

Université Paris VI

ANNEE 2003

THESE DE SCIENCES

SPECIALITE : NEUROSCIENCES

PAR NICOLAS MOLKO

***APPORT DE L'IMAGERIE DU TENSEUR DE
DIFFUSION DANS L'ETUDE DU TISSU CEREBRAL
PATHOLOGIQUE***

Soutenu le 14 novembre 2003

devant le jury composé de :

Président : Dr Denis Le Bihan

Rapporteur : Dr Andreas Kleinschmidt

Rapporteur : Pr Yves Samson

Examineur : Dr Thomas Bourgeron

Directeur de thèse : Dr Stanislas Dehaene

Remerciements

Le travail de cette thèse s'est fait sous la direction de Stanislas Dehaene. Je tiens à le remercier pour son encadrement pédagogique et pour la rigueur scientifique qu'il a apporté à ce travail. Les trois années passées dans l'unité INSERM, qu'il dirige, ont été particulièrement riches à la fois sur le plan intellectuel et humain.

Je tiens aussi à remercier :

Denis LeBihan qui a accepté de m'accueillir au sein du Service Hospitalier Frédéric Joliot (SHFJ) et pour son rôle essentiel dans le développement de l'imagerie du tenseur de diffusion au SHFJ,

Laurent Cohen pour sa contribution à ce travail et pour sa disponibilité,

Hugues Chabriat pour m'avoir initié à l'imagerie du tenseur de diffusion au traitement d'image à travers les études dans la maladie de CADASIL,

Sabina Pappata pour son encadrement scientifique lors de mes difficiles débuts au SHFJ,

Antoinette Jobert pour son aide précieuse dans toutes les étapes techniques du traitement d'image,

Jean François Mangin et les différents membres de son équipe, Cyril et Fabrice Poupon, Denis Rivière, Yann Cointepas, Arnaud Cachia et Vincent Frouin pour l'aide irremplaçable qu'ils ont apportée dans les différentes étapes du traitement des images et dans l'élaboration d'outils de visualisation des images,

L'équipe informatique du SHFJ, Rozenn Rougetet et Frédérique Napoleone pour leur aide technique,

Les nombreux étudiants qui m'ont accompagné au SHFJ durant cette thèse,

L'association national des patientes avec un syndrome de Turner, AGAT, qui a joué un rôle crucial dans le recrutement des patients,

Les patients qui ont participé à ces études.

A mes parents,

A Laetitia et Solal,

Résumé :

L'imagerie du tenseur de diffusion est une nouvelle technique d'imagerie par résonance magnétique, fondée sur l'étude des mouvements browniens des molécules d'eau, qui permet d'obtenir une information sur la structure des tissus à une échelle microscopique jusque là inaccessible in vivo. L'étude de la diffusion de l'eau est notamment sensible à l'orientation des faisceaux de fibres nerveuses, permettant pour la première fois l'étude de façon non-invasive de la connectivité cérébrale. Nous montrons dans cette thèse que la sensibilité de l'imagerie du tenseur de diffusion aux modifications de la microstructure tissulaire permet à la fois de découvrir des anomalies tissulaires dans des tissus d'apparence normale sur les séquences conventionnelles mais aussi d'étudier les mécanismes à l'origine de certains troubles cognitifs en fonction de la connectivité anatomique entre les aires cérébrales impliquées dans ces processus cognitifs.

Dans une première partie, nous avons étudié une maladie génétique rare, affectant électivement les vaisseaux et conduisant à des phénomènes d'ischémie cérébrale, la maladie de CADASIL. L'étude du thalamus dans des zones d'apparence normale sur les séquences conventionnelles montre l'existence d'anomalies constantes dans la microstructure tissulaire du thalamus qui sont corrélées au statut cognitif des patients. La relation entre les anomalies de la diffusion dans le thalamus et le volume de tissu infarci à distance, ainsi que l'augmentation progressive de la diffusion dans le thalamus ipsilatéralement à une sténose de l'artère sylvienne, suggèrent qu'une anomalie des connexions thalamiques soit à l'origine de l'augmentation de la diffusion dans le thalamus. L'étude longitudinale sur une période de trois ans montre une augmentation progressive de la diffusion chez tous les patients symptomatiques, y compris sur des périodes aussi courtes que 1 an, démontrant la sensibilité du tenseur de diffusion dans le suivi de la progression des lésions tissulaires dans CADASIL.

Dans une deuxième partie, nous décrivons une méthode de tracking de fibres mettant à profit la sensibilité de l'imagerie du tenseur de diffusion dans la détection de la dégénérescence des faisceaux de fibres secondaire à une lésion cérébrale. Combinant l'imagerie fonctionnelle et l'imagerie du tenseur de diffusion chez un patient présentant une héli-alexie gauche en rapport une lésion du splénium du corps calleux, cette méthode montre la dégénérescence d'un faisceaux de fibres connectant les régions du réseau activé en IRMf pendant la lecture, allant des aires visuelles de l'hémisphère droit à l'aire de la représentation visuelle des mots à gauche. Les connections cérébrales isolées par cette méthode de « tracking négatif » sont similaires à celles obtenues avec les algorithmes informatiques classiques de traçage de fibres.

