



Doctoral Thesis

Functional magnetic resonance spectroscopic imaging of the mouse brain: overcoming current sensitivity limitations

Author(s):

Seuwen, Aline

Publication Date:

2015

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-010579480> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH NO. 23040

Functional magnetic resonance spectroscopic imaging of the mouse
brain: overcoming current sensitivity limitations.

A thesis submitted to attain the degree of

DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH

(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

ALINE SEUWEN

Master of Science in physics (M Sc), University of Basel

born on 22.04.1985

citizen of France

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Markus Rudin, examiner

Prof. Dr. Rolf Gruetter, co-examiner

Dr. Anke Henning, co-examiner

2015

Summary

Proton Magnetic Resonance Spectroscopy (^1H -MRS) serves to detect quantitative information about several neurotransmitters, general indicators of brain metabolism, and also certain antioxidants and osmolytes non-invasively. This technique is becoming increasingly important as a diagnostic tool in clinical routine, but also as a research tool for biomedical, pre-clinical research. Particularly when applied to mice, MRS represents a unique technique able to deliver spatially resolved information about brain biochemistry and function in various genetic models of neurological disorders available only in this species. However, MRS faces several technical challenges, mainly due to intrinsically low signal to noise ratio (SNR) and long measurement times. For measurements on mice, ultra-high field systems together with dedicated hardware and measurement techniques are required to overcome these difficulties. As a consequence, and despite the attractive possibilities of the technique, MRS and particularly Spectroscopic Imaging (SI) is not yet routinely applied in mice.

In this thesis, we developed protocols for fast and reliable acquisition of highly resolved metabolite maps of the mouse brain. We used the first existing prototype of receive-only cryogenic coil array designed for the mouse brain. For very small objects, such as mice, the system noise is the dominant noise source in an MR experiment. Cooling down the receive coil to 30K using liquid Helium leads to significant noise reduction and therefore to an increased SNR by a factor of 2 to 3. This gain in SNR can generally be reinvested in higher temporal or spatial resolution for all kinds of MR experiments, and also for SI.

In a second step, optimized experimental procedures and measurement techniques dedicated to SI on the mouse brain were implemented. Conventionally, an MRS measurement involves the formation of spin echoes, which is associated with significant signal loss due to T_2 relaxation compromising the sensitivity and therefore results in long acquisition times. Yet, SI experiments can be sped up by sampling the free induction decay (FID) signal immediately after a slice-selective excitation instead of the spin echo, thereby avoiding signal loss due to T_2 relaxation. In order to maximize spatial resolution and minimize unwanted contribution from outside the target region, the VOI from which SI data are collected, is confined by suppressing signals arising from outside the VOI (outer volume suppression, OVS). The combination of FID sampling and localization by outer volume suppression (FIDLOVS) has been developed for high field clinical systems in order to minimize the chemical shift displacement artifacts and the signal losses due to fast T_2 relaxation. Here, this technique was implemented on a 9.4T system and extensively tested on the mouse brain.

Increased SNR allows higher temporal resolution and therefore the possibility to monitor transient changes in specific neurotransmitter and indicators for brain metabolism related to brain function.

Using the optimized protocol described above combined with the superior sensitivity provided by the cryogenic coil, we were able to use SI as a functional tool on the mouse brain for the first time. In a first study, neural activity was triggered by infusing a GABA_A receptor antagonist, Bicuculline. Bicuculline blocks the inhibitory action of GABA and produces strong and sustained seizures. The metabolic events accompanying such an epileptic episode were monitored using SI with a temporal resolution of 12 minutes. Using different doses of Bicuculline, we could observe dose dependent metabolic changes, while regular BOLD fMRI indicated a failure of neurovascular coupling.

In a second study, we attempted to visualize brain activation upon electrical paw stimulation in mice by quantifying mainly changes in glutamate (Glu) and lactate (Lac) levels, using spectroscopic imaging (SI). Conventionally, neuronal activity is accessed by evaluating activity-evoked local changes in blood oxygenation levels (BOLD contrast) using fMRI methods. In mice however, the BOLD signal seems to be dominated by systemic contributions. Widespread and bilateral responses are generally observed following unilateral stimulation. SI allows the covering of extended brain regions, and hence monitoring of differential responses of brain areas, e.g. a direct comparison of activated versus non-activated regions. Our study aimed to elucidate whether SI can serve to deliver a more specific readout on the activation of respective brain regions involved in processing of sensory stimuli in mice.

