglio A, Aggarwal A, Dehaes M, Carp S, Franceschini MA, Ellen P (2012) Near-infrared Spectroscopy Assessment of Cerebral Oxygen. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, pp. 481-488
- Sada N, Lee S, Katsu T, Otsuki T, Inoue T. (2015) Targeting LDH enzymes with a stiripentol analog to treat epilepsy. *Science* 347:1362-67
- Scharfman HE (2015) Neuroscience. Metabolic control of epilepsy. *Science* 347, 1312
- Sieu LA, Bergel A, Tiran E, Deffieux T, Pernot M, Gennisson JL, Tanter M, Cohen I (2015) EEG and functional ultrasound imaging in mobile rats. *Nat Methods* 12:831-834
- van Raay L, Jovanovska V, Morris MJ, O'Brien TJ. (2012) Focal administration of neuropeptide Y into the S2 somatosensory cortex maximally suppresses absence seizures in a genetic rat model. *Epilepsia* 53(3):477-84