

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE GRENOBLE

Spécialité : **Physique pour les sciences du Vivant**

Arrêté ministériel : 7 août 2006

Présentée par

Marjorie VILLIEN

Thèse dirigée par **Jan Warnking**
et codirigée par **Alexandre Krainik**

préparée au sein de l'**Institut des Neurosciences de Grenoble**
dans l'**École doctorale de Physique**

Méthodologie et application de l'imagerie de la perfusion cérébrale et de la vasoréactivité par IRM

Thèse soutenue publiquement le **26 Octobre 2012**,
devant le jury composé de :

M. Jean-Yves Gauvrit

Professeur

CHU de Rennes

Rapporteur

M. Matthias Van Osch

Professeur

Université de Leiden

Rapporteur

Mme Virginie Callot

Chargé de recherche

Université de Marseille

Examinatrice

M. Jean-François Payen

Professeur

CHU de Grenoble

Examinateur

M. Jan Warnking

Chargé de recherche

Université de Grenoble

Directeur de thèse

M. Alexandre Krainik

Professeur

CHU de Grenoble

Co-Directeur de thèse



Remerciements

Ce travail a été mené au sein de l'équipe de NeuroImagerie et de Perfusion Cérébrale de l'Institut des Neurosciences de Grenoble (GIN). Il a été financé par le ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche ainsi que par l'INSERM. Je tiens à remercier Claude Feuerstein pour m'avoir permis de réaliser ce projet dans les meilleures conditions.

Je souhaite remercier très chaleureusement les membres de mon jury. Merci à mes deux rapporteurs, Matthias Van Osch et Jean-Yves Gauvrit, et à mes examinateurs, Virginie Callot et Jean-François Payen. Vos points de vues différents sur mon travail, que ce soit sur le versant méthodologique ou applicatif, ont été très enrichissants. Thank you Matthias for your help when I was searching for a postdoctoral position, the future promise to be challenging!

Je tiens à remercier avec beaucoup de gratitude et d'affection mes deux directeurs de thèses. Merci à Jan pour ta disponibilité, ton soutien, tes nombreuses relectures, et pour tes connaissances infinies (en tout cas je n'ai pas encore réussi à te piéger!) sur le monde de la RMN et de l'informatique. Sans toi les méandres de matlab auraient peut être eu raison de moi! Merci à Alexandre pour m'avoir formé à la clinique, merci pour ton humour et pour ton caractère, et pour m'avoir pousser à aller toujours plus loin. Merci à vous deux pour votre confiance. Heidi is now leaving to the states but we keep in touch :-).

Un grand merci à l'équipe 5 du GIN, à Emmanuel Barbier pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et pour ces précieux conseils, ainsi qu'à toute l'équipe pour l'ambiance chaleureuse qui règne dans ces murs. Un grand merci aussi aux personnels de la plateforme IRM, à Laurent pour ces conseils, et à Irène avec qui travailler est un réel plaisir. Merci Irène pour ta disponibilité, et pour toutes nos discussions scientifique ou non, car la vie n'est pas faite que de science! Merci aussi à Jean-François Le Bas pour sa confiance dès le début de ma thèse sans qui les acquisitions nocturnes n'auraient pu avoir lieu.

Merci à Emilie, qui m'a donné le flambeau de l'ASL. Ton travail est à la base de tout ce que nous avons pu faire par la suite. Merci pour tes conseils au début du projet. Merci aux étudiants avec qui j'ai travaillé pour mener à bien tous ces projets. Merci Louise, Do Kien, Thomas pour ce bel acharnement sur nos données NEOTUM, on va y arriver! Merci Pierre-Loup, grand maître de matlab et futur doctorant. Merci Stéphane, CEVASAL a été une belle tranche de vie au cours de cette thèse, dommage que tu ne sois pas resté, on aurait bien rigolé. Merci Arnaud, CEVASTOC n'attend plus que toi!

Merci à tous mes collaborateurs pour leur confiance dans les différents projets que nous avons mené ensemble. Merci à Samuel ainsi qu'aux autres protagonistes de l'altitude (François E., Thomas, Pierre B. ...), l'aventure Vallot a été un tournant important de ma thèse, et quelle belle aventure! Merci Assia, Sylvie, Olivier D., Olivier M., Florence T. pour toutes les applications de mes méthodes en clinique et pour votre persévérance dans l'utilisation de ces méthodes parfois si complexes à utiliser en routine.

Merci aux manip's, en IRM et en scanner, merci pour votre demi-sourire tous les jeudis matin « Y a une vaso ce matin? ». Je vous en aurais créé du retard, mais le résultat en

vaut la chandelle, non ? En tout cas, merci pour votre patience. Un clin d'oeil à Philippe qui a mis toute son énergie à apprendre mes recettes (tourner les mollettes, utiliser les bonnes canules, enregistrer les données physio... ;-). Un merci particulier à tous les sujets sains et patients qui ont donné leur accord pour nos protocoles de recherches, et ils sont nombreux, merci pour votre intérêt et votre patience.

Comment oublier tous les collègues de l'équipe et de la plateforme qui sont à présent des amis ! Merci à vous tous pour les moments partagés, merci à ceux qui restent, (Clément, Mélina, Julien, Mathieu, Benj', Sandrine, Nico, Hervé, Vasile ...), à ceux qui partent et sont partis (Alex', Fabrizio, Anaïck, Franck), aux copains outre-atlantique (Nico, Thomas, Pierre D.). Merci Julien pour les bonnes parties de rigolades à la console (« bonjour, c'est le chauffagiste »). Merci à tous pour les bons moments partagés en congrès, en voyage post-congrès (Bali, New York... Merci Alex' !), en soirées, à la pause déjeuner et au café ! Que de discussions endiablées sur la nature humide de l'eau et sur les talents journalistiques du Bos' ton Manuscript ! C'est aussi ça la recherche...

Merci aux potes. La vie est si belle quand on est bien entouré. Vous êtes au top ! Restez-y !

Merci bien sur à ma famille « au sens large », cette grande famille savoyarde ! Vous êtes un socle, une force.

Merci à ma petite famille aussi, à mes parents et à ma soeur. Merci pour votre confiance, pour votre joie de vivre, pour ces moments que l'on passe ensemble, pour votre amour. Vous êtes mon équilibre.

Merci à toi mon Juju. La vie est douce et aventureuse à tes côtés, tu me donnes tant de force que je vais maintenant déplacer mes montagnes jusqu'à Boston ! La vie avec toi c'est que du bonheur !

Table des matières

Liste des abréviations	10
Résumé / Abstract	11
Introduction	13
I Introduction générale	15
1 Anatomie et physiologie du système nerveux central	17
1.1 Le système nerveux central	17
1.2 La vascularisation du système nerveux central	19
1.2.1 Le sang	19
1.2.2 Le système vasculaire cérébral	19
1.2.3 L'unité neurovasculaire et la barrière hémato-encéphalique	21
1.3 Les paramètres de la perfusion cérébrale basale	22
1.3.1 Le débit sanguin cérébral	22
1.3.2 Le volume sanguin cérébral	22
1.3.3 La densité et l'index de taille des vaisseaux	23
1.3.4 La perméabilité des vaisseaux à un agent de contraste	23
1.4 Les modifications fonctionnelles de la perfusion cérébrale	23
1.4.1 Le couplage neurovasculaire	24
1.4.2 L'autorégulation de la perfusion cérébrale	25
1.4.3 La vasoréactivité cérébrale	26
2 L'imagerie de la perfusion cérébrale	29
2.1 Les techniques d'imagerie médicale utilisées en clinique	30
2.1.1 L'IRM : Bases physiques	30
2.1.2 La tomodensitométrie X : TDM	31
2.1.3 L'échographie Doppler	32
2.2 Théorie de la cinétique des traceurs	33
2.2.1 Approches à l'équilibre	33
2.2.2 Approches dynamiques	33
2.3 L'imagerie du premier passage d'un agent de contraste en IRM DSC et TDMp	36
2.4 Le marquage de spins artériels (ASL)	37
2.4.1 ASL pulsé	39
2.4.2 ASL continu	41

2.4.3	ASL pseudo-continu	41
2.4.4	Le modèle général de la quantification en ASL	43
3	IRMf de la perfusion cérébrale	45
3.1	L'imagerie fonctionnelle basée sur le couplage neurovasculaire	45
3.1.1	Le signal BOLD	45
3.1.2	L'imagerie fonctionnelle basée sur le couplage neurovasculaire en ASL	47
3.2	L'imagerie fonctionnelle de l'autorégulation cérébrale	48
3.3	L'imagerie fonctionnelle de la vasoréactivité cérébrale	49
II	Méthodologie de l'imagerie quantitative du CBF en ASL	53
4	La méthode BoTuS	57
4.1	Objectifs de cette étude	57
4.2	Publication	58
4.3	Discussion et résultats complémentaires	65
5	Optimisation de la chaîne de traitement des images ASL	67
5.1	Pré-traitement	67
5.2	Quantification des cartes de perfusion	72
5.2.1	Analyse statistique	72
5.2.2	Choix du modèle de quantification et des constantes à appliquer . .	73
5.3	Post-traitement	74
5.4	Mise en place d'un pipeline de traitements automatisé	75
5.4.1	Cahier des charges	76
5.4.2	Logiciel GinFmriBatch (GFB)	76
5.4.3	Applications du logiciel GinFmriBatch (GFB)	78
6	Étude NEOTUM : comparaison entre ASL, DSC et TDMp	79
6.1	Tumeurs cérébrales et imageries de perfusion	80
6.2	Matériels et Méthodes	82
6.2.1	Protocoles d'acquisition	82
6.2.2	Protocoles de traitements des images ASL / DSC / TDMp	82
6.3	Résultats préliminaires	87
6.4	Discussion	90
6.5	Conclusion	92
III	Méthodologie de l'imagerie de la vasoréactivité cérébrale en ASL	93
7	Acquisitions et traitements en vasoréactivité	97
7.1	Administration des stimuli vasomoteurs	97
7.2	Enregistrement des données physiologiques	98
7.3	Paradigme d'inhalation des gaz vasomoteurs	99
7.4	Séquences d'imagerie	99

8 Régresseurs physiologiques	101
8.1 Comparaison d'analyses du signal ASL de vasoréactivité	101
8.2 Matériel et méthode	103
8.3 Résultats préliminaires	106
8.4 Discussion	108
8.5 Conclusion	109
IV Applications cliniques de l'imagerie de la vasoréactivité cérébrale	111
9 Étude CEVASAL : vasoréactivité et Alzheimer	115
9.1 Physiopathologie de la maladie d'Alzheimer et perfusion cérébrale	116
9.2 Protocole	117
9.3 Publication	117
9.4 Discussion complémentaire et conclusion	127
10 Étude CEVASTOC : vasoréactivité et sténoses	129
10.1 Intérêt de la mesure de la réserve vasculaire chez des patients porteurs de sténoses	129
10.2 Matériel et Méthodes	130
10.3 Résultats de groupes préliminaires	132
10.3.1 Index de latéralité pour les volontaires et les patients	132
10.3.2 Corrélations entre les différentes techniques	133
10.4 Cas illustratifs	135
10.5 Discussion	138
10.6 Conclusion	139
11 Étude Vallot : vasoréactivité et altitude	141
11.1 Les effets de l'altitude sur le corps humain	141
11.2 Protocole	144
11.3 Publication en cours de soumission	145
11.4 Discussion complémentaire et conclusion	169
Conclusion générale et perspectives	171
Liste des figures	176
Liste des tables	177
Annexes	179
I. Paramètres d'acquisition des principales séquences utilisées à 3 T	181
II. Étude de cas d'une patiente porteuse d'une sténose intracrânienne	195
III. CV avec liste des publications et des conférences	205
Bibliographie	209

Liste des abréviations

ACA	Anterior Cerebral Artery, artère cérébrale antérieure
AIF	Arterial Input Function, fonction d'entrée artérielle
AMS	Acute Mountain Sickness, mal aigu des montagnes
ASL	Arterial Spin Labeling, marquage de spins artériels
ATP	Adénosine Tri-Phosphate
AVC	Accident Vasculaire Cérébral
BHE	Barrière hémato-encéphalique
BOLD	Blood Oxygen Level Dependant, dépendant du niveau d'oxygénation sanguine
BoTuS	Bolus Turbo Sampling, échantillonnage rapide du bolus
CBF	Cerebral Blood Flow, débit sanguin cérébral
CBV	Cerebral Blood Volume, volume sanguin cérébral
CMRO2	Cerebral Metabolic Rate of Oxygen, consommation cérébrale en oxygène
CVR	Cerebro-Vascular Reactivity, vasoréactivité cérébrale
DSC	Dynamic Susceptibility Contrast, contraste de susceptibilité dynamique
FWHM	Full Width at Half Maximum, largeur à mi hauteur
GFB	GinFmriBatch, batch de traitement de données IRMf codé au GIN
GLM	General Linear Model, modèle linéaire général
HACE	High-Altitude Cerebral Oedema, œdème cérébral de haute altitude
HAPE	High-Altitude Pulmonary Oedema, œdème pulmonaire de haute altitude
HRF	Hemodynamic Response Function, fonction de réponse hémodynamique
ICA	Internal Cerebral Artery, artère carotide interne
LCR	Liquide Cérébro-Rachidien
MCA	Middle Cerebral Artery, artère cérébrale moyenne
MTT	Mean Transit Time, temps de transit moyen
nifti	Neuroimaging Informatics Technology Initiative, initiative technologique en informatique pour la neuro-imagerie
PA	Pression artérielle

PaCO ₂	Pression artérielle en CO ₂
PaO ₂	Pression artérielle en oxygène
PCA	Posterior Cerebral Artery, artère cérébrale postérieure
PET	Positron Emission Tomography, tomographie par émission de positon
PGW	Polygone de Willis
PIC	Pression IntraCrânienne
RF	Radio-Fréquence
SPECT	Single Photon Emission Computed Tomography, tomographie d'émission mono-photonique
SPM	Statistical Parametric Mapping, cartographie paramétrique statistique
TCD	TransCranial Doppler, Doppler transcrânien
TDM	Tomodensitométrie, ou scanner X, ou tomographie X
TDMp	Tomodensitométrie de perfusion
TOF	Time Of Flight, angiographie IRM par temps de vol
TTP	Time To Pic, temps au pic

Résumé

Le travail méthodologique mis en place durant cette thèse a consisté en l'optimisation des acquisitions et des traitements de données pour l'imagerie quantitative de la perfusion cérébrale et de la vasoréactivité en ASL. Dans un premier temps, une méthode originale pour mesurer la largeur du bolus des spins marqués appelée BoTuS (Bolus Turbo Sampling) a été mise en place et validée afin d'améliorer la quantification de la perfusion cérébrale basale en ASL. Les acquisitions en ASL pulsé ont été comparé aux mesures de perfusion en premier passage gadolinium et en premier passage de produit de contraste iodé en scanner X sur des patients atteints de tumeurs cérébrales. Dans un second temps, afin d'améliorer la qualité des cartes de vasoréactivité en ASL, des analyses des variations physiologiques des sujets ont été implémenté afin d'être utilisé comme modèle dans l'analyse statistique des données. Enfin, ces méthodes optimisées au niveau de l'acquisition et de la chaîne traitement ont été appliquées sur des populations de sujets sains et de patients afin de les valider. Les applications cliniques ont été menées sur des patients porteurs de la maladie d'Alzheimer où l'on a montré une baisse de la vasoréactivité par rapport aux témoins âgés. La perfusion cérébrale et la vasoréactivité de sujets atteints de sténoses a été étudié. Enfin, une étude avant et après acclimatation à l'altitude a montré qu'un séjour de 7 jours à 4365 m augmente le débit sanguin cérébral et diminue la vasoréactivité cérébrale.

Mots clés : IRM, marquage de spins artériels (ASL), perfusion cérébrale, vasoréactivité, hypercapnie, Alzheimer, sténoses, hypoxie.

Abstract

The methodological aspects implemented during this Ph.D. thesis consisted of the optimization of the acquisitions and data processing of ASL imaging for quantitative assessment of cerebral perfusion and vasoreactivity. First of all, an original technique called BoTuS (Bolus Turbo Sampling) was implemented and validated, with the aim to render the quantification of the pulsed ASL signal more robust. Cerebral blood flow measurements obtained using pulsed ASL were compared to gold standard techniques such as the first passage of gadolinium MRI and CT-scan perfusion in a population of patients with treated brain tumors. Secondly, a new processing technique was tested, taking into account the physiological state of the subject during the exam to model the ASL signal during the vasoreactivity paradigm, and thus to provide more reliable maps at the subject level. Finally, these methods were applied in various studies on healthy subjects and patients. A decrease in vasoreactivity was found in Alzheimer disease patients compared to elderly subjects. Studies on patients with severe stenosis were conducted to test our methods at the subject level. An increase in CBF and a decrease in vasoreactivity in subjects exposed to high altitude at 4365 m during 7 days was demonstrated and correlated to transcranial Doppler results.

Key words : MRI, arterial spin labeling (ASL), cerebral perfusion, vasoreactivity, hypercapnia, Alzheimer, stroke, hypoxia.

Introduction

La perfusion cérébrale est un mécanisme dynamique permettant, grâce aux vaisseaux sanguins, d'irriguer le cerveau et de l'alimenter en nutriments et en oxygène. La perfusion cérébrale réfère au phénomène de transport et se situe à l'échelle de la microcirculation. L'étude de la macro-circulation (artères, artérioles, veines...) ne pourrait suffire à décrire la perfusion cérébrale puisque les échanges entre le sang et les tissus se situent essentiellement au niveau du parenchyme et des capillaires.

Les vaisseaux cérébraux s'adaptent en permanence pour moduler la perfusion cérébrale, tant au niveau local qu'au niveau du cerveau entier, en fonction des besoins tissulaires ou en fonction de paramètres extérieurs tels que la pression de perfusion. De nombreuses pathologies du système nerveux central affectent de façon directe ou indirecte la capacité des vaisseaux à remplir cette fonction de régulation de la perfusion cérébrale. L'imagerie de la perfusion cérébrale se limite aujourd'hui généralement à l'évaluation de la simple présence de perfusion à un état basal, et n'examine pas sa fonctionnalité, c'est à dire sa capacité à réagir pour satisfaire des besoins variables. Une imagerie fonctionnelle de la perfusion nécessite l'évaluation des variations de perfusion en réponse à un stimulus vasoactif extérieur, telle une modulation de la capnie (la quantité de CO_2 dans le sang). L'IRM, grâce à sa capacité à mesurer le débit sanguin cérébral de façon dynamique et non-invasive avec la méthode de marquage de spins artériels (ASL), est bien placée pour fournir une telle imagerie véritablement fonctionnelle de la perfusion cérébrale. C'est cette technique qui a fait l'objet du travail méthodologique mis en place durant cette thèse.

Le contexte de ce travail sera introduit dans la première partie de ce manuscrit. Y seront abordés les aspects anatomiques et physiologiques inhérents à la compréhension des différents mécanismes de la perfusion cérébrale, puis seront décrits les techniques d'imagerie de la perfusion cérébrale basale, ainsi que les techniques permettant d'obtenir des informations quant aux modifications fonctionnelles de la perfusion cérébrale.

La seconde partie du manuscrit présentera les travaux effectués dans le but d'optimiser les acquisitions et le traitement des images d'ASL pour la mesure de la perfusion basale. Nous avons notamment mis en place et validé une méthode originale pour mesurer la largeur du bolus des spins marqués appelée BoTuS (Bolus Turbo Sampling), présenté dans le chapitre 4. Une étude de comparaison entre les techniques d'imagerie de la perfusion cérébrale disponibles en clinique sera présentée dans le chapitre 6. Cette étude présente des résultats préliminaires obtenus en ASL pulsé, en premier passage gadolinium et en premier passage de produit de contraste iodé en scanner X sur des patients atteints de tumeurs cérébrales.

Le but étant d'obtenir des cartes de vasoréactivité en ASL, la partie III présentera les optimisations apportées au protocole d'imagerie de la vasoréactivité ainsi qu'aux traitements de données spécifiques utilisés (chapitre 7). Nous avons mis en place des analyses capables d'obtenir des cartes de vasoréactivité sur des données d'ASL bruitées en prenant en compte les variations physiologiques du sujet comme modèle dans notre analyse

statistique. Une étude préliminaire comparative sur la performance de ces méthodes sera présentée dans le chapitre 8.

Enfin, la validation de ces méthodes n'est possible que grâce à l'application de celles-ci dans un contexte clinique. Les applications cliniques de nos méthodes ont été menées chez des patients atteints de plusieurs pathologies, notamment porteurs de la maladie d'Alzheimer où l'on a montré une baisse de la vasoréactivité par rapport aux témoins âgés (chapitre 9), mais aussi chez des patients porteurs de sténoses (chapitre 10). Dans un objectif de transfert de ces méthodes vers la routine clinique, le chapitre 10 présente des résultats préliminaires portant sur des mesures de vasoréactivité chez des patients porteurs de sténoses artériels. Pour finir, une étude avant et après acclimatation à l'altitude a montré qu'un séjour de 7 jours à 4365 m augmente le débit sanguin cérébral et diminue la vasoréactivité cérébrale (chapitre 11).

Ces travaux ont été réalisés sous la direction de Jan Warnking et Alexandre Krainik. Ils ont été financés par le ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche et par l'INSERM.

Première partie

Introduction générale

Chapitre 1

Anatomie et physiologie du système nerveux central

1.1 Le système nerveux central

Le système nerveux central humain est situé dans la boîte crânienne et le rachis. Il est composé de la moelle épinière et de l'encéphale, comprenant lui même le cerveau, le tronc cérébral et le cervelet.

Alors que la moelle épinière est le siège des fonctions sensori-motrices élémentaires, le cerveau est le siège des fonctions supérieures (fonctions cognitives, sens, réponses nerveuses). Il est l'organe le mieux protégé du corps. Le crâne le protège mécaniquement, les méninges ensuite, constituées de trois membranes (dure-mère, arachnoïde et pie-mère), l'enveloppent pour amortir les chocs. Enfin, le cerveau baigne dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) qui circule dans les ventricules et les méninges. Ce fluide nutritif, produit par les plexus choroïdes dans les ventricules, est absorbé dans le système veineux et évacue des déchets toxiques. Il a aussi un rôle de protection immunologique.

Au niveau cellulaire, le cerveau est principalement composé de cellules gliales et de neurones ainsi que de tissus conjonctifs à la base des vaisseaux sanguins. Les cellules gliales sont les plus nombreuses. Elles remplissent diverses fonctions : nutrition des neurones, isolement des tissus nerveux, soutien squelettique, protection des neurones, aide à la transmission de l'influx nerveux, implication importante dans le métabolisme cérébral. Elles sont de différents types. Les cellules microgliales ont un rôle de protection immunologique puisqu'elles phagocytent les corps étrangers. Les astrocytes ont un rôle de support mais aussi de transport du glucose notamment vers les neurones en le métabolisant partiellement. Ils jouent également un rôle important dans le couplage neuro-vasculaire dont le but principal est d'augmenter les apports en nutriments par le sang lors d'une activité neuronale plus intense. Les neurones quant à eux sont des cellules hautement spécialisées, qui ont pour caractéristique de pouvoir communiquer des messages entre eux par la propagation de potentiels transmembranaires. Les prolongements du neurone sous formes de dendrites ou d'axone lui permettent des connexions à plus ou moins longues distances et entre différents types de neurones.

Le cortex (substance grise), contient la plus grande partie des neurones. Il comprend plusieurs couches de corps de neurones superposées. La substance blanche est constituée de fibres nerveuses reliant les différentes parties du cerveau entre elles et au reste du corps.

Le cerveau est constitué de quatre lobes cérébraux externes, du système limbique et de l'insula (figure 1.1) intervenant dans différents processus cognitifs :

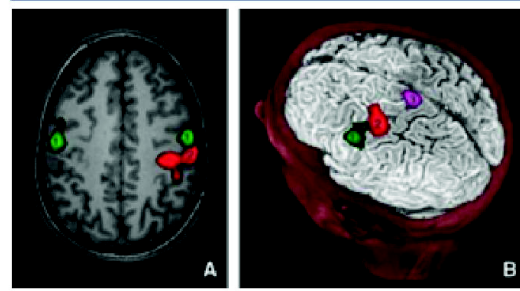
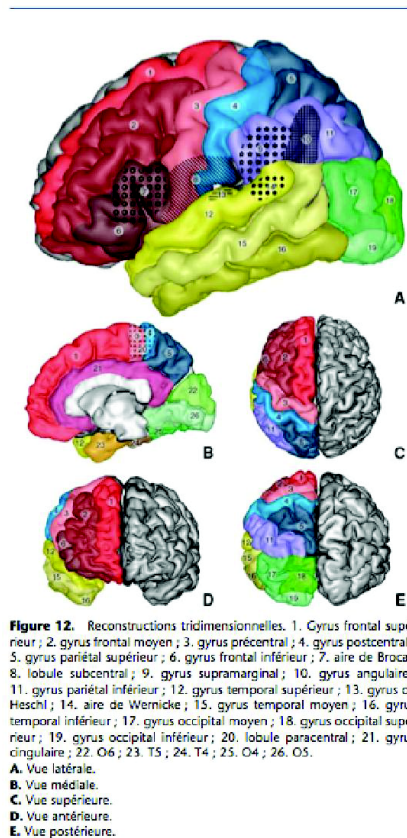


Figure 9. Aires fonctionnelles motrices. Activation des régions motrices des lèvres (1), de la main droite (2) et du pied droit (3), lors d'une IRM fonctionnelle avec tâches motrices.

A. Coupe axiale.
B. Reconstruction tridimensionnelle.

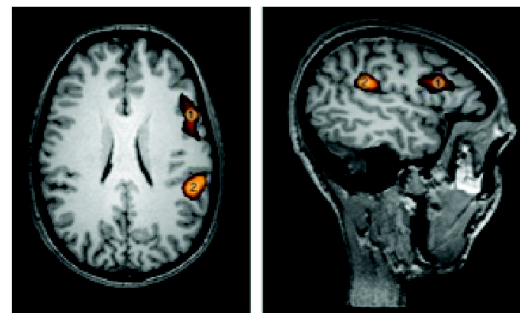


Figure 10. Aires fonctionnelles du langage de Broca et Wernicke. Activation des aires de Broca (1) et Wernicke (2) lors d'une IRM fonctionnelle avec tâche de compréhension et génération de phrase.

FIGURE 1.1 – Aires cérébrales anatomiques et fonctionnelles (Cantin et al., 2011a)

- le lobe frontal intervient essentiellement dans les fonctions mentales supérieures comme les émotions, la mémoire, l'attention, la motivation, la socialisation, la créativité, la planification, et le langage, mais aussi, dans sa partie postérieure, dans le mouvement volontaire. Le sillon central sépare le lobe frontal du lobe pariétal.
- le lobe pariétal joue un rôle important dans l'intégration des informations issues des différentes modalités sensorielles (vision, toucher, audition).
- le lobe temporal joue un rôle dans de multiples processus cognitifs. La partie inférieure du cortex temporal semble impliquée dans les traitements visuels de haut niveau concernant des stimuli complexes comme la reconnaissance des visages (gyrus fusiforme) et l'analyse des scènes visuelles complexes (gyrus parahippocampique).
- le lobe occipital contient le centre visuel du cerveau.
- Le système limbique est composé de structures profondes telles que l'hippocampe, l'amygdale (peur, émotions), le cingulum, le fornix et l'hypothalamus. Ce groupe de structures joue un rôle très important dans le comportement et en particulier, dans diverses émotions comme l'agressivité, la peur, le plaisir ainsi que la formation de la mémoire.
- L'insula est située en profondeur dans les replis du cortex. Son rôle est encore mal connu, mais il est généralement associé aux fonctions limbiques et interviendrait notamment dans le dégoût, la dépendance ou encore la conscience. Cette région cérébrale possède aussi des interactions avec le système nerveux végétatif.

1.2 La vascularisation du système nerveux central

Le cerveau est l'organe du corps dont l'activité métabolique est la plus intense. Cette activité métabolique est principalement liée à la combustion aérobie du glucose, puisque c'est le seul glucide capable de traverser la barrière hémato-encéphalique. Le stockage du glucose et de l'oxygène est pratiquement inexistant au niveau cérébral, et la demande en glucose et en oxygène y est très importante. Ainsi, le cerveau ne représente en poids que 2% de la totalité du corps humain mais utilise au repos 20% de l'oxygène et 60% du glucose consommé par l'organisme entier.

De ce fait, le cerveau est de loin l'organe le mieux vascularisé du corps puisqu'il reçoit 16% du sang éjecté par le ventricule gauche, avec un débit sanguin cérébral moyen sur tout l'encéphale de 50 à 55 ml par minute pour 100 g de substance cérébrale. Cela représente 700 à 750 ml de sang transitant dans le cerveau par minute. Cette vascularisation très importante s'explique aussi par la très grande sensibilité du cerveau à l'anoxie¹. L'interruption du débit sanguin cérébral pendant quelques secondes suffit pour provoquer une perte de conscience. Après quelques minutes d'ischémie, les lésions cérébrales peuvent être irréversibles.

1.2.1 Le sang

Le sang est le plus important des liquides biologiques. Il irrigue tous les organes, leur apporte oxygène et éléments nutritifs et les débarrasse de leurs déchets tels que le dioxyde de carbone ou les déchets azotés ou encore la chaleur issue des processus métaboliques. Il sert également à amener aux tissus les cellules et les molécules du système immunitaire, et à diffuser les hormones dans tout l'organisme. Le sang est composé à 55% de plasma et à 45% de cellules, globules rouges, globules blancs et plaquettes. Parmi les cellules sanguines adultes, les globules rouges, ou érythrocytes, sont de loin les plus nombreux (environ 5 millions par mm^3 de sang). Ils doivent leur coloration à un pigment, l'hémoglobine. L'hémoglobine est riche en fer et a la propriété de fixer rapidement de grandes quantités d'oxygène. Après s'être chargés d'oxygène dans les poumons, les globules rouges sont transportés par le flux sanguin dans tout le corps. Une fois parvenus dans les vaisseaux capillaires des tissus, ils libèrent l'oxygène. Le sang est alors désoxygéné et capte le gaz carbonique produit par les tissus, qui est véhiculé, principalement par le plasma, jusqu'aux poumons.

1.2.2 Le système vasculaire cérébral

Le sang arrive au cerveau par les artères carotides internes (ICA) gauche et droite qui naissent dans le cou d'une bifurcation des artères carotides communes. Le cerveau est également alimenté par le sang issu des artères vertébrales qui proviennent des artères sous-clavières (figure 1.3). Les artères vertébrales gauche et droite se réunissent et forment l'artère basilaire. Celle-ci rejoint la circulation venant des carotides internes dans un anneau artériel à la base du cerveau, que l'on appelle le polygone de Willis (figure 1.3).

Le polygone de Willis est un système de suppléance vasculaire qui assure au cerveau d'être alimenté en sang même si une des artères du cou est lésée ou obstruée. Cependant, cet anneau n'est pas complet dans environ 50% de la population. Les artères cérébrales

1. L'anoxie est une souffrance tissulaire induite par le manque d'oxygène présent dans le sang, ou l'impossibilité pour le tissu d'utiliser cet oxygène.

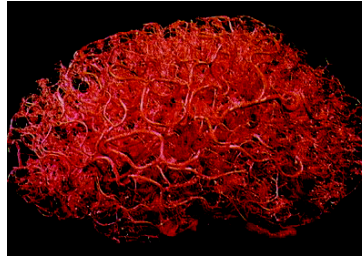


FIGURE 1.2 – Réseau vasculaire cérébral humain après injection d'une émulsion dans les vaisseaux et dissolution du parenchyme cérébral (Zlokovic & Apuzzo (1998))

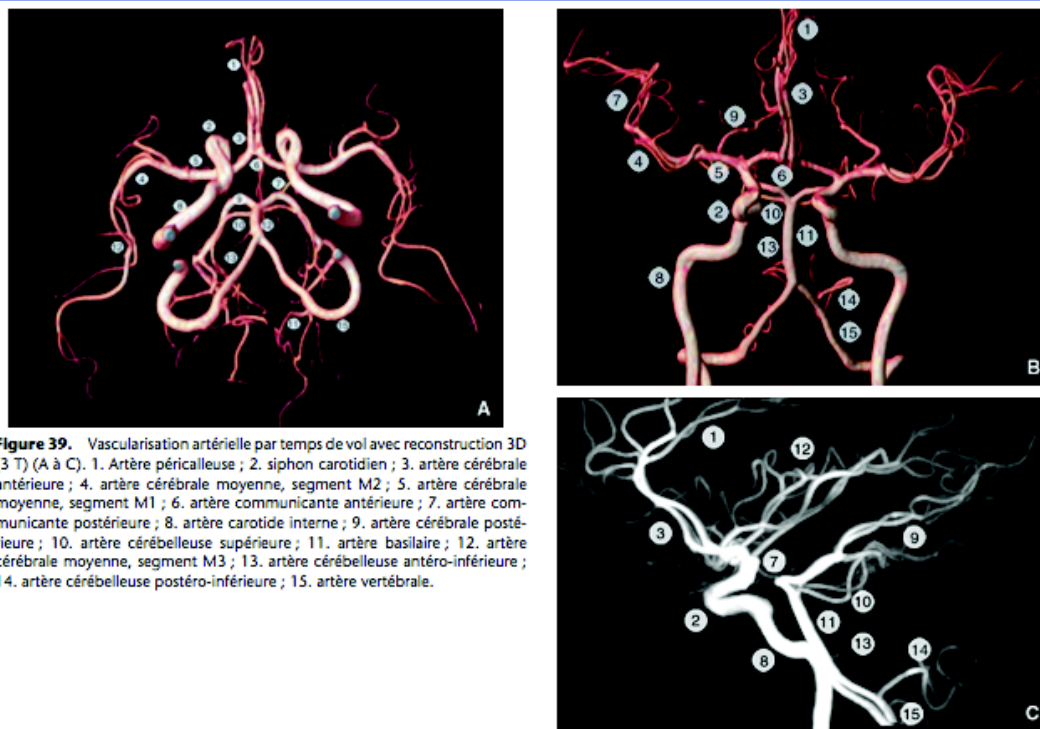


FIGURE 1.3 – Anatomie des artères cérébrales (Cantin et al. (2011a)).

antérieures sont issues des carotides internes et reliées entre elles par l'artère communicante antérieure. La continuité des artères carotides internes forme les artères cérébrales moyennes (MCA) aussi appelées artères sylviennes puisqu'elles cheminent dans le sillon sylvien (Cantin et al., 2011a). Les artères cérébrales postérieures sont issues du tronc basilaire et reliées aux ICA, artères antérieures, MCA par les artères communicantes postérieures.

Ces artères cheminent à la surface du cortex dans l'espace sous-arachnoïdien. À ce niveau, on les appelle « artères piales ». À partir des artères piales naissent de nombreuses artérioles perforant la substance grise du cerveau pour se diviser progressivement jusqu'aux capillaires de 6 μm de diamètre environ.

Ces fins capillaires vont ensuite se rassembler pour former des veinules puis des veines de plus en plus grosses jusqu'à arriver dans le système veineux à basse pression appelé « sinus ». Ces sinus vont finir par se jeter dans les veines jugulaires internes pour enfin revenir jusqu'à l'oreillette droite du cœur.

1.2.3 L'unité neurovasculaire et la barrière hémato-encéphalique

La barrière hémato-encéphalique (BHE) est l'interface entre l'espace intra-vasculaire et le tissu cérébral extravasculaire. Le cerveau étant un organe très sensible, le rôle de la BHE est à la fois de limiter le transport de macro-molécules ou de micro-organismes potentiellement neurotoxiques et de permettre le passage ou le transport des nutriments essentiels au métabolisme cérébral, mais aussi de réguler l'apport en ions Na^+ , K^+ et Ca^{2+} (Hawkins & Davis, 2005; Zlokovic, 2008). Pour cela, les cellules endothéliales formant les vaisseaux cérébraux ont la particularité d'être fortement liées entre elles grâce à des jonctions serrées et des points d'adhésions focaux (Iadecola, 2004). Une rupture de la BHE, causée par une drogue ou une pathologie, peut ainsi causer des dommages cérébraux.

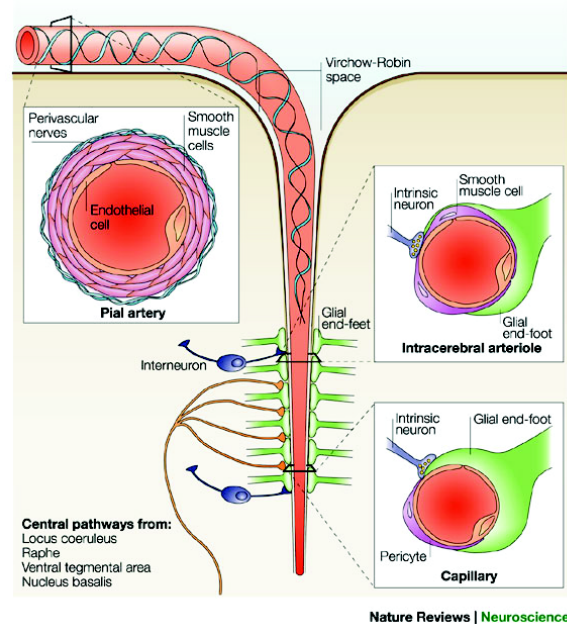


FIGURE 1.4 – L'unité neurovasculaire des artères piales aux capillaires en passant par les artérioles. (Iadecola (2004))

Le fonctionnement des neurones et des vaisseaux dans le cerveau est intimement lié, si bien qu'il n'est souvent pas opportun de les étudier séparément. Il émerge alors la notion d'une « unité neuro-vasculaire » ou « unité neuro-glio-vasculaire ». L'unité neuro-vasculaire est composée des micro-vaisseaux sanguins, des neurones, astrocytes et péricytes. L'unité neuro-vasculaire est constituée de types de cellules différents selon le niveau de hiérarchie vasculaire à laquelle elle appartient : artères, artérioles ou capillaires.

Les artères piales au niveau du cortex sont composées principalement de muscles lisses et d'une couche de cellules endothéliales (figure 1.4). Elles sont entourées de nerfs périvasculaires sensibles aux agents vasodilatateurs (NO, acétylcholine...) et vasoconstricteurs (noradrénaline, sérotonine...). Les artères piales sont séparées du cerveau par l'espace de Virchow-Robin (Iadecola, 2004). Cet espace disparaît quand les artérioles pénètrent à l'intérieur du cerveau. Les capillaires sont, quant à eux, formés d'une couche de cellules endothéliales recouverte de péricytes, de pieds astrocytaires et parfois d'inter-neurones².

2. Les inter-neurones sont des neurones ayant des prolongements axonaux réduits et permettant aux

Les pieds astrocytaires entourent presque entièrement les micro-vaisseaux cérébraux. Les péricytes traduisent les signaux chimiques provenant des cellules endothéliales, neurones et astrocytes en modifiant le diamètre vasculaire (Peppiatt et al., 2006), on parle alors de couplage neuro-vasculaire. Ceci sera expliqué plus en détail dans la section 1.4.

1.3 Les paramètres de la perfusion cérébrale basale

La perfusion cérébrale est une fonction complexe dont la caractérisation ne peut pas se résumer à un seul paramètre. Ce terme réfère parfois au simple paramètre de débit sanguin cérébral, mais il est utilisé ici de façon plus large en désignant le transport de substances par le sang vers le tissu cérébral. Ce transport peut être caractérisé par différents paramètres, dont le débit sanguin cérébral (CBF), le volume sanguin cérébral (CBV), le temps de transit moyen (MTT, Mean Transit Time) ou bien encore la perméabilité des vaisseaux à un agent de contraste.

Ces paramètres, permettant de caractériser la perfusion cérébrale du tissu, peuvent être classés en deux catégories :

- Les paramètres « statiques », tels que le volume de sang ou la taille moyenne des vaisseaux sanguins dans un volume de tissu, permettant de caractériser la structure du système vasculaire ;
- Les paramètres « dynamiques », tels que le débit de sang ou le temps de transit du sang dans un volume de tissu, intégrant la notion de transport.

Ces deux types de paramètres seront abordés d'une manière différente lorsqu'il s'agira de les imager. Les premiers pourront nécessiter l'utilisation d'une méthode statique grâce à l'utilisation d'un éventuel agent de contraste pouvant être distribué uniformément dans la circulation, tandis que les seconds nécessiteront forcément l'utilisation d'approches dynamiques permettant de suivre dans le temps le parcours du sang, son transit à travers les vaisseaux ou bien encore la capacité d'extravasation de l'agent de contraste utilisé.

1.3.1 Le débit sanguin cérébral

Le débit sanguin cérébral (CBF pour Cerebral Blood Flow) représente la quantité de sang délivrée à une masse de tissu par unité de temps, et s'exprime le plus souvent en unité de ml de sang/100g de tissu/min. Le CBF varie d'une région du cerveau à l'autre, principalement selon si l'on se situe dans la substance grise ou la substance blanche. Chez l'homme sain, le CBF est d'environ 60 à 80 ml/100g/min dans la substance grise et plus faible d'un facteur 2,5 à 4 environ dans la substance blanche. Il est globalement maintenu dans cette gamme de valeurs par une modification du tonus musculaire au niveau artériolaire par l'autorégulation (section 1.4.2). Le CBF est par ailleurs ajusté en permanence aux besoins variables des tissus par d'autres mécanismes, le couplage neurovasculaire (Iadecola, 2004; Iadecola & Nedergaard, 2007) (section 1.4.1) et la vasoréactivité cérébrale (CVR, Cerebral VasoReactivity) aux gaz circulants (section 1.4.3).

1.3.2 Le volume sanguin cérébral

Le volume sanguin cérébral, (CBV pour Cerebral Blood Volume), est défini comme le volume de sang contenu dans la micro-vascularisation (artérioles, capillaires et veinules)

neurones proches de communiquer entre eux. Ils sont le plus souvent inhibiteurs

d'un volume de tissu cérébral divisé par la masse du tissu contenu dans ce volume. Le CBV s'exprime en ml de sang pour 100 g de tissu, ou en fraction volumique occupée par le secteur sanguin dans un élément de volume (voxel) d'une image. Les valeurs de volume sanguin cérébral rapportées dans la littérature sont comprises entre 2 et 5 ml/100 g de tissu selon la région cérébrale considérée. Ce chiffre signifie donc que 2 à 5% du contenu d'un voxel représente du sang circulant (si $\rho = 1$ g/ml). Le volume sanguin varie en fonction des conditions physiologiques et pathologiques (tumeurs, ischémies...).

1.3.3 La densité et l'index de taille des vaisseaux

La densité des vaisseaux dans un volume de tissu est exprimée en mm^{-2} ou en mm^{-3} , et l'index de taille de vaisseaux généralement en mm . Ces paramètres sont complexes à obtenir en imagerie. Cependant, certains modèles permettent de les estimer (Troprès et al., 2001; Jensen et al., 2006). Ils apportent de nouvelles informations par rapport au volume sanguin et peuvent permettre de mieux caractériser une lésion. Ils sont particulièrement utiles dans la caractérisation de l'angiogénèse tumorale³ où le volume sanguin peut rester constant tandis que la taille des vaisseaux augmente (Pannetier et al., 2012), ce qui traduit une vascularisation plus rare et plus grossière, favorisant des gradients d'oxygénation au sein du tissu.

1.3.4 La perméabilité des vaisseaux à un agent de contraste

La perméabilité des vaisseaux cérébraux à un agent de contraste est définie en IRM comme le flux des molécules d'intérêt à travers la BHE et est exprimée en ml/100g de tissu/min. Ce paramètre dépend des caractéristiques de l'agent de contraste utilisé (taille, poids, lipophilie...). La perméabilité du cerveau au Gd-DOTA, agent de contraste à base de gadolinium communément utilisé en IRM, est nulle en condition saine du fait de la barrière hémato-encéphalique. Cette perméabilité devient positive lorsqu'il y a une rupture de la BHE comme cela peut être le cas dans les tumeurs agressives tels que les gliomes (Aronen & Perkiö, 2002; Provenzale et al., 2002).

1.4 Les modifications fonctionnelles de la perfusion cérébrale

Le transport du sang du cœur vers les cellules cérébrales n'est pas un processus passif. En effet, la régulation de la perfusion cérébrale est un processus intégré faisant intervenir différents processus physiologiques, pour modifier le diamètre des vaisseaux cérébraux dans le but de maintenir un niveau d'alimentation des tissus adapté à leurs besoins et indépendant de variations de paramètres extérieurs tels que la pression artérielle. La vasomotricité cérébrale est ainsi l'élément essentiel de la régulation du transport des métabolites et de l'oxygène vers les tissus du cerveau (figure 1.5).

L'hyperactivité cérébrale régionale produite par un stimulus sensoriel, une activité motrice, ou autres, sera associée à une augmentation du débit sanguin régional dans

3. L'angiogénèse décrit la croissance de nouveaux vaisseaux sanguins à partir de vaisseaux préexistants, c'est un processus physiologique mais qui peut devenir pathologique dans le cas de la croissance tumorale. L'angiogénèse tumorale permet en effet la prolifération d'un réseau de vaisseaux sanguins dans la tumeur, lui fournissant substances nutritives et oxygène et permettant sa croissance.

les zones corticales mises en jeu par le biais du couplage neurovasculaire. Le diamètre microvasculaire est modulé de façon prédominante par des facteurs métaboliques tels que les concentrations sanguines de CO_2 via le pH, de monoxyde d'azote (NO), d'adénosine, et de potassium (K^+) par le biais de la vasoréactivité cérébrale. Enfin, l'autorégulation du débit sanguin cérébral maintient le débit cérébral stable dans une plage large de variations de la pression artérielle et de la pression intracrânienne.

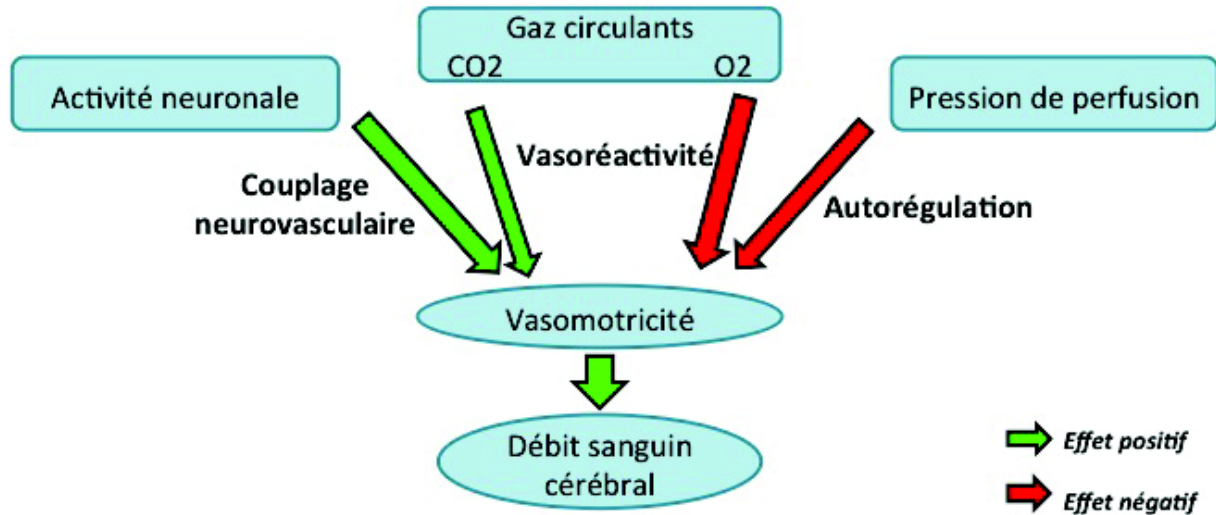


FIGURE 1.5 – Schéma représentant les différents phénomènes pouvant commander la vasomotricité cérébrale et ainsi modifier le débit sanguin cérébral

1.4.1 Le couplage neurovasculaire

Le couplage neurovasculaire est une fonction physiologique liant le débit sanguin cérébral et l'activité neuronale grâce à des échanges complexes entre neurones, cellules gliales et vaisseaux sanguins. Les neurones consomment beaucoup d'énergie pour revenir à un état d'osmolarité basal après transport de l'influx nerveux, mais aussi pour produire et dégrader les neurotransmetteurs. Cette énergie leur est mise à disposition sous forme d'adénosine triphosphate (ATP). L'ATP est tout d'abord produite par glycolyse, mécanisme métabolique anaérobie produisant peu d'ATP et du pyruvate, puis par un métabolisme oxydatif du pyruvate produisant cette fois beaucoup plus d'ATP. Ce second métabolisme transforme environ 90% de l'énergie contenue dans le glucose apporté par la circulation sanguine et fonctionne grâce à l'apport d'oxygène. Le transport de ces deux métabolites du cerveau est maintenu grâce à un couplage serré entre consommation de glucose (CMR_{glc} , cerebral metabolic rate of glucose) et d'oxygène (CMR_{O_2} , cerebral metabolic rate of oxygen) et augmentation du CBF.

Il est donc clair que les variations de l'activité neuronale entraînent une variation importante de la consommation de glucose et d'oxygène, le couplage neuro-vasculaire assurant une variation appropriée du CBF. L'oxygène dont ont besoin les neurones lors de l'activité neuronale va transiter à travers la BHE par diffusion passive. Une augmentation du flux d'oxygène requiert donc l'augmentation du gradient de concentration de l'oxygène. Celle-ci est obtenue par une augmentation de l'oxygénation sanguine, nécessitant une augmentation du débit sanguin cérébral supérieure à celle des besoins en oxygène. La régulation se fait au niveau des cellules musculaires lisses des artéioles. Elle s'accompagne

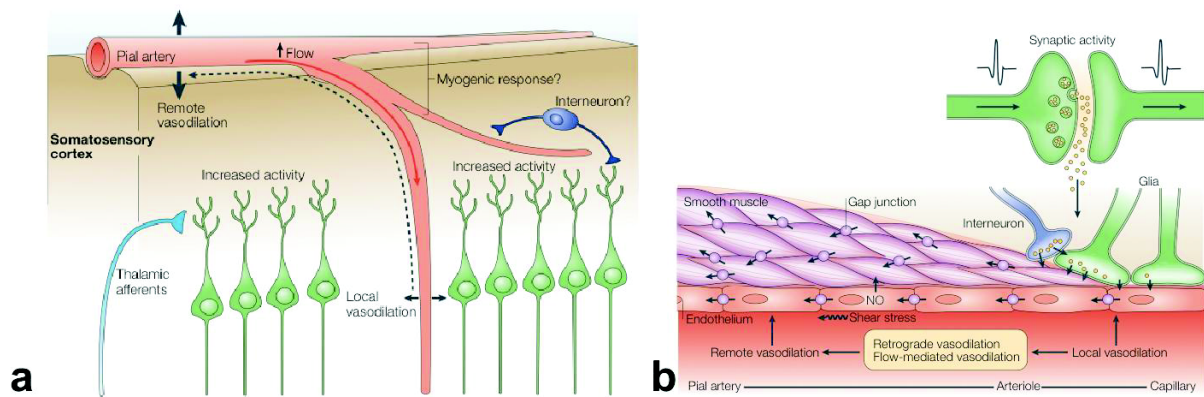


FIGURE 1.6 – a) Propagation locale de la réponse vasculaire à une activation neuronale dans le cortex somato-sensoriel. Une activation thalamique induit une vasodilatation locale qui se propage ensuite en amont jusqu’aux artères piales ce qui induit une augmentation importante du débit sanguin cérébral. b) Schéma expliquant la vasodilatation rétrograde provenant des capillaires en lien avec les cellules gliales et les interneurons de la zone en activité vers les artères piales à travers les muscles lisses des artérioles. (Iadecola (2004))

d’une augmentation du volume sanguin, d’abord au niveau artériolaire, puis, par dilatation passive, au niveau des veinules et veines. Cependant les mécanismes conduisant à cette cascade d’évènements sont encore peu clairs.

La première hypothèse pourrait être que l’augmentation du CBF est contrôlée directement par la demande en énergie. Les produits du métabolisme tel que le CO_2 et le NO augmentent le débit sanguin de façon intrinsèque puisque ce sont des agents vasodilatateurs. Cependant, bien qu’intuitive, cette théorie semble trop simplifiée.

Une autre hypothèse serait que les augmentations locales de CBF seraient induites par des signaux neuronaux via des neurotransmetteurs (Attwell & Iadecola, 2002). Dans ce cas les astrocytes joueraient un rôle clé, puisque la cascade des évènements chimiques du recyclage du glutamate produit des métabolites ayant des propriétés vasoactives. Dans ce cas, le couplage neurovasculaire serait le fruit d’un signal neuronal par l’intermédiaire de cellules gliales. Ce mécanisme a bien été démontré mais il ne peut pas expliquer seul les différences observées puisque c’est un mécanisme trop lent.

Finalement, il semblerait que les artères piales aient un système propre d’effecteurs vasoactifs. Comme montré sur la figure 1.6, le message de vasodilatation obtenu par les capillaires pourrait remonter jusqu’aux artérioles et aux artères pour augmenter de façon plus significative le débit sanguin dans les régions en aval.

Cette augmentation importante des apports d’oxygène est à la base du signal BOLD (Blood Oxygen Level Dependant, section 3.1), utilisé en IRM fonctionnelle pour cartographier de façon indirecte l’activité neuronale (Attwell & Iadecola, 2002) .

1.4.2 L’autorégulation de la perfusion cérébrale

L’autorégulation du débit sanguin cérébral est un ensemble de phénomènes d’origine myogénique essentiellement, qui maintient le débit cérébral stable même en présence de larges variations de la pression artérielle (PA) et de la pression intracrânienne (PIC). Le but étant de maintenir une pression de perfusion ($PP = PA_{moyenne} - PIC$) stable. Quand la pression de perfusion cérébrale varie entre 50 et 120 mmHg, les résistances hémodynamiques se modifient de telle façon que le débit cérébral varie très peu (figure 1.7). Une

baisse de la PA induit une vasodilatation afin de rétablir le débit sanguin cérébral à son niveau initial. L'hypertension artérielle induit une vasoconstriction empêchant l'augmentation du débit cérébral. Pour une PA inférieure à 50 mmHg, le seuil d'autorégulation est dépassé le débit sanguin cérébral diminue, cela peut mener à une syncope. Pour une PA supérieure à 120 mmHg la capacité de vasoconstriction est dépassée menant à la survenue d'un œdème cérébral.

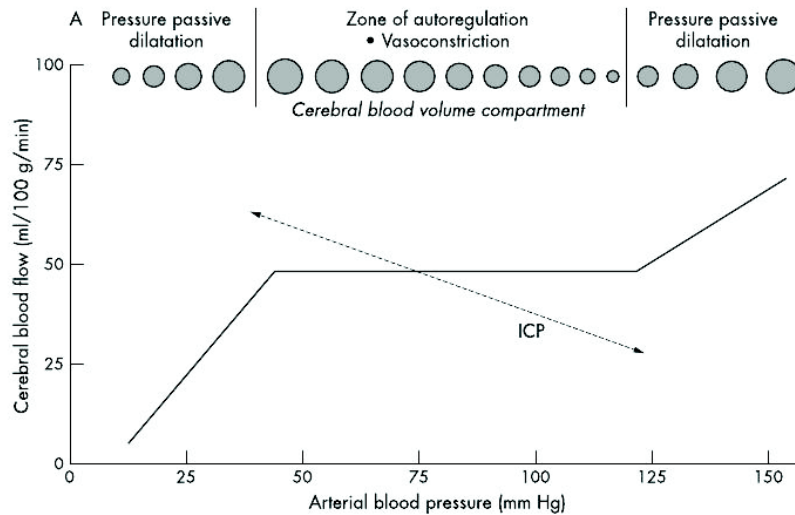


FIGURE 1.7 – L'autorégulation cérébrale maintient un débit sanguin cérébral constant dans des valeurs de pression artérielle comprises entre 40 et 120 mmHg (Lang et al. (2003))

Au niveau cellulaire ce sont les cellules des muscles lisses entourant la paroi des artères cérébrales (section 1.2.3) qui répondent aux variations de pression intravasculaire en se contractant si celle-ci augmente. Cette propriété, permettant aux muscles lisses de maintenir constant le CBF malgré des variations de la pression de perfusion, est à la base de la fonction d'autorégulation. De plus, les cellules musculaires lisses sont liées entre elles grâce à des jonctions moléculaires, ce qui leur permet de faire transiter ce signal au vaisseau sanguin.

1.4.3 La vasoréactivité cérébrale

Le débit sanguin cérébral est donc soumis aux variations de signaux neuronaux, et à l'autorégulation mais il peut aussi être modifié du fait de la dilatation ou de la constriction des vaisseaux sous l'effet d'un agent vasomoteur.

Le CO_2 est un vasodilatateur puissant au niveau cérébral, alors qu'il induit une vasoconstriction généralisée ailleurs. L'effet des variations de la concentration artérielle en CO_2 ($PaCO_2$, pression artérielle en CO_2) sur la contractilité des vaisseaux sanguins est régulé par un ensemble complexe de médiateurs. Il semblerait que le premier effet de l'augmentation de la $PaCO_2$ soit une diminution du pH sanguin puis du pH extracellulaire dans le cerveau (Dulla et al., 2005). Cette différence de pH entre le milieu extra et intra-cellulaire induirait une hyperpolarisation des cellules musculaires, ce qui réduirait la concentration de calcium intracellulaire et mènerait à une relaxation des muscles de la paroi des vaisseaux sanguins cérébraux, donc à une vasodilatation (Battisti-Charbonney et al., 2011). La diminution du pH extracellulaire modulerait aussi les taux d'ATP et de neuro-modulateurs tels que l'adénosine (Dulla et al., 2005), ce qui affecterait non seule-

ment la contractilité vasculaire, mais aussi l'excitabilité neuronale (Dulla et al., 2005; Zappe et al., 2008; Xu et al., 2010a). Au repos, le CBF diminue de 2 à 3% par mmHg de diminution de $PaCO_2$ (Brugniaux et al., 2007). Inversement, le CBF augmente de 3 à 4% par mmHg d'augmentation de la $PaCO_2$ jusqu'à atteindre un maximum d'augmentation de débit aux alentours de 20 mmHg.

La PaO_2 (Pression artérielle en oxygène) semble, quant à elle, jouer un rôle assez faible en situation physiologique, avec des variations du CBF de l'ordre de 5 à 10% dans des plages de PaO_2 allant de 60 mmHg à 150 mmHg (Brugniaux et al., 2007; Chiarelli et al., 2007; Prisman et al., 2008).

La vasoréactivité aux gaz circulants est un mécanisme qui adapte la perfusion cérébrale aux variations de volume ventilatoire et de composition des gaz inspirés (en haute altitude, par exemple). Elle permet d'évoquer facilement une réponse vasomotrice de façon expérimentale par modulation de la capnie par modulation de la respiration (apnée, hyperventilation) ou par augmentation de la fraction inspirée de CO_2 (5-10%). Ce stimulus peut aussi induire des effets secondaires tels qu'une soif d'air, une anxiété, des céphalées, ou une fatigue. L'anxiété due à l'effet du CO_2 est utilisée dans certaines études pour tester les effets de certains anxiolytiques (Bailey et al., 2005, 2007) à des concentrations de CO_2 comparables à celles utilisées lors de nos expériences. Cependant, ces effets sont dus à un stimulus hypercapnique bien plus long (~ 20 min) que ceux utilisés en IRM fonctionnelle ($\sim 2 - 3$ min).

Certains agents pharmacologiques peuvent également mener à une vasodilatation. C'est le cas notamment de l'acétazolamide. L'acétazolamide est un produit pharmaceutique utilisé dans l'épilepsie, dans la prévention du mal des montagnes (Douglas Ried et al., 1994), et comme diurétique. Son mécanisme d'action est dû à son pouvoir d'inhibition de l'anhydrase carbonique, enzyme permettant de transformer le CO_2 en HCO_3^- . L'inhibition de cette enzyme conduit donc à une faible acidose sanguine, menant à la vasodilatation (Grandin et al., 2005; Brown et al., 2007; Bokkers et al., 2011). L'augmentation du CBF induite par l'acétazolamide est de l'ordre de 25 à 50% (Grandin et al., 2005; Smith et al., 2008). L'acétazolamide a un fort pouvoir vasodilatateur mais sa demi-vie plasmatique est de 5 heures (www.informationhospitaliere.com), d'où l'intérêt du CO_2 dont l'action est instantanée et la demi-vie très courte (un cycle respiratoire).

Cette propriété de vasodilatation, induite par l'administration d'acétazolamide ou bien par l'augmentation de la pression partielle en CO_2 dans le sang, peut de ce fait être utilisée pour mesurer la capacité des vaisseaux à se dilater sous l'impulsion de ce stimulus. C'est ce que l'on appelle la mesure de la vasoréactivité cérébrale (CVR). On peut par le biais de cette mesure du CVR étudier la vasomotricité des vaisseaux cérébraux de façon plus directe et plus simple que par le biais de l'autorégulation ou du couplage neurovasculaire, qui est un phénomène lié à toute une série de mécanismes biologiques. Le CVR reflète ainsi la capacité qu'ont les vaisseaux sanguins cérébraux à se dilater et donc renseigner sur l'état de la vasomotricité. Cette donnée physio-pathologique peut se révéler être d'un grand intérêt dans l'étude des mécanismes de pathologies neurovasculaires. De nombreuses applications de cette mesure de la vasoréactivité ont ainsi vu le jour ces dernières années. Certaines de ces applications seront présentées dans la section 3.3.

Chapitre 2

L'imagerie de la perfusion cérébrale

Il existe en clinique un certain nombre de techniques pouvant mener à l'obtention des paramètres de la perfusion cérébrale (CBF, CBV, MTT...). Les premières études concernant la perfusion cérébrale mesuraient un débit sanguin cérébral global, comme ce fut le cas de la technique de Kety et Schmidt, dont l'agent de contraste était alors du monoxyde d'azote à faible dose (Kety & Schmidt, 1948). Les techniques ont à présent changé et l'on peut avoir accès aux paramètres de la perfusion cérébrale à l'échelle du voxel. Comme on peut le constater dans la figure 2.1 issue d'une revue de la littérature (Payen et al., 2006), les principales techniques utilisées sont l'IRM, avec injection d'un traçeur à base de gadolinium ou sans injection de produit de contraste (ASL, arterial spin labeling); la tomодensitométrie (TDM), avec suivi d'un agent de contraste à base d'iode ou de Xénon; ou bien les techniques de tomographie par émission de positons (PET) et de tomographie d'émission mono-photonique (SPECT). L'échographie Doppler est aussi régulièrement utilisée en routine clinique même si celle-ci ne mène pas à une imagerie de la perfusion cérébrale.

Tableau 1
Principales caractéristiques des techniques d'imagerie de la perfusion cérébrale [1]

	TDM-perfusion	TDM-Xénon	IRM-Gadolinium	IRM-MSA	PET	SPECT
Agent de contraste	Iode	Xénon stable	Gadolinium	Non	$^{15}\text{O}_2$, C^{15}O_2 , $\text{H}_2^{15}\text{O}_2$	$^{99\text{m}}\text{Tc-HMPAO}$, $^{133}\text{Xénon}$
Radiation ionisante	2-3 mSv	3,5-10 mSv	Non	Non	0,5-2 mSv	3,5-12 mSv
Durée examen ^a	5-10 min	20 min	5-10 min	10-15 min	10-20 min	15-20 min
Intervalle entre 2 examens	10 min	20 min	25 min	0 min	10 min	10 min
Paramètres mesurés	DSC, VSC TTM	DSC	DSC, VSC, TTM	DSC	DSC, VSC, EO_2 , glu	DSC
Valeurs absolues	Oui	Oui	Non	Oui	Oui	Non
Influence gros vaisseaux	Oui	Non	Oui	Non	Non	Non
Variabilité	10-15 %	12 %	10-15 %	10 %	5 %	10 %
Résolution spatiale	1-2 mm	4 mm	2 mm	2 mm	4-6 mm	4-6 mm
Indications cliniques	AVC	AVC	AVC	AVC	AVC	AVC
	Traumatisme	Traumatisme	Tumeurs	Tumeurs	Psychiatrie	Traumatisme
	Vasospasme	Vasospasme	Vasospasme	Dégénératif	Épilepsie	Psychiatrie
	Tumeurs	Épilepsie		Épilepsie	Tumeurs	Épilepsie
				Fonctionnel	Fonctionnel	Fonctionnel
Disponibilité pour l'urgence	Oui	Oui	Possible	Possible	Non	Possible

VSC : volume sanguin cérébral ; DSC : débit sanguin cérébral ; EO_2 : extraction d'oxygène ; Glu : glucose ; TTM : temps de transit moyen ; MSA : marquage des spins artériels ; mSv : millisievert.

^a La durée d'examen correspond à la somme du temps d'acquisition et du temps d'analyse.

FIGURE 2.1 – Comparaison des différentes techniques de d'imagerie de la perfusion cérébrale disponibles en clinique actuellement (Payen et al. (2006)).

Chacune de ces techniques possède ses avantages et ses inconvénients : quantification absolue des paramètres de la perfusion, disponibilités en urgence, irradiation, ... (figure 2.1). Nous présenterons dans ce chapitre les techniques d'IRM et de TDM avec injection de traçeur ainsi que l'échographie Doppler. La technique d'IRM par marquage

de spin artériel sera décrite plus en détail puisqu'elle fait l'objet de cette thèse plus particulièrement.

2.1 Les techniques d'imagerie médicale utilisées en clinique

2.1.1 L'IRM : Bases physiques

L'obtention du signal de RMN se fait en plaçant un échantillon contenant des noyaux à spin non-entier dans un champ magnétique intense B_0 et en modifiant l'état énergétique de la population de spins par un champ magnétique B_1 oscillant à la fréquence de Larmor. L'application du champ B_1 est généralement de courte durée, on parle d'impulsion RF. Ainsi l'aimantation des spins des noyaux d'hydrogène (les protons), tout en précessant autour de B_0 à la fréquence $\vec{\omega} = \gamma \vec{B}_0$, vont se mettre à précesser autour de B_1 à la fréquence $\vec{\omega}_1 = \gamma \vec{B}_1$, γ étant le rapport gyromagnétique des noyaux étudiés. Le système sort alors de l'équilibre thermodynamique. Lorsque l'impulsion RF est arrêtée, l'aimantation retourne vers son état d'équilibre en précessant, et les spins émettent un signal RMN reçu par l'antenne RF.

Les équations de Bloch permettent de décrire l'évolution de l'aimantation au cours du temps dans le référentiel tournant à la vitesse ω :

$$\begin{cases} \frac{dM_x}{dt} &= -\frac{M_x}{T_2^{(*)}} \\ \frac{dM_y}{dt} &= -\frac{M_y}{T_2^{(*)}} \\ \frac{dM_z}{dt} &= -\frac{(M_z - M_0)}{T_1} \end{cases} \quad (2.1)$$

Avec M_x , M_y , M_z l'aimantation totale selon x , y et z ; T_1 , le temps de relaxation longitudinal, lié à l'interaction des spins avec le milieu (relaxation spin-réseau) et correspondant au retour à l'équilibre thermodynamique du système; T_2 , le temps de relaxation transversale (relaxation spin-spin), lié à la diminution de l'aimantation transversale; T_2^* le temps de relaxation transversale apparent, intégrant la relaxation T_2 ainsi que la perte d'aimantation transversale nette due à un déphasage réversible des spins individuels en présence d'hétérogénéités du champ statique B_0 . Les valeurs des constantes de temps T_1 et T_2 sont spécifiques à chaque tissu (figure (2.2)). Elles dépendent également de l'intensité du champ magnétique statique B_0 . Ces équations n'ont plus de dépendance directe de B_0 puisque l'on se situe dans le référentiel tournant à la vitesse ω par rapport au repère du laboratoire : $d\vec{M}/dt = \gamma \vec{M} \times \vec{B}_0$.

Après résolution de ce système d'équations, on obtient :

$$\begin{cases} M_x &= M_x(0) \exp\left(-\frac{t}{T_2^{(*)}}\right) \\ M_y &= M_y(0) \exp\left(-\frac{t}{T_2^{(*)}}\right) \\ M_z &= M_0 + (M_z(0) - M_0) \exp\left(-\frac{t}{T_1}\right) \end{cases} \quad (2.2)$$

Avec $M_x(0)$, $M_y(0)$ et $M_z(0)$ les aimantations transversale et longitudinale initiales et M_0 l'aimantation longitudinale à l'équilibre. On observe donc sur ces équations que l'aimantation s'approche exponentiellement à son état d'équilibre, avec une aimantation

transversale nulle et une aimantation longitudinale non-nulle, et des temps de relaxation T_1 pour la composante longitudinale et $T_2^{(*)}$ pour les composantes transversales. .

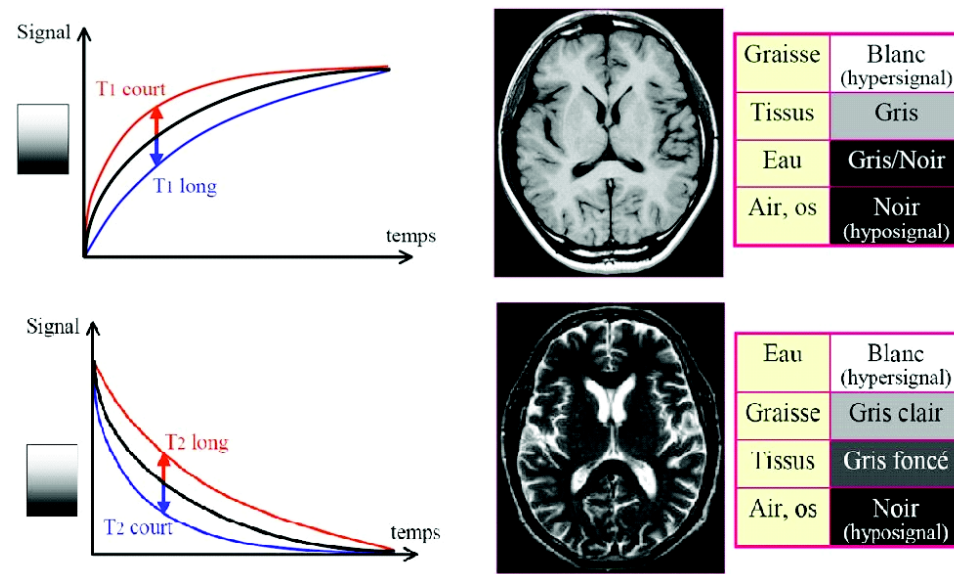


FIGURE 2.2 – Relaxation T_1 et T_2 de différents tissus. (Source : <http://www.e-mri.org>)

Dans le cadre de l'IRM les noyaux communément utilisés sont les protons de l'hydrogène du fait de leur abondance dans le corps humain (eau, liquides organiques, graisses) et de leur rapport gyromagnétique élevé, rendant la mesure de leur signal RMN plus sensible. L'IRM ne fait intervenir aucun rayonnement ionisant et, en absence de contre-indication comme les implants médicaux, il n'y a pas d'effet indésirable chronique connu d'un examen IRM, ce qui permet d'envisager des suivis longitudinaux rapprochés de patients.

2.1.2 La tomодensitométrie X : TDM

La tomодensitométrie X (TDM) aussi appelée « Computed Tomography », est une méthode de diagnostic radiologique tomographique, permettant d'obtenir des coupes transversales, reconstruites à partir de la mesure du coefficient d'atténuation du faisceau de rayons X dans le volume étudié. Si le faisceau de rayons X (RX) à la sortie du tube est rendu monochromatique ou quasi-monochromatique par une filtration appropriée, on peut calculer le coefficient d'atténuation correspondant au volume de tissu irradié, par application de la formule générale d'absorption des rayons X dans la matière :

$$I = I_0 * \exp(-\mu x) \quad (2.3)$$

- I : intensité du faisceau de RX après traversée d'une épaisseur x de matière
- I_0 : intensité initiale du faisceau de RX
- x : épaisseur de matériau traversé
- μ : coefficient d'absorption linéaire du matériau traversé (exprimé en cm^{-1})

On définit l'indice Hounsfield (IH) de la façon suivante : $IH = \frac{\mu - \mu_{eau}}{\mu_{eau}} * 1000$. Il permet de quantifier le coefficient d'absorption des tissus par rapport au coefficient d'absorption de l'eau. Le principe du tomодensitomètre est de choisir un plan de coupe axial et d'effectuer de multiples projections sous différents angles dans ce plan afin de mesurer les coefficients d'atténuation des volumes élémentaires d'une coupe à partir de l'absorption d'un faisceau

de rayons X. On reconstitue ensuite une image en coupe de l'échantillon à partir des différentes projections transversales obtenues par le système.

Le contraste en TDM entre tissus mous (matière grise / matière blanche) est relativement faible. Il est beaucoup plus fort entre tissus mous et tissus durs tels que les os, ce qui fait de la TDM une méthode de choix dans le cadre des suivis d'accidents traumatiques. Le contraste dans les tissus mous, notamment entre vaisseaux sanguins et tissus extravasculaires, peut être rehaussé par des agents de contraste à fort pouvoir d'absorption des rayons X, comme c'est le cas pour l'iode, qui est communément utilisé dans ce type d'imagerie.

La durée moyenne d'un examen de TDM est courte, moins de 15 minutes sont généralement nécessaires pour effectuer différents types d'imagerie : imagerie anatomique, suivi du bolus d'injection d'iode pour la mesure de la perfusion, imagerie anatomique post-injection pour voir la prise de contraste des tissus suite à l'injection de l'iode. Cet examen est régulièrement utilisé en urgence, du fait de sa rapidité d'acquisition, de sa facilité d'installation du patient et de l'absence d'exposition à un champ magnétique, comme en IRM, qui induit des contre-indications surtout en présence d'implants et d'équipement du patient.

2.1.3 L'échographie Doppler

L'échographie Doppler utilise les ultrasons pour mesurer la vitesse du flux sanguin dans les artères ou les veines. L'effet Doppler est un phénomène physique menant à la modification de la fréquence d'un signal reçu par rapport à la fréquence d'émission si l'émetteur s'éloigne ou se rapproche du lieu de réception. Dans le cas de l'échographie Doppler les globules rouges du sang deviennent « émetteurs » de l'onde ultrasonore. Ceux-ci étant en mouvement par rapport à la sonde réceptrice, la fréquence aura été modifiée entre l'émission et la réception de l'onde ultrasonore. La variation de fréquence étant proportionnelle à la vitesse relative entre la source et l'émetteur, on peut donc facilement mesurer la composante de la vitesse du sang parallèle à l'axe de propagation du faisceau d'ultrasons. Le signal recueilli dans la sonde est analysé et transformé afin que le radiologue entende un son représentant la pulsation dans l'artère étudiée. Une courbe est ensuite renvoyée au radiologue reflétant la circulation sanguine. La vitesse relative mesurée peut être représentée en couleurs en superposition à l'image échographique classique permettant ainsi de différencier directement deux vaisseaux en appliquant la couleur bleue ou rouge selon le sens de la circulation sanguine.

L'échographie Doppler est un outil transportable permettant un examen rapide au lit du patient. Cependant, il est assez manipulateur dépendant. En effet, la vitesse du sang mesurée par l'échographie Doppler va dépendre de l'angle d'incidence formé par l'axe de propagation du faisceau d'ultrasons, et la direction de l'écoulement sanguin, donc de l'inclinaison de la sonde au moment de l'examen, c'est ce qu'on appelle l'angle d'insonation. Le décalage en fréquence dF du signal reçu dépend de la vitesse du sang V et de l'angle d'insonation θ selon :

$$dF = 2F \cdot V \cdot \cos(\theta) / C \quad (2.4)$$

Avec F la fréquence ultrasonore à l'émission et C la vitesse moyenne de propagation des ultrasons dans les tissus mous (1540 m/s).