¹H-MRS remains a very challenging procedure when applied to mice. The small organ size puts high demands on spatial resolution, which results in acquisition times unsuitable for measuring the short term biochemical changes associated with neural activity. However, with adapted hardware and measurement protocols we were able to demonstrate the feasibility of stimulus evoked functional ¹H-MRS measurements in mice for the first time.

Zusammenfassung

Magnetresonanzspektroskopie (1H-MRS) ist eine nicht-invasive Methode zur Quantifizierung und Untersuchung der Freisetzung von Neurotransmittern, der Charakterisierung von metabolischen Prozessen im Gehirn und antioxidativer sowie osmolytischer Aktivitäten. Diese Technik gewinnt nicht nur als diagnostisches Werkzeug im klinischen Alltag, sondern auch für biomedizinische und präklinische Forschungszwecke zunehmend an Bedeutung. Mithilfe von spektroskopischen Messungen lassen sich räumlich hoch aufgelöste Informationen über biochemische Vorgänge im Gehirn bei verschiedenen Mausmodellen, die zur Untersuchung neurologischer Störungen existieren, sammeln. Folglich stellt MRS eine attraktive Methode mit grossem Anwendungspotential dar. Durch damit verbundene technische Herausforderungen jedoch werden spektroskopische Messungen und im speziellen Spektroskopische Bildgebung (spectroscopic imaging, SI) noch nicht routinemässig bei Mäusen durchgeführt. Vor allem das eher geringe Signal-Rausch-Verhältnis (signal-to-noise-ratio, SNR) und dementsprechend lange Messzeiten erfordern den Einsatz von Ultrahochfeldsystemen sowie spezieller Hardware und Messtechniken. Ziel ist es, wirksame Verbesserungen der Messmethodik zu erzielen, um sie attraktiver für die Anwendung am Mausmodell zu machen.

Im Rahmen der vorliegenden Doktorarbeit wurden Protokolle entwickelt, welche die schnelle und zuverlässige Aufnahme hoch aufgelöster Verteilungen der Metabolitenkonzentrationen (sogenannte metabolische Landkarten) im Gehirn der Maus ermöglichen. Die Messungen wurden mit dem ersten Prototypen einer speziell für Anwendungen in der Maus entwickelten cryogenen receive-only Phased-Array Spule (paCRP) durchgeführt. Bei MRI-Messungen kleiner Messobjekte, oder wie hier von Mäusen, stellt das elektronische Rauschen die dominierende Störquelle dar. Abkühlung der Spule auf 30 K mithilfe flüssigem Heliums führt zur signifikanten Verringerung des Rauschens und folglich zu einer Erhöhung des SNRs um einen Faktor 2 bis 3. Die SNR-Verbesserung ermöglicht letztendlich die Erhöhung der zeitlichen und räumlichen Auflösung bei MRI-Messungen und damit auch bei SI.

Ziel war es, die experimentellen Methoden und Mess-Sequenzen für SI am Gehirn der Maus zu optimieren. Bei MRS-Messungen wird konventionell ein Spin-Echo erzeugt, was mit Signalverlust durch T2-Relaxationsprozesse einhergeht. Die folglich verringerte Sensitivität der Aufnahme kann nur durch mehrere Messwiederholungen und konsequenterweise lange Messzeiten kompensiert werden. Um den Einfluss des Signalverlustes durch T2-Relaxation zu verringern und damit SI-Messungen zu beschleunigen besteht nun aber die Möglichkeit statt der Erzeugung eines Spin-Echo-Signals das Signal des freien Induktionsabfalls (Free Induction Decay, FID) unmittelbar nach der selektiven Anregung einer gewählten Schicht zu analysieren. Zusätzlich zur Verbesserung der zeitlichen Auflösung lassen sich dann noch die räumliche Auflösung erhöhen und gleichzeitig die Signaleinflüsse ausserhalb der Zielregion unterdrücken (Outer Volume Suppression, OVS). Die

Kombination der Analyse des FID und der Lokalisation der Zielregion durch OVS wurde für klinische Hochfeldsysteme entwickelt um Artefakte aufgrund von chemischer Verschiebung (chemical shift displacement artifacts) und Signalverlust durch T2-Relaxation zu minimieren. Diese Methode, wird als FIDLOVS bezeichnet, und wurde am 9.4T-MR-Scanner implementiert und am Mausgehirn umfangreich ausgetestet.