Dans la troisième et dernière partie, nous avons étudié les bases cérébrales des troubles visuo-spatiaux et du calcul et des déficits de la perception sociale secondaire à la perte d'un chromosome X (syndrome de Turner). Combinant l'imagerie fonctionnelle à la fois avec l'imagerie anatomique de haute résolution et à avec l'imagerie de diffusion, cette étude montre des arguments convergents suggérant l'existence d'anomalies régionales spécifiques dans des régions impliquées dans les troubles cognitifs des patientes, comme le sillon intrapariétal et le sillon temporal supérieur. L'étude plus fine des troubles du calcul montre en imagerie fonctionnelle une insuffisance du recrutement du sillon intrapariétal quand la difficulté des calculs augmente. Alors que l'étude en imagerie de diffusion ne retrouve pas d'anomalie dans le lobe pariétal, l'étude anatomique révèle une anomalie de la profondeur, de la longueur et de la géométrie du sillon intrapariétal droit, reflétant une importante désorganisation anatomique de cette région. Cette étude suggère le rôle clé du sillon intrapariétal dans le développement de la représentation des nombres.

Table des matières :

Résumé	3
Introduction	7
1 Méthodes d'imagerie par résonance magnétique	12
1.1 Imagerie par résonance magnétique conventionnelle	13
1.1.1 Rappel historique.....	13
1.1.2 Origine physique du signal RMN.....	14
1.1.2.1 Magnétisme nucléaire	
1.1.2.2 Phénomène de résonance nucléaire	
1.1.2.3 Phénomène de relaxation	
1.1.2.4 Codage spatial de l'image	
1.1.2.5 Contraste T1 et T2	
1.1.2.6 Application aux systèmes nerveux central	
1.2 Imagerie de diffusion.....	24
1.2.1 Phénomène de diffusion.....	24
1.2.2 Mesure de la diffusion en RMN.....	25
1.2.3 Mesure de la diffusion de l'eau dans le tissu cérébral.....	27
1.2.3.1 Influence du temps de diffusion	
1.2.3.2 Influence des valeurs de b	
1.2.3.3 Influence du facteur de tortuosité et du volume extracellulaire	
1.2.3.4 Apport des modèles pathologiques	
1.2.3.5 Diffusion fonctionnelle	
1.3 Imagerie du tenseur de diffusion.....	40
1.3.1 Anisotropie de la diffusion.....	40
1.3.1.1 Anisotropie de la diffusion dans la substance blanche	
1.3.1.2 Anisotropie de la diffusion dans la substance grise	
1.3.2 Technique tridimensionnelle.....	46
1.3.3 Représentation du tenseur de diffusion.....	48
1.3.4 Paramètres quantitatifs dérivés du tenseur de diffusion.....	51
1.3.5 Reconstruction des trajectoires des faisceaux de fibres	55
1.3.6 Limites du tenseur de diffusion.....	60
1.3.6.1 Artéfacts des images de diffusion	
1.3.6.2 Limites du modèle du tenseur de diffusion	
1.4 Autres techniques d'imagerie de diffusion.....	62
1.4.1 Modèle du q-space	62
1.4.2 Modèle de diffusion à haute résolution angulaire.....	64
1.5 Références.....	67

2	Apport de l'imagerie du tenseur de diffusion de la maladie de CADASIL	71
2.1	Introduction	72
2.1.1	CADASIL	72
2.1.2	Imagerie du tenseur de diffusion et CADASIL	76
2.2	Etude de la substance grise sous-corticale	77
2.2.1	Introduction	77
2.2.2	Méthode	77
2.2.3	Résultats	80
2.2.4	Discussion	87
2.3	Monitoring de l'évolution des lésions microstructurales	92
2.3.1	Introduction	92
2.3.2	Méthode	93
2.3.3	Résultats	94
2.3.4	Discussion	101
2.4	Références	104
3	Bases cérébrales d'un syndrome de disconnection	108
3.1	Introduction	109
3.2	Méthodes	113
3.3	Results	115
3.4	Discussion	120
3.5	Conclusion	121
3.6	Références	123
4	Etude de la dyscalculie développementale dans le syndrome de Turner	125
4.1	Introduction	126
4.2	Bases anatomiques des troubles cognitifs	129
4.2.1	Introduction	129
4.2.2	Methods	130
4.2.3	Results	133
4.2.4	Discussion	141
4.2.5	Conclusions	147
4.3	Anomalies fonctionnelles et anatomiques du sillon intrapariétal	148
4.3.1	Introduction	148
4.3.2	Methods	149
4.3.3	Results	151
4.3.4	Discussion	164

4.4 Références	169
5 Conclusions et perspectives	174
Annexes	191

Articles originaux correspondant au travail de cette thèse :

Functional and structural alterations of the intraparietal sulcus in a developmental dyscalculia of genetic origin

Neuron. sous presse. **Molko N**, Cachia A, Riviere D, Mangin JF, Bruandet M, Le Bihan D, Cohen L, Dehaene S.

Brain anatomy in Turner syndrome : Evidence for impaired social and spatial-numerical networks

Submitted to Cerebral cortex. **Molko N**, Cachia A, Riviere D, Mangin JF, Le Bihan D, Cohen L, Dehaene S.

Visualizing the neural bases of a disconnection syndrome with diffusion tensor imaging

J Cogn Neurosci. 2002 May 15;14(4):629-36. **Molko N**, Cohen L, Mangin JF, Lehericy S, Le Bihan D, Dehaene S.