A l'étage cérébral cette technique ne permet pas de faire de l'imagerie tissulaire, elle permet d'étudier le transit du sang dans les segments proximaux des artères encéphaliques.

Elle permet cependant d'obtenir des paramètres tels que la vitesse du flux ou bien la vasoréactivité cérébrale totale grâce à des comparaisons avant et après stimulus vasoactif.

2.2 Théorie de la cinétique des traceurs

Les mesures de perfusion en imagerie peuvent être obtenues selon deux approches. La première consiste à réaliser une image après l'injection d'un produit de contraste et, éventuellement, une image avant injection comme référence, c'est l'approche « à l'équilibre ». La seconde manière consiste à réaliser des images régulièrement pendant la distribution du produit de contraste dans la zone d'intérêt, c'est l'approche « dynamique ». Cette seconde manière permet d'obtenir tout un lot de paramètres de la perfusion cérébrale, que ce soit les paramètres statiques tels que le CBV ou l'index de taille des vaisseaux ou bien les paramètres dynamiques que sont le CBF, le MTT ou la perméabilité des vaisseaux à un agent de contraste.

Les agents de contrastes utilisés pour effectuer ces mesures de perfusion sont de trois types :

- les agents de contraste librement diffusibles dont la diffusion n'est pas limitée par la paroi des vaisseaux. Ces molécules pénètrent généralement à l'intérieur des cellules.
- les agents de contraste diffusibles dont la diffusion est possible à travers la paroi des vaisseaux en étant toutefois limitée. Ces molécules sont généralement extracellulaires.
- les agents de contraste non diffusibles dont la diffusion n'est pas possible à travers la paroi des vaisseaux. Ces agents de contraste sont aussi appelés « intravasculaires ». Ces molécules restent généralement extracellulaires.

Un agent de contraste peut être diffusible dans le reste du corps mais non diffusible dans le cerveau du fait de la barrière hémato-encéphalique. De même, ce même agent de contraste peut devenir diffusible dans le cerveau en cas de rupture de la BHE.

2.2.1 Approches à l'équilibre

L'approche à l'équilibre, basée sur l'utilisation de traceurs non-diffusibles utilisant des microsphères, est considérée comme le gold-standard pour ce qui est des mesures du débit sanguin. Le principe de cette technique est d'injecter au plus près du cœur des microsphères d'une taille de 15 μm qui vont aller se distribuer dans la circulation sanguine et emboliser les capillaires. Ces microsphères étant, par exemple, marquées grâce à de la fluorescence (De Visscher et al., 2006), on peut ensuite quantifier les microsphères bloquées et ainsi remonter au débit sanguin. Cette technique est évidemment invasive et ne peut pas être appliquée chez l'homme.

D'autres approches à l'équilibre utilisent des traceurs librement diffusibles comme c'est le cas de l'eau marquée magnétiquement en IRM (Barbier, 2009). Cette technique appelée marquage de spins artériels (ASL, Arterial Spin Labeling) est une technique d'imagerie de la perfusion à l'équilibre, elle sera largement étudiée au cours de la section 2.4.

2.2.2 Approches dynamiques

Les approches dynamiques consistent à suivre le passage d'un agent de contraste au cours de sa biodistribution dans l'organe d'intérêt. La méthode de premier passage prend

en compte un agent de contraste non-diffusible. Elle a été introduite par Meier & Zierler en 1954 sous le nom de « méthode de dilution de l'indicateur ».

2.2.2.1 Emploi de traceurs non-diffusibles, méthode de premier passage d'un agent de contraste

L'injection est faite avec un débit élevé pour délivrer une quantité d'agent de contraste le plus rapidement possible (et s'approcher au mieux de la notion de bolus, correspondant à une délivrance instantanée) (Boxerman et al., 2006; Paulson & Schmainda, 2008). Cette expérience étant dite « de premier passage », on fait l'hypothèse que le signal mesuré est bien celui du premier passage du bolus d'agent de contraste dans la circulation sanguine. En pratique, la circulation sanguine étant une boucle fermée, l'agent de contraste avant son excrétion va recirculer dans les vaisseaux cérébraux durant l'acquisition. Cette recirculation n'est souvent pas prise en compte lors de l'ajustement des données sur le modèle théorique.

Les variations temporelles de l'intensité du signal sont converties en variations temporelles de concentration du produit de contraste dans un voxel de tissu. Il est admis qu'il existe une relation linéaire entre la variation du signal observé et la concentration du produit de contraste. On mesure donc le signal vasculaire au cours du temps dans chaque voxel mais aussi dans une artère afin de disposer d'une mesure de référence quant à la distribution de l'agent de contraste en entrée de la région d'intérêt. Cet algorithme prend en compte une fonction d'entrée artérielle (signal en provenance d'une artère dans l'image), et/ou une fonction de sortie veineuse (généralement le sinus sagittal supérieur). Dans ce cas on obtient pour le calcul du volume sanguin (Ostergaard et al., 1996) :

$$v_p = \frac{\int_0^t C_{voxel}(t) dt}{\int_0^t C_a(t) dt} \quad (2.5)$$

avec v_p la fraction volumique du plasma dans le voxel, C_{voxel} la concentration moyenne de traceur dans le voxel, et C_a la fonction d'entrée artérielle (AIF). L'hypothèse faite ici est que l'AIF est la même pour tout l'organe étudié – ici le cerveau. Pour obtenir une mesure quantitative de v_p il faut donc connaître la concentration dans le voxel C_{voxel} et l'AIF. On établit pour cela la relation entre C_a et C_v , la fonction d'entrée artérielle et la sortie veineuse (Ostergaard et al., 1996; Østergaard, 2005) :

$$C_v(t) = C_a(t) \otimes h(t) \quad (2.6)$$

$$R(t) = 1 - \int_0^t h(t') dt' \quad (2.7)$$

avec $h(t)$ la fonction de distribution des temps de transit, soit la fraction des molécules de traceurs mettant un temps t à traverser le voxel et $R(t)$ la fonction de résidu ($R(0) = 1$, puis $R(t)$ décroît au fur et à mesure que le traceur quitte le voxel). Ainsi on arrive à l'équation de quantification de la concentration d'agent de contraste dans le voxel prenant en compte le débit de sang dans le voxel :

$$C_{voxel}(t) = CBF \cdot C_a(t) \otimes R(t) \quad (2.8)$$

La quantification absolue du CBF et de v_p est possible en déconvoluant la concentration dans le voxel par la fonction d'entrée artérielle, donc en estimant la fonction résidu.

Une fois cette déconvolution effectuée on obtient une fonction de t , $CBF \cdot R(t)$. Sachant que $R(0) = 1$, on en déduit le CBF . On revient ensuite à l'équation 2.5, pour calculer le CBV à partir du paramètre v_p (fraction volumique du plasma dans le voxel) et du taux d'hématocrite.

Cette technique, exacte sur le plan théorique, n'est pas aisée à mettre en oeuvre en pratique puisque la déconvolution est une méthode de traitement de signal réputée pour être très sensible au bruit (Østergaard, 2005). Elle nécessite le choix d'une AIF, que l'on peut choisir de façon globale ou locale. Le choix d'une AIF globale doit se faire dans un gros vaisseau nourrissant tous les voxels du volume d'intérêt. Il convient donc souvent de le choisir à la base du cerveau, dans l'une des artères cérébrales moyennes par exemple. Une AIF correcte doit être corrigée pour les effets de volume partiel afin de s'affranchir des effets du tissu sur le signal mesuré et de n'avoir que du signal vasculaire (Osch et al., 2003; Kjølby et al., 2009).

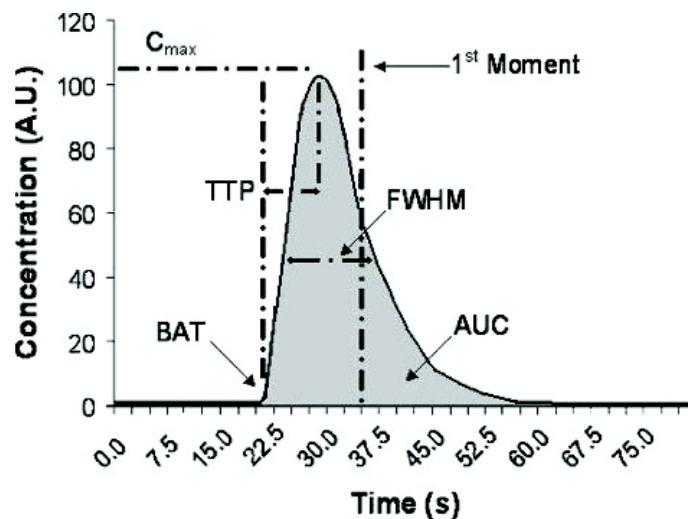


FIGURE 2.3 – Cinétique du passage d'un bolus d'agent de contraste non-diffusible (Kane et al. (2007))

Il existe une méthode de traitement des données simplifiée menant à une mesure d'index des paramètres de la perfusion cérébrale calculés à partir de l'ajustement d'une fonction gamma dérivée (Meier & Zierler, 1954). Cette mesure relative peut être obtenue à l'aide du suivi du bolus de l'agent de contraste pour les paramètres de la perfusion cérébrale suivants : le temps de transit moyen ($rMTT$), mesuré grâce à la largeur de la fonction gamma, le volume sanguin cérébral ($rCBV$), mesuré à partir de l'aire sous la courbe, et le temps du pic maximal de contraste ($rTTP$) (figure 2.3). Le débit sanguin cérébral ($rCBF$) est calculé à partir de la mesure du $rMTT$ et du $rCBV$, selon l'équation : $rCBF = rCBV/rMTT$ (Meier & Zierler, 1954) provenant du théorème du volume central (Stewart, 1893), lui même dérivé de la conservation des masses. Cette méthode fonctionne mais n'est pas quantitative.

2.2.2.2 Emploi de traceurs diffusibles, caractérisation de la perméabilité des vaisseaux

L'utilisation de traceurs diffusibles implique que ceux-ci soient capables de traverser la BHE dans le cas d'une mesure de perfusion cérébrale. Le modèle utilisé en imagerie

de la perméabilité est un modèle compartimental. La figure 2.4 montre un exemple bi-compartimental, un compartiment intravasculaire et un compartiment extravasculaire / extracellulaire. La paroi vasculaire est représentée en pointillés. L'échange de traceur entre les deux compartiments est caractérisé par les constantes de temps k_{pe} (du compartiment plasmatique au compartiment extracellulaire) et k_{ep} (du compartiment extracellulaire vers le compartiment plasmatique), qui peuvent éventuellement être égales. On cherche à quantifier ces constantes d'échange à travers une observation de la cinétique de l'arrivée d'un traceur dans l'espace extra-vasculaire d'un voxel.

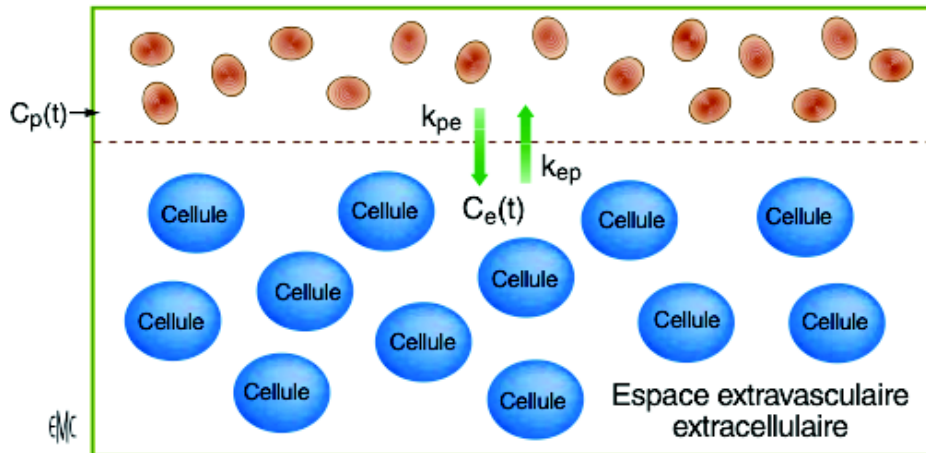


FIGURE 2.4 – Échange de traceur entre les compartiments intravasculaire et extravasculaire/extracellulaire selon les paramètres k_{pe} et k_{ep} . (Barbier, 2009)

L'emploi de traceurs diffusibles ne permet de mesurer que la perméabilité des vaisseaux et non les paramètres tels que le CBV, ou le MTT puisque le traceur ne reste pas intravasculaire. Le traceur ne doit pas être librement diffusible non plus, sans quoi sa concentration dans l'espace extravasculaire sera limitée par sa vitesse de distribution dans le système vasculaire. Il faut donc choisir des traceurs pour lesquels les vaisseaux ont une perméabilité intermédiaire, et dont on pourra donc mesurer le débit à travers la paroi des vaisseaux indépendamment du débit sanguin cérébral (*Débit à travers la paroi* = $P * S$, P étant la perméabilité de la paroi à l'agent de contraste et S la surface de paroi dans le voxel). Inversement, si le débit de traceur à travers la paroi des vaisseaux est plus important que le débit sanguin cérébral, celui-ci devient le facteur limitant et donc le paramètre mesuré (Barbier, 2009).

L'injection du traceur ne doit pas forcément se faire sous la forme d'un bolus, on privilégie même une injection lente, puisque l'extravasation de l'agent suit une cinétique bien plus lente que celle du passage du bolus.

2.3 L'imagerie du premier passage d'un agent de contraste en IRM DSC et TDMp

Que ce soit en IRM DSC (Dynamic Susceptibility Contrast) ou en TDM de perfusion (TDMp), l'imagerie de la perfusion cérébrale est basée sur un suivi dynamique du premier passage d'un agent de contraste.

L'agent de contraste utilisé en TDM est un produit à base d'iode. Le signal obtenu en TDM, converti en unité Hounsfield est directement proportionnel à la concentration en

agent de contraste, ce qui n'est pas forcément le cas en IRM (Calamante et al., 2009). La méthode explicitée plus haut est donc directement applicable au signal obtenu en TDM grâce à l'imagerie du suivi du premier passage du bolus de produit de contraste iodé (Wintermark et al., 2001, 2005).

Les complexes de gadolinium, ou chélates de gadolinium, sont utilisés en IRM de perfusion pour leur effet de susceptibilité magnétique à haute concentration : les hétérogénéités de champ magnétique créées par la présence de l'agent de contraste dans les vaisseaux entraînent une diminution des temps de relaxation T_2 et T_2^* des tissus environnants selon l'équation (Boxerman et al., 1995) :

$$C(t) = k \cdot \Delta R_2^*(t) \quad (2.9)$$

$$= -\frac{k}{TE} \ln \left(\frac{S(t)}{S_0} \right) \quad (2.10)$$

où $C(t)$ est la concentration d'agent de contraste au cours du temps ; k la constante de proportionnalité dépendant du type de tissu, de l'agent de contraste, du champ magnétique et de la séquence d'imagerie ; R_2^* la variation de vitesse de relaxation ; TE le temps d'écho ; $S(t)$ le signal en fonction du temps et S_0 le signal de la ligne de base. La seconde égalité repose sur l'hypothèse que l'agent de contraste a peu d'effet sur la constante de relaxation T_1 . Lorsque ce traçeur est injecté de façon rapide, sous la forme d'un bolus, et que cet agent de contraste est non diffusible (reste dans les vaisseaux), on parle de DSC et l'on peut appliquer les méthodes expliquées précédemment. Cette égalité entre la concentration en agent de contraste et le signal obtenu en IRM n'est cependant qu'une approximation, la relation entre le R_2^* et la concentration en agent de contraste n'étant pas totalement linéaire (Calamante et al., 2007, 2009).

Si ce traçeur est diffusible, comme dans le cas de ce même agent de contraste à base de gadolinium mais dans des situations pathologiques avec rupture de la BHE, on parle alors de DCE (Dynamic Contrast Enhanced). Cette technique n'a alors plus pour objectif de mesurer les paramètres de la perfusion classique que sont le CBF ou le CBV mais mesure la perméabilité de la BHE à l'agent de contraste, on applique alors la méthode expliquée précédemment. Nous n'avons pas utilisé cette méthode lors de ma thèse.

2.4 Le marquage de spins artériels (ASL)

L'IRM de perfusion peut être réalisée de façon non-invasive et dynamique grâce à la technique de marquage de spins artériels (ASL : Arterial Spin Labeling) en marquant les noyaux d'hydrogène de l'eau intravasculaire artérielle en modifiant leur aimantation par une ou des impulsions radiofréquences. Ce marquage intervient juste en amont de la région d'intérêt et est réalisé le plus souvent par une impulsion d'inversion. Des images de la région d'intérêt sont alors acquises dans deux conditions distinctes. Lors de la condition de marquage, les spins présents dans la coupe de marquage sont inversés et sont transportés avec le sang vers la région d'intérêt, tout en revenant à leur aimantation d'équilibre en suivant la constante de temps T_1 . Une à deux secondes après l'impulsion de marquage, une image des tissus est acquise avec une technique d'imagerie rapide sur la région d'intérêt. Lors de l'acquisition, le signal comporte alors l'aimantation des spins statiques de la région d'intérêt à laquelle s'ajoute l'aimantation amenée par le pool sanguin marqué présent dans le volume exploré. Lors de la condition de contrôle, l'aimantation des spins artériels n'est

pas modifiée. La différence entre l'intensité du signal dans les images de contrôle (prises suite à une impulsion « de contrôle » qui n'affecte pas l'aimantation des spins artériels) et celle dans les images de marquage (prises suite à une impulsion d'inversion « de marquage » agissant sélectivement sur la zone de marquage) représente le signal des spins marqués qui ont perfusé les tissus de la région d'intérêt. Le but est donc de créer des images de marquage et de contrôle dans lesquelles le signal en provenance des tissus statiques soit identique de sorte que le signal de la différence entre ces deux images soit uniquement dû à la différence d'aimantation du sang perfusant le voxel. Ce signal est alors pondéré en perfusion (figure 2.5).

Un seule soustraction contrôle/marquage donne un rapport signal à bruit faible, du fait de la faible proportion d'eau tissulaire remplacée par la perfusion dans un temps comparable au T_1 du sang artériel. Il est donc habituel de répéter les images afin d'obtenir un rapport signal à bruit suffisant (figure 2.5). Par ailleurs, bien que les spins statiques soient localisés loin de la région de marquage, leur aimantation peut être affectée par l'impulsion de marquage par l'intermédiaire d'effets de transfert d'aimantation. Comme le signal d'intérêt est très faible par rapport au signal des spins statiques, ces contaminations peuvent modifier le signal ASL de façon significative si les effets hors résonance ne sont pas identiques entre condition de marquage et condition de contrôle. C'est la raison pour laquelle la condition de contrôle est réalisée non pas simplement en absence d'impulsion RF, mais en présence d'une impulsion qui cherche à reproduire les effets hors résonance de l'impulsion de marquage, sans affecter l'aimantation du sang artériel. Pour finir, il convient de faire en sorte que les spins qui donnent lieu au signal ASL se situent bien dans le voxel que l'eau artérielle qui les transporte va perfuser. Si l'image est acquise trop tôt, alors que les spins marqués se trouvent dans des grands vaisseaux destinés à perfuser des tissus plus loin, leur signal ne correspond pas à une perfusion locale. Un moyen de supprimer ce signal vasculaire est d'utiliser des crushers vasculaires sous forme de gradients bipolaires dans la séquence d'acquisition afin de déphaser le signal de spins en mouvement, ou bien d'acquérir les images à un temps d'inversion (TI) tardif, au prix d'un signal ASL réduit.



FIGURE 2.5 – Soustraction d'une image de contrôle et d'une image de marquage acquises grâce à une séquence pCASL ainsi qu'une image moyenne de 20 différences contrôle/marquage.

Plusieurs méthodes d'ASL existent. Elles se différencient dans la façon de marquer le sang et de réaliser la condition de contrôle. La technique d'ASL par marquage pulsé (PASL) est largement utilisée dans les protocoles cliniques du fait de sa facilité d'implémentation et de son taux d'absorption spécifique (SAR, specific absorption rate) bas, et malgré un rapport signal à bruit défavorable (section 2.4.1). Les séquences en ASL pulsé

appliquent un marquage court dans le temps (environ 10 ms) mais spatialement large (environ 100-200 mm). La technique d'ASL par marquage continu (CASL) applique une impulsion longue (environ 2 s) mais spatialement fine (environ 1 cm) et est moins utilisée du fait d'un SAR élevé ou bien de la nécessité d'utiliser des antennes dédiées, et ce malgré un rapport signal à bruit plus intéressant (section 2.4.2). Une nouvelle technique, appelée ASL pseudo-continu (pCASL), combinant les avantages de ces deux techniques, a été mise au point récemment (Wu et al., 2007; Dai et al., 2008b; Aslan et al., 2010) (section 2.4.3). Elle consiste à appliquer un train d'impulsions très courtes pendant une durée assez longue, de l'ordre des durées utilisées en CASL.

Le signal ASL n'est pas dépendant uniquement du CBF, il dépend aussi de multiples facteurs tels que l'amplitude du signal observé pour un voxel de sang artériel relaxé, l'efficacité de marquage, la largeur temporelle du bolus des spins marqués, le délai entre l'application du marquage et l'acquisition (Buxton et al., 1998) et la constante de relaxation T_1 du sang artériel et des tissus. En effet, au cours de la séquence, les spins marqués migrent via le réseau vasculaire vers les tissus cérébraux à perfuser. Leur temps de relaxation T_1 passe donc de TI_{1b} à TI_{1t} (flèche vide figure 2.7c). La largeur temporelle du bolus est connue directement en CASL et pCASL mais pas en PASL. Moyennant certains ajustements de ces paramètres décrits dans la section 2.4.4, la mesure quantitative du CBF est possible en ASL.

2.4.1 ASL pulsé

La première technique d'ASL pulsé a été mise au point en 1992 par Kwong (Kwong et al., 1992). Cette technique, inspirée par la publication de Detre et al. en 1992 (décrite dans la section 2.4.2), propose une technique d'inversion-récupération afin de faire varier le T_1 apparent des tissus lors d'une tâche visuelle et lors d'un challenge hypercapnique. Par la suite, trois séquences ont eu la quasi-exclusivité des acquisitions d'ASL pulsé durant la décennie qui a suivi : EPISTAR (Edelman et al., 1994), FAIR (Kim, 1995) et PICORE (Wong et al., 1997). Ces trois séquences utilisent des schémas contrôle/marquage différents comme cela est montré sur la figure 2.6. La séquence EPISTAR à une seule coupe consiste en une inversion spatialement sélective en amont de la région d'intérêt. Dans la condition contrôle, une inversion sélective est appliquée au dessus de la région à imager pour générer des effets de transfert d'aimantation. La séquence FAIR consiste à soustraire deux images d'inversion-récupération, l'une obtenue suite à une inversion sélective (le marquage) et l'autre suite à une inversion non-sélective (le contrôle). Enfin, la séquence PICORE possède un marquage sensiblement comparable à celui de la séquence EPISTAR mais avec une impulsion de contrôle non sélective hors résonance (appliquée en absence de gradients de sélection de tranche) qui ne produit pas d'inversion directe dans l'échantillon mais recrée les effets de transfert d'aimantation.

Ces schémas ont été repris plusieurs fois pour arriver jusqu'à des images ASL avec plusieurs coupes. Mais c'est l'arrivée des séquences QUIPSS I et II ainsi que Q2TIPS qui va réellement améliorer la quantitativité de l'imagerie en ASL pulsé (Wong et al., 1997, 1998a; Luh et al., 1999). En effet, le signal ASL pulsé est directement proportionnel à la largeur temporelle du bolus des spins marqués si le délai entre marquage et acquisition est constant (comme présenté dans le chapitre 2.4.4, équation 2.16). Cependant, cette donnée temporelle n'était pas jusqu'alors quantifiable. Wong propose donc d'ajouter une série d'impulsions de saturation dans la zone de marquage, lancée après un délai TI_1 , pour saturer l'aimantation du sang préalablement marqué qui reste dans la zone de mar-

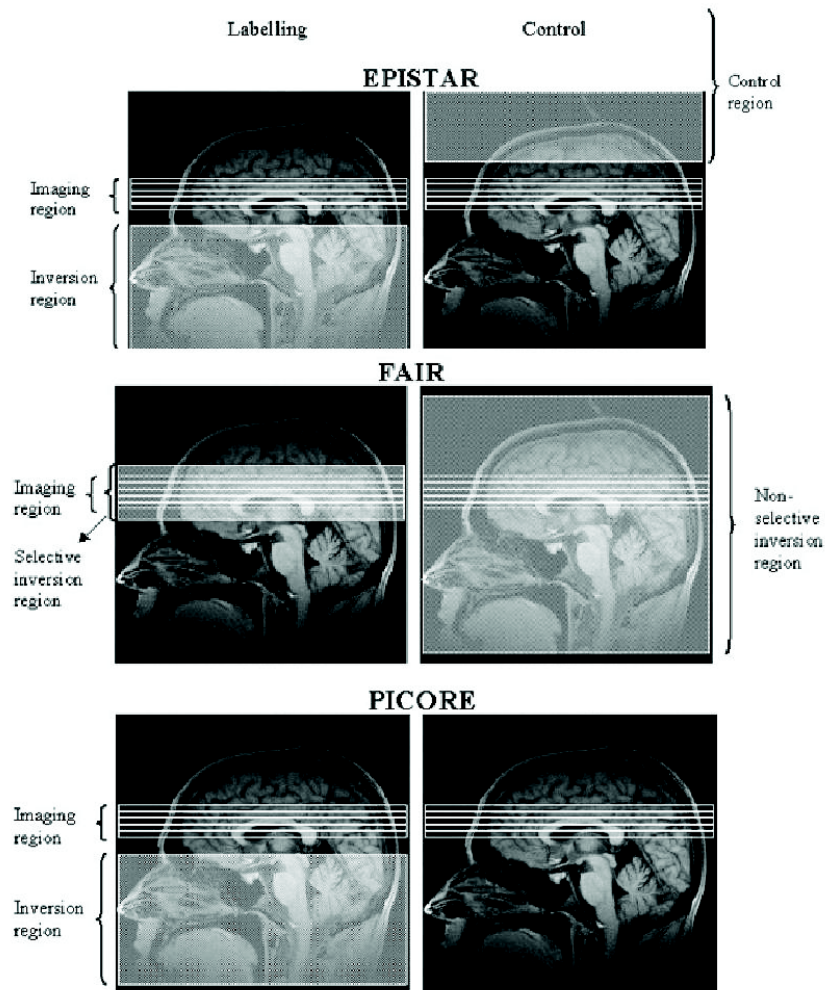


FIGURE 2.6 – Schéma de marquage (à gauche) et de contrôle (à droite) des 3 techniques ASL EPICSTAR, FAIR et PICORE (<http://physicsarchives.com/index.php/courses/999>)

quage, pour ainsi mettre fin au marquage. C'est la séquence QUIPSS II. Avec le marquage PICORE, deux impulsions à 90° servent à pré-saturer la région d'imagerie (figure 2.7a).

L'impulsion d'inversion est appliquée sur la région de marquage, ou pas (sur la région de contrôle), selon le gradient appliqué (en gris sur la figure 2.7a). En ASL Q2TIPS, l'impulsion de saturation large appliquée sur toute la région de marquage dans la séquence QUIPSS II est remplacée par des impulsions de saturation répétées entre le temps TI_1 et TI_{1s} sur une zone de saturation plus étroite, afin de diminuer les effets des imperfections des profils de coupe (figure 2.7a,b). Les données sont acquises grâce à une EPI single ou multi-shot au temps TI_2 . La saturation étant appliquée au délai TI_1 dans les conditions marquage et contrôle, le signal des spins saturés acquis au temps TI_2 sera annulé lors de la soustraction. L'évolution de l'aimantation longitudinale au cours du temps est décrite sur la figure 2.7c.

Le délai TI_1 doit être choisi de manière à être plus court que la largeur naturelle du bolus des spins marqués créé par l'application de l'impulsion de marquage. S'il est trop long par rapport à la largeur naturelle du bolus des spins marqués, l'impulsion de saturation n'aura aucun effet sur la largeur du bolus arrivant dans la région d'intérêt. On ne pourra alors pas connaître cette largeur et la perfusion calculée sera sous-estimée. L'optimisation de ce paramètre TI_1 fait l'objet d'un chapitre de cette thèse (chapitre 4)

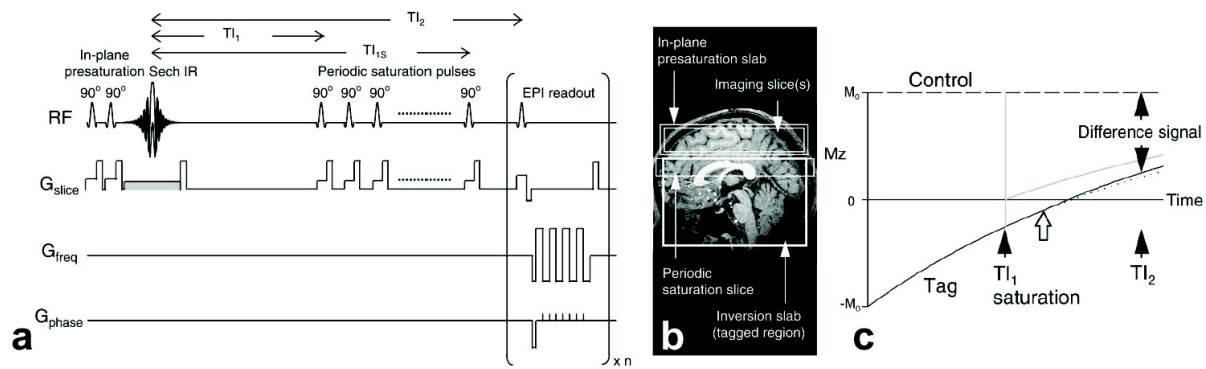


FIGURE 2.7 – a) Chronogramme de la séquence Q2TIPS. b) Localisation des zones d'inversion, de saturation, de pré-saturation et d'imagerie. c) Aimantation longitudinale au cours du temps lors de la condition de marquage (trait plein) et de contrôle (pointillés) en QUIPSS ou Q2TIPS. (Luh et al. (1999))

et a fait l'objet d'une publication.

2.4.2 ASL continu

La première séquence d'ASL avec marquage continu a été mise au point par Detre puis Williams en 1992 (Detre et al., 1992; Williams et al., 1992). Cette séquence utilisait alors une inversion de saturation longue, qu'ils ont ensuite modifié en une impulsion d'inversion afin d'améliorer le marquage d'un facteur 2. Dans le but de diminuer la sensibilité des images aux temps de transit, cette même équipe a proposé en 1996 d'augmenter le délai entre le marquage et l'acquisition (Alsop & Detre, 1996). Cependant ces techniques d'ASL continu restent peu utilisées chez l'homme du fait d'un SAR trop élevé lié à cette impulsion RF appliquée de façon continue pendant plusieurs secondes, mais aussi parce qu'une antenne de transmission dédiée est parfois nécessaire. De façon théorique, l'ASL continu possède un gain en sensibilité d'un facteur e (environ 2.7) par rapport à l'ASL pulsé (Wong et al., 1998c; Chen et al., 2011a). Cependant l'efficacité de marquage en CASL est bien moins bonne et dépendante de la vitesse du sang dans les artères marquées (figure 2.8). De cette façon l'ASL pulsé semble être plus robuste que l'ASL continu puisque plus stable face aux changements de vitesse de flux (Wong et al., 1998c).

2.4.3 ASL pseudo-continu

L'apparition récente de la technique d'ASL par marquage pseudo-continu (pCASL) semble offrir une nouvelle perspective intéressante pour l'imagerie quantitative du CBF en ASL (Dai et al., 2008b; Wu et al., 2007; Aslan et al., 2010). Le pCASL utilise un train d'impulsions radiofréquences (RF) courtes pour marquer les spins du flux sanguin de la même manière que le CASL. L'efficacité de marquage α de l'ordre de 85% (Aslan et al., 2010), est intermédiaire entre l'ASL continu ($\alpha = 0,8$ (Wong et al., 1998c)) et l'ASL pulsé ($\alpha = 0,98$ (Wong et al., 1998c)). La technique est plus pratique à utiliser en routine sur une IRM de type clinique que le CASL, puisque le marquage peut être implémenté sur l'antenne corps entier et la réception sur une antenne tête classique du fait du SAR est diminué. Tous ces avantages mènent donc à un SNR plus élevé ainsi qu'une mesure du CBF plus robuste.

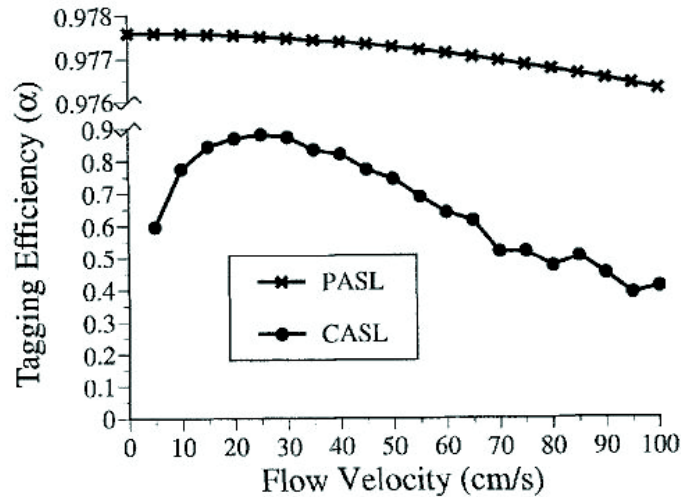


FIGURE 2.8 – Efficacité de marquage calculée en CASL et PASL en fonction de la vitesse du flux dans les artères. (Wong et al. (1998c))

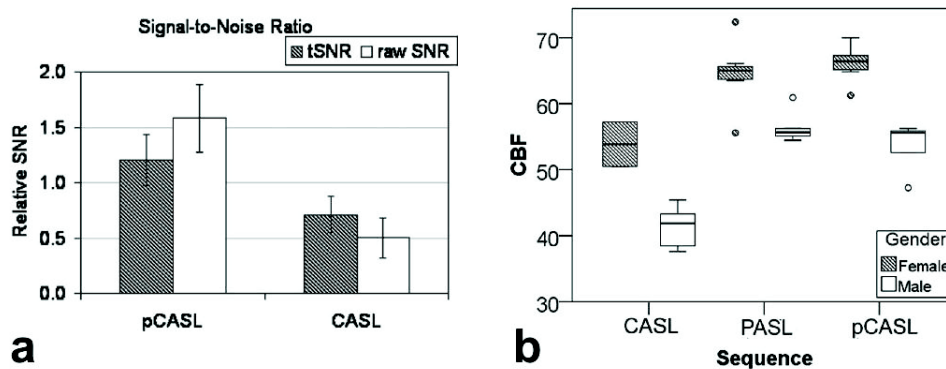


FIGURE 2.9 – a) SNR liés au signal temporel (tSNR) et au signal brut (rSNR) des séquences pCASL et CASL normalisés au PASL (\pm SD). b) Diagramme en boîtes représentant le CBF dans la matière grise des hommes et des femmes pour les séquences CASL, PASL et pCASL. Les cercles en dehors des boîtes sont les outliers. (Chen et al. (2011a))

Ces techniques ont récemment été comparées dans des contextes pathologiques (Järnum et al., 2010), multi-centrique (Gevers et al., 2011), sur sujet sain (Chen et al., 2011a) et sous hypercapnie (Tancredi et al., 2012). L'avantage du pCASL sur les autres techniques est indéniable, que ce soit en SNR (figure 2.9a) où sur la mesure du CBF basale où l'on voit des écart-types bien moins importants en pCASL qu'en CASL (figure 2.9b). Les mesures de CBF en PASL et pCASL sont similaires (figure 2.9b) mais différentes de celles obtenues en CASL, ce qui va dans le sens d'une meilleure robustesse du pCASL par rapport au CASL. Cette technique d'ASL par marquage pseudo-continu combine donc les avantages des deux autres techniques, ce qui explique les récentes applications du pCASL en recherche clinique notamment (Hernandez et al., 2012; Li et al., 2012; Detre et al., 2012), d'autant plus qu'elle permet aussi de mener des études sur territoires vasculaires (Helle et al., 2010).

2.4.4 Le modèle général de la quantification en ASL

Le modèle général de quantification en ASL a été développé par Buxton et al. en 1998 dans une publication qui fait à présent office de référence. Ce modèle décrit la différence d'aimantation entre image de contrôle et image de marquage ($\Delta M(t)$) comme le produit de trois composantes prenant en compte les effets de temps de transit des spins marqués entre la région de marquage et la région d'imagerie, les échanges entre le sang et le tissu, ainsi que les temps de relaxation :

$$\Delta M(t) = 2M_{0b}f \int_0^t c(t') r(t-t') m(t-t') dt' \quad (2.11)$$

$$= 2M_{0b}f \{c(t) \otimes r(t) m(t)\} \quad (2.12)$$

où M_{0b} représente l'aimantation longitudinale des protons du sang à l'équilibre, f le débit sanguin cérébral et \otimes étant le sigle de la convolution.

- La fonction de distribution $c(t)$ régit l'arrivée du sang artériel dans le voxel d'intérêt. L'hypothèse formulée dans ce modèle est que le bolus des spins marqués arrive de façon uniforme. Ainsi les spins marqués mettent un délai Δt , appelé temps de transit, à arriver jusqu'au voxel imagé, le signal ASL est donc nul avant Δt . Entre Δt et $\Delta t + \tau$ (τ étant la largeur temporelle du marquage), le signal arrive au voxel en suivant une loi exponentielle due à la relaxation longitudinale. Après le temps $\Delta t + \tau$ le sang marqué a fini d'arriver, il n'y a donc plus de signal ASL arrivant dans le voxel d'intérêt.

$$c(t) = \begin{cases} 0 & 0 < t < \Delta t \\ \alpha \exp\left(\frac{-t}{T_{1b}}\right) & \Delta t < t < \Delta t + \tau \text{ En ASL pulsé} \\ \alpha \exp\left(\frac{-\Delta t}{T_{1b}}\right) & \Delta t < t < \Delta t + \tau \text{ En ASL continu} \\ 0 & \Delta t + \tau < t \end{cases}, \quad (2.13)$$

α étant l'efficacité de marquage.

- La fonction résidu $r(t-t')$ représente la fraction de spins marqués arrivés au temps t' et toujours présent au temps t . La cinétique des échanges entre le sang et le tissu est décrite par un modèle à un seul compartiment dont l'hypothèse est que les échanges entre tissus et sang se font de manière rapide.

$$r(t) = \exp\left(\frac{-ft}{\lambda}\right) \quad (2.14)$$

- La fonction de relaxation $m(t-t')$ provenant du calcul de la décroissance T_1 des spins marqués entre le temps t' et le temps t . Avant d'arriver dans le voxel les spins marqués ont une décroissance de l'ordre du T_1 du sang. Ils décroissent ensuite avec la relaxation T_1 du tissu une fois arrivé dans le voxel imagé. L'hypothèse faite ici est encore celle d'un échange très rapide entre l'eau du sang et du tissu.

$$m(t) = \exp\left(\frac{-t}{T_{1t}}\right) \quad (2.15)$$

On obtient donc pour l'ASL pulsé :

$$\Delta M(t) = \begin{cases} 0 & 0 < t < \Delta t \\ 2M_{0b}f(t - \Delta t)\alpha \exp\left(-\frac{t}{T_{1b}}\right)q_p(t) & \Delta t < t < \Delta t + \tau \\ 2M_{0b}f\tau\alpha \exp\left(-\frac{t}{T_{1b}}\right)q_p(t) & \Delta t + \tau < t \end{cases} \quad (2.16)$$

Avec :

$$q_p(t) = \begin{cases} \frac{e^{kt}(e^{-k\Delta t} - e^{-kt})}{k(t - \Delta t)} & \Delta t < t < \Delta t + \tau \\ \frac{e^{kt}(e^{-k\Delta t} - e^{-k(\tau + \Delta t)})}{k\tau} & \Delta t + \tau < t \end{cases} \quad (2.17)$$

$$k = \frac{1}{T_{1b}} - \frac{1}{T_1'} \quad (2.18)$$

$$\frac{1}{T_1'} = \frac{1}{T_1} + \frac{f}{\lambda} \quad (2.19)$$

Pour $k \ll 1/t$, donc lorsque T_1' est proche de T_{1b} , alors $q_p(t > \Delta t + \tau)$ est proche de 1. Cette approximation est bonne pour l'ASL pulsé et elle est habituellement utilisée. On peut alors utiliser l'équation 2.16 en négligeant le terme $q_p(t)$. Dans le cas où le temps t lors de l'acquisition n'est pas assez long (cas $\Delta t < t < \Delta t + \tau$ de l'équation 2.16), le signal ASL ne sera plus uniquement dépendant du CBF mais aussi du temps de transit. D'où l'intérêt d'attendre assez longtemps après l'application du marquage pour se situer dans le cas où $t > \Delta t + \tau$, alors le signal ASL n'est plus dépendant du temps de transit mais uniquement de la largeur temporelle du marquage. Cette largeur temporelle τ est connue lorsque l'on utilise des techniques telles que QUIPSS I ou II ou bien Q2TIPS (Wong et al., 1998b; Luh et al., 1999) comme présenté dans la section 2.4.1.

Et pour l'ASL continu/pseudo-continu :

$$\Delta M(t) = \begin{cases} 0 & 0 < t < \Delta t \\ 2M_{0b}fT_1'\alpha \exp\left(-\frac{\Delta t}{T_{1b}}\right)q_{ss}(t) & \Delta t < t < \Delta t + \tau \\ 2M_{0b}fT_1'\alpha \exp\left(-\frac{\Delta t}{T_{1b}}\right)\exp\left(-\frac{t - \tau - \Delta t}{T_1'}\right)q_{ss}(t) & \Delta t + \tau < t \end{cases} \quad (2.20)$$

Avec :

$$q_{ss}(t) = \begin{cases} 1 - \exp\left(-\frac{t - \Delta t}{T_1'}\right) & \Delta t < t < \Delta t + \tau \\ 1 - \exp\left(-\frac{\tau}{T_1'}\right) & \Delta t + \tau < t \end{cases} \quad (2.21)$$

Lorsque τ est bien plus grand que T_1' , alors $q_{ss}(t)$ est proche de 1. Cette approximation n'est pas valable dans notre cas ($\tau \approx 1500$ ms, $T_1' \approx 1400$ ms), il faut donc prendre en compte une approximation de q_{ss} . On remarque dans l'équation 2.20, utilisée en ASL continu et pseudo-continu, que le signal est largement dépendant du T_1' , il peut donc être important d'associer une mesure du T_1 lors d'expériences en CASL et pCASL. De plus, le temps de transit Δt joue aussi un rôle important même s'il est moins crucial qu'en ASL pulsé. En effet, la coupe de marquage est souvent située plus en aval de la région à imager en CASL et pCASL qu'en PASL du fait des risques de transfert d'aimantation accrus. Ceci augmente donc automatiquement les temps de transit. Afin de pallier à ce problème, on choisit souvent des délais d'acquisition plutôt longs (supérieur à la seconde) au prix tout de même d'une perte de signal.

Chapitre 3

L'imagerie des modifications fonctionnelles de la perfusion cérébrale

Comme présenté précédemment la perfusion cérébrale n'est pas un phénomène statique. Les modifications fonctionnelles de la perfusion cérébrale sont régulées grâce à différents mécanismes que sont le couplage neurovasculaire, l'auto-régulation ou bien la vasoréactivité (section 1.4). Ce chapitre détaille comment l'imagerie peut permettre de faire des cartographies fonctionnelles de ces modifications.

3.1 L'imagerie fonctionnelle basée sur le couplage neurovasculaire

Autant l'imagerie de la vasoréactivité et de l'auto-régulation a pour objectif direct de mesurer ces paramètres fonctionnels de la perfusion cérébrale, autant l'imagerie fonctionnelle BOLD utilise plutôt le phénomène de couplage neurovasculaire pour faire une image de la réponse neuronale à un stimulus. L'utilisation faite du signal BOLD n'est donc pas de faire une image du couplage neuro-vasculaire, que l'on considère même constant au cours du paradigme et entre les individus, mais plutôt d'utiliser ce couplage pour étudier des activations neuronales associées aux processus cognitifs (Krainik, 2011).

3.1.1 Le signal BOLD

Le contraste BOLD (Blood Oxygen Level Dependent) a été découvert par Ogawa et Lee en 1990 (Ogawa & Lee, 1990; Ogawa et al., 1990). Il repose sur le principe qu'une augmentation accrue de l'activité des neurones et des astrocytes induit une dilatation des capillaires et des artérioles aux alentours de la région activée afin de faire face à la hausse des besoins en glucose et en oxygène. Ceci est possible grâce au couplage neurovasculaire (section 1.4.1). Les liens entre neurones, astrocytes et capillaires sont montrés sur la figure 3.1A. La figure 3.1B montre le réseau dense des artères piales perfusant le cortex pour devenir des artérioles puis des capillaires. Un voxel acquis en IRMf correspond environ à la vignette de la figure 3.1B. On voit donc que le signal BOLD résulte d'un enchevêtrement de signaux à différentes échelles du réseau vasculaire.

L'augmentation de l'activité neuronale mène à une dilatation capillaire, donc à une augmentation du CBF et du CBV local, ainsi qu'à une augmentation de la consommation en oxygène (CMR_{O_2}). Au niveau basal, la fraction de l'oxyhémoglobine sur l'hémoglo-

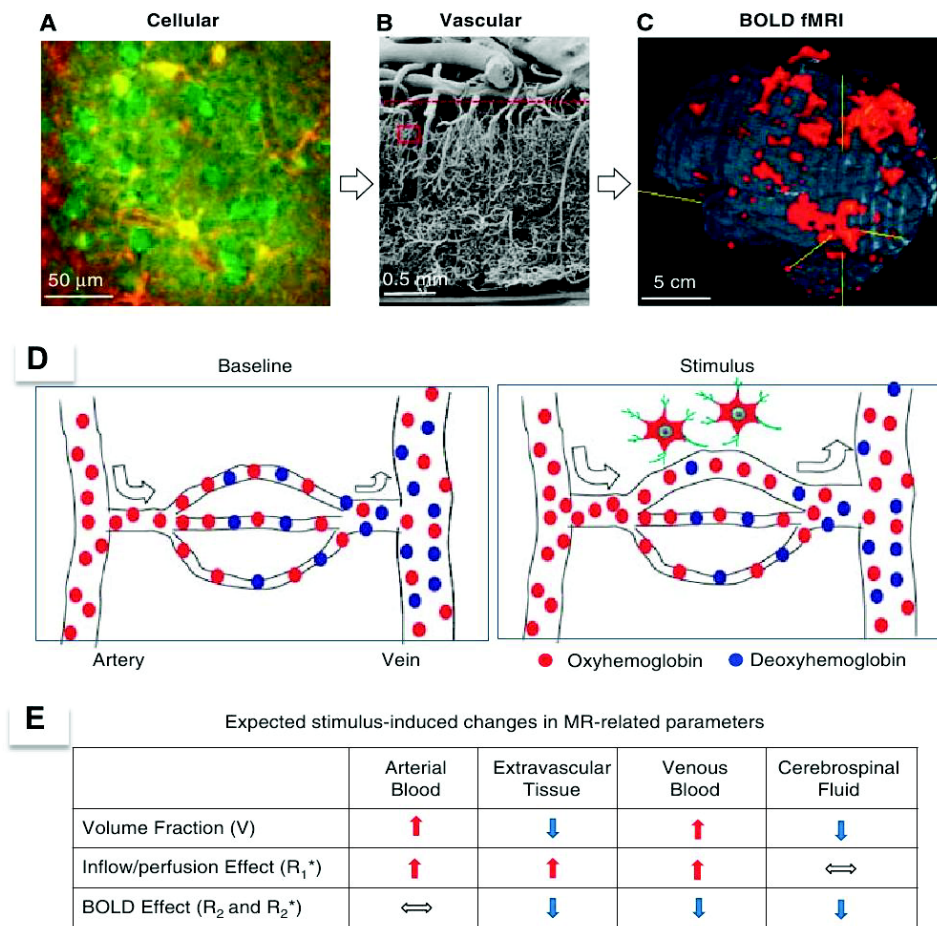


FIGURE 3.1 – A, B, C) Relation entre le couplage neurovasculaire et le signal BOLD. A) Image de microscopie biphotonique. Les neurones sont colorés en vert, les astrocytes en jaune et les capillaires sont les bandes foncées. B) Structure vasculaire au niveau du cortex cérébral obtenue en microscopie électronique. Le carré rouge représente l'aire approximative de la figure A. C) Image d'IRM fonctionnelle BOLD montrant de multiples régions activées. D) Schéma de principe représentant l'effet du ballon : sous l'impulsion d'un stimulus on voit une augmentation du volume de sang et du taux d'oxyhémoglobine par rapport à la désoxyhémoglobine. E) Réponse vasculaire à l'activité neuronale et modifications des paramètres obtenus en IRM. (Kim & Ogawa (2012))

bine totale est proche de 100% dans les artérioles et de l'ordre de 60% dans les veinules. Lors de l'activité neuronale cette proportion augmente dans les veinules et veines du fait de l'augmentation du CBF qui est relativement plus importante que celle de la CMR_{O_2} (figure 3.1D et E). Ceci entraîne donc une diminution globale de la quantité de désoxyhémoglobine présente dans un volume de tissu donnée, malgré l'augmentation du CBV qui tend à opposer l'effet de l'augmentation du CBF. L'oxyhémoglobine est invisible en IRM car d'une susceptibilité magnétique très proche des tissus. C'est la désoxyhémoglobine qui importe puisqu'elle possède une susceptibilité magnétique différente de celle des tissus ce qui résulte en un déphasage de l'aimantation transversale des spins de l'eau extravasculaire sous l'influence du champ magnétique créé par la desoxyhémoglobine autour des vaisseaux. La diffusion des molécules d'eau dans cet espace extravasculaire va de plus créer un décalage en fréquence entre spins intravasculaires et extravasculaires. Ces effets vont avoir un impact direct sur le signal T_2^* sensible aux variations d'inhomogénéités du champ magnétique.

Cette modification du signal liée à l'effet BOLD est très utilisée en IRM fonctionnelle puisqu'on dénombre pas moins de 3000 nouvelles publications chaque année comprenant le mot clé « fMRI » (Kim & Ogawa, 2012). Elle permet de faire des cartographies fonctionnelles des territoires cérébraux impliqués dans des processus moteurs, visuels, mais aussi cognitifs jusqu'à atteindre des fonctions cognitives élevées en utilisant des paradigmes d'activations ingénieux. Ces paradigmes d'activation sont majoritairement de deux sortes : en bloc ou événementiels (Amaro et al., 2006). Dans le premier cas, on alterne stimuli et états cognitifs par blocs de plusieurs dizaines de secondes. Dans le second cas, on observe la réponse impulsionnelle du signal BOLD à un stimulus bref, un événement. La réponse impulsionnelle à ce stimulus est appelée : Hemodynamic Response Function (HRF). Pour analyser les données d'IRMf on cherche à détecter les voxels dont l'évolution temporelle du signal corrèle de façon significative avec un modèle de la réponse attendue, construit en connaissant le paradigme des stimuli et en supposant connaître la HRF. Cette fonction de réponse hémodynamique a tout d'abord été utilisée de façon canonique, en utilisant la même pour toutes les régions cérébrales (Buxton et al., 2004).

Il a maintenant été démontré que cette HRF canonique n'est pas une réalité physiologique. Beaucoup de recherches sont actuellement en cours dans ce domaine, afin de choisir des modèles de HRF plus proches de la réalité en utilisant des parcellisations du cerveau (Vincent et al., 2007, 2010) mais aussi pour expliquer les différentes composantes du signal BOLD (Kim & Ogawa, 2012).

Il a aussi été démontré que des défauts de perfusion basale ou bien des défauts de vasomotricité peuvent fausser les résultats obtenus en imagerie BOLD (Krainik, 2011). Ceci a été notamment démontré dans les tumeurs cérébrales (Jiang et al., 2010) ou dans les accidents vasculaires cérébraux (Krainik et al., 2005), où un défaut de vasoréactivité a montré une réponse BOLD erronée ou diminuée.

3.1.2 L'imagerie fonctionnelle basée sur le couplage neurovasculaire en ASL

Malgré la nécessité d'utiliser une imagerie dynamique pour observer le transit du produit de contraste à travers chaque voxel du cerveau, l'imagerie du premier passage en IRM et en TDM fournit des informations uniquement sur un état de perfusion à un instant donné. Pour étudier les variations fonctionnelles de la perfusion, il est nécessaire de disposer d'une technique qui permette de répéter les mesures au cours du temps avec une résolution temporelle adaptée à la dynamique des fonctions étudiées. En outre, si l'on utilise des produits de contraste, il faut tenir compte de leur demi-vie plasmatique et de leur bio-distribution tissulaire pour minimiser les effets d'une éventuelle persistance de l'agent de contraste, pouvant influencer sur la mesure du signal. Or, les demi-vies plasmatiques du produit de contraste iodé utilisé en TDM ainsi que du produit de contraste à base de gadolinium utilisé en IRM sont toutes deux de l'ordre de 1h30 (www.guerbet.fr/.../ML_Xenetix.pdf, Le Mignon et al. 1990). Un véritable suivi dynamique des variations de la perfusion par mesures répétées est donc exclu.

L'ASL a en ce sens l'avantage d'utiliser un traceur avec une demi-vie très courte. Les protons de l'eau artérielle tenant lieu de marqueurs de la perfusion, le temps de demi-vie est celui de la décroissance T_1 , qui est de l'ordre de la seconde. De plus, les acquisitions ASL peuvent être multipliées au cours d'un examen puisqu'elles ne nécessitent pas d'injection et que l'IRM est totalement non invasif (pas de dépôt de dose). Les temps de répétitions en ASL sont de l'ordre de 3 à 4 secondes, 6 à 8 secondes pour un couple

d'images contrôle/marquage. Cette technique combine ainsi les avantages de la technique d'IRM fonctionnelle BOLD en y ajoutant le caractère quantitatif de la perfusion et en étant de plus mono-paramétrique. Le seul paramètre pouvant influencer le signal ASL est le débit sanguin local, contrairement au signal BOLD dont on vient de voir le caractère multi-paramétrique (CBF, CBV et consommation d'oxygène).

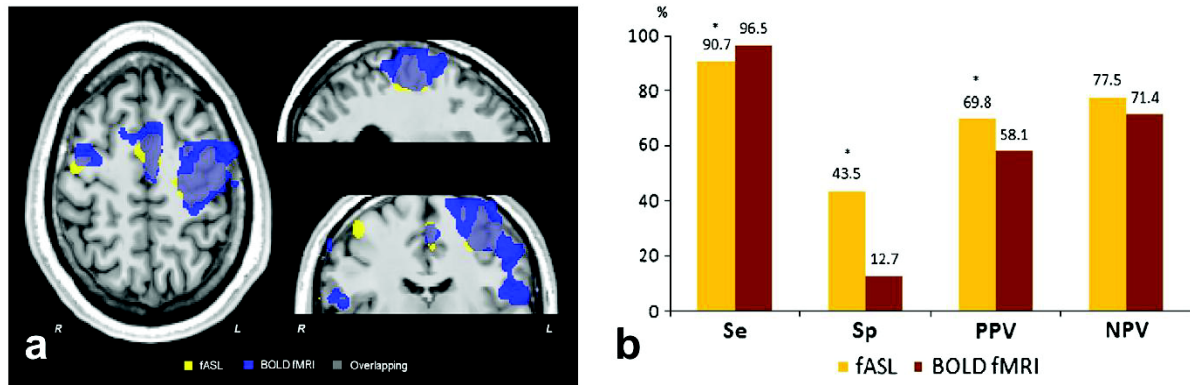


FIGURE 3.2 – a) Carte fonctionnelle individuelle après un paradigme moteur en bloc en ASL fonctionnel (jaune) et en BOLD (bleu). L'intersection est en gris. b) Comparaison quantitative des cartes d'activations fonctionnelles en ASL et en BOLD en termes de sensibilité (Se), de spécificité (Sp) et de valeur prédictive positive (PPV) et négative (NPV). (Raoult et al. (2011))

Un certain nombre d'équipes commencent donc à utiliser l'ASL pour obtenir des cartes d'activation fonctionnelle (Raoult et al., 2011; Pimentel et al., 2011). Cependant, cette technique, bien que prometteuse sur le plan physiologique reste un défi méthodologique au niveau de son utilisation fonctionnelle. Le rapport signal à bruit de cette technique étant limité (section 2.4), son utilisation pour des paradigmes complexes ne menant pas à une augmentation du CBF importante reste pour le moment compromise. Des études portant sur des paradigmes en bloc ont déjà été menées et montrent une bonne corrélation entre les zones d'activations moteurs entre ASL et BOLD (Raoult et al., 2011; Pimentel et al., 2011) (figure 3.2). Raoult et al. ont aussi démontré un gain significatif pour l'ASL fonctionnel comparé à l'IRMf BOLD en terme de spécificité ainsi qu'en terme de valeur prédictive malgré une moins bonne sensibilité (figure 3.2b).

Pour ce qui est des paradigmes événementiels, l'étude de ces phénomènes transitoires en ASL relèvent plus de challenge du fait de ce TR de 6 à 8 secondes pour les images contrôle et marquage. Avec un temps de répétition de cet ordre, il est plus difficile d'échantillonner correctement la réponse impulsionnelle à un stimulus bref. De plus, la forme de la HRF n'est pas encore très bien connue dans le cas du signal ASL. De ce fait, le modèle utilisé pour l'estimation de la réponse pourrait ne pas être de bonne qualité, et mener à une sous-estimation de la réponse au stimulus.

3.2 L'imagerie fonctionnelle de l'autorégulation cérébrale

L'imagerie fonctionnelle du mécanisme d'autorégulation cérébrale est plus difficile à mettre en œuvre que l'imagerie du couplage neurovasculaire ou de la vasoréactivité puisqu'il s'agit de faire varier soit la pression intracrânienne, soit la pression artérielle (section 1.4.2). Le maintien d'une pression intracrânienne stable étant une fonction physiolo-

gique vitale, celle-ci est rarement utilisée comme stimulus vasomoteur. Les stimuli les plus communément utilisés consistent à faire varier la pression artérielle grâce à un garrot au niveau des cuisses ou bien en redressant le lit du patient pour provoquer une hypotension orthostatique (Azevedo et al., 2007; van Beek et al., 2008). L'imagerie de l'autorégulation cérébrale peut être acquise en IRM, en PET (Ouchi et al., 2001) et en échographie Doppler (Azevedo et al., 2007; Vokatch et al., 2007).

3.3 L'imagerie fonctionnelle de la vasoréactivité cérébrale aux gaz circulants

L'objectif de l'imagerie de la vasoréactivité cérébrale est d'utiliser les propriétés vasoactives des gaz circulants pour étudier la vasomotricité des vaisseaux cérébraux.

Les applications

Les applications de la technique de mesure du CVR sont nombreuses. Il a été montré une diminution de la vasoréactivité cérébrale chez des patients atteints de diabète de type 2 (Last et al., 2007; Novak et al., 2011), d'hypertension (Hajjar et al., 2010), d'altérations vasculaires diffuses (Mandell et al., 2008a), d'accidents vasculaires cérébraux (AVC) (Markus & Cullinane, 2001; Krainik et al., 2005; Zhao et al., 2009), de tumeurs cérébrales (Jiang et al., 2010; Jochimsen et al., 2010), de sténoses ou d'occlusion des artères intra- et extra-cérébrales (Bokkers et al., 2011, 2010; Chen et al., 2006; Haller et al., 2008; Isozaki et al., 2010; Lythgoe et al., 2001; Mandell et al., 2011; Markus & Cullinane, 2001; Smith et al., 2008; Tomura et al., 2011; Yamashita et al., 2005; Ziyeh et al., 2005; Yonas et al., 1998), de la maladie d'Alzheimer (Cantin et al., 2011b; Yezhuvath et al., 2012). Il n'existe pas encore de littérature sur le sujet en ce qui concerne la maladie de Parkinson, un article est en cours de soumission dans notre équipe.

Les applications dans le cadre de cette thèse de cette technique d'imagerie de la vasoréactivité cérébrale dans différents contextes pathologiques (Alzheimer, sténoses, AVC, acclimatation à l'altitude), ainsi que leurs études bibliographiques plus complètes, seront présentées dans la partie IV (chapitres 9, 10, 11).

Les techniques

Plusieurs méthodes existent pour évaluer le CVR : le Doppler transcranien (Wilson et al., 2011), la tomодensitométrie (TDM) (Yamashita et al., 2005; Smith et al., 2008), la tomographie par émission de positons (PET) (Nariai et al., 1995; Grandin et al., 2005) et l'IRM. Par IRM, elle est évaluée en mesurant le signal BOLD (Zande et al., 2005; Ziyeh et al., 2005; Yezhuvath et al., 2009) ou le débit sanguin cérébral avec la méthode de Dynamic Susceptibility Contrast (Grandin et al., 2005) ou d'Arterial Spin Labeling (Zhao et al., 2009; Hajjar et al., 2010; Mandell et al., 2008b; Mark et al., 2010). Chacune de ces techniques possède ses avantages et ses inconvénients. L'imagerie de la vasoréactivité privilégie l'utilisation du CBF comme paramètre à mesurer lors des challenges vasomoteurs. En effet, peu de changements ont été observés en ce qui concerne le CBV, notamment dans le cas de l'injection d'acétazolamide (Grandin et al., 2005).

Le choix que nous avons fait au laboratoire est de mesurer ce paramètre de la vasoréactivité cérébrale grâce à deux méthodes : l'imagerie BOLD et l'imagerie ASL. Ces

deux techniques sont totalement non invasives car elles sont acquises en IRM et sans injection de produit de contraste. Toujours dans le but de diminuer au maximum l'invasivité de la technique, et pour ainsi pouvoir toucher le plus grand nombre de sujets possible, l'hypercapnie a été choisie comme stimulus vasomoteur (cf section 1.4.3).

L'imagerie BOLD de la vasoréactivité a l'avantage d'être bien plus sensible que l'imagerie fonctionnelle BOLD classique. En effet l'augmentation de signal due à l'hypercapnie est de l'ordre de 3 à 6% dans la matière grise pour une inhalation de 5 à 7% de CO_2 pendant 1 à 4 minutes (Rostrup et al., 1994, 2000; Vesely et al., 2001; Yezhuvath et al., 2009), et de 2% dans la matière blanche (Rostrup et al., 2000; Vesely et al., 2001), contrairement aux variations de signal BOLD dues à des tâches fonctionnelles qui sont de l'ordre de 1 à 3% (Krainik et al., 2005; Liu et al., 2012). Le signal BOLD est rapidement augmenté après la mise en route du stimulus, environ 30 secondes, et sa diminution, suite à l'arrêt d'administration de CO_2 , suit une cinétique similaire (Rostrup et al., 2000; Cantin et al., 2011b).

Cependant, l'avantage incontestable de l'ASL sur l'imagerie BOLD dans ce contexte est sa quantitatativité et le fait que le signal ASL soit mono-paramétrique. Le signal BOLD est lié à différents phénomènes (CBV, oxygénation, couplage neuro-vasculaire...) (Liu et al., 2012) tandis que les variations de signal ASL ne représentent que les variations dues aux débit sanguin cérébral, et permettent de quantifier la réactivité cérébro-vasculaire selon l'équation ci-dessous (Nöth et al., 2006, 2008) :

$$CVR = \frac{100 \cdot (CBF_{hc} - CBF_{nc})}{CBF_{nc} \cdot (PetCO_{2,hc} - PetCO_{2,nc})} \quad (3.1)$$

avec CBF_{hc} et CBF_{nc} le débit sanguin cérébral mesuré respectivement sous hypercapnie (hc) et normocapnie (nc) et $PetCO_{2,hc}$ et $PetCO_{2,nc}$ la pression partielle expirée en CO_2 en mmHg mesurée respectivement sous hypercapnie et normocapnie. La vasoréactivité est ainsi calculée en %/mmHg (% de variations de CBF par mmHg d'augmentation de la pression partielle en CO_2 de l'air expirée). Il a été montré que l'inhalation de CO_2 pendant des périodes courtes (de 1 à 4 minutes) ne modifie pas les paramètres physiologiques tels que de la fréquence cardiaque, la fréquence respiratoire et la saturation en oxygène (Yezhuvath et al., 2009; Cantin et al., 2011b).

Cependant, la vasoréactivité mesurée en ASL possède encore des problèmes de rapport signal à bruit. L'ASL pseudo-continu contribue toutefois à améliorer ce rapport signal à bruit (Tancredi et al., 2012), ceci étant inhérent à la technique elle-même (temps de marquage plus long = plus de signal) mais aussi du fait de sa moindre dépendance aux temps de transit grâce à un temps d'inversion plus long (Nöth et al., 2008).

Objectifs de la thèse

L'objectif principal de ce travail de thèse est de mettre en place et de valider la mesure de la vasoréactivité cérébrale chez l'homme de façon quantitative. Pour ce faire, la méthode d'imagerie choisie est l'IRM puisque cette technique est non invasive, et peut mener à une quantification absolue des modifications fonctionnelles de la perfusion cérébrale grâce à la technique de marquage de spin artériel (ASL). Afin d'arriver à une quantification absolue de la mesure de la vasoréactivité cérébrale, la technique d'ASL sera optimisée, au niveau de l'acquisition et au niveau du traitement des données. Enfin, l'application des méthodes implémentées sera testée dans un environnement de recherche en physiologie humaine, mais aussi en recherche et en routine clinique dans des contextes physio-pathologiques.

Dans un premier temps, les objectifs méthodologiques sont l'optimisation des acquisitions et des traitements pour l'imagerie de la perfusion cérébrale, que ce soit au niveau basal ou fonctionnel, avec l'imagerie de la vasoréactivité cérébrale aux gaz circulants. Ces optimisations seront présentées dans la partie II, où l'on décrit le travail méthodologique mis en en place pour arriver à une quantification fiable de la perfusion cérébrale basale, puis dans la partie III, où l'on présente les traitements implémenté afin d'optimiser la mesure de la vasoréactivité cérébrale.

Dans un second temps, la partie IV présente les applications menées dans le but de valider nos méthodes et de confronter les solutions implémentées à des protocoles de recherche cliniques. Nous avons travaillé en lien étroit avec les médecins du CHU pour mettre en place ou continuer des études cliniques dans des pathologies cérébrales telles que les tumeurs cérébrales, l'Alzheimer, l'accident vasculaire cérébral (AVC) ou bien les sténoses extra et intracrâniennes. Nous avons aussi mis en place des collaborations avec des physiologistes afin d'étudier les effets centraux de l'altitude.

Deuxième partie

Méthodologie de l'imagerie quantitative du CBF en ASL

Cette première partie de résultats a pour but de présenter le travail méthodologique effectué au cours de cette thèse sur le plan de l'imagerie de la perfusion basale en ASL.

Le premier objectif de ma thèse a été de continuer le travail déjà mis en place par Émilie Chipon au sein de l'équipe lors de sa thèse, qu'elle a soutenue le 30 janvier 2009. Émilie a mis en place la technique d'ASL pulsé QUIPSSII sur le 3T Bruker et sur l'IRM 1.5 T Philips en clinique. Mon travail a donc consisté au transfert de cette technique d'ASL pulsé sur le 3 T clinique Philips et à l'optimisation des paramètres de cette séquence.

La première optimisation sur laquelle nous avons travaillé a consisté à améliorer la quantitatativité de la technique QUIPSSII. Pour cela nous avons mis en place une séquence originale, appelée BoTuS, permettant d'optimiser le délai TI_1 pour chaque sujet. Cette étude sera présentée dans le chapitre 4.

Dans un second temps nous avons travaillé sur l'optimisation de la chaîne de traitement pour obtenir des cartes de perfusion quantitatives en ASL. Ces traitements seront présentés dans le chapitre 5.

Pour finir sur cette partie, nous présenterons une étude originale ayant pour objectif de comparer les différentes techniques d'imagerie de la perfusion disponibles en clinique en IRM et en TDM, sur des patients porteurs de tumeurs cérébrales. Les optimisations des méthodes utilisées dans cette étude, ainsi que les résultats préliminaires visant à comparer ces différentes techniques, seront présentés dans le chapitre 6.

Chapitre 4

Optimisations du paramètre TI_1 de la séquence Q2TIPS en ASL pulsé : la méthode BoTuS

Comme expliqué dans la section 2.4.1 de l'introduction, les séquences QUIPSSII (Wong et al., 1998b) et Q2TIPS (Luh et al., 1999) ont pour objectif d'éliminer la dépendance du signal ASL au temps de transit. Une saturation de l'aimantation longitudinale a lieu au bout d'un délai TI_1 après le marquage. Si ce délai est plus court que la largeur naturelle du bolus créé par le marquage pulsé alors on sature les spins de la fin du bolus et la largeur du bolus devient connue et égale au délai TI_1 . Cependant, si la saturation est appliquée trop tard, alors le bolus n'est pas saturé et la largeur τ du bolus est inconnue et inférieure au délai TI_1 (cf équation 5.3). Dans ce cas, le CBF calculé à partir du signal ASL surestimera le CBF réel (Buxton, 2005). La largeur naturelle du bolus des spins marqués va dépendre de la largeur spatiale du marquage pulsé appliqué mais aussi de l'état physiologique du sujet et de la géométrie vasculaire dans la région de marquage. Cette largeur sera différente selon la population de sujets.

Dans ce but, la méthode originale BoTuS (Bolus Turbo Sampling) a été développée au laboratoire afin de mesurer la durée réelle du bolus des spins marqués et ainsi d'optimiser le délai TI_1 pour chaque sujet afin d'obtenir une quantification fiable et de disposer du SNR le plus important possible en ASL pulsé Q2TIPS.

Ce chapitre sera présenté en incluant directement le manuscrit accepté et publié en ligne dans le journal *Magnetic Resonance in Medicine* sous le titre : « Per-subject characterization of bolus width in Pulsed Arterial Spin Labeling using Bolus Turbo Sampling (BoTuS) ». Les auteurs sont : M. Villien, E. Chipon, I. Troprès, J. Bouvier, S. Cantin, D. Chechin, J-F. Le Bas, A. Krainik, et J. M. Warnking. (Villien et al., 2012)

4.1 Objectifs de cette étude

Les objectifs de cette étude étaient de valider notre technique BoTuS puis de démontrer l'intérêt de l'optimisation du délai TI_1 dans la séquence d'ASL pulsé Q2TIPS. La technique BoTuS avait déjà été mise en place par Émilie Chipon.

Notre protocole a été mené sur 13 volontaires sains âgés de 23 à 40 ans. Le protocole était constitué de deux parties :

- Étude de la répétabilité et de la faisabilité de la méthode BoTuS

- Étude de corrélation avec une méthode de référence : le *multi* – TI_1

Pour ce qui est de la répétabilité, deux séquences BoTuS ont été acquises à 40 minutes d'intervalle. Les mesures obtenues ont été comparées en prenant en compte les variations de l'état physiologique. Une troisième séquence BoTuS a été acquise pendant une inhalation d'air enrichi en CO_2 à 8% afin de tester la sensibilité de notre méthode à un stimulus vasoactif.

La séquence *multi* – TI_1 a été prise comme référence puisque théoriquement établie, puis utilisée par tester la corrélation entre notre méthode BoTuS et cette méthode .

4.2 Publication

Per-Subject Characterization of Bolus Width in Pulsed Arterial Spin Labeling Using Bolus Turbo Sampling

M. Villien,^{1,2} E. Chipon,³ I. Troprès,⁴ J. Bouvier,^{1,2} S. Cantin,⁵ D. Chechin,⁶ J.-F. Le Bas,^{4,5} A. Krainik,^{2,5} and J. M. Warnking^{1,2*}

Quantification of cerebral blood flow using QUIPSSII pulsed arterial spin labeling requires that the QUIPSS saturation delay TI_1 is shorter than the natural temporal bolus width. Yet the duration of the bolus of tagged spins entering the region of interest varies during vasoactive stimuli such as gaseous challenges or across subjects due to differences in blood velocity or vessel geometry. A new technique, bolus turbo sampling, to rapidly measure the duration of the inflowing bolus is presented. It allows to optimize the arterial spin labeling acquisition to ensure reliable quantification of perfusion while maximizing the arterial spin labeling signal by avoiding the use of unnecessarily short label durations. The average bolus width measured in the right and left middle cerebral artery territories using the bolus turbo sampling technique has a repeatability coefficient of 75 ms and correlates significantly with the $TI_{1,max}$ determined from a novel multi- TI_1 protocol ($R = 0.65$, $P < 0.05$). The possibility to measure the bolus width under hypercapnia is demonstrated. Magn Reson Med 000:000–000, 2012. © 2012 Wiley Periodicals, Inc.

Key words: brain perfusion; arterial spin labeling; QUIPSS; TI_1 ; bolus width; hypercapnia

INTRODUCTION

Arterial spin labeling (ASL) is a quantitative MRI method to noninvasively measure cerebral blood flow (1). The longitudinal magnetization of water spins in arterial blood is inverted in the feeding arteries and subsequently the flowing tagged spins are imaged in the region of interest (ROI) after a postlabel delay (TI_2). The pulsed ASL variant is widely used in clinical research protocols due to its ease of implementation, its low specific absorption rate and the absence of need for specific coils. Its signal depends not only on cerebral blood flow but also on magnetization at equilibrium, tagging efficiency, temporal width of the bolus of tagged spins (τ), and the transit time of blood from the label slab to the imaging slice (2). The QUIPSSII (3) and Q2TIPS (4)

sequences aim to eliminate sensitivity to bolus duration and transit times by saturating the longitudinal magnetization of labeled spins remaining in the label region after a delay TI_1 . This delay, if shorter than the natural bolus duration, defines the temporal width of the bolus. However, if the saturation is applied too late, the actual temporal width of the bolus is shorter than TI_1 , leading to errors in the quantification of cerebral blood flow from the ASL signal (5).

One response to this issue is multi-inversion time (TI) ASL techniques like QUASAR (6) or Bolus-tracking ASL (7). As images are acquired at different TIs, transit delay and bolus duration can be obtained and accounted for. However, multi-TI acquisitions require significantly longer acquisition times or limit the spatial coverage available.

Single-TI studies use optimized values for the saturation delay TI_1 , fixed for all subjects in a study. Its dependence on patient population, geometrical label width, and position of the label pulse implies that this optimization may need to be performed for each specific study (8). The shortest natural bolus duration occurring in the patient population dictates the choice of the TI_1 for all subjects, leading to a loss in sensitivity in subjects with longer label durations.

The aim of this study is to validate a new technique (BoTuS, for bolus turbo sampling) to rapidly measure the natural bolus duration in each subject and thus to ease optimization of the TI_1 parameter (9,10). This technique directly traces the bolus of the tagged spins for about 3 s after the application of the tag pulse, with a temporal resolution of 50 ms. The initial shape of the bolus of the tagged spins is modeled as a boxcar function with flow through the vasculature modeled as a gaussian dispersion of the tag in time (11), a modified version of the Hrabe–Lewis model (12,13). The measurements with the BoTuS method are validated using a novel multi- TI_1 protocol.

METHODS

For this study, 13 healthy volunteers (age 23–40 years, five females) were scanned on a 3T Philips Achieva TX whole body scanner using an eight-channel head receive coil. The Institutional Review Board approved the protocol and all subjects gave prior written consent to participate in the study. During all acquisitions, physiological parameters of our subjects (EtCO₂, SpO₂, respiratory frequency, and heart rate) were recorded to verify that subjects remained in constant physiologic state. The entire protocol consisted of two parts: (1) the measurement of

¹INSERM, U836, Grenoble, France.

²Université Joseph Fourier, Grenoble Institut des Neurosciences, Grenoble, France.

³CHU de Grenoble, CIC—Innovation Technologique, Grenoble, France.

⁴Université Joseph Fourier, SFR1, Grenoble, France.