Eine Erhöhung des SNR erlaubt eine bessere zeitliche Auflösung bei durchgeführten Messungen. Dadurch ergibt sich die Möglichkeit transiente Veränderungen von Neurotransmittern und im Metabolismus des Gehirns im Zusammenhang mit spezifischen Gehirnfunktionen zu messen. Durch Verwendung des - wie oben beschrieben - optimierten Messprotokolls und den Einsatz der PA-CRP gelang es uns nun am Gehirn der Maus funktionelle SI-Messungen erfolgreich durchzuführen. In einem ersten Experiment wurde neurale Aktivität evoziert durch die Administration von Bicuculline, einem GABA-A-Rezeptor-Antagonisten. Bicuculline blockiert die hemmende Wirkung von GABA und verursacht starke, anhaltende epileptische Anfälle. Die Messung der metabolischen Veränderungen, welche mit solch einer konzertierten neuronalen Aktivierung einhergingen, erfolgte durch Einsatz der etablierten SI-Methode mit einer zeitlichen Auflösung von 12 min. Durch Quantifizierung der metabolischen Prozesse unter Einsatz verschiedener Dosen von Bicuculline liess sich eine Dosis-Wirkungs-Abhängigkeit erfassen. Im Unterschied dazu ergaben BOLD fMRI-Messungen kein einheitliches Bild und liessen mit Erhöhung der Dosis auf einen Zusammenbruch der neurovaskulären Kopplung schliessen.

Eine weitere Studie sollte dazu dienen, die Aktivierung bestimmter Gehirnareale bei elektrischer Stimulation der Mauspfote mithilfe von SI zu visualisieren. Dabei interessierten hauptsächlich die Veränderungen der Lactat (Lac)- und Glutamat (Glu)- Konzentrationen. Üblicherweise wird neuronale Aktivität über Messung lokaler Veränderungen des Blut-Sauerstoff-Gehalts (BOLD Kontrast) in sogenannten fMRI-Experimenten erfasst. Bei Mäusen jedoch scheinen die BOLD-Signalaenderungen vom Einfluss kardiovaskulärer Veränderungen dominiert zu sein, die auf eine Stressantwort bei Applikation von Reizen zurückzuführen sind. Durch solche systemisch hemodynamischen Parameterveränderungen erhalten wir bei der Maus trotz unilateraler Stimulierung der Pfote regelmässig weitläufige und bilaterale BOLD-Signalaenderungen. SI ermöglicht die Quantifizierung metabolischer Veränderungen über grossflächige Gehirnregionen hinweg. Dies erlaubt damit auch den Vergleich biochemischer Antworten zwischen aktivierten und nicht aktivierten Arealen des Gehirns. Unsere Studie diente nun hauptsächlich der Untersuchung, ob sich mithilfe von SI-Messungen im Gegensatz zum fMRI spezifischere Resultate bei der peripher sensorisch stimulierten Maus erzielen lassen. Die grössten Konzentrationsveränderungen messbarer Indikatoren für neuronale Aktivierung, wie Neurotransmitter (Glu) und Metaboliten (Lac), sollten sich primär in kontralateral zur stimulierten Pfote lokalisierten Gehirnregionen finden. Tatsächlich konnten wir einen Unterschied in den Konzentrationen von Glu zwischen beiden somatosensorischen Kortexarealen

quantifizieren. Mit Hinblick auf Anwendung von sensorischen Stimulationsparadigmen bei Mäusen spricht dieses Ergebnis zum gegenwärtigen Zeitpunkt für eine höhere Spezifität der SI-Messung gegenüber konventionellen fMRI-Methoden.

¹H-MRS bleibt eine sehr anspruchsvolle Methode, wenn bei der Maus angewendet. Die Kleinheit der Organe, unter anderem des Gehirns, stellen hohe Anforderungen an die räumliche Auflösung. Aufgrund dessen sind die erforderlichen langen Messzeiten zur Erfassung der kurzlebigen biochemischen Ereignisse, die mit neuronaler Aktivität zusammenhängen, nicht geeignet. Dennoch, mit geeigneter Technik und optimierten Messprotokollen konnten wir zum ersten Mal die Machbarkeit solcher funktionellen ¹H-MRS-Messungen an der Maus demonstrieren.