Monitoring disease progression in CADASIL with diffusion magnetic resonance imaging

Stroke. 2002 Dec;33(12):2902-8. **Molko N**, Pappata S, Mangin JF, Poupon F, LeBihan D, Bousser MG, Chabriat H.

Diffusion tensor imaging study of subcortical gray matter in CADASIL

Stroke. 2001 Sep;32(9):2049-54. **Molko N**, Pappata S, Mangin JF, Poupon C, LeBihan D, Bousser MG, Chabriat H.

Articles originaux en rapport avec le travail de cette thèse :

A cognitive characterization of dyscalculia in Turner syndrome

Neuropsychologia. sous presse. Bruandet M, **Molko N**, Cohen L, Dehaene S.

Biphasic changes of diffusion in ipsilateral thalamus after middle cerebral artery infarcts

Submitted to Neurology. Hervé D, **Molko N**, Le Bihan D, Bousser MG, Chabriat H.

Diffusion tensor imaging in the human optic nerve using a non CPMG fast spin echo sequence

Submitted to Journal of Magnetic Resonance Imaging. Chabert S, **Molko N**, Cointepas Y, Leroux P, LeBihan D

Diffusion tensor imaging: concepts and applications.

J Magn Reson Imaging. 2001 Apr;13(4):534-46. Le Bihan D, Mangin JF, Poupon C, Clark CA, Pappata S, **Molko N**.

Introduction

L'imagerie par résonance magnétique nucléaire (IRM) conventionnelle est une technique très sensible pour la détection des lésions du système nerveux central. Depuis son apparition au début des années 80, cette technique s'est rapidement imposée comme la technique d'imagerie de référence dans la prise en charge des patients avec une affection du système nerveux. Cette technique, basée sur les temps de relaxation T1 et T2 des tissus, a cependant des limitations importantes. Dans le tissu cérébral normal, la substance blanche apparaît avec un signal homogène, rendant impossible la détection des différents faisceaux de fibres présents dans la substance blanche. Dans de nombreuses pathologies du tissu cérébral, l'imagerie cérébrale conventionnelle reste normale, notamment dans les phases précoces des processus pathologiques, comme dans l'ischémie cérébrale, ou dans les pathologies développementales ou neuropsychiatriques, assimilées trop facilement à des pathologies sans substratum anatomique. Enfin, les modifications de signal en IRM conventionnelle manquent de spécificité. Des modifications de signal à type d'hypersignal T2 sont observées de façon très superposables dans des pathologies aussi variées que la pathologie vasculaire, inflammatoire et tumorale.

Ces limitations expliquent en partie les raisons de l'engouement des cliniciens, des neuropsychologues et des cognitivistes pour les nouvelles techniques d'imagerie, comme l'imagerie fonctionnelle et l'imagerie de diffusion. La découverte de la sensibilité des séquence BOLD au degré d'oxygénation sanguine a bouleversé l'imagerie fonctionnelle cérébrale, fondée jusque là sur l'imagerie par tomographie d'émissions de positons. L'imagerie du tenseur de diffusion est une technique d'imagerie qui permet l'accès à une dimension spatiale difficilement accessible in vivo avec d'autres techniques non invasives. Cette technique permet pour la première fois d'entreprendre l'étude de la connectivité cérébrale chez l'homme et de détecter des anomalies subtiles de la microstructure des tissus, notamment dans des pathologies neuropsychiatriques.

L'imagerie de diffusion a la particularité d'étudier la microstructure des tissus à une échelle qui est bien inférieure à la résolution spatiale des voxels de l'image. Les images de diffusion, basées sur l'étude des mouvements microscopiques des molécules d'eau, ne sont pas présentées sur des images à l'échelle du micromètre comme en microscopie optique mais c'est le moyennage des mouvements microscopiques au niveau du voxel qui renseigne sur

l'organisation de la microstructure des tissus.

Les perspectives de cet accès *in vivo* au monde microscopique sont nombreuses. L'objectif de ce travail est de montrer l'apport de l'imagerie du tenseur de diffusion dans l'étude du cérébral pathologique, et en particulier dans le cadre de pathologies génétiques. Les pathologies génétiques étudiées nous ont permis d'étudier des groupes homogènes de patients et de réaliser des corrélations préliminaires entre les génotypes – phénotypes.

Ce manuscrit est composé de cinq chapitres :

Le premier chapitre est une description des principes de l'imagerie du tenseur de diffusion. Nous avons commencé par présenter de façon schématique les principes de l'IRM conventionnelle, en partant de l'origine nucléaire du signal de l'IRM dans le spin des protons. Nous montrons ensuite qu'une séquence classique de diffusion ne diffère d'une séquence conventionnelle que par l'adjonction de deux gradients de diffusion. Enfin, nous décrivons plus précisément les principes de l'imagerie du tenseur de diffusion, avec les paramètres de diffusion utilisés dans nos travaux, les techniques de tracking de fibres, ainsi que les limites et les artéfacts de l'imagerie du tenseur de diffusion.