⁵CHU de Grenoble, Clinique Universitaire de Neuroradiologie et d'IRM, Grenoble, France.

⁶Philips Healthcare, Suresnes, France.

*Correspondence to: Jan Warnking, Grenoble Institut des Neurosciences, Centre de Recherche Inserm U 836—UJF—CEA—CHU, Chemin Fortuné Ferrini, Université Joseph Fourier—Site Santé, Bâtiment Edmond J. Safra, 38706 La Tronche, France. E-mail: jan.warnking@ujf-grenoble.fr

Received 30 March 2012; revised 5 June 2012; accepted 21 June 2012.

DOI 10.1002/mrm.24412

Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com).

© 2012 Wiley Periodicals, Inc.

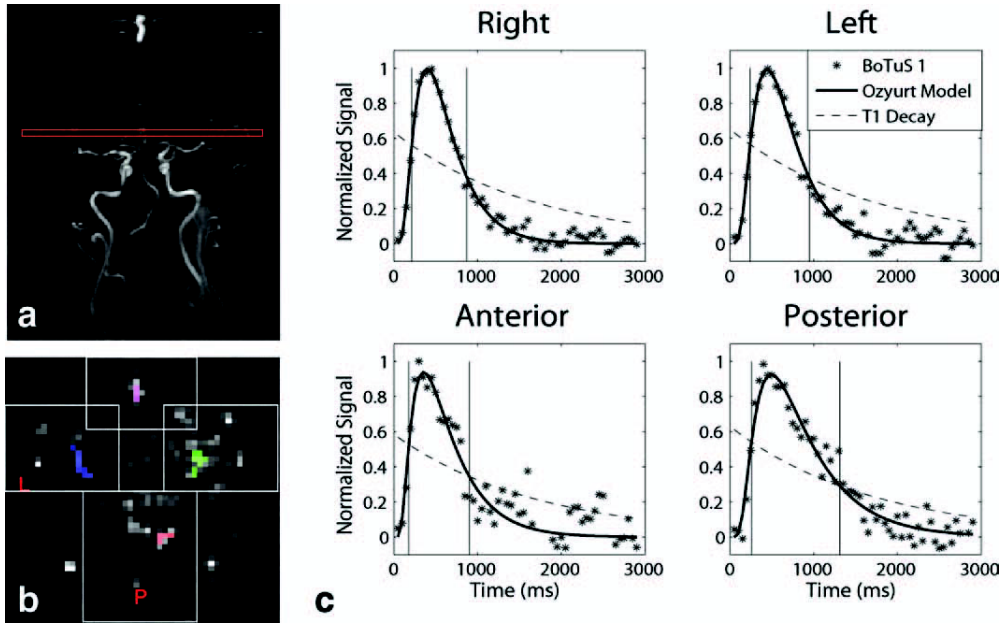


FIG. 1. **a**: Position of the BoTuS acquisition slice just above the circle of Willis. **b**: White lines: manually defined template regions within which ROIs were automatically selected. Colored areas: automatically determined ROIs of connected voxels with the highest cumulative area under the bolus curve in each of the four vascular regions. **c**: Normalized control/tag difference from the BoTuS sequence showing the bolus shape of the tagged spins entering our ROIs for four vascular territories. The dashed line indicates the cutoff at half the peak amplitude after correction for T_1 -decay, used to determine the duration of the bolus as indicated by the vertical lines.

the shape of the bolus using the BoTuS technique, performed twice under baseline physiologic conditions to assess repeatability and performed once during globally increased cerebral blood flow under hypercapnia (HC) and (2) an independent measurement of the natural duration of the bolus from multi- T_1 data.

BoTuS Protocol

The purpose of this part of the study was to assess the feasibility and the repeatability of the BoTuS technique. Its aim is to rapidly measure the bolus shape of the tagged spins entering the ROI. The BoTuS sequence consists of a PICORE tagging scheme (tag width = 200 mm, label gap = 15 mm) immediately followed by an echo-planar imaging acquisition repeated every 50 ms on one axial slice just above the Circle of Willis scanned every 50 ms until $TI = 2900$ ms (Fig. 1a). Parameters were: flip angle = 90° , echo time = 19 ms, echo-planar imaging bandwidth = 3525 Hz, voxel size = $4 \times 4 \times 5$ mm³, NA = 10 ctrl-tag pairs, total scan duration = 1'18". The 90° flip angle assures that the signal is dominated by fresh spins entering the slice between consecutive acquisitions. At a pulse repetition time (TR) of 50 ms in a 5-mm slice, blood in the arteries crossing the slice is fully replaced at flow speeds above 10 cm/s. This guarantees that fresh blood arrives between subsequent echo-planar imaging acquisitions in the major feeding arteries of the brain ($V_{PCA} > 20$ cm/s (14)). We acquired a total of three BoTuS datasets. Two were acquired at baseline physiologic conditions separated by 40 min to test for repeatability. We also tested the capacity of the BoTuS sequence to detect the bolus shortening due to global flow differences during a

vasodilator paradigm using increased $fiCO_2$ (8% CO_2 , 21% O_2 , and balance N_2 administered via a nonrebreathing face mask). The HC BoTuS dataset was acquired 1 min after the start of CO_2 inhalation.

MATLAB® (The Mathworks, Inc., Natick, MA) was used to postprocess the data. The mean difference between control and tag images was calculated to obtain a vascular ASL signal map at each TI. Using the brain extraction tool (bet2) from FSL (15), data from non-brain tissue were eliminated. To automatically select ROIs with arterial signal, a template of four large regions approximately corresponding to anterior (ACA), posterior (PCA), and left and right middle cerebral artery (MCA) vascular territories, as shown by white lines in Figure 1b, was defined manually once for all subjects. The area under the bolus curve was computed for each voxel and voxels with at least 20% of the maximal area under the bolus curve in each region were selected. The cluster of connected voxels with the highest cumulative area under the bolus curve in each of the four regions was retained as ROI for the subsequent analysis (Fig. 1b). The bolus in each voxel from each ROI was fitted with a model of the dispersed bolus of tagged spins by Ozyurt et al. (11) based on a modified version of the Hrabě-Lewis model (12). Modeling the gaussian dispersion as increasing in time and not in space, the model by Ozyurt is causal and thus more realistic at low inversion delays (Fig. 1c):

$$\Delta M(t) = A e^{-\frac{t}{T_{1B}}} \left(\operatorname{erf} \left(\frac{\tau + \delta t - t}{k\sqrt{t}} \right) - \operatorname{erf} \left(\frac{\delta t - t}{k\sqrt{t}} \right) \right),$$

where A is an amplitude factor, T_{1B} is the T_1 of the arterial blood, τ is the natural width of the bolus of tagged

Table 1

Acquisition Parameters of Multi- T_{I_1} images (T_{I_1} : Time Between Label and QUIPSS Saturation, T_{I_2} : Time Between Label and Acquisition of the First Slice, ΔT_I : Time Between Saturation and Acquisition [$T_{I_1} + \Delta T_I = T_{I_2}$], TR: Time Between Successive Tag and Control Label Pulses)

T_{I_1} (ms)	200	300	400	500	600	700	800	900	1000	1100	1200	1300	1600	2000
T_{I_2} (ms)	1800	1800	1800	1800	1800	1800	1800	1800	1800	1900	2100	2100	2300	2700
ΔT_I (ms)	1600	1500	1400	1300	1200	1100	1000	900	800	800	900	800	700	700
TR (ms)	3500	3400	3300	3200	3100	3000	3000	3000	3000	3000	3100	3000	3000	3400

spins, δt is the transit delay between label region and imaging slice, and k is the dispersion constant. A four-parameter fit was performed using the Levenberg–Marquadt algorithm (16,17), adjusting A , τ , δt , and k on a per-voxel basis.

After averaging the model curves from each voxel within ROIs, the full width at half-maximum of the average bolus model curve was measured, taking into account T_1 decay (Fig. 1c). We thus obtained a value of the bolus width for each of the four ROIs from each BoTuS dataset.

Multi- T_{I_1} ASL Protocol

To independently measure the duration of the bolus of labeled blood, we measured the ASL signal as a function of T_{I_1} , at constant T_{I_2} . The ASL signal in a QUIPSSII sequence is directly proportional to the quantity of labeled blood leaving the label region prior to T_{I_1} . Blood flow can be assumed to be constant during the T_{I_1} period, if signals are averaged over many repetitions that are not synchronized to cardiac phase (18). If T_{I_1} is shorter than or equal to the natural duration of the bolus, the ASL signal increases linearly as a function of T_{I_1} . For longer T_{I_1} delays, the ASL signal is independent of T_{I_1} , as all labeled blood has left the label region prior to the saturation pulse. More standard multi- T_{I_2} ASL signal measurements also provide information about the label width, but they depend in addition on transit delay, making the data less robust to analyze.

We acquired a series of 12 PASL datasets varying the T_{I_1} from 200 to 1300 ms in 100 ms increments in a Q2TIPS sequence in randomized order. ASL acquisition

parameters were: single-shot GE echo-planar imaging, voxel size ($4 \times 4 \times 5 \text{ mm}^3$), 14 slices, 30 pairs of images, tag width = 200 mm, label gap = 15 mm, echo time = 24 ms, total acquisition time ~ 40 min. The minimum T_{I_2} was fixed to 1800 ms. TR and T_{I_2} needed to be adapted for the shortest and longest T_{I_1} values due to sequence timing constraints. The exact parameter values used are listed in Table 1. For subjects 11–13, we added measurement points at $T_{I_1} = 1600$ and 2000 ms and used a SENSE factor 2.5 with a echo time of 19 ms. The first slice of the ASL acquisitions is the same as the BoTuS slice (Fig. 2a). We acquired a high-resolution T_1 -weighted structural image to obtain gray and white matter masks using SPM8 (3D GRE TR = 8.1 ms, echo time = 3.8 ms, voxel size [$1 \times 1 \times 1.3 \text{ mm}^3$], 256 mm field of view, and 100 contiguous sagittal slices).

All images were realigned, coregistered to the anatomic image, and normalized to the MNI ICBM atlas using SPM8 software (SPM, Wellcome Department of Imaging Neuroscience, <http://www.fil.ion.u-cl.ac.uk/spm/>). Control and label images were subtracted. Data acquired at a T_{I_2} different from 1800 ms were corrected for T_1 -decay assuming an arterial blood T_1 of 1700 ms (19). We calculated the average ASL data from the gray matter in MCA, ACA, and PCA territories, for each of the 12 acquisitions (Fig. 2b). We then plotted the ASL signal as a function of the T_{I_1} and fitted it with the model of Ozyurt integrated over time. To determine $T_{I_{1,max}}$, the highest acceptable T_{I_1} according to the multi- T_{I_1} data, we located the point beyond which the model curve was outside a 10% margin around the initial linear slope determined from the fit parameters (Fig. 2c).

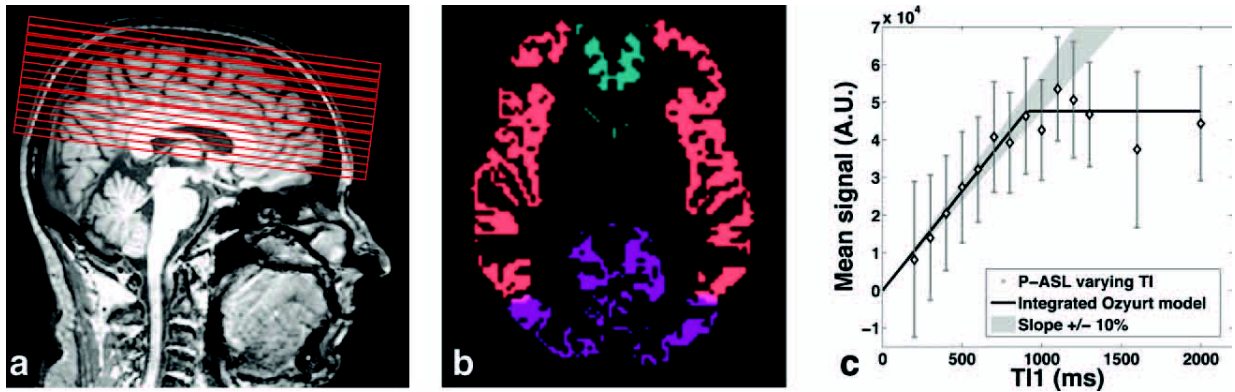


FIG. 2. **a**: Position of the multi- T_{I_1} imaging slices. The first slice of the PASL ROI is the same as the BoTuS slice. **b**: Vascular territory map (orange: middle cerebral arteries, green: anterior cerebral arteries, and purple: posterior cerebral arteries). **c**: Average ASL signal in the gray matter of the MCA territories as a function of T_{I_1} for a single subject. The solid line represents the fit to the data and the shaded region indicates the limits of the linear regime of the ASL signal.

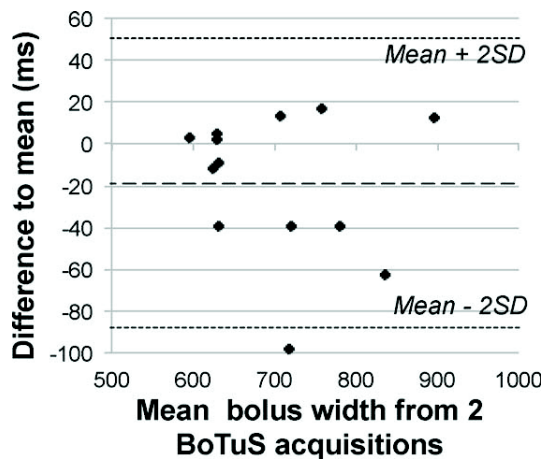


FIG. 3. Repeatability of the BoTuS results shown in a Bland–Altman graph representing the difference to the mean for two separate measurements as a function of their mean.

RESULTS

BoTuS Protocol

The acquisition time of the BoTuS sequence is 78 s. Subsequently, about 2 min of processing are required to obtain the bolus width in the four vascular regions. From the 104 measurements we made under baseline physiologic conditions, 12 were excluded due to an insufficient quality of fit ($R^2 < 0.9$). Capnia remained constant throughout all acquisitions under baseline condition.

The differences between the bolus width in the left and right MCA and the ACA for our 13 subjects are not statistically significant (right MCA = (708 ± 121) ms; left MCA = (743 ± 116) ms; ACA = (811 ± 156) ms—mean \pm STD), with a higher interindividual variability in the ACA territory. However, we measured significantly longer bolus duration in the PCA territory: (1094 ± 211) ms. The mean bolus widths for right and left MCA territories for each subject are spread from 550 to 977 ms.

We tested the repeatability of the technique by measuring the bolus shape twice, at an interval of 40 min. The repeatability is good as shown in the Bland–Altman (20) scatter plot (Fig. 3). One subject out of 13 showed a difference to mean exceeding the 2σ interval. The mean difference between the two measurements is significantly different from zero, which implies the presence of an order-effect, with slightly longer bolus durations observed in the second measurement.

The repeatability coefficient (20) for the measurement of the average bolus width in the right and left MCA territories is 75 ms, that is, the absolute difference between two repeated measurements is expected to be smaller than this value in 95% of the cases. With a mean bolus width of 728 ms in right and left MCA territories for our 26 measurements, this represents a difference of 10% between two measurements on the same subject.

The mean MCA bolus width in 12 subjects (one subject was excluded due to an insufficient quality of fit [$R^2 < 0.9$]) was (498 ± 176) ms under HC and (747 ± 113)

ms under normocapnia (NC) immediately prior to the HC experiment. The analyses of the physiological parameters of our subjects showed no significant difference before and during HC in heart rate (NC = $[61 \pm 7]$ min^{-1} ; HC = $[62 \pm 7]$ min^{-1}), arterial oxygen saturation (NC = $[98 \pm 1]\%$; HC = $[98 \pm 1]\%$), and respiratory rate (NC = $[15 \pm 3]$ min^{-1} ; HC = $[15 \pm 3]$ min^{-1}). Mean end-tidal CO_2 increased from (46 ± 6) mmHg during NC to (57 ± 6) mmHg under HC. If we assume that the observed reduction in bolus width is inversely proportional to the perfusion change, the mean increase in perfusion due to the CO_2 paradigm was $(6 \pm 4.3)\%$ /mmHg which is consistent with the literature (21). The responses to this stimulus were however very heterogeneous between subjects.

Multi-TI₁ ASL Protocol

Three subjects were excluded because the nonlinear fit did not converge. Two more subjects were excluded because the quality of the fit was bad due to poor signal-to-noise ratio (SNR) ($R^2 < 0.9$). The mean $\text{TI}_{1,\text{max}}$ on the remaining eight subjects is (1020 ± 182) ms for the right and left MCA territories, (1009 ± 250) ms for the ACA territory and (1152 ± 435) ms in the PCA territory. The differences between the three territories are not significant. Also the values in the PCA territories are very heterogeneous and calculated on two subjects only as the others showed a R^2 lower than 0.9.

Correlation Between BoTuS Results and Multi-TI₁ Data

We observed a significant correlation between the bolus width measured in the MCA territory using BoTuS method and the $\text{TI}_{1,\text{max}}$ determined from multi-TI₁ data, with a Pearson coefficient of 0.65 ($P < 0.05$) (Fig. 4a). The bolus width derived from the prescan underestimated the allowable TI₁ obtained by the multi-TI₁ method, as attested by the scatter plot.

DISCUSSION

The rapid bolus shape prescan (acquisition time of 1'18'') allowed determining an optimized TI₁ for each subject. The prescan acquisition time is dramatically reduced compared to the 40–47 min of acquisitions needed to obtain the bolus width using the 12–14 PASL multi-TI₁ data points. There are significant differences in the measured bolus widths between vascular territories. Indeed, the PCA are predominantly fed by the basilar arteries, which exhibit slower flow than the internal carotid artery (ICA) predominantly feeding the MCA (22). The higher interindividual variability that we observed on the ACA territories is certainly due to the heterogeneities of the ROI in that region. The right and left MCA territories are the most homogeneous regions as we selected the middle cerebral arteries just above the circle of Willis. The repeatability of the BoTuS technique in this territory is good as shown in Figure 3.

We use the multi-TI₁ data as a reference as it directly samples the ASL signal of interest. However, the method suffers from low SNR and long acquisition times, making the results prone to motion artifacts and preventing us

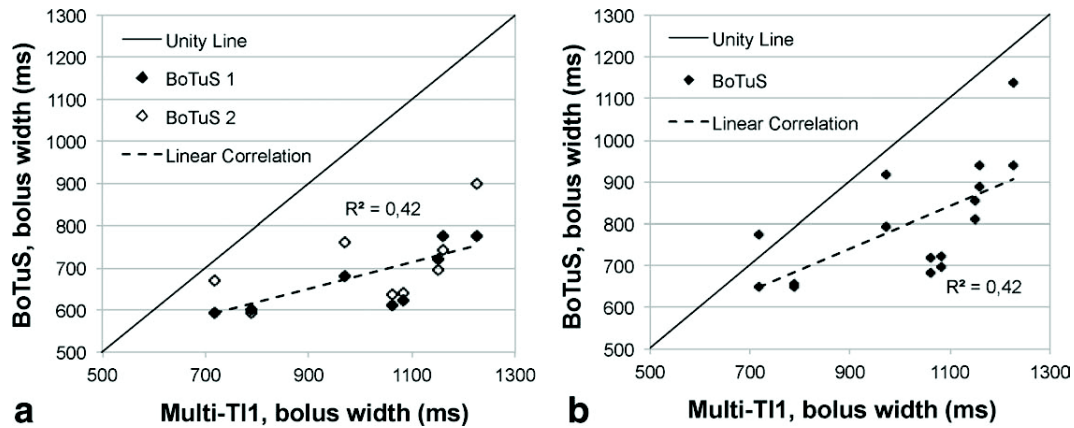


FIG. 4. **a**: Correlation between the bolus width measured twice using BoTuS and using multi-TI₁ PASL for eight subjects with linear correlation and unity line. **b**: Correlation between the bolus width measured using BoTuS after correction ($TI_{1,sequence} = 1.6 \times TI_{1,BoTuS} - 300$) and multi-TI₁ PASL method for eight subjects.

from assessing its repeatability. Motion artifacts in one or a few of the 12–14 individual scans can render a fit of the multi-TI₁ data impossible. Almost 40% of the multi-TI₁ data had to be discarded. The MCA territories (≈ 2400 voxels on average) provide the most robust results and their shorter bolus durations make them well suited to validate the BoTuS data. The results in the ACA and PCA territories are more variable due to the smaller overlap with our imaging volume (≈ 950 and ≈ 290 voxels, respectively).

The significant correlation between the bolus duration from BoTuS and $TI_{1,max}$ indicates that our prescan has the potential for optimizing PASL acquisitions. However, the BoTuS results are not immediately comparable to the multi-TI₁ data. $TI_{1,max}$ is derived from the amount of tagged spins leaving the label region, whereas the BoTuS method samples the bolus shape downstream of the circle of Willis, increasing dispersion. At lower bolus durations or strong dispersion, tagged spins are diluted even at the center of the bolus. Measuring width of the bolus at half of this reduced peak amplitude leads to an overestimation at very low bolus widths. Furthermore, $TI_{1,max}$ includes a safety margin (10%) where the BoTuS measurements did not. Finally, the dispersion model may not capture all dilution processes perfectly. A calibration is therefore necessary. The limited multi-TI₁ data available in this study lead us to an empirical calibration including a scale factor and an offset to account for the differences detailed above: $TI_{1,sequence} = 1.6 \times TI_{1,BoTuS,MCA} - 300$ ms (Fig. 4b). More precise calibration in a larger population would be desirable.

The $TI_{1,max}$ in the MCA territory with a 200-mm label region varies between 717 and 1226 ms. With the choice of a fixed TI₁ of 700 ms, perfusion would be quantified accurately for all our subjects. Conversely, with $TI_2 = 1800$ ms, the optimized TI₁ would lead to an average gain of 15% in ASL signal, with respect to the fixed TI₁ of 700 ms.

The short duration of the BoTuS prescan allows calibration during a single HC period. An increase of 11 mmHg in EtCO₂ reduced the mean bolus width of our subjects to 500 ± 180 ms. This is shorter than typical

PASL parameters used in HC experiments and demonstrates the need of specific parameters for hypercapnic vasoreactivity challenges.

The ASL literature is sparse in data concerning the optimal choice of TI₁ as a function of label width, position, and subject population. From the limited data presented here, it is obvious that intersubject heterogeneity in label duration is large. The BoTuS method presented has the potential to significantly simplify the optimization of this parameter at a per-subject or group level, and thus to adapt protocols to variations in slice positioning and subject physiology and morphology.

REFERENCES

1. Detre JA, Leigh JS, Williams DS, Koretsky AP. Perfusion imaging. *Magn Reson Med* 1992;23:37–45.
2. Buxton RB, Frank LR, Wong EC, Siewert B, Warach S, Edelman RR. A general kinetic model for quantitative perfusion imaging with arterial spin labeling. *Magn Reson Med* 1998;40:383–396.
3. Wong EC, Buxton RB, Frank LR. Quantitative imaging of perfusion using a single subtraction (QUIPSS and QUIPSS II). *Magn Reson Med* 1998;39:702–708.
4. Luh WM, Wong EC, Bandettini PA, Hyde JS. QUIPSS II with thin-slice TI₁ periodic saturation: a method for improving accuracy of quantitative perfusion imaging using pulsed arterial spin labeling. *Magn Reson Med* 1999;41:1246–1254.
5. Buxton RB. Quantifying CBF with arterial spin labeling. *J Magn Reson Imaging* 2005;22:723–726.
6. Petersen ET, Lim T, Golay X. Model-free arterial spin labeling quantification approach for perfusion MRI. *Magn Reson Med* 2006;55: 219–232.
7. Kelly ME, Blau CW, Kerskens CM. Bolus-tracking arterial spin labeling: theoretical and experimental results. *Phys Med Biol* 2009;54: 1235–1251.
8. Bolar DS, Benner T, Mandeville JB, Sorensen AG, Hoge RD. Accuracy of pulsed arterial spin labeling in the brain: tag width and timing effects. In: *Proceedings of the 12th Annual Meeting of ISMRM*, Kyoto, Japan; 2004. p. 716.
9. Villien M, Chipon E, Troprès I, Cantin S, Le Bas J-F, Krainik A, Warnking JM. Validation of the per-subject characterization of bolus width using multi-phase pulsed arterial spin labeling. In: *Proceedings of the 28th Annual Meeting of ESMRMB*, Leipzig, Germany; 2011.
10. Chipon E, Krainik A, Troprès I, Le Bas J-F, Segebarth C, Warnking JM. Per-subject characterization of the bolus shape in pulsed arterial spin labeling. In: *Proceedings of the 25th Annual Meeting of ESMRMB*, Valencia, Spain; 2008.

11. Ozyurt O, Dincer A, Ozturk C. A modified version of Hrbabe–Lewis model to account dispersion of labeled bolus in arterial spin labeling. In: Proceedings of the 18th Annual Meeting of ISMRM, Stockholm, Sweden; 2010. p. 4065.
12. Hrbabe J, Lewis DP. Two analytical solutions for a model of pulsed arterial spin labeling with randomized blood arrival times. *J Magn Reson* 2004;167:49–55.
13. Chappell MA, MacIntosh BJ, Woolrich MW, Jezzard P, Payne SJ. Modelling dispersion in arterial spin labelling with validation from ASL dynamic angiography. In: Proceedings of the 19th Annual Meeting of ISMRM, Montreal, Canada; 2011. p. 298.
14. Ashjazadeh N, Emami S, Petramfar P, Yaghoubi E, Karimi M. Intracranial blood flow velocity in patients with β -thalassemia intermedia using transcranial doppler sonography: a case-control study. *Anemia* 2012;2012:798296.
15. Smith SM. Fast robust automated brain extraction. *Hum Brain Mapp* 2002;17:143–155.
16. Levenberg K. A method for the solution of certain problems in least squares. *Quart Appl Math* 1944;2:164–168.
17. Marquardt D. An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters. *SIAM J Appl Math* 1963;11:431–441.
18. Kazan SM, Chappell MA, Payne SJ. Modelling the effects of cardiac pulsations in arterial spin labelling. *Phys Med Biol* 2010;55:799–816.
19. Lu H, Clingman C, Golay X, van Zijl PCM. Determining the longitudinal relaxation time (T_1) of blood at 3.0 Tesla. *Magn Reson Med* 2004;52:679–682.
20. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986;1:307–310.
21. Battisti-Charbonney A, Fisher J, Duffin J. The cerebrovascular response to carbon dioxide in humans. *J Physiol* 2011;589(Pt 12): 3039–3048.
22. Bowler N, Shamley D, Davies R. The effect of a simulated manipulation position on internal carotid and vertebral artery blood flow in healthy individuals. *Man Ther* 2011;16:87–93.

4.3 Discussion et résultats complémentaires

Cette étude a montré que la séquence BoTuS, d'une durée d'acquisition rapide de 1'18" permet d'optimiser le TI_1 de la séquence d'ASL pulsé pour chaque sujet. Les valeurs de largeurs de bolus mesurées grâce au BoTuS sont répétables avec un coefficient de répétabilité de 75 ms (Bland & Altman, 1986; Martin Bland & Altman, 1986). Avec une largeur de bolus moyenne dans l'artère cérébrale moyenne de 728 ± 113 ms cela représente moins de 10% d'erreur entre deux mesures. Le challenge hypercapnique abaisse la largeur de bolus moyenne sur nos sujets de 728 ± 113 ms à 498 ± 176 ms.

Les largeurs de bolus mesurées avec BoTuS sont significativement corrélées avec les largeurs de bolus mesurées grâce à la méthode multi- TI_1 . Cependant, comme discuté dans le manuscrit, une calibration empirique a due être appliquée aux données BoTuS afin de choisir le TI_1 adéquat. Les différences obtenues entre les deux méthodes peuvent être expliquées de différentes manières. Comme expliqué dans le manuscrit, ces deux techniques, multi- TI_1 et BoTuS, ne mesurent pas tout à fait la même chose. Les données de BoTuS étant acquises en sortie du polygone de Willis elles sont bien plus impactées par les phénomènes de dispersion que les données multi- TI_1 . Afin de modéliser les phénomènes mis en jeu, nous avons mis en place une simulation du signal ASL lors du passage du bolus reposant sur le modèle établi par Ozyurt décrivant la forme du bolus des spins marqués (Ozyurt et al., 2010) :

$$\Delta M(t) = A \cdot \exp\left(\frac{t}{T_{1B}}\right) \cdot \left[\operatorname{erf}\left(\frac{\tau + \delta t - t}{k\sqrt{t}}\right) - \operatorname{erf}\left(\frac{\delta t - t}{k\sqrt{t}}\right) \right] \quad (4.1)$$

où A est un facteur d'amplitude, T_{1B} le T_1 du sang, τ la largeur naturelle du bolus, δt le temps de transit entre la région de marquage et la région d'imagerie et k le facteur de dispersion.

Ce modèle est utilisé pour modéliser les données BoTuS mais aussi les données multi- TI_1 en en prenant l'intégrale, ceci en ajustant le modèle sur nos données grâce à l'algorithme de Levenberg-Marquardt. Nous avons donc simulé ce modèle en prenant des paramètres tirés de nos observations. Le paramètre de dispersion k est différent entre BoTuS ($k=15$) et multi- TI_1 ($k=2$) puisque BoTuS observe une plus grande dispersion du fait du polygone de Willis. On fixe δt à 200 ms, et on part de données déjà corrigées pour la décroissance T_1 .

Les résultats obtenus se trouvent dans la figure 4.1. La courbe rouge correspondrait aux données multi- TI_1 puisqu'elle prend en compte la marge de 10% appliquée aux données. La courbe bleue correspondrait aux données BoTuS et la courbe noire aux données BoTuS avec très peu de dispersion puisque c'est la dérivée du modèle multi- TI_1 . On observe que pour des largeurs de bolus courtes, l'effet de la dispersion est très important, ce qui peut mener à une surestimation pour des petites largeurs. Cette partie de la courbe peut expliquer en partie l'offset à appliquer sur la calibration empirique de nos données. On voit aussi que les données BoTuS (bleu) fournissent des valeurs de largeur de bolus plus faibles que les données multi- TI_1 pour les largeurs de bolus élevées, ceci du fait de la marge de 10%. Par contre, cette simulation n'explique pas totalement le facteur d'échelle empirique de 1,6. Notre groupe de sujets restreint pourrait limiter la précision avec laquelle on peut estimer une règle empirique quant au TI_1 optimal à choisir en fonction de la mesure BoTuS. Il faudrait donc relancer de nouvelles campagnes d'acquisition, au laboratoire ou ailleurs, puisque la séquence BoTuS est facilement transportable vers d'autres IRM.

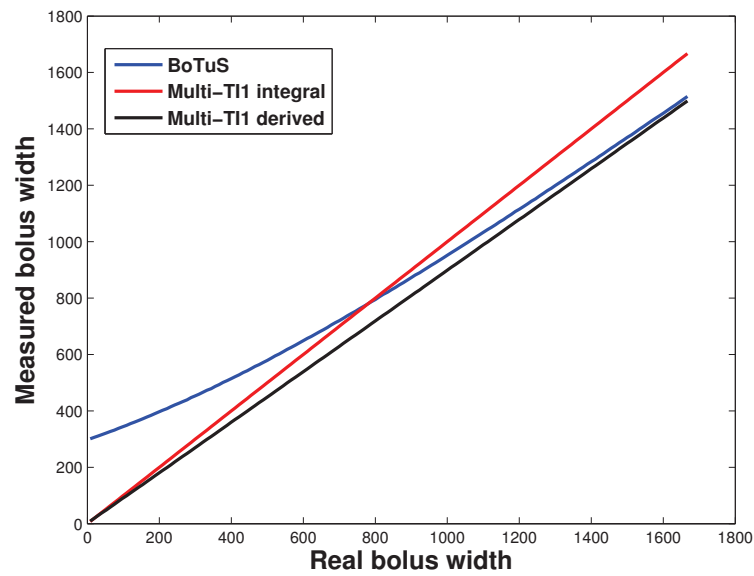


FIGURE 4.1 – Simulation représentant la largeur de bolus que l'on devrait obtenir avec les différentes méthodes d'acquisitions et de traitement en fonction de la largeur réelle. La largeur réelle étant prise comme étant la largeur obtenue avec le multi- TI_1 .

Chapitre 5

Optimisation de la chaîne de traitement des images ASL

L'image du CBF obtenu en ASL découle d'une série de données fonctionnelles. Le traitement de ces séries fonctionnelles commence par ce que l'on appelle un pré-traitement pour préparer les données à la quantification. Ce pré-traitement sera expliqué en détail dans la première section de ce chapitre. Nous expliquerons le réaligement que nous avons optimisé pour l'ASL et les paramètres que nous utilisons dans les traitements d'IRM fonctionnelles classiques (normalisation, segmentation, lissage...). Dans la deuxième section nous expliquerons les méthodes de quantification que nous avons utilisées pour permettre d'extraire de ces séries fonctionnelles une carte de CBF quantitative. Les étapes de post-traitements tels que la correction de volume partiel ou le choix des régions d'intérêts seront explicités dans la troisième section.

Enfin nous présenterons le système de traitement que nous avons codé au cours de ma thèse. Ce logiciel, codé sous Matlab et appelé « GinFmriBatch », permet d'automatiser nos traitements de données sur des cohortes de sujets et de suivre le parcours de nos données afin d'en avoir une bonne traçabilité.

5.1 Pré-traitement

Acquisition et enregistrement des données et méta-données

Les images IRM sont acquises sur un IRM Philips 1,5 T ou 3 T. Les données sont enregistrées directement sur la console, en format DICOM, pour archivage. En cas de problèmes, ces données peuvent être remontées sur la console. Les données sont aussi exportées sur nos stations de travail grâce au format PAR/REC ainsi que la carte d'examen (examcard) qui contient la liste des séquences acquises et tous leurs paramètres d'acquisition.

Conversion des données

Le format PAR/REC est un format constructeur propre à Philips. De ce fait, la première étape des pré-traitements consiste à convertir les données PAR/REC dans un format plus générique, le format nifti (Neuroimaging Informatics Technology Initiative, <http://nifti.nimh.nih.gov/>). Il est le résultat du travail d'un groupe de chercheurs et développeurs cherchant à établir un standard permettant un échange de données facilité dans la communauté de neuroimagerie. De ce fait, il s'est largement répandu. C'est le format

qu'utilisent désormais les logiciels les plus utilisés dans le domaine de la neuroimagerie, tel que SPM¹ (Statistical Parametric Mapping) et FSL². Pour réaliser la conversion, nous utilisons un code développé au laboratoire sur la base d'un logiciel distribué librement appelé « r2agui »³. Cependant, l'inconvénient majeur du format nifti est qu'il correspond à un format d'image uniquement, ne contenant qu'un nombre très limité de paramètres tels que la résolution, les matrices de rotation/translation définissant la position des données dans l'espace, et non les paramètres d'acquisitions, tels que temps d'inversion, délais entre coupes. Ces derniers sont indispensables lors du post-traitement des images et notamment lors de la quantification du CBF. La mise en place d'un batch de traitement a notamment permis d'exploiter les méta-données d'acquisition contenues dans les fichiers PAR et dans la carte d'examen enregistrée lors de l'expérience. Cette dernière est préalablement convertie au format XML donc lisible par Matlab, grâce à une librairie distribuée librement : libexamcard⁴.

Correction de la relaxation T_1

Les images ASL (pulsé ou pseudo-continu) sont acquises grâce à une séquence EPI single shot avec des coupes ascendantes du bas du crâne vers le haut. Cette façon d'acquérir les coupes suit la progression du bolus de spins marqués du bas vers le haut et permet d'optimiser le délai d'acquisition de chaque coupe. De ce fait, la décroissance T_1 des spins atteignant les coupes hautes est plus importante que celle des coupes plus bas. Afin de quantifier correctement le CBF, il faut compenser cette relaxation. Cette étape du traitement doit être réalisée au début du pré-traitement, avant toute interpolation spatiale qui mélangerait les signaux de coupes adjacentes. Le facteur de correction appliqué à chacune des coupes d'imagerie n est calculé à partir de la première coupe :

$$f_{corr,n} = \exp\left(-\frac{t_1 - t_n}{T_{1b}}\right) \quad (5.1)$$

avec :

- T_{1b} : le temps de relaxation longitudinal du sang artériel,
- t_1 : délai entre l'impulsion de marquage et l'acquisition de la première coupe,
- t_n : délai entre l'impulsion de marquage et l'acquisition de la coupe n .

On part ici du principe que la relaxation T_1 a lieu dans le compartiment du sang artériel, donc avec la constante T_{1b} pour laquelle on choisit une valeur de 1700 ms pour des expériences réalisées à 3 T (Lu et al., 2004; Stanisiz et al., 2005).

Optimisation du réalignement des données ASL

Les protocoles d'acquisition sont en général assez longs, entre 45 minutes et 1 heure 15. Les mouvements des sujets sont donc inévitables, que se soit involontairement (affaissement de la tête dans le coussin de l'antenne) ou bien par ennui. De plus, les patients inclus dans ces protocoles sont parfois lourdement atteints, comme cela peut être le cas dans des AVC importants. Dans ce cas les mouvements sont importants puisque involontaires et inconscients. Nous avons donc mis en place un traitement approprié des données ASL afin de réaligner nos données très sensibles à ces artefacts. En effet, l'ASL reposant sur le

1. Statistical Parametric Mapping, <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>
 2. FMRIB Software Library, <http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/>
 3. <http://r2agui.sourceforge.net/>
 4. <https://irc.cchmc.org/software/libexamcard.php>

principe d'une soustraction entre état marqué et état contrôle, et le signal de différence entre ces images étant très faible par rapport aux signaux bruts avant soustraction, les mouvements créent très vite des artefacts importants. Des méthodes de réaligement sont facilement disponibles, sur la plateforme SPM notamment. Cependant, ces méthodes sont basées sur le principe de minimiser les différences entre images. En ASL, il y a une différence systématique en intensité entre images de contrôle et images de marquage. Cette différence, couplée à un gradient d'intensité du signal statique, peut induire des erreurs systématiques dans l'estimation des paramètres de réaligement. Pour pallier à ce problème nous proposons deux solutions : le réaligement séparé des images de contrôle et de marquage et une détection automatique des outliers (images avec des grands mouvements).

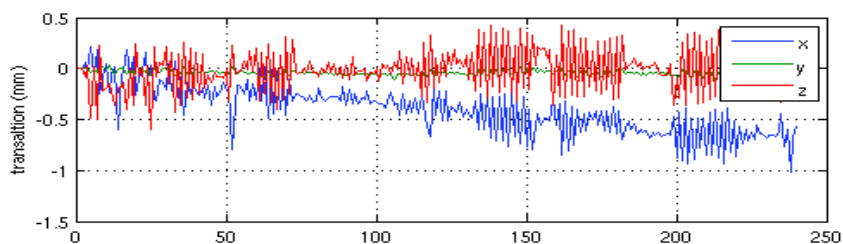


FIGURE 5.1 – Paramètres de réaligement en translation calculés par SPM sur une série ASL. Le logiciel interprète les variations de signal dues au contrôle/marquage comme un mouvement.

Le logiciel SPM est utilisé dans ces routines. Il propose une routine de réaligement des images basée sur la minimisation de la différence d'intensité entre les images. L'estimation des six paramètres de transformation rigide (trois en rotation, trois en translation) se fait en deux étapes. Tout d'abord par rapport à la première image de la série, puis ensuite par rapport à la moyenne des images recalées dans la première étape. Les paramètres de réaligements calculés par SPM peuvent avoir un aspect « en dent de scie », du fait de l'alternance contrôle/marquage (figure 5.1). Pour pallier à ce problème on estime tout d'abord les paramètres de réaligement pour la série ASL totale puis on applique ces paramètres de réaligement SPM séparément pour nos images de contrôle et de marquage. Pour déterminer la position relative entre images de contrôle et images de marquage sans réaligement direct entre elles, on fait l'hypothèse qu'il n'y a pas de décalage systématique entre les deux en moyenne sur la série fonctionnelle, en excluant les volumes individuels à mouvement fort. Ainsi, pour chacun des six paramètres de mouvement de calculés par SPM, la moitié de la différence moyenne entre images de contrôle et de marquage est calculée, puis déduite des paramètres « contrôle » et ajoutée aux paramètres « marquage ».

La seconde étape de ce réaligement maison consiste à enlever les images avec de trop gros mouvements. Ainsi on calcule la dérivée seconde pour chacun des paramètres de mouvements, afin de détecter les images avec un fort mouvement. On applique ensuite un seuil à la norme des dérivés secondes, 1 mm dans une des directions de translation ou bien 1° dans une des rotations. Les images ainsi détectées sont enlevées lors de l'analyse GLM, comme montré sur la figure 5.2 (étape de post-traitement, section 5.3).

Recalage entre images de perfusion et images anatomiques

Cette étape du pré-traitement, appelée « Coregister » va souvent dépendre de l'étude. En effet, dans une étude comme le protocole NEOTUM (chapitre 6) cette étape va consis-

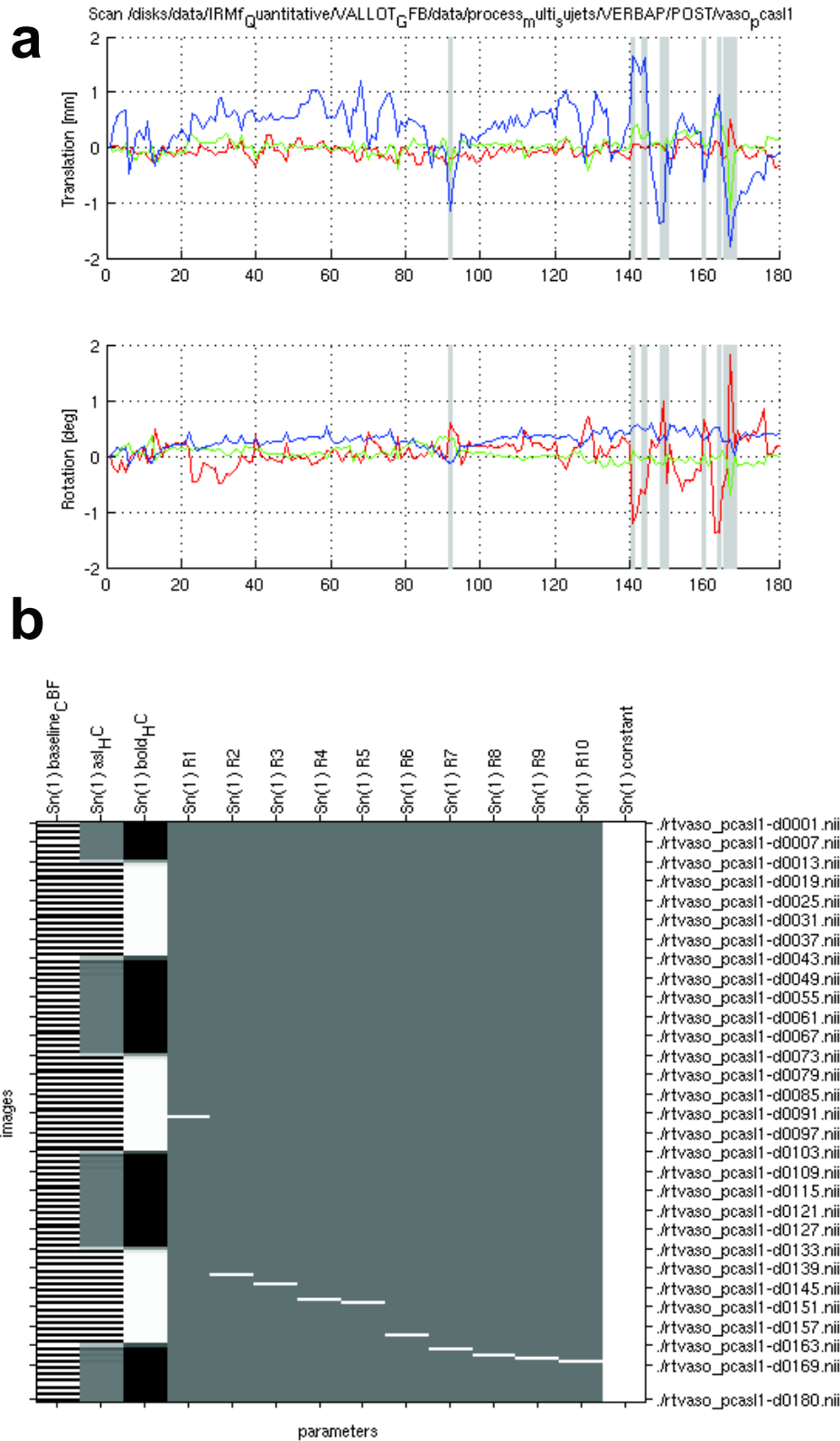


FIGURE 5.2 – a) Paramètres de réaligement estimés sur une série ASL de 12 minutes pour un sujet agité. b) Matrice de design créée par SPM lors de l'analyse statistique du modèle linéaire général (section 5.2.1). Les trois premières colonnes de cette matrice correspondent aux régresseurs classiques utilisés en vasoréactivité, les autres régresseurs définissent les images qui sont à exclure de l'analyse statistique. Ces images correspondent aux zones grisées en a).

ter à ramener toutes les cartes de CBF des différentes techniques (ASL, DSC) mais aussi de différentes modalités (IRM, TDM) dans un repère commun. En général, la séquence ASL est la seule séquence fonctionnelle utilisée dans nos protocoles, cette étape de recalage sert donc à corriger des mouvements éventuels survenus entre le moment de l'acquisition de l'image morphologique et des images fonctionnelles et à mettre les images dans le même espace afin de dessiner des régions d'intérêts sur l'image morphologique pondérée en T_1 ou bien sur l'image FLAIR et reporter ces régions d'intérêts sur les cartes ASL.

Normalisation spatiale des images anatomiques et application des paramètres de normalisation aux données fonctionnelles

La normalisation des données vers un template de référence sert à faire des comparaisons entre sujets et entre groupes de sujets. Le template utilisé dans SPM a été créé au MNI (Montreal Neurological Institute) (Evans et al., 1992, 1993; Collins et al., 1994). Il a été calculé grâce à la moyenne de 152 cerveaux manuellement alignés avec l'atlas de Talairach et Tournoux. Les images sont normalisées soit au moment du pré-traitement, soit à la fin du post-traitement. Dans ce dernier cas, seules les cartes issues de l'analyse statistique telle que la carte de CBF sont recalées, sur le template de référence, et non pas toutes les images originales.

Cette étape de normalisation fonctionne bien sur des sujets sains puisque le programme SPM n'a pas de difficulté à trouver des paramètres de transformations pouvant superposer des cerveaux sains sur une moyenne de cerveaux sains. La normalisation des données sur un template de référence devient plus compliquée lorsque les cerveaux sont lésés, comme dans le cas des tumeurs cérébrales opérées par exemple. Dans ce genre d'application la normalisation n'est souvent pas utilisée.

Segmentation de la matière grise, blanche et du LCR à partir des images anatomiques

La segmentation des images anatomiques pondérées en T_1 permet d'obtenir des cartes de probabilité de matière grise, blanche et de LCR. Nous utilisons la fonction « Segment » de SPM8 (Ashburner & Friston, 2005). Ces cartes de probabilité permettent à la fois de créer des régions d'intérêt et de corriger les images de CBF des effets de volume partiel (5.3). Afin de créer des masques binaires à partir de ces cartes, nous appliquons un seuil. Le seuil communément utilisé est entre 80 et 90% (Yezhuvath et al., 2009; Conklin et al., 2010). Ceci veut dire que le masque préservera uniquement les voxels ayant plus de 90% de chance d'être des voxels de matière grise. La segmentation utilise également le template du MNI avec une résolution de $2*2*2$ mm. Les cartes de probabilité obtenues sont soit représentées dans l'espace normalisé avec cette même résolution, soit représentées dans l'espace natif des images T_1 . Dans ce dernier cas, ils sont ensuite rééchantillonnés à la résolution, plus faible, des images fonctionnelles.

Lissage spatial des données fonctionnelles

La nécessité du lissage des données fonctionnelles est un débat ouvert (Turner et al., 1998; Friston et al., 2000; Op de Beeck, 2010). En théorie, l'utilisation du modèle linéaire général prend pour hypothèse que les données peuvent être modélisés par un champ aléatoire gaussien. Cette hypothèse est valable après un lissage spatial des données. Le lissage spatial des données permet aussi de diminuer le bruit dans nos données (Raemaekers

et al., 2012). La règle empirique utilisée dans la communauté de chercheurs en IRM fonctionnelle prévoit d'utiliser un facteur de lissage (FWHM⁵) deux fois supérieur à la taille réelle d'acquisition de nos voxels. Mais cette loi est empirique, et il est parfois préconisé de ne pas lisser les données de sorte à ne pas empirer les effets de volume partiel (Weibull et al., 2008). Un lissage semble peu pertinent, si l'analyse par la suite se fait par région d'intérêt et non pas voxel par voxel. En effet, l'opération de moyenner les valeurs d'une carte sur une région d'intérêt s'apparente à un lissage. Tout lissage spatial uniforme préalable risque d'avoir pour seul effet d'introduire un signal de non-intérêt dans les voxels de la ROI.

5.2 Quantification des cartes de perfusion

5.2.1 Analyse statistique

Une fois les images ASL réalignées, recalées entre elles et parfois normalisées et lissées nous en venons au calcul des cartes de perfusion (CBF) et des cartes de vasoréactivité lorsque nous sommes dans le cadre d'une étude fonctionnelle. L'analyse classique des données ASL consiste à soustraire les images de contrôles et de marquage, soit directement ($im_2 - im_1; im_4 - im_3; im_6 - im_5...$) si l'on commence par le marquage soit de façon entrelacée ($(im_1+im_3)/2 - im_2; im_3 - (im_2+im_4)/2; (im_3+im_5)/2 - im_4; im_5 - (im_4+im_6)/2...$).

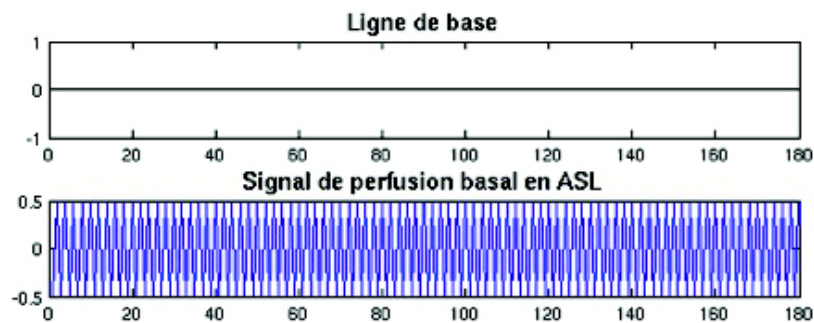


FIGURE 5.3 – Régresseurs utilisés pour le traitement des images de perfusion basale en ASL

Il a été démontré qu'une analyse statistique représentant les effets du marquage ASL par un modèle linéaire peut améliorer sensiblement le rapport signal à bruit des cartes d'ASL fonctionnelles obtenue (Mumford et al., 2006; Hernandez-Garcia et al., 2010). Nous utilisons donc cette technique pour traiter nos données.

L'analyse statistique utilisée dans SPM fonctionne grâce au GLM (General Linear Model). Le signal de chaque voxel $y(t)$ est modélisé comme la combinaison linéaire des composantes $x_i(t)$, appelées les régresseurs et contribuant avec des poids respectifs β_i , et d'une erreur résiduelle $\epsilon(t)$:

$$y(t) = \sum_{i=1}^m \beta_i x_i(t) + \epsilon(t) \quad (5.2)$$

L'analyse statistique par GLM cherche donc à trouver les coefficients de régression linéaire β_i pour chacun des régresseurs $x_i(t)$ fournis. La matrice représentant les régresseurs $x_i(t)$ s'appelle la matrice de dessin, ou *design matrix*, dont les colonnes représentent

5. FWHM : Full Width at Half Maximum, largeur à mi-hauteur du noyau de lissage gaussien

les régresseurs (i) et les lignes représentent les volumes d'imagerie (différentes images de notre série ASL par exemple) (figure 5.2b). Ce calcul étant mené pour chacun des voxels, l'analyse fournit donc une carte β tridimensionnelle propre à chacun des régresseurs et pour chaque série d'acquisition. Cette carte β représente alors l'amplitude de la corrélation entre le signal de chaque voxel dans le temps et le régresseur mis en entrée.

Dans le cas de l'ASL, le régresseur utilisé pour modéliser l'alternance contrôle/marquage simule la soustraction entre ces deux états, ce régresseur est donc construit sur la base d'une alternance 0,5/-0,5 (figure 5.3).

La carte β obtenue à partir du régresseur 0,5/-0,5 permet de faire la quantification du CBF. Elle remplace les cartes de soustraction communément utilisées lors de l'analyse en ASL. Cette manière de traiter les données peut permettre de faire de l'ASL fonctionnel, en utilisant des paradigmes visuels ou cognitifs par exemple. Dans ce cas, on ne cherchera pas à quantifier les modifications de signal comme c'est le cas pour la vasoréactivité mais à trouver des zones d'activations significativement corrélées au modèle (régresseur). La carte que nous regardons alors n'est pas la carte β mais la carte T construite à partir du test de Student. Dans cette carte T , on cherche à trouver les voxels ayant significativement répondu lors du stimulus, c'est donc une carte de significativité statique. Le seuil à appliquer à cette carte est fonction du nombre d'images dans la série, des effets de comparaisons multiples et du nombre de degrés de liberté. Une fois ce seuil calculé, on l'applique à notre carte T . Tous les voxels dont la significativité est supérieure à ce seuil comportent des signaux temporels significativement corrélés au modèle, et donc au stimulus.

5.2.2 Choix du modèle de quantification et des constantes à appliquer

Comme expliqué dans le paragraphe précédent, la carte β est utilisée pour effectuer la quantification du signal ASL. Cette quantification est différente selon que l'on utilise une séquence par marquage pulsé ou pseudo-continu. Les modèles propres à ces deux types de séquence ont été présentés dans la partie introduction (section 2.4.4). Nous revenons sur ces modèles pour présenter les choix qui ont été fait quant aux différents paramètres de ces modèles afin d'arriver à une quantification absolue du CBF.

En ASL pulsé :

$$\Delta M(t) = \begin{cases} 0 & 0 < t < \Delta t \\ 2M_{0b}f(t - \Delta t) \alpha \exp\left(-\frac{t}{T_{1b}}\right) q_p(t) & \Delta t < t < \Delta t + \tau \\ 2M_{0b}f\tau \alpha \exp\left(-\frac{t}{T_{1b}}\right) q_p(t) & \Delta t + \tau < t \end{cases} \quad (5.3)$$

Dans cette expression $q_p(t)$ est estimé à 1. On voit alors que si le temps d'inversion TI_2 , délai entre marquage et l'acquisition, est assez long ($t > \Delta t + \tau$) alors le signal en ASL pulsé ne dépend plus que du temps de relaxation du sang T_{1b} (fixé à 1700 ms (Lu et al., 2004; Stanisz et al., 2005), de l'efficacité de marquage α fixée à 0,95, de la largeur du bolus des spins marqués τ égale à TI_1 si celui-ci est choisi correctement (chapitre 4) et du paramètre M_{0b} . La quantification du paramètre f (CBF) en ASL pulsé est donc assez aisée et ne nécessite que l'acquisition supplémentaire d'une carte M_0 afin de quantifier la valeur du paramètre M_{0b} .

En ASL continu/pseudo-continu :

$$\Delta M(t) = \begin{cases} 0 & 0 < t < \Delta t \\ 2M_{0b}fT_1'\alpha \exp\left(-\frac{\Delta t}{T_{1b}}\right) q_{ss}(t) & \Delta t < t < \Delta t + \tau \\ 2M_{0b}fT_1'\alpha \exp\left(-\frac{\Delta t}{T_{1b}}\right) \exp\left(-\frac{t-\tau-\Delta t}{T_1}\right) q_{ss}(t) & \Delta t + \tau < t \end{cases} \quad (5.4)$$

Pour ce qui est de la quantification en ASL continu ou pseudo-continu les paramètres sont similaires à ceux de l'ASL pulsé. Nous appliquons aussi la correction de relaxation T_{1b} . L'efficacité de marquage α est fixée à 0,8 (Aslan et al., 2010). Nous utilisons une carte M_{0b} acquise de la même façon, avec un TR long. La différence avec l'ASL pulsé se trouve au niveau du paramètre T_1' , le T_1 apparent. Pour avoir accès à ce paramètre il faut acquérir une carte T_1 , ce qui peut vite être gourmand en temps d'acquisition selon la méthode utilisée. Nous avons fait le choix d'acquérir une carte T_1 à basse résolution (celle des images ASL, 3*3*6 mm) en moins d'une minute. Cette séquence proposée dans la boîte à outils Philips possède des artéfacts de repliement mais permet d'extrapoler des valeurs de T_1 apparent dans la matière grise. Nous ne corrigeons donc pas les cartes de CBF par le T_1 apparent voxel par voxel mais grâce à la moyenne du T_1 apparent dans la matière grise.

5.3 Post-traitement

Correction de volume partiel

Les effets de volume partiel peuvent être importants lorsque la taille des voxels d'acquisition est plus large que celle du ruban cortical. L'ASL est sensible à ces effets de volume partiel parce qu'elle combine une taille de voxels souvent assez importante (4*4*5 mm dans le cas de notre séquence d'ASL pulsé) mais aussi parce que le signal ASL est dépendant du tissu dans lequel il se situe (Asllani et al., 2008a). Le signal ASL est plus important dans la matière grise que dans la matière blanche car la matière grise est plus vascularisée et les temps de transits sont plus longs dans la matière blanche. Les effets de volume partiel sont exacerbés par une atrophie, comme cela peut être le cas dans la maladie d'Alzheimer. De ce fait, si un voxel possède moins de matière grise chez un patient par rapport à un sujet témoin, le signal ASL y sera moins élevé à CBF égal dans la matière grise. Le signal de ce voxel ne reflètera donc pas une réelle baisse de la perfusion mais un effet de volume partiel. Pour comparer des données entre groupes de sujets, et si la question concerne la mesure du CBF local de la matière grise, il est alors nécessaire de corriger ces effets.

La correction de volume partiel consiste donc à corriger le CBF des voxels ayant peu de matière grise par leur pourcentage de matière grise afin de prendre en compte ces différences entre les voxels. Dans notre cas, on seuille les cartes de matière grise obtenues lors de la segmentation avec un seuil à 30%, pour ne pas être trop restrictif, puis on lisse les masques de matière grise obtenues, afin de disposer de cartes de matière grise à la même résolution que les images fonctionnelles (Cantin et al., 2011b). On divise ensuite les cartes fonctionnelles par cette carte de matière grise lissée. Cet algorithme de correction de volume partiel a été mis au point de façon empirique. Il fait l'hypothèse que le signal analysé est proche de nulle dans la matière blanche. C'est le cas pour l'ASL pulsé à 1.5T. Nous avons utilisé cette méthode dans notre étude sur des patients atteints de la maladie d'Alzheimer (Cantin et al., 2011b) (chapitre 9).

Choix des régions d'intérêt (ROI)

Lors d'études cliniques, il est souvent utile de comparer des groupes de sujets entre eux. Dans ce cas, il est utile de dessiner des régions d'intérêt communes pour tous les sujets. Ces ROI peuvent être de différentes natures selon les hypothèses de travail et les comparaisons à mener. Elles peuvent être liées à la pathologie étudiée, on fera alors le choix de délimiter des régions locales, telle qu'une tumeur. Elles peuvent être diffuses si l'hypothèse faite sur le paramètre à étudier n'est pas localisée. Dans ce cas on peut choisir comme ROI tous les voxels de matière grise du parenchyme cérébral.

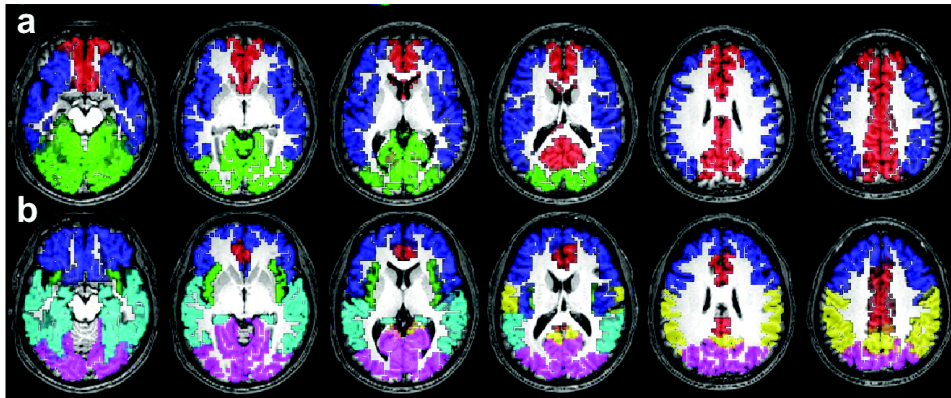


FIGURE 5.4 – a) Régions d'intérêt vasculaires normalisées (MCA en bleu, PCA en vert, ACA en rouge). b) Régions d'intérêts anatomiques normalisées (Insula en vert, ROI frontale en bleu, cingulaire en rouge, pariétale en jaune, occipitale en rose, temporale en turquoise).

Dans le cadre des protocoles sur sujets sains (étude BoTuS (chapitre 4) ou étude Vallot (chapitre 11)) ou sur des patients dont les lésions sont peu ou pas visibles (protocole CEVASAL (chapitre 9), protocole CEVASTOC (chapitre 10)), les ROI sont tracées de façon automatique sur des images normalisées. Les images fonctionnelles de ces protocoles sont en effet normalisées sur un template de référence comme nous l'avons vu précédemment. Nous pouvons ensuite utiliser des ROI normalisées telles que la toolbox AAL le permet (anatomical automatic labeling (Tzourio-Mazoyer et al., 2002)). Cette toolbox nous a permis de créer les ROI anatomiques utilisées dans plusieurs études (figure 5.4). Des ROI couvrant les territoires vasculaires des artères cérébrales moyennes (MCA) droite et gauche et des artères antérieures (ACA) et postérieures (PCA) sont aussi utilisées lorsque nous formulons des hypothèses sur ces territoires (figure 5.4). Ces ROI nous ont été fournies par Senan Doyle, actuellement en post-doc à l'INRIA en collaboration avec Michel Dojat, chercheur dans notre équipe (Kabir et al., 2007).

5.4 Mise en place d'un pipeline de traitements automatisé

Nos études cliniques sont constituées de cohortes de sujets pouvant être composées de plusieurs dizaines d'individus. Les protocoles d'acquisition de ces données sont définis à l'avance, de sorte que chacun des sujets inclus dans une étude donnée subisse les mêmes séquences dans des conditions comparables. Lors du traitement, et notamment du pré-traitement, on vise donc à traiter les données de tous ces sujets de la même manière. Il existe des logiciels permettant de programmer des traitements répétées sur de larges

collections de données, tel que SPM, mais nous n'avons pas trouvé de logiciel qui nous donne entière satisfaction. Les buts visés dans la mise en place du pipeline étaient un gain de temps lors de la spécification des traitements, un gain de temps par l'automatisation des étapes de spécification des fichiers individuels contenant les données à traiter, un élargissement des traitements possibles ainsi qu'une augmentation de la traçabilité du cheminement des données entre les différents modules de traitement⁶.

Afin de mettre au point ce projet, nous avons embauché un stagiaire de l'ENSIMAG lors de son projet de fin d'étude, Pierre-Loup Schaefer, qui a travaillé sur le projet pendant neuf mois à temps plein.

Cette section décrit brièvement le cahier des charges initial de ce logiciel, puis les solutions implémentées, pour finir sur des applications concrètes de ce logiciel sur nos données.

5.4.1 Cahier des charges

Nous avons demandé explicitement à ce que ce programme soit codé sous MATLAB puisque nous avons une bonne expérience de ce langage au laboratoire, ce qui pourra être utile dans le cas où nous voudrions améliorer le logiciel par la suite. De plus, une grande partie des logiciels de traitement d'images IRM sont disponibles sous MATLAB, tel que SPM qui est le logiciel que nous utilisons le plus. Nos routines pré-existantes sont déjà codées dans ce langage.

Nous voulions mettre en place une infrastructure de traitement permettant de sélectionner les données à traiter de façon intuitive tout en restant exhaustive, sans la nécessité d'utiliser une interface graphique. Les données pourront soit être sélectionnées grâce à des expressions régulières, soit être automatiquement détectées dans la hiérarchie physique des données sur le disque dur, soit être automatiquement choisies en prenant la sortie de modules de traitements précédents. Les modules de traitements à enchaîner pourront soit être des modules SPM directement, soit des modules que nous aurons créés nous même. Le logiciel doit permettre de suivre le transit des données et des méta-données créées au cours du traitement par le biais d'un fichier de log. En effet, les données à traiter ne sont pas uniquement constituées d'images, elles sont aussi constituées de fichiers de paramètres tels que les paramètres d'acquisitions, ou de mouvements, et ces fichiers doivent aussi pouvoir transiter dans le pipeline. Ce fichier de log permettra aussi à posteriori d'avoir une documentation des opérations de traitements effectuées.

5.4.2 Logiciel GinFmriBatch (GFB)

Le logiciel créé par Pierre-Loup, puis amélioré et rendu utilisable sur nos données par Jan a été baptisé GinFmriBatch (GFB). Le choix qui a été fait lors de sa création était de s'appuyer sur la structure d'archivage de nos données, ce que l'on appelle la hiérarchie de nos données. En effet, nos dossiers de données ont une hiérarchie fonctionnelle, le dossier parent étant souvent le nom de l'étude sur laquelle nous travaillons, puis des dossiers fils pouvant contenir une hiérarchie telle que : *Sujet > Session > modalité d'imagerie > séquence (ASL, anat, FLAIR, ...)* (figure 5.5). C'est cette façon de ranger nos données qui va être utilisée par le programme pour le traitement de celles-ci.

6. Un module est constitué d'une étape de traitement, tel que le réaligement d'une série fonctionnelle par exemple.

```

1 <batch>
2 <hierarchy>
3 <base>/disks/data/villienm/NEOTUM/</base>
4 <level>projet</level> <!-- donc ici NEOTUM -->
5 <level>branche</level> <!-- branche de donnees : vierges, traitees...(input/output) -->
6 <level> sujet</level>
7 <level>modalite</level> <!-- CT / IRM -->
8 <level>sequence</level> <!-- Anat / Anat_pre / ASL / FLAIR / Mo / Perf1 / Perf2 / T1 / T2 -->
9 </hierarchy>
10
11 <pipeline>
12 <!-- Here all is prepared for the actual data pre-processing -->
13 <branche select='data'>
14 < sujet select='SubjectsToSegment' remove='SubjectsToExclude' group='no'>
15 < modalite select='IRM' group='no'>
16 < sequence select='Anat' group='no'>
17
18 < module name='Segment' id='SegmentAnat'>
19 < param name='Data' input='AnatImage.output' />
20 < param name='Grey Matter' value='Native + Unmodulated Normalised' />
21 < param name='White Matter' value='Native + Unmodulated Normalised' />
22 < param name='Cerebro-Spinal Fluid' value='Native + Unmodulated Normalised' />
23 < param name='Bias Corrected' value='Save Bias Corrected' />
24 < param name='Bias regularisation' value='very light regularisation (0.0001)' />
25 < param name='Masking image' input='cal_mask.output.files' />
26 </module>
27 </sequence>
28 </modalite>
29 </sujet>
30
31 < sujet select='ASL_2phases' group='no'>
32 < modalite select='IRM' group='no'>
33 < sequence select='Anat' group='no'>
34
35 <!-- apply scale factors to ASL, M0 and T1 data for ASL quantification -->
36 < module name='GFB_ASL_correction_scalefactors' id='asl_scalefactor'>
37 < param name='ASL Image Files' input='HIERARCHY' filter='.*-c02.*\.(?i)imgFormat$' />
38 < param name='ASL Parameter File' input='HIERARCHY' filter='.*\.(?i)parFormat$' />
39 < param name='M0 Image Files' input='m0_raw_image_files.output' />
40 < param name='M0 Parameter File' input='m0_par_file.output' />
41 < param name='T1 Blood' value='1700*ms' />
42 < param name='T2* Blood' value='100*ms' />
43 < param name='rho Blood' value='0.8' />
44 < param name='T1 CSF' value='4000*ms' />
45 < param name='T2* CSF' value='100*ms' />
46 < param name='rho CSF' value='1.0' />
47 < param name='rho Brain' value='1.04*gram/milliliter' />
48 < param name='Output Datatype' value='Float32' />
49 < param name='Output Prefix' value='t' />
50 </module>
51 </sequence>
52 </modalite>
53 </sujet>
54 </branche>
55 </pipeline>
56 </batch>
57

```

FIGURE 5.5 – Exemple de Batch au format XML. La première partie (12-19) consiste à définir la hiérarchie des données à traiter. Les lignes 11 à 49 définissent le pipeline des données. Cette définition comporte deux volets, le choix des données à traiter et la paramétrisation des modules de traitement à appliquer à ces données. Le premier module dans cet exemple est un module SPM permettant de segmenter les matières grises/blanche/LCR à partir d'une image morphologique, le second module est un module fait maison permettant de mettre à l'échelle l'intensité des images ASL en vue d'une quantification du CBF.

Le logiciel GFB fonctionne grâce à un fichier texte au format XML, dans lequel nous spécifions nos modules, leur enchaînement, leurs paramètres d'entrée et de sortie. Les modules que nous utilisons peuvent être de deux sortes : soit on utilise directement les modules SPM, soit nos propres modules. La figure 5.5 montre un exemple de batch. La hiérarchie est tout d'abord déclarée, puis on entre dans le pipeline. On choisit les données sur lesquelles on veut travailler en faisant des choix au sein de la hiérarchie puis viennent les modules avec leurs paramètres d'entrée et de sortie. Le batch présenté ici montre un exemple de module SPM (« Segment ») et un exemple de module codé par nous-même mais s'intégrant dans le batch (« GFB_ASL_correction_scalefactors »). Ce fichier XML est ensuite lu par un parser qui va aussi aller lire notre hiérarchie de données sur le disque dur et donner à nos modules leurs entrées et sorties. Le moteur d'exécution de GFB récupère enfin en sortie les modules et leurs paramètres puis les enchaîne et effectue les traitements à proprement parler, soit grâce au moteur d'exécution de SPM appelé `matlabbatch`, soit en lançant directement nos modules.

5.4.3 Applications du logiciel GinFmriBatch (GFB)

Ce logiciel est à présent utilisé pour traiter les données de cohortes de sujets. Pour l'étude NEOTUM le batch total, comprenant les coregister entre les différentes modalités (IRM (DSC, ASL), TDM), et le traitement des ASL basal, est tout de même assez long, aux alentours de 560 lignes. Mais il permet de lancer un même traitement du début à la fin sur tous les sujets d'une même étude. Ceci est plus robuste que les batchs SPM où l'on doit choisir à la main les fichiers à traiter un par un pour chaque module (même s'il existe à présent des dépendances dans SPM8). L'étude Vallot (chapitre 11) et les données présentées dans le chapitre 8 ont aussi été traités entièrement grâce à ce logiciel. Il est donc possible de traiter des données ASL de perfusion basale et de vasoréactivité. Ce logiciel gère notamment l'exploitation des données physiologiques (chapitre 8).

Chapitre 6

Comparaison entre différentes techniques de mesure du CBF : le protocole NEOTUM

Une fois la séquence optimisée et le traitement des données mis en place, nous avons souhaité comparer l'image du CBF obtenue en ASL à d'autres techniques d'imagerie de la perfusion. Il existait alors sur la plateforme un protocole validé par un CPP (Comité de Protection des Personnes¹) pour une étude sur des patients atteints de tumeurs cérébrales traitées (NEOTUM : NEOvascularisation TUMorale). Ce protocole avait pour but de comparer les techniques de TDM de perfusion avec l'IRM de perfusion par injection de gadolinium. Nous avons donc amendé ce CPP pour y ajouter notre technique ASL et ainsi comparer ces trois techniques.

L'imagerie de la perfusion cérébrale joue un rôle essentiel dans le diagnostic et le suivi thérapeutique des pathologies cérébrales et notamment dans le cadre des tumeurs cérébrales (Pathak et al., 2001). Parmi les techniques utilisées en routine clinique dans le cadre du suivi des tumeurs, l'IRM et la tomodensitométrie (TDM ou scanner X) sont toutes deux très importantes. Ces techniques permettent à la fois d'établir un bilan clinique quant à la morphologie de la lésion mais aussi un bilan physiologique grâce au suivi de paramètres tels que la perfusion. L'IRM a un avantage certain au niveau du bilan morphologique, du fait de sa capacité à imager les tissus mous et à fournir différents contrastes. La TDM possède toutefois pour le moment le monopole de la quantification des paramètres de perfusion, même si l'on est capable en IRM d'obtenir des cartes de perfusion qualitatives après injection de gadolinium de bonne qualité. L'ASL pourrait donc permettre d'obtenir en IRM des cartes de débit sanguin cérébral quantitatives et pouvoir ainsi faire en IRM un bilan complet des patients atteints de tumeurs cérébrales. Mais l'ASL reste peu utilisé dans la pratique clinique quotidienne.

L'objectif méthodologique de ce protocole NEOTUM est donc de comparer les valeurs de CBF obtenues grâce à ces trois techniques : perfusion en TDM avec le suivi d'un bolus de produit de contraste iodé (TDMp), perfusion en IRM avec le suivi d'un bolus de gadolinium (DSC : Dynamic Susceptibility Contrast) et perfusion en IRM mesurée en ASL. Le protocole a de plus été mis en place pour étudier la reproductibilité des techniques

1. Le Comité de Protection des Personnes (CPP) est un comité ayant pour rôle de s'assurer que tout projet de recherche biomédicale sur l'être humain mené en France respecte diverses mesures (médicales, éthiques et juridiques) visant à assurer la protection des personnes qui participeront à cette recherche. Tout protocole de recherche mené sur l'homme doit être au préalable soumis au regard d'un CPP.

TDMp et DSC en ajoutant une seconde injection dans chacun des deux protocoles. Cela va aussi nous permettre d'étudier l'effet de la première injection sur la seconde.

Ce chapitre a fait l'objet d'un abstract soumis au workshop perfusion organisé par l'ISMRM en 2012 sous le titre : « Direct CBF comparison between MRI ASL and DSC and perfusion CT-scan in treated tumor patients ». Les auteurs sont : Marjorie Villien, Do Kien NGuyen, Julien Bouvier, Cedric Mendoza, Sylvie Grand, Louise Fanchon, Emmanuel L. Barbier, Irène Troprès, Jean-François Le Bas, Alexandre Krainik, Jan M. Warnking.

6.1 Tumeurs cérébrales et imageries de perfusion

Les tumeurs sont dues à une prolifération anormale d'un certain type de cellule. Si cette tumeur s'est développée directement à partir de l'endroit où elle siège on parle de tumeur primitive, si elle est due à des cellules tumorales ayant migrées depuis une autre zone cancéreuse alors on parle de tumeur secondaire, ou de métastase (Black, 1991). Ces deux types de tumeurs se retrouvent au niveau du cerveau et peuvent être potentiellement invalidantes voir létales pour le sujet. En effet, le crâne restreignant le volume d'occupation du cerveau, si le volume contenu dans la boîte crânienne vient à augmenter cela peut mener à terme à la formation d'un œdème et à une hausse de la pression intracrânienne. Les conséquences peuvent être importantes dans les zones de tissus sains contrôlant les fonctions vitales de l'individu.