Le deuxième chapitre est consacré à l'étude en imagerie du tenseur de diffusion, d'une maladie génétique rare, la maladie de CADASIL, affectant électivement les vaisseaux et conduisant à des phénomènes d'ischémie cérébrale. Nos résultats montrent la sensibilité de la mesure de la diffusion de l'eau pour détecter des modifications de la microstructure tissulaire dans des régions d'apparence normale sur les séquences conventionnelles (étude sur la substance grise sous-corticale) et aussi la sensibilité de cette technique dans le suivi de la progression des lésions tissulaires (étude longitudinale). Les premiers travaux sur l'imagerie du tenseur de diffusion ont montré que cette technique était sensible à la dégénérescence wallerienne, avec une réduction de l'anisotropie dans la substance blanche le long du faisceau en dégénérescence. Les données présentées dans ce chapitre suggèrent que les conséquences à distance des lésions de la substance blanche peuvent aussi être détectées au niveau de la cible des faisceaux en dégénérescence, et en particulier au niveau du thalamus.

Le chapitre 3 décrit une méthode originale de tracking de fibres mettant à profit la sensibilité de l'imagerie du tenseur de diffusion dans la détection de la dégénérescence des faisceaux de fibres secondaire à une lésion cérébrale. Les sections méthodes, résultats, discussion sont en anglais et correspondent à l'article publié en 2002 dans *Journal of Cognitive Neuroscience*. Combinant l'imagerie fonctionnelle et l'imagerie du tenseur de

diffusion chez un patient présentant une héli-alexie gauche en rapport une lésion du splénium du corps calleux, cette méthode montre chez ce patient la dégénérescence d'un faisceaux de fibres correspondent en partie à des fibres longues distances connectant les régions activées en IRMf correspondant aux régions visuelles de l'hémisphère droit avec l'aire de la représentation visuelle des mots dans l'hémisphère gauche.

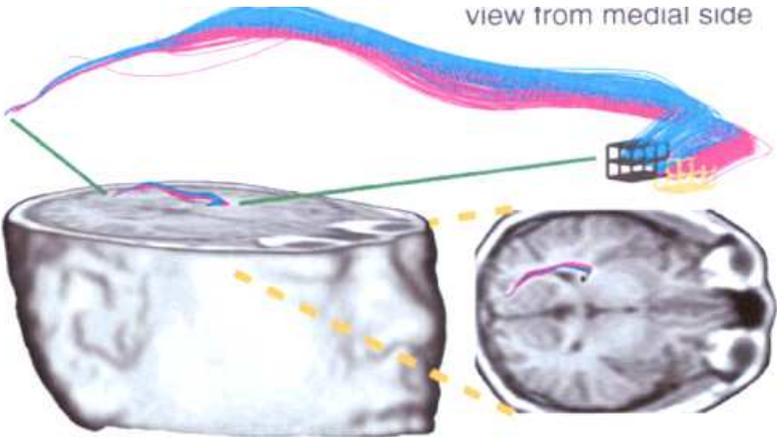
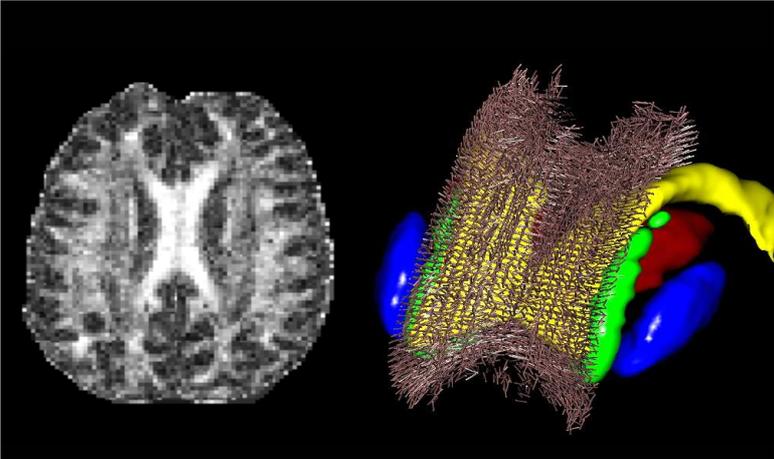
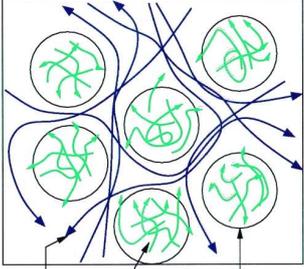
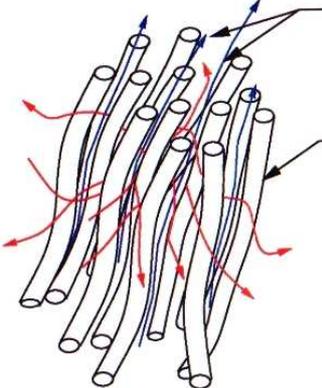
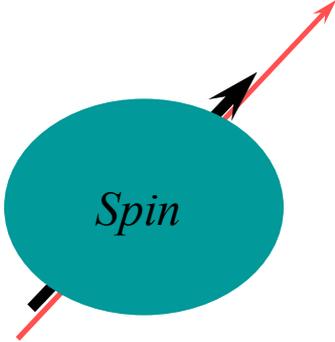
Le chapitre 4 étudie les bases cérébrales des déficits cognitifs d'origine génétique secondaire à la perte d'un chromosome X dans le cadre du syndrome de Turner. Cette étude est particulièrement consacrée à l'étude de la dyscalculie développementale dans le syndrome de Turner, associant une étude neuropsychologique à étude en imagerie fonctionnelle durant le calcul mental et à une étude morphométrique combinant l'imagerie anatomique de haute résolution, l'imagerie de diffusion et la morphométrie sulcale. Les sections méthodes, résultats, discussion sont en anglais et correspondent à deux articles soumis en 2003. L'étude en imagerie fonctionnelle durant du calcul mental montre une insuffisance du recrutement du sillon intrapariétal quand la difficulté des calculs augmentent. L'étude anatomique révèle une anomalie de la profondeur, de la longueur et de la géométrie du sillon intrapariétal droit, reflétant une importante désorganisation anatomique de cette région. Cette étude suggère le rôle clé du sillon intrapariétal dans le développement de la représentation des nombres.

Le chapitre 5 est une conclusion générale

Chapitre 1

METHODES D'IMAGERIE PAR RESONANCE MAGNETIQUE

Du spin au tracking des fibres



1.1 Imagerie par résonance magnétique conventionnelle

1.1.1 Rappel historique :

Le phénomène de résonance magnétique (RMN) a été décrit simultanément en 1946 par deux équipes celle de Bloch à Stanford (Bloch, 1946) et celle de Purcell à Harvard (Purcell et al., 1946)(Prix Nobel en 1952). Dans les années cinquante à soixante-dix, c'est essentiellement la spectroscopie par résonance magnétique qui se développe entre les mains des physiciens, chimistes et biologistes. En 1971, Damadian démontre pour la première fois l'intérêt potentiel de cette technique dans le diagnostic médical, révélant que les temps de relaxation T1 et T2 des tissus normaux et cancéreux diffèrent *in vitro*. En 1975, Ernst propose la technique de l'encodage de phase et de fréquence pour le codage spatial du signal et son décodage spatial par la transformée de Fourier (Prix Nobel en 1991). En 1976, Moor et Hinsaw réalisent les premières images appliquées à l'homme et Mansfield met au point en 1977 la technique échoplanaire ultrarapide (30 ms/image) (Mansfield, 1977). Au début des années 1980, l'IRM conventionnelle commence à se diffuser et à s'imposer en routine clinique avec une amélioration progressive de la qualité des images anatomiques macroscopiques et de la résolution des images.

En 1986, des séquences d'imagerie sensibles aux mouvements de diffusion des molécules d'eau sont utilisées (Stekjskal and Tanner, 1965), fournissant des informations complémentaires aux séquences T1 et T2 (Le Bihan et al., 1986). En 1990, l'observation d'une réduction précoce du coefficient de diffusion dès la première heure d'une ischémie aigue expérimentale chez le chat suggère la sensibilité de l'imagerie de diffusion dans la détection de modifications subtiles du volume cellulaire. L'imagerie de diffusion s'impose rapidement comme la technique de référence à la phase aigue de l'ischémie cérébrale (Moseley et al., 1990a; Moseley et al., 1990b; Moseley et al., 1990c). La même année, la mesure de la diffusion de l'eau dans différentes directions de l'espace montre la sensibilité de la diffusion de l'eau à l'orientation des fibres nerveuses (Le Bihan, 1991; Moseley et al., 1990a). En 1994, l'avènement de l'imagerie du tenseur de diffusion permet d'obtenir une information tridimensionnelle sur le processus de diffusion dans le tissu cérébral, qui reflète indirectement l'orientation tridimensionnelle des fibres nerveuses (Basser et al., 1994). En 1999, l'utilisation de l'imagerie du tenseur de diffusion et d'algorithmes de reconstruction des

trajectoires de fibres de fibres permet pour la première fois d'appréhender l'étude, in vivo et de façon non-invasive, de la connectivité cérébrale chez l'homme, retrouvant avec bonne fiabilité la trajectoire des principaux faisceaux de substance blanche (Conturo et al., 1999; Poupon et al., 2000). Dans de nombreuses pathologies, l'imagerie de diffusion se montre plus sensible que l'imagerie conventionnelle pour la détection précoce des processus pathologiques affectant le tissu cérébral (Le Bihan et al., 2001). L'imagerie du tenseur de diffusion montre des anomalies structurelles du tissu cérébral dans certaines pathologies psychiatriques et développementales, classées jusque là dans les pathologies sans substratum anatomique connu (Klingberg et al., 2000; Minami et al., 2003; Wolkin et al., 2003).

En 1999, MagneVu développe une technique d'IRM portable pour une utilisation dans le cabinet du praticien avec des applications potentielles en rhumatologie. La réalisation d'une IRM de diffusion avec des systèmes portatifs n'est cependant pas encore d'actualité.....