Les symptômes pouvant faire penser au diagnostic de tumeurs cérébrales sont multiples, allant de céphalées importantes et de vomissements dues à l'augmentation de la pression intracrânienne, à des problèmes de vision ou d'audition en passant par des problèmes cognitifs ou bien des crises d'épilepsie (Black, 1991). Les traitements disponibles à l'heure actuelle sont la chimiothérapie, la radiothérapie et la chirurgie. Ces traitements peuvent être prescrits de façon séparées ou bien combinées, dans le cas de la chimiothérapie et de la radiothérapie notamment.

Les tumeurs cérébrales primitives sont classées selon le type de cellule dont elles découlent. Les gliomes, tumeurs provenant de la prolifération de cellules gliales, sont le type de tumeur cérébrale le plus répandu. Les cellules nerveuses engendrent rarement des tumeurs. Les gliomes sont classés en quatre grades (Black, 1991) selon leur anatomopathologie. Le glioblastome est le gliome le plus répandu (Wrensch et al., 2002), et surtout le plus agressif. Il nécessite une prise en charge rapide du fait de sa prolifération anarchique. D'autres types de tumeurs existent, tel que le médulloblastome qui est une tumeur de la moelle épinière ou bien le méningiome qui prolifère dans les méninges, autour du cerveau.

Le suivi des lésions tumorales se fait à présent essentiellement grâce à l'IRM. Le choix de cette technique est dû notamment aux différents contrastes pouvant être obtenus et à la bonne résolution spatiale de séquences anatomiques. L'avènement de nouvelles techniques telles que la spectroscopie, l'imagerie de la diffusion ou bien encore l'imagerie de la perfusion cérébrale ont permis d'établir des diagnostics plus précis, voire de pallier à la biopsie dans de rares cas. L'examen IRM permet donc, dans un temps relativement bref, d'établir un diagnostic de plus en plus fiable, d'aider les neuro-chirurgiens et les radio-chirurgiens à délimiter la lésion et de mettre en place un suivi thérapeutique de qualité.

L'imagerie de la perfusion cérébrale est ainsi régulièrement utilisée puisqu'elle permet de mieux caractériser le type mais aussi le grade de la tumeur en présence. L'agressivité des tumeurs cérébrales est étroitement corrélée à leur capacité à se fournir en nutriments. Pour

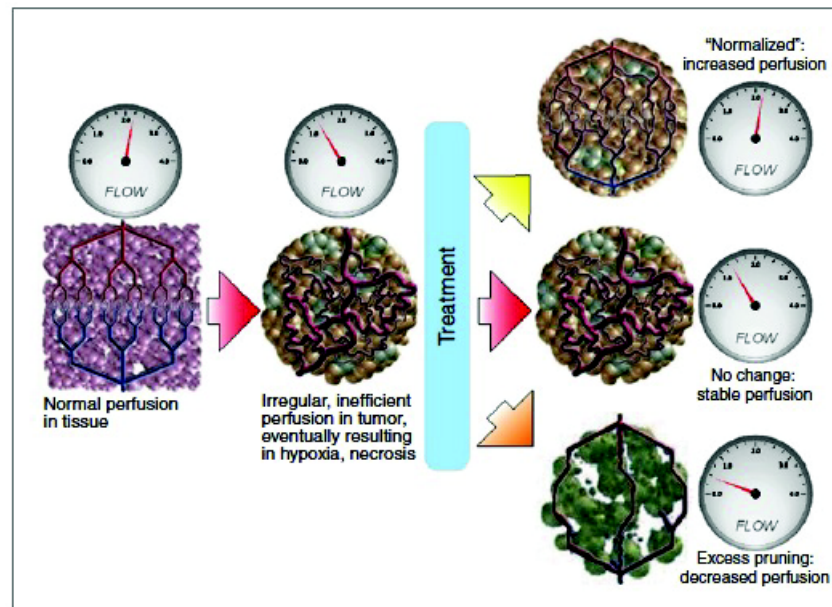


FIGURE 6.1 – Schéma des effets des traitements anti-angiogéniques sur les vaisseaux tumoraux et sur la perfusion. (Sorensen et al., 2011)

ce faire, elles mettent en place de nouveaux vaisseaux sanguins, c'est ce que l'on appelle l'angiogénèse (Jain et al. 2007, figure 6.1). Ce phénomène d'angiogénèse est révélateur des tumeurs de haut grade. Ce phénomène est d'ailleurs la cible de multiples traitements que l'on appelle « anti-angiogéniques » (Jain, 2005). La figure 6.1 compare la vascularisation d'un tissu sain à celle d'un tissu tumoral puis les effets d'un traitement anti-angiogénique. Cette figure montre que l'imagerie de la perfusion pourrait permettre de caractériser la réponse à ce traitement. Après normalisation on voit que la perfusion revient au niveau du tissu sain (Sorensen et al., 2009, 2011). La figure 6.1 montre qu'il est aussi possible que les vaisseaux tumoraux ne répondent pas à la thérapie, dans ce cas la perfusion cérébrale reste au niveau faible de la tumeur avant traitement, voire même diminue sensiblement. Ces vaisseaux, créés rapidement et dans un contexte pathologique, sont perméables. La barrière hémato-encéphalique (BHE) est lésée dans ces tumeurs. De ce fait un produit de contraste injecté s'extravase. On parle de perméabilité au produit de contraste puis de prise de contraste dans la lésion. L'imagerie de la perfusion dans le cadre du diagnostic, du pronostic et du suivi de la réponse au traitement, a donc un intérêt non négligeable.

Cependant, les deux techniques maîtresses en la matière (DSC et TDMp) reposent sur l'injection d'un agent de contraste, le gadolinium en IRM et l'iode en TDM. Ces deux techniques sont donc invasives. Le DSC a de plus l'inconvénient d'être difficilement quantitatif, d'où l'intérêt d'utiliser l'ASL dans le bilan clinique de tumeurs. La technique d'ASL a quant à elle l'inconvénient de ne mesurer que le débit sanguin cérébral, contrairement au DSC et à la TDMp qui permettent d'établir des cartes de CBV, TTP, MTT. Le but de notre étude a donc été de comparer ces différentes techniques dans le contexte de tumeurs cérébrales traitées par chimiothérapie et/ou radiothérapie et/ou chirurgie. La comparaison du résultat de plusieurs méthodes demande de transformer les images vers un référentiel commun, ce qui a été le travail d'un étudiant en Master 2 que nous avons encadré au laboratoire, Do Kien NGuyen. Seules les valeurs de CBF seront comparées ici puisque c'est le seul paramètre disponible dans notre cas en ASL.

6.2 Matériels et Méthodes

6.2.1 Protocoles d'acquisition

Les données ont été acquises sur 18 sujets atteints de tumeurs cérébrales traitées par chimiothérapie, radiothérapie et/ou chirurgie. Les acquisitions d'IRM et de TDM ont été effectuées dans cet ordre dans un délai d'environ une heure. Du fait des injections répétées de gadolinium et d'agent de contraste iodé, les patients ayant une clairance à la créatinine trop basse ont été exclus (Halvorsen, 2008). L'examen IRM comporte deux injections de produit de contraste à base de gadolinium. Cet agent de contraste n'a normalement pas d'incidence sur les images de TDM. Cependant, le délai d'une heure permet au gadolinium de commencer à être excrété par les reins puisque la demi-vie plasmatique de cet agent de contraste est de l'ordre de 1h30 (Le Mignon et al., 1990). Nous avons utilisé deux séquences ASL, selon les sujets une séquence d'ASL pulsé de type Q2TIPS et une séquence par marquage pseudo-continu. La table 6.1 résume les informations sur les patients ayant participé au protocole NEOTUM.

Le protocole d'acquisition IRM était constitué de deux images volumiques anatomiques, une image T_13D (pour le recalage et la segmentation matière grise/blanche) de résolution millimétrique, et une séquence FLAIR (pour le traçage des ROI tumeur et zone lésée, résolution $0.45*0.45*4$ mm) ; ainsi que des séquences de perfusion : deux séquences de DSC espacées de plusieurs minutes (Gd-DOTA : 0.1mmol/kg, EPI single shot, flip angle 75° , résolution spatiale $1,75*1,75*4$ mm, 40 dynamiques, TR/TE 1634 ms/40 ms, durée d'acquisition 71,9 s) et une séquence d'ASL par marquage pulsé ou pseudo-continu (EPI single-shot, Flip angle 90° , résolution spatiale $4*4*5$ mm, 60 dynamiques : 30 contrôles et 30 marquages). Pour la séquence en ASL pulsé, le TI_1 était optimisé grâce au BoTuS (chapitre 4), TI_2 1800 ms, TR/TE 3000 ms/24 ms, durée d'acquisition 186 s. Pour le pCASL, les paramètres étaient : pre-saturation WET, durée de marquage 1650 ms, délai après le marquage 1525 ms. . Pour finir, le protocole comportait les séquences M_0 et T_1 pour la quantification du CBF, de résolution identique aux images ASL.

Le protocole d'acquisition TDM était quant à lui constitué d'une image anatomique avant et après injection de produit de contraste (résolution $0,4*0,4*0,75$ mm) et de deux images de perfusion, donc deux injections d'agent de contraste iodé (40 mL Iobitridol 300, résolution spatiale $0,4*0,4*5$ mm, 30 dynamiques).

Deux acquisitions ont été pratiquées en DSC et en TDMp afin d'en étudier la reproductibilité mais aussi afin de tester les effets de la première injection (pré-charge) sur la seconde.

Les injecteurs des produits de contrastes en IRM et en scanner ont été calibrés de la même manière afin d'avoir un bolus comparable dans les deux techniques (5mL/s).

6.2.2 Protocoles de traitements des images ASL / DSC / TDMp

Les traitements mis en place utilisent soit le logiciel SPM soit le logiciel μ vasc, développé au laboratoire. Ces logiciels comportent des outils de recalage d'images, de visualisation, de définition de régions d'intérêt (ROI). L'essentiel des étapes de traitement consiste à :

- Étape 1 : Obtenir des cartes de perfusion natives pour chaque technique (ASL, DSC, TDMp)
- Étape 2 : Recaler les images vers un référentiel commun à l'aide des images morphologiques obtenues en IRM et TDM

Patient	Âge	Opéré	DSC	TDMp	ASL	clairance à la créatinine (ml/min)	Pathologie
P001	68	x	x	x	PASL	80	Glioblastome
P002	60	x	x	x	PASL	95	Glioblastome
P003	52	x	x	x	PASL	75	Glioblastome
P004	52	/	x	x	PASL	54	Métastase pulmonaire
P005	77	/	x	x	PASL	55	Méningiome
P006	53	/	x	/	PASL	88	Méningiome
P007	/	x	x	x	pCASL	87	Gliome
P008	74	x	x	x	PASL	76	Glioblastome
P009	48	x	x	/	PASL	26 - trop bas	Méningiome
P010	63	x	x	x	PASL	90	Oligodendrogliome
P011	47	x	x	x	PASL	93	Glioblastome
P012	47	x	x	x	PASL	102	Oligodendrogliome
P013	49	/	x	x	PASL	56	Méningiome
P014	41	/	x	x	PASL	82	Gliome
P015	68	x	x	x	PASL	80	Glioblastome
P016	47	/	x	x	pCASL	84	Médulloblastome
P017	61	/	x	/	pCASL	95	Méningiome
P018	23	/	x	/	PASL	67	Papillome plexus choroïde

TABLE 6.1 – Liste des patients ayant participé au protocole NEOTUM.

- Étape 3 : Définir les métriques de comparaison des cartes de perfusion (définition des ROIs)
- Étape 4 : Extraire les valeurs correspondantes (interpolation/ré-échantillonnage des cartes, moyenne sur les ROI, ...)

Étape 1 : Pré-traitement (obtenir des cartes de perfusion natives pour chaque technique)

IRM DSC Il existe deux principaux types de traitements pour extraire des cartes de CBF / CBV / MTT en DSC, l'une fondée sur l'utilisation d'un ajustement gamma directement sur le signal de premier passage du bolus de gadolinium et l'autre, plus complexe, utilisant la déconvolution de ce signal de premier passage par une fonction d'entrée artérielle (AIF, Arterial Input Function) (ces méthodes ont été présentées dans la section 2.2). Nous avons fait le choix d'utiliser la technique par déconvolution de la fonction d'entrée artérielle puisque cette technique est utilisée en TDM et qu'elle peut fournir des images quantitatives en théorie. Il se pose alors le problème de la détermination de l'AIF à utiliser lors de la déconvolution. À travers le système des artères, sous l'effet de la diffusion et de la dispersion, le bolus est dilué et devient de plus en plus large. L'AIF doit donc être choisie au début de l'arbre vasculaire cérébral. Une fois l'AIF sélectionnée on déconvolue le signal de chaque voxel par cette AIF. Une technique de détection automatique de l'AIF avait été mise en place au laboratoire par Louise Fanchon, stagiaire de M1 que j'avais co-encadrée avec Irène Troprès et Julien Bouvier. Cet algorithme de sélection automatique d'AIF a ensuite été amélioré et implémenté sous μ vasc par Irène Troprès (figure 6.2), il base sa recherche sur trois critères (Osch et al., 2003) :

1. un bon contraste, c'est-à-dire un grand écart entre le maximum et minimum de la concentration d'agent contraste,
2. peu de dilution de l'agent de contraste, c'est-à-dire un petit délai entre le début et la fin du bolus,
3. une prise de contraste rapide.

IRM ASL Dans un premier temps, un traitement simple est effectué sur les images ASL pour produire la carte de CBF. Ce traitement consiste à réaligner les images natives de perfusion, 60 images dont 30 images de marquage et 30 images de contrôle. Ce réalignement sert à éliminer des artéfacts de mouvement lors de l'acquisition (les détails de ce réalignement ont été présentés dans la section 5.1). On obtient ensuite une carte pondérée en CBF en appliquant le modèle général linéaire sur les données grâce à l'utilisation d'un régresseur mimant les soustractions contrôle/marquage. La quantification du CBF en valeurs absolues est obtenue ensuite en appliquant les différents termes correctifs (section 5.2). Ces différentes étapes de traitement ont été présentées en détail dans le chapitre 5 ainsi que le nouvel environnement de traitement de données (GinFmriBatch, section 5.4) (figure 6.3).

TDMp Le traitement des données de perfusion est effectué sur une console de traitement de données de scanner fournie par le constructeur $GE^{\text{®}}$ (figure 6.4). Les cartes paramétriques (CBF, CBV, MTT) sont produites en utilisant le logiciel $CtPerf4^{\text{®}}$ (Lee, 2002). Le traitement est comparable à celui des cartes de DSC et consiste en six étapes :

- Registration : réalignement des images dynamiques

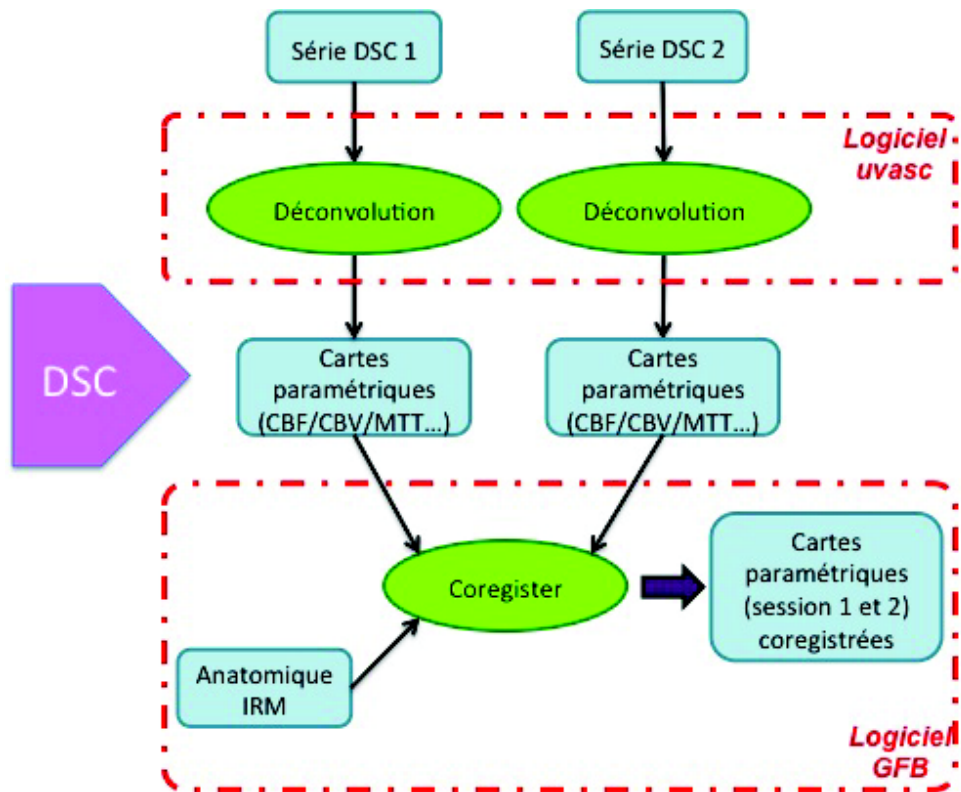


FIGURE 6.2 – Schéma de la chaîne de traitement pour les images DSC.

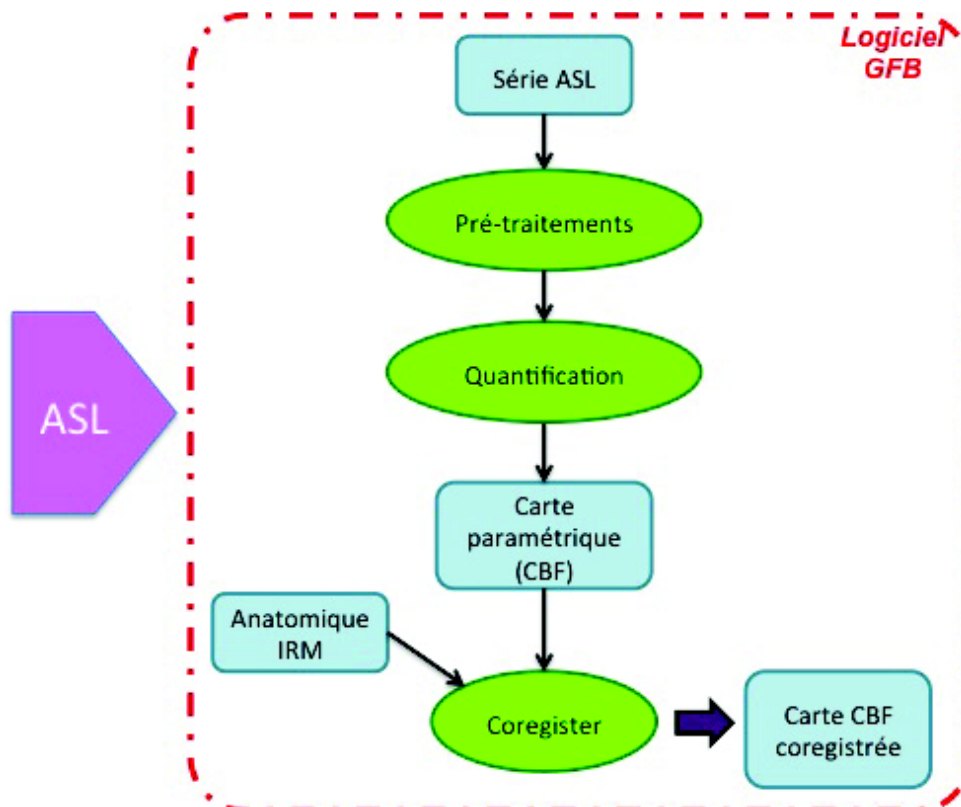


FIGURE 6.3 – Schéma de la chaîne de traitement pour les images ASL.

- Filtrage : délimitation du parenchyme cérébral
- AIF : détermination de la fonction d'entrée artérielle (mode auto disponible)
- VOFiv : détermination de la fonction de sortie veineuse (mode auto disponible)
- Bolus : détermination manuelle du début et de la fin du bolus pour éviter les effets de la re-circulation
- Validation : calcul des cartes après déconvolution par l'AIF et prise en compte de la VOF.

Ce logiciel nous permet d'avoir accès à des cartes paramétriques quantitatives.

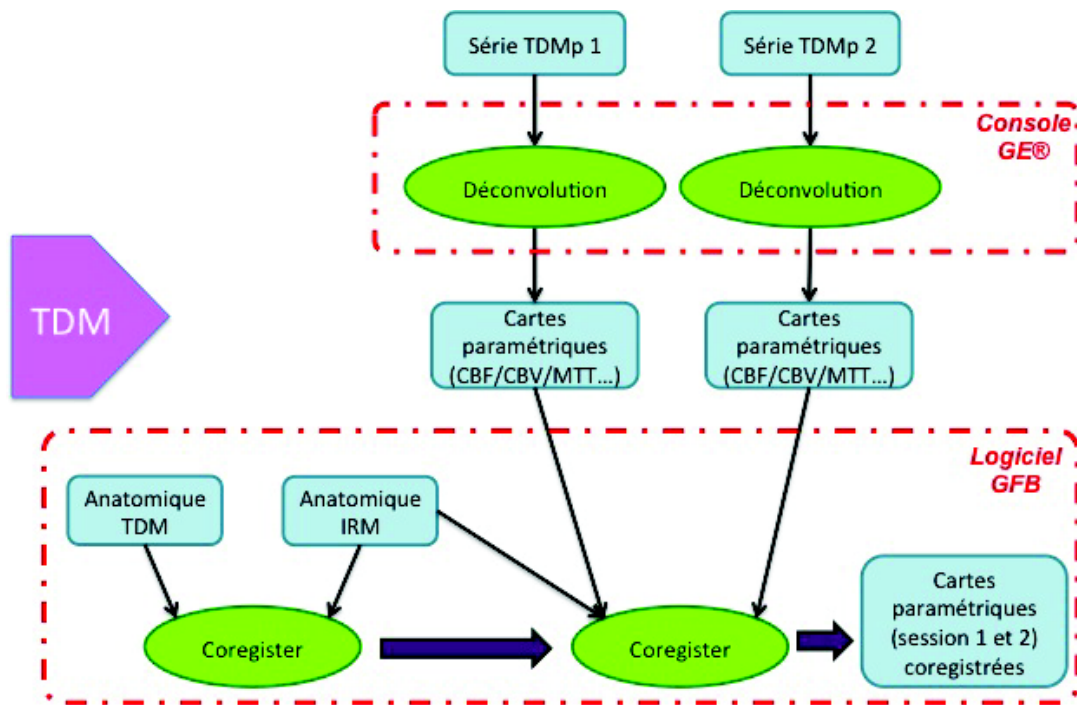


FIGURE 6.4 – Schéma de la chaîne de traitement pour les images de TDM.

Étape 2 : Post-traitement (ramener toutes les images vers un référentiel commun à l'aide des images morphologiques obtenues en IRM et TDM)

L'image anatomique T_13D acquise lors de la session IRM a été choisie comme image de référence puisqu'elle possède le meilleur compromis en terme de résolution spatiale. De résolution millimétrique, elle est à l'intermédiaire du scanner (0,391 mm dans le plan) et du DSC (1,75 mm dans le plan) et nous permet donc de ne pas trop sur-échantillonner nos cartes ASL ce qui ralentirait le traitement, sans gagner en information. Cette carte anatomique couvre de plus tout l'encéphale et possède un contraste important ce qui optimise le recalage (coregister) entre les différentes cartes et modalités mises en jeu. Le logiciel GinFmriBatch a été utilisé pour effectuer cette partie du traitement (section 5.4). On relève ici l'importance d'un tel logiciel lorsque de tels traitements sont à appliquer sur une population de 18 sujets.

Pour aider la construction des ROIs sur la tumeur et le tissu lésé, une image FLAIR (Fluid Attenuated Inversion Recovery) a été acquise. Cette séquence morphologique permet de supprimer le signal d'un fluide dont on connaît le T_1 , ici le LCR, grâce à une

séquence d'inversion récupération. L'imagerie FLAIR est beaucoup utilisée en diagnostic clinique puisqu'elle possède un bon contraste entre le tissu sain et l'œdème grâce à son contraste T_2 . Dans l'étape de post-traitement, cette image FLAIR est réalignée avec l'image anatomique IRM puis reconstruite dans le plan axial. Les cartes paramétriques obtenues en ASL, DSC et TDMp sont recalées vers l'image anatomique sagittale puis mise à l'échelle de l'image anatomique axiale (figure 6.2). Les cartes de TDMp subissent une étape intermédiaire de recalage vers l'image anatomique acquise en TDM (figure 6.4). Ce recalage n'est pas complètement automatique, car les images de TDM et d'IRM ont des références différentes. Le recalage direct de l'un vers l'autre ne converge pas vers la position correcte, en raison du décalage important. Le centre des images de TDM est donc modifié à la main, en prenant des repères anatomiques, afin de situer le centre de l'image TDM au même endroit que le centre de l'image IRM. Le recalage IRM/TDM est ensuite affiné grâce à la fonction « coregister » de SPM.

Les cartes de probabilité de matière grise (GM) et de matière blanche (WM) sont calculées à partir de l'image anatomique native IRM, à l'aide de la fonction « segment » de SPM. Ces cartes de probabilité sont ensuite ré-échantillonnées dans le plan axial et seuillées à 80% pour obtenir des masques GM et WM.

Étape 3 : Définir les métriques de comparaison des cartes de perfusion (définition des ROI)

Afin de comparer ces différentes techniques nous nous intéressons au CBF dans le tissu lésé tumoral ipsi-latéral² (ipsi), ou péri-tumoral quand la tumeur a été enlevée par chirurgie, et au CBF dans l'ensemble de la matière grise non lésée. La région d'intérêt « ipsi » est définie manuellement pour chaque sujet (en bleu sur la figure 6.5). La ROI de matière grise (GM) est obtenue grâce aux masques créés plus tôt auxquels on ôte la région lésée. Nous avons dessiné les ROI tumorales (en rouge sur la figure 6.5), mais les données obtenues dans cette région n'ont pas été calculées. En effet, les patients inclus dans cette étude avaient pour la plupart déjà été traités. De ce fait cette région ne correspondait plus véritablement à du tissu tumoral.

Étape 4 : Extraire des valeurs correspondantes

Les valeurs de CBF des trois méthodes DSC, ASL et TDMp se trouvent dans des échelles différentes puisque les valeurs obtenues, dans cette étude, en DSC, ne sont pas quantitatives. De ce fait, pour comparer les méthodes entre elles, nous avons besoin de normaliser des valeurs par rapport à une valeur de référence. Nous avons choisi la valeur moyenne du CBF de la GM comme référence.

6.3 Résultats préliminaires

Sur les 18 sujets ayant participé à ce protocole, nous ne disposons pas d'examen TDM pour 4 sujets du fait d'une clairance à la créatinine trop basse pour l'un des sujets et du fait de problèmes organisationnels pour les autres. Nous avons dû exclure 3 autres sujets du fait de problèmes techniques en IRM : une mauvaise injection du bolus de gadolinium

2. Le côté ipsi-latéral correspond au même côté du corps que le côté lésé. Contrairement au côté contra-latéral qui correspond au côté opposé à la lésion.

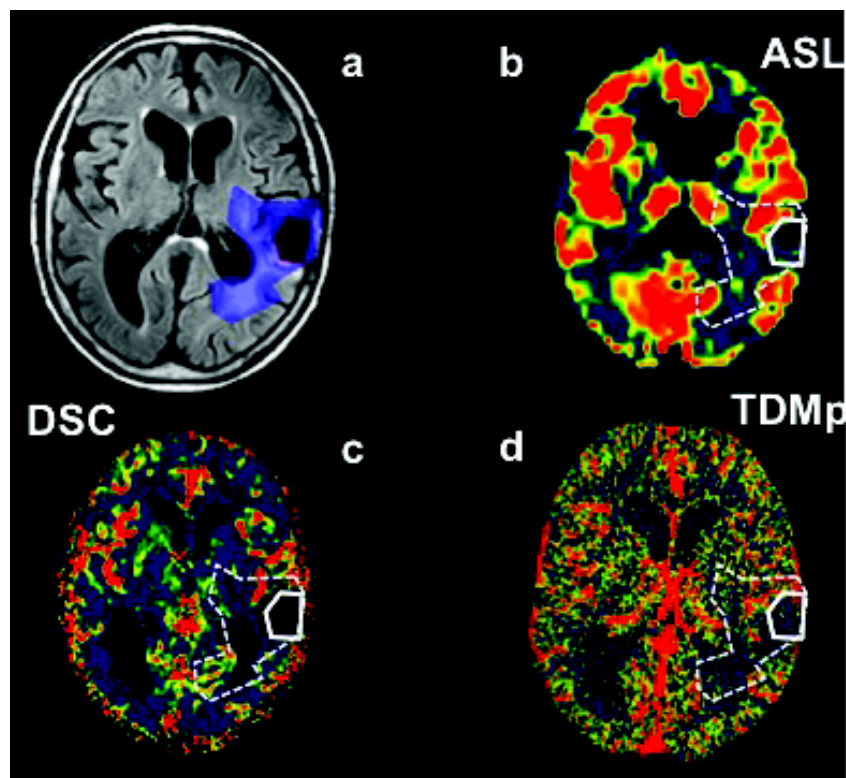
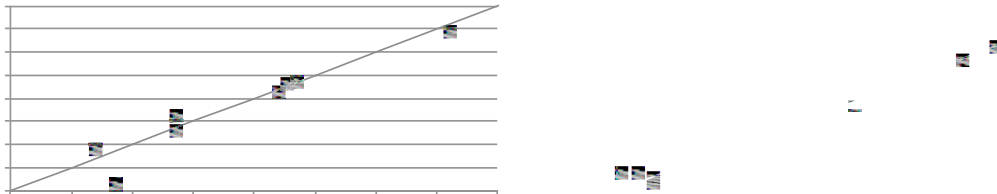


FIGURE 6.5 – Exemple de cartes obtenues chez un patient du protocole NEOTUM. a) Image FLAIR, en rouge la ROI tumeur, en bleu la ROI « ipsi » péri-tumorale, b) Carte ASL avec les ROI tumeur et « ipsi », c) Carte DSC avec les ROI tumeur et « ipsi », d) Carte TDMp avec les ROI tumeur et « ipsi ».

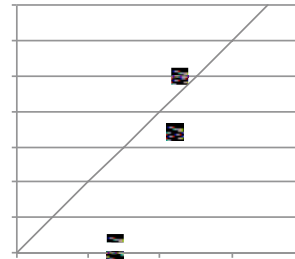
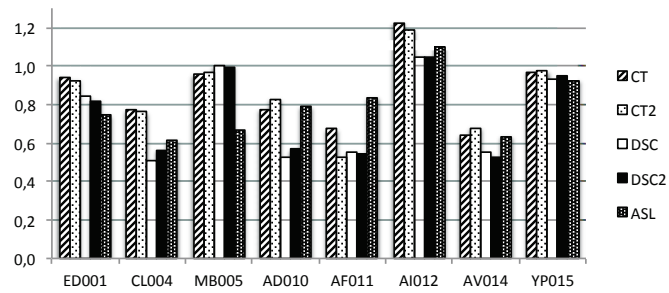
pour le premier, et des artéfacts de susceptibilité importants dans le cas des 2 autres, dus à la présence d'une valve et au trou laissé par la chirurgie. Enfin, 3 sujets ont été exclus du fait de mouvements importants dans l'IRM ne permettant pas de choisir une fonction d'entrée artérielle correcte et induisant des artéfacts de mouvement sur l'ASL. Ceci nous amène donc à considérer 8 sujets pour la suite de notre étude.

Étude de reproductibilité du DSC et de la TDMP

Puisque l'on utilise les techniques de DSC et de TDMP comme référence, nous avons tout d'abord voulu estimer leur reproductibilité. Pour ce faire, nous avons injecté deux fois les produits de contraste à base de gadolinium et d'iode afin de pouvoir faire à chaque fois deux suivis dynamiques pour chaque modalité.



CBF ratio ipsi/GM in 8 subjects for CT, DSC and ASL methods



Ceci ne va pas dans le sens des résultats obtenus dans la littérature (Warmuth et al., 2003; Järnum et al., 2010; Knutsson et al., 2010) qui montrent une bonne corrélation entre ces deux techniques.

La technique de déconvolution du signal de perfusion par la fonction d'entrée artérielle (AIF) a été utilisée pour mesurer le CBF dans les techniques de DSC et de TDMp. Il s'est alors posé le problème de choisir le même voxel pour mesurer l'AIF lors du test de reproductibilité. En effet, les mouvements du patient entre les deux mesures de perfusions sont parfois inévitables. On ne peut donc pas toujours utiliser le même voxel pour définir l'AIF dans la déconvolution pour les deux acquisitions. Ceci peut expliquer en partie les différences entre les deux mesures de DSC et de TDMp. Le fait que la première injection puisse influencer les résultats de la seconde serait à discuter en zone lésée où une rupture de la BHE mène à une extravasation du produit de contraste. Mais en zone saine cet effet est négligeable (Paulson & Schmainda, 2008; Beaumont et al., 2009; Hu et al., 2009; Boxerman et al., 2012). Les variations de l'état physiologique du patient pourraient aussi influencer la mesure de la perfusion, mais nous n'avons pas ici enregistré de données physiologiques pour pouvoir le vérifier. Il aurait aussi été préférable de choisir les mêmes voxels pour la mesure de l'AIF en DSC et en TDMp mais la résolution ainsi que la couverture cérébrale des deux techniques étant différentes, nous avons dû abandonner cette idée.

Les effets de volume partiel, dans le cas des tumeurs assez petites ou bien sur le bord du cortex dans le masque de matière grise, peuvent avoir des effets sur les corrélations inter-méthodes observées. En effet, l'ASL a une résolution à l'acquisition bien moins importante que les autres méthodes. De plus, l'ASL est très peu sensible dans la matière blanche, qui possède des temps de transit plus long (Tourdias et al., 2008). De ce fait, lorsque les ROI choisies recouvrent à la fois de la matière grise et blanche, le signal ASL souffre de ce mélange gris/blanc défavorable (Osch et al., 2009). Ceci peut expliquer une partie des mauvaises corrélations observées avec l'ASL.

La sensibilité au signal intravasculaire est un artéfact commun à ces différentes techniques. La TDMp est intrinsèquement sensible au signal du système vasculaire du fait du produit de contraste iodé totalement intravasculaire (Lee, 2002; Koziak et al., 2008). L'agent de contraste en TDMp affecte seulement le signal intravasculaire mais pas le signal dans les tissus adjacents. En conséquence, les gros vaisseaux sanguins provoquent une surestimation locale du CBF (Kudo et al., 2003). Ceci peut rendre l'identification et la suppression de cet artéfact vasculaire possible en principe. En ASL, bien que l'eau soit une substance fortement diffusible, ce type d'artéfact est lié aux temps de transit artériel (Koziak et al., 2008). Avec une valeur de TI trop courte, le signal ASL est alors encore au niveau artériel mais pas dans le tissu d'intérêt. Afin de s'affranchir de cet artéfact il convient de choisir des temps d'inversion les plus longs possibles, parfois au prix d'une perte de signal, notamment dans le cadre de patients atteints de tumeurs cérébrales (Tourdias et al., 2008). Il a été montré que l'ASL et la TDMp étaient d'autant plus corrélées que le TI était long (Koziak et al., 2008). Avec un TI_2 de 1800 ms dans notre cas il semble que nous soyons dans de bonne condition puisque le TI_2 optimal de cette étude se situait à 1700 ms. Enfin, le signal obtenu en DSC est intrinsèquement sensible aux gros vaisseaux lorsque la séquence d'acquisition est pondérée en T_2^* (séquence Gradient-Echo) (Willats & Calamante, 2012). En effet, les chélates de gadolinium ont un effet sur la susceptibilité magnétique à l'intérieur et autour des vaisseaux. Ces déphasages sont refocalisés dans le cas de séquences spin-écho, cette séquence est pourtant peu utilisée en routine pour acquérir des cartes de perfusion DSC puisque le signal obtenu est plus faible donc plus bruité. Ainsi, alors que l'ASL propose une image du CBF microvasculaire si le temps

de transit choisi est assez long, les techniques par injections de produits de contrastes proposent quant à elles une imagerie de la perfusion dans les macro-vaisseaux.

6.5 Conclusion

Les résultats présentés dans ce chapitre sont des résultats préliminaires. Nous avons pu comparer notre technique d'ASL aux autres techniques présentes en cliniques que sont le DSC et la TDMp. Nous n'avons pas obtenu de corrélation entre l'ASL et le DSC ce qui est un résultat négatif puisque d'autres études ont pu montrer cette corrélation (Warmuth et al., 2003; Järnum et al., 2010; Knutsson et al., 2010). Ce résultat peut être imputable à notre faible nombre de sujets analysés.

Il faudrait aussi aller plus loin dans le traitement de ces données en regardant par exemple les cartes de CBV, MTT et TTP entre les méthodes d'IRM et de TDM. La double injection ainsi que l'inter-modalité sont autant de mines de résultats au niveau méthodologique. Ces analyses sont en cours.

Troisième partie

Méthodologie de l'imagerie de la vasoréactivité cérébrale en ASL

L'objectif d'acquérir des cartes de vasoréactivité en ASL provient de la capacité de cette technique IRM à fournir des informations quantitatives et mono-paramétriques. En effet, mesurer la vasoréactivité par la méthode BOLD seule ne permet pas d'obtenir une carte quantitative, la dépendance de ce signal des paramètres d'acquisition n'étant pas facilement modélisable. Qui plus est, comme présenté lors de la section 3.1, le signal BOLD est multi-paramétrique. De ce fait les variations observées à la suite d'un paradigme de type vasoactif peut refléter différents mécanismes et non pas seulement les modifications de perfusion tissulaire.

Un des objectifs de ma thèse est donc la mesure quantitative de la vasoréactivité en ASL. Suite à l'optimisation de la chaîne d'acquisition et à la mise en place de traitements de données pour la quantification de la perfusion basale, cette seconde partie présente le travail effectué pour acquérir et traiter les données de vasoréactivité en ASL.

Pour cela nous avons ajouté au protocole d'inhalation d'air enrichi en CO_2 développé précédemment par Émilie Chipon la nouvelle technique d'imagerie ASL par marquage pseudo-continu. Cette nouvelle technique nous a été fournie par Matthias Van Osch dans le cadre d'une collaboration. La chaîne d'acquisition des données de vasoréactivité ASL est présentée dans le chapitre 7.

Enfin, nous avons optimisé l'analyse statistique du traitement des images fonctionnelles de vasoréactivité en ASL grâce à la prise en compte des variations physiologiques du sujet. Le chapitre 8 traite à la fois de l'utilisation des variations de pression expirée en CO_2 comme régresseur dans l'analyse statistique, mais aussi de la correction du bruit physiologique en prenant en compte les pulsations cardiaques et mouvements respiratoires.

Chapitre 7

Optimisation de l'acquisition des données en vue de l'utilisation de l'imagerie de la vasoréactivité cérébrale en ASL en clinique

Une fois les paramètres de séquence optimisés pour effectuer des mesures de perfusion basale en ASL nous avons mis en place et optimisé la mesure de la vasoréactivité. Ce chapitre traite du protocole d'acquisition spécifique aux données de vasoréactivité.

7.1 Administration des stimuli vasomoteurs

Le protocole d'administration des stimuli vasoactifs pour mesurer la réserve vasculaire avait déjà été mis en place à mon arrivée. Nous aurions pu utiliser un procédé d'hyperventilation (Krainik et al., 2005), qui peut faire baisser la P_{etCO_2} de 10 mmHg et ainsi provoquer une diminution de perfusion de l'ordre de 25%. Mais ce procédé a ces limites. Le sujet doit être très conciliant et ce paradigme peut occasionner des mouvements dans l'IRM. Le problème est le même pour ce qui est de l'hypercapnie induite par une apnée. Nous avons donc fait le choix d'utiliser un système d'administration de gaz enrichis en CO_2 , dont les effets sont nets et réversibles dans les secondes suivant l'arrêt de l'administration. Ces gaz sont de deux types, le carbogène (93% d'oxygène et 7% de CO_2) et le bactal (20,7% d'oxygène, 8% de CO_2 , le reste d'azote). Le carbogène est un gaz médical facilement utilisable en clinique, le bactal est quant à lui soumis à une réglementation plus stricte. Ces gaz nous sont fournis en bouteille sous pression, nous utilisons donc un manodétendeur pour détendre le gaz à la pression atmosphérique, puis un débitmètre. L'air respiré lors de l'examen provient des prises murales présentes en IRM et est relié à notre débitmètre. Les gaz vasomoteurs et l'air mural sont reliés par des tubes se rejoignant grâce à un Y proche du masque d'inhalation, afin de pouvoir changer rapidement entre les deux stimuli (air / gaz).

Il avait été montré que l'administration par canules nasales d'administration de gaz était bien moins efficace que l'administration par masque haute concentration au niveau de l'augmentation du signal BOLD et du signal de perfusion (Chipon, 2009). Nous avons donc choisi d'utiliser un masque haute concentration pour l'administration de carbogène et de bactal lors de toutes nos acquisitions (figure 7.1).



FIGURE 7.1 – Installation du sujet dans l'IRM pour un examen de vasoréactivité.

7.2 Enregistrement des données physiologiques

L'administration de ces gaz au sujet vise à modifier son état physiologique en ce qui concerne la pression inspirée et expirée en CO_2 . Les fréquences respiratoire et cardiaque peuvent changer également sous stimulus vasomoteur. Il convient d'observer ces fluctuations de l'état physiologique du sujet lors de l'acquisition du protocole afin de vérifier qu'il se porte bien, mais aussi d'enregistrer ces données afin de pouvoir vérifier, à postériori, l'effet du stimulus sur le sujet.

L'acquisition de ces données physiologiques se fait grâce à un appareil dédié, le *Maglife* (*Schiller Medical SAS*, Wissembourg, France), utilisé par les anesthésistes (figure 7.1). Nous pouvons recueillir la pression inspirée et expirée en CO_2 ainsi que la fréquence respiratoire grâce à des canules d'échantillonnage placées dans le nez du patient. Nous obtenons la fréquence cardiaque, ainsi que la saturation en oxygène, grâce à l'oxymètre de pouls placé sur l'ongle du sujet. Nous avons choisi cette option plutôt que l'utilisation de l'ECG (électrocardiogramme) pour le recueil des informations cardiaques, du fait de la facilité d'utilisation de l'oxymètre, notre protocole étant déjà assez lourd au niveau de l'installation des sujets (figure 7.1). Les signaux temporels bruts de capnie et de l'oxymètre de pouls, les paramètres dérivées $PetCO_2$, fréquence cardiaque et fréquence respiratoire, ainsi que les signaux internes du moniteur physiologique comme la détection des phases d'inspiration et d'expiration et des triggers cardiaques sont échantillonnés à une fréquence de 40 Hz et enregistrées grâce au logiciel Magdata (*Schiller Medical*). Ces signaux sont ensuite synchronisés avec les acquisitions IRM par le biais des signaux TTL envoyés par la console d'acquisition lors de chaque dynamique ASL.

L'acquisition automatique de ces données directement sur l'ordinateur proche de la console a été retardée du fait de problèmes techniques lors de la lecture du port RS232 par l'ordinateur. Ces données étaient donc écrites à la main en lisant les données sur le répéteur du *Maglife* pour les données du protocole CEVASAL (chapitre 9).

7.3 Paradigme d'inhalation des gaz vasomoteurs

Comme expliqué dans l'introduction (section 3.3), l'IRM fonctionnelle est basée sur l'enchaînement temporel de stimuli qui entraînent des modifications du signal BOLD ou du signal de perfusion du fait de l'activité neuronale due à ces stimuli, ou bien dans notre cas, due à des modifications de débit sanguin.

Nos expériences de vasoréactivité ont pour but de mesurer les variations de signal BOLD et ASL sous l'effet de stimuli vasomoteurs. Nous utilisons un paradigme en bloc, avec une alternance entre gaz inspirés toutes les 2 minutes pour une acquisition totale de 12 minutes (figure 7.2). Émilie avait lors de sa thèse fait des essais pour utiliser un paradigme alternant des périodes de 3 minutes, mais nous avons conclu d'une petite étude menée sur sujets sains que le bénéfice en signal était moindre comparé aux désagréments causés au patient par l'inhalation prolongée de carbogène et de bactal.

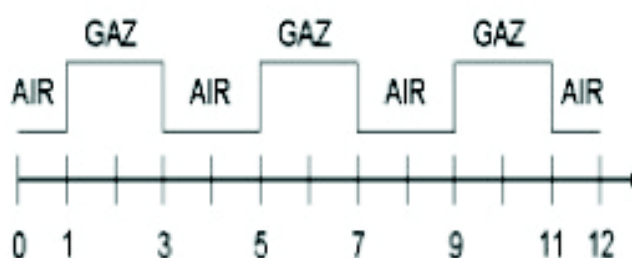


FIGURE 7.2 – Paradigme d'inhalation des gaz vasomoteur. La période « gaz » correspond à l'inhalation de carbogène ou de bactal selon le protocole utilisé.

L'ordinateur qui sert à enregistrer les données physiologiques permet également de réaliser avec précision ce paradigme. Il reçoit de l'IRM des signaux de synchronisation au début de l'acquisition de chaque volume d'images. Grâce au logiciel « Présentation® » il affiche à l'écran un compte à rebours avant chaque transition entre gaz administrés, qui permet à l'opérateur de changer de gaz au moment voulu en actionnant manuellement des vannes. Ce changement nécessite environ 2 secondes et prend effet dès la prochaine inspiration du sujet, le volume mort dans les tuyaux entre le « Y » et le masque d'administration étant très réduit. L'ordinateur enregistre également l'heure précise des signaux de l'IRM pour permettre de synchroniser l'enregistrement des données physiologiques avec les données IRM.

7.4 Séquences d'imagerie

Nous avons utilisé des séquences d'imagerie différentes selon les protocoles. Avant l'arrivée de l'IRM clinique 3 T, le protocole CEVASAL (CErebral VASorecativity in ALzheimer disease, chapitre 9) avait du être acquis à 1,5 T, car l'IRM 3 T de recherche ne permettait pas des examens cliniques. La séquence disponible sur cet imageur était alors la séquence d'ASL pulsé utilisée pour le protocole BoTuS (chapitre 4), donc une séquence de type Q2TIPS (Luh et al., 1999). Les autres protocoles ont été acquis grâce à une séquence d'ASL par marquage pseudo-continu à 3 T (paramètres complets des séquences en annexe 1).

Chapitre 8

Optimisation du traitement de données spécifique à la vasoréactivité

Le traitement des images de vasoréactivité suit le même cheminement que le traitement des images de perfusion présenté dans le chapitre 5. La seule différence se situe au niveau de l'analyse statistique de ces données puisque les régresseurs choisis sont alors différents.

Il existe plusieurs manières de gérer un paradigme d'IRM fonctionnelle. Soit l'on choisit de contrôler un stimulus de façon précise, soit l'on choisit de contrôler l'état du patient précisément lors de ce stimulus. Dans le cas de l'IRM couplée à l'EEG par exemple, les activations induites par le stimulus sont mesurées grâce à l'EEG. Ainsi le modèle appliqué aux données d'IRM provient directement des données d'EEG, donc de l'état d'activation du sujet.

C'est ce choix que l'on a considéré dans notre étude de vasoréactivité : suivre l'état physiologique du sujet pour en déduire un modèle dans l'analyse statistique des données ASL, plutôt que de chercher un contrôle plus précis du stimulus permettant de rapprocher la réponse physiologique du paradigme théorique.

8.1 Comparaison d'analyses du signal ASL de vasoréactivité

La méthode de mesure de la vasoréactivité utilisée lors cette étude, et décrite dans le chapitre précédant, utilise un paradigme en bloc alternant des périodes d'inhalation d'air médical puis d'air enrichi en CO_2 . Ce paradigme est régulièrement utilisé dans les protocoles de vasoréactivité au CO_2 (Yezhuvath et al., 2009; Tancredi et al., 2012). L'objectif est ensuite de corréliser les modifications de signal obtenues avec un modèle représentant ce paradigme. Afin que les données corrélerent au mieux avec ce modèle, différentes méthodes ont été proposées.

La première méthode consiste à contrôler l'état physiologique du sujet grâce à un stimulus précis et facilement modélisable. En vasoréactivité cela peut se faire grâce à des outils tels que le RespirAct (Slessarev et al., 2007; Mark et al., 2010). De tels appareils se basent à la fois sur une méthode d'administration qui cherche à être robuste par rapport au comportement du sujet, notamment le débit ventilatoire, et sur une modélisation préalable de la réponse physiologique. Ils permettent de faire varier de façon rapide et contrôlée à la fois la capnie et l'oxie. Dans cette méthode, l'analyse se solde ensuite par l'utilisation d'un régresseur en bloc. Cependant, certains retours de laboratoires qui l'utilisent font

état d'une acceptation moindre par les sujets, car le sujet n'a plus la possibilité d'influer sur son état physiologique, ce qui est potentiellement anxiogène.

Une autre méthode pour obtenir un régresseur qui représente bien la réponse à l'hypercapnie peut consister à moyenniser les réponses d'une population de sujets au stimulus hypercapnique. Ceci a déjà été utilisé dans l'analyse de la vasoréactivité BOLD (Jiang et al., 2010; Cantin et al., 2011b).

Notre objectif ici est de modéliser les variations du signal dues au stimulus hypercapnique par la réponse physiologique du sujet à ce stimulus en utilisant les variations de pression expirée en CO_2 . Cette approche a déjà été utilisée dans le cadre de la vasoréactivité BOLD (Yezhuvath et al., 2009). Nous cherchons à valider cette technique en ASL et de comparer les résultats obtenus à l'utilisation de régresseurs classiques en bloc.

Le second objectif de cette étude est de tester l'utilisation de la correction de bruit physiologique en ASL de la vasoréactivité. Il a été montré à différentes reprises et dans différentes applications (Chang & Glover, 2009) que les images fonctionnelles obtenues en IRM possèdent une part non négligeable de bruit physiologique au sein du signal. La correction de ce bruit physiologique peut être faite de différentes manières.

Le bruit physiologique peut être réduit durant l'acquisition des données en utilisant des séquences dédiées, telle que la suppression du signal statique dans les données ASL (Ye et al., 2000), ou bien l'utilisation de triggers lors de l'acquisition, ce qui peut permettre de synchroniser les acquisitions fonctionnelles avec des phases du cycle cardiaque ou respiratoire du sujet. L'enregistrement des données physiologiques lors de l'acquisition peut aussi permettre de quantifier le bruit à posteriori (Glover et al., 2000; Restom et al., 2006), enfin, il existe des méthodes permettant d'estimer les composantes de bruit physiologique directement à partir du signal IRM (Beall & Lowe, 2007; Perlberg et al., 2007; Behzadi et al., 2007; Chuang & Chen, 2001). Cependant, la correction de ce bruit physiologique peut mener à d'autres difficultés. La suppression de signal statique dans les acquisitions ASL peut rendre l'estimation des paramètres de mouvements difficile, menant à une mauvaise correction des mouvements de la tête, ce qui peut être contraignant dans certaines études sur patients notamment dont les mouvements sont inévitables. Les approches utilisant le recueil des données physiologiques lors du post-traitement seront utilisées lors cette étude. Elles possèdent l'inconvénient du choix du nombre de régresseurs à utiliser lors de l'analyse statistique afin d'optimiser une correction de la variance des données sans perdre trop de degrés de liberté.

L'ensemble des informations sur le paradigme et le bruit physiologique est fourni dans la matrice de dessin d'un modèle linéaire général du signal ASL. Le principe de cette analyse est présentée dans le chapitre 5, section 5.2.1. Dans le cas de l'ASL, le régresseur utilisé pour modéliser l'alternance contrôle/marquage simule la soustraction entre ces deux états et est représenté dans la première colonne de la matrice de dessin de la figure 8.1. Cette figure montre une série ASL comprenant 180 images (90 contrôles, 90 marquages). Le signal de vasoréactivité ASL correspond à l'augmentation du signal de perfusion lors des phases d'inhalation du gaz vasomoteur et est lui aussi pondéré par l'alternance contrôle/marquage (figure 8.1a) et b), 2ième colonne) (Mumford et al., 2006; Hernandez-Garcia et al., 2010). Le signal BOLD est également modélisé puisque cette composante est présente dans le signal (figure 8.1a) et b), 3ème colonne). Suivant l'approche utilisée, le régresseur modélisant les variations du signal ASL et du BOLD peut être obtenu en convoluant soit le créneau représentant les 2 minutes d'inhalation de gaz vasomoteur, soit le décours temporel de la capnie observé, avec une HRF sans undershoot (respectivement figure 7.2 a et b). La quatrième colonne montrée sur la figure 8.1 est ajou-

tée automatiquement par SPM lors de l'analyse par GLM et modélise le signal statique. Certaines images d'une série fonctionnelle pendant lesquelles le sujet a beaucoup bougé peuvent être enlevés de l'analyse statistique en ajoutant des régresseurs unité pour chaque image à enlever (section 5.1, figure 5.2). Les régresseurs modélisant de bruit physiologique sont ajoutées à la suite de la matrice de dessin.

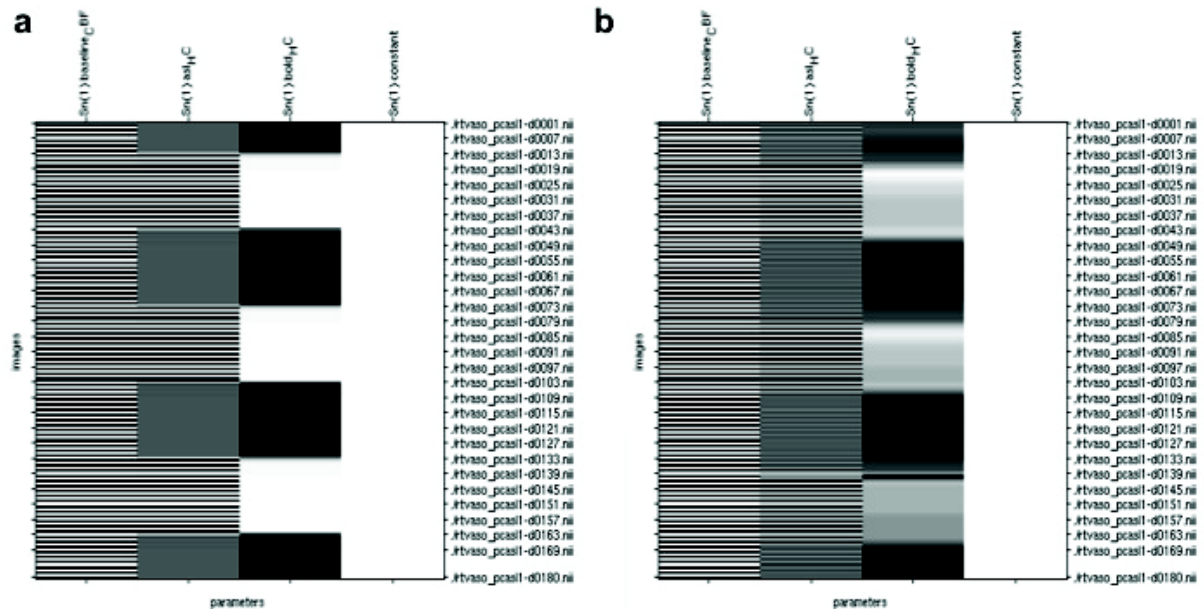


FIGURE 8.1 – Matrices de dessin pour l'analyse statistique des données de vasoréactivité. En a) l'utilisation de régresseurs en blocs classiques, en b) l'utilisation de régresseur basés sur la pression expirée en CO_2 .

Nous utilisons ce traitement pour l'ASL mais celui-ci peut tout aussi bien servir pour les données de vasoréactivité BOLD.

8.2 Matériel et méthode

Sujets inclus dans l'analyse

Nous avons inclus dans cette analyse tous les examens complets de vasoréactivité en ASL acquis entre septembre 2011 et août 2012. Ainsi, 39 patients et volontaires sains ont été examinés au cours de cette période, dont 7 patients porteurs d'accidents vasculaires cérébraux suivis sur le long terme, 13 patients porteurs de sténoses (chapitre 10), 19 sujets sains inclus soit dans le protocole Vallot (chapitre 11), soit dans la suite du protocole CEVASAL (témoins âgés, chapitre 9), ou bien sur des études de mise au point de ces protocoles. Sur ces 39 sujets, certains ont subi plusieurs sessions d'IRM, ce qui nous amène à traiter 66 sessions différentes. Ces données sont récapitulées dans le tableau 8.1.

Protocole d'imagerie IRM

Les acquisitions ont été effectuées sur une IRM 3 Tesla (Philips Achieva TX) avec une antenne 8 ou 32 canaux. Les examens acquis en clinique (AVC, sténoses, sujets sains âgés inclus dans l'étude portant sur la maladie d'Alzheimer) utilisent l'antenne 8 canaux

	AVC	Sténoses	Sujets sains	Total
Nombre de sujets	7	13	19	39
Nombre total de sessions	22	13	31	66
Sexe (masculin/féminin)	5/2	7/6	15/3	27/11

TABLE 8.1 – Liste des sujets inclus dans l’analyse des régresseurs utilisés en vasoréactivité

puisque la séquence de BOLD en vasoréactivité n’est pas disponible sur l’antenne 32 canaux du fait d’un volume de données trop important pour la console d’acquisition. Les examens de mise au point et de l’étude VALLLOT sont acquis grâce à l’antenne 32 canaux.

L’examen IRM comprend une image anatomique $3D T_1$, de résolution millimétrique pour faciliter la segmentation matière grise / matière blanche, ainsi qu’une séquence ASL avec marquage pseudo-continu (Dai et al., 2008a; Aslan et al., 2010) (pre-saturation WET, durée de marquage : 1650 ms, délai après le marquage : 1525 ms) acquise grâce à une séquence multi-coupe EPI single-shot ($3 \times 3 \times 6 \text{ mm}^3$, 20 coupes, TE : 12 ms, facteur SENSE : 2.5) avec un TR de 4 s pour une durée totale de 12 minutes. Une carte M_0 , acquisition simple en EPI avec des paramètres identiques à la séquence ASL mais sans marquage et avec un temps de répétition long (TR=8 s), ainsi qu’une carte T_1 , sont acquises pour la quantification du CBF. Les détails des paramètres d’acquisition sont fournis dans l’annexe 1.

Le protocole d’inhalation des gaz et celui expliqué dans le chapitre 7, alternant des périodes d’inhalation d’air médical et d’air enrichi en CO_2 (7% CO_2 , 21% O_2 , 72% N_2) toutes les 2 minutes pour une durée totale de 12 minutes.

Les données physiologiques ont été recueillies selon le protocole développé précédemment (chapitre 7).

Protocole de traitement des images IRM et création des régresseurs

Les données ont été analysées grâce au logiciel de GFB (section 5.4). Les images ont été réalignées selon notre protocole de réalignement d’images ASL, les images ont été mises à l’échelle afin d’obtenir une carte de CBF quantitative (chapitre 5) et les images anatomiques ont été segmentées pour pouvoir créer des régions d’intérêt dans la matière grise.

Deux types de régresseurs ont été créés pour l’analyse GLM : un régresseur basé sur la capnie du sujet (« Phys »), et un régresseur bloc classique mis à l’échelle de la capnie moyenne lors des périodes hypercapniques (« Bloc »). Les valeurs aberrantes en $PetCO_2$ ont été enlevées et l’on a pris soin de prendre en compte le délai dans les données dérivées de la capnie dû au volume mort dans la canule d’échantillonnage du CO_2 (4 s environ). Ces données de $PetCO_2$ ont ensuite été interpolées sur les temps d’acquisitions des volumes ASL. La valeur moyenne de la capnie lors des périodes d’administration d’air est prise comme valeur de base lors de la construction des régresseurs. Chacun des régresseurs est convolué avec une HRF sans undershoot de largeur 10 s.

Au total, six analyses ont été effectuées sur chacun des deux régresseurs physiologique et bloc :

- Régresseurs « Phys » ou « Bloc » seul (« Reg_only »)
- Régresseurs « Phys » ou « Bloc » en supprimant les périodes de transitions entre air et hypercapnie sur une durée de 32 s (« Excl »)
- Régresseurs « Phys » ou « Bloc » en ajoutant une correction de bruit physiologique

- cardiaque avec la méthode 1 (explication plus loin) (« Card »)
- Régresseurs « Phys » ou « Bloc » en ajoutant une correction de bruit physiologique cardiaque avec la méthode 2 (explication plus loin) (« Card_split »)
- Régresseurs « Phys » ou « Bloc » en ajoutant une correction de bruit physiologique respiratoire avec la méthode 1 (explication plus loin) (« Resp »)
- Régresseurs « Phys » ou « Bloc » en ajoutant une correction de bruit physiologique respiratoire avec la méthode 2 (explication plus loin) (« Resp_split »)

Les résultats de l'analyse GLM sont traités en observant la moyenne du CBF et de la vasoréactivité, ainsi que les cartes statistiques T du CBF et de la vasoréactivité sur chacune de ces analyses (12 au total). Les données sont moyennées sur une région d'intérêt comprenant les voxels qui comportent au moins 90% de matière grise, qui disposent d'un signal ASL basal avec une valeur T supérieure à 3 et qui ne se situent pas dans une zone de lésion dans le cas des sujets atteints d'AVC ou de sténoses. Pour les moyennes de signal ASL (basal et de vasoréactivité), les voxels avec des signaux aberrants ont été exclus selon la méthode de Thompson-Tau (Thompson, 1985).

Correction de bruit physiologique

Les tracés des variations respiratoires (FR, fréquence respiratoire) et cardiaques (FC, fréquence cardiaque) sont obtenues automatiquement, ainsi que les triggers représentant les phases d'inspiration et d'expiration et de cycle cardiaque. Cependant, ces triggers ne sont pas toujours bien détectés par le moniteur physiologique. Nous procédons donc à une détection automatique des cycles respiratoires et cardiaques sur les tracés obtenus par le Magdata, basée sur une analyse simple des dérivées première et seconde des signaux bruts de l'oxymètre de pouls et de capnie. La combinaison de cette analyse avec les triggers détectés par le moniteur physiologique produit des résultats robustes.

La correction de bruit physiologique utilisée dans ce chapitre repose sur la méthode RETROICOR publiée par Glover et al. en 2000. Cette méthode a tout d'abord été utilisée dans le cadre de l'imagerie fonctionnelle basée sur le contraste BOLD, pour être ensuite modifiée afin d'être appliquée aux données ASL par Restom et al. en 2006. Cette publication nous a servie de référence. Brièvement, pour chaque volume acquis, on calcule son moment d'acquisition par rapport aux cycles respiratoire et cardiaque en tenant compte autant que possible des délais entre trigger IRM et acquisition des données et entre modification de gaz expirés et leur échantillonnage. On calcule ensuite une phase cardiaque qui varie linéairement de 0 à 2π dans un cycle cardiaque, ainsi qu'une phase respiratoire qui varie de 0 à π pour la phase d'inspiration, puis de π à 2π pour la phase d'expiration. Ensuite, les signaux physiologiques sont modélisés par des sinus et cosinus des phases cardiaques et respiratoires ainsi que leur première harmonique (4 régresseurs). Dans le logiciel SPM qui sert pour l'analyse statistique, il n'est pas possible de spécifier des régresseurs différents pour chaque coupe d'imagerie, alors que délai entre acquisitions des coupes 2D n'est pas négligeable par rapport à la durée du cycle cardiaque. Cependant, en supposant un rythme cardiaque relativement stable, la décomposition en harmoniques permet de modéliser également des bruits physiologiques décalés dans le temps.

Il y a ensuite deux méthodes pour modéliser l'impact du bruit physiologique sur les signaux IRM. La première méthode part du principe que le bruit physiologique n'est pas différent en amplitude et phase entre les images contrôles et marquage dans la séquence ASL. Ainsi les régresseurs modélisant le bruit physiologique pendant les images contrôles et marquage sont les mêmes (4 régresseurs). La seconde méthode suppose que les bruits physiologiques impactent différemment les images de contrôles et de marquage. Les si-

gnaux physiologiques sont donc modélisés indépendamment entre contrôles et marquage (8 régresseurs).

8.3 Résultats préliminaires

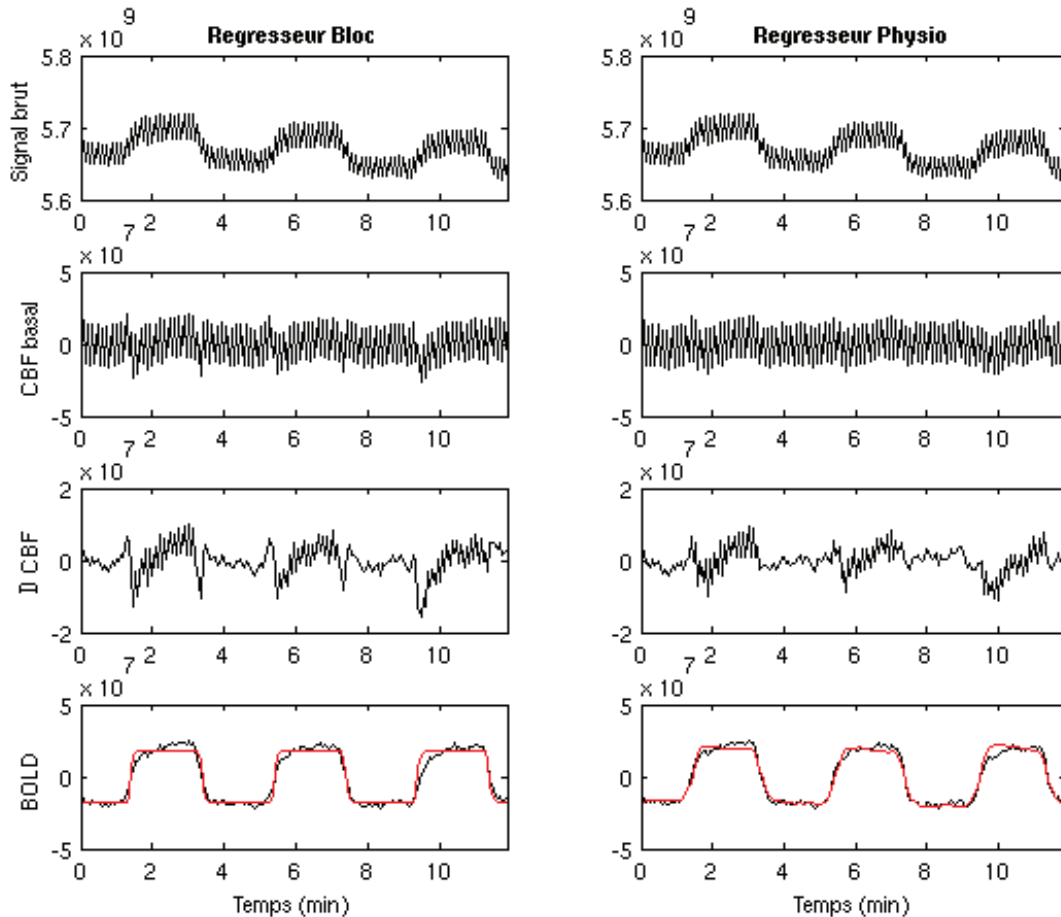


FIGURE 8.2 – Moyenne des signaux temporels sur tous les sujets dans la matière grise saine, selon l'utilisation du régresseur bloc (à gauche) ou du régresseur physiologique (à droite). La première ligne représente le signal IRM brut moyen. Les lignes suivantes représentent le signal moyen après avoir déduit les composantes modélisées par tous les régresseurs sauf respectivement le signal ASL basal (ligne 2), l'augmentation du signal ASL durant l'hypercapnie (ligne 3) et le signal BOLD (ligne 4). Le régresseur à la base de la modélisation des réponses ASL et BOLD à l'hypercapnie est montré en rouge dans la dernière ligne.

Sur les 66 examens disponibles pour cette étude, 10 sessions ont été exclus : 2 du fait d'un mauvais enregistrement des données cardiaques et respiratoires, et 8 du fait de mouvements importants lors de l'examen IRM. Il reste donc 56 sessions pour l'analyse.

Les régresseurs blocs et physiologiques modélisent bien tous deux les données, comme présenté dans la figure 8.2. En cas de modélisation parfaite, les signaux des lignes deux à quatre correspondraient parfaitement aux régresseurs respectifs. La différence vient des résidus de modélisation. On voit sur la troisième ligne de la figure 8.2, représentant le signal de vasoréactivité, que les périodes de transitions sont mieux modélisées avec le régresseur

physiologique (colonne de droite), qu'avec le régresseur bloc (colonne de gauche). Il est à noter que, dans l'analyse statistique complète réalisée, un filtrage passe-haut (période de coupure de 48 s) élimine les composantes basses-fréquences dans les résidus. Pour des raisons d'illustration, ce filtrage a été limité à une correction de dérive linéaire dans cette figure.

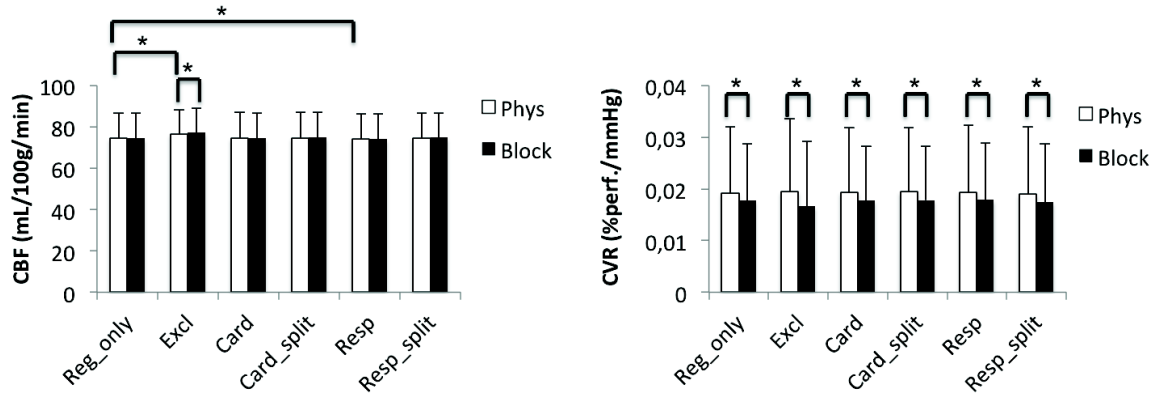


FIGURE 8.3 – Moyennes du CBF, en ml/100g/min, et de la vasoréactivité (CVR), en % d'augmentation de la perfusion par mmHg, sur les différents régresseurs. (* : $p < 0,05$, test T apparié)

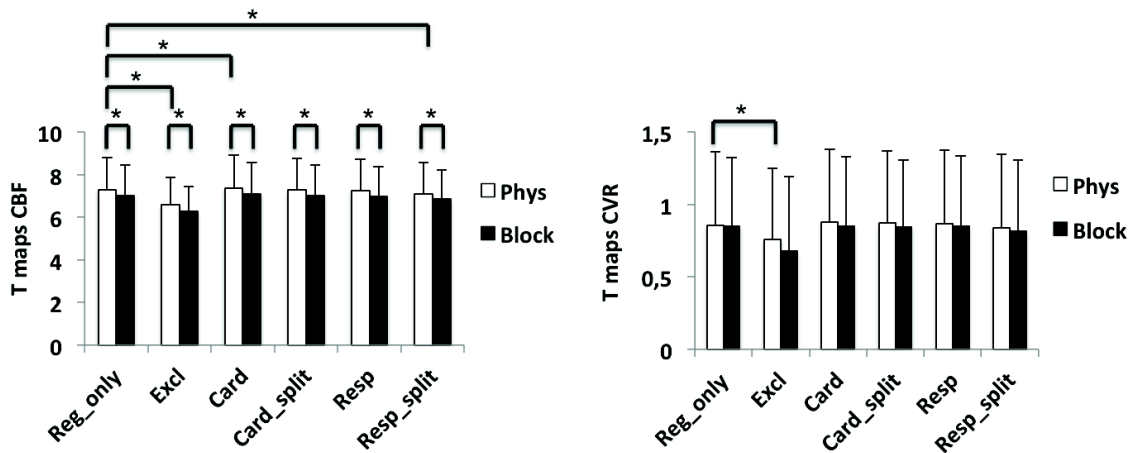


FIGURE 8.4 – Moyennes des cartes T pour le signal de perfusion basal, et pour le signal de variation de la perfusion basale, soit le CVR, sur les différents régresseurs. (* : $p < 0,05$, test T apparié)

Les valeurs de CBF et de vasoréactivité (CVR) obtenues pour chacun des régresseurs sont données dans la figure 8.3. On observe des différences significatives ($p < 0,05$, test T apparié) entre les valeurs de CBF obtenues avec le régresseur physiologique sans et avec modélisation des transitions (« Excl »), ainsi qu'entre le régresseur physiologique sans et avec modélisation du bruit respiratoire par la méthode n°1 (« Resp1 »). Les valeurs de CBF sont significativement différentes entre le régresseur physiologique et le régresseur bloc lorsque l'on exclut les périodes de transition de l'analyse. Les valeurs de vasoréactivité obtenues avec le régresseur bloc sont toujours significativement inférieures aux valeurs obtenues avec le régresseur physiologique (figure 8.3).

La figure 8.4 représente la moyenne des cartes T pour chacun des régresseurs dans la ROI de matière grise saine, pour la mesure du CBF (à gauche) et de la vasoréactivité (à droite). La carte T représente le degré de significativité pour chaque voxel grâce à un test T et est corrélé au modèle, donc au régresseur. Malgré de faibles différences, les valeurs des statistiques T sont toujours supérieures avec l'utilisation du régresseur physiologique par rapport au régresseur bloc, pour ce qui est de la perfusion basale. Les différences ne sont par contre pas significatives pour ce qui des cartes T liées à la mesure du CVR. La figure 8.4 montre que le régresseur excluant des périodes de transitions diminue la significativité de la mesure de vasoréactivité. La correction de bruit physiologique utilisant les données cardiaques par la première méthode (« Card ») améliore la significativité de la mesure de perfusion basale, contrairement à la correction de bruit respiratoire avec la seconde méthode (« Resp_split »), qui diminue la significativité de la mesure du CBF.

La correction de bruit physiologique par la fréquence respiratoire (méthode 1) modifie significativement la valeur du CBF (figure 8.3). Cependant, la correction de bruit physiologique, quelque soit la méthode utilisée, ne modifie pas la significativité des mesures de CVR (figure 8.4).

8.4 Discussion

Cette étude a permis de montrer que l'utilisation de la capnie du sujet comme modèle dans l'analyse statistique est faisable malgré la complexité que peut revêtir l'enregistrement de ces données dans un contexte clinique. 15% des sujets ont été exclus de l'analyse, en très grande majorité dû à des mouvements excessifs. Ceci est un bon résultat pour des acquisitions sur des sujets qui sont en majorité des patients et dont certains, notamment les porteurs d'AVC, ont de grandes difficultés à rester immobile. Seulement 2 exclusions sur 66 sessions sont dues à un problème d'enregistrement de données physiologiques et donc spécifiques à l'utilisation de ces données pour la modélisation du signal IRM. Il est à noter que l'analyse par régresseur bloc nécessite également la disponibilité des données physiologiques, si une quantification absolue du CVR par rapport aux variations de capnie est requise.

L'utilisation d'un régresseur basé sur la capnie du sujet lors de l'épreuve de vasoréactivité aux gaz circulants améliore la significativité du résultat de la mesure de perfusion en ASL. L'utilisation de ce régresseur physiologique ne semble pas montrer une amélioration de la significativité pour ce qui est de la mesure de la vasoréactivité par rapport au régresseur bloc. Il augmente par contre les valeurs de CVR observées. Ceci peut être dû à une différence d'échelle des régresseurs « Block » et « Phys ». En effet, ces derniers sont proportionnels à la différence de capnie entre les deux états de capnie. Le régresseur « Phys » l'est naturellement, car il dérive de la mesure de la capnie. Pour le régresseur « Block », son amplitude dépendra des périodes utilisées pour mesurer cette différence de capnie. La transition entre les états étant graduelle, il n'y a pas de choix naturel pour ces périodes. La correction de bruit physiologique dans notre implémentation actuelle ne semble pas améliorer les résultats.