1.1.2 Origine physique du signal IRM :

1.1.2.1 Le magnétisme nucléaire :

Le spin : le signal de résonance magnétique nucléaire (RMN) a pour origine les noyaux des atomes. Les noyaux sont constitués de protons et de neutrons, autour desquels tournent les électrons. Les protons et les neutrons sont animés d'un mouvement collectif complexe, comportant notamment une rotation individuelle, et caractérisé par un moment cinétique ou *spin* (tourner sur soi même en anglais) (Figure 1). Comme toutes les charges électriques en mouvement, ces spins génèrent un champ magnétique, caractérisé par un moment magnétique. Cependant, seuls les atomes à nombre impair de nucléons possèdent un moment magnétique total, qu'on qualifie d'intrinsèque ou d'élémentaire. Parmi ces noyaux à nombre impair de nucléons, les principaux noyaux d'intérêt biologique possédant un moment magnétique sont les noyaux d'hydrogène ^1H , de carbone ^{13}C , de fluor ^{19}F , de phosphore ^{31}P . Seul le noyau d'hydrogène, formé d'un seul proton joue un rôle important (on parle « d'imagerie protonique »). Le noyau d'hydrogène représente 2/3 des atomes de l'organisme, et est présent dans l'eau et dans les chaînes hydrocarbonées de la graisse. Il possède un moment magnétique intrinsèque élevé et donne lieu à un phénomène de résonance magnétique très net qui est à l'origine du signal RMN. Très schématiquement, le proton peut être assimilé à un petit aimant avec un pôle nord et pôle sud qui tourne autour de son centre.

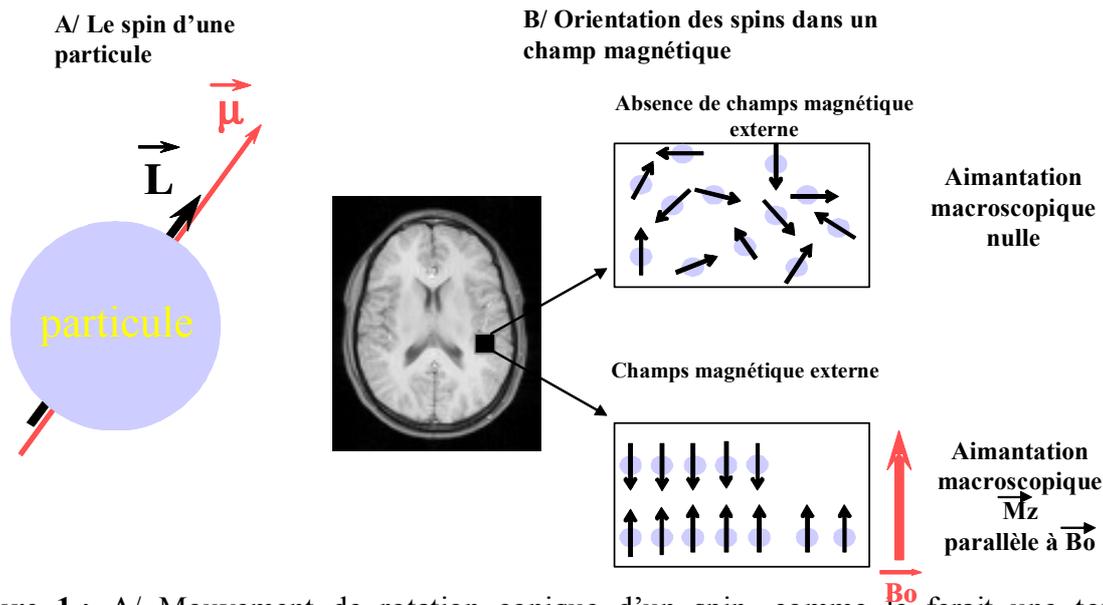


Figure 1 : A/ Mouvement de rotation conique d'un spin, comme le ferait une toupie, caractérisé par un moment cinétique et un moment magnétique L et μ . B/ Le spin se comporte comme une véritable boussole qui s'oriente en présence d'un champ magnétique dans sa direction. Une aimantation macroscopique apparaît résultant de la préférence des spins pour la position parallèle au champ magnétique par rapport à la position antiparallèle.

Dans un élément du volume d'acquisition de l'image (le voxel), une grande quantité de molécules d'eau (donc de protons) cohabitent, chacune avec son propre moment magnétique (environ 2.10^{15} protons/mm³). En l'absence de champ magnétique externe, l'aimantation résultante macroscopique est nulle, en rapport avec une distribution aléatoire de l'orientation des dipôles magnétiques dans l'espace (Figure 1).

Influence d'un champ magnétique sur l'orientation des spins : si l'on applique un champ magnétique constant et homogène, appelé champ B_0 et orienté selon l'axe Z en IRM, les protons vont s'orienter dans la direction du champ magnétique et induisent à l'équilibre une aimantation macroscopique longitudinale M_z parallèle au champ B_0 (Figure 1). L'aimantation résultante ne représente qu'une toute petite fraction de l'aimantation qui serait atteinte si tous les dipôles étaient orientés dans le même sens. En effet, les protons se répartissent parallèlement à B_0 suivant la loi de Boltzmann en deux niveaux d'énergie dans le sens parallèle à B_0 (protons de basse énergie) et dans le sens opposé à B_0 , sens antiparallèle (protons de haute énergie) (Figure 1). La proportion plus importante des protons orientés dans le sens parallèle (protons de basse énergie) explique l'aimantation longitudinale macroscopique M_z résultante, à l'origine du signal RMN. Cette différence d'orientation des dipôles par rapport à B_0 augmente de façon linéaire avec l'intensité magnétique, expliquant l'augmentation du rapport signal sur bruit avec les aimants à haut champ. Bien qu'orientées

de façon parallèle à l'axe (Oz), les composantes élémentaires transversales des moments magnétiques se répartissent de façon aléatoire. Les protons sont dits déphasés et l'aimantation transversale résultante nulle.

L'aimantation macroscopique longitudinale n'est pas accessible à une mesure facile. Pour détecter cette aimantation longitudinale infiniment faible par rapport à B_0 , il faut la basculer dans le plan perpendiculaire xOy. Les moments magnétiques des protons orientés selon B_0 ont une énergie potentielle, proportionnelle à μ et B_0 et pour perturber cet équilibre il faut fournir de l'énergie. Un deuxième champ magnétique (créé par une onde de radiofréquence) est utilisé pour basculer l'aimantation longitudinale.

1.2.1.2 Le phénomène de résonance nucléaire :

Le point commun à tous les phénomènes de résonance est un transfert d'énergie par un phénomène oscillatoire à une fréquence précise. L'exemple le plus classique est celui de la voix faisant vibrer un verre en cristal. Nous venons de voir dans la section précédente que, dans le champ magnétique B_0 , les protons sont animés d'un mouvement de rotation autour d'un axe parallèle à B_0 caractérisé par une fréquence de précession, appelée fréquence de Larmor, proportionnelle à B_0 avec la vitesse angulaire correspondante ω_0 avec $\omega_0 = \gamma B_0$.

Cet état d'équilibre peut être perturbé par un champ magnétique tournant B_1 , ou onde de radio-fréquence, appliqué dans plan xOy (Figure 2). Pour qu'il y ait transfert d'énergie, il faut que la fréquence de rotation du champ magnétique tournant soit égale à la fréquence de Larmor spécifique des protons dans le champ B_0 : les deux systèmes sont alors en résonance. Au niveau microscopique, l'impulsion RF permet la mise en phase des protons et l'apparition d'une composante transversale M_T dans le plan xOy. La quantité d'aimantation basculée dépend de l'intensité et de la durée de l'onde RF. L'application du champ magnétique tournant pendant un temps judicieux permet de basculer l'aimantation longitudinale à 90° (Figure 2 B).

Mesure du signal RMN : Free induction decay (FID). A l'arrêt de l'onde RF, l'aimantation transversale diminue et l'aimantation longitudinale repousse pour retourner à l'état d'équilibre par des mécanismes de relaxation (cf section suivante). La rotation de l'aimantation dans le plan transverse induit une onde de radiofréquence. C'est ce signal de

radiofréquence qui est recueilli par une bobine ou antenne de réception placée dans le plan xOy qui le transforme en signal de électrique mesurable et qui est la base du signal mesuré en IRM (Figure 2 C). La mesure de l'aimantation ne peut être réalisée que dans le plan (xOy) et c'est pourquoi on ne mesure que l'aimantation transverse en RMN.