Cette étude nous a aussi permis de faire un retour d'expérience sur les données acquises en vasoréactivité ASL lors de cette dernière année de thèse. Pas moins de 70 examens ont été acquis en un an sur 4 protocoles différents. Les mouvements des sujets agités comme les patients porteurs d'AVC compromettent souvent l'analyse des données par la suite car nous avons pu nous rendre compte que les cartes de vasoréactivité sont très sensibles aux mouvements. Ceci rend les examens de patients en phase aigüe d'AVC par exemple

complexe à obtenir.

Seules les images de vasoréactivité ASL ont été incluses pour le moment. A terme, le but serait d'appliquer ces traitements aux données de vasoréactivité BOLD acquises lors des protocoles cliniques. L'utilisation du régresseur physiologique, ainsi qu'une correction de bruit physiologique améliorée pourraient participer à améliorer la sensibilité des cartes de vasoréactivité obtenues en BOLD. La disponibilité à la suite de cette thèse d'un pool important de données et d'une infrastructure permettant de comparer facilement les performances de différentes méthodes de traitement devrait permettre des progrès significatifs en ce sens.

La figure 8.2 montre que la composante de signal due à l'effet BOLD est très présente dans notre signal ASL (dernière ligne). Ceci pourrait être enlevé grâce à une suppression de signal statique (Ye et al., 2000). Nous avons fait des tests quant à l'utilisation de ce module au début de ma thèse, qui n'avaient pas donné de résultats flagrants. Nous n'utilisons donc pas ce module pour le moment. Au vu de ces résultats, ce point pourrait être à revisiter.

8.5 Conclusion

Cette étude menée sur une cohorte de 66 sessions démontre l'utilité à automatiser le traitement de grandes séries d'exams. La quantité importante de données à analyser nous permet d'observer des différences plus robustes dans les résultats obtenues lors de variations subtiles des méthodes de traitement.

Une publication est en cours de rédaction sur ce sujet.

Quatrième partie

Applications cliniques de l'imagerie de la vasoréactivité cérébrale

Comme décrit dans les objectifs de ma thèse, le second volet important de mon travail se situe au niveau des applications cliniques des méthodes que nous mettons en place. La dernière partie de mon manuscrit portera donc sur ces applications.

Ayant effectué mon stage de master 2 dans l'équipe, et dont le sujet était : « Imagerie de la vasoréactivité cérébrale par marquage de spins artériels dans la maladie sténo-occlusive », j'ai rapidement participé aux acquisitions en recherche clinique. La principale application clinique en vasoréactivité cérébrale mise en place il y a 3 ans était une étude sur la vasoréactivité cérébrale de patients atteints de la maladie d'Alzheimer (Alzheimer's disease, AD). Mon rôle dans cette étude a été de prendre la suite des acquisitions sur l'IRM 1,5 T. J'ai été essentiellement impliquée dans l'acquisition et le traitement des données ASL. Cependant, nous avons travaillé en étroite collaboration sur le traitement des données BOLD. Ce travail a fait l'objet d'une publication dans le journal *NeuroImage* et sera présenté dans le chapitre 9.

Le but de nos recherches étant de trouver une application directe en clinique, nous avons travaillé sur des patients atteints de sténoses extra- et intra-crâniennes. Ces résultats seront présentés dans le chapitre 10.

Enfin, la dernière application a consisté à étudier les effets centraux de l'hypoxie chez des sujets sains suite à un séjour en altitude. Je présenterai les résultats de mesures de perfusion basale et vasoréactivité par IRM, réalisées avant et immédiatement après 7 jours d'acclimatation à 4365 m d'altitude. La publication des résultats de cette étude est en cours de soumission, ceux-ci seront présentés dans le chapitre 11.

Certaines données acquises lors de cette thèse n'ont pas pu être présentées en détail dans ce manuscrit, puisque les données n'ont pas encore été totalement acquises, mais aussi du fait d'un manque de temps pour analyser les résultats. C'est notamment le cas des données acquises lors du protocole HERMES. Ce protocole s'inscrit dans une étude pharmacologique de phase 1 sur l'injection de cellules souches mésenchymateuses humaines (CSMh) dans le traitement des accidents vasculaires cérébraux (AVC). Le but de cette étude est donc d'étudier la sécurité et de valider la faisabilité clinique de cette thérapie. Une trentaine de patients vont être inclus dans ce protocole qui consiste à traiter deux groupes de patients ayant subi un AVC sylvien important, avec des doses de CSMh différentes, comparés à un groupe de sujet contrôles, atteints d'AVC sylviens aussi mais non traités par injection de CSMh. Ces patients vont être suivis en IRM pendant 2 ans à raison de 5 sessions IRM au total. A ce jour, 15 patients ont été inclus dans ce protocole.

Chapitre 9

L'imagerie de la vasoréactivité cérébrale dans la maladie d'Alzheimer : le protocole CEVASAL

La maladie d'Alzheimer (Alzheimer's disease, AD) est une maladie neurodégénérative fréquente chez les sujets âgés. Décrite par Aloïs Alzheimer (Alzheimer, 1907; Alzheimer et al., 1995), la maladie d'Alzheimer est la première cause de démence du sujet âgé. Les troubles cognitifs légers amnésiques (mild cognitive impairment, MCI) ont été identifiés comme pouvant être un état de transition potentiel avant la survenue de l'AD avec un taux annuel de conversion des MCI en AD estimé entre 16 et 41% (Gauthier et al., 2006).

La maladie d'Alzheimer est caractérisée par l'accumulation de plaques amyloïdes et de dégénérescence neurofibrillaires (Blennow et al., 2006). Les plaques amyloïdes correspondent à des dépôts incontrôlés de protéine A β alors que les dégénérescences neurofibrillaires proviennent d'agrégats intracellulaires de protéine Tau hyperphosphorylée (Blennow et al., 2006). Ces dépôts ont des effets neurotoxiques dont les mécanismes sont encore mal connus. Une atteinte vasculaire a également été mise en évidence par l'action délétère de la protéine A β (Iadecola, 2004). Il a d'ailleurs été démontré à plusieurs reprises une diminution de la perfusion cérébrale chez des patients atteints de la maladie d'Alzheimer (Alsop et al., 2000; Du et al., 2006; Asllani et al., 2008b; Dai et al., 2009; Chen et al., 2011b). Des études ont aussi démontré des altérations fonctionnelles de la perfusion, en mesurant la vasoréactivité cérébrale par Doppler transcrânien ou par IRM en réponse à un stimulus hypercapnique (Yezhuvath et al., 2012) ou une administration d'acétazolamide (Silvestrini et al., 2006; Oishi et al., 1999).

L'objectif de cette étude est de confirmer l'existence et de préciser la topographie des variations de la vasoréactivité cérébrale aux gaz circulants, chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer et chez les sujets à risque présentant des troubles cognitifs légers (MCI), comparativement à une population de témoins âgés.

Cette partie de la thèse sera présentée en incluant directement le manuscrit publié dans le journal *NeuroImage* sous le titre : « Impaired cerebral vasoreactivity to CO₂ in Alzheimer's disease using BOLD fMRI ». Les auteurs sont : S. Cantin, M. Villien O. Moreaud, I. Troprès, S. Keignart, E. Chipon, J.-F. Le Bas, J. Warnking, A. Krainik.

9.1 Physiopathologie de la maladie d'Alzheimer et perfusion cérébrale

Il a été démontré que les maladies neurodégénératives tel que l'AD sont associées à des dysfonctionnements de l'unité neurovasculaire et/ou de la barrière hémato-encéphalique (Zlokovic, 2011). Les arguments en faveur de cette hypothèse mettent en avant la corrélation entre la diminution de la perfusion cérébrale et l'arrivée des symptômes (Iadecola, 2004) mais aussi le fait que les facteurs de risque cardio-vasculaires sont des facteurs de risque de l'AD (Torre, 2002). Il a été démontré dans différentes pathologies neurodégénératives qu'un dysfonctionnement vasculaire mène à des dysfonctionnement neuronaux, comme c'est le cas chez les patients atteints de CADASIL (Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy). Cette pathologie rare et héréditaire due à des lésions ischémiques diffuses mène à une neurodégénérescence précoce, puis à la démence (Herve & Chabriat, 2010).

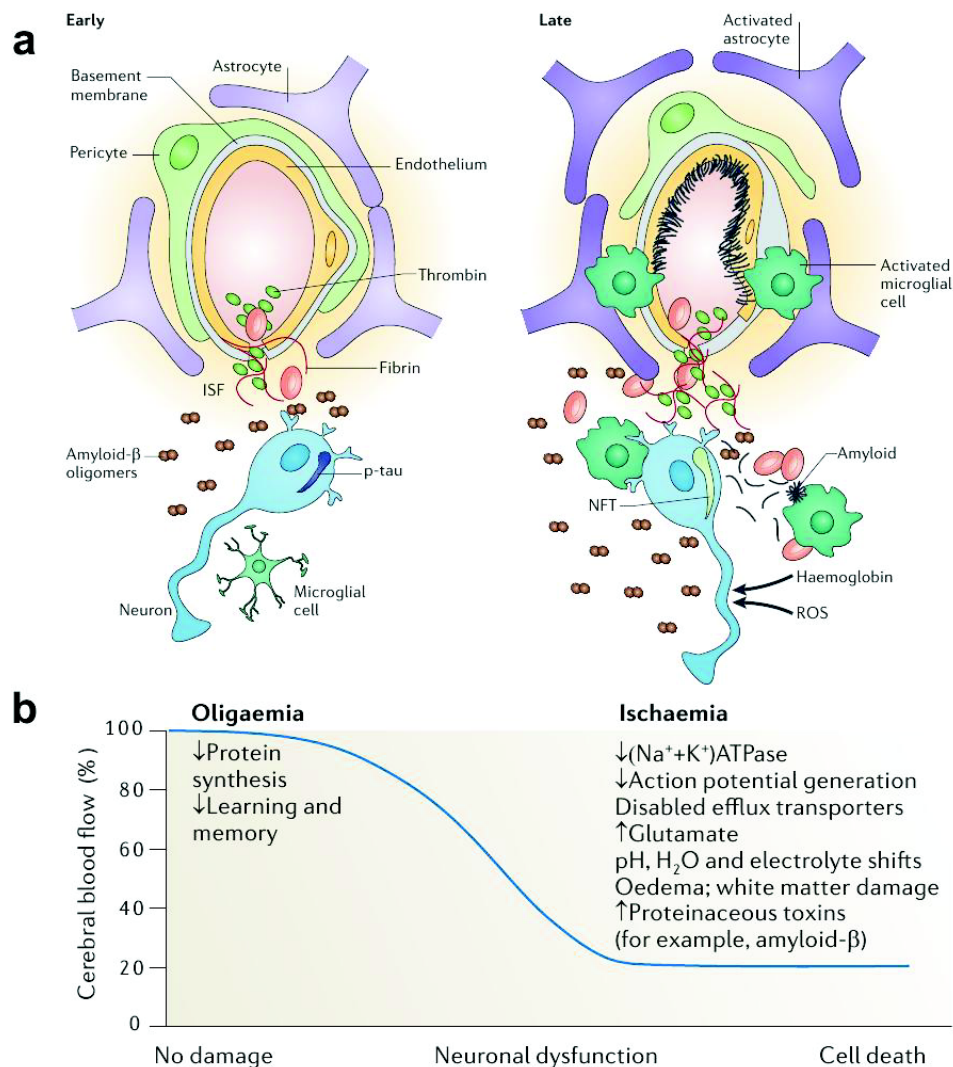


FIGURE 9.1 – a) Schéma des capillaires cérébraux lors des stades précoces puis avancés de l'AD. b) Effets de la diminution du CBF (oligaemia) sur les fonctions neuronales. (Zlokovic (2011))

De multiples processus pouvant être à l'origine de la dysfonction vasculaire dans l'AD restent encore controversés (Iadecola, 2004; Zlokovic, 2011). On sait par exemple que les

protéines β -amyloïde ont la faculté de réguler le système vasomoteur (Thomas et al., 1996; De la Torre & Stefano, 2000).

Durant le stade précoce de la maladie d'Alzheimer, on observe un dysfonctionnement de la BHE menant à une accumulation de protéine β -amyloïde dans l'espace interstitiel, ainsi qu'à une fuite de globules rouges étant à l'origine de micro-hémorragies (figure 9.1a). La concentration de protéines tau hyperphosphorylées augmente dans les neurones en réponses à l'hypoperfusion. Ceci relance alors l'activation de la microglie. Au stade avancé de la maladie on observe un dépôt important de protéine amyloïde sur la membrane des capillaires (figure 9.1a) ce qui mène à une diminution importante du CBF, donc une accumulation des déchets du métabolisme tels que les ROS (reactive oxygen species, produit du métabolisme de l'oxygène), en modifiant le pH interstitiel. Ces différents mécanismes mènent donc à un dysfonctionnement neuronal (figure 9.1b) et activent la microglie, induisant alors une réaction inflammatoire.

On voit donc que l'hypoperfusion basale pourrait être une cause du dysfonctionnement neuronal à la base des démences de type Alzheimer (Xu et al., 2010b). D'où l'intérêt d'étudier la perfusion cérébrale chez ces patients AD mais aussi MCI, afin de voir les différences entre les stades précoces et avancés de la maladie. Ceci nous montre aussi l'intérêt des études de vasoréactivité cérébrale dans le cadre de pathologies comme l'AD puisque les protéines β -amyloïde ont un effet direct sur la vasomotricité des vaisseaux cérébraux.

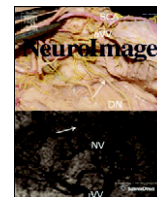
9.2 Protocole

Dans cette étude, 39 patients ont été inclus entre 2007 et 2010, puis classés dans les groupes AD, MCI et contrôle suite à un examen neuro-psychologique complet.

L'examen IRM mené sur un imageur Philips 1,5 T Achieva comprenait des images morphologiques, des images de perfusion basale en ASL pulsé, et des images de vasoréactivité en ASL et en IRMf BOLD. Les images morphologiques T_13D et FLAIR ainsi qu'une image d'angiographie par temps de vol ont été acquises dans le but d'aider au diagnostic clinique et d'éliminer les patients atteints de troubles cognitifs non liés à une pathologie de type Alzheimer (démences fronto-temporales, accidents vasculaires cérébraux, microangiopathies modérées à sévères, sténoses artérielles...). Le protocole d'acquisition des images de vasoréactivité est celui utilisé communément au laboratoire (chapitre 7), utilisant un paradigme en bloc de 12 minutes alternant toutes les 2 minutes des périodes d'inhalation d'air et d'air enrichi en CO_2 (bactal) pour l'ASL ou d'oxygène enrichi en CO_2 (carbogène) pour l'IRMf BOLD.

J'ai participé activement aux acquisitions ainsi qu'au traitement des données ASL et BOLD, notamment à la mise en place des traitements utilisant la moyenne de la capnie des sujets pour chaque groupe de patients comme modèle pour l'étude le vasoréactivité BOLD.

9.3 Publication



Impaired cerebral vasoreactivity to CO₂ in Alzheimer's disease using BOLD fMRI

S. Cantin^{a,b,c}, M. Villien^{a,b}, O. Moreaud^{d,e}, I. Tropres^c, S. Keignart^d, E. Chipon^{a,b,f}, J.-F. Le Bas^{a,b,c}, J. Warnking^{a,b}, A. Krainik^{a,b,c,*}

^a Inserm, U836, Grenoble, France

^b Université Joseph Fourier, Grenoble Institute of Neurosciences UMR-S836, Grenoble, France

^c Department of Neuroradiology and MRI, CHU Grenoble - IFR1, Grenoble, France

^d Department of Neurology, CHU Grenoble, Grenoble, France

^e Psychology and Neurocognition Laboratory, UMR 5105, CHU Grenoble, Grenoble, France

^f Clinical Investigate Centre, Innovative Technology, INSERM 803, CHU Grenoble, Grenoble, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 31 January 2011

Revised 13 May 2011

Accepted 23 June 2011

Available online 1 July 2011

Keywords:

Alzheimer's disease

Mild cognitive impairment

Cerebral vasoreactivity

Carbon dioxide

BOLD fMRI

ABSTRACT

Objective: To evaluate the cerebral vasoreactivity using blood oxygenation level dependent functional MRI during carbogen inhalation with 7% CO₂ in Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment.

Participants and methods: Thirty nine subjects were included to be investigated using blood oxygenation level dependent (BOLD) functional MRI at 1.5 T during a block-design carbogen inhalation paradigm, with a high concentration face-mask under physiological monitoring. Basal cerebral perfusion was measured using pulsed arterial spin labeling. Image analyses were conducted using Matlab® and SPM5 with physiological regressors and corrected for partial volume effect.

Results: Among selected participants, 12 subjects were excluded because of incomplete protocol, leaving for analysis 27 subjects without significant microangiopathy diagnosed for Alzheimer's disease (n = 9), amnesic mild cognitive impairment (n = 7), and matched controls (n = 11). No adverse reaction related to the CO₂ challenge was reported. Carbogen inhalation induced a whole-brain signal increase, predominant in the gray matter. In patients, signal changes corrected for gray matter partial volume were decreased (0.36 ± 0.13% BOLD/mmHg in Alzheimer's disease, 0.36 ± 0.12 in patients with mild cognitive impairment, 0.62 ± 0.20 in controls). Cerebral vasoreactivity impairments were diffuse but seemed predominant in posterior areas. The basal hypoperfusion in Alzheimer's disease was not significantly different from patients with mild cognitive impairment and controls. Among clinical and biological parameters, no effect of apoE4 genotype was detected. Cerebral vasoreactivity values were correlated with cognitive performances and hippocampal volumes. Among age and hippocampal atrophy, mean CVR was the best predictor of the mini-mental status examination.

Conclusion: This BOLD functional MRI study on CO₂ challenge shows impaired cerebral vasoreactivity in patients with Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment at the individual level. These preliminary findings using a new MRI approach may help to better characterize patients with cognitive disorders in clinical practice and further investigate vaso-protective therapeutics.

© 2011 Elsevier Inc. All rights reserved.

Introduction

Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of dementia in the elderly and affects 25 million persons in the world. Recent epidemiological studies predict a doubling of the prevalence every 20 years (Ferri et al., 2005). Mild cognitive impairment (MCI) may correspond to a transition state before AD with an annual conversion rate of MCI to AD evaluated between 16% and 41% (Gauthier et al., 2006).

In pathology, AD is characterized by abnormal amyloid beta peptide deposition, neurofibrillary tangles, and neurodegeneration. Additionally, vascular disorders play a critical role in the occurrence of cognitive impairment and neurodegeneration (Bell and Zlokovic, 2009; Benarroch, 2007; Farkas et al., 2000; Iadecola, 2010; Zlokovic, 2005).

In AD, the underlying mechanisms of this vascular dysfunction rely on the association of acetylcholine depletion and amyloid beta peptide deposition that induce functional vascular disorders (Claassen and Jansen, 2006; de la Torre and Stefano, 2000; Iadecola, 2010). The structural alterations of the neurovascular unit could be provoked by the functional alterations themselves (Farkas and Luiten, 2001).

Indeed, perfusion imaging studies showed a cerebral blood flow (CBF) decrease of 10–25% in temporal, parietal and frontal regions

* Corresponding author at: Unité IRM, BP 217-CHU Grenoble, F-38043 Grenoble cedex, France. Fax: +33 4 76 76 52 86.

E-mail address: akrainik@chu-grenoble.fr (A. Krainik).

(Chao et al., 2010; Dai et al., 2009; Du et al., 2006; Johnson et al., 2005; Kogure et al., 2000). Nevertheless, these studies on basal perfusion have not investigated vasomotor properties. None of them affords individual diagnosis.

Besides regional hypoperfusion of the brain, vasomotor impairments have been detected in animal and humans (Iadecola, 2004; Mueggler et al., 2002; Princz-Kranz et al., 2010; Shin et al., 2007). In patients, functional alterations of the vessel contractility were assessed using a vascular property, the cerebral vasoreactivity (CVR) to circulating gases and particularly to CO₂. The capnic modulation is commonly induced by apnea or acetazolamide injection. Despite methodological and practical limitations, transcranial Doppler (TCD) and computed tomography during stable Xenon inhalation (CT-Xenon) have shown impaired CVR (Oishi et al., 1999; Silvestrini et al., 2006).

TCD may provide a breath holding index by measuring blood velocity in the proximal portion of the middle cerebral arteries. This parameter was related to the mini-mental status examination (MMSE) (Silvestrini et al., 2006). However, TCD during apnea is heavily dependent on the operator expertise and the patient cooperation. Moreover, TCD estimates a global parameter, and is not a brain imaging technique able to depict potential regional changes that may better characterize AD.

CT-Xenon after acetazolamide injection has shown a reduction of the consecutive hyperperfusion of 6–8% in frontal, parietal and temporal cortices (Oishi et al., 1999). However, CT-Xenon is not commonly performed in clinical settings and results were not demonstrative at the individual level.

In AD, recent advances in MRI confirmed impaired hemodynamics, especially using blood oxygenation level dependent (BOLD) contrast, a widely available and non-invasive technique to investigate brain function. Indeed, BOLD functional MRI (fMRI) allows mapping brain regions involved in cognitive tasks, by measuring signal changes induced by the neurovascular coupling. Besides potential neuronal dysfunction that may explain differences of activation across populations, a delayed hemodynamic response has been identified (Rombouts et al., 2005). Yet, signal modifications related to neuronal activity can hardly be distinguished from those related to hemodynamic changes (Brown et al., 2003; Buxton et al., 2004; Cohen et al., 2002). Thus, recent BOLD fMRI studies during hypercapnic challenge with CO₂ inhalation have been conducted to estimate CVR in steno-occlusive pathology (Haller et al., 2008; Mandell et al., 2008; van der Zande et al., 2005; Ziyeh et al., 2005) and neurooncology (Jiang et al., 2010). In this way, a recent work has shown a forebrain deficit of CVR in prefrontal, anterior cingulate and insular cortices in AD (Yezhuvath et al., *in press*). In AD, vascular dysregulation would advocate for further developments of vasoprotective treatments (de la Torre, 2010; Luzzi et al., 2010).

Therefore, we looked at whether basal perfusion and hemodynamic responses to controlled inhalation of carbogen (a gas mixture of 93% O₂ and 7% CO₂) could be altered in AD and patients at risk with amnesic MCI. These patients were compared to controls using basal perfusion imaging with arterial spin labeling and dynamic BOLD response to carbogen. We paid attention to select individuals without moderate or severe microangiopathy. We hypothesized regional CVR impairment in patients. We also estimated the potential interest of this method to help for diagnosis at the individual level.

Subjects and methods

Participants

Thirty nine subjects were recruited to participate to the study that was approved by the institutional review board (DGS2007-0239). All subjects gave their informed consent according to the Declaration of Helsinki. Patients were prospectively recruited, in the Memory Center

of the Grenoble University Hospital. Patients were referred for memory complaints. They were not previously identified as patients with AD or MCI. Controls were selected among the general population after a recruitment announcement.

All subjects had a clinical and a neuropsychological examination including the Mini-Mental State Examination (MMSE) (Folstein et al., 1975) and the Clinical Dementia Rating (CDR) scale score (Hughes et al., 1982), a blood chemistry analysis (glycemia, triglycerids and total cholesterol level), and an ApoE genotyping. Subjects were classified into 3 groups according to the NINCDS-ADRDA criteria (McKhann et al., 1984) and the Petersen criteria (Petersen, 2004): AD group (MMSE = [14–24], CDR = 1); amnesic MCI group (MMSE = [24–30], CDR = 0.5); and control group (MMSE = [29–30], CDR = 0). Educational level was recorded. Inclusion criteria were: 1°) no contraindication to MRI scanning; 2°) right-handedness according to the Edinburgh Handedness Inventory (Oldfield, 1971); 3°) age range: 50–80 years; 4°) no active smoking; 5°) no alcohol or other drug addiction; 6°) no psychoactive medication; 7°) no untreated dyslipidemia or arterial hypertension; 8°) no stroke history; 9°) no general, neurological or psychiatric evolutive disease; and 10°) no guardianship procedure.

Exclusion criteria were: 1°) a severe stenosis (>70%) of the supra-aortic arteries on the MR angiography; 2°) stroke sequelae or moderate to severe micro-angiopathy on T2-FLAIR weighted images (simplified Fazekas scale > 1) (Inzitari et al., 2009); 3°) inappropriate imaging protocol; and 4°) anxiety induced by the hypercapnic challenge rated on a visual anxiety scale with a post-MRI increase > 20 mm (Hornblow and Kidson, 1976).

MR protocol

Imaging protocol was carried out on a 1.5 T Achieva MR scanner (Philips Healthcare®) at the Grenoble University Hospital, using a whole-body RF transmit and 8-channel head receive coils.

Anatomical studies

Anatomical studies consisted in a 3D gradient recalled echo (GRE) T1-weighted image (WI) (TR: 8.1 ms, TE: 3.8 ms, 1 × 1 × 1.3 mm voxel matrix, 256 mm field of view, 100 contiguous slices), axial transverse T2 FLAIR-WI (TR: 10,000 ms, TE: 110 ms, 1 × 1 × 4 mm voxel Matrix, 256 mm field of view, 29 contiguous slices). These sequences were acquired parallel to the anterior commissure–posterior commissure (AC–PC) plane. Orthogonal reformations were computed orthogonal to the hippocampal plane. An MR angiography was performed using a time of flight (TOF) sequence on the supra-aortic arteries.

Basal perfusion study

Basal perfusion was estimated using Pulsed ASL (PASL) with a Q2TIPS scheme, implemented by modifications of the Philips-distributed STAR sequence. A 200-mm label region was positioned axially to include the circle of Willis. Q2TIPS saturation was performed at a TI₁ adjusted on a per-subject basis. Twelve axial slices (4 × 4 × 5 mm voxel size) were acquired with a 15 mm label gap at TI₁ + 600 ms.

BOLD study

BOLD imaging consisted in a T₂*-WI GRE Echo Planar Imaging (EPI) acquisition (TR: 3000 ms, TE: 45 ms, alpha: 90°, 4 × 4 × 4 mm voxel size, 32 axial planes) with a whole brain coverage.

The capnic modulation was obtained using medical air and carbogen, a gas mixture of O₂ (93%) and CO₂ (7%), administered on simple blind mode, throughout the MRI, by a high concentration mask according to the following paradigm: [air (1 min) – carbogen (2 min) – air (1 min)] × 3, for a total duration of 12 min (Jiang et al., 2010). Physiological parameters including end-tidal CO₂ (EtCO₂), arterial oxygen saturation (SaO₂), heart rate and respiratory

frequency were monitored using a MR compatible device (Maglife, Brucker Medizintechnik®). Before and after the exam, a visual anxiety scale estimated anxiety related by the imaging procedure (Hornblow and Kidson, 1976). The total duration of the MR protocol was approximately 1 h.

Data processing

Anatomical data were analyzed to rate the hippocampal volume and the microangiopathy according to the Scheltens classification (Scheltens et al., 1992) and the simplified Fazekas scale (Inzitari et al., 2009), respectively. MR angiography was analyzed to rate vascular stenosis according to the NASCET measurement (Fox, 1993).

Perfusion and BOLD images were processed using MATLAB® and SPM5 software (Wellcome Department of Cognitive Neurology, UK). fMRI data pre-processing consisted in coregistration, motion correction (realignment), normalization to the Montreal Neurologic Institute template, and spatial smoothing with a 12-mm Gaussian kernel. Individual BOLD responses to carbogen inhalation were mapped using the general linear model. A dedicated physiological regressor was used for each group. Each regressor corresponded to the smoothed mean temporal variations of EtCO₂ during the paradigm (Fig. 1). In fact, BOLD responses could depend on vasomotor differences due to any variability in the capnic modulation across groups and not only to the presence of the pathology. The BOLD

response to the hypercapnic challenge was expressed as the percentage of BOLD signal change per mmHg change in EtCO₂. To avoid potential bias related to EtCO₂ recordings, we conducted additional analyses using a dedicated regressor obtained on healthy subjects (Jiang et al., 2010).

fMRI data were corrected for gray matter partial volume to minimize a potential confound due to differences in brain atrophy across groups. Gray and white matters were segmented and a gray matter mask was constructed by thresholding the individual smoothed gray matter maps. Both CBF and functional maps were divided by local gray matter density (Du et al., 2006; Johnson et al., 2005; Kato et al., 2008; Meltzer et al., 1990). Thus, maps of basal perfusion and vasoreactivity maps were obtained for each subject, as well as for each group.

A region of interest (ROI) analysis was also conducted on the frontal, parietal, temporal and occipital lobes, the cingulum, the insula, the striatum and the thalamus. ROIs were chosen by combining the regions from the AAL package in SPM5. In basal perfusion imaging using ASL, ROI analysis was restricted to the cingulum, the frontal and the parietal lobes because the other ROIs were incompletely covered by the acquisition volume. The partial volume correction was applied by dividing the mean ROI signal value by the mean ROI fraction of gray matter for each ROI.

Statistical analysis

Second-level statistical analyses and intergroup comparisons were further processed under SPSS 18.0®. Differences for age, gender, educational level, physiological parameters were tested with ANOVAs. In case of significance, post-hoc comparisons with Bonferroni correction for multiple comparisons were further conducted. ANOVAs with repeated measures were also conducted to test for the effects of the factors pathology, gender, ApoE genotype, and the covariable age. Correlations between these parameters were studied by Pearson tests. A multilinear regression analysis, with stepwise selection and a probability value to enter set at 0.05 and to exit the analysis set at 0.10, was further conducted to estimate the predictability of the MMSE among age, hippocampal atrophy, and CVR. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

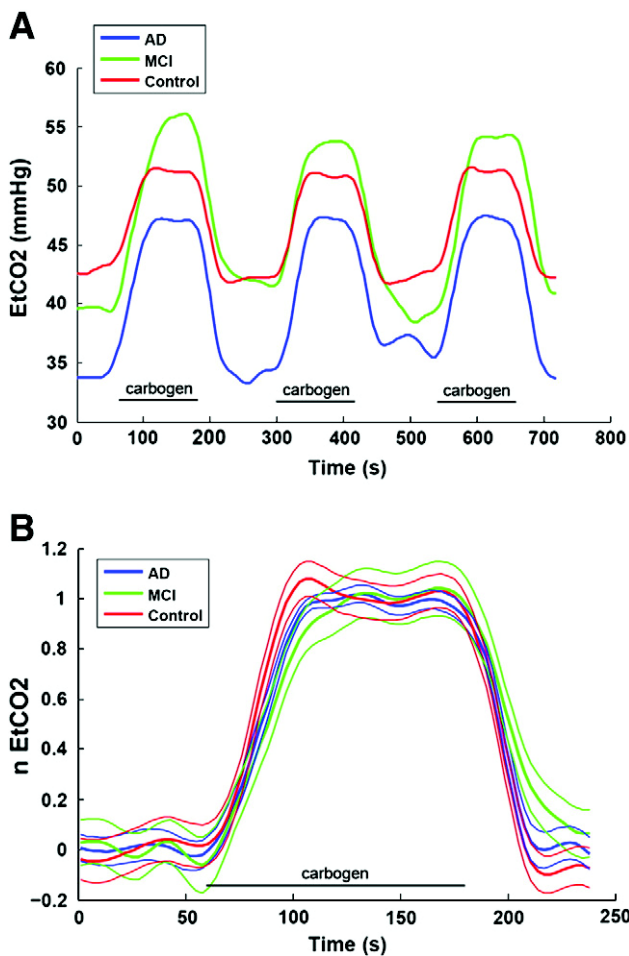


Fig. 1. A: Regressors used for fMRI analyses based on EtCO₂ time courses during carbogen inhalation. The baseline was lower in AD compared to controls. Carbogen inhalation raised EtCO₂ in all groups. Under carbogen, EtCO₂ was lower in AD compared to MCI. Mean EtCO₂ were not significantly different across groups (Table 4). B: EtCO₂ temporal profiles with standard error after normalization for the amplitude show similar onset over blocks.

Table 1
Demographic, clinical and biological data for each group (m ± sd).

	AD	MCI	Control
Number of subjects	9	7	11
Gender (male/female)	4/5	5/2	5/6
Age (years)	71.1 ± 6.7	64.1 ± 9.0	65.4 ± 9.3
Weight (kg)	69.4 ± 11.5	70.0 ± 6.1	67.7 ± 11.6
MMSE	21.7 ± 2.2	27.4 ± 1.8	29.5 ± 0.5
Educational level (1–3)	2.0 ± 0.7	2.6 ± 0.5	2.8 ± 0.4
Number of subjects with treated cardiovascular factor	4	3	5
ApoE genotype for ε4 allele (homozygote/heterozygote)	0/3	1/1	0/4
Glycemia (mmol/L)	4.4 ± 0.6	5.6 ± 0.8	4.9 ± 0.6
Cholesterolemia (mmol/L)	5.3 ± 0.8	5.9 ± 1.2	5.4 ± 1.2
Triglycerids (mmol/L)	1.3 ± 0.6	1.4 ± 0.5	1.2 ± 0.7

Table 2
Scores for hippocampal atrophy (Scheltens et al., 1992) and microangiopathy (Inzitari et al., 2009) (m ± sd).

	AD	MCI	Control
Scheltens (0–4)	2.1 ± 1.2	1.4 ± 1.0	0.9 ± 0.8
Fazekas (0–3)	0.4 ± 0.5	0.4 ± 0.5	0.5 ± 0.5

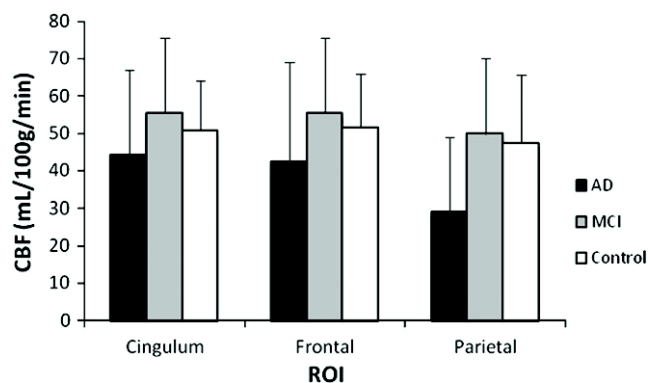


Fig. 2. Mean CBF at rest evaluated using ASL with standard deviation. Mean values in mL/100 g/min were lower in AD although intergroup differences were not significant.

Table 3

Pearson's correlation coefficients between basal perfusion measured by ASL, age, and hippocampal atrophy.

	Cingulum	Frontal	Parietal
Age	−0.38 (0.06)*	−0.56 (<0.01)	−0.52 (<0.01)
Hippocampal atrophy	−0.30 (0.15)	−0.37 (0.07)	−0.40 (0.04)

*Pearson's coefficient *r* (bilateral significance).

Results

Demographic, clinical, and biological data

Among 39 selected subjects, 12 subjects were excluded because of: 1° drop out between clinical examination and imaging protocol ($n = 3$), 2° incomplete functional imaging protocol due inappropriate inhalation task ($n = 3$), motion artifacts ($n = 1$), 3° severe internal carotid stenosis ($n = 1$), 4° smoking ($n = 2$), 5° sleep apnea syndrome ($n = 1$), and 6° untreated hypothyroidism ($n = 1$), leaving 27 subjects for further analysis with AD ($n = 9$), MCI ($n = 7$), and matched controls ($n = 11$). To note that inappropriate inhalation and movements artifacts were due to discomfort because of narrowness of the head coil when carrying the inhalation mask. Table 1 summarizes demographic, clinical and biological data. Although populations were not age-matched, there was no significant difference across groups for age, gender, and treated cardiovascular risk factors. However, glycemia was higher in MCI than in AD, and the educational level was higher in controls than in AD.

In AD group, 6 subjects had no treatment, 1 subject was treated for arterial hypertension by beta-blocker, 1 subject for hypertriglyceridemia by fibrates, and 1 subject for dyslipidemia by statin. In MCI group, 5 subjects had treatment, 1 subject was treated for arterial hypertension by angiotensin-II-receptor antagonist and thiazidique diuretic, 1 subject for dyslipidemia by statine. In control group, 8 subjects had no treatment, 1 was treated for arterial hypertension by angiotensin-II-receptor antagonist and thiazidique diuretic, 1 subject for arterial hypertension and dyslipidemia by beta-blocker and statin, and 1 subject for dyslipidemia by statin.

Table 4

Physiological parameters ($m \pm sd$) during air and carbogen inhalation. End tidal CO_2 ($EtCO_2$) is expressed in mmHg, heart rate in beats per minute, respiratory rate in breaths per minute, and arterial oxygen saturation (SaO_2) in %. Significant intergroup differences under air (*) and carbogen (**).

	$EtCO_2$ (mmHg)			Heart rate		Respiratory rate		SaO_2 (%)	
	Air	Carbogen	$\Delta EtCO_2$	Air	Carbogen	Air	Carbogen	Air	Carbogen
AD	34.6 \pm 5.6*	47.1 \pm 3.5**	12.3 \pm 5.4	63.5 \pm 8.2	63.6 \pm 8.7	12.9 \pm 2.4	12.4 \pm 3.4	97.3 \pm 1.5	97.0 \pm 1.6
MCI	39.9 \pm 7.3	54.1 \pm 7.8**	13.8 \pm 8.9	65.2 \pm 14.6	64.1 \pm 14.1	14.5 \pm 3.7	13.0 \pm 4.3	97.4 \pm 1.3	98.7 \pm 0.5
Control	42.3 \pm 5.5*	51.1 \pm 4.6	8.9 \pm 3.3	64.4 \pm 10.4	64.0 \pm 9.8	12.9 \pm 2.4	13.1 \pm 2.8	96.2 \pm 3.3	97.5 \pm 3.0

Anatomical study

Table 2 summarizes scores for hippocampal atrophy (Scheltens et al., 1992) and microangiopathy (Inzitari et al., 2009). It confirms the hippocampal atrophy in AD group compared to controls, and the absence of significant microangiopathy in all subjects.

Basal perfusion using ASL

Among the 27 subjects, 2 datasets could not be fully acquired because of technical problems, leaving 25 subjects for analysis: 8 in AD group, 6 in MCI group and 11 in control group. No intergroup difference reached significance although perfusion seemed decreased in AD in frontal, parietal and cingular regions (Fig. 2), as previously reported (Alsop et al., 2000; Johnson et al., 2005). CBF was similar in MCI and controls. CBF values were or tended to be negatively correlated with the age and the hippocampal atrophy in most ROIs (Table 3). However, no correlation with the MMSE could be detected.

Functional imaging

Physiological effects of carbogen inhalation

No side effect, including anxiety, was reported during and after carbogen inhalation. Carbogen inhalation did not induce significant change of the heart and respiratory rates, and O_2 saturation (SaO_2) (Table 4).

In all groups, the carbogen inhalation provoked an elevation of the $EtCO_2$. Mean values of $EtCO_2$ were significantly lower in AD under medical air compared to controls, and under carbogen compared to MCI (Fig. 1). Because of transients between each condition, the $\Delta EtCO_2$ was calculated at equilibrium as the difference between the mean $EtCO_2$ of the second minute of carbogen inhalation and the first minute of air inhalation, and averaged over the three blocks. There was no significant difference of $\Delta EtCO_2$ across groups (Table 4). Despite similar temporal profiles (Fig. 1) and because of intergroup differences in $EtCO_2$, the mean $EtCO_2$ time courses were kept as regressor for fMRI analysis of each group.

BOLD imaging

Carbogen inhalation elicited a whole brain BOLD response, predominant in gray matter in all subjects. In patients, mean CVR of the gray matter were decreased: $0.36 \pm 0.13\%$ BOLD/mmHg in AD, $0.36 \pm 0.12\%$ BOLD/mmHg in MCI, and $0.62 \pm 0.20\%$ BOLD/mmHg in controls. CVR was decreased in all ROIs (Figs. 3 and 4). The ANOVA did not show an effect of ROIs. However, impaired CVR seemed predominant in posterior ROIs (occipital and parietal). There was no significant difference between AD and MCI groups.

CVR values were negatively correlated with the cognitive impairment (MMSE) and the hippocampal atrophy in most ROIs (Table 5). No correlation was detected with the age or any other biological parameter.

The multilinear regression analysis conducted to investigate which parameters among age, hippocampal atrophy (Scheltens score), and mean CVR over ROIs may significantly account for the variance of the MMSE. Only, mean CVR was selected with an adjusted $R^2 = 0.33$.

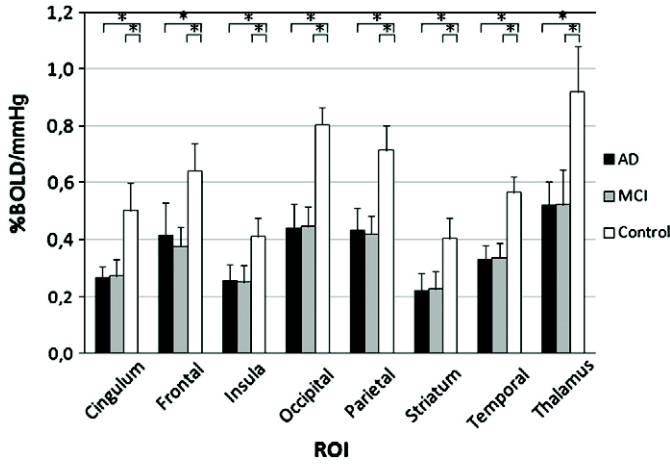


Fig. 3. Cerebral vasoreactivity (m ± sd, corrected for gray matter partial volume) was decreased in AD and MCI (*p < 0.001) in all ROIs.

BOLD signal curves obtained after normalization for the EtCO₂ time lag are represented in Fig. 5. The amplitude was similarly decreased in AD and MCI. After signal normalization and correction for timing of hypercapnia, the initial slope gradients during hypercapnic transition were: 2.48 ± 0.11 in arbitrary units in AD, 2.77 ± 0.12 in MCI, and 2.82 ± 0.05 in controls. The second slope gradients during hypercapnic steady-state were: 0.47 ± 0.05 in AD, 0.34 ± 0.06 in MCI, and 0.20 ± 0.04 in controls (Fig. 5). Intergroup comparisons conducted after partial volume correction, showed a significant and diffuse decrease in cerebral vasoreactivity in AD, particularly in the posteriors areas, compared to controls (Fig. 6). Especially, CVR was notably impaired in parietal, posterior cingular and occipital cortices, bilaterally. Similar differences were identified in MCI when compared to controls (data not shown). Illustrative individual T maps are presented in Fig. 7. There was a progressive increase of the CVR alteration, from MCI to AD, compared to control, without partial volume correction. Using these maps, AD and MCI were easily distinguishable from controls, in all cases.

Similar results were obtained using the EtCO₂ independent regressor. Indeed, CVR values (m ± se) corrected for partial volume effect but without EtCO₂ scaling were 1.91 ± 0.11% BOLD in AD, 1.89 ± 0.13 in MCI and 2.39 ± 0.08 in controls. The ANOVA with repeated

measures identified the same factors to explain the CVR variance, and especially the effect of the pathology across subjects.

Discussion

Vascular dysregulation has been advocated as a potential pathophysiological mechanism of AD. This process could occur before dementia (Alsop et al.; de la Torre, 2004; Farkas and Luiten, 2001; Iadecola, 2004, 2010). Indeed, impaired cerebral vasoreactivity (CVR) has been previously demonstrated in animal models (Mueggler et al., 2002; Princz-Kranz et al., 2010) and in humans (Oishi et al., 1999; Silvestrini et al., 2006; Yezhuvath et al., in press). However, very few imaging studies are available in patients. Thus, we conducted a BOLD fMRI study during carbogen inhalation in order to identify regional impairment of CVR in patients with AD and amnesic MCI. We have also estimated the ability of this technique to distinguish patients from controls at the individual level for better diagnosis. We paid attention to select participants without moderate or severe microangiopathy. Our results showed that impaired CVR was detected in whole brain, particularly in posterior areas, in both AD and MCI, even at the individual level. The BOLD response had smaller amplitude. In controls, the time-courses showed a rapid signal increase followed by a “plateau” during hypercapnic steady-state. In AD, the initial signal change was slightly slower but the signal increase lasted longer. Among age and hippocampal atrophy, mean CVR was the best predictor of the MMSE.

When compared with other techniques used to study cerebral vasoreactivity, MRI is non-invasive, non-irradiant, reproducible and widely spread, offering the opportunity for clinical applications. The temporal resolution allows dynamic imaging to follow signal change related to physiological events that occur in seconds, such as hemodynamic response to vasomotor stimuli. Repeated measurements can also be performed with whole-brain coverage. The infracentimetric spatial resolution is appropriate to study cortical and sulcogyral anatomy. Since about two decades and despite limitations, these performances were exploited in functional MRI (fMRI) to become the most popular technique for brain mapping in cognitive neuroscience and clinical practice (Logothetis, 2008). Recently, BOLD fMRI was proposed to study vascular properties in steno-occlusive disorders as an alternative to transcranial Doppler (TCD) and nuclear medicine (Haller et al., 2008; Ziyeh et al., 2005).

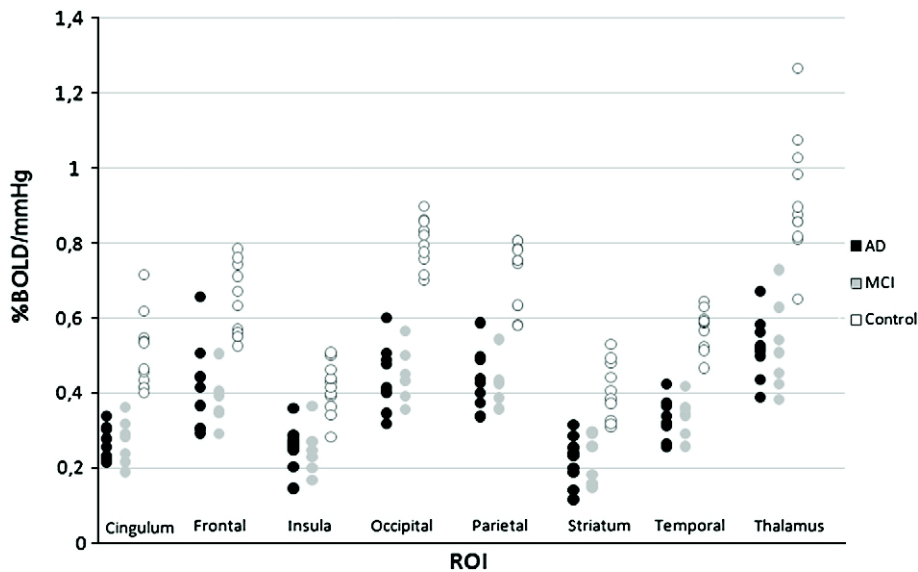


Fig. 4. Individual values of cerebral vasoreactivity (corrected for gray matter partial volume) were decreased in AD and MCI. Values did not overlap in cingulum, occipital, and temporal lobes.

Table 5
Pearson's correlation coefficients between CVR, MMSE, and hippocampal atrophy.

	Cingulum	Frontal	Insula	Occipital	Parietal	Striatum	Temporal	Thalamus
MMSE	0.59 (0.001)*	0.46 (0.02)	0.51 (<0.01)	0.64 (<0.001)	0.57 (<0.01)	0.53 (<0.01)	0.65 (<0.001)	0.56 (<0.01)
Hippocampal atrophy	-0.37 (0.06)	-0.28 (0.16)	-0.29 (0.15)	-0.45 (0.02)	-0.41 (0.04)	-0.37 (0.06)	-0.46 (0.02)	-0.27 (0.17)

*Pearson's coefficient r (bilateral significance).

To study CVR in AD, previous works were conducted using TCD (Silvestrini et al., 2006) and stable Xenon CT (Oishi et al., 1999). Contrary to TCD which is restricted to proximal arteries, MR signals allow brain imaging in adults to characterize cortical perfusion. Xenon CT characterizes brain perfusion quantitatively but remains poorly available.

We used carbogen at 7% as a vasomotor stimulus (Ashkanian et al., 2008, 2009; Jiang et al., 2010). Carbogen inhalation paradigm was well tolerated, without anxiety attack, heart or respiratory rate elevation. Compared to acetazolamide injection, carbogen inhalation is non invasive without contraindication. The vasomotor effect is brief and allows repeated stimuli. Carbogen induced an increase of EtCO₂ in all subjects, with Δ EtCO₂ ranging from 8.9 mmHg in controls to 13.8 mmHg in MCI (Table 4). Although not expected, some differences

between EtCO₂ levels were detected across groups. To our knowledge, Alzheimer's disease does not alter the cardiopulmonary function. These differences might have been due an information bias. Indeed, the significant differences were not continuous, detected between AD and controls under medical air, and between AD and MCI under carbogen. The gas mixture was administered through a facial mask but EtCO₂ was assessed with a nasal canula. Subjects were instructed to breathe out through the nose. Breathing out through the mouth, whereas not affecting the CO₂ inhalation, could have modified EtCO₂ recording. Thus, we can hardly assess that all subjects breathed out similarly along the task and across groups.

Despite the absence of population effect on Δ EtCO₂, some differences were detected between populations under EtCO₂ steady-states. Thus, we chose to take into account the EtCO₂ in the measurement of CVR, and to use the temporal change of EtCO₂ as regressor into the general linear model to better estimate the beta values and express CVR in % BOLD/mmHg. This choice has a potential concern. In fact, EtCO₂ measurements directly change CVR values. Then, the differences between controls and patients were amplified because mean Δ EtCO₂ were 8.9 mmHg in controls, instead of 13.8 mmHg in MCI and 12.3 mmHg in AD. Indeed, the mean CVR with EtCO₂ scaling was decreased of about 40% in patients whereas the mean CVR without scaling was decreased of about 20%. One may suppose that if controls would have breathed out a Δ EtCO₂ similar to patients that was approximately 40% higher, a theoretical value of CVR of 3.3% BOLD in controls could have been observed under a linear hypothesis. Then in patients, the mean CVR without EtCO₂ scaling of 1.9% BOLD would have been also 40% lower than in controls. This explains that the effect of the disease on CVR values remained significant with and without EtCO₂ scaling.

The perfusion increases by about 15% with carbogen at 5% CO₂ (Ashkanian et al., 2008). This hypercapnic stimulus has also the advantage to be independent from patient physical performance when compared to apnea or hyperventilation, during which breath depth is sufficient to modulate BOLD signal (Thomason and Glover, 2008).

Besides the increase of SaO₂ that accounts for a part of the elevation of the BOLD signal, the main limitations of this method are MRI contraindications, the necessity to remain strictly immobile during the acquisitions, and the absence of absolute quantification.

As shown in our study, CVR imaging using BOLD contrast MRI is a feasible technique in clinical practice. BOLD signal is dependent of the cerebral blood flow (CBF) that decreases the oxygen extraction fraction and the deoxyhemoglobin concentration. Thus, perfusion estimation was necessary to assess CVR. Using ASL, we did not find significant differences across groups although a mild decrease seemed present in AD as previously reported (Alsop et al., 2000; Chao et al., 2010; Dai et al., 2009; Johnson et al., 2005). If present, this hypoperfusion may have accounted for subtle differences between AD and controls. However, it would not explain CVR alteration in MCI who had normal perfusion. Furthermore, a basal perfusion decrease in AD would tend to induce an increase in the observed BOLD response, whereas we observed a significant decrease in BOLD CVR in AD patients. Thus, our results can hardly be explained by basal perfusion changes.

It would be of great interest to measure CVR using dynamic perfusion imaging such as ASL during hypercapnia (Noth et al., 2006). Unfortunately, ASL has a low signal to noise ratio at 1.5 T with the

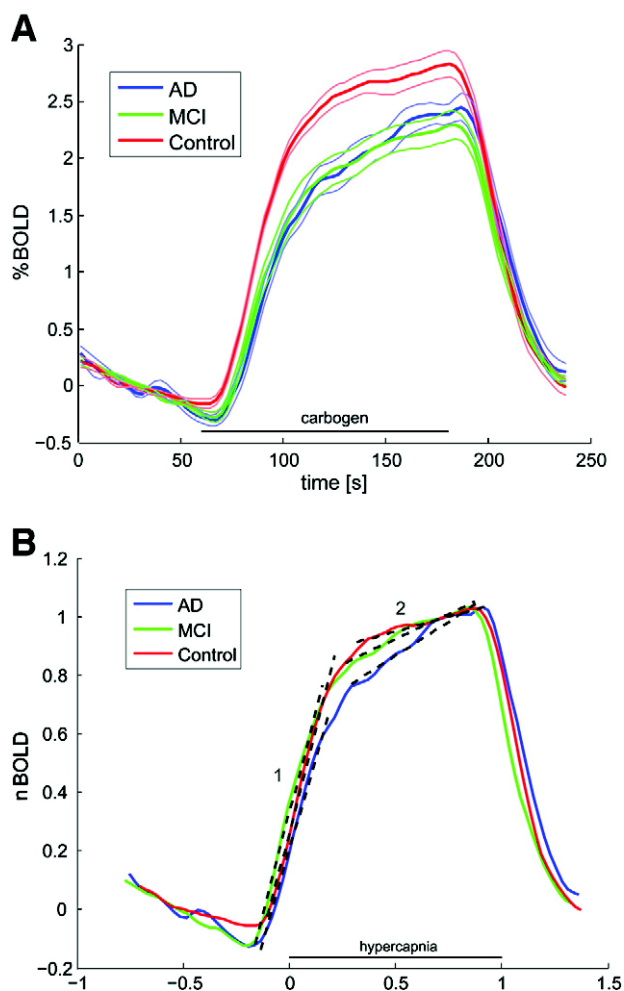


Fig. 5. A: percentage of BOLD signal (corrected for gray matter partial volume change) averaged over three blocks with standard error. Amplitudes of both AD and MCI were decreased. B: Normalized BOLD signal changes, averaged over three blocks and corrected for timing (onset and ending) of the per-group average hypercapnia response. Slopes of the response during hypercapnic transition (1) and steady-state (2) showed in controls a rapid signal increase followed by a "plateau" during hypercapnic steady-state. In AD, the signal profile was closer to a long-lasting increase to reach maximum.

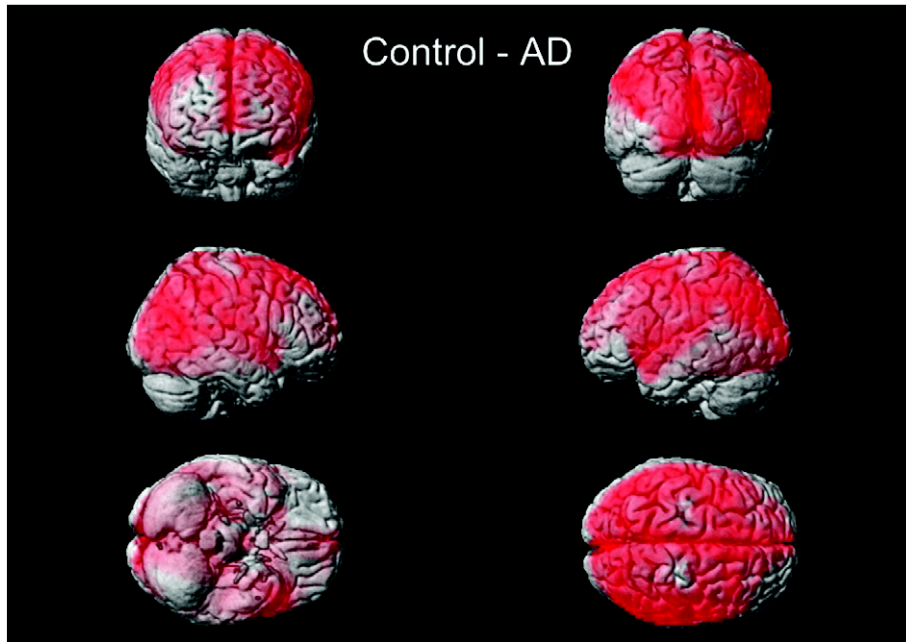


Fig. 6. Intergroup comparison of cerebral vasoreactivity shows significant decrease in AD when compared to controls ($p < 0.05$). Warm colors indicate areas with significant higher CVR in controls than in AD.

appropriate temporal resolution. Thus, we used ASL for measuring CBF at resting state, only. Moreover, our ASL-MRI implementation did not cover inferior regions of the brain such as the medial temporal cortex, where morphological abnormalities are obvious during AD and where several studies have noted perfusion abnormalities (Johnson et al., 2005; Scheltens et al., 1992).

Our data suggest the existence of diffuse vasomotor impairment, with a moderate predominance in posterior areas. These results are in line with previous studies, where basal CBF was reduced in parietal, temporal and posterior cingulate areas (Alsop et al., 2000; Johnson et al., 2005). Diffuse CVR impairment was also reported using Xenon CT (Oishi et al., 1999).

A recent study on patients with AD using BOLD fMRI during CO₂ inhalation has also shown a CVR decrease (Yezhuvath et al., in press). However, most CVR alteration was detected in rostral brain, in contrary to our findings. The image acquisition and processing were roughly similar but the hypercapnic stimulus was different. This stimulus difference could hardly account for regional change in similar populations. Thus, we hypothesize that spatial discrepancy of CVR impairment could be due to patient selection. Indeed, patients

with non-treated cardiovascular risk factors, smoking status, a stroke history, or significant microangiopathy have not been excluded from this previous study, while we paid attention in recruiting subjects without untreated cardiovascular risk factors to avoid studying a patient with vascular dementia or mixed dementia. In fact, a comparative study among patients with dementia, with and without vascular risk factors, would be important to look for regional difference and to better characterize potential nosological subgroups.

In AD and MCI, the BOLD response to carbogen inhalation had both smaller amplitude and different temporal gradient (Fig. 5). This would suggest a combined functional vasomotor disorder with a vasodilatory limitation. Although neurovascular coupling and CVR are different physiological functions, a delayed hemodynamic response was previously reported in a BOLD fMRI study during a cognitive task in AD (Rombouts et al., 2005). In MCI, this would suggest that functional vasomotor impairment may occur even at the early stage of the disease, and worsen progressively, preceding structural alteration and basal perfusion decrease. The correction for partial volume effect has discarded the CVR differences between MCI and AD at individual level, while without such correction, CVR maps were intermediate between

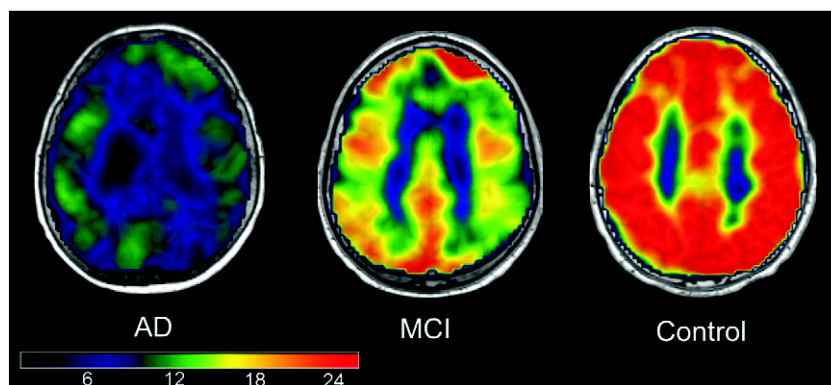


Fig. 7. Illustrative individual T maps, representing BOLD response to carbogen inhalation, without partial volume effect correction. Compared to control (58 yo man; MMSE = 29; hippocampal atrophy = 0; mean CVR without EtCO₂ scaling = 2.38% BOLD; mean CVR with EtCO₂ scaling = 0.58% BOLD/mmHg), CVR responses of patients with MCI (76 yo man; MMSE = 27; hippocampal atrophy = 3; mean CVR without EtCO₂ scaling = 1.81% BOLD; mean CVR with EtCO₂ scaling = 0.33% BOLD/mmHg) and AD (81 yo woman; MMSE = 22; hippocampal atrophy = 4; mean CVR without EtCO₂ scaling = 1.30% BOLD; mean CVR with EtCO₂ scaling = 0.30% BOLD/mmHg) were diffusely decreased.

AD and controls (Fig. 7). Thus, such differences between AD and MCI would be mainly related to cortical atrophy whereas differences between MCI and controls would be due to CVR impairment.

The results of the study emphasize the potential pathophysiological role of vascular dysregulation in AD (Farkas and Luiten, 2001). Thus, the alterations of CVR would occur at the early stage of the disease. The underlying mechanisms of this vascular dysfunction in AD rely on several processes that remain controversial. Amyloid beta peptide deposition has been advocated (Iadecola, 2010). Actually, amyloid beta peptide deposition is able to regulate the vasomotor system, directly or through the interaction of other vasoactive elements such as NO or free radicals (de la Torre and Stefano, 2000). Recent failure in AD immunotherapy (Holmes et al., 2008) has reinforced the hypothesis of the harmful structural role of the amyloid protein. Indeed, the increase in vascular lesions that has been shown in treated patients could be due to the accumulation of amyloid protein, during its elimination, after the destruction of the deposits (Boche et al., 2008). As a matter of fact, such deposits are found in blood vessel walls during amyloid angiopathy, a well-known vascular disorder. Acetylcholine depletion has also been emphasized. Acetylcholine has vasoactive properties and cholinergic neurons project on neurovascular unit (Claassen and Jansen, 2006; Farkas and Luiten, 2001). Nitric oxide (NO) participation has also been stressed, as NO is modulated by acetylcholine salting out (Claassen and Jansen, 2006; Tong and Hamel, 1999). Finally, the role of other triggering elements such as Myocardin (transcription coactivator) and SRF (transcriptional factor) has recently been emphasized. These elements modulate amyloid protein clearance and contractile protein synthesis (Bell and Zlokovic, 2009).

As a consequence, cerebral blood vessels could initially lack the dynamic capacity to modulate their diameter. These functional alterations, associated with other conditions such as the effect of circulating amyloid protein could initiate a durable vasoconstriction, leading to basal hypoperfusion. This hypoperfusion could finally induce microarchitectural alterations of the neurovascular unit. Because of the close relations between neurons and capillaries in the neurovascular unit (Frontczak-Baniewicz and Walski, 2006), these structural disorders could lead to neuronal metabolic support deficit. This deficit, in its turn, could in long term participate in the neurodegeneration and cognitive impairment (Farkas and Luiten, 2001; Girouard and Iadecola, 2006).

To note that ApoE4 homozygote genotype is a genetic risk factor for AD, we found an equal repartition of ApoE4 allele across group, without overexpression in AD group. Thus, intergroup difference could not be supported by genotype.

Finally, individual maps allowed distinguishing patients from controls. Indeed, mean CVR was the best predictor of the MMSE, accounting for a third of its variance. However, the size of the populations of the study could hardly assess an appropriate diagnosis performance. As the imaging procedure is non invasive and feasible, it could be investigated in clinical settings to better help neurologists to characterize patients with possible AD or MCI. Long lasting follow-up could also help to identify AD converters among MCI patients. A quantitative assessment of CVR using ASL on an at least 3 T MRI should also be investigated. These preliminary findings provide additional elements of the role of vascular dysregulation in AD, and may emphasize for further developments of vasoprotective treatments (de la Torre, 2010; Luzzi et al., 2010).

Acknowledgments

We acknowledge the financial support of the University Hospital of Grenoble (PHRC CEVASAL no. 0633), the University Joseph Fourier, and the precious help of Mrs Florence Puch and the Hormonal and Nutritional Biochemistry Department from University Hospital of Grenoble.

References

- Alsop, D.C., Detre, J.A., Grossman, M., 2000. Assessment of cerebral blood flow in Alzheimer's disease by spin-labeled magnetic resonance imaging. *Ann. Neurol.* 47, 93–100.
- Ashkanian, M., Borghammer, P., Gjedde, A., Ostergaard, L., Vafaee, M., 2008. Improvement of brain tissue oxygenation by inhalation of carbogen. *Neuroscience* 156, 932–938.
- Ashkanian, M., Gjedde, A., Mouridsen, K., Vafaee, M., Hansen, K.V., Ostergaard, L., Andersen, G., 2009. Carbogen inhalation increases oxygen transport to hypoperfused brain tissue in patients with occlusive carotid artery disease: increased oxygen transport to hypoperfused brain. *Brain Res.* 1304, 90–95.
- Bell, R.D., Zlokovic, B.V., 2009. Neurovascular mechanisms and blood–brain barrier disorder in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol.* 118, 103–113.
- Benarroch, E.E., 2007. Neurovascular unit dysfunction: a vascular component of Alzheimer disease? *Neurology* 68, 1730–1732.
- Boche, D., Zotova, E., Weller, R.O., Love, S., Neal, J.W., Pickering, R.M., Wilkinson, D., Holmes, C., Nicoll, J.A., 2008. Consequence of Abeta immunization on the vasculature of human Alzheimer's disease brain. *Brain* 131, 3299–3310.
- Brown, G.G., Elyer Zorrilla, L.T., Georgy, B., Kindermann, S.S., Wong, E.C., Buxton, R.B., 2003. BOLD and perfusion response to finger-thumb apposition after acetazolamide administration: differential relationship to global perfusion. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 23, 829–837.
- Buxton, R.B., Uludag, K., Dubowitz, D.J., Liu, T.T., 2004. Modeling the hemodynamic response to brain activation. *Neuroimage* 23 (Suppl. 1), S220–S233.
- Chao, L.L., Buckley, S.T., Kornak, J., Schuff, N., Madison, C., Yaffe, K., Miller, B.L., Kramer, J.H., Weiner, M.W., 2010. ASL perfusion MRI predicts cognitive decline and conversion from MCI to dementia. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* 24, 19–27.
- Claassen, J.A., Jansen, R.W., 2006. Cholinergically mediated augmentation of cerebral perfusion in Alzheimer's disease and related cognitive disorders: the cholinergic-vascular hypothesis. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 61, 267–271.
- Cohen, E.R., Ugurbil, K., Kim, S.G., 2002. Effect of basal conditions on the magnitude and dynamics of the blood oxygenation level-dependent fMRI response. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 22, 1042–1053.
- Dai, W., Lopez, O.L., Carmichael, O.T., Becker, J.T., Kuller, L.H., Gach, H.M., 2009. Mild cognitive impairment and Alzheimer disease: patterns of altered cerebral blood flow at MR imaging. *Radiology* 250, 856–866.
- de la Torre, J.C., 2004. Is Alzheimer's disease a neurodegenerative or a vascular disorder? Data, dogma, and dialectics. *Lancet Neurol.* 3, 184–190.
- de la Torre, J.C., 2010. Alzheimer's disease is incurable but preventable. *J. Alzheimers Dis.* 20, 861–870.
- de la Torre, J.C., Stefano, G.B., 2000. Evidence that Alzheimer's disease is a microvascular disorder: the role of constitutive nitric oxide. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 34, 119–136.
- Du, A.T., Jahng, G.H., Hayasaka, S., Kramer, J.H., Rosen, H.J., Gorno-Tempini, M.L., Rankin, K.P., Miller, B.L., Weiner, M.W., Schuff, N., 2006. Hypoperfusion in frontotemporal dementia and Alzheimer disease by arterial spin labeling MRI. *Neurology* 67, 1215–1220.
- Farkas, E., De Jong, G.I., de Vos, R.A., Jansen Steur, E.N., Luiten, P.G., 2000. Pathological features of cerebral cortical capillaries are doubled in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Acta Neuropathol.* 100, 395–402.
- Farkas, E., Luiten, P.G., 2001. Cerebral microvascular pathology in aging and Alzheimer's disease. *Prog. Neurobiol.* 64, 575–611.
- Ferri, C.P., Prince, M., Brayne, C., Brodaty, H., Fratiglioni, L., Ganguli, M., Hall, K., Hasegawa, K., Hendrie, H., Huang, Y., Jorm, A., Mathers, C., Menezes, P.R., Rimmer, E., Sczufca, M., 2005. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet* 366, 2112–2117.
- Fox, A.J., 1993. How to measure carotid stenosis. *Radiology* 186, 316–318.
- Folstein, M.F., Folstein, S.E., McHugh, P.R., 1975. Mini-mental state: a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J. Psychiatr.* 12, 129–138.
- Frontczak-Baniewicz, M., Walski, M., 2006. Ultrastructural features of the neurovascular unit in Alzheimer's neurodegeneration. *J. Physiol. Pharmacol.* 57 (Suppl. 4), 91–96.
- Gauthier, S., Reisberg, B., Zaudig, M., Petersen, R.C., Ritchie, K., Broich, K., Belleville, S., Brodaty, H., Bennett, D., Chertkow, H., Cummings, J.L., de Leon, M., Feldman, H., Ganguli, M., Hampel, H., Scheltens, P., Tierney, M.C., Whitehouse, P., Winblad, B., 2006. Mild cognitive impairment. *Lancet* 367, 1262–1270.
- Girouard, H., Iadecola, C., 2006. Neurovascular coupling in the normal brain and in hypertension, stroke, and Alzheimer disease. *J. Appl. Physiol.* 100, 328–335.
- Haller, S., Bonati, L.H., Rick, J., Klarhofer, M., Speck, O., Lyrer, P.A., Bilecen, D., Engelter, S.T., Wetzel, S.G., 2008. Reduced cerebrovascular reserve at CO₂ BOLD MR imaging is associated with increased risk of periinterventional ischemic lesions during carotid endarterectomy or stent placement: preliminary results. *Radiology* 249, 251–258.
- Holmes, C., Boche, D., Wilkinson, D., Yadegarfar, G., Hopkins, V., Bayer, A., Jones, R.W., Bullock, R., Love, S., Neal, J.W., Zotova, E., Nicoll, J.A., 2008. Long-term effects of Abeta42 immunisation in Alzheimer's disease: follow-up of a randomised, placebo-controlled phase I trial. *Lancet* 372, 216–223.
- Hornblow, A.R., Kidson, M.A., 1976. The visual analogue scale for anxiety: a validation study. *Aust. N. Z. J. Psychiatry* 10, 339–341.
- Hughes, C.P., Berg, L., Danziger, W.L., Coben, L.A., Martin, R.L., 1982. A new clinical scale for the staging of dementia. *Br. J. Psychiatry* 140, 566–572.
- Iadecola, C., 2004. Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 5, 347–360.
- Iadecola, C., 2010. The overlap between neurodegenerative and vascular factors in the pathogenesis of dementia. *Acta Neuropathol.* 120, 287–296.

- Inzitari, D., Pracucci, G., Poggesi, A., Carlucci, G., Barkhof, F., Chabriat, H., Erkinjuntti, T., Fazekas, F., Ferro, J., Hennerici, M., Langhorne, P., O'Brien, J., Schletens, P., Visser, M., Wahlund, L., Waldemar, G., Wallin, A., Pantoni, L., Group, L.S., 2009. Changes in white matter as determinant of global functional decline in older independent outpatients: three year follow-up of LADIS (leukoaraiosis and disability) study cohort. *BMJ* 339, b2477.
- Jiang, Z., Krainik, A., David, O., Salon, C., Tropres, I., Hoffmann, D., Pannetier, N., Barbier, E.L., Bombin, E.R., Warnking, J., Pasteris, C., Chabardes, S., Berger, F., Grand, S., Segebarth, C., Gay, E., Le Bas, J.F., 2010. Impaired fMRI activation in patients with primary brain tumors. *Neuroimage* 52, 538–548.
- Johnson, N.A., Jahng, G.H., Weiner, M.W., Miller, B.L., Chui, H.C., Jagust, W.J., Gorno-Tempini, M.L., Schuff, N., 2005. Pattern of cerebral hypoperfusion in Alzheimer disease and mild cognitive impairment measured with arterial spin-labeling MR imaging: initial experience. *Radiology* 234, 851–859.
- Kato, H., Shimosegawa, E., Oku, N., Kitagawa, K., Kishima, H., Saitoh, Y., Kato, A., Yoshimine, T., Hatazawa, J., 2008. MRI-based correction for partial-volume effect improves detectability of intractable epileptogenic foci on 123I-iodoazenil brain SPECT images. *J. Nucl. Med.* 49, 383–389.
- Kogure, D., Matsuda, H., Ohnishi, T., Asada, T., Uno, M., Kunihiro, T., Nakano, S., Takasaki, M., 2000. Longitudinal evaluation of early Alzheimer's disease using brain perfusion SPECT. *J. Nucl. Med.* 41, 1155–1162.
- Logothetis, N.K., 2008. What we can do and what we cannot do with fMRI. *Nature* 453, 869–878.
- Luzzi, S., Vella, L., Bartolini, M., Provinciali, L., Silvestrini, M., 2010. Atherosclerosis in the evolution of Alzheimer's disease: can treatment reduce cognitive decline? *J. Alzheimers Dis.* 20, 893–901.
- Mandell, D.M., Han, J.S., Poublanc, J., Crawley, A.P., Stainsby, J.A., Fisher, J.A., Mikulis, D.J., 2008. Mapping cerebrovascular reactivity using blood oxygen level-dependent MRI in Patients with arterial steno-occlusive disease: comparison with arterial spin labeling MRI. *Stroke* 39, 2021–2028.
- McKhann, G., Drachman, D., Folstein, M., Katzman, R., Price, D., Stadlan, E.M., 1984. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* 34, 939–944.
- Meltzer, C.C., Leal, J.P., Mayberg, H.S., Wagner Jr., H.N., Frost, J.J., 1990. Correction of PET data for partial volume effects in human cerebral cortex by MR imaging. *J. Comput. Assist. Tomogr.* 14, 561–570.
- Mueggler, T., Sturchler-Pierrat, C., Baumann, D., Rausch, M., Staufenbiel, M., Rudin, M., 2002. Compromised hemodynamic response in amyloid precursor protein transgenic mice. *J. Neurosci.* 15, 7218–7224.
- Noth, U., Meadows, G.E., Kotajima, F., Deichmann, R., Corfield, D.R., Turner, R., 2006. Cerebral vascular response to hypercapnia: determination with perfusion MRI at 1.5 and 3.0 Tesla using a pulsed arterial spin labeling technique. *J. Magn. Reson. Imaging* 24, 1229–1235.
- Oishi, M., Mochizuki, Y., Takasu, T., 1999. Regional differences in cerebrovascular reactivity to acetazolamide in Alzheimer's disease. *J. Clin. Neurosci.* 6, 380–381.
- Oldfield, R.C., 1971. The assessment and analysis of handedness: the Edinburgh inventory. *Neuropsychologia* 9, 97–113.
- Petersen, R.C., 2004. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *J. Intern. Med.* 256, 183–194.
- Princz-Kranz, F.L., Mueggler, T., Knobloch, M., Nitsch, R.M., Rudin, M., 2010. Vascular response to acetazolamide decreases as a function of age in the arcA beta mouse model of cerebral amyloidosis. *Neurobiol. Dis.* 40, 284–292.
- Rombouts, S.A., Goekoop, R., Stam, C.J., Barkhof, F., Scheltens, P., 2005. Delayed rather than decreased BOLD response as a marker for early Alzheimer's disease. *Neuroimage* 26, 1078–1085.
- Scheltens, P., Leys, D., Barkhof, F., Huglo, D., Weinstein, H.C., Vermeesch, P., Kuiper, M., Steinling, M., Wolters, E.C., Valk, J., 1992. Atrophy of medial temporal lobes on MRI in "probable" Alzheimer's disease and normal ageing: diagnostic value and neuropsychological correlates. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 55, 967–972.
- Shin, H.K., Jones, P.B., Garcia-Alloza, M., Borrelli, L., Greenberg, S.M., Bacskai, B.J., Frosch, M.P., Hyman, B.T., Moskowitz, M.A., Ayata, C., 2007. Age-dependent cerebrovascular dysfunction in a transgenic mouse model of cerebral amyloid angiopathy. *Brain* 130, 2310–2319.
- Silvestrini, M., Pasqualetti, P., Baruffaldi, R., Bartolini, M., Handouk, Y., Matteis, M., Moffa, F., Provinciali, L., Vernieri, F., 2006. Cerebrovascular reactivity and cognitive decline in patients with Alzheimer disease. *Stroke* 37, 1010–1015.
- Thomason, M.E., Glover, G.H., 2008. Controlled inspiration depth reduces variance in breath-holding-induced BOLD signal. *Neuroimage* 39, 206–214.
- Tong, X.K., Hamel, E., 1999. Regional cholinergic denervation of cortical microvessels and nitric oxide synthase-containing neurons in Alzheimer's disease. *Neuroscience* 92, 163–175.
- van der Zande, F.H., Hofman, P.A., Backes, W.H., 2005. Mapping hypercapnia-induced cerebrovascular reactivity using BOLD MRI. *Neuroradiology* 47, 114–120.
- Yezhuvath, U.S., Uh, J., Cheng, Y., Martin-Cook, K., Weiner, M., Diaz-Arrastia, R., van Osch, M., Lu, H., in press. Forebrain-dominant deficit in cerebrovascular reactivity in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging*. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2010.02.005, electronic publication ahead of print.
- Ziyeh, S., Rick, J., Reinhard, M., Hetzel, A., Mader, I., Speck, O., 2005. Blood oxygen level-dependent MRI of cerebral CO₂ reactivity in severe carotid stenosis and occlusion. *Stroke* 36, 751–756.
- Zlokovic, B.V., 2005. Neurovascular mechanisms of Alzheimer's neurodegeneration. *Trends Neurosci.* 28, 202–208.

9.4 Discussion complémentaire et conclusion

Nous avons analysé les niveaux de perfusion basale par ASL, ainsi que la vasoréactivité par étude des variations de signal BOLD lors de la modulation de la capnie. Les données de vasoréactivité ASL n'ont finalement pas pu être incluses dans la publication du fait de résultats peu robustes. En effet, l'ASL à 1,5 T souffre d'un rapport signal sur bruit faible, les cartes de perfusion basales ont ainsi pu être exploitées mais les cartes de vasoréactivité en ASL étaient bien trop bruitées pour être informatives. Nous avons donc préféré ne pas présenter ces résultats.

Les données de 9 patients suivis pour une AD, 7 MCI et 11 sujets témoins ont été analysées. Une baisse de la perfusion basale a été montrée, par ASL, chez les patients AD. Une altération diffuse significative de la vasoréactivité cérébrale a été mise en évidence par l'IRMf BOLD dans les groupe AD et MCI, en particulier dans les régions corticales postérieures, comparativement au groupe témoin. Ces observations confirment l'existence d'altérations de la vasoréactivité dans l'AD au cours de laquelle il existe une perte de la capacité de modulation du débit sanguin cérébral, en réponse au stimulus hypercapnique.

De plus, la figure 4 de la publication montre que l'on peut différencier tous les sujets AD ou MCI des témoins à l'échelle individuelle et non plus du groupe. Cette technique de mesure de la vasoréactivité pourrait donc être utilisée en clinique pour aider au diagnostic des démences.

Ce travail a fourni des résultats encourageants pour poursuivre l'étude de la vasoréactivité cérébrale dans la maladie d'Alzheimer. L'utilisation d'une IRM 3 T en ASL permettrait de mieux quantifier la vasoréactivité cérébrale. Des études longitudinales de patients permettraient également de mieux les caractériser afin d'identifier d'éventuels marqueurs pronostiques chez les patients MCI susceptibles d'évoluer vers une AD. Une meilleure connaissance de la physiopathologie de ces troubles permettra de poursuivre le développement de thérapeutiques vasoprotectrices.

Chapitre 10

L'imagerie de la vasoréactivité cérébrale dans les sténoses supra-aortiques : le protocole CEVASTOC

Un des objectifs de nos recherches est d'appliquer les méthodes implémentés directement en clinique. Pour ce faire, nous avons travaillé sur des patients atteints de sténoses extra- et intra-crâniennes. Ce chapitre présente les résultats obtenus sur un groupe de sujets atteints de sténoses des carotides ou de l'artère cérébrale moyenne.

Il présente aussi deux études de cas illustratifs, l'un présentant le cas d'un patient porteur d'une sténose serrée de l'artère cérébrale moyenne droite, et l'autre atteint de la maladie de Moya-Moya avec occlusion de l'artère cérébrale moyenne droite.

L'étude d'un autre cas d'une patiente porteuse d'une sténose intracrânienne, avant et après chirurgie, a été soumise à publication, celui ci est disponible en annexe de ce manuscrit (annexe 2).

10.1 Intérêt de la mesure de la réserve vasculaire chez des patients porteurs de sténoses

La pathologie artérielle sténo-occlusive correspond à un rétrécissement pathologique de la lumière artérielle, le plus souvent par une plaque d'athérosclérose. L'atteinte des troncs supra-aortiques est fréquente alors que celle des artères intra-crâniennes est plus rare. L'existence d'une sténose artérielle intra-crânienne (SAIC) est présente dans 5-10% des AVC (Sacco et al., 1995) soit 7500 à 15000 cas / an en France. En aval de la plaque d'athérome, la survenue d'un AVC ischémique répond à 2 mécanismes principaux, l'AVC d'origine thrombo-embolique et l'AVC d'origine hémodynamique.

L'AVC thrombo-embolique est du à la migration d'un fragment de la plaque d'athérome qui obstrue une branche artérielle en aval de la sténose (Inzitari et al., 2000; Chimowitz et al., 2011). En présence d'une SAIC sévère (>70%), le risque d'AVC thrombo-embolique est proche de 20% à 1 an (Chimowitz et al., 2005; Kasner et al., 2006) et de 40% à 2 ans (Mazighi et al., 2006). Le traitement est médical et il vise à fluidifier le sang et à lutter contre les facteurs de risque de l'athérosclérose (hypertension artérielle, diabète, hypercholestérolémie,...).

L'AVC hémodynamique est la conséquence de la réduction de la réserve vasculaire. En aval d'une sténose, une vasodilatation artériolaire physiologique permet de maintenir la

perfusion cérébrale constante grâce à l'autorégulation présenté dans la section 1.4.2. Cette capacité à faire face à un hypodébit artériel systémique en augmentant le calibre artériolaire s'appelle la réserve vasculaire. Lorsque cette réserve vasculaire s'épuise, le risque d'AVC ischémique augmente davantage (Markus & Cullinane, 2001), jusqu'à 60% à 2 ans (Mazighi et al., 2006). Le traitement de ce risque supplémentaire d'AVC n'est pas encore bien établi. Effectivement, alors que le traitement chirurgical des sténoses artérielles carotidiennes supérieures à 70% est admis, le traitement des SAIC demeure débattu (Chimowitz et al., 2011). La pose d'un stent¹ intra-cérébral est un traitement qui comporte des risques non négligeables pour le patient. Une étude de Chimowitz et al. en 2011 a été arrêtée à cause d'un nombre trop important de complications dans le groupe de patients traités par stent comparativement aux patients suivis par des traitement médicamenteux. Or, cette étude comme l'ensemble des précédentes sur le traitement des SAIC n'identifiait pas de façon objective le risque supplémentaire d'AVC que représente la diminution de la réserve vasculaire. Au mieux, le caractère hémodynamique d'une SAIC est reconnu cliniquement en présence de symptômes déficitaires survenant lors d'un changement de position du sujet (allongé à debout), d'un effort ou à l'introduction d'un nouveau traitement antihypertenseur. Avec ces critères en faveur d'une perte de la réserve vasculaire, 27% des SAIC auraient un risque d'AVC hémodynamique. Cette proportion de SAIC « hémodynamiques » pourrait être sous-évaluée.

La mesure de la réserve vasculaire permettrait d'identifier les SAIC « hémodynamiques ». Les anomalies en imagerie pourraient être identifiées avant que les signes cliniques soient trop sévères et de justifier le risque thérapeutique lié à la pose d'un stent intra-crânien. De plus, l'imagerie de la réserve montre la région cérébrale à risque et permettrait de suivre l'efficacité du traitement.

La mesure de la réserve vasculaire peut être approchée grâce aux mesures de la vasoréactivité cérébrale, ces techniques ont été présentées dans le chapitre 3.3. Les techniques que nous avons choisies d'utiliser sont l'IRM fonctionnelle BOLD et l'ASL, avec un stimulus hypercapnique (Haller et al., 2008; Mandell et al., 2008b; Heyn et al., 2010).

L'objectif du présent projet est d'évaluer l'intérêt de la mesure de la vasoréactivité dans cette application.

10.2 Matériel et Méthodes

Sujets

Neuf patients porteurs d'une sténose artérielle serrée (>70%) mesurée en angiotomodensitométrie ont été examinés en IRM avec une mesure de la vasoréactivité en BOLD. Sur ces 9 sujets, 3 étaient porteurs d'une sténose serrée de la carotide interne (CI) et 6 d'une sténose serrée de l'artère cérébrale moyenne (table 10.1). Une patiente a été examinée avant puis après traitement endovasculaire par stent (étude de cas, section 10.4).

De plus, 28 volontaires en ASL et 85 volontaires en BOLD, acquis dans des protocoles annexes, ont été inclus dans cette étude afin de comparer les résultats obtenus chez les patients aux résultats d'une population sans sténose. J'ai acquis et traité les données d'ASL, de BOLD et de DSC pour les patients, et les volontaires en ASL, les acquisitions

1. Le stent est un dispositif tubulaire constitué de mailles que l'on glisse dans l'artère sténosée pour la maintenir ouverte. Certains stent sont dits « actifs » lorsqu'ils sont recouverts d'une substance médicamenteuse empêchant la reconstruction de la plaque d'athérome.

et les traitements sur volontaires en BOLD n'ont par contre pas été réalisés dans le cadre de cette thèse.

Examen IRM

Les données de ces patients ont été comparées à celles obtenues sur des volontaires sans sténose artérielle cervico-encéphalique (visible sur une angiographie ARM TOF) lors d'une épreuve hypercapnique identique en contraste BOLD (n=85) et en ASL (perfusion cérébrale basale et vasoréactivité) (n=28) (table 10.1).

Toutes les mesures par ASL (n= 9 patients et 28 volontaires), et DSC (n= 8 patients) ont été acquises sur une IRM 3 Tesla Philips (Achieva TX scanner, Best, Pays-Bas). Les mesures BOLD ont été acquises soit sur une IRM 3 Tesla Philips (Achieva TX scanner, Best, Pays-Bas) (n= 9 patients); soit sur une IRM 3 Tesla Bruker (Medspec, Ettlingen, Allemagne) (n=37 volontaires), soit sur une IRM 1,5 Tesla Philips (Achieva scanner, Best, Pays-Bas) (n=48) (table 10.1). Les antennes 8 ou 32 canaux étaient utilisées.

	Volontaires	Sténoses CI	Sténoses MCA
ASL basal	28	3	6
ASL vasoréactivité	28	3	6
BOLD vasoréactivité	85	3	6
DSC basal	-	3	5

TABLE 10.1 – Récapitulatif des sujets inclus dans l'étude CEVASTOC pour la mesure du CBF basal et de la vasoréactivité en ASL, pour la mesure de la vasoréactivité en BOLD, et pour la mesure de la perfusion basale en DSC. Les sujets sont soit des volontaires, soit des patients porteurs d'une sténose d'une artère carotide interne (CI), soit des patients porteurs d'une sténose d'une artère cérébrale moyenne (MCA).

Tous les examens comprenaient un bilan morphologique, avec une image anatomique volumique T_13D de résolution millimétrique, des images FLAIR et une angiographie cervico-encéphalique TOF (Time Of Flight, angiographie par temps de vol). Ce bilan morphologique avait pour objectif de détecter les lésions ischémiques et rechercher une sténose artérielle. Chez les patients, le degré de sévérité de la sténose était mesuré en angio-TDM.

Les acquisitions fonctionnelles ont été réalisées grâce à la séquence d'ASL avec marquage pseudo-continu (durée de marquage : 1650 ms, délai après marquage : 1525 ms, EPI single-shot, résolution : $3 * 3 * 6 \text{ mm}^3$, 20 coupes, TE : 12 ms, SENSE : 2.5, TR : 4 s, 180 images contrôle/marquage, durée totale : 12 min), et à la séquence de vasoréactivité BOLD (EPI single shot, résolution spatiale $4*4*4 \text{ mm}$, 240 dynamiques, TR/TE 3000 ms/35 ms, durée d'acquisition 12 min). Un scan de référence (M_0) ainsi qu'une carte T_1 ont aussi été acquises pour la quantification du CBF en ASL (section 5.2). Le protocole de vasoréactivité utilisé alterne des périodes d'air et d'air enrichi en CO_2 toutes les 2 minutes, et ce, pendant 12 minutes selon un paradigme en bloc. Les valeurs de fréquence cardiaque, fréquence respiratoire, $EtCO_2$ et SpO_2 sont enregistrées tout au long de l'examen. Les valeurs d' $EtCO_2$ sont ensuite utilisées dans l'analyse comme régresseur (chapitre 8). Cette séquence ASL permet de quantifier à la fois la perfusion basale (CBF) et la vasoréactivité.

Enfin, pour les patients une séquence de perfusion avec suivi du premier passage de l'injection de produit de contraste à base de gadolinium (DSC) (Gd-DOTA : 0.1mmol/kg,

EPI single shot, flip angle 75° , résolution spatiale $1,75 \times 1,75 \times 4$ mm, 40 dynamiques, TR/TE 1634 ms/40 ms, durée d'acquisition 71,9 s) a été acquise afin de contrôler les résultats obtenus par ASL en perfusion basale.

Les détails des paramètres des acquisitions réalisées sur l'IRM 3 T Philips sont fournis dans l'annexe 1.

Analyse des données

Les données sont traitées selon le cheminement décrit dans le chapitre 7. Les données d'ASL et de BOLD comprennent le même lot de pré-traitements spatiaux (correction de mouvements, recalage avec l'anatomique, segmentation de la matière grise/blanche, normalisation, lissage). À cela s'ajoute la correction de la relaxation T_1 pour l'ASL. L'analyse statistique des données BOLD est effectuée grâce à un régresseur physiologique dédié ($EtCO_2$ moyenne lors du paradigme hypercapnique mesurée sur 11 volontaires sains). L'analyse statistique des données ASL est faite en utilisant le régresseur physiologique sur la base de l' $EtCO_2$ mesuré pour chaque sujet quand le recueil de ces données a été rendu possible.

Les données de DSC ont été traitées grâce à une analyse du suivi du premier passage du bolus de gadolinium sans utiliser le traitement par déconvolution. La mesure des paramètres de perfusion n'est donc pas quantitative. Nous avons donc dû travailler en utilisant un index de latéralité (IL) entre territoire vascularisé par l'artère ipsilatérale sténosée (*ipsi*) et territoire vascularisé par l'artère controlatérale homologue (*contro*) afin de comparer les différentes techniques. L'index de latéralité suit l'équation ci-contre (Seghier, 2008) :

$$IL = \frac{\text{ipsi} - \text{contro}}{\text{ipsi} + \text{contro}} \quad (10.1)$$

Pour les volontaires, l'index de latéralité était

$$IL = \frac{\text{gauche} - \text{droite}}{\text{gauche} + \text{droite}} \quad (10.2)$$

Les ROI ont été définies sur les territoires vasculaires des artères cérébrales moyennes (MCA) en prenant l'intersection avec le masque de matière grise seuillé à 90%.

Les analyses statistiques ont été menées avec le logiciel SPSS.

10.3 Résultats de groupes préliminaires

Aucun effet indésirable n'a été détecté lors du stimulus hypercapnique.

10.3.1 Index de latéralité pour les volontaires et les patients

Les IL des volontaires en ASL ($n=28$) étaient ($m \pm ds$) : $IL_{CBF-ASL} = 0,03 \pm 0,05$ en CBF, et $IL_{CVR-ASL} = 0,04 \pm 0,1$ en vasoréactivité. Les IL des volontaires en vasoréactivité BOLD ($n=85$) étaient $IL_{CVR-BOLD} = 0,01 \pm 0,04$ (table 10.2). Il n'y a pas d'effet du côté en BOLD en revanche il existait une asymétrie en ASL avec un CBF et une CVR plus importante à gauche qu'à droite ($p < 0,05$). Nous pouvons extraire de ces données des intervalles de confiance pour chacune de ces techniques en prenant le double de l'écart-type (2σ).

	IL Volontaires	IL Sténoses CI	IL Sténoses MCA
ASL basal	0,03 ± 0,05	-0,14 ± 0,12	-0,02 ± 0,07
ASL vasoréactivité	0,04 ± 0,10	0,07 ± 0,12	-0,01 ± 0,10
BOLD vasoréactivité	0,01 ± 0,04	-0,25 ± 0,35	-0,09 ± 0,12
DSC basal	-	-0,07 ± 0,05	-0,05 ± 0,05

TABLE 10.2 – Récapitulatif des index de latéralité ($m \pm ds$) des groupes de sujets inclus dans l'étude CEVASTOC pour la mesure du CBF basal et de la vasoréactivité en ASL, pour la mesure de la vasoréactivité en BOLD, et pour la mesure de la perfusion basale en DSC. Les sujets sont soit des volontaires, soit des patients porteurs d'une sténose d'une artère carotide interne (CI), soit des patients porteurs d'une sténose d'une artère cérébrale moyenne (MCA).

Les IL des patients porteurs d'une sténose de l'artère carotide interne montrent une asymétrie avec une hypoperfusion dans le territoire ipsilatéral à l'artère sténosée $IL_{CBF-ASL} = -0,14 \pm 0,12$ ($n=3$). La mesure par DSC ne montre quant à elle pas de signe d'hypoperfusion (cf table 10.2), mais il existait une augmentation du temps au pic. Ce phénomène est illustré dans l'étude de cas n°2 de la section suivante (section 10.4). Les IL des patients porteurs d'une sténose de l'artère carotide interne montrent une vasoréactivité diminuée en BOLD dans le territoire ipsilatéral à l'artère sténosée ($n=3$) : $IL_{CVR-BOLD} = -0,25 \pm 0,35$. Il existait surtout une grande dispersion des valeurs allant de -0,04 à -0,66.

Les IL des patients porteurs d'une sténose de l'artère cérébrale moyenne ne montrent pas d'asymétrie de perfusion dans le territoire ipsilatéral à l'artère sténosée en ASL et DSC (cf table 10.2). La vasoréactivité de ces patients était altérée $IL_{CVR-BOLD} = -0,09 \pm 0,12$ sans véritable asymétrie identifiée en ASL sur ce petit groupe. Surtout, il semblait exister 2 sous-populations en vasoréactivité BOLD, l'une avec un $IL < -0,15$ ($n=3$) très en dehors de l'intervalle de confiance ($2\sigma = 0,08$), et l'autre ($n=3$) avec un $IL > -0,07$ à la limite inférieure de l'intervalle de confiance (figure 10.3).

10.3.2 Corrélations entre les différentes techniques

Les sujets porteurs de sténoses des carotide et de MCA sont regroupés dans cette analyse.

Les index de latéralité du CBF pour les 8 sujets dont l'acquisition comprenait à la fois les séquences d'ASL et de DSC sont représentés dans la figure 10.1a. Le critère d'asymétrie correspond à l'intervalle de confiance calculé sur les volontaires en ASL (n'ayant pas de volontaires en DSC). Sur ces 8 sujets, 3 ont une asymétrie de CBF en ASL, et seulement 2 en DSC. La corrélation entre ces 2 techniques est significative (figure 10.1b) avec un $R^2 = 0,61$.

Dans le but d'expliquer les différences obtenues entre les différentes techniques (ASL, BOLD, DSC), nous avons corrélé les paramètres de DSC avec l'ASL (figure 10.2). Le CBF mesuré en ASL est négativement corrélé au temps de transit moyen mesuré en DSC (figure 10.1a) avec un $R^2 = 0,53$. Les IL du CBF mesurés en ASL ne sont par contre pas corrélés avec les IL du TTP et du CBV mesurés en DSC.

Enfin, nous avons comparé les valeurs des IL en vasoréactivité obtenus en ASL et en BOLD (figure 10.3). Les intervalles de confiance sont différents entre ASL et BOLD et sont représentés respectivement en rose et en rouge sur la figure 10.3. En BOLD, 4 sujets ont une asymétrie de vasoréactivité, aucun patients n'a d'asymétrie détectée en ASL. Les

mesures des IL de vasoréactivité en ASL et en BOLD ne sont pas corrélées.

10.4 Cas illustratifs

Nous allons ici faire les bilans de deux patients, l'un porteur d'une sténose serrée de l'artère cérébrale moyenne droite, et l'autre atteint de la maladie de Moya-Moya avec occlusion de l'artère cérébrale moyenne droite. Ces deux bilans permettent d'illustrer l'intérêt clinique de la mesure de la réserve vasculaire mais aussi de montrer les limites de la technique d'ASL dans la pathologie sténo-occlusive.

Une autre étude de cas présentée en annexe 2, montre le cas d'une patiente porteuse d'une sténose de l'artère cérébrale moyenne dont l'analyse de la vasoréactivité avait révélé une asymétrie. Après la pose d'un stent on observe un retour à la normale de la vasoréactivité.

Étude de cas n°1 : Patient porteur d'une sténose serrée de la MCA droite

Le patient n°1 est venu consulter en mars 2012 suite à des infarctus cérébraux répétés dans le territoire de l'artère cérébrale moyenne (MCA). Ce patient est âgé de 60 ans et de sexe masculin. Après un examen réalisé par angioscanner il a été détecté une sténose de la MCA droite à 70%. Le bilan neuropsychologique montre des troubles de la mémoire à court terme et de dysfonctionnement de sa capacité attentionnelle malgré un score de Rankin² égal à 2. La reprise de son travail était à ce jour déconseillée. Il vient en consultation du fait d'une fatigabilité importante lors d'exercices physiques tel que la marche et de problèmes de concentration.

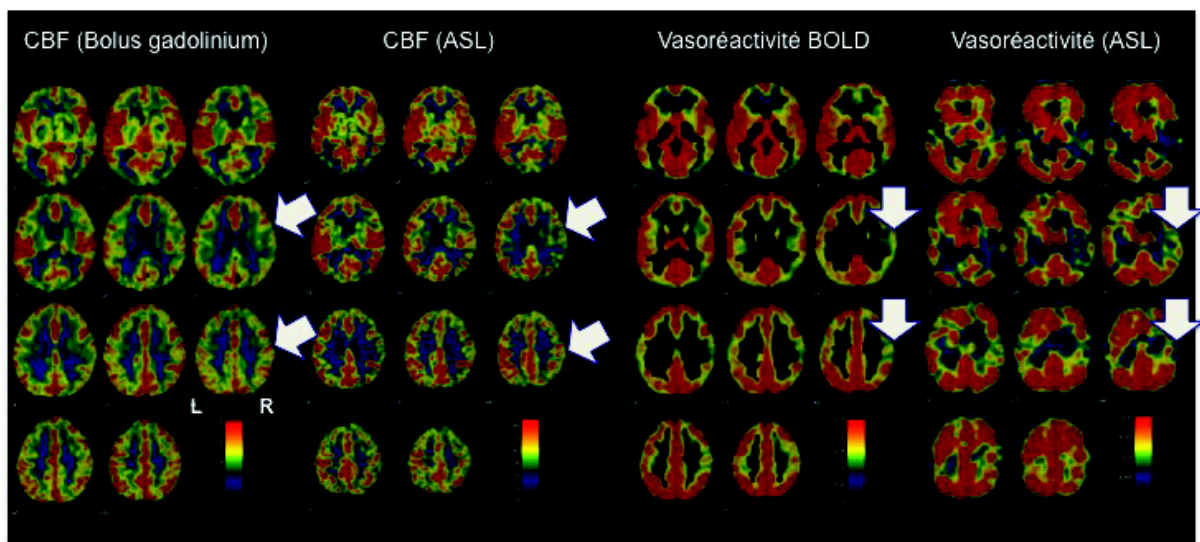


FIGURE 10.4 – Étude de cas n°1 : Bilan perfusion et vasoréactivité d'un patient atteint d'une sténose serrée de la MCA droite.

2. Le score de Rankin est une échelle d'autonomie du patient ayant fait un accident vasculaire cérébral, le niveau 2 correspond à des symptômes minimes et un handicap très peu important. Cette échelle comporte 8 niveaux, le 8ème niveau correspondant au décès du patient. (Frankel et al., 2000)

La figure 10.4 nous montre le bilan établi grâce aux séquences de perfusion et de vasoréactivité. On observe que le débit sanguin cérébral obtenu en ASL corrèle bien, de façon qualitative, avec la carte de CBF obtenue en DSC et que la carte de vasoréactivité ASL corrèle aussi avec la carte BOLD. La première rangée de flèche nous montre une zone avec un hypo-débit du côté de la sténose (à droite) relativement au territoire controlatéral à la lésion (à gauche). Cette zone d'hypo-débit est liée à une baisse de vasoréactivité observée aussi bien en BOLD qu'en ASL. Dans un territoire plus en aval de la sténose (2ème rangée de flèches), on observe un CBF stable en DSC et ASL, pas d'asymétrie droite/gauche particulière, avec cependant une asymétrie de la vasoréactivité observée en ASL et en BOLD.

Les cartes de CBF seules montrent un hypo-débit relatif dans la région de la MCA droite mais de façon très peu prononcée. Cependant les cartes de vasoréactivité montrent une asymétrie non-négligeable de la réserve vasculaire du côté sténosé par rapport à la région saine.

Après concertation avec l'équipe soignante le choix chirurgical a été repoussé. Les symptômes du patients n'étant pas alarmant et l'étude de la réserve vasculaire n'ayant pas détecté de décrochage total de la réactivité dans le territoire de l'artère sténosée.

Étude de cas n°2 : Patient atteint de la maladie de Moya-Moya, occlusion de la MCA droite

Ce patient est venu consulté en février 2011 suite à un infarctus cérébelleux postéro-inférieur droit sur une occlusion de l'artère vertébrale droite. L'angiographie des troncs supra-aortiques obtenue en TDM montre un athérome calcifié des carotides sans sténose significative, l'occlusion de l'artère vertébrale droite avec une artère vertébrale gauche dominante, une sténose serrée, voire une occlusion, de l'artère sylvienne droite avec un réseau de suppléance. Ce réseau de suppléance suggère une maladie de Moya-Moya. Le bilan neuropsychologique ne montre plus aucun signe neurologique, il a repris le sport, son score de Rankin est à 0 (cf note de bas de page 2). Une IRM de la réserve vasculaire est alors proposée afin de préciser la lésion asymptomatique de l'artère sylvienne droite. Cet examen a été réalisé en juillet 2011.

La maladie de Moya-Moya a été décrite en 1969 par le Dr Suzuki (Suzuki & Takaku, 1969), elle correspond à une prolifération anormale des vaisseaux sanguins en arrière du polygone de Willis et mène à une sténose ou une occlusion de la partie terminale de la carotide interne. Le terme Moya-Moya, traduit comme « nuage de fumé » en japonais, est due à l'apparence de cette pathologie sur l'angiographie. On observe comme un nuage de petites artérioles au pourtour de la MCA. Ce nuage peut mener à une sténose de la MCA voir même à une occlusion. Cette pathologie génétique est prépondérante chez les sujets japonais (Weinberg et al., 2011). Il a été démontré que l'étude de la réserve vasculaire dans le contexte de la maladie de Moya-Moya permettait une meilleur prise en charge des patients (Lee et al., 2009; Mandell et al., 2008b; Nariai et al., 1995; Heyn et al., 2010; Han et al., 2011). Une corrélation significative entre la baisse de vasoréactivité BOLD et le score de Suzuki, correspondant au degré de sténose provoqué par la maladie de Moya-Moya, a aussi été démontrée (Heyn et al., 2010).

Le bilan établi grâce aux séquences de perfusion et de vasoréactivité est montré sur la figure 10.5. Le débit sanguin cérébral calculé grâce au DSC ne montre pas d'asymétrie particulière, contrairement au temps au pic (TTP, time to pic) qui montre une très large asymétrie avec un temps d'arrivée du pic du bolus de gadolinium très retardé dans le

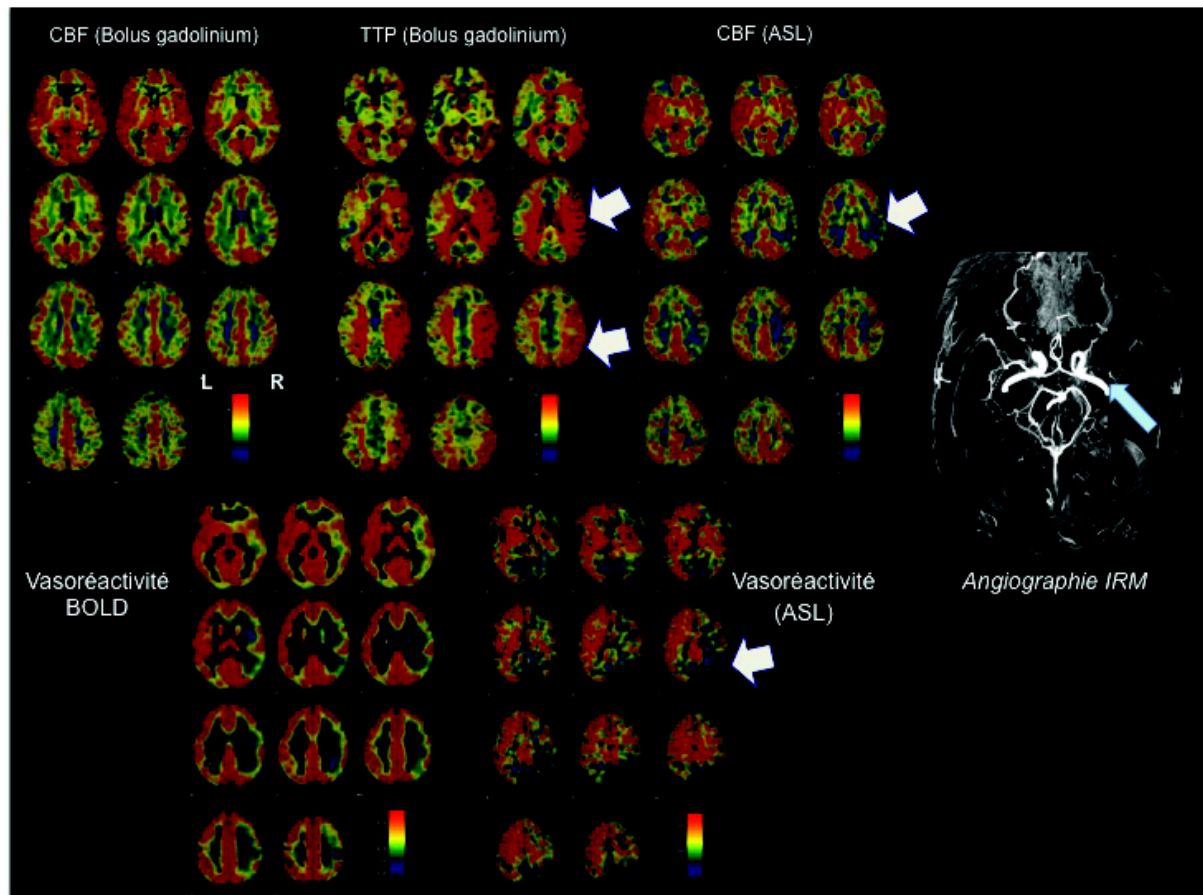


FIGURE 10.5 – Étude de cas n°2 : Bilan de perfusion et de vasoréactivité d'un patient atteint de la maladie de Moya-Moya.

territoire de la MCA droite (1ère rangée de flèches). Ceci mène donc à un artéfact d'hypoperfusion en ASL, qui s'explique par l'allongement du temps de transit. Le produit de contraste en DSC, tout comme les spins marqués en ASL, met plus de temps à rejoindre le territoire à perfuser puisque l'alimentation de ce territoire est assurée par une circulation collatérale. Le territoire de la MCA droite garde pourtant réellement un débit sanguin cérébral inchangé puisque ce territoire continue d'être perfusé, par les artères piales notamment, qui prennent en charge ce nouveau territoire mais dont le cheminement est plus long, passant autour du cerveau et non à l'intérieur.

On observe une baisse de la vasoréactivité mesurée en BOLD avec une franche asymétrie droite/gauche. Ceci démontre une baisse de la réserve vasculaire dans le territoire de l'artère occluse. La carte de vasoréactivité ASL est malheureusement inexploitable du fait du manque de signal obtenu à cause du temps de transit très allongé. Cette étude montre donc qu'un CBF préservé, montré en DSC, ne reflète pas forcément une perfusion normale. En effet, ce patient possède une réserve vasculaire altérée, ce qui augmente les risques d'AVC ischémique.

Le patient est revu en consultation en novembre 2011 après l'examen IRM. Le geste chirurgical ne peut être envisagé du fait de l'occlusion de l'artère sylvienne droite. L'examen IRM a permis de montrer que la perfusion cérébrale de ce patient était maintenue malgré une asymétrie de la vasoréactivité. Le traitement médicamenteux de ce patient a été optimisé afin d'inclure des anti-agrégants et ainsi fluidifier le sang pour éviter de nouveaux infarctus cérébraux.

10.5 Discussion

Les résultats présentés dans ce chapitre sont des résultats préliminaires. L'étude des index de latéralité des volontaires nous a permis de définir des intervalles de confiance afin de détecter les asymétries des patients porteurs de sténoses. Les IL des patients montraient une division selon deux groupes de patients, les patients porteurs de sténoses mais dont le réseau de suppléance suffit à perfuser le tissu en amont de la sténose et dont les IL étaient dans l'intervalle de confiance des IL des sujets normaux, et ceux dont la vasoréactivité était altérée en aval de la sténose. Ces patients qui présentent une diminution de la réserve vasculaire pourraient être les meilleurs candidats à un traitement endovasculaire de la sténose artérielle alors que ceux qui n'ont pas de réduction significative de l'IL pourrait bénéficier d'un traitement médical seul.

De plus, nous avons montré dans notre étude de cas (annexe 2) que l'imagerie de la vasoréactivité cérébrale pouvait être utilisée comme support à la prise de décision d'un acte chirurgical dans les cas de maladie sténo-occlusive, ce qui avait déjà été montré à l'échelle d'un groupe de sujets (Mandell et al., 2011).

Dans ces résultats préliminaires, nous avons seulement présenté les sujets atteints de sténoses des artères cérébrales moyennes ou des carotides. Nous n'avons pas encore analysé les sujets porteurs de sténoses des artères vertébrales ou basilaire du fait de territoires vasculaires très irréguliers, et donc une analyse difficile au niveau du groupe, et de l'importance des artéfacts de susceptibilité magnétique dans la fosse postérieure. L'analyse attentive du polygone de Willis (PGW) est également très importante pour interpréter les données. En effet le PGW étant complet dans 49% des cas, il existe des reprises en charges vasculaires par les artères communicantes (Alastruey et al., 2007; Cassot et al., 2000). Ainsi, dans le cas de sténoses carotidiennes, il faudrait faire un bilan des suppléances du polygone de Willis pour chaque sujet afin de valider les territoires vasculaires à comparer. Une réponse possible à ce problème est d'effectuer des mesures de CBF et de vasoréactivité par territoires vasculaires. C'est ce qu'a récemment montré Bokkers (Bokkers et al., 2011, 2010), en utilisant une séquence d'ASL pseudo-continu à marquage sélectif. Cette technique permet d'obtenir une image des territoires vasculaires des artères carotides internes afin de délimiter les territoires affectés par la sténose pour chaque sujet.

Nous avons montré une bonne corrélation entre les mesures de CBF obtenues en DSC et en ASL. Ceci est encourageant pour l'utilisation de l'ASL en clinique pour la mesure de la perfusion basale lorsque l'injection d'agents de contraste n'est pas possible ou indésirable. Cependant, nous avons aussi montré que notre mesure de CBF en ASL était négativement corrélée à la mesure du MTT, alors qu'elle n'était pas corrélée au TTP, ni au CBV, ceci du fait de l'allongement des temps de transits.

L'étude de Mandell et al. en 2008b avait montré une bonne corrélation entre les mesures de vasoréactivité BOLD et ASL. Nous n'avons pas pu retrouver ce résultat dans notre étude. Ceci peut être imputable au nombre de patients restreint inclus à ce jour dans ce protocole, mais aussi aux effets d'allongement des temps de transit dans les cas d'occlusion artérielles. Par ailleurs, l'asymétrie de la perfusion et de la vasoréactivité au profit du côté gauche en ASL chez les sujets sains alors qu'elle n'est pas mise en évidence sur l'analyse de 85 sujets en BOLD suggère l'existence de problème technique lors de l'acquisition.

La sensibilité de l'ASL aux temps de transit entre la région de marquage et le tissu très allongés est une réelle difficulté pour l'utilisation de l'ASL dans ce contexte. En effet, si dans la condition basale ce temps de transit est supérieur à la valeur de $\Delta TI = TI_2 - TI_1$

de la séquence ASL, par exemple parce que le cheminement du sang par une circulation collatérale est plus long, une partie des spins marqués ne contribuent pas au signal des voxels qu'ils perfusent. Dans la condition d'hypercapnie, l'augmentation globale du CBF augmente la vitesse de flux dans les gros vaisseaux et diminue donc potentiellement le temps de transit entre région de marquage et tissu. Avec des paramètres d'acquisition qui restent constantes tout au long de l'expérience, il est donc possible, qu'une plus grande proportion des spins soit arrivée dans les tissus en aval de la sténose au moment de l'acquisition de l'image, et que le signal ASL augmente donc en conséquence, du simple fait de vitesses de flux plus élevées dans la macrocirculation, sans modification locale du CBF. Il en résulte une sur-estimation de la vasoréactivité. Cela semble être le cas du patient 5 chez qui on observe un MTT très allongé, une latéralité en CBF basal plus forte en ASL qu'en DSC, et un index de latéralité en CVR ASL positif, alors que l'on observe une latéralité très marquée dans le sens opposé en BOLD. La solution dans ce cas serait d'utiliser des séquences avec de multiples temps d'inversions (Hendrikse et al., 2004), avec cependant l'inconvénient d'allonger encore le temps d'acquisition et / ou limiter la couverture, ce qui devient critique dans un contexte clinique.

10.6 Conclusion

Pour conclure, la mesure de la réserve vasculaire révèle un grand intérêt en pathologie sténo-occlusive. Ce travail préliminaire permet de montrer la faisabilité de cette mesure en routine en clinique, malgré les contraintes en termes d'instrumentation et d'installation du patient. Il a aussi permis de montrer les limites de l'utilisation de l'ASL dans le contexte de la pathologie sténo-occlusive.

Actuellement, l'analyse des données se fait séparément des consoles d'acquisition, sur des stations de travail dédiées. Les outils de traitement sont maintenant stabilisés et permettent d'envisager de les transférer sur les stations de traitement cliniques, qui disposent de la capacité à intégrer des routines de traitement développées en Matlab dans le flux des données, et de réinjecter les images paramétriques produites dans la base de données de la console. Cette étape est actuellement en préparation.

Chapitre 11

Application clinique de l'imagerie de la vasoréactivité cérébrale dans le suivi des sujets après acclimatation à l'altitude : le protocole Vallot

La dernière étude sur laquelle nous avons travaillé était une étude originale sur les effets centraux de l'altitude. Cette étude a été coordonnée par Samuel Vergès, principal investigateur de ce projet.

Ce chapitre sera présenté en incluant directement le manuscrit en cours de soumission sous le titre : « Changes in cerebral blood flow and vasoreactivity to CO₂ measured by Arterial Spin Labeling after 7 days at 4,365 m ». Les auteurs sont : M. Villien, P. Bouzat, T. Rupp, L. Lamalle, I. Troprès, F. Estève, A. Krainik, P. Lévy, J.M. Warnking, et S. Verges.

11.1 Les effets de l'altitude sur le corps humain

Les effets centraux de l'altitude sont avant tout imputables à l'hypoxie régnant au dessus de 2500 m, même si d'autres facteurs tels que le froid, la sécheresse de l'air, l'augmentation des rayonnements solaires ou bien le stress dû à des conditions de vie et d'éloignement rudes peuvent aussi avoir un effet sur le corps humain. Cette hypoxie est due à la baisse de pression partielle en oxygène dans l'air ambiant du fait de la diminution de la pression atmosphérique (figure 11.1). Des mécanismes d'adaptation sont mis en place pour faire face aux désagréments de cette baisse en oxygène disponible pour le corps humain, et ceci à différentes échelles de temps.

Certains mécanismes compensatoires se mettent en place très rapidement, tels que l'augmentation du volume respiratoire et la hausse du débit cardiaque, qui ont lieu dans les premières heures et dans les premiers jours suivant la montée en altitude (Masuyama et al., 1986; Wilson et al., 2009). C'est la phase dite « d'accommodation » ou « phase blanche ». Ceci permet au corps de compenser la baisse de pression partielle disponible en oxygène dans l'air. Cependant ce processus entraîne une surcharge de travail pour le cœur et les poumons, ne pouvant donc pas être maintenu indéfiniment. La seconde phase est la « phase d'acclimatation » (de quelques jours à 1 semaine), c'est lors de cette période que d'autres mécanismes plus économes en énergie se mettent en place, comme la polyglobulie

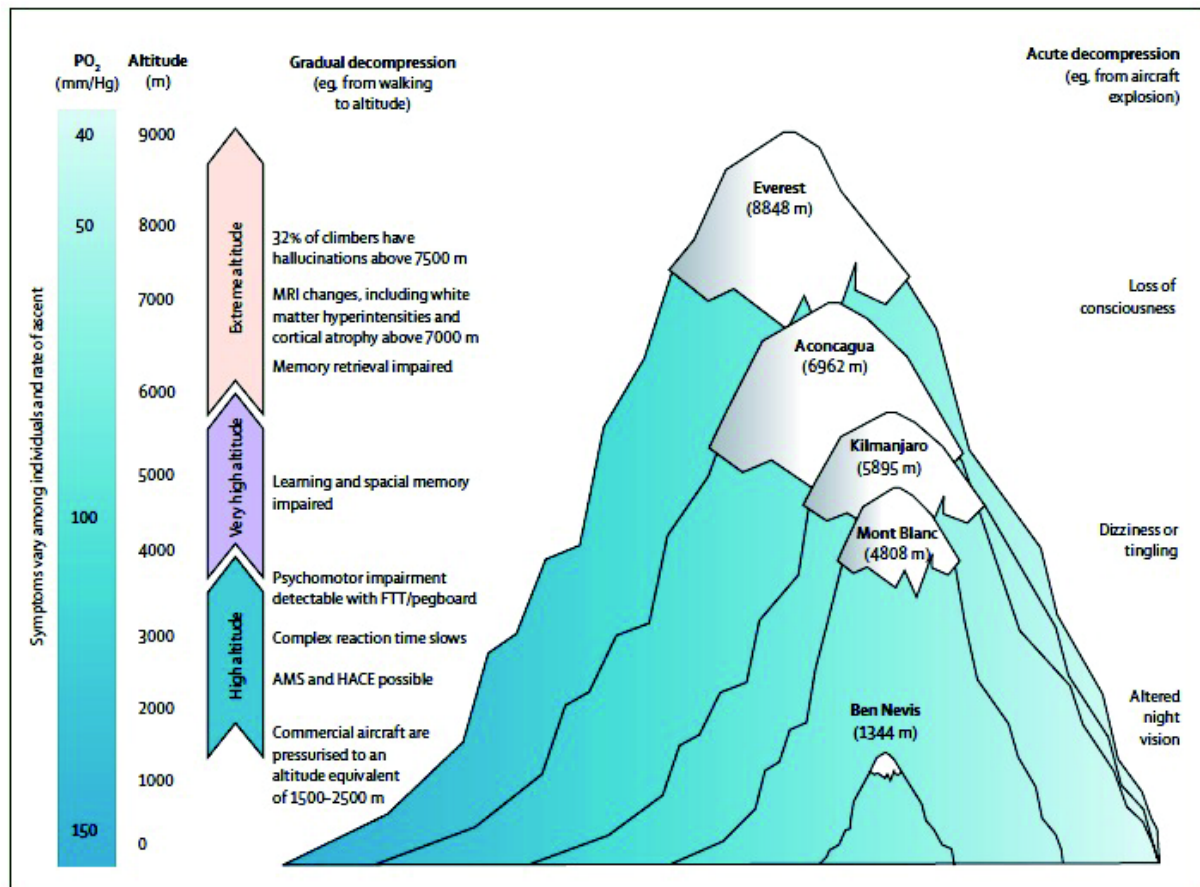


FIGURE 11.1 – Conséquences neurologiques de la haute altitude [1500–3500 m], de la très haute altitude [3500-5500 m] et de l'altitude extrême [>5500 m]. PO_2 = pression partielle en oxygène, FTT = finger-tapping test (Wilson et al., 2009).

(hausse de la concentration en globule rouge dans le sang), afin d'améliorer le transfert de l'oxygène des poumons vers les tissus. Viennent ensuite la « phase d'acclimatement », où l'état du sujet est stabilisé puis finalement la « phase de dégradation » qui peut survenir au delà de 5000 m puisqu'une vie permanente n'est pas possible pour les humains à cette altitude.

L'hypoxie aiguë mène à une hyperventilation pulmonaire à partir de 3000 m entraînant une hausse du volume courant au niveau des poumons. Cette hyperventilation permet de mieux oxygéner le sang mais elle entraîne aussi une hypocapnie du fait de l'augmentation de l'élimination du dioxyde de carbone dans le sang. L'hypocapnie induite par ce mécanisme va modifier le pH sanguin mais aussi le pH du liquide cérébro-rachidien (LCR) à la hausse (Severinghaus et al., 1966) ce qui va induire une réponse cérébrale et un rétro-contrôle négatif en inhibant l'augmentation de la ventilation. Ce phénomène de frein ventilatoire, lié à d'autres phénomènes physiologiques tels que l'excrétion rénale des ions H^+ , va mener au bout de quelques jours à l'acclimatation ventilatoire du sujet (Brugniaux et al., 2007).

Si l'acclimatation se passe mal, les sujets peuvent développer des pathologies liées à l'altitude tel que le mal aigu des montagnes (AMS, Acute Mountain Sickness). L'AMS est souvent bénin, il peut apparaître chez des sujets sains à partir de 2500 m. Les principaux symptômes de l'AMS sont des céphalées, vertiges, insomnies et des troubles digestifs (Rio & Moskowitz, 1999). La sévérité des symptômes dépend de différents facteurs :

	Protocole	Perfusion	Vasoréactivité
Ainslie & Burgess (2008)	9j à 5000m	=	= réponse à l'hypercapnie en hypoxie
Ainslie et al. (2007)	9j à 5000m	=	= réponse à l'hypercapnie en hypoxie
Binks et al. (2008)	16min, PET	↑	
Dyer et al. (2008)	30 min, ASL	↑	
Fan et al. (2010)	2-4j 5050m	↑	↑ réponse à l'hypercapnie en hyperoxie
Lucas et al. (2011)	2-14j 5050m	↑	↓ réponse à l'hypercapnie en hyperoxie

TABLE 11.1 – Récapitulatif non exhaustif des études sur les effets de l'altitude tendant à montrer des modifications de la perfusion cérébrale au de la vasoréactivité. Ces études ont été menées en Doppler transcranien sauf lorsque la technique est explicitement notée (PET, ASL). (= : pas de modifications avant/après altitude, ↑ : augmentation, ↓ : diminution)

la sensibilité individuelle, l'altitude atteinte et la vitesse de l'ascension ont notamment un grand rôle dans la survenue de l'AMS. Ces symptômes ne doivent pas être pris à la légère, car l'AMS peut conduire à de graves complications tels que l'œdème pulmonaire de haute altitude (HAPE, High-Altitude Pulmonary Oedema) ou l'œdème cérébral de haute altitude (HACE, High-Altitude Cerebral Oedema) (figure 11.1) (Bailey et al., 2009).

Des traitements préventifs peuvent être mis en place, le meilleur moyen de ne pas aller jusqu'à ces complications étant naturellement de suivre les consignes d'acclimatation (Hackett et al., 1976). Il existe des traitements médicaux tels que l'acétazolamide (DIA-MOX®), présenté dans la section 1.4.3 de l'introduction, dont l'effet est d'augmenter l'acidose sanguine ce qui conduit à stimuler la ventilation pulmonaire et dilater les artères cérébrales, aidant ainsi à réduire les symptômes d'AMS (Hackett et al., 1976).

Deux phénomènes opposés ont des effets sur la perfusion cérébrale en altitude. L'hypoxie induit une vasodilatation, tandis que l'hypocapnie induit une vasoconstriction. L'hypoxie étant plus importante, la perfusion cérébrale, et notamment le débit sanguin cérébral, a tendance à augmenter durant la phase d'acclimatation (Severinghaus et al., 1966; Fan et al., 2010; Lucas et al., 2011). Mais ce résultat est encore discuté puisque les études sur les effets de l'altitude sur le CBF ne s'accordent pas toutes (tableau 11.1). Certaines montrent une perfusion stable et une réponse à l'hypercapnie sous hypoxie stable (Ainslie et al., 2007; Ainslie & Burgess, 2008) alors que d'autres montrent une perfusion ainsi qu'une vasoréactivité à l'hypercapnie sous hypoxie augmentée (Fan et al., 2010; Lucas et al., 2011). Ces différences peuvent venir des protocoles utilisés lors de ces mesures mais aussi des conditions d'acclimatation ou d'altitude. Seules deux études ont fait ces mesures sans l'utilisation du Doppler transcranien mais grâce à l'imagerie PET et IRM (ASL) (Binks et al., 2008; Dyer et al., 2008). Cependant ces études ne concernent pas des sujets avec une exposition chronique à l'hypoxie.

Le but de notre étude a donc été de comparer les données Doppler, communément acquises en altitude, à des données ASL acquises avant et après la montée en altitude. Notre hypothèse étant que la hausse de perfusion visible en altitude serait due principalement à l'état hypoxique du sujet, suggérant donc que cette hyperperfusion ne devrait pas être visible après la redescente.

11.2 Protocole

Cette étude a été menée grâce à une collaboration étroite entre notre laboratoire et celui du Prof. Lévy et donc de l'équipe de Samuel Vergès. Nous nous sommes occupés de la partie acquisition de données en IRM avant et après la montée en altitude.

Ces acquisitions ont été faites sur 11 sujets répartis en 2 groupes. Les sujets étant des personnes habituées à monter en altitude mais ne vivant pas à une altitude élevée et n'étant pas acclimaté à l'altitude au moment de l'étude (aucun séjour au-dessus de 2500 m et pas de nuit au-dessus de 1500 m dans les trois mois précédant l'étude). La montée à l'observatoire Vallot, dans le massif du Mont-Blanc, s'est faite en hélicoptère tout comme la redescente, après 7 jours de vie à 4365 m.

Protocole IRM

Le protocole IRM s'est déroulé sur une IRM 3 Tesla (Philips Achieva TX scanner, Best, Pays-Bas) avec une antenne 32 canaux. L'examen comportait deux types d'acquisitions : des images morphologiques, afin de quantifier l'œdème cérébral, et des images fonctionnelles, pour quantifier la perfusion cérébrale et la vasoréactivité. Nous ne parlerons pas ici des résultats obtenus en imagerie morphologique.

Les acquisitions fonctionnelles ont été faites grâce à la séquence d'ASL avec marquage pseudo-continu (durée de marquage : 1650 ms, délai après marquage : 1525 ms, EPI single-shot, résolution : $3 * 3 * 6 \text{ mm}^3$, 20 coupes, TE : 12 ms, SENSE : 2.5, TR : 4 s, 180 images contrôle/marquage, durée totale : 12 min), un scan de référence (M_0) ainsi qu'une carte T_1 ont aussi été acquises pour la quantification du CBF (section 5.2). Le protocole de vasoréactivité utilisé alterne des périodes d'air et d'air enrichi en CO_2 toutes les 2 minutes, et ce, pendant 12 minutes selon un paradigme en bloc. Les valeurs de fréquence cardiaque, fréquence respiratoire, $EtCO_2$ et SpO_2 sont enregistrées tout au long de l'examen. Les valeurs d' $EtCO_2$ sont ensuite utilisées dans l'analyse comme régresseur (chapitre 8).

L'analyse des résultats a été faite sous Matlab en suivant les pré-traitements présentés dans le chapitre 5.1, incluant le réaligement des séries fonctionnelles, la normalisation des images, la segmentation de la matière grise et la quantification du CBF. La vasoréactivité a été mesurée grâce à une analyse GLM prenant pour régresseur le décours temporel de l' $EtCO_2$. Les ROI ont été définies automatiquement sur les territoires anatomiques et vasculaires.

Protocole de Doppler transcrânien (TCD)

Les mesures de TCD ont été menées en plaine puis au cinquième jour en altitude, dans le refuge Vallot. Les acquisitions ont été faites par Pierre Bouzat, médecin et étudiant en thèse au laboratoire, selon deux techniques différentes :

- Le Doppler 2D, permettant d'obtenir une valeur plus reproductible des valeurs de vitesse de flux dans l'artère cérébrale moyenne (MCAv).
- Le Doppler 1D, positionné grâce à un casque et permettant de suivre l'évolution de la vitesse de flux dans l'artère cérébrale moyenne lors du protocole de vasoréactivité.

Le protocole de vasoréactivité en TCD a consisté à faire varier la fraction inspiré en CO_2 sous hypoxie jusqu'à atteindre une augmentation de l' $EtCO_2$ de 5 puis de 12 mmHg. Les valeurs obtenues sont en % de variations de MCAv par mmHg de variation d' $EtCO_2$.

Les sujets ont été auditionnés avant, pendant et après leur montée en altitude afin de suivre leurs scores cliniques et de renseigner les potentiels symptômes d'AMS grâce à l'échelle de Lake-Louise présentées dans l'introduction (Roach et al., 1993).

11.3 Publication en cours de soumission

**Changes in cerebral blood flow and vasoreactivity to CO₂ measured by Arterial Spin
Labeling after 7 days at 4,365 m**

Marjorie Villien^{1,2}, Pierre Bouzat^{1,2,3}, Thomas Rupp^{4,5}, Laurent Lamalle⁶, Irène Troprès⁶, François Estève^{1,2,7}, Alexandre Krainik^{1,2,8}, Patrick Lévy^{4,5}, Jan M. Warnking^{1,2}, and Samuel Vergès^{4,5}

¹ U836, INSERM, Grenoble, France

² Grenoble Institut des Neurosciences, Université Joseph Fourier, Grenoble, France

³ Pôle Anesthésie Réanimation, CHU de Grenoble, Grenoble, France

⁴ U1042, INSERM, Grenoble, France

⁵ Laboratoire HP2, Université Joseph Fourier, Grenoble, France

⁶ SFR1, Université Joseph Fourier, Grenoble, France

⁷ European Synchrotron Radiation Facility, Grenoble, France

⁸ Clinique Universitaire de Neuroradiologie et d'IRM, CHU Grenoble, Grenoble, France

Corresponding author:

Samuel Vergès, PhD

Laboratoire HP2 (INSERM U1042), Université Joseph Fourier

UF Recherche sur l'Exercice, CHU Grenoble, Hôpital Sud, Avenue Kimberley

38 434 Echirolles, France

sverges@chu-grenoble.fr

Tel: +33 4 76 76 68 60, Fax: +33 4 76 76 89 21

ABSTRACT

Purpose: Changes in cerebral perfusion and CO₂ cerebrovascular reactivity during and immediately after a sojourn at high altitude remain unclear. The aim of the present study was to assess the effects of 7 days at 4,365 m on cerebral perfusion and cerebro-vascular reactivity (CVR) to CO₂ by arterial spin labeling (ASL) magnetic resonance imaging at sea level and to compare it with transcranial doppler (TCD) results at altitude.

Methods: Eleven healthy male subjects, non-acclimatized to altitude, stayed for seven days at 4,365 m (Observatoire Vallot, massif du Mont-Blanc). Prior to the stay and within 6 h after returning to sea level, subjects were investigated using Pseudo-Continuous ASL at 3 T during a block-design inhalation paradigm to measure basal cerebral blood flow (CBF) and CO₂ vasoreactivity. PetCO₂, respiratory rate, heart rate and oxygen saturation were recorded during the exam. Subjects were also examined using TCD prior to and on day 5 of the stay at altitude to measure blood velocity in the middle cerebral artery (MCAv) and CVR. CVR was expressed as percent change in CBF or MCAv per mmHg change in PetCO₂. MRI data were averaged within vascular territories to compare CBF and CVR before and after altitude and to compare ASL and TCD measurements.

Results: PetCO₂ was significantly decreased during and after altitude. Perfusion in the MCA and ACA territories, measured using ASL, was significantly higher in the post-altitude condition. The group-average MCAv was significantly increased on day 5 at altitude. Cerebral vasoreactivity as assessed by TCD seemed to decrease after 5 days at 4,365 m. This difference in CVR reached significance at the group level as assessed by ASL after 7 days.

Conclusion: Long term exposure to high altitude significantly increases cerebral blood flow and decreases vasoreactivity to CO₂. This increase in CBF is not only the consequence of the vasodilating effect of hypoxia but probably involved other mechanisms such as changes in cerebral autoregulation and angiogenesis. Further investigations are needed to explore these mechanisms.

Key words: Altitude acclimatization, hypoxia, cerebral perfusion, cerebrovascular reactivity, MRI, Arterial Spin Labeling, Transcranial Doppler

INTRODUCTION

Changes in cerebral blood flow (CBF) are observed during acclimatization to high altitude. The original report from Severinghaus et al. (Severinghaus et al., 1966) indicating an increase in CBF after several days at high altitude (3810 m) compared to sea level was confirmed by subsequent studies (Huang et al., 1987; Wolff, 2000; Chan et al., 2005; Fan et al., 2010; Lucas et al., 2011). Others, however, failed to observe this change (Poulin et al., 2002; Van Osta et al., 2005; Ainslie et al., 2008), probably due to differences in exposure duration and altitude levels as well as methodological considerations. Increased CBF is believed to be a compensatory mechanism serving to maintain normal oxygen delivery to the brain under hypoxemic conditions. CBF changes at altitude mainly result from the opposite effects of reduced arterial oxygen (PaO_2) and carbon dioxide (PaCO_2) partial pressures. Hypoxia is known to produce cerebral vasodilatation (at least when reaching a certain threshold, *i.e.* $\text{PaO}_2 < 50\text{-}60$ mmHg) and a proportional increase in CBF (Cohen et al., 1967; Ainslie, 2004). However, hypoxic exposure also provokes hyperventilatory-induced hypocapnia and subsequent cerebral vasoconstriction. Hence, Poulin et al. (Poulin et al., 2002) reported that 48h of poikilocapnic hypoxic exposure (end tidal O_2 partial pressure, $\text{PetO}_2 = 60$ mmHg) induced a reduction in CBF predominantly due to hypocapnia since exposure to the same hypoxic stress but under isocapnia induced no change in CBF. After several days at high altitude, the initial increase in extracellular pH due to hyperventilation-induced hypocapnia is progressively compensated due to a change in the concentration of HCO_3^- in extracellular and cerebrospinal fluids, although cerebrospinal pH may still remain alkaline over several weeks at altitude (Brugniaux et al., 2007). Therefore, it remains to clarify whether CBF is increased after several days at high altitude under the opposing influences of reduced PaO_2 and PaCO_2 (and cerebrospinal pH changes).

In addition to the critical importance of changes in PaO_2 and PaCO_2 , another factor that determines CBF is the relative degree of cerebrovascular reactivity to circulating gases (CVR). Controversial results have been published regarding changes in CVR following several days at high altitude, with unchanged (Jansen et al., 1999; Ainslie et al., 2007; Ainslie and Burgess, 2008), reduced (Lucas et al., 2011) or increased (Jensen et al., 1990; Fan et al., 2010) responses. These contradictory results are probably due to methodological issues (*e.g.* rebreathing *versus*

steady state protocols, hypoxic *versus* hyperoxic gas mixtures) and differences in altitude exposure (*e.g.* preliminary acclimatization or not, measurement during *versus* after high altitude exposure).

The large majority of studies performed in this area have used transcranial Doppler ultrasound (TCD) measurements to assess middle cerebral arterial blood flow velocity (MCAv), rather than absolute measurements of CBF. Hence, most of the conclusions regarding hypoxia-induced changes in CBF rely on the assumption that the MCA diameter remains unchanged in hypoxia, despite recent results suggesting that this may not be true (Wilson et al., 2011). Limitations due to movements and changes in insonation angle are also an issue with transcranial Doppler ultrasound measurements, in particular for between-day comparisons. Absolute CBF can be measured with an arterial spin labeling (ASL) magnetic resonance imaging (MRI) method that magnetically tags blood water and measures its delivery to tissue capillaries, to obtain a global or regional measure of tissue perfusion in $\text{ml blood} \cdot 100 \text{ ml tissue}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ (Aguirre and Detre, 2012). Dyer et al. (Dyer et al., 2008) reported an increase in whole-brain CBF when reducing FiO_2 from 21% to 12% for 30 min, but no measurements of CBF with ASL are available following prolonged hypoxic exposure.

Hence, while CBF is thought to be substantially enhanced at high altitude (Severinghaus et al., 1966; Lucas et al., 2011), the underlying mechanisms remain unclear, in particular the role of i) changes in PaO_2 *versus* PaCO_2 and ii) potential alterations in cerebrovascular responses to CO_2 . We measured CBF and CVR at sea level with Doppler ultrasound and ASL, on day 5 at 4365 m of altitude with Doppler ultrasound, and on day 7 with ASL, 6 hours following return to sea level. We hypothesised that absolute CBF quantification with ASL would show similar normoxic CBF and CVR before and immediately after return from high altitude. This would indicate that changes in CBF at high altitude following several days of acclimatisation are mostly due to the vasodilatory effect of reduced arterial oxygenation.

MATERIAL & METHODS

Subjects

Eleven healthy male subjects (28 ± 8 years old) were recruited to participate to this study and provided written informed consent. Participants were recreational climbers, taking no medication and having no history of cardiovascular, cerebrovascular and respiratory diseases. They were unacclimatized to high altitude (no night above 1,500 m or sojourn above 2,500 m of altitude over the past 3 months) and received no treatment to prevent acute mountain sickness. The study was approved by the local ethics committee and performed according to the Declaration of Helsinki (registration number: RCB2011-A00071-40, ClinicalTrials.gov ID: NCT01565603).

Experimental design

Before ascending to high altitude, subjects underwent i) a complete MRI exam including anatomical, CBF and CVR imaging and ii) a TCD exam including CBF and CVR evaluation in Grenoble (212 m). Then, subjects underwent helicopter transport to be dropped within 10 min at 4,365 m (Observatoire Vallot, Mont Blanc, Chamonix, France) where they stayed for 6 days. The TCD exam was repeated after 5 days of high-altitude acclimatization. On day 7, subjects were transported back to Grenoble and underwent a second MRI exam within 4 to 8 hours after returning to sea level.

MRI exam

Before and after the altitude stay, subjects were investigated using functional and anatomical MRI acquisitions at 3T (Philips Achieva TX scanner, Best, Netherlands). Acquisitions, performed with a 32-channel head-only receive array, included a Pseudo-continuous ASL (pCASL) sequence (Dai et al., 2008; Aslan et al., 2010) during a block-design inhalation paradigm to extract CVR and basal CBF images. Pseudo-continuous ASL acquisition parameters were: WET pre-saturation, 1650 ms label, 1525 ms post-label delay, multi-slice single-shot EPI readout ($3 \times 3 \times 6$ mm³, 20 slices, TE 12 ms, sense-factor 2.5), TR of 4 s. A total of 180 control and tag images were acquired for a duration of 12 min. An ASL reference scan and a T_1 map were acquired for CBF quantification and a T_1 weighted morphological image was acquired as

anatomical reference. Capnia was modulated during the pCASL acquisition in a 1/2/1-min paradigm (3 cycles) by alternating medical air and an air/CO₂ mixture (7% CO₂, 21% O₂, balance N₂) administered at 12 l.min⁻¹ via a high-concentration facemask. End-tidal CO₂ partial pressure (PetCO₂) was measured via nasal cannula using an MR-compatible capnometer (Maglife, Schiller medical), and recorded together with scanner triggers for synchronization in order to build a regressor representing the physiological response to hypercapnia for use in the data analysis (figure 1). Breathing frequency, heart rate and arterial oxygen saturation (SpO₂) were also recorded during the exam. Physiologic data acquired during periods of medical air and air/CO₂ were averaged separately in the analysis ($\Delta\text{PetCO}_2 = \text{PetCO}_{2\text{Hypercapnia}} - \text{PetCO}_{2\text{Ambiant air}}$).

Data were analyzed using Matlab (MathWorks Inc., Natick, MA, USA), the SPM8 software (SPM, Wellcome Department of Imaging Neuroscience, <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>) and custom routines. Images were realigned after removing any systematic bias in realignment parameters between tag and control images. Frames exhibiting strong motion were marked for exclusion from the subsequent analysis. Structural images were segmented and all images were normalized to the MNI template (Ashburner and Friston, 2005). ASL signal amplitude was scaled to express the difference between control and tag images in units of ml.100g⁻¹.min⁻¹. The ASL signal is dependent on arterial blood T₁ (T_{1a}) and thus on hematocrit. Hematocrit was previously observed to increase by 3.7% in the same conditions of altitude and exposure duration (Robach et al., 2002). In the absolute quantification of CBF we thus assumed T_{1a} to be 1700 ms prior to altitude exposure, corresponding to a mean hematocrit of 0,40, and T_{1a} equal 1657 ms after altitude, corresponding to a mean hematocrit of 0,43 (Lu et al., 2004; Gevers et al., 2012). Outliers in hypercapnia data were discarded and data were interpolated to the pCASL volume acquisition times, taking lag due to dead space in the sample line into account. Basal CBF was modeled with a regressor alternating between 0.5 and -0.5 for control and tag images respectively throughout the scan (Mumford et al., 2006; Hernandez-Garcia et al., 2010) (figure 1). Hypercapnia-related perfusion increase (CVR) was modeled with a baseline-corrected capnia regressor (ctl/tag modulated for perfusion, unmodulated for BOLD) (figure 1). CVR was expressed as percent change in perfusion per mmHg change in PetCO₂.

For each scan, a ROI was defined including all voxels with a grey-matter (GM) fraction of at least 90% for the perfusion analyses in the vascular territories. The vascular territories were defined as those of the left and right middle cerebral arteries (MCA) and in the anterior (ACA)

and posterior territories (PCA) (figure 2). The CVR analysis was based on the same ROIs, further constrained to voxels in which significant basal perfusion was detected ($p < 0.05$ FDR) and excluding outliers in the CVR measurement (Thompson, 1985). ROI-average response amplitudes were computed for the two sessions before and after the altitude stay.

TCD exam

TCD measurements were performed by a trained operator (PB) using two different methods:

- MCAv at rest was assessed using a 3 to 1 MHz Transducer CX-50 (Philips, Eindhoven, Netherlands). The clinoid process of the sphenoid bone and the brain stem were initially identified. Color-coded sonography allowed to recognize the circle of Willis. The M1 segment of the right MCA was identified and manual angle correction was applied to measure mean, systolic and diastolic right MCAv (in $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$) by the inbuilt software. This device was used to have a better reliability for between-day comparisons of absolute TCD MCAv values at rest (Martin et al., 1995).

- A Doppler instrument operating at 2MHz (Waki^e, Atys Medical, Soucieu en Jarrest, France) was used to perform TCD measurements during the CVR protocol. This device could be used with a Doppler probe secured by a headband maintaining the same insonation position throughout the CVR protocol lasting for one hour. In all subjects, right middle cerebral artery was insonated through the transtemporal window at a depth of 50 to 60 mm. Mean, systolic and diastolic right MCAv (in $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$) were then acquired over each heartbeat during the entire experiment. MCAv during the hypercapnic challenge was calculated as relative value, *i.e.* % change between the hypercapnic condition and the previous reference normoxic period (see below).

To assess CVR, subjects inhaled via a face mask gas mixtures with various inspiratory O_2 (FiO_2) and CO_2 (FiCO_2) fractions delivered by a modified Altitrainer 200[®] (SMTEC, Nyon, Switzerland) and were blinded for the gas mixture composition. FiO_2 and FiCO_2 were adjusted to reach the following target PetO_2 and PetCO_2 according to the modified “Leiden proposal” (Teppema and Dahan, 2010): 10 min with $\text{PetO}_2 = 100$ mmHg and $\text{FiCO}_2 = 0$ (poikilocapnic normoxia), 10 min with $\text{PetO}_2 = 55$ mmHg (similar to the value observed at 4,365 m of altitude) and PetCO_2 kept at the same value measured at the end of the previous period (isocapnic hypoxia), 10 min of poikilocapnic normoxia, 10 min with $\text{PetO}_2 = 55$ mmHg and $\text{PetCO}_2 = 5$

mmHg above the level measured during the first poikilocapnic normoxic period (hypercapnic hypoxia 1), 10 min of poikilocapnic normoxia, and 10 min with $PetO_2 = 55$ mmHg and $PetCO_2 = 12$ mmHg above the level measured during the first poikilocapnic normoxic period (hypercapnic hypoxia 1). $PetO_2$ and $PetCO_2$ were continuously measured using an automated metabolic cart (Quark b2, Cosmed, Rome, Italy). MCAv was acquired continuously during the entire protocol and mean MCAv was averaged over the last minute of each period. Measures corresponding to isocapnic hypoxia, hypercapnic hypoxia 1 and 2 periods were expressed as a percentage of the respective previous poikilocapnic normoxic periods and used to calculate the CVR, *i.e.* the slope of the linear regression between relative MCAv values and $PetCO_2$.

Clinical examination

Clinical examination included measurements of heart rate and non-invasive blood pressure (Dinamap, GE Medical Systems Inc., Milwaukee, WI) under resting conditions. SpO_2 was measured using finger-pulse oxymetry (Biox 3740 Pulse Oximeter, Ohmeda, Louisville, CO) after 30-s signal stabilization. Every morning at high altitude, subjects were also asked to complete self-reported questionnaires for acute mountain sickness (AMS) evaluation according to the Lake Louise Score (LLS, 5 items) (Roach et al., 1993) and the cerebral subscore of the Environmental Symptom Questionnaire (ESQ-III AMS-C, 11 items) (Sampson et al., 1983). The presence of AMS was defined as $LLS > 3$ and $AMS-C \geq 0.70$.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed on resting perfusion and CVR values obtained by ASL MRI and TCD using SPSSv18. An ANOVA with repeated measures was first conducted to rule out a potential main effect of the hemispheric SIDE in the MCA values. In absence of SIDE effect, right and left MCA values were averaged. ANOVAS were further conducted to identify main effects of factor ROI (ACA, MCA, PCA), factor TIME (before and after altitude stay), and an interaction $ROI \times TIME$. Pairwise comparisons were conducted using Wilcoxon rank tests. Correlations analyses were assessed using Spearman coefficient. All data are expressed as means \pm standard deviation (sd). An omnibus significance threshold of $p < 0.05$ was used.

RESULTS

Physiological and clinical data

Nine subjects presented AMS according the LLS score (peak LLS score during the altitude stay: 5.7 ± 2.5 points, on average), three of them had severe AMS with LLS > 6. AMS-C score indicated AMS in 6 subjects (peak AMS-C score during the altitude stay: 1.03 ± 0.87 points, on average).

Physiological data measured prior to the altitude exposure, on day 5 at altitude and after the altitude stay are shown in Table 1. SpO₂ was significantly lower after five days at altitude compared to before and after the altitude stay. PetCO₂ was significantly reduced after five days at altitude and after the altitude stay compared to before the altitude stay. Breathing frequency, heart rate and arterial pressure increased significantly after five days at altitude compared to before and after the altitude stay.

No adverse reaction was detected in subjects during the hypercapnic stimulus. During the ASL CVR assessment, the hypercapnic gas mixture increased PetCO₂ similarly before ($+10.2 \pm 3.6$ mmHg compared to breathing air) and after ($+11.0 \pm 3.6$ mmHg) the altitude stay. This increase in PetCO₂ was also similar to the maximum hypercapnic stimulus imposed by the TCD CVR protocol (*i.e.* +12 mmHg)

MRI and TCD data

In the MRI analysis, datasets from 3 subjects were excluded due to excessive head motion (n=1), inappropriate hypercapnic stimulus (n=1) and inappropriate acquisition time (n=1), leaving 9 subjects for the ASL basal perfusion study, and 8 subjects for the ASL CVR study. In TCD, all datasets were available at rest, and one CVR dataset was missing due to a technical problem, leaving 10 subjects to study CVR.

Cerebral perfusion

ASL MRI. The delay between the helicopter descent and the MRI exam after the altitude stay was $6 \text{ h } 30 \text{ min} \pm 2 \text{ h } 10 \text{ min}$ on average. Because no effect of the hemispheric side was detected, right and left MCA values were averaged. The ANOVA showed main effects of TIME ($p=0.02$) and ROI ($p<0.01$), without interaction TIME \times ROI. The main effect of TIME was due to

significant CBF increase in MCA and ACA territories (figure 3). Increased CBF was observed in all subjects in the MCA territory (figure 4a). Group-average CBF increased by more than 20%, from 71.7 ± 14.4 to 85.1 ± 10.1 ml/100g/min and from 76.7 ± 15.6 to 90.2 ± 9.5 ml/100g/min in the MCA and ACA territories, respectively. The main effect of ROI was due to higher CBF values in ACA compared to MCA and PCA (figure 3).

TCD. The systolic and diastolic MCAv increased significantly from 89.3 ± 9.2 cm.s⁻¹ and 39.5 ± 6.5 cm.s⁻¹, respectively before the altitude stay to 102.5 ± 15.3 cm.s⁻¹ and 48.3 ± 6.9 cm.s⁻¹, at day 5 at 4,365 m. An increase in MCAv was observed in all subjects but one. The group average MCAv increased by 20.5 ± 15.5 % (figure 4b).

No correlation between TCD MCAv and ASL CBF at rest was detected. No correlation was observed between AMS scores during the altitude stay and changes in MCAv or CBF.

Cerebrovascular reactivity

ASL MRI. The ANOVA showed a main effect of TIME ($p=0.01$) and a trend for ROI ($p=0.06$) without interaction TIME \times ROI. The main effect of TIME was due to significant CVR decrease in all territories (figure 5). This result was observed in all subjects in the MCA territory (figure 6a). Despite negative relationships, no significant correlations were detected between basal CBF and CVR changes before or after altitude stay.

TCD. CVR MCAv were 5.2 ± 2.0 and 3.9 ± 1.2 %/mmHg before and after altitude stay, respectively (figure 6b). The mean decrease of CVR MCAv was 12.3 ± 54.5 %. A negative correlation between changes in CVR and MCAv was detected (Spearman $\rho = -0.64$; $p < 0.05$).

Significant correlation between changes in TCD CVR and ASL CVR was detected (Spearman $\rho = 0.91$; $p < 0.01$). No correlation was observed between AMS scores during the altitude stay and changes in CVR measured with ASL or TCD.

DISCUSSION

After 5 days at 4,365 m, MCAv measured by TCD suggested an increase in CBF, confirmed by absolute CBF measurement using ASL immediately after the altitude stay. Vasoreactivity to CO₂ measured by ASL decreased in all vascular territories. Vasoreactivity to CO₂ measured by TCD did not change significantly, although slightly lower values were observed at altitude compared to before altitude. Despite regional differences in amplitude, changes were similar across vascular territories. Interestingly, no negative correlation was detected between the increase in basal perfusion and the reduction of vasoreactivity, which may indicate a specific dysfunction of the vasoreactivity *per se* and not a common cause or a mechanistic relation between changes in vasoreactivity and in CBF. No relationship was found between the changes in CBF or CO₂ vasoreactivity and the severity of AMS during the altitude stay.