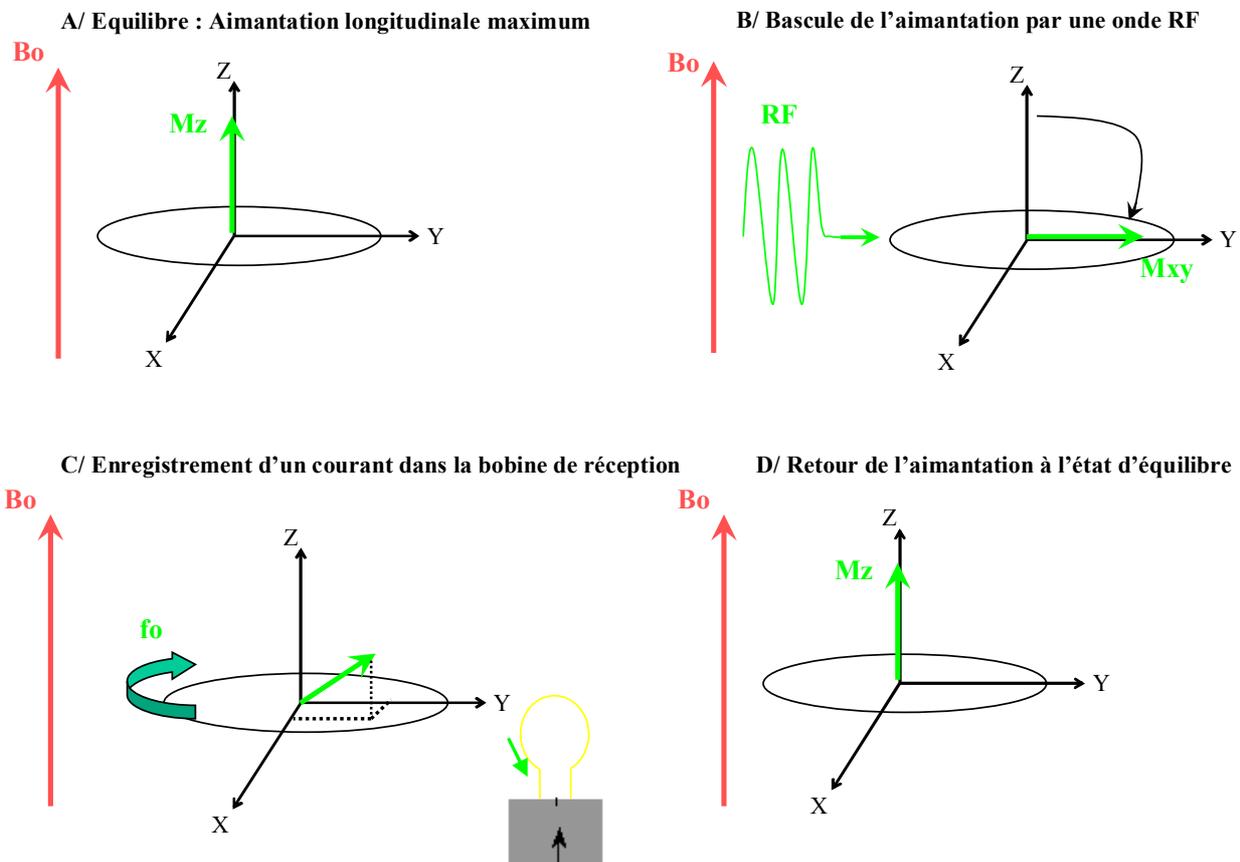


Figure 2 : A/ Placé dans un champ, magnétique, les spins s'orientent parallèlement au champ magnétique et de façon préférentielle dans le sens du champ magnétique (sens parallèle ou de basse énergie). Il en résulte une aimantation macroscopique M_z . B/ Pour mesurer cette aimantation longitudinale, M_z est basculé à 90° dans plan xOy par un champ magnétique tournant (onde radio-fréquence RF) à la vitesse angulaire ω_0 en résonance avec les spins. C/ A l'arrêt de l'onde RF, les spins retournent à leur état d'équilibre par des mécanismes de relaxation à l'origine du signal de RMN recueilli par l'antenne de réception (Free induction decay). D/ A l'équilibre, M_z retrouve sa position initiale dans l'axe (Oz).

1.2.1.3 Les phénomènes de relaxation :

Après l'impulsion RF d'excitation, les spins retournent à leur état d'équilibre par des mécanismes dit de relaxation. C'est par l'intermédiaire de ces mécanismes de relaxation que le phénomène de résonance devient observable.

Relaxation transversale ou relaxation T2: Le processus de relaxation transversale correspond à une perte de cohérence de phase des moments magnétiques dont l'origine n'est pas univoque. La relaxation transversale est aussi appelée relaxation « spin-spin » car ce phénomène est la conséquence d'une interaction des protons entre eux. Dans un champ magnétique idéal, parfaitement homogène, la disparition de l'aimantation transversale suit une exponentielle décroissante dont la constante de temps T2 est caractéristique d'un tissu donné. La valeur T2, correspondant à une décroissance du signal de 63%, dépend de façon complexe des propriétés physico-chimique du corps étudié (ordre de grandeur 50 à 100ms). En situation réelle, le signal enregistré présente une décroissance, qui est plus rapide que la décroissance théorique, caractérisée par la constante de temps T2*. Le T2 est plus long dans les liquides que dans les solides ou dans les tissus à larges molécules.

Relaxation T2 :* Les inhomogénéités de champ magnétique B_0 d'origine instrumentale (imperfection de l'aimant) et celles liées aux effets de susceptibilité du corps étudié s'ajoutent aux inhomogénéités de champ magnétique d'origine moléculaire. Ces défauts d'homogénéité entraînent un déphasage plus rapide des spins. On utilise le symbole T2* pour représenter la conjonction des deux effets à l'origine du déphasage des spins. Les séquences d'écho de spin permettent d'annuler les déphasages secondaires aux inhomogénéités du champ magnétique et d'accéder au « vrai T2 ».

Relaxation longitudinale ou relaxation T1: Le passage d'une aimantation macroscopique nulle à l'aimantation longitudinale M_z en présence du champ magnétique suit une croissance exponentielle en fonction du temps, appelée temps de relaxation longitudinale ou relaxation « spin-réseau ». Cette relaxation est caractérisée par un temps T1, correspondant à une repousse de 63% de l'aimantation longitudinale, qui est constant et caractéristique du tissu étudié (autour de 500 à 1000 ms). Nous avons vu que la composante de l'aimantation longitudinale n'est pas mesurable directement, mais elle conditionne la quantité de signal qui sera basculée dans le plan transversal après l'impulsion de 90°. La relaxation longitudinale correspond à une absorption d'énergie par les protons du tissu étudié (augmentation des spins

à haute énergie). Le T1 est plus long dans les liquides que dans les solides, il est plus court dans les tissus gras.

Séquence d'écho de spin: Pour accéder au vrai T2, lié à l'interaction des spins entre eux et caractéristique de l'échantillon étudié et non pas au T2*, Hahn propose dès 1955 de se débarrasser des inhomogénéités constantes propres au champ externe par l'application d'une impulsion RF de 180° après l'application de l'impulsion de 90° (Figure 3). Après l'impulsion de 90°, les spins se déphasent à cause des inhomogénéités de champ d'origine « moléculaire » (relaxation spin-spin irréversible) et aussi à cause des inhomogénéités du au Bo. Pour éliminer le rôle des inhomogénéités du au Bo, une impulsion RF de 180° inverse les déphasages sans modifier le sens de rotation (image en miroir) à la moitié du temps d'écho choisi (TE/2). Au temps TE, les spins seront de nouveau