To our knowledge, this is the first study quantifying CBF and CVR after high altitude exposure using ASL. The majority of previous studies having investigated cerebral hemodynamic changes at high altitude used TCD mostly because it is relatively easy to carry and use at altitude. TCD is however a manipulator-dependent techniques with poor between-day reproducibility (McMahon et al., 2007). Because transcranial color-coded sonography enables correction for the angle of insonation when determining blood flow velocities (Martin et al., 1995), this technique was used in the present study to measure basal MCAv. Compared to TCD, ASL has the advantage to measure perfusion in absolute values and its resolution and spatial coverage allows the quantification of CBF and CVR regionally. Moreover, ASL reflects the microcirculation in the tissue whereas TCD is a direct measurement of the velocity in the macro-circulation, usually in the MCA. It is not usually possible to perform ASL at high altitude, however these results demonstrate the interest of using this method after altitude exposure to better explain the mechanisms of long term hypoxia.

Only one study having measured CBF by ASL within the context of AMS (Dyer et al. (2008)) reported increased CBF after 30 min of normobaric hypoxia, this increase being similar in subjects with or without prior history of AMS. This hypoxic exposure duration is however very different compared to prolonged hypoxia as encountered during altitude stay. In the present study, ASL demonstrated a significant and widespread increase in CBF after 7 days at altitude.

There are various mechanisms that can cause a change in perfusion during or immediately

after an altitude stay. Hypoxia-induced hyperventilation reduces arterial CO_2 and therefore potentially induces cerebral vasoconstriction and reduced CBF. The large effect of hyperventilation on arterial CO_2 is shown in the present study by the reduced PetCO_2 values at day 5 and immediately after the altitude stay (Table 1). After several days at altitude however, the initial increase in cerebrospinal pH and consequently its vasoconstrictive effect is thought to be partly compensated (Brugniaux et al., 2007). Although we could not measure blood or cerebrospinal pH, the present results indicate that despite the potential effect of still alkaline pH, MCAv after 5 days at altitude was elevated compared to sea level. After returning to sea level at day 7, subjects were still hypocapnic, although slightly less than on day 5 at altitude, and CBF remained elevated. In order to assess whether the enhanced CBF on day 7 at sea level was the consequence of a slightly increased arterial CO_2 compared to the acido-basic balance reached at altitude (i.e. compared to the PetCO_2 observed on day 5 at altitude), we can extrapolate the CBF that would have been obtained on day 7 at the same level of capnia compared to altitude (on day 5), knowing the CVR. The correction for the slight difference in capnia between the two conditions only accounts for about 30% of the perfusion increase observed between the MRI exams before and after the altitude stay. Hence, most of the increase in CBF measured immediately after altitude by ASL compared to before altitude cannot be explained by a slightly reduced ventilation and reduced hypocapnia compared to the levels obtained after several days at altitude.

It has also been shown that a significant (albeit relatively small, 3.7% on average) hematocrit increase is observed following a similar altitude stay (Robach et al., 2002). This change in hematocrit could have an effect on the ASL signal (Silvennoinen et al., 2003; Gevers et al., 2012) since a larger hematocrit leads to a decrease of the longitudinal relaxation time of the arterial blood, reducing the perfusion signal measured by ASL. To prevent this from affecting our measurements, we calculated the CBF after the altitude stay by taking into account the average increase in hematocrit observed by Robach et al. (Robach et al., 2002) under similar conditions. We also acquired a tissue T_1 map, which was used in the CBF quantification. We did not observe any significant difference in grey matter tissue T_1 before and after altitude, suggesting that any blood relaxation time changes were not sufficient to affect overall tissue relaxation times, likely due to both the small blood volume fraction and the small amplitude of blood T_1 changes..

A significant increase in arterial blood pressure was observed after 5 days at 4,365 m, while

similar values were observed before and after the altitude stay. Cerebral autoregulation (*i.e.* the rapid response of the cerebral vessels to changes in mean arterial pressure in order to keep CBF within physiologically tolerable levels) is impaired at altitude (Jansen et al., 1999; Van Osta et al., 2005) and therefore some changes in blood pressure as observed in the present study may affect CBF. Although we cannot rule out this hypothesis which requires further investigations, changes in cerebral autoregulation is not thought to be a critical factor for changes in CBF at altitude under resting conditions (Brugniaux et al., 2007).

Angiogenesis can occur after several days or weeks at altitude (Xu and LaManna, 2006) and could influence the CBF measured by ASL after several days at 4,365 m. This phenomenon is probably still at its very early stages at the end of the altitude stay in the present study. In order to assess the contribution of angiogenesis to the increase in CBF observed here, imaging absolute CBV, vessel size and vessel density could provide additional information (Tropès et al., 2001; Jensen et al., 2006). Angiogenesis may also be characterized *in vivo* by dosing blood biomarkers such as VEGF and its soluble receptors (Batchelor et al., 2007), though this approach is not specific to the brain.

We hypothesized that the reduction of arterial oxygenation is the main parameter influencing the increase in CBF at high altitude and we speculated that the increased CBF at altitude (as suggested by the TCD measurement at day 5 at altitude) would disappear as soon as the subjects would be back to sea level, *i.e.* when the hypoxic stimulus would not be present anymore. In contrast to this hypothesis, the ASL measurements showed that CBF was still increased after the altitude stay compared to before. This suggests that in addition to the hypoxic vasodilator stimulus *per se*, additional mechanisms such as changes in cerebral autoregulation or angiogenesis may significantly contribute to the larger CBF observed at altitude.

While the increase in CBF serves to maintain oxygen delivery to the brain under hypoxic conditions, its role regarding altitude acclimatization remains debated. In the present study and in accordance with recent results (Dyer et al., 2008; Subudhi et al., 2011), no relationship was observed between the severity of AMS symptoms at altitude and changes in CBF or CO₂ vasoreactivity, therefore suggesting that cerebral hemodynamic changes resulting from altitude exposure do not play a major role for the development of AMS.

One limitation of the present study is the small sample size, due to the complexity to organize such an experimental protocol at high altitude combined with MRI investigations. However, the

observed changes in perfusion and CVR as assessed by MRI between pre- and post-altitude sessions were clear already with this sample size, we believe that the present study provides data significantly contributing to our understanding of hemodynamic changes associated with high altitude. Moreover, we demonstrate a correlation between TCD and ASL regarding CO₂ vasoreactivity, even though the changes in vasoreactivity assessed by TCD did not reach significance.

Conclusion

This study is the first to measure cerebral perfusion and vasoreactivity with ASL after a prolonged stay at high altitude. Despite the small sample size due to inherent limitations of the experimental protocol, robust changes in CBF and CVR as well as significant correlation between ASL and TCD measurements of CVR were observed. We demonstrate that long term exposure to high altitude significantly increases cerebral blood flow and decreases vasoreactivity to CO₂. Comparison of MRI results at sea level immediately after the altitude stay with prior TCD measurements at high altitude shows that the increase in CBF observed after several days at high altitude is not only the consequence of the vasodilating effect of hypoxia but probably involved other mechanisms such as changes in cerebral autoregulation and angiogenesis. Further investigations are needed to explore these mechanisms.

Bibliography

Aguirre, G.K., Detre, J.A., 2012. The development and future of perfusion fMRI for dynamic imaging of human brain activity. *NeuroImage* 62, 1279–1285.

Ainslie, P.N., 2004. Ventilatory, cerebrovascular, and cardiovascular interactions in acute hypoxia: regulation by carbon dioxide. *Journal of Applied Physiology* 97, 149–159.

Ainslie, P.N., Burgess, K., Subedi, P., Burgess, K.R., 2007. Alterations in cerebral dynamics at high altitude following partial acclimatization in humans: wakefulness and sleep. *Journal of Applied Physiology* 102, 658–664.

Ainslie, P.N., Burgess, K.R., 2008. Cardiorespiratory and cerebrovascular responses to hyperoxic and hypoxic rebreathing: effects of acclimatization to high altitude. *Respir Physiol Neurobiol* 161, 201–209.

Ainslie, P.N., Ogoh, S., Burgess, K., Celi, L., McGrattan, K., Peebles, K., Murrell, C., Subedi, P., Burgess, K.R., 2008. Differential effects of acute hypoxia and high altitude on cerebral blood flow velocity and dynamic cerebral autoregulation: alterations with hyperoxia. *Journal of Applied Physiology* 104, 490–498.

Ashburner, J., Friston, K.J., 2005. Unified segmentation. *NeuroImage* 26, 839–851.

Aslan, S., Xu, F., Wang, P.L., Uh, J., Yezhuvath, U.S., Osch, M. van, Lu, H., 2010. Estimation of labeling efficiency in pseudocontinuous arterial spin labeling. *Magn Reson Med* 63, 765–771.

Batchelor, T.T., Sorensen, A.G., di Tomaso, E., Zhang, W.-T., Duda, D.G., Cohen, K.S., Kozak, K.R., Cahill, D.P., Chen, P.-J., Zhu, M., Ancukiewicz, M., Mrugala, M.M., Plotkin, S., Drappatz, J., Louis, D.N., Ivy, P., Scadden, D.T., Benner, T., Loeffler, J.S., Wen, P.Y., Jain, R.K., 2007. AZD2171, a pan-VEGF receptor tyrosine kinase inhibitor, normalizes tumor vasculature and alleviates edema in glioblastoma patients. *Cancer Cell* 11, 83–95.

Brugniaux, J.V., Hodges, A.N.H., Hanly, P.J., Poulin, M.J., 2007. Cerebrovascular responses to altitude. *Respir Physiol Neurobiol* 158, 212–223.

Chan, C.W.M., Hoar, H., Pattinson, K., Bradwell, A.R., Wright, A.D., Imray, C.H.E., 2005. Effect of sildenafil and acclimatization on cerebral oxygenation at altitude. *Clinical Science* 109, 319.

Cohen, P.J., Alexander, S.C., Smith, T.C., Reivich, M., Wollman, H., 1967. Effects of hypoxia and normocarbica on cerebral blood flow and metabolism in conscious man. *J Appl Physiol* 23, 183–189.

Dai, W., Garcia, D., Bazelaire, C. de, Alsop, D.C., 2008. Continuous flow-driven inversion for arterial spin labeling using pulsed radio frequency and gradient fields. *Magn Reson Med* 60, 1488–1497.

- Dyer, E.A.W., Hopkins, S.R., Perthen, J.E., Buxton, R.B., Dubowitz, D.J., 2008. Regional cerebral blood flow during acute hypoxia in individuals susceptible to acute mountain sickness. *Respir Physiol Neurobiol* 160, 267–276.
- Fan, J.-L., Burgess, K.R., Basnyat, R., Thomas, K.N., Peebles, K.C., Lucas, S.J.E., Lucas, R.A.I., Donnelly, J., Cotter, J.D., Ainslie, P.N., 2010. Influence of high altitude on cerebrovascular and ventilatory responsiveness to CO₂. *J. Physiol. (Lond.)* 588, 539–549.
- Gevers, S., Nederveen, A.J., Fijnvandraat, K., van den Berg, S.M., van Ooij, P., Heijtel, D.F., Heijboer, H., Nederkoorn, P.J., Engelen, M., van Osch, M.J., Majoie, C.B., 2012. Arterial spin labeling measurement of cerebral perfusion in children with sickle cell disease. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 35, 779–787.
- Hernandez-Garcia, L., Jahanian, H., Rowe, D.B., 2010. Quantitative analysis of arterial spin labeling fMRI data using a general linear model. *Magn Reson Imaging* 28, 919–927.
- Huang, S.Y., Moore, L.G., McCullough, R.E., McCullough, R.G., Micco, A.J., Fulco, C., Cymerman, A., Manco-Johnson, M., Weil, J.V., Reeves, J.T., 1987. Internal carotid and vertebral arterial flow velocity in men at high altitude. *J. Appl. Physiol.* 63, 395–400.
- Jansen, G.F., Krins, A., Basnyat, B., 1999. Cerebral vasomotor reactivity at high altitude in humans. *J. Appl. Physiol.* 86, 681–686.
- Jensen, J.B., Wright, A.D., Lassen, N.A., Harvey, T.C., Winterborn, M.H., Raichle, M.E., Bradwell, A.R., 1990. Cerebral blood flow in acute mountain sickness. *J. Appl. Physiol.* 69, 430–433.
- Jensen, J.H., Lu, H., Inglese, M., 2006. Microvessel density estimation in the human brain by means of dynamic contrast-enhanced echo-planar imaging. *Magn Reson Med* 56, 1145–1150.
- Lucas, S.J.E., Burgess, K.R., Thomas, K.N., Donnelly, J., Peebles, K.C., Lucas, R.A.I., Fan, J.-L., Cotter, J.D., Basnyat, R., Ainslie, P.N., 2011. Alterations in cerebral blood flow and cerebrovascular reactivity during 14 days at 5050 m. *J. Physiol. (Lond.)* 589, 741–753.
- Martin, P.J., Evans, D.H., Naylor, A.R., 1995. Measurement of blood flow velocity in the basal cerebral circulation: advantages of transcranial color-coded sonography over conventional transcranial Doppler. *J Clin Ultrasound* 23, 21–26.
- McMahon, C.J., Mcdermott, P., Horsfall, D., Selvarajah, J.R., King, A.T., Vail, A., 2007. The reproducibility of transcranial Doppler middle cerebral artery velocity measurements: Implications for clinical practice. *British Journal of Neurosurgery* 21, 21–27.
- Mumford, J.A., Hernandez-Garcia, L., Lee, G.R., Nichols, T.E., 2006. Estimation efficiency and statistical power in arterial spin labeling fMRI. *Neuroimage* 33, 103–114.
- Parkes, L.M., Rashid, W., Chard, D.T., Tofts, P.S., 2004. Normal cerebral perfusion

measurements using arterial spin labeling: reproducibility, stability, and age and gender effects. *Magn Reson Med* 51, 736–743.

Poulin, M.J., Fatemian, M., Tansley, J.G., O'Connor, D.F., Robbins, P.A., 2002. Changes in cerebral blood flow during and after 48 h of both isocapnic and poikilocapnic hypoxia in humans. *Experimental physiology* 87, 633–642.

Roach, R., Bartsch, P., Hackett, P., Oelz, O., 1993. The lake louise acute mountain sickness scoring system, in: *Hypoxia and Molecular Medicine*. pp. 272–274.

Robach, P., Lafforgue, E., Olsen, N.V., Déchaux, M., Fouqueray, B., Westerterp-Plantenga, M., Westerterp, K., Richalet, J.-P., 2002. Recovery of plasma volume after 1 week of exposure at 4,350 m. *Pflugers Arch.* 444, 821–828.

Sampson, J.B., Cymerman, A., Burse, R.L., Maher, J.T., Rock, P.B., 1983. Procedures for the measurement of acute mountain sickness. *Aviat Space Environ Med* 54, 1063–1073.

Severinghaus, J.W., Chiodi, H., Eger, E.I., 2nd, Brandstater, B., Hornbein, T.F., 1966. Cerebral blood flow in man at high altitude. Role of cerebrospinal fluid pH in normalization of flow in chronic hypocapnia. *Circ. Res.* 19, 274–282.

Silvennoinen, M.J., Kettunen, M.I., Kauppinen, R.A., 2003. Effects of hematocrit and oxygen saturation level on blood spin-lattice relaxation. *Magnetic Resonance in Medicine* 49, 568–571. Subudhi, A.W., Dimmen, A.C., Julian, C.G., Wilson, M.J., Panerai, R.B., Roach, R.C., 2011.

Effects of acetazolamide and dexamethasone on cerebral hemodynamics in hypoxia. *Journal of Applied Physiology* 110, 1219–1225.

Teppema, L.J., Dahan, A., 2010. The Ventilatory Response to Hypoxia in Mammals: Mechanisms, Measurement, and Analysis. *Physiological Reviews* 90, 675–754.

Thompson, R., 1985. A note on restricted maximum likelihood estimation with an alternative outlier model. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B. Methodological* 47, 53–55.

Troprès, I., Grimault, S., Vaeth, A., Grillon, E., Julien, C., Payen, J.F., Lamalle, L., Décorps, M., 2001. Vessel size imaging. *Magn Reson Med* 45, 397–408.

Van Osta, A., Moraine, J.-J., Melot, C., Mairbaur, H., Maggiorini, M., Naeije, R., 2005. Effects of High Altitude Exposure on Cerebral Hemodynamics in Normal Subjects. *Stroke* 36, 557–560.

Wilson, M.H., Edsell, M.E.G., Davagnanam, I., Hirani, S.P., Martin, D.S., Levett, D.Z.H., Thornton, J.S., Golay, X., Strycharczuk, L., Newman, S.P., Montgomery, H.E., Grocott, M.P.W., Imray, C.H.E., 2011. Cerebral artery dilatation maintains cerebral oxygenation at extreme altitude and in acute hypoxia--an ultrasound and MRI study. *J. Cereb. Blood Flow Metab* 31, 2019–2029.

Wolff, C.B., 2000. Cerebral blood flow and oxygen delivery at high altitude. *High Alt. Med. Biol.*

1, 33–38.

Xu, K., LaManna, J.C., 2006. Chronic Hypoxia and the Cerebral Circulation. *J Appl Physiol* 100, 725–730.

Tables and Figures

Table 1. Physiological parameters. Physiological parameters (mean±SD) before the altitude stay, after 5 days at 4,365 m, and after the altitude stay

	SpO ₂ (%)	PetCO ₂ (mmHg)	Breathing Frequency (min ⁻¹)	Heart Rate (.min ⁻¹)	Mean arterial pressure (mmHg)
Before altitude (212 m)	97.2±0.5	40.9±4.9	13.8±2.7	61.2±7.7	104.4±6.1
Day 5 at altitude (4,365 m)	87.6±1.3* [§]	30.5±3.1*	19.2±2.7* [§]	77.9±16.1* [§]	115.6±6.7* [§]
After altitude (212 m)	97.8±0.7	33.2±4.0*	14.9±2.9	63.1±8.2	105.8±8.1

Values are Mean ± SD. SpO₂, arterial oxygen saturation; PetCO₂, end-tidal partial CO₂ pressure.

* Significantly different compared to before the altitude stay; [§] Significantly different compared to after the altitude stay

Figure 1. Vasoreactivity ASL design matrix. The first regressor represents the constant of the baseline MR signal. The second regressor represents the baseline ASL signal of alternating sign in control and tag images. The third regressor describes the perfusion changes during 1'2'1' paradigm alternating air and air-enriched in CO₂. The fourth regressor represents the BOLD effect changes during the vasoreactivity experiment. The last 2 regressors are calculating using the end-tidal CO₂ measured during the experiment.

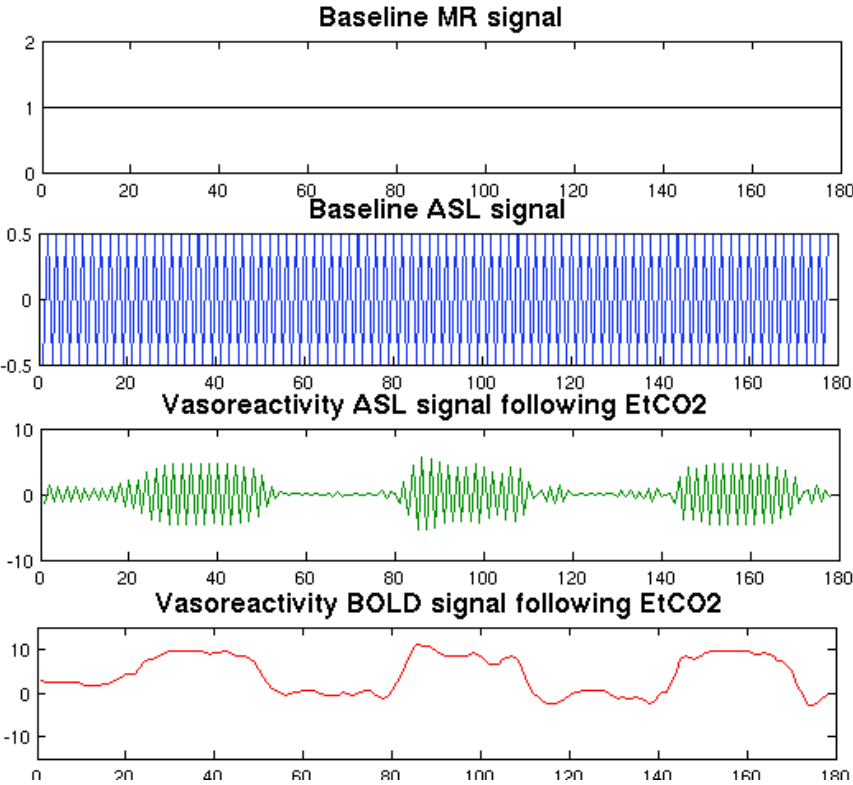


Figure 2. MRI images of cerebral blood flow and ROIs. a) Upper row shows the cerebral blood flow of one subject for 6 slices from the cerebellum to the superior parietal and frontal regions. The color bar indicates the quantitative blood flow measured by ASL in $\text{mL}\cdot 100\text{g}^{-1}\cdot \text{min}^{-1}$. b) The second row is the superposition of the normalized anatomical image of the same subject with vascular territories (Blue: MCA, Green: PCA, Red: ACA).

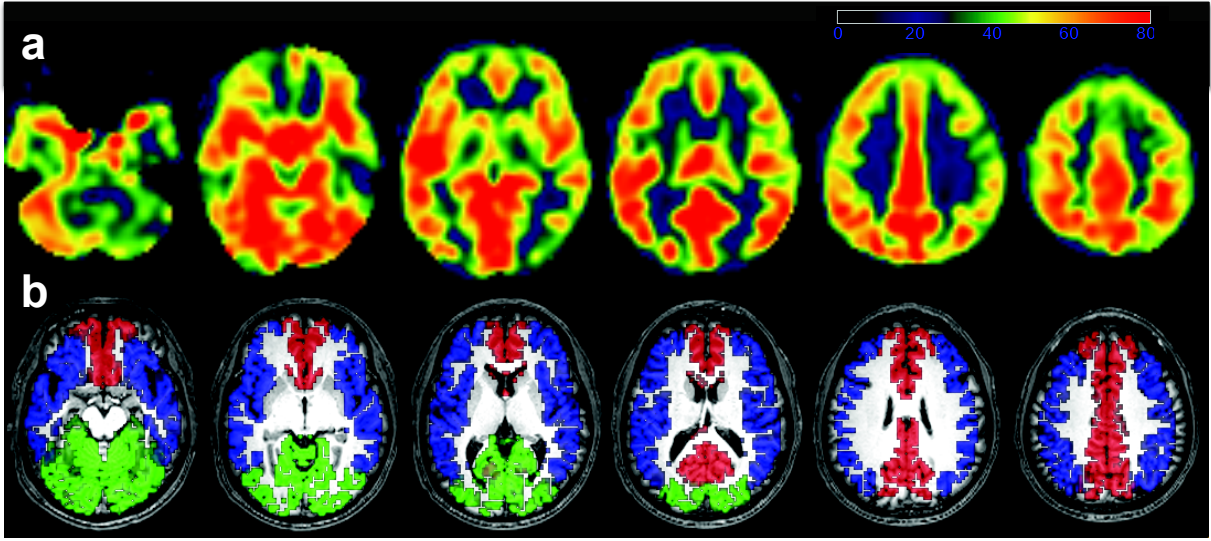


Figure 3. Cerebral perfusion before altitude, after the altitude stay in vascular territories measured in ASL. The mean increase of CBF in the MCA territory was $22.0 \pm 24.1 \%$, $20.6 \pm 20.3 \%$ in the ACA and $14.8 \pm 18.4 \%$ (* $p < 0.05$).

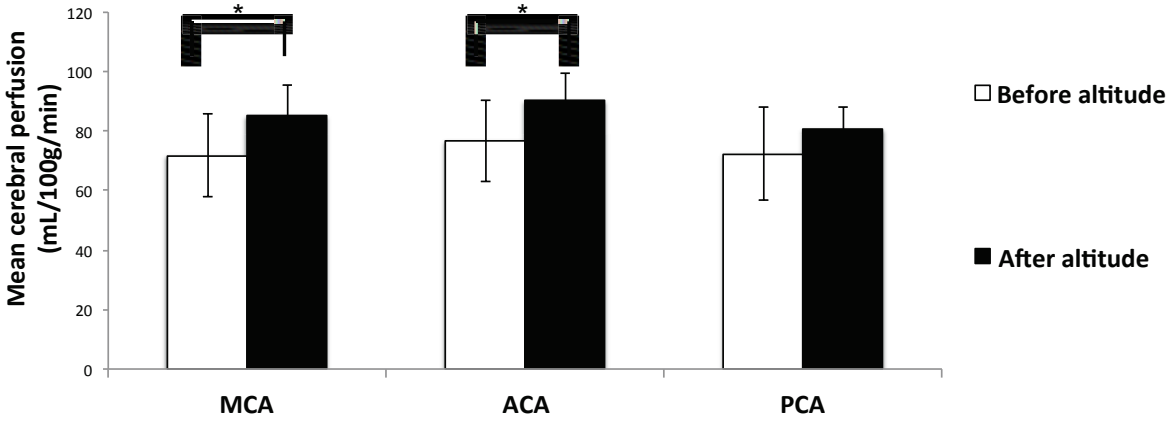


Figure 4. Cerebral perfusion in the MCA territory. a) Individual and group mean cerebral perfusion measured by ASL in $\text{mL} \cdot 100\text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ in the gray matter of the MCA territory before and after the altitude stay increased in all subjects (* $p < 0.05$). b) Individual and group mean blood velocity measured by 2D TCD in $\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$ in the right MCA before the altitude stay and after 5 days at 4,365 m increased in 10 subjects out of 11 (* $p < 0.05$).

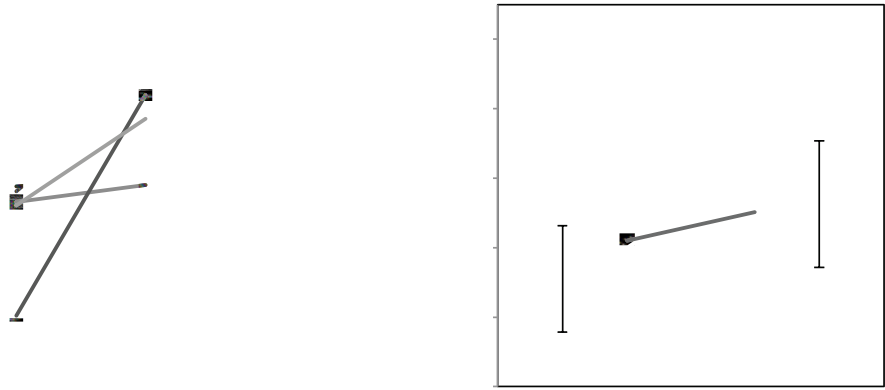


Figure 5. Cerebral vasoreactivity before and after the altitude stay in vascular territories measured by ASL. The mean decrease of CVR in the MCA was $-29.5 \pm 19.8 \%$, $-26.9 \pm 24.1 \%$ in the ACA, and $-23.8 \pm 23.2 \%$ in the PCA (* $p < 0.05$).

Figure 6. Cerebral vasoreactivity in MCA territory. a) Individual and group mean cerebral vasoreactivity measured by ASL in the gray matter of the MCA territory before and after the altitude stay was decreased in 8 subjects out of 9. b) Individual and group mean cerebral vasoreactivity measured by TCD in the right MCA before the altitude stay and after 5 days at 4,365 m was decreased in 7 subjects out of 10, but it did not reach significance.

11.4 Discussion complémentaire et conclusion

Nous avons montré une augmentation de la perfusion cérébrale au cinquième jour en altitude grâce aux mesures de TCD, ainsi qu'une augmentation du CBF en ASL après 7 jours en altitude. La vasoréactivité mesurée en ASL est quant à elle diminuée après 7 jours en altitude, une tendance à la diminution avait été montrée en TCD à 5 jours en altitude.

Les mécanismes physiologiques à l'origine de cette augmentation de perfusion et à cette diminution de la vasoréactivité ont été discutés dans la publication. Les principaux effets étant certainement dus à l'hypoxie en altitude, à l'autorégulation cérébrale ou bien à l'angiogénèse.

Au niveau méthodologique, cette étude nous a permis de valider notre protocole de vasoréactivité ASL sur des sujets sains. Nous avons aussi pu démontrer la faisabilité de notre protocole dans une étude de groupe. L'utilisation de l'antenne 32 canaux nous a permis de profiter d'un meilleur SNR (Ferré et al., 2012). En effet, les études sur patients sont régulièrement acquises grâce à l'antenne 8 canaux puisque les acquisitions BOLD en vasoréactivité ne sont pas disponibles sur l'antenne 32 canaux.

D'autres données ont été acquises au cours des sessions d'IRM avant et après la montée en altitude. Les images acquises sont des séquences de diffusion, des images anatomiques haute résolution T_13D et FLAIR et des cartes T_2 quantitatives. L'objectif étant de quantifier l'œdème cérébrale après 7 jours à 4365 m, que ce soit dans la matière grise, la matière blanche, ou bien le LCR. Les analyses sont en cours.

Conclusion générale et perspectives

Conclusion générale

Pour conclure, les travaux effectués au cours de cette thèse ont permis d'optimiser les protocoles d'acquisition et de traitement des données en ASL, pour la mesure de la perfusion basale et de la vasoréactivité, dans le but de transférer ces méthodes vers la recherche clinique. L'application de ces méthodes a permis d'en démontrer les intérêts mais aussi les limites.

Les travaux méthodologiques effectués lors de cette thèse pourront être utiles à la communauté de chercheurs en IRM, pour ce qui est des études publiées, ou bien à un public plus restreint, les chercheurs du laboratoire. La méthode BoTuS mise en place et validée au cours de cette thèse permettra aux méthodologistes travaillant en ASL pulsé d'optimiser le paramètre TI_1 de leur séquence, soit à l'échelle individuelle, soit à l'échelle d'un groupe de sujets. L'utilisation de régresseurs basés sur la capnie ou la correction de bruit physiologique pourront être utiles aux chercheurs souhaitant étudier la vasoréactivité en ASL. Ces travaux vont de plus être poursuivis afin d'inclure ces méthodes dans le calcul des cartes de vasoréactivité en BOLD. Les programmes de traitement mis en place et validés sur nos cohortes de sujet seront utiles au laboratoire pour les acquisitions futures et permettront de pérenniser les méthodes de traitement que nous avons implémentés.

Les applications cliniques sur lesquelles nous avons travaillé m'ont permis de me familiariser avec le contexte de la recherche clinique. Les collaborations scientifiques établies vont permettre de continuer ce transfert de connaissances entre praticiens hospitaliers, physiologistes, biologistes et physiciens. Les résultats obtenus, dans des pathologies telles que la maladie d'Alzheimer (chapitre 9) ou bien les effets de l'altitude (chapitre 11), sur la perfusion cérébrale et la vasoréactivité sont autant de preuves de l'utilité de cette connexion entre la clinique et la recherche méthodologique.

Les études NEOTUM et CEVASTOC (chapitres 6 et 10), nous ont permis de voir que la technique d'ASL n'était peut être pas encore assez puissante pour permettre d'établir un diagnostic fiable en routine clinique à l'échelle de l'individu. Ces résultats, encore préliminaires, ont montrés que les comparaisons multi-modales ne sont pas aisées, et que certains paramètres de la séquence ASL, tel que le temps de transit, peuvent être incompatibles avec certaines pathologies, tels que les sténoses.

Perspectives

Certaines données acquises au cours de cette thèse n'ont pas pu être insérées dans ce manuscrit. C'est notamment le cas des données acquises au cours du protocole HERMES. Ce protocole, rapidement présenté lors de l'introduction de la partie IV, porte sur le suivi multi-paramétrique de patients traités par injection de cellules souches mésenchymateuses humaines (CSMh) après un accident vasculaire cérébral. A ce jour, 15 sujets ont été inclus

dans cette étude et sont suivis pour une durée de 2 ans. Les premières données de ce protocole sont en cours d'analyse.

Nous avons aussi commencé à utiliser l'ASL chez le primate non-humain. Les cartes obtenues sont prometteuses, il reste cependant à optimiser certains paramètres de séquence et à valider la quantification du CBF. Ces cartes seront utiles au laboratoire puisque certains projets sur primates ont pour objectif de quantifier la consommation en oxygène tissulaire, et cette quantification nécessite une carte de CBF.

Enfin, dans une perspective à plus large échelle, ces travaux ont permis de tester l'utilisation de l'ASL en recherche et dans un contexte clinique. Même si cette technique semble très prometteuse, son acceptation en clinique se heurte encore à des problèmes méthodologiques. L'imagerie de la perfusion basale en marquage pulsé est tributaire d'un rapport signal sur bruit faible, rendant les cartes de CBF obtenues sensibles aux artéfacts, de mouvements notamment. Ce problème semble tout de même résolu lorsque l'on utilise la technique d'ASL par marquage pseudo-continu puisque cette technique possède un rapport signal sur bruit plus important. Cependant, dans des pathologies vasculaires telles que les sténoses ou les AVC, les temps de transits artériels très allongés peuvent occasionner une sous-estimation du CBF. Malgré un temps d'inversion plus long en pCASL ce problème reste présent et rend l'analyse du CBF en ASL problématique dans de tels cas.

Pour ce qui est de la vasoréactivité, l'étude de cette donnée physiologique révèle définitivement un grand intérêt en clinique. Que ce soit en recherche clinique, afin d'étudier les mécanismes de pathologies neurologiques ou vasculaires, ou en clinique pour le diagnostic de la réserve vasculaire. Cependant, les contraintes à l'acquisition de tels protocoles sont un obstacle à son déploiement. En effet, un examen de vasoréactivité au CO_2 requiert l'utilisation d'un dispositif capable d'administrer au patient le paradigme d'inhalation de gaz propre à notre méthode. Ce dispositif doit être capable de changer rapidement la composition du gaz inhalé et le stimulus administré doit être reproductible. Ce genre de dispositif n'étant pas disponible facilement dans le commerce, chaque laboratoire possède son propre système, ce qui rend les études multicentriques difficiles, et l'utilisation clinique d'autant plus complexe. Les cartes de vasoréactivité obtenues en ASL sont, de plus, très bruitées. Ceci étant dû à la technique elle-même. Notre retour d'expérience montre que l'analyse individuelle de cartes de vasoréactivité ASL semble à ce jour impossible, dans notre cas. Les analyses par régions d'intérêt et par étude de groupe sont faisables à 3 Tesla, comme ce fut le cas du protocole Vallot, mais sur des cohortes de sujets calmes. L'étude CEVASAL nous a montré que l'étude la vasoréactivité à 1,5 Tesla en ASL n'était pas aisée dans nos conditions d'acquisitions. Les cartes de vasoréactivité ASL sont très sensibles aux mouvements, il est donc difficile d'obtenir des cartes de bonne qualité chez des sujets agités. L'analyse de la vasoréactivité à l'échelle individuelle doit donc être préférentiellement menée en utilisant le signal BOLD. Les améliorations possibles pour échapper aux problèmes de l'ASL pourraient être d'augmenter le rapport signal sur bruit de cette technique en utilisant une imagerie 3D, ou bien en utilisant des systèmes de contention pour limiter les mouvements ou des systèmes de suivi des mouvements en temps réel à l'acquisition.

Le logiciel GFB permettra de pérenniser les méthodes de traitement mises au point au cours de cette thèse. Cette infrastructure de traitement pourra être utile dans toute une série d'applications, telles que les études d'IRM fonctionnelle sur l'homme ou l'animal.

Enfin, la dernière perspective de ce travail serait l'utilisation de nos méthodes de traitement directement en routine clinique. Ceci nécessiterait l'implémentation de nos routines de traitement sur les consoles IRM. En effet, l'acceptation de la technique d'ASL

en routine clinique se heurte notamment aux difficultés de post-traitement de ces données en temps réel, par les manipulateurs ou les radiologues. Ainsi, un logiciel de traitement de données ASL directement sur la console de l'IRM pourrait permettre à cette technique d'émerger en clinique.

Table des figures

1.1	Aires cérébrales anatomiques et fonctionnelles	18
1.2	Réseau vasculaire cérébral humain	20
1.3	Anatomie des artères cérébrales	20
1.4	L'unité neurovasculaire	21
1.5	Schéma des modifications fonctionnelles de la perfusion cérébrale	24
1.6	Le couplage neurovasculaire	25
1.7	L'autorégulation cérébrale	26
2.1	Les différentes techniques d'imagerie de la perfusion cérébrale	29
2.2	Relaxation T_1 et T_2 de différents tissus	31
2.3	Cinétique du passage d'un bolus d'agent de contraste	35
2.4	Imagerie de la perfusion, traceurs diffusibles.	36
2.5	Résultat d'une soustraction contrôle/marquage en pCASL	38
2.6	Schéma des techniques ASL EPISTAR, FAIR et PICORE	40
2.7	La séquence Q2TIPS	41
2.8	Efficacité de marquage en CASL et PASL	42
2.9	Comparaison du SNR obtenu en CASL, pCASL et PASL	42
3.1	Le signal BOLD	46
3.2	ASL fonctionnel	48
4.1	Simulation largeur de bolus, technique BoTuS	66
5.1	Paramètres de mouvements et alternance contrôle/marquage	69
5.2	Paramètres de mouvements et matrice de dessin	70
5.3	Régresseurs statistiques en ASL	72
5.4	ROI automatiques vasculaires et anatomiques	75
5.5	Exemple de batch de traitement, GinFmriBatch	77
6.1	Traitement anti-angiogénique.	81
6.2	Traitements NEOTUM DSC	85
6.3	Traitements NEOTUM ASL	85
6.4	Traitements NEOTUM (TDM)	86
6.5	Exemple de cartes obtenues chez un patient du protocole NEOTUM.	88
6.6	Test de reproductibilité en TDMp et en DSC	89
6.7	Comparaison entre les méthodes TDMp, DSC et ASL	90
7.1	Installation du sujet dans l'IRM pour un examen de vasoréactivité.	98
7.2	Paradigme d'inhalation des gaz vasomoteur	99
8.1	Matrices de dessin pour l'analyse statistique des données de vasoréactivité	103

8.2	Moyenne du signal ASL brut et des signaux de perfusion et de vasoréactivité	106
8.3	Moyenne CBF et CVR, régresseurs physio ou bloc	107
8.4	Moyenne des cartes T pour le CBF et CVR, régresseurs physio ou bloc . .	107
9.1	Schéma des capillaires cérébraux dans la maladie d'Alzheimer	116
10.1	Comparaison du CBF entre DSC et ASL dans l'étude CEVASTOC	134
10.2	Comparaison du CBV, TTP et MTT en DSC et ASL dans l'étude CEVAS- TOC	134
10.3	Comparaison entre vasoréactivité BOLD et ASL en CEVASTOC	134
10.4	Étude de cas CEVASTOC n°1	135
10.5	Étude de cas CEVASTOC n°2	137
11.1	Conséquences neurologiques de l'altitude	142

Liste des tableaux

6.1	Liste des patients ayant participé au protocole NEOTUM	83
6.2	Corrélations entre les méthodes TDMp, DSC et ASL	90
8.1	Liste des sujets inclus dans l'analyse des régresseurs utilisés en vasoréactivité	104
10.1	Récapitulatif des sujets inclus dans l'étude CEVASTOC	131
10.2	Index de latéralité, étude CEVASTOC	133
11.1	Récapitulatif bibliographique des études sur la perfusion et la vasoréactivité sous hypoxie.	143

Annexes

Annexe 1 : Paramètres d'acquisition des principales séquences utilisées au cours de cette thèse

1. Paramètres de séquences de l'ASL pseudo-continu en vasoréactivité
2. Paramètres de la séquence BOLD en vasoréactivité
3. Paramètres de la séquence M0 pour la quantification du CBF en ASL
4. Paramètres de la séquence T1 pour la quantification du CBF en ASL
5. Paramètres de la séquence anatomique T13D
6. Paramètres de la séquence FLAIR

PCASL vasoréactivité

```

Multi-transmit = "yes";
Active channels = "both";
Coil selection 1 = "SENSE-Head-32AH";
element selection = "selection 1";
Coil selection 2 = "SENSE-Head-32P";
element selection = "selection 1";
Dual coil = "yes";
CLEAR = "yes";
body tuned = "no";
FOV AP (mm) = 240;
RL (mm) = 240;
FH (mm) = 131.399994;
Voxel size AP (mm) = 3;
RL (mm) = 3;
Slice thickness (mm) = 6;
Recon voxel size (mm) = 3;
Fold-over suppression = "no";
Reconstruction matrix = 80;
SENSE = "yes";
P reduction (RL) = 2.5;
P os factor = 1;
k-t BLAST = "no";
Stacks = 1;
type = "parallel";
slices = 20;
slice gap = "default";
slice orientation = "transverse";
fold-over direction = "RL";
fat shift direction = "L";
Stack Offc. AP (P==mm) = 2.68686342;
RL (L==mm) = -3.84705591;
FH (H==mm) = 3.68340898;
Ang. AP (deg) = -1.3602165;
RL (deg) = -16.8217316;
FH (deg) = -4.94881392;
Minimum number of packages = 1;
Slice scan order = "ascend";
Large table movement = "no";
PlanAlign = "no";
REST slabs = 0;
Interactive positioning = "no";
External control = "no";
Patient position = "head first";
orientation = "supine";
Scan type = "Imaging";
Scan mode = "MS";
technique = "FFE";
Contrast enhancement = "no";

Acquisition mode = "cartesian";
Fast Imaging mode = "EPI";
shot mode = "single-shot";
Echoes = 1;
partial echo = "no";
shifted echo = "no";
TE = "user defined";
TE (ms) = 11.1999998;
Flip angle (deg) = 90;
TR = "user defined";
TR (ms) = 4000;
Halfscan = "no";
Water-fat shift = "maximum";
RF Shims = "quadrature";
Shim = "auto";
Fat suppression = "SPIR";
strength = "strong";
frequency offset = "default";
Water suppression = "no";
MTC = "no";
Diffusion mode = "no";
SAR mode = "high";
B1 mode = "default";
PNS mode = "moderate";
Gradient mode = "maximum";
SoftTone mode = "no";
Multiphase ASL = "no";
Respiratory compensation = "no";
Navigator respiratory comp = "no";
Flow compensation = "no";
Temporal slice spacing = "minimal";
fMRI echo stabilisation = "no";
NSA = 1;
Angio / Contrast enh. = "no";
Quantitative flow = "no";
Manual start = "yes";
Dynamic study = "individual";
dyn scans = 90;
recon multiplier = 1;
dyn scan times = "shortest";
FOV time mode = "default";
dummy scans = 0;
immediate subtraction = "no";
fast next scan = "no";
synch. ext. device = "yes";
start at dyn. = 1;
interval (dyn) = 1;
dyn stabilization = "yes";
prospect. motion corr. = "no";
Keyhole = "no";


```

Arterial Spin labeling = "pCASL";
 label type = "parallel slab";
 label gap (mm) = 35;
 label location = "F";
 label duration = 1650;
 post label delay (ms) = 1525;
 vascular crushing = "no";
 back. supp. = "no";
 Preparation phases = "auto";
 Interactive F0 = "no";
 B0 field map = "no";
 B1 field map = "no";
 MIP/MPR = "no";
 Images = "M", (3) " no";
 " M";
 Autoview image = (4) " no";
 Calculated images = "Grey matter";
 Reference tissue = "no";
 EPI 2D phase correction = "soft";
 Preset window contrast = "immediate";
 Reconstruction mode = "no";
 Save raw data = "no";
 Hardcopy protocol = "rectangular";
 Ringing filtering = "default";
 Geometry correction = 1634755923;
 IF_info_separator = "12:06.9";
 Total scan duration = 100;
 Rel. signal level (%) = "4000 / 11";
 Act. TR/TE (ms) = "00:08.0";
 Dyn. scan time = "00:12.0";
 Time to k0 = "80 x 79";
 ACQ matrix M x P = "3.00 / 3.00 / 6.00";
 ACQ voxel MPS (mm) = "3.00 / 3.00 / 6.00";
 REC voxel MPS (mm) = 100;
 Scan percentage (%) = 1;
 Packages = 0;
 Min. slice gap (mm) = 0.6000000024;
 Act. slice gap (mm) = 35;
 EPI factor = "8.746 / 49.7";
 Act. WFS (pix) / BW (Hz) = "2517.9";
 BW in EPI freq. dir. (Hz) = "6.507 / 66.7";
 Min. WFS (pix) / Max. BW (Hz) = "3967 / 8.6";
 Min. TR/TE (ms) = "< 44 %";
 SAR / head = "< 0.1 W/kg / normal";
 Whole body / level = "1.55 uT / 44 %";
 B1 rms = "78 % / normal";
 PNS / level = 25.8262463;
 Sound Pressure Level (dB) =

BOLD vasoreactivité

```

Multi-transmit = "yes";
Active channels = "both";
Coil selection 1 = "SENSE-Head-32P";
element selection = "selection 1";
Coil selection 2 = "SENSE-Head-32AH";
element selection = "selection 1";
Dual coil = "yes";
CLEAR = "yes";
body tuned = "no";
FOV RL (mm) = 256;
AP (mm) = 256;
FH (mm) = 128;
Voxel size RL (mm) = 4;
AP (mm) = 4;
Slice thickness (mm) = 4;
Recon voxel size (mm) = 4;
Fold-over suppression = "no";
Reconstruction matrix = 64;
SENSE = "yes";
P reduction (AP) = 1.79999995;
P os factor = 1;
k-t BLAST = "no";
Stacks = 1;
type = "parallel";
slices = 32;
slice gap = "user defined";
gap (mm) = 0;
slice orientation = "transverse";
fold-over direction = "AP";
fat shift direction = "p";
Stack Offc. AP (P=+mm) = -3.79463863;
RL (L=+mm) = -3.84198403;
FH (H=+mm) = 6.06258917;
Ang. AP (deg) = -0.959953427;
RL (deg) = -20.1654835;
FH (deg) = -5.88370943;
Minimum number of packages = 1;
Slice scan order = "ascend";
Large table movement = "no";
PlanAlign = "no";
REST slabs = 0;
Interactive positioning = "no";
External control = "no";
Patient position = "head first";
orientation = "supine";
Scan type = "Imaging";
Scan mode = "MS";
technique = "FFE";

Contrast enhancement = "no";
Acquisition mode = "cartesian";
Fast Imaging mode = "EPI";
shot mode = "single-shot";
Echoes = 1;
partial echo = "no";
shifted echo = "no";
TE = "user defined";
(ms) = 35;
Flip angle (deg) = 90;
TR = "user defined";
(ms) = 3000;
Halfscan = "no";
Water-fat shift = "minimum";
RF Shims = "adaptive";
Shim = "auto";
Fat suppression = "SPIR";
strength = "strong";
frequency offset = "default";
Water suppression = "no";
MTC = "no";
Diffusion mode = "no";
SAR mode = "high";
B1 mode = "default";
PNS mode = "high";
Gradient mode = "maximum";
SoftTone mode = "no";
Cardiac synchronization = "no";
Respiratory compensation = "no";
Navigator respiratory comp = "no";
Flow compensation = "no";
Temporal slice spacing = "default";
fMRI echo stabilisation = "no";
NSA = 1;
Angio / Contrast enh. = "no";
Quantitative flow = "no";
Manual start = "yes";
Dynamic study = "individual";
dyn scans = 240;
recon multiplier = 1;
dyn scan times = "shortest";
FOV time mode = "default";
dummy scans = 2;
immediate subtraction = "no";
fast next scan = "no";
synch. ext. device = "yes";
start at dyn. = 1;
interval (dyn) = 1;
dyn stabilization = "no";
prospect. motion corr. = "no";

```

Keyhole = "no";
Arterial Spin labeling = "no";
Preparation phases = "full";
Interactive F0 = "no";
B0 field map = "no";
B1 field map = "no";
MIP/MPR = "no";
Images = "M", (3) "no";
Autoview image = "M";
Calculated images = (4) "no";
Reference tissue = "Grey matter";
EPI 2D phase correction = "no";
Preset window contrast = "soft";
Reconstruction mode = "delayed";
Hardcopy protocol = "no";
Ringing filtering = "default";
Geometry correction = "default";
IF_info_seperator = 1634755923;
Total scan duration = "12:09.0";
Rel. signal level (%) = 100;
Act. TR/TE (ms) = "3000 / 35";
Dyn. scan time = "00:03.0";
Time to k0 = "00:10.5";
ACQ matrix M x P = "64 x 64";
ACQ voxel MPS (mm) = "4.00 / 4.00 / 4.00";
REC voxel MPS (mm) = "4.00 / 4.00 / 4.00";
Scan percentage (%) = 100;
Packages = 1;
Min. slice gap (mm) = 0;
EPI factor = 39;
Act. WFS (pix) / BW (Hz) = "6.244 / 69.6";
BW in EPI freq. dir. (Hz) = "4654.6";
Min. WFS (pix) / Max. BW (Hz) = "6.220 / 69.8";
Min. TR/TE (ms) = "1855 / 8.4";
SAR / head = "< 21 %";
Whole body / level = "0.0 W/kg / normal";
B1 rms = "1.07 uT / 21 %";
PNS / level = "98 % / 1st level";
Sound Pressure Level (dB) = 19.9179153;

Séquence M0

```

Multi-transmit = "yes";
Active channels = "both";
Coil selection 1 = "SENSE-Head-32AH";
element selection = "selection 1";
Coil selection 2 = "SENSE-Head-32P";
element selection = "selection 1";
Dual coil = "yes";
CLEAR = "yes";
body tuned = "no";
FOV AP (mm) = 240;
RL (mm) = 240;
FH (mm) = 131.399994;
Voxel size AP (mm) = 3;
RL (mm) = 3;
Slice thickness (mm) = 6;
Recon voxel size (mm) = 3;
Fold-over suppression = "no";
Reconstruction matrix = 80;
SENSE = "yes";
P reduction (RL) = 2.5;
P os factor = 1;
k-t BLAST = "no";
Stacks = 1;
type = "parallel";
slices = 20;
slice gap = "default";
slice orientation = "transverse";
fold-over direction = "RL";
fat shift direction = "L";
Stack Offc. AP (P==mm) = 2.68686342;
RL (L==mm) = -3.84705591;
FH (H==mm) = 3.68340898;
Ang. AP (deg) = -1.3602165;
RL (deg) = -16.8217316;
FH (deg) = -4.94881392;
Minimum number of packages = 1;
Slice scan order = "ascend";
Large table movement = "no";
PlanAlign = "no";
REST slabs = 0;
Interactive positioning = "no";
External control = "no";
Patient position = "head first";
orientation = "supine";
Scan type = "Imaging";
Scan mode = "MS";
technique = "FFE";
Contrast enhancement = "no";

Acquisition mode = "cartesian";
Fast Imaging mode = "EPI";
shot mode = "single-shot";
Echoes = 1;
partial echo = "no";
shifted echo = "no";
TE = (ms) = "user defined";
11.199998;
90;
Flip angle (deg) = "user defined";
12000;
Halfscan = "no";
Water-fat shift = "maximum";
RF Shims = "quadrature";
Shim = "auto";
Fat suppression = "SPIR";
strength = "strong";
frequency offset = "default";
Water suppression = "no";
MTC = "no";
Diffusion mode = "no";
SAR mode = "high";
B1 mode = "default";
PNS mode = "moderate";
Gradient mode = "maximum";
SoftTone mode = "no";
Cardiac synchronization = "no";
Respiratory compensation = "no";
Navigator respiratory comp = "no";
Flow compensation = "no";
Temporal slice spacing = "minimal";
fMRI echo stabilisation = "no";
NSA = 1;
Angio / Contrast enh. = "no";
Quantitative flow = "no";
Manual start = "no";
Dynamic study = "individual";
dyn scans = 4;
recon multiplier = 1;
dyn scan times = "shortest";
FOV time mode = "default";
dummy scans = 0;
immediate subtraction = "no";
fast next scan = "no";
synch. ext. device = "no";
dyn stabilization = "yes";
prospect. motion corr. = "no";
Keyhole = "no";
Arterial Spin labeling = "no";
Preparation phases = "auto";

```

Interactive F0 = "no";
B0 field map = "no";
B1 field map = "no";
MIP/MPR = "no";
Images = " M", (3) " no";
Autoview image = " M";
Calculated images = (4) " no";
Reference tissue = "Grey matter";
EPI 2D phase correction = "no";
Preset window contrast = "soft";
Reconstruction mode = "immediate";
Save raw data = "no";
Hardcopy protocol = "no";
Ringing filtering = "rectangular";
Geometry correction = "default";
IF_info_seperator = 1634755923;
Total scan duration = "01:00.0";
Rel. signal level (%) = 100;
Act. TR/TE (ms) = "12000 / 11";
Dyn. scan time = "00:12.0";
Time to k0 = "00:18.0";
ACQ matrix M x P = "80 x 79";
ACQ voxel MPS (mm) = "3.00 / 3.00 / 6.00";
REC voxel MPS (mm) = "3.00 / 3.00 / 6.00";
Scan percentage (%) = 100;
Packages = 1;
Min. slice gap (mm) = 0;
Act. slice gap (mm) = 0.600000024;
EPI factor = 35;
Act. WFS (pix) / BW (Hz) = "8.746 / 49.7";
BW in EPI freq. dir. (Hz) = "2517.9";
Min. WFS (pix) / Max. BW (Hz) = "6.507 / 66.7";
Min. TR/TE (ms) = "649 / 8.6";
SAR / head = "< 3 %";
Whole body / level = "0.0 W/kg / normal";
B1 rms = "0.43 uT / 3 %";
PNS / level = "78 % / normal";
Sound Pressure Level (dB) = 26.1389389;

Carte T1

```

Multi-transmit = "yes";
Active channels = "both";
Coil selection 1 = "SENSE-Head-32AH";
element selection = "selection 1";
Coil selection 2 = "SENSE-Head-32P";
element selection = "selection 1";
Dual coil = "yes";
CLEAR = "yes";
body tuned = "no";
FOV AP (mm) = 240;
RL (mm) = 240;
FH (mm) = 131.399994;
Voxel size AP (mm) = 3;
RL (mm) = 3;
Slice thickness (mm) = 6;
Recon voxel size (mm) = 3;
Fold-over suppression = "no";
Reconstruction matrix = 80;
SENSE = "yes";
P reduction (RL) = 2.5;
P os factor = 1;
k-t BLAST = "no";
Stacks = 1;
type = "parallel";
slices = 20;
slice gap = "default";
slice orientation = "transverse";
fold-over direction = "RL";
fat shift direction = "L";
Stack Offc. AP (P==mm) = 2.68686342;
RL (L==mm) = -3.84705591;
FH (H==mm) = 3.68340898;
Ang. AP (deg) = -1.3602165;
RL (deg) = -16.8217316;
FH (deg) = -4.94881392;
Minimum number of packages = 1;
Slice scan order = "interleaved";
Large table movement = "no";
PlanAlign = "no";
REST slabs = 0;
Interactive positioning = "no";
External control = "no";
Patient position = "head first";
orientation = "supine";
Scan type = "Imaging";
Scan mode = "MS";
technique = "MIX";
Acquisition mode = "cartesian";

Fast Imaging mode = "EPI";
shot mode = "single-shot";
Echoes = 1;
partial echo = "no";
TE = "shortest";
TR SE = "shortest";
IR = "shortest";
Halfscan = "no";
Water-fat shift = "maximum";
IR delay (ms) = 400;
acquire during delay = "no";
power = "1";
RF Shims = "adaptive";
Shim = "default";
Fat suppression = "no";
Water suppression = "no";
MTC = "no";
Diffusion mode = "no";
SAR mode = "high";
B1 mode = "default";
PNS mode = "moderate";
Gradient mode = "maximum";
SoftTone mode = "no";
Cardiac synchronization = "no";
Respiratory compensation = "no";
Navigator respiratory comp = "no";
Flow compensation = "no";
NSA = 1;
Manual start = "no";
Dynamic study = "no";
Arterial Spin labeling = "no";
Preparation phases = "auto";
Interactive F0 = "no";
B0 field map = "no";
B1 field map = "no";
MIP/MPR = "no";
Images = "M", (3) " no";
Autoview image = "M";
Calculated images = "T1", (3) " no";
Reference tissue = "Grey matter";
EPI 2D phase correction = "no";
Preset window contrast = "soft";
Reconstruction mode = "immediate";
Save raw data = "no";
Hardcopy protocol = "no";
Ring filtering = "rectangular";
Geometry correction = "default";
IF_info_seperator = 1634755923;
Total scan duration = "00:37.2";
Rel. signal level (%) = 100;

```

Act. TR-SE/TR-IR/TI (ms) = "4455 / 4855 / 400";
Act. TE (ms) = "24";
ACQ matrix M x P = "80 x 79";
ACQ voxel MPS (mm) = "3.00 / 3.00 / 6.00";
REC voxel MPS (mm) = "3.00 / 3.00 / 6.00";
Scan percentage (%) = 100;
Packages = 2;
Min. slice gap (mm) = 6;
Act. slice gap (mm) = 0.600000024;
EPI factor = 35;
WFS (pix) / BW (Hz) = "9.214 / 47.1";
BW in EPI freq. dir. (Hz) = "2137.2";
SAR / head = "< 11 %";
Whole body / level = "0.0 W/kg / normal";
B1 rms = "0.75 uT / 10 %";
PNS / level = "78 % / normal";
Sound Pressure Level (dB) = 17.9003296;

Anatomique T13D

```

Multi-transmit = "yes";
Active channels = "both";
Coil selection 1 = "SENSE-Head-32P";
element selection = "selection 1";
Coil selection 2 = "SENSE-Head-32AH";
element selection = "selection 1";
Dual coil = "yes";
CLEAR = "yes";
body tuned = "no";
FOV FH (mm) = 256;
AP (mm) = 256;
RL (mm) = 160;
Voxel size FH (mm) = 1;
AP (mm) = 1;
RL (mm) = 1;
Recon voxel size (mm) = 0.5;
Fold-over suppression = "no";
Slice oversampling = "default";
Reconstruction matrix = 512;
SENSE = "yes";
P reduction (AP) = 1.5;
P os factor = 1;
S reduction (RL) = 1.5;
k-t BLAST = "no";
Overcontiguous slices = "no";
Stacks = 1;
slices = 160;
slice orientation = "sagittal";
fold-over direction = "AP";
fat shift direction = "F";
Stack Offc. AP (P=+mm) = -11.8537769;
RL (L=+mm) = -3.85543847;
FH (H=+mm) = -21.7750168;
Ang. AP (deg) = -2.26583862;
RL (deg) = -0.130920842;
FH (deg) = -5.22282076;
Chunks = 1;
Large table movement = "no";
PlanAlign = "no";
REST slabs = 1;
type = "free";
orientation = "transverse";
thickness (mm) = 76.4093094;
Rest Offc. AP (P=+mm) = -59.0035896;
RL (L=+mm) = -12.1594219;
FH (H=+mm) = -139.157639;
Ang. AP (deg) = -0.692773819;
RL (deg) = -0.796023309;

power = FH (deg) = 0.461695701;
Interactive positioning = "1";
External control = "no";
Patient position = "head first";
orientation = "supine";
Scan type = "Imaging";
Scan mode = "3D";
technique = "FFE";
Contrast enhancement = "T1";
Acquisition mode = "cartesian";
Fast Imaging mode = "TFE";
3D non-selective = "no";
shot mode = "multishot";
TFE factor = 175;
3D free factor = "no";
startup echoes = "default";
shot interval = "shortest";
profile order = "linear";
turbo direction = "y";
Echoes = 1;
partial echo = "no";
shifted echo = "no";
TE = "no";
in-phase = "in-phase";
(ms) = 4.60496664;
Flip angle (deg) = 8;
TR = "shortest";
Halfscan = "no";
Water-fat shift = "maximum";
RF Shims = "adaptive";
Shim = "auto";
Fat suppression = "no";
Water suppression = "no";
TFE prepulse = "invert";
slice selection = "no";
delay = "shortest";
PSIR = "no";
MTC = "no";
Diffusion mode = "no";
SAR mode = "high";
B1 mode = "default";
PNS mode = "low";
Gradient mode = "default";
SoftTone mode = "no";
Cardiac synchronization = "no";
Respiratory compensation = "no";
Navigator respiratory comp = "no";
Flow compensation = "no";
fMRI echo stabilisation = "no";
Motion smoothing = "no";

```


Dynamic study = "no";
Arterial Spin labeling = "no";
Preparation phases = "auto";
Interactive F0 = "no";
B0 field map = "no";
B1 field map = "no";
MIP/MPR = "no";
Images = "M", (3) " no";
Autoview image = "M";
Reference tissue = "Grey matter";
Preset window contrast = "soft";
Reconstruction mode = "real time";
Save raw data = "no";
Hardcopy protocol = "no";
Ringing filtering = "rectangular";
Geometry correction = "default";
IF.info_seperator = 1634755923;
Total scan duration = "02:56.0";
Rel. signal level (%) = 100;
Act. TR/TE (ms) = "11000 / 2800";
Act. TE (ms) = "125";
ACQ matrix M x P = "244 x 116";
ACQ voxel MPS (mm) = "0.94 / 1.55 / 4.00";
REC voxel MPS (mm) = "0.45 / 0.45 / 4.00";
Scan percentage (%) = 60.7843132;
Packages = 4;
Min. slice gap (mm) = 4;
Optimal slices = 16;
Max. slices = 32;
WFS (pix) / BW (Hz) = "1.535 / 282.9";
Full flow comp. = "yes";
TSE es / shot (ms) = "7.8 / 242";
TEeff / TEequiv (ms) = "125 / 111";
Min. TR/TE (ms) = "6454 / 50";
SAR / head = "< 37 %";
Whole body / level = "< 0.1 W/kg / normal";
B1 rms = "1.36 uT / 34 %";
PNS / level = "56 % / normal";
Sound Pressure Level (dB) = 17.4068985;

Annexe 2 : Étude de cas d'une patiente
porteuse d'une sténose intracrânienne
avant et après la pose d'un stent

Normalization of cerebral vasoreactivity using BOLD fMRI after intravascular stenting

Running title: Vasoreactivity normalization after stenting

Clinical case study

A. Attye¹⁻³, M. Villien^{2,3}, F. Tahon¹, J. Warnking^{2,3}, O Detante²⁻⁴, A. Krainik¹⁻³

¹Department of Neuroradiology and MRI, University Hospital of Grenoble - IFR1, Grenoble – France

²Inserm, U836, Grenoble – France

³Université Joseph Fourier, Grenoble Institute of Neurosciences UMR-S836, Grenoble – France

⁴Department of Neurology, University Hospital of Grenoble, Grenoble – France

Corresponding author

Pr Alexandre Krainik, MD, PhD

Unité IRM

BP 217 – CHU Grenoble

F-38043 Grenoble cedex, France

Tel: +33 4 76 76 55 60

Fax: +33 4 76 76 52 86

E-Mail: akrainik@chu-grenoble.fr

Abstract words count: 185

Text words count (without acknowledgments, contributorship statement, references and legends): 1351

Tables: 0

Figure: 1

Key-words

Transient ischaemic attack – Intracranial stenosis – Intravascular stenting – BOLD fMRI – Cerebral vasoreactivity – Hypercapnia

ABSTRACT

Background and purpose

Intravascular angioplasty and stenting of intracranial arterial stenosis provided controversial results. Besides the expertise of the practitioners, the selection of the patients remains challenging. Functional MRI of the cerebral vasoreactivity to hypercapnia provides reproducible maps of the entire brain of the vascular reserve, and could be helpful to assess the best therapeutic strategy.

Case history

We report the case of a 63 year-old woman referred for a severe stenosis of the proximal portion of the left middle cerebral artery, revealed by a lenticulostriate and precentral infarction. Despite an aggressive medical treatment during 5 months, the occurrence of iterative transient ischaemic attacks motivated intravascular stenting. Functional MRI of the vasoreactivity to hypercapnia using both BOLD and arterial spin labelling sequences showed normal basal perfusion and impaired vasoreactivity in the left MCA territory. Three months after stenting, the fMRI showed vasoreactivity normalization. Since, the patient remains free of ischemic disorders one year after stenting.

Conclusion

Functional MRI of the cerebral vasoreactivity to hypercapnia may be helpful to optimize the treatment of patients with intracranial arterial stenosis, and could be performed in future therapeutic trials.

INTRODUCTION

The treatment of symptomatic stenosis of intracranial artery remains debated. After stroke and despite the use of aspirin and usual management of risk factors, patients with intracranial stenosis are at risk of recurrent stroke or transient ischemic attack (TIA) from 20 to 40 % at 2 years, and up to 60% in the territory of a hemodynamically significant stenotic artery (Chimowitz et al., 2005; Mazighi et al., 2006). Aggressive medical treatment including a combination of antiplatelet therapy has been suggested to reduce the incidence of cerebrovascular ischemic events (Diener et al., 2004).

To further reduce the recurrence of stroke and TIA, percutaneous transluminal angioplasty and stenting (PTAS) of severe intracranial stenosis plus aggressive medical management has been advocated with controversial results (Fiorella et al., 2007; Chimowitz et al., 2011). To better identify hemodynamic alteration related to stenocclusive disease, BOLD functional MRI of the cerebral vasoreactivity (CVR fMRI) to hypercapnia has been proposed to provide maps of the vascular reserve. This technique was already performed to monitor patients before and after surgical recanalization (Haller et al., 2008; Mandell et al., 2008; Heyn et al., 2010).

We report the case of a patient with a symptomatic severe intracranial stenosis despite an aggressive medical treatment. Basal perfusion was normal. CVR fMRI showed a regional impairment of vasoreactivity in the territory of the left middle cerebral artery. Both recurrences of TIA and CVR fMRI results motivated PTAS. After PTAS, fMRI showed a normalization of the vasoreactivity and the patient is still free of ischemic events one year after treatment. This case illustrates the normalization of the vascular reserve after endovascular treatment and suggests potential benefit in the patient selection to optimize therapeutic strategy.

CASE HISTORY and SYMPTOMATOLOGY

A 63-year-old woman was initially admitted for the management a recent ischaemic stroke in the left lenticulostriate region and in cortical precentral area revealed by a sudden deficit of the right hemibody, due to a severe stenosis (80%) of the M1 portion of left middle cerebral artery (MCA) demonstrated by MRI and angioCT. Her past medical history was only significant for untreated hypertension and dyslipemia. An aggressive medical treatment using two antiplatelet agents, statins, and blood pressure-lowering drugs was administrated.

Despite of a rapid recovery of the initial deficit, the patient complained of iterative transient ischemic attacks (TIA) with progressively worsening of sensory disturbance of the right hemibody within several weeks after the treatment onset.

DIAGNOSIS

Five months after the stroke, we performed a CVR fMRI in order to estimate the vascular reserve of the whole brain on a 3T clinical MRI. Data acquisition was performed using BOLD imaging. Cerebral vasoreactivity was elicited using a block-designed inhalation paradigm of alternating medical air and hypercapnic gas mixture (CO₂ 7%, medical air 93%). End-tidal CO₂ (EtCO₂) pressure was simultaneously recorded to estimate the BOLD signal change per mmHg EtCO₂ change (Cantin et al., 2011). No adverse reaction to the hypercapnic stimulus was reported.

Basal perfusion was quantified using pseudocontinuous arterial spin labelling (ASL). Whereas basal perfusion was normal, especially in MCA territories, CVR fMRI showed a regional impairment in the left MCA territory (Figure 1), suggesting a decreased vascular reserve.

TREATMENT

Because of both clinical and fMRI data, a PTAS was proposed to the patient after having given appropriate explanations on benefits and risks.

Angiography was performed using a transfemoral approach, the left carotid artery was supraselectively accessed and confirmed the severe left MCA stenosis. Then, the stenosis was successfully treated by the stent delivery, without periprocedural complication (Figure 1).

Three months after the intravascular treatment, no further TIA was reported. Postoperative CVR fMRI showed a normalization of the vascular reserve in the left MCA territory (Figure 1). Basal perfusion remained normal. Since, the patient remains free of TIA or stroke one year after treatment.

DISCUSSION

Symptomatic intracranial stenosis is associated with a high risk of recurrent ischemic events (Diener et al., 2004; Mazighi et al., 2006; Chimowitz et al., 2011). In this case and despite an aggressive medical therapy, the patient presented iterative TIA and we considered PTAS.

PTAS emerged as an efficient therapeutic option for symptomatic intracranial stenosis (Fiorella et al., 2007). Indeed, no adverse event occurred during and after the procedure and the patient remains free of any stroke or TIA after nine months.

However, SAMMPRIS trial that was performed to compare PTAS using Wingspan stent system plus aggressive medical management to aggressive medical management alone for the prevention of recurrent stroke in patients with major intracranial stenosis (without perfusion imaging selection of patients), was stopped at the primary end

point because the 30-day rate of stroke in the territory of the stenotic artery was higher in the PTAS group than expected (Mazighi et al., 2006). In this study, a later benefit of preventing stroke remains to be estimated. Identifying subgroups at high risk for stroke despite aggressive medical management would be also important (Chimowitz et al., 2011). Thus, CVR measurement may help to better identify patients with hemodynamically significant stenosis among patient with atherothrombotic disease.

In patients with intracranial arterial stenosis, autoregulatory vasodilatation maintains regional cerebral blood flow and perfusion pressure roughly constant despite changes of arterial pressure. When this vascular reserve is decreased, the risk of ischemic event increases, showing the importance of hemodynamic factors in the pathogenesis and treatment focal cerebral ischemia (Powers, 1991).

Some patients, like the present case, that have normal basal perfusion with reduced vascular reserve may represent a particular risk profile (Markus and Cullinane, 2001). We hypothesize that these patients would have a greater benefit of PTAS that may relief symptomatic hemodynamic disorders. Indeed, others patients with a severe arterial stenosis do not have a reduced CVR, given the potential collateral flow via the circle of Willis and corticopial anastomosis (Han et al., 2011). For such patients, aggressive medical treatment alone would be sufficient, limiting the additional risk of PTAS adverse event.

To estimate the vascular reserve, BOLD fMRI to hypercapnia has been used to monitor surgical treatment of patients with occlusive carotid disease or intracranial stenosis (Haller et al., 2008; Han et al., 2011; Mandell et al., 2011). In our case, the normal CVR values obtained in the healthy hemisphere before PTAS and in both hemispheres after PTAS were in line with previous works using a similar method (Han et al., 2011; Mandell et al., 2011). In the arterial territory of the PTAS, CVR value was decreased of 31.6%. This decrease was weaker than these observed in some patients previously reported (Mandell et al., 2011). Several differences in data acquisition, processing, and analyses may account for this amplitude difference. Among these, we reported a mean value of the arterial territory with an important variability. In some areas such as posterior junctional region, CVR decreased over 80% (Figure 1).

Although BOLD signal change is a complex measure of changes in oxygenation, cerebral blood flow and volume, BOLD contrast to hypercapnia is correlated with cerebral blood flow in patients with steno-occlusive disease (Mandell et al., 2008). To avoid potential confound, perfusion imaging has been proposed. However, dynamic susceptibility contrast imaging requires gadolinium injection and remains hardly quantifiable. Moreover, functional imaging supposes a conditional procedure with two contrast administrations and a significant delay. ASL perfusion imaging has been also proposed (Bokkers et al., 2010). This attractive

technique does not require contrast administration and allow measuring dynamic change of CBF across conditions (Noth et al., 2008). The choice of the vasomotor stimulus is also debated. Acetazolamide requires data acquisitions prior and after administration. Several contraindications and side effects have to be considered. However, changes in arterial transit time downstream a hemodynamically significant stenosis may underestimate CBF measures (Bokkers et al., 2010). Thus, BOLD fMRI to hypercapnia should remain the imaging method of choice to investigate CVR in patients with arterial stenosis using MRI, until advances in ASL may resolve arterial transit disorders.

To further, investigate patients with symptomatic intracranial atherothrombotic disease, BOLD fMRI to hypercapnia may help to better identify among patients at high risk of stroke those with hemodynamically significant stenosis that may benefit of PTAS. To test this hypothesis, the potential benefit of PTAS should be tested among these patients.

ACKNOWLEDGMENTS

We acknowledge the precious help of Irène Troprès for data collection and Patrice Jousse for editing artwork.

CONTRIBUTORSHIP STATEMENT

All authors contributed to the manuscript as follows:

A.A: data collection, analysis and interpretation; drafting, and final approval of the article

MV: data collection, analysis and interpretation; critical review, and final approval of the article

FT: data collection, analysis and interpretation; critical review and final approval of the article

JW: data analysis and interpretation; critical review and final approval of the article

OD: data collection, analysis and interpretation; critical review, final approval of the article

AK: data collection, analysis and interpretation; drafting, critical review, final approval of the article

References

- Bokkers RP, van Osch MJ, et al. (2010). Symptomatic carotid artery stenosis: impairment of cerebral autoregulation measured at the brain tissue level with arterial spin-labeling MR imaging. *Radiology* 256:201-208.
- Cantin S, Villien M, et al. (2011). Impaired cerebral vasoreactivity to CO₂ in Alzheimer's disease using BOLD fMRI. *Neuroimage* 58:579-587.
- Chimowitz MI, Lynn MJ, et al. (2011). Stenting versus aggressive medical therapy for intracranial arterial stenosis. *N Engl J Med* 365:993-1003.
- Chimowitz MI, Lynn MJ, et al. (2005). Comparison of warfarin and aspirin for symptomatic intracranial arterial stenosis. *N Engl J Med* 352:1305-1316.
- Diener HC, Bogousslavsky J, et al. (2004). Aspirin and clopidogrel compared with clopidogrel alone after recent ischaemic stroke or transient ischaemic attack in high-risk patients (MATCH): randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 364:331-337.
- Fiorella D, Levy EI, et al. (2007). US multicenter experience with the wingspan stent system for the treatment of intracranial atheromatous disease: periprocedural results. *Stroke* 38:881-887.
- Haller S, Bonati LH, et al. (2008). Reduced cerebrovascular reserve at CO₂ BOLD MR imaging is associated with increased risk of periinterventional ischemic lesions during carotid endarterectomy or stent placement: preliminary results. *Radiology* 249:251-258.
- Han JS, Abou-Hamden A, et al. (2011). Impact of extracranial-intracranial bypass on cerebrovascular reactivity and clinical outcome in patients with symptomatic moyamoya vasculopathy. *Stroke* 42:3047-3054.
- Heyn C, Poublanc J, et al. (2010). Quantification of cerebrovascular reactivity by blood oxygen level-dependent MR imaging and correlation with conventional angiography in patients with Moyamoya disease. *AJNR Am J Neuroradiol* 31:862-867.
- Mandell DM, Han JS, et al. (2011). Quantitative measurement of cerebrovascular reactivity by blood oxygen level-dependent MR imaging in patients with intracranial stenosis: preoperative cerebrovascular reactivity predicts the effect of extracranial-intracranial bypass surgery. *AJNR Am J Neuroradiol* 32:721-727.
- Mandell DM, Han JS, et al. (2008). Mapping cerebrovascular reactivity using blood oxygen level-dependent MRI in Patients with arterial steno-occlusive disease: comparison with arterial spin labeling MRI. *Stroke* 39:2021-2028.
- Markus H, Cullinane M (2001). Severely impaired cerebrovascular reactivity predicts stroke and TIA risk in patients with carotid artery stenosis and occlusion. *Brain* 124:457-467.
- Mazighi M, Tanasescu R, et al. (2006). Prospective study of symptomatic atherothrombotic intracranial stenoses: the GESICA study. *Neurology* 66:1187-1191.
- Noth U, Kotajima F, et al. (2008). Mapping of the cerebral vascular response to hypoxia and hypercapnia using quantitative perfusion MRI at 3 T. *NMR Biomed* 21:464-472.
- Powers WJ (1991). Cerebral hemodynamics in ischemic cerebrovascular disease. *Ann Neurol* 29:231-240.

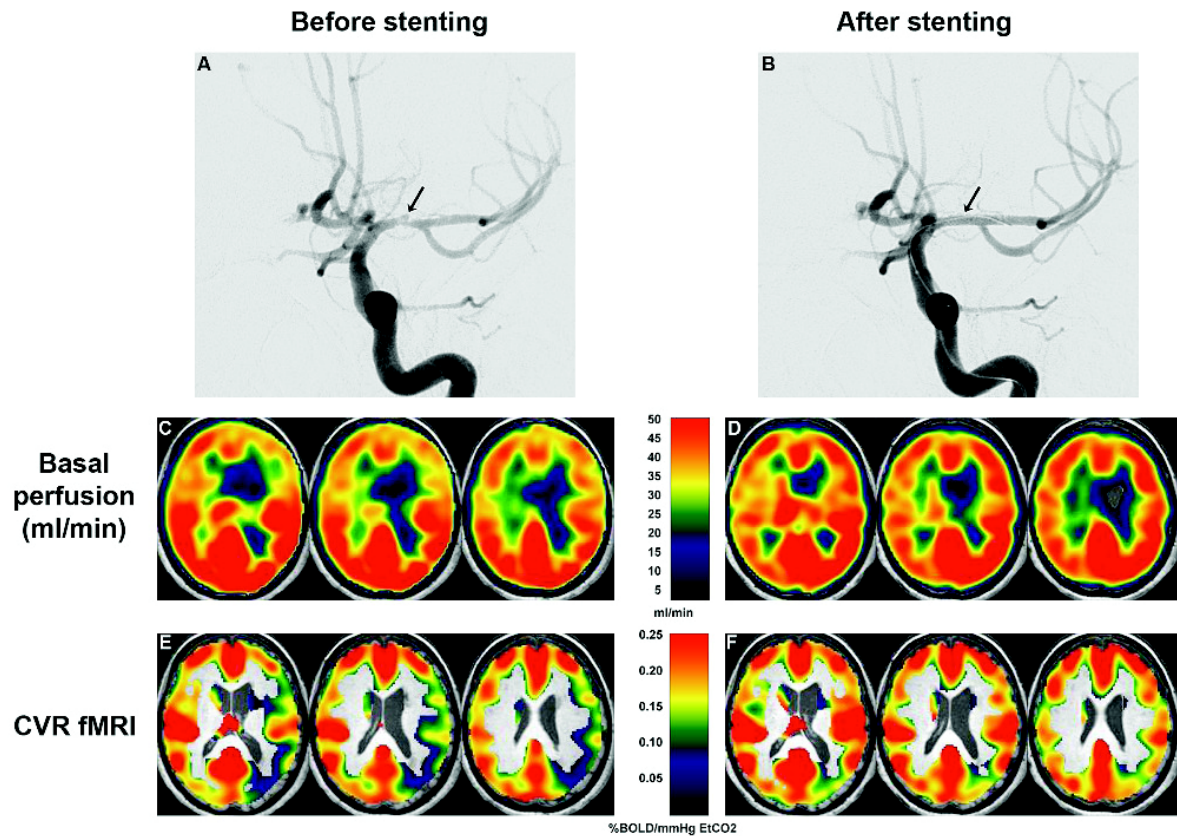


Figure 1

Arteriography showed a severe stenosis of the M1 portion of the left MCA (arrow) before (A) and after successful endovascular stenting (B).

In MCA territories, basal perfusion estimated using pseudocontinuous ASL was normal and symmetrical before (C) and after stenting (D), except in the left lenticulostriate infarct.

Before endovascular treatment, BOLD fMRI of cerebral vasoreactivity to hypercapnia showed a CVR decrease in the left MCA territory ($m \pm sd = 0.13 \pm 0.07$ %BOLD/mmHg EtCO₂) compared to the right MCA territory (0.19 ± 0.07), accounting for a decrease of vascular reserve of 31.6% (E).

After treatment, CVR was normalized and symmetrical in the left MCA territory (0.20 ± 0.09) compared to the right MCA territory (0.21 ± 0.08) (F). A persistent CVR decrease was detected in the left posterior junctional area, only.

Annexe 3 : CV avec liste des publications et des conférences

Mrs Marjorie Villien

Professional Address:

Grenoble Institut des Neurosciences
Inserm U 836
Bâtiment Edmond J. Safra
Chemin Fortuné Ferrini
38706 La Tronche Cedex

Professional Phone: +33 4 56 52 05 92

Personal Phone: +33 6 18 44 55 49

margotvillien@gmail.com

26 years old

French

Single, No child

Personal Address:

12 rue du Drac
38000 Grenoble

Education

- 2008-2009 **Master Degree in physics : Methods for imaging of living systems**, Grenoble University Joseph Fourier, France
With Honours, Valedictorian
- 2006-2009 **Engineering degree in Physics and Instrumentation applied to Biotechnologies**, PHELMA, Grenoble Institute of Technology, France
- 2004-2006 Preparatory classe to Grandes Ecoles (CPPG) Speciality: Physics and Biology, Grenoble Institute of Technology, France

Research Experience

- 2009-2012 **Ph. D. Thesis in Magnetic Resonance Imaging (Expected end: Oct. 2012)**
Grenoble Institut of Neurosciences, University Joseph Fourier, Grenoble
Thesis Topic: **Methodology of cerebral perfusion imaging using MRI**
Key words: MRI, fMRI, Arterial Spin Labeling, Cerebral perfusion, Vasoreactivity, Alzheimer, Stroke, Altitude acclimatization
Advisors: Jan Warnking, INSERM U836, 'NeuroImaging and Cerebral Perfusion', Alexandre Krainik, Department of Neuroradiology and MRI, University Hospital of Grenoble
- 2009 Feb/July Engineering and Master's degree Internship in Magnetic Resonance Imaging, Grenoble Institut of Neurosciences, University Joseph Fourier, Grenoble
Topic: **"Methodology of cerebral perfusion imaging using MRI in steno-occlusive disease"**
Advisors: Jan Warnking, Alexandre Krainik
- 2008 June/July Bachelor's degree internship, Centre for Magnetic Resonance (CMR), University of Queensland, Brisbane, Australia
Topic: **"Romantic love: an fMRI study"**
Advisor: Katie McMahon

Research Interests

- Methodology **MRI, fMRI** (arterial spin labeling, image processing)
- Pathology Alzheimer, stroke, cerebral tumor, steno-occlusive disease
- Physiology Altitude acclimatization, vasoreactivity mechanisms

Skills

- Informatics Unix/Windows/Apple. Programming languages: Matlab, latex. MRI software: SPM, mriCron, Osirix
- Languages **French:** mother tongue, **English:** scientific level, **German:** basics

Academic services and Grant

- Referee for JMIR
- Thesis Grant from the French Ministry of Education (MENRT Grant)

- Supervision:
 - Bachelor student: Louise Fanchon. Project: “Automatic detection of the arterial input function in dynamic susceptibility contrast MRI” (Jul-Aug 2010)
 - Masters student: Pierre-Loup Schaefer. Project: “Implementation of a new toolbox for MRI image processing” (Mar-Dec 2011)
 - Masters student: Do Kien Huang. Project: “Comparison of MRI perfusion (ASL, DSC) and CT-scan perfusion techniques on patients with brain tumour” (Feb-June 2012)
- Student body representative at the administration council for Grenoble Institute of Technology (2006-2008) and for the Physics Doctoral school of Grenoble (2010-2012)
- Member of the organizing committee of the Science Festival ‘Fête de la science’ for the Grenoble Institut of Neuroscience (2010-2011)

Conferences

- Oral **M. Villien**, E. Chipon, I. Troprès, S. Cantin, J. Bouvier, J.-F. Le Bas, A. Krainik, and J.M. Warnking
 “**Validation of the per-subject characterization of bolus width using multi-phase pulsed Arterial Spin Labeling**”, RITS 2011 (Rennes, France)
- M. Villien**, E. Chipon, I. Troprès, S. Cantin, J. Bouvier, J.-F. Le Bas, A. Krainik, and J.M. Warnking
 “**Validation of the per-subject characterization of bolus width using multi-phase pulsed Arterial Spin Labeling**”, ESMRMB 2011 (Leipzig, Germany)
- Poster **M. Villien**, J. Bouvier, I. Tropres, M. Van Osch, C. Segebarth, J.-F. Le Bas, A. Krainik, and J.M. Warnking
 “**Performance of capnia-derived regressors for ASL measurement of cerebral vasoreactivity to circulating gases**”, RITS 2011 (Rennes, France)
- M. Villien**, J. Bouvier, I. Tropres, M. Van Osch, C. Segebarth, J.-F. Le Bas, A. Krainik, and J.M. Warnking
 “**Performance of capnia-derived regressors for ASL measurement of cerebral vasoreactivity to circulating gases**”, ISMRM 2011 (Montreal, Canada)
- M. Villien**, J. Bouvier, I. Tropres, M. Van Osch, C. Segebarth, J.-F. Le Bas, A. Krainik, and J.M. Warnking
 “**Performance of capnia-derived regressors for ASL measurement of cerebral vasoreactivity to circulating gases**”, ESMRMB 2011 (Leipzig, Germany)
- M. Villien**, I. Tropres, L. Lamalle, T. Rupp, F. Esteve, A. Krainik, P. Levy, J. Warnking and S. Verges
 “**Cerebral perfusion and vasoreactivity to hypercapnia after 7 days at 4,400m altitude**”, ECR 2012 (Vienna, Austria)
- M. Villien**, I. Tropres, L. Lamalle, T. Rupp, F. Esteve, A. Krainik, P. Levy, J. Warnking and S. Verges
 “**Cerebral perfusion and vasoreactivity to hypercapnia after 7 days at 4,400m altitude**”, ISMRM 2012 (Melbourne, Australia)
- M. Villien**, D.K. NGuyen, J. Bouvier, C. Mendoza, S. Grand, L. Fanchon, E.L. Barbier, I. Troprès, J.F. Le Bas, A. Krainik, J.M. Warnking, “**Direct comparison between MRI ASL and DSC and perfusion CT-scan in treated tumor patients**”, Perfusion Workshop 2012 (Amsterdam, Netherlands)

Co-authored Conferences

- Oral Cantin S., **Villien M.**, Moreaud O., Troprès I., Keignart S., Chipon E., Le Bas J.F., Warnking J., Krainik A.
 “**Impaired cerebral vasoreactivity to CO₂ in Alzheimer disease using BOLD fMRI**”, European Congress of Radiology 2011 (Vienna, Austria)
- Bouvier J, **Villien M.**, Grand S, Jaillard A, Detante O, Chechin D, Le Bas J-F, Krainik A, Barbier E, Troprès I. “**Evaluation of a multiparametric quantitative BOLD approach to map local blood oxygen saturation in stroke patients**”, ESMRMB 2011 (Leipzig, Allemagne)
- Poster Bouvier J, **Villien M.**, Grand S, Jaillard A, Detante O, Chechin D, Le Bas JF, Krainik A, Barbier EL, Troprès I. “**Evaluation of a multiparametric quantitative BOLD approach to map local blood oxygen saturation in stroke patients**”, ISMRM 2012 (Melbourne, Australia)

Publications

- **M. Villien**, E. Chipon, I. Troprès, J. Bouvier, S. Cantin, D. Chechin, J. F. Le Bas, A. Krainik, and J. M. Warnking, **Per-subject characterization of bolus width in Pulsed Arterial Spin Labeling**, *Magnetic Resonance in Medicine*, early view, DOI:10.1002/mrm.24412
- **M. Villien**, Pierre Bouzat, Thomas Rupp, Laurent Lamalle, Irène Troprès, François Estève, Alexandre Krainik, Patrick Levy, Jan Warnking, and Samuel Vergès, **Changes in cerebral blood flow and vasoreactivity to CO2 measured in Arterial Spin Labeling after 7 days at 4400 m**, *Manuscript in preparation*
- **M. Villien**, A. Krainik, J. Bouvier, M.J. Van Osch, I. Troprès, L. Lamalle, J.M. Warnking, **Performance of capnia-derived regressors and physiological noise correction for ASL measurement of cerebral vasoreactivity to circulating gases**, *Manuscript in preparation*
- S. Cantin, **M. Villien**, O. Moreaud, I. Troprès, S; Keignart, E. Chipon, J.F. Le Bas, J. Warnking, A. Krainik (2011) **Impaired cerebral vasoreactivity to CO2 in Alzheimer's disease using BOLD fMRI**, *NeuroImage*, Volume 58, Issue 2, Pages 579-587
- A. Attye, **M. Villien**, F. Tahon, J. Warnking, O. Detante, A. Krainik, **Normalization of cerebral vasoreactivity to hypercapnia using functional MRI after intravascular stenting in symptomatic intracranial arterial stenosis**, *Manuscript submitted for publication*
- A. Krainik, A. Maillet, V. Fleury, M. Sahin, I. Tropres, L. Lamalle, S. Thobois, V. Fraix, **M. Villien**, J. Warnking, P. Pollak, S. Pinto, P. Krack, **Cerebral vasoreactivity is normal in Parkinson's disease before and after L-Dopa**, *Manuscript submitted for publication*

References

- Dr Jan Warnking, Grenoble Institut of Neurosciences, Joseph Fourier University (jan.warnking@ujf-grenoble.fr)
- Pr Alexandre Krainik, Department of Neuroradiology and MRI, University Hospital of Grenoble (akrainik@chu-grenoble.fr)
- Dr Emmanuel Barbier, Grenoble Institut of Neurosciences, Joseph Fourier University (emmanuel.barbier@ujf-grenoble.fr)

Bibliographie

- Ainslie, P. N., Burgess, K., Subedi, P., & Burgess, K. R. (2007). Alterations in cerebral dynamics at high altitude following partial acclimatization in humans : wakefulness and sleep. *Journal of Applied Physiology*, 102(2), 658–664.
- Ainslie, P. N. & Burgess, K. R. (2008). Cardiorespiratory and cerebrovascular responses to hyperoxic and hypoxic rebreathing : Effects of acclimatization to high altitude. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 161(2), 201–209.
- Alastruey, J., Parker, K. H., Peiró, J., Byrd, S. M., & Sherwin, S. J. (2007). Modelling the circle of willis to assess the effects of anatomical variations and occlusions on cerebral flows. *J Biomech*, 40(8), 1794–1805.
- Alsop, D. C. & Detre, J. A. (1996). Reduced transit-time sensitivity in noninvasive magnetic resonance imaging of human cerebral blood flow. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 16(6), 1236–1249.
- Alsop, D. C., Detre, J. A., & Grossman, M. (2000). Assessment of cerebral blood flow in alzheimer's disease by spin-labeled magnetic resonance imaging. *Ann Neurol*, 47(1), 93–100.
- Alzheimer, A. (1907). Über eine eigenartige erkrankung der hirnrinde. *Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und Psychisch-Gerichtliche Medizin*, 64, 146–148.
- Alzheimer, A., Stelzmann, R. A., Schnitzlein, H. N., & Murtagh, F. R. (1995). An english translation of alzheimer's 1907 paper, "Über eine eigenartige erkankung der hirnrinde". *Clin Anat*, 8(6), 429–431.
- Amaro, E., Barker, G. J., et al. (2006). Study design in fMRI : basic principles. *Brain and cognition*, 60(3), 220–232.
- Aronen, H. J. & Perkiö, J. (2002). Dynamic susceptibility contrast MRI of gliomas. *Neuroimaging clinics of North America*, 12(4), 501–523. PMID : 12687908.
- Ashburner, J. & Friston, K. J. (2005). Unified segmentation. *NeuroImage*, 26(3), 839–851.
- Ashjazadeh, N., Emami, S., Petramfar, P., Yaghoubi, E., & Karimi, M. (2012). Intracranial blood flow velocity in patients with β -thalassemia intermedia using transcranial doppler sonography : A case-control study. *Anemia*, 2012, 1–4.
- Aslan, S., Xu, F., Wang, P. L., Uh, J., Yezhuvath, U. S., Osch, M. v., & Lu, H. (2010). Estimation of labeling efficiency in pseudocontinuous arterial spin labeling. *Magn Reson Med*, 63(3), 765–771.

- Asllani, I., Borogovac, A., & Brown, T. R. (2008a). Regression algorithm correcting for partial volume effects in arterial spin labeling MRI. *Magn Reson Med*, 60(6), 1362–1371.
- Asllani, I., Habeck, C., Scarmeas, N., Borogovac, A., Brown, T. R., & Stern, Y. (2008b). Multivariate and univariate analysis of continuous arterial spin labeling perfusion MRI in alzheimer's disease. *J Cereb Blood Flow Metab*, 28(4), 725–736.
- Attwell, D. & Iadecola, C. (2002). The neural basis of functional brain imaging signals. *TRENDS in Neurosciences*, 25(12), 621–625.
- Azevedo, E., Rosengarten, B., Santos, R., Freitas, J. a., & Kaps, M. (2007). Interplay of cerebral autoregulation and neurovascular coupling evaluated by functional TCD in different orthostatic conditions. *J Neurol*, 254(2), 236–241.
- Bailey, D. M., Bärtsch, P., Knauth, M., & Baumgartner, R. W. (2009). Emerging concepts in acute mountain sickness and high-altitude cerebral edema : from the molecular to the morphological. *Cellular and Molecular Life Sciences : CMLS*, 66(22), 3583–3594. PMID : 19763397.
- Bailey, J. E., Argyropoulos, S. V., Kendrick, A. H., & Nutt, D. J. (2005). Behavioral and cardiovascular effects of 7.5% CO₂ in human volunteers. *Depression and anxiety*, 21(1), 18–25. PMID : 15782425.
- Bailey, J. E., Kendrick, A., Diaper, A., Potokar, J. P., & Nutt, D. J. (2007). A validation of the 7.5% CO₂ model of GAD using paroxetine and lorazepam in healthy volunteers. *Journal of psychopharmacology (Oxford, England)*, 21(1), 42–49. PMID : 16533865.
- Barbier, E. L. (2009). Imagerie de perfusion tissulaire par IRM. *EMC consulte*, 35-247-A-10.
- Battisti-Charbonney, A., Fisher, J., & Duffin, J. (2011). The cerebrovascular response to carbon dioxide in humans. *The Journal of Physiology*, 589(Pt 12), 3039–3048. PMID : 21521758.
- Beall, E. B. & Lowe, M. J. (2007). Isolating physiologic noise sources with independently determined spatial measures. *NeuroImage*, 37(4), 1286–1300.
- Beaumont, M., Lemasson, B., Farion, R., Segebarth, C., Rémy, C., & Barbier, E. L. (2009). Characterization of tumor angiogenesis in rat brain using iron-based vessel size index MRI in combination with gadolinium-based dynamic contrast-enhanced MRI. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 29(10), 1714–1726. PMID : 19584891.
- Behzadi, Y., Restom, K., Liau, J., & Liu, T. T. (2007). A component based noise correction method (CompCor) for BOLD and perfusion based fMRI. *Neuroimage*, 37(1), 90–101.
- Binks, A. P., Cunningham, V. J., Adams, L., & Banzett, R. B. (2008). Gray matter blood flow change is unevenly distributed during moderate isocapnic hypoxia in humans. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 104(1), 212–217. PMID : 17991793.
- Black, P. M. (1991). Brain tumor. part 2. *The New England journal of medicine*, 324(22), 1555–1564. PMID : 2027359.

- Bland, J. M. & Altman, D. G. (1986). Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*, 1(8476), 307–310. PMID : 2868172.
- Blennow, K., Leon, M. J. d., & Zetterberg, H. (2006). Alzheimer's disease. *Lancet*, 368(9533), 387–403.
- Bokkers, R. P. H., van Osch, M. J. P., Klijn, C. J. M., Kappelle, L. J., & Hendrikse, J. (2011). Cerebrovascular reactivity within perfusion territories in patients with an internal carotid artery occlusion. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 82(9), 1011–1016. PMID : 21386110.
- Bokkers, R. P. H., van Osch, M. J. P., van der Worp, H. B., de Borst, G. J., Mali, W. P. T. M., & Hendrikse, J. (2010). Symptomatic carotid artery stenosis : impairment of cerebral autoregulation measured at the brain tissue level with arterial spin-labeling MR imaging. *Radiology*, 256(1), 201–208. PMID : 20574097.
- Bolar, D. S., Benner, T., Mandeville, J. B., Sorensen, A. G., & Hoge, R. D. (2004). Accuracy of pulsed arterial spin labeling in the brain : Tag width and timing effects. In *Proceedings of the 12th Annual Meeting of ISMRM* (pp. 716). Kyoto, Japan.
- Bowler, N., Shamley, D., & Davies, R. (2011). The effect of a simulated manipulation position on internal carotid and vertebral artery blood flow in healthy individuals. *Manual Therapy*, 16(1), 87–93. PMID : 20709591.
- Boxerman, J. L., Hamberg, L. M., Rosen, B. R., & Weisskoff, R. M. (1995). MR contrast due to intravascular magnetic susceptibility perturbations. *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 34(4), 555–566. PMID : 8524024.
- Boxerman, J. L., Prah, D. E., Paulson, E. S., Machan, J. T., Bedekar, D., & Schmainda, K. M. (2012). The role of preload and leakage correction in gadolinium-based cerebral blood volume estimation determined by comparison with MION as a criterion standard. *American Journal of Neuroradiology*, 33(6), 1081–1087.
- Boxerman, J. L., Schmainda, K. M., & Weisskoff, R. M. (2006). Relative cerebral blood volume maps corrected for contrast agent extravasation significantly correlate with glioma tumor grade, whereas uncorrected maps do not. *AJNR Am J Neuroradiol*, 27(4), 859–867.
- Brown, G. G., Clark, C., & Liu, T. T. (2007). Measurement of cerebral perfusion with arterial spin labeling : Part 2. applications. *J Int Neuropsychol Soc*, 13(3), 526–538.
- Brugniaux, J. V., Hodges, A. N. H., Hanly, P. J., & Poulin, M. J. (2007). Cerebrovascular responses to altitude. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 158(2-3), 212–223. PMID : 17544954.
- Buxton, R. B. (2005). Quantifying CBF with arterial spin labeling. *J Magn Reson Imaging*, 22(6), 723–726.
- Buxton, R. B., Frank, L. R., Wong, E. C., Siewert, B., Warach, S., & Edelman, R. R. (1998). A general kinetic model for quantitative perfusion imaging with arterial spin labeling. *Magn Reson Med*, 40(3), 383–396.

- Buxton, R. B., Uludag, K., Dubowitz, D. J., & Liu, T. T. (2004). Modeling the hemodynamic response to brain activation. *Neuroimage*, 23, S220–S233.
- Calamante, F., Connelly, A., & Osch, M. J. P. v. (2009). Nonlinear DeltaR*2 effects in perfusion quantification using bolus-tracking MRI. *Magn Reson Med*, 61(2), 486–492.
- Calamante, F., Vonken, E.-j. P. A., & Osch, M. J. P. v. (2007). Contrast agent concentration measurements affecting quantification of bolus-tracking perfusion MRI. *Magn Reson Med*, 58(3), 544–553.
- Cantin, S., Mendoza, C., Grand, S., Bessou, P., Lefournier, V., Eker, O., Tahon, F., Bing, F., Cuvinciuc, V., Jiang, Z., Le Bas, J.-F., & Krainik, A. (2011a). Imagerie par résonance magnétique crânioencéphalique normale : étude en coupes frontales, sagittales et axiales. *EMC consulte*, (30-806-A-10).
- Cantin, S., Villien, M., Moreaud, O., Tropres, I., Keignart, S., Chipon, E., Le Bas, J.-F., Warnking, J., & Krainik, A. (2011b). Impaired cerebral vasoreactivity to CO₂ in alzheimer's disease using BOLD fMRI. *NeuroImage*, 58(2), 579–587. PMID : 21745581.
- Cassot, F., Zagzoule, M., & Marc-Vergnes, J. P. (2000). Hemodynamic role of the circle of willis in stenoses of internal carotid arteries. an analytical solution of a linear model. *J Biomech*, 33(4), 395–405.
- Chang, C. & Glover, G. H. (2009). Effects of model-based physiological noise correction on default mode network anti-correlations and correlations. *NeuroImage*, 47(4), 1448–1459.
- Chappell, M., MacIntosh, B. J., Woolrich, M. W., Jezzard, P., & Payne, S. (2011). Modeling dispersion in arterial spin labelling with validation from ASL dynamic angiography. In *Proceedings of the 19th Annual Meeting of ISMRM* (pp. 298). Montreal, Canada.
- Chen, A., Shyr, M.-H., Chen, T.-Y., Lai, H.-Y., Lin, C.-C., & Yen, P.-S. (2006). Dynamic CT perfusion imaging with acetazolamide challenge for evaluation of patients with unilateral cerebrovascular steno-occlusive disease. *AJNR Am J Neuroradiol*, 27(9), 1876–1881.
- Chen, Y., Wang, D. J., & Detre, J. A. (2011a). Test-retest reliability of arterial spin labeling with common labeling strategies. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 33(4), 940–949.
- Chen, Y., Wolk, D. A., Reddin, J. S., Korczykowski, M., Martinez, P. M., Musiek, E. S., Newberg, A. B., Julin, P., Arnold, S. E., Greenberg, J. H., & Detre, J. A. (2011b). Voxel-level comparison of arterial spin-labeled perfusion MRI and FDG-PET in alzheimer disease. *Neurology*, 77(22), 1977–1985. PMID : 22094481.
- Chiarelli, P. A., Bulte, D. P., Wise, R., Gallichan, D., & Jezzard, P. (2007). A calibration method for quantitative BOLD fMRI based on hyperoxia. *Neuroimage*, 37(3), 808–820.
- Chimowitz, M. I., Lynn, M. J., Derdeyn, C. P., Turan, T. N., Fiorella, D., Lane, B. F., Janis, L. S., Lutsep, H. L., Barnwell, S. L., Waters, M. F., Hoh, B. L., Hourihane, J. M., Levy, E. I., Alexandrov, A. V., Harrigan, M. R., Chiu, D., Klucznik, R. P., Clark, J. M., McDougall, C. G., Johnson, M. D., Pride, G Lee, J., Torbey, M. T., Zaidat, O. O., Rumboldt, Z., & Cloft, H. J. (2011). Stenting versus aggressive medical therapy for

- intracranial arterial stenosis. *The New England journal of medicine*, 365(11), 993–1003. PMID : 21899409.
- Chimowitz, M. I., Lynn, M. J., Howlett-Smith, H., Stern, B. J., Hertzberg, V. S., Frankel, M. R., Levine, S. R., Chaturvedi, S., Kasner, S. E., Benesch, C. G., Sila, C. A., Jovin, T. G., & Romano, J. G. (2005). Comparison of warfarin and aspirin for symptomatic intracranial arterial stenosis. *The New England journal of medicine*, 352(13), 1305–1316. PMID : 15800226.
- Chipon, E. (2009). IRM fonctionnelle quantitative appliquée à la vasoréactivité cérébrale.
- Chipon, E., Krainik, A., Troprès, I., Le Bas, J.-F., Segebarth, C., & Warnking, J. M. (2008). Per-subject characterization of the bolus shape in pulsed arterial spin labeling. In *Proceedings of the 25th Annual Meeting of ESMRMB Valencia, Spain*.
- Chuang, K. H. & Chen, J. H. (2001). IMPACT : image-based physiological artifacts estimation and correction technique for functional MRI. *Magnetic resonance in medicine*, 46(2), 344–353.
- Claassen, J. A. H. R. & Jansen, R. W. M. M. (2006). Cholinergically mediated augmentation of cerebral perfusion in alzheimer's disease and related cognitive disorders : the cholinergic-vascular hypothesis. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 61(3), 267–271.
- Collins, D. L., Neelin, P., Peters, T. M., & Evans, A. C. (1994). Automatic 3D intersubject registration of MR volumetric data in standardized talairach space. *Journal of computer assisted tomography*, 18(2), 192–205. PMID : 8126267.
- Conklin, J., Fierstra, J., Crawley, A. P., Han, J. S., Poublanc, J., Mandell, D. M., Silver, F. L., Tymianski, M., Fisher, J. A., & Mikulis, D. J. (2010). Impaired cerebrovascular reactivity with steal phenomenon is associated with increased diffusion in white matter of patients with moyamoya disease. *Stroke*, 41(8), 1610–1616.
- Dai, W., Carmichael, O. T., Lopez, O. L., Becker, J. T., Kuller, L. H., & Gach, H. M. (2008a). Effects of image normalization on the statistical analysis of perfusion MRI in elderly brains. *J Magn Reson Imaging*, 28(6), 1351–1360.
- Dai, W., Garcia, D., Bazelaire, C. d., & Alsop, D. C. (2008b). Continuous flow-driven inversion for arterial spin labeling using pulsed radio frequency and gradient fields. *Magn Reson Med*, 60(6), 1488–1497.
- Dai, W., Lopez, O. L., Carmichael, O. T., Becker, J. T., Kuller, L. H., & Gach, H. M. (2009). Mild cognitive impairment and alzheimer disease : patterns of altered cerebral blood flow at MR imaging. *Radiology*, 250(3), 856–866.
- De la Torre, J. C. & Stefano, G. B. (2000). Evidence that alzheimer's disease is a microvascular disorder : the role of constitutive nitric oxide. *Brain research reviews*, 34(3), 119–136.
- De Visscher, G., Haseldonckx, M., & Flameng, W. (2006). Fluorescent microsphere technique to measure cerebral blood flow in the rat. *Nature protocols*, 1(4), 2162–2170. PMID : 17487208.

- Detre, J. A., Leigh, J. S., Williams, D. S., & Koretsky, A. P. (1992). Perfusion imaging. *Magnetic Resonance in Medicine : Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 23(1), 37–45. PMID : 1734182.
- Detre, J. A., Rao, H., Wang, D. J., Chen, Y. F., & Wang, Z. (2012). Applications of arterial spin labeled MRI in the brain. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 35(5), 1026–1037.
- Douglas Ried, L., Carter, K. A., & Ellsworth, A. (1994). Acetazolamide or dexamethasone for prevention of acute mountain sickness : a meta-analysis. *Journal of Wilderness Medicine*, 5(1), 34–48.
- Du, A. T., Jahng, G. H., Hayasaka, S., Kramer, J. H., Rosen, H. J., Gorno-Tempini, M. L., Rankin, K. P., Miller, B. L., Weiner, M. W., & Schuff, N. (2006). Hypoperfusion in frontotemporal dementia and alzheimer disease by arterial spin labeling MRI. *Neurology*, 67(7), 1215–1220.
- Dulla, C. G., Dobelis, P., Pearson, T., Frenguelli, B. G., Staley, K. J., & Masino, S. A. (2005). Adenosine and ATP link PCO₂ to cortical excitability via pH. *Neuron*, 48(6), 1011–1023.
- Dyer, E. A. W., Hopkins, S. R., Perthen, J. E., Buxton, R. B., & Dubowitz, D. J. (2008). Regional cerebral blood flow during acute hypoxia in individuals susceptible to acute mountain sickness. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 160(3), 267–276. PMID : 18088570.
- Edelman, R. R., Siewert, B., Darby, D. G., Thangaraj, V., Nobre, A. C., Mesulam, M. M., & Warach, S. (1994). Qualitative mapping of cerebral blood flow and functional localization with echo-planar MR imaging and signal targeting with alternating radio frequency. *Radiology*, 192(2), 513–520. PMID : 8029425.
- Evans, A., Collins, D., Mills, S., Brown, E., Kelly, R., & Peters, T. (1993). 3D statistical neuroanatomical models from 305 MRI volumes. In *Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference, 1993., 1993 IEEE Conference Record*. (pp. 1813 –1817 vol.3).
- Evans, A. C., Marrett, S., Neelin, P., Collins, L., Worsley, K., Dai, W., Milot, S., Meyer, E., & Bub, D. (1992). Anatomical mapping of functional activation in stereotactic coordinate space. *NeuroImage*, 1(1), 43–53. PMID : 9343556.
- Fan, J.-L., Burgess, K. R., Basnyat, R., Thomas, K. N., Peebles, K. C., Lucas, S. J. E., Lucas, R. A. I., Donnelly, J., Cotter, J. D., & Ainslie, P. N. (2010). Influence of high altitude on cerebrovascular and ventilatory responsiveness to CO₂. *The Journal of Physiology*, 588(Pt 3), 539–549. PMID : 20026618.
- Ferré, J.-C., Petr, J., Bannier, E., Barillot, C., & Gauthier, J.-Y. (2012). Improving quality of arterial spin labeling MR imaging at 3 tesla with a 32-channel coil and parallel imaging. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 35(5), 1233–1239.

- Ferri, C. P., Prince, M., Brayne, C., Brodaty, H., Fratiglioni, L., Ganguli, M., Hall, K., Hasegawa, K., Hendrie, H., Huang, Y., Jorm, A., Mathers, C., Menezes, P. R., Rimmer, E., Scazufca, M., & International, A. D. (2005). Global prevalence of dementia : a delphi consensus study. *Lancet*, 366(9503), 2112–2117.
- Frankel, M. R., Morgenstern, L. B., Kwiatkowski, T., Lu, M., Tilley, B. C., Broderick, J. P., Libman, R., Levine, S. R., & Brott, T. (2000). Predicting prognosis after stroke : a placebo group analysis from the national institute of neurological disorders and stroke rt-PA stroke trial. *Neurology*, 55(7), 952–959. PMID : 11061250.
- Friston, K., Josephs, O., Zarahn, E., Holmes, A., Rouquette, S., & Poline, J.-B. (2000). To smooth or not to smooth? *NeuroImage*, 12(2), 196–208.
- Gauthier, S., Reisberg, B., Zaudig, M., Petersen, R. C., Ritchie, K., Broich, K., Belleville, S., Brodaty, H., Bennett, D., Chertkow, H., Cummings, J. L., Leon, M. d., Feldman, H., Ganguli, M., Hampel, H., Scheltens, P., Tierney, M. C., Whitehouse, P., Winblad, B., & impairment, I. P. A. E. C. o. m. c. (2006). Mild cognitive impairment. *Lancet*, 367(9518), 1262–1270.
- Gevers, S., van Osch, M. J., Bokkers, R. P. H., Kies, D. A., Teeuwisse, W. M., Majoie, C. B., Hendrikse, J., & Nederveen, A. J. (2011). Intra-and multicenter reproducibility of pulsed, continuous and pseudo-continuous arterial spin labeling methods for measuring cerebral perfusion. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 31(8), 1706–1715.
- Girouard, H. & Iadecola, C. (2006). Neurovascular coupling in the normal brain and in hypertension, stroke, and alzheimer disease. *J Appl Physiol*, 100(1), 328–335.
- Glover, G. H., Li, T. Q., & Ress, D. (2000). Image-based method for retrospective correction of physiological motion effects in fMRI : RETROICOR. *Magnetic Resonance in Medicine*, 44(1), 162–167.
- Grandin, C. B., Bol, A., Smith, A. M., Michel, C., & Cosnard, G. (2005). Absolute CBF and CBV measurements by MRI bolus tracking before and after acetazolamide challenge : repeatability and comparison with PET in humans. *Neuroimage*, 26(2), 525–535.
- Hackett, P. H., Rennie, D., & Levine, H. D. (1976). The incidence, importance, and prophylaxis of acute mountain sickness. *Lancet*, 2(7996), 1149–1155. PMID : 62991.
- Hajjar, I., Zhao, P., Alsop, D., & Novak, V. (2010). Hypertension and cerebral vasoreactivity : a continuous arterial spin labeling magnetic resonance imaging study. *Hypertension*, 56(5), 859–864. PMID : 20876450.
- Haller, S., Bonati, L. H., Rick, J., Klarhöfer, M., Speck, O., Lyrer, P. A., Bilecen, D., Engelter, S. T., & Wetzel, S. G. (2008). Reduced cerebrovascular reserve at CO₂ BOLD MR imaging is associated with increased risk of periinterventional ischemic lesions during carotid endarterectomy or stent placement : preliminary results. *Radiology*, 249(1), 251–258.
- Halvorsen, R. A. (2008). Which study when? iodinated contrast-enhanced CT versus gadolinium-enhanced MR imaging. *Radiology*, 249(1), 9–15.

- Han, J. S., Mikulis, D. J., Mardimae, A., Kassner, A., Poublanc, J., Crawley, A. P., deVeber, G. A., Fisher, J. A., & Logan, W. J. (2011). Measurement of cerebrovascular reactivity in pediatric patients with cerebral vasculopathy using blood oxygen level-dependent MRI. *Stroke*, 42(5), 1261–1269.
- Hawkins, B. T. & Davis, T. P. (2005). The blood-brain Barrier/Neurovascular unit in health and disease. *Pharmacological Reviews*, 57(2), 173–185.
- Helle, M., Norris, D. G., Rüfer, S., Alfke, K., Jansen, O., & van Osch, M. J. P. (2010). Superselective pseudocontinuous arterial spin labeling. *Magnetic Resonance in Medicine : Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 64(3), 777–786. PMID : 20597127.
- Hendrikse, J., van Osch, M. J. P., Rutgers, D. R., Bakker, C. J. G., Kappelle, L. J., Golay, X., & van der Grond, J. (2004). Internal carotid artery occlusion assessed at pulsed arterial spin-labeling perfusion MR imaging at multiple delay times. *Radiology*, 233(3), 899–904. PMID : 15486211.
- Hernandez, D. A., Bokkers, R. P. H., Mirasol, R. V., Luby, M., Henning, E. C., Merino, J. G., Warach, S., & Latour, L. L. (2012). Pseudocontinuous arterial spin labeling quantifies relative cerebral blood flow in acute stroke. *Stroke*, 43(3), 753–758.
- Hernandez-Garcia, L., Jahanian, H., & Rowe, D. B. (2010). Quantitative analysis of arterial spin labeling fMRI data using a general linear model. *Magnetic Resonance Imaging*, 28(7), 919–927. PMID : 20456889.
- Herve, D. & Chabriat, H. (2010). CADASIL. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 23(4), 269–276.
- Heyn, C., Poublanc, J., Crawley, A., Mandell, D., Han, J. S., Tymianski, M., terBrugge, K., Fisher, J. A., & Mikulis, D. J. (2010). Quantification of cerebrovascular reactivity by blood oxygen level-dependent MR imaging and correlation with conventional angiography in patients with moyamoya disease. *American Journal of Neuroradiology*, 31(5), 862–867.
- Hrabe, J. & Lewis, D. P. (2004). Two analytical solutions for a model of pulsed arterial spin labeling with randomized blood arrival times. *J Magn Reson*, 167(1), 49–55.
- Hu, L., Baxter, L., Pinnaduwage, D., Paine, T., Karis, J., Feuerstein, B., Schmainda, K., Dueck, A., Debbins, J., Smith, K., Nakaji, P., Eschbacher, J., Coons, S., & Heiserman, J. (2009). Optimized preload leakage-correction methods to improve the diagnostic accuracy of dynamic susceptibility-weighted contrast-enhanced perfusion MR imaging in posttreatment gliomas. *American Journal of Neuroradiology*, 31(1), 40–48.
- Iadecola, C. (2004). Neurovascular regulation in the normal brain and in alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci*, 5(5), 347–360.
- Iadecola, C. & Nedergaard, M. (2007). Glial regulation of the cerebral microvasculature. *Nat Neurosci*, 10(11), 1369–1376.
- Inzitari, D., Eliasziw, M., Gates, P., Sharpe, B. L., Chan, R. K. T., Meldrum, H. E., & Barnett, H. J. M. (2000). The causes and risk of stroke in patients with asymptomatic internal-carotid-artery stenosis. *New England Journal of Medicine*, 342(23), 1693–1701.

- Isozaki, M., Arai, Y., Kudo, T., Kiyono, Y., Kobayashi, M., Kubota, T., Kikuta, K.-i., & Okazawa, H. (2010). Clinical implication and prognosis of normal baseline cerebral blood flow with impaired vascular reserve in patients with major cerebral artery occlusive disease. *Annals of nuclear medicine*, 24(5), 371–377. PMID : 20238185.
- Jain, R. K. (2005). Normalization of tumor vasculature : An emerging concept in antiangiogenic therapy. *Science*, 307(5706), 58–62.
- Jain, R. K., di Tomaso, E., Duda, D. G., Loeffler, J. S., Sorensen, A. G., & Batchelor, T. T. (2007). Angiogenesis in brain tumours. *Nature Reviews Neuroscience*, 8(8), 610–622.
- Järnum, H., Steffensen, E. G., Knutsson, L., Fründ, E.-T., Simonsen, C. W., Lundbye-Christensen, S., Shankaranarayanan, A., Alsop, D. C., Jensen, F. T., & Larsson, E.-M. (2010). Perfusion MRI of brain tumours : a comparative study of pseudo-continuous arterial spin labelling and dynamic susceptibility contrast imaging. *Neuroradiology*, 52(4), 307–317. PMID : 19841916.
- Jensen, J. H., Lu, H., & Inglese, M. (2006). Microvessel density estimation in the human brain by means of dynamic contrast-enhanced echo-planar imaging. *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 56(5), 1145–1150. PMID : 17029231.
- Jiang, Z., Krainik, A., David, O., Salon, C., Troprès, I., Hoffmann, D., Pannetier, N., Barbier, E. L., Bombin, E. R., & Warnking, J. (2010). Impaired fMRI activation in patients with primary brain tumors. *NeuroImage*, 52(2), 538–548.
- Jochimsen, T. H., Ivanov, D., Ott, D. V. M., Heinke, W., Turner, R., Möller, H. E., & Reichenbach, J. R. (2010). Whole-brain mapping of venous vessel size in humans using the hypercapnia-induced BOLD effect. *NeuroImage*, 51(2), 765–774. PMID : 20188189.
- Johnson, N. A., Jahng, G.-H., Weiner, M. W., Miller, B. L., Chui, H. C., Jagust, W. J., Gorno-Tempini, M. L., & Schuff, N. (2005). Pattern of cerebral hypoperfusion in Alzheimer disease and mild cognitive impairment measured with arterial spin-labeling MR imaging : initial experience. *Radiology*, 234(3), 851–859.
- Kabir, Y., Dojat, M., Scherrer, B., Garbay, C., & Forbes, F. (2007). Multimodal MRI segmentation of ischemic stroke lesions. In *Engineering in Medicine and Biology Society, 2007. EMBS 2007. 29th Annual International Conference of the IEEE* (pp. 1595–1598).
- Kane, I., Carpenter, T., Chappell, F., Rivers, C., Armitage, P., Sandercock, P., & Wardlaw, J. (2007). Comparison of 10 different magnetic resonance perfusion imaging processing methods in acute ischemic stroke. *Stroke*, 38(12), 3158–3164.
- Kasner, S. E., Chimowitz, M. I., Lynn, M. J., Howlett-Smith, H., Stern, B. J., Hertzberg, V. S., Frankel, M. R., Levine, S. R., Chaturvedi, S., Benesch, C. G., Sila, C. A., Jovin, T. G., Romano, J. G., & Cloft, H. J. (2006). Predictors of ischemic stroke in the territory of a symptomatic intracranial arterial stenosis. *Circulation*, 113(4), 555–563. PMID : 16432056.
- Kazan, S., Chappell, M., & Payne, S. (2010). Modelling the effects of cardiac pulsations in arterial spin labelling. *Physics in Medicine and Biology*, 55, 799.

- Kelly, M. E., Blau, C. W., & Kerskens, C. M. (2009). Bolus-tracking arterial spin labelling : theoretical and experimental results. *Physics in Medicine and Biology*, 54(5), 1235–1251. PMID : 19182324.
- Kety, S. S. & Schmidt, C. F. (1948). THE NITROUS OXIDE METHOD FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF CEREBRAL BLOOD FLOW IN MAN : THEORY, PROCEDURE AND NORMAL VALUES. *The Journal of clinical investigation*, 27(4), 476–483. PMID : 16695568.
- Kim, S. G. (1995). Quantification of relative cerebral blood flow change by flow-sensitive alternating inversion recovery (FAIR) technique : application to functional mapping. *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 34(3), 293–301. PMID : 7500865.
- Kim, S.-G. & Ogawa, S. (2012). Biophysical and physiological origins of blood oxygenation level-dependent fMRI signals. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*.
- Kjølby, B. F., Mikkelsen, I. K., Pedersen, M., Østergaard, L., & Kiselev, V. G. (2009). Analysis of partial volume effects on arterial input functions using gradient echo : a simulation study. *Magn Reson Med*, 61(6), 1300–1309.
- Knutsson, L., van Westen, D., Petersen, E. T., Bloch, K. M., Holtås, S., Ståhlberg, F., & Wirestam, R. (2010). Absolute quantification of cerebral blood flow : correlation between dynamic susceptibility contrast MRI and model-free arterial spin labeling. *Magnetic Resonance Imaging*, 28(1), 1–7. PMID : 19695822.
- Koziak, A. M., Winter, J., Lee, T.-Y., Thompson, R. T., & Lawrence, K. S. S. (2008). Validation study of a pulsed arterial spin labeling technique by comparison to perfusion computed tomography. *Magn Reson Imaging*, 26(4), 543–553.
- Krainik, A. (2011). Functional MRI. In *Brain mapping : from neural basis of cognition to surgical applications* (pp. 45–49). Duffau h. edition.
- Krainik, A., Hund-Georgiadis, M., Zysset, S., & Cramon, D. Y. v. (2005). Regional impairment of cerebrovascular reactivity and BOLD signal in adults after stroke. *Stroke*, 36(6), 1146–1152.
- Kudo, K., Terae, S., Katoh, C., Oka, M., Shiga, T., Tamaki, N., & Miyasaka, K. (2003). Quantitative cerebral blood flow measurement with dynamic perfusion CT using the vascular-pixel elimination method : comparison with H215O positron emission tomography. *American journal of neuroradiology*, 24(3), 419–426.
- Kwong, K. K., Belliveau, J. W., Chesler, D. A., Goldberg, I. E., Weisskoff, R. M., Poncelet, B. P., Kennedy, D. N., Hoppel, B. E., Cohen, M. S., & Turner, R. (1992). Dynamic magnetic resonance imaging of human brain activity during primary sensory stimulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(12), 5675.
- Lang, E. W., Lagopoulos, J., Griffith, J., Yip, K., Yam, A., Mudaliar, Y., Mehdorn, H. M., & Dorsch, N. W. C. (2003). Cerebral vasomotor reactivity testing in head injury : the link between pressure and flow. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 74(8), 1053–1059.

- Last, D., Alsop, D. C., Abduljalil, A. M., Marquis, R. P., de Bazelaire, C., Hu, K., Caval-lerano, J., & Novak, V. (2007). Global and regional effects of type 2 diabetes on brain tissue volumes and cerebral vasoreactivity. *Diabetes Care*, 30(5), 1193–1199.
- Le Mignon, M. M., Chambon, C., Warrington, S., Davies, R., & Bonnemain, B. (1990). Gd-DOTA. pharmacokinetics and tolerability after intravenous injection into healthy volunteers. *Investigative radiology*, 25(8), 933–937. PMID : 2394577.
- Lee, M., Zaharchuk, G., Guzman, R., Achrol, A., Bell-Stephens, T., & Steinberg, G. K. (2009). Quantitative hemodynamic studies in moyamoya disease. *Neurosurgical FOCUS*, 26(4), E5.
- Lee, T. Y. (2002). Functional CT : physiological models. *Trends in biotechnology*, 20(8), S3–S10.
- Levenberg, K. (1944). A method for the solution of certain problems in least squares. *Quart. Applied Math.*, 2, 164–168.
- Li, W., Antuono, P. G., Xie, C., Chen, G., Jones, J. L., Ward, B. D., Franczak, M. B., Goveas, J. S., & Li, S.-J. (2012). Changes in regional cerebral blood flow and functional connectivity in the cholinergic pathway associated with cognitive performance in subjects with mild alzheimer’s disease after 12-week donepezil treatment. *NeuroImage*, 60(2), 1083–1091. PMID : 22245641.
- Liu, P., Hebrank, A. C., Rodrigue, K. M., Kennedy, K. M., Park, D. C., & Lu, H. (2012). A comparison of physiologic modulators of fMRI signals. *Human brain mapping*. PMID : 22461234.
- Lu, H., Clingman, C., Golay, X., & van Zijl, P. C. M. (2004). Determining the longitudinal relaxation time (T1) of blood at 3.0 tesla. *Magnetic Resonance in Medicine : Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 52(3), 679–682. PMID : 15334591.
- Lucas, S. J. E., Burgess, K. R., Thomas, K. N., Donnelly, J., Peebles, K. C., Lucas, R. A. I., Fan, J.-L., Cotter, J. D., Basnyat, R., & Ainslie, P. N. (2011). Alterations in cerebral blood flow and cerebrovascular reactivity during 14 days at 5050 m. *The Journal of Physiology*, 589(Pt 3), 741–753. PMID : 21041534.
- Luh, W. M., Wong, E. C., Bandettini, P. A., & Hyde, J. S. (1999). QUIPSS II with thin-slice T1 periodic saturation : a method for improving accuracy of quantitative perfusion imaging using pulsed arterial spin labeling. *Magn Reson Med*, 41(6), 1246–1254.
- Lythgoe, D., Simmons, A., Pereira, A., Cullinane, M., Williams, S., & Markus, H. S. (2001). Magnetic resonance markers of ischaemia : their correlation with vasodilatory reserve in patients with carotid artery stenosis and occlusion. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 71(1), 58–62.
- Mandell, D. M., Han, J. S., Poubanc, J., Crawley, A. P., Fierstra, J., Tymianski, M., Fisher, J. A., & Mikulis, D. J. (2011). Quantitative measurement of cerebrovascular reactivity by blood oxygen level-dependent MR imaging in patients with intracranial stenosis : Preoperative cerebrovascular reactivity predicts the effect of extracranial-intracranial bypass surgery. *American Journal of Neuroradiology*, 32(4), 721–727.

- Mandell, D. M., Han, J. S., Poublanc, J., Crawley, A. P., Kassner, A., Fisher, J. A., & Mikulis, D. J. (2008a). Selective reduction of blood flow to white matter during hypercapnia corresponds with leukoaraiosis. *Stroke*, 39(7), 1993–1998.
- Mandell, D. M., Han, J. S., Poublanc, J., Crawley, A. P., Stainsby, J. A., Fisher, J. A., & Mikulis, D. J. (2008b). Mapping cerebrovascular reactivity using blood oxygen level-dependent MRI in patients with arterial steno-occlusive disease : comparison with arterial spin labeling MRI. *Stroke*, 39(7), 2021–2028.
- Mark, C. I., Slessarev, M., Ito, S., Han, J., Fisher, J. A., & Pike, G. B. (2010). Precise control of end-tidal carbon dioxide and oxygen improves BOLD and ASL cerebrovascular reactivity measures. *Magnetic Resonance in Medicine : Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 64(3), 749–756. PMID : 20648687.
- Markus, H. & Cullinane, M. (2001). Severely impaired cerebrovascular reactivity predicts stroke and TIA risk in patients with carotid artery stenosis and occlusion. *Brain*, 124(Pt 3), 457–467.
- Marquardt, D. (1963). An algorithm for least-squares estimation of nonlinear parameters. *SIAM Journal on Applied Mathematics*, 11(2), 431–441.
- Martin Bland, J. & Altman, D. G. (1986). Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *The lancet*, 327(8476), 307–310.
- Masuyama, S., Kimura, H., Sugita, T., Kuriyama, T., Tatsumi, K., Kunitomo, F., Okita, S., Tojima, H., Yuguchi, Y., & Watanabe, S. (1986). Control of ventilation in extreme-altitude climbers. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 61(2), 500–506. PMID : 3091567.
- Mazighi, M., Tanasescu, R., Ducrocq, X., Vicaut, E., Bracard, S., Houdart, E., & Woi-mant, F. (2006). Prospective study of symptomatic atherothrombotic intracranial stenoses : the GESICA study. *Neurology*, 66(8), 1187–1191. PMID : 16636236.
- Meier, P. & Zierler, K. L. (1954). On the theory of the indicator-dilution method for measurement of blood flow and volume. *Journal of applied physiology*, 6(12), 731–744.
- Mumford, J. A., Hernandez-Garcia, L., Lee, G. R., & Nichols, T. E. (2006). Estimation efficiency and statistical power in arterial spin labeling fMRI. *Neuroimage*, 33(1), 103–114.
- Nariai, T., Suzuki, R., Hirakawa, K., Maehara, T., Ishii, K., & Senda, M. (1995). Vascular reserve in chronic cerebral ischemia measured by the acetazolamide challenge test : comparison with positron emission tomography. *AJNR Am J Neuroradiol*, 16(3), 563–570.
- Nöth, U., Kotajima, F., Deichmann, R., Turner, R., & Corfield, D. R. (2008). Mapping of the cerebral vascular response to hypoxia and hypercapnia using quantitative perfusion MRI at 3 t. *NMR Biomed*, 21(5), 464–472.
- Nöth, U., Meadows, G. E., Kotajima, F., Deichmann, R., Corfield, D. R., & Turner, R. (2006). Cerebral vascular response to hypercapnia : determination with perfusion MRI

- at 1.5 and 3.0 tesla using a pulsed arterial spin labeling technique. *J Magn Reson Imaging*, 24(6), 1229–1235.
- Novak, V., Zhao, P., Manor, B., Sejdic, E., Alsop, D., Abduljalil, A., Roberson, P. K., Munshi, M., & Novak, P. (2011). Adhesion molecules, altered vasoreactivity, and brain atrophy in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 34(11), 2438–2441.
- Ogawa, S. & Lee, T. M. (1990). Magnetic resonance imaging of blood vessels at high fields : in vivo and in vitro measurements and image simulation. *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 16(1), 9–18. PMID : 2255240.
- Ogawa, S., Lee, T. M., Nayak, A. S., & Glynn, P. (1990). Oxygenation-sensitive contrast in magnetic resonance image of rodent brain at high magnetic fields. *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 14(1), 68–78. PMID : 2161986.
- Oishi, Mochizuki, & Takasu (1999). Regional differences in cerebrovascular reactivity to acetazolamide in alzheimer's disease. *Journal of clinical neuroscience : official journal of the Neurosurgical Society of Australasia*, 6(5), 380–381. PMID : 10844775.
- Op de Beeck, H. P. (2010). Against hyperacuity in brain reading : spatial smoothing does not hurt multivariate fMRI analyses? *NeuroImage*, 49(3), 1943–1948. PMID : 19285144.
- Osch, M. J. P. v., Teeuwisse, W. M., Walderveen, M. A. A. v., Hendrikse, J., Kies, D. A., & Buchem, M. A. v. (2009). Can arterial spin labeling detect white matter perfusion signal? *Magn Reson Med*, 62(1), 165–173.
- Osch, M. J. P. v., Vonken, E.-j. P. A., Viergever, M. A., Grond, J. v. d., & Bakker, C. J. G. (2003). Measuring the arterial input function with gradient echo sequences. *Magn Reson Med*, 49(6), 1067–1076.
- Østergaard, L. (2005). Principles of cerebral perfusion imaging by bolus tracking. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 22(6), 710–717.
- Ostergaard, L., Weisskoff, R. M., Chesler, D. A., Gyldensted, C., & Rosen, B. R. (1996). High resolution measurement of cerebral blood flow using intravascular tracer bolus passages. part i : Mathematical approach and statistical analysis. *Magn Reson Med*, 36(5), 715–725.
- Ouchi, Y., Nobezawa, S., Yoshikawa, E., Futatsubashi, M., Kanno, T., Okada, H., Torizuka, T., Nakayama, T., & Tanaka, K. (2001). Postural effects on brain hemodynamics in unilateral cerebral artery occlusive disease; a positron emission tomography study. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 21(9), 1058–1066.
- Ozyurt, O., Dincer, A., & Ozturk, C. (2010). A modified version of hrabe-lewis model to account dispersion of labeled bolus in arterial spin labeling. In *Proceedings of the 18th Annual Meeting of ISMRM* (pp. 4065). Stockholm, Sweden.
- Pannetier, N., Lemasson, B., Christen, T., Tachrount, M., Troprès, I., Farion, R., Segebarth, C., Rémy, C., & Barbier, E. L. (2012). Vessel size index measurements in a

- rat model of glioma : comparison of the dynamic (Gd) and steady-state (iron-oxide) susceptibility contrast MRI approaches. *NMR in Biomedicine*, 25(2), 218–226.
- Pathak, A. P., Schmainda, K. M., Ward, B. D., Linderman, J. R., Rebro, K. J., & Greene, A. S. (2001). MR-derived cerebral blood volume maps : issues regarding histological validation and assessment of tumor angiogenesis. *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 46(4), 735–747. PMID : 11590650.
- Paulson, E. S. & Schmainda, K. M. (2008). Comparison of dynamic susceptibility-weighted contrast-enhanced MR methods : recommendations for measuring relative cerebral blood volume in brain tumors. *Radiology*, 249(2), 601–613.
- Payen, J.-F., Lefournier, V., Barbier, E., Dardérian, F., Fauvage, B., & Le Bas, J.-F. (2006). Imagerie de la perfusion et du métabolisme cérébral. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, 25(7), 722–728.
- Peppiatt, C. M., Howarth, C., Mobbs, P., & Attwell, D. (2006). Bidirectional control of CNS capillary diameter by pericytes. *Nature*, 443(7112), 700–704.
- Perlbarg, V., Bellec, P., Anton, J.-L., Pélégrini-Issac, M., Doyon, J., & Benali, H. (2007). CORSICA : correction of structured noise in fMRI by automatic identification of ICA components. *Magnetic Resonance Imaging*, 25(1), 35–46.
- Petersen, E. T., Lim, T., & Golay, X. (2006). Model-free arterial spin labeling quantification approach for perfusion MRI. *Magnetic Resonance in Medicine : Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 55(2), 219–232. PMID : 16416430.
- Pimentel, M. A. F., Vilela, P., Sousa, I., & Figueiredo, P. (2011). Localization of the hand motor area by arterial spin labeling and blood oxygen level-dependent functional magnetic resonance imaging. *Human brain mapping*. PMID : 22121040.
- Prisman, E., Slessarev, M., Han, J., Poublanc, J., Mardimae, A., Crawley, A., Fisher, J., & Mikulis, D. (2008). Comparison of the effects of independently-controlled end-tidal PCO₂ and PO₂ on blood oxygen level-dependent (BOLD) MRI. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 27(1), 185–191.
- Provenzale, J. M., Wang, G. R., Brenner, T., Petrella, J. R., & Sorensen, A. G. (2002). Comparison of permeability in high-grade and low-grade brain tumors using dynamic susceptibility contrast MR imaging. *AJR. American journal of roentgenology*, 178(3), 711–716. PMID : 11856703.
- Raemaekers, M., du Plessis, S., Ramsey, N., Weusten, J., & Vink, M. (2012). Test-retest variability underlying fMRI measurements. *NeuroImage*, 60(1), 717–727.
- Raoult, H., Petr, J., Bannier, E., Stamm, A., Gauvrit, J.-Y., Barillot, C., & Ferré, J.-C. (2011). Arterial spin labeling for motor activation mapping at 3T with a 32-channel coil : reproducibility and spatial accuracy in comparison with BOLD fMRI. *NeuroImage*, 58(1), 157–167. PMID : 21689761.
- Restom, K., Behzadi, Y., & Liu, T. T. (2006). Physiological noise reduction for arterial spin labeling functional MRI. *NeuroImage*, 31(3), 1104–1115. PMID : 16533609.

- Rio, M. S. d. & Moskowitz, M. A. (1999). High altitude headache. lessons from headaches at sea level. *Adv Exp Med Biol*, 474, 145–153.
- Roach, R., Bartsch, P., Hackett, P., & Oelz, O. (1993). The lake louise acute mountain sickness scoring system. In *Hypoxia and Molecular Medicine* (pp. 272–274). Sutton JR, coates j, and s. HCQueen city printers edition.
- Rostrup, E., Larsson, H. B., Toft, P. B., Garde, K., Thomsen, C., Ring, P., Søndergaard, L., & Henriksen, O. (1994). Functional MRI of CO₂ induced increase in cerebral perfusion. *NMR in biomedicine*, 7(1-2), 29–34. PMID : 8068522.
- Rostrup, E., Law, I., Blinkenberg, M., Larsson, H., Born, A., Holm, S., & Paulson, O. (2000). Regional differences in the CBF and BOLD responses to hypercapnia : A combined PET and fMRI study. *NeuroImage*, 11(2), 87–97.
- Sacco, R. L., Kargman, D. E., Gu, Q., & Zamanillo, M. C. (1995). Race-ethnicity and determinants of intracranial atherosclerotic cerebral infarction. the northern manhattan stroke study. *Stroke ; a journal of cerebral circulation*, 26(1), 14–20. PMID : 7839388.
- Seghier, M. L. (2008). Laterality index in functional MRI : methodological issues. *Magnetic Resonance Imaging*, 26(5), 594–601.
- Severinghaus, J. W., Chiodi, H., Eger, E I, n., Brandstater, B., & Hornbein, T. F. (1966). Cerebral blood flow in man at high altitude. role of cerebrospinal fluid pH in normalization of flow in chronic hypocapnia. *Circulation research*, 19(2), 274–282. PMID : 5914844.
- Shin, H. K., Jones, P. B., Garcia-Alloza, M., Borrelli, L., Greenberg, S. M., Bacskai, B. J., Frosch, M. P., Hyman, B. T., Moskowitz, M. A., & Ayata, C. (2007). Age-dependent cerebrovascular dysfunction in a transgenic mouse model of cerebral amyloid angiopathy. *Brain*, 130(Pt 9), 2310–2319.
- Silvestrini, M., Pasqualetti, P., Baruffaldi, R., Bartolini, M., Handouk, Y., Matteis, M., Moffa, F., Provinciali, L., & Vernieri, F. (2006). Cerebrovascular reactivity and cognitive decline in patients with alzheimer disease. *Stroke ; a Journal of Cerebral Circulation*, 37(4), 1010–1015. PMID : 16497984.
- Slessarev, M., Han, J., Mardimae, A., Prisman, E., Preiss, D., Volgyesi, G., Ansel, C., Duffin, J., & Fisher, J. A. (2007). Prospective targeting and control of end-tidal CO₂ and o₂ concentrations. *The Journal of Physiology*, 581(3), 1207–1219.
- Smith, L. M., Elkins, J. S., Dillon, W. P., Schaeffer, S., & Wintermark, M. (2008). Perfusion-CT assessment of the cerebrovascular reserve : a revisit to the acetazolamide challenges. *J Neuroradiol*, 35(3), 157–164.
- Smith, S. M. (2002). Fast robust automated brain extraction. *Human Brain Mapping*, 17(3), 143–155. PMID : 12391568.
- Sorensen, A. G., Batchelor, T. T., Zhang, W.-T., Chen, P.-J., Yeo, P., Wang, M., Jennings, D., Wen, P. Y., Lahdenranta, J., Ancukiewicz, M., di Tomaso, E., Duda, D. G., & Jain, R. K. (2009). A "Vascular normalization index" as potential mechanistic biomarker to predict survival after a single dose of cediranib in recurrent glioblastoma patients. *Cancer Research*, 69(13), 5296–5300.

- Sorensen, A. G., Emblem, K. E., Polaskova, P., Jennings, D., Kim, H., Ancukiewicz, M., Wang, M., Wen, P. Y., Ivy, P., Batchelor, T. T., & Jain, R. K. (2011). Increased survival of glioblastoma patients who respond to antiangiogenic therapy with elevated blood perfusion. *Cancer Research*, 72(2), 402–407.
- Stanisz, G. J., Odobina, E. E., Pun, J., Escaravage, M., Graham, S. J., Bronskill, M. J., & Henkelman, R. M. (2005). T1, t2 relaxation and magnetization transfer in tissue at 3T. *Magnetic Resonance in Medicine*, 54(3), 507–512.
- Stewart, G. N. (1893). Researches on the circulation time in organs and on the influences which affect it : Parts I.—III. *The Journal of Physiology*, 15(1-2), 1.
- Suzuki, J. & Takaku, A. (1969). Cerebrovascular " moyamoya " disease : disease showing abnormal net-like vessels in base of brain. *Archives of neurology*, 20(3), 288.
- Tancredi, F. B., Gauthier, C. J., Madjar, C., Bolar, D. S., Fisher, J. A., Wang, D. J. J., & Hoge, R. D. (2012). Comparison of pulsed and pseudocontinuous arterial spin-labeling for measuring CO₂-induced cerebrovascular reactivity. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*, 36(2), 312–321. PMID : 22544711.
- Thomas, T., Thomas, G., McLendon, C., Sutton, T., & Mullan, M. (1996). beta-amyloid-mediated vasoactivity and vascular endothelial damage. *Nature*, 380(6570), 168–171. PMID : 8600393.
- Thompson, R. (1985). A note on restricted maximum likelihood estimation with an alternative outlier model. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B. Methodological*, 47(1), 53–55.
- Tomura, N., Otani, T., Koga, M., & Ishiyama, K. (2011). Correlation between severity of carotid stenosis and vascular reserve measured by acetazolamide brain perfusion single photon emission computed tomography. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*.
- Tong, X. K. & Hamel, E. (1999). Regional cholinergic denervation of cortical microvessels and nitric oxide synthase-containing neurons in alzheimer's disease. *Neuroscience*, 92(1), 163–175.
- Torre, J. C. d. l. (2002). Alzheimer disease as a vascular disorder : nosological evidence. *Stroke*, 33(4), 1152–1162.
- Tourdias, T., Rodrigo, S., Oppenheim, C., Naggara, O., Varlet, P., Amoussa, S., Calmon, G., Roux, F.-X., & Meder, J.-F. (2008). Pulsed arterial spin labeling applications in brain tumors : practical review. *Journal of Neuroradiology. Journal De Neuroradiologie*, 35(2), 79–89. PMID : 18206239.
- Tropès, I., Grimault, S., Vaeth, A., Grillon, E., Julien, C., Payen, J. F., Lamalle, L., & Décorps, M. (2001). Vessel size imaging. *Magnetic resonance in medicine : official journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 45(3), 397–408. PMID : 11241696.
- Turner, R., Howseman, A., Rees, G. E., Josephs, O., & Friston, K. (1998). Functional magnetic resonance imaging of the human brain : data acquisition and analysis. *Experimental Brain Research*, 123(1-2), 5–12.

- Tzourio-Mazoyer, N., Landeau, B., Papathanassiou, D., Crivello, F., Etard, O., Delcroix, N., Mazoyer, B., & Joliot, M. (2002). Automated anatomical labeling of activations in SPM using a macroscopic anatomical parcellation of the MNI MRI single-subject brain. *NeuroImage*, 15(1), 273–289. PMID : 11771995.
- van Beek, A., Claassen, J., Rikkert, M., & Jansen, R. (2008). Cerebral autoregulation : an overview of current concepts and methodology with special focus on the elderly. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 28(6), 1071–1085.
- Vesely, A., Sasano, H., Volgyesi, G., Somogyi, R., Tesler, J., Fedorko, L., Grynspan, J., Crawley, A., Fisher, J. A., & Mikulis, D. (2001). MRI mapping of cerebrovascular reactivity using square wave changes in end-tidal PCO₂. *Magn Reson Med*, 45(6), 1011–1013.
- Villien, M., Chipon, E., Troprès, I., Bouvier, J., Cantin, S., Chechin, D., Le Bas, J.-F., Krainik, A., & Warnking, J. M. (2012). Per-subject characterization of bolus width in pulsed arterial spin labeling using bolus turbo sampling. *Magnetic Resonance in Medicine*, (pp. n/a–n/a).
- Villien, M., Chipon, E., Troprès, I., Cantin, S., Le Bas, J.-F., Krainik, A., & Warnking, J. M. (2011). Validation of the per-subject characterization of bolus width using multi-phase pulsed arterial spin labeling. In *Proceedings of the 28th Annual Meeting of ESMRMB Leipzig, Germany*.
- Vincent, T., Ciuciu, P., & Idier, J. (2007). Application and validation of spatial mixture modelling for the joint detection-estimation of brain activity in fMRI. *Conference Proceedings : ... Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Conference*, 2007, 5218–5222. PMID : 18003184.
- Vincent, T., Risser, L., & Ciuciu, P. (2010). Spatially adaptive mixture modeling for analysis of fMRI time series. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, 29(4), 1059–1074.
- Vokatch, N., Gröttsch, H., Mermillod, B., Burkhard, P. R., & Sztajzel, R. (2007). Is cerebral autoregulation impaired in parkinson's disease? a transcranial doppler study. *Journal of the neurological sciences*, 254(1-2), 49–53. PMID : 17275849.
- Warmuth, C., Gunther, M., & Zimmer, C. (2003). Quantification of blood flow in brain tumors : comparison of arterial spin labeling and dynamic susceptibility-weighted contrast-enhanced MR imaging. *Radiology*, 228(2), 523–532.
- Weibull, A., Gustavsson, H., Mattsson, S., & Svensson, J. (2008). Investigation of spatial resolution, partial volume effects and smoothing in functional MRI using artificial 3D time series. *NeuroImage*, 41(2), 346–353.
- Weinberg, D. G., Arnaout, O. M., Rahme, R. J., Aoun, S. G., Batjer, H. H., & Bendok, B. R. (2011). Moyamoya disease : a review of histopathology, biochemistry, and genetics. *Neurosurgical focus*, 30(6), E20. PMID : 21631222.
- Willats, L. & Calamante, F. (2012). The 39 steps : evading error and deciphering the secrets for accurate dynamic susceptibility contrast MRI. *NMR in Biomedicine*, (pp. n/a–n/a).

- Williams, D. S., Detre, J. A., Leigh, J. S., & Koretsky, A. P. (1992). Magnetic resonance imaging of perfusion using spin inversion of arterial water. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(1), 212.
- Wilson, M. H., Edsell, M. E. G., Davagnanam, I., Hirani, S. P., Martin, D. S., Levett, D. Z. H., Thornton, J. S., Golay, X., Strycharczuk, L., Newman, S. P., Montgomery, H. E., Grocott, M. P. W., & Imray, C. H. E. (2011). Cerebral artery dilatation maintains cerebral oxygenation at extreme altitude and in acute hypoxia—an ultrasound and MRI study. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism : Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 31(10), 2019–2029. PMID : 21654697.
- Wilson, M. H., Newman, S., & Imray, C. H. (2009). The cerebral effects of ascent to high altitudes. *The Lancet Neurology*, 8(2), 175–191.
- Wintermark, M., Sesay, M., Barbier, E., Borbély, K., Dillon, W. P., Eastwood, J. D., Glenn, T. C., Grandin, C. B., Pedraza, S., Soustiel, J.-F., Nariai, T., Zaharchuk, G., Caillé, J.-M., Dousset, V., & Yonas, H. (2005). Comparative overview of brain perfusion imaging techniques. *Stroke*, 36(9), e83–e99.
- Wintermark, M., Thiran, J. P., Maeder, P., Schnyder, P., & Meuli, R. (2001). Simultaneous measurement of regional cerebral blood flow by perfusion CT and stable xenon CT : a validation study. *American journal of neuroradiology*, 22(5), 905–914.
- Wong, E. C., Buxton, R. B., & Frank, L. R. (1997). Implementation of quantitative perfusion imaging techniques for functional brain mapping using pulsed arterial spin labeling. *NMR in Biomedicine*, 10(4-5), 237–249. PMID : 9430354.
- Wong, E. C., Buxton, R. B., & Frank, L. R. (1998a). Quantitative imaging of perfusion using a single subtraction (QUIPSS and QUIPSS II). *Magn Reson Med*, 39(5), 702–708.
- Wong, E. C., Buxton, R. B., & Frank, L. R. (1998b). Quantitative imaging of perfusion using a single subtraction (QUIPSS and QUIPSS II). *Magn Reson Med*, 39(5), 702–708.
- Wong, E. C., Buxton, R. B., & Frank, L. R. (1998c). A theoretical and experimental comparison of continuous and pulsed arterial spin labeling techniques for quantitative perfusion imaging. *Magnetic Resonance in Medicine : Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 40(3), 348–355. PMID : 9727936.
- Wrensch, M., Minn, Y., Chew, T., Bondy, M., & Berger, M. S. (2002). Epidemiology of primary brain tumors : current concepts and review of the literature. *Neuro-oncology*, 4(4), 278–299. PMID : 12356358.
- Wu, W.-C., Fernández-Seara, M., Detre, J. A., Wehrli, F. W., & Wang, J. (2007). A theoretical and experimental investigation of the tagging efficiency of pseudocontinuous arterial spin labeling. *Magnetic Resonance in Medicine*, 58(5), 1020–1027.
- Xu, F., Uh, J., Brier, M. R., Hart, J., Yezhuvath, U. S., Gu, H., Yang, Y., & Lu, H. (2010a). The influence of carbon dioxide on brain activity and metabolism in conscious humans. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 31(1), 58–67.

- Xu, G., Rowley, H. A., Wu, G., Alsop, D. C., Shankaranarayanan, A., Dowling, M., Christian, B. T., Oakes, T. R., & Johnson, S. C. (2010b). Reliability and precision of pseudo-continuous arterial spin labeling perfusion MRI on 3.0 t and comparison with ¹⁵O-water PET in elderly subjects at risk for alzheimer's disease. *NMR Biomed*, 23(3), 286–293.
- Yamashita, T., Urakawa, M., Yasuda, H., & Matayoshi, Y. (2005). Measurement of cerebral reserve capacity using acetazolamide loading xenon CT CBF before carotid endarterectomy. *J Neuroradiol*, 32(5), 329–331.
- Ye, F. Q., Frank, J. A., Weinberger, D. R., & McLaughlin, A. C. (2000). Noise reduction in 3D perfusion imaging by attenuating the static signal in arterial spin tagging (ASSIST). *Magnetic Resonance in Medicine : Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 44(1), 92–100. PMID : 10893526.
- Yezhuvath, U. S., Lewis-Amezcu, K., Varghese, R., Xiao, G., & Lu, H. (2009). On the assessment of cerebrovascular reactivity using hypercapnia BOLD MRI. *NMR Biomed*, 22(7), 779–786.
- Yezhuvath, U. S., Uh, J., Cheng, Y., Martin-Cook, K., Weiner, M., Diaz-Arrastia, R., Osch, M. v., & Lu, H. (2010). Forebrain-dominant deficit in cerebrovascular reactivity in alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*.
- Yezhuvath, U. S., Uh, J., Cheng, Y., Martin-Cook, K., Weiner, M., Diaz-Arrastia, R., van Osch, M., & Lu, H. (2012). Forebrain-dominant deficit in cerebrovascular reactivity in alzheimer's disease. *Neurobiology of aging*, 33(1), 75–82. PMID : 20359779.
- Yonas, H., Pindzola, R. R., Meltzer, C. C., & Sasser, H. (1998). Qualitative versus quantitative assessment of cerebrovascular reserves. *Neurosurgery*, 42(5), 1005–1010; discussion 1011–1012. PMID : 9588544.
- Zande, F. H. R. v. d., Hofman, P. A. M., & Backes, W. H. (2005). Mapping hypercapnia-induced cerebrovascular reactivity using BOLD MRI. *Neuroradiology*, 47(2), 114–120.
- Zappe, A. C., Uludag, K., Oeltermann, A., Ugurbil, K., & Logothetis, N. K. (2008). The influence of moderate hypercapnia on neural activity in the anesthetized nonhuman primate. *Cereb Cortex*, 18(11), 2666–2673.
- Zhao, P., Alsop, D. C., Abduljalil, A., Selim, M., Lipsitz, L., Novak, P., Caplan, L., Hu, K., & Novak, V. (2009). Vasoreactivity and peri-infarct hyperintensities in stroke. *Neurology*, 72(7), 643–649.
- Ziyeh, S., Rick, J., Reinhard, M., Hetzel, A., Mader, I., & Speck, O. (2005). Blood oxygen level-dependent MRI of cerebral CO₂ reactivity in severe carotid stenosis and occlusion. *Stroke*, 36(4), 751–756.
- Zlokovic, B. V. (2008). The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron*, 57(2), 178–201.
- Zlokovic, B. V. (2011). Neurovascular pathways to neurodegeneration in alzheimer's disease and other disorders. *Nature reviews. Neuroscience*, 12(12), 723–738. PMID : 22048062.

Zlokovic, B. V. & Apuzzo, M. L. (1998). Strategies to circumvent vascular barriers of the central nervous system. *Neurosurgery*, 43(4), 877–878. PMID : 9766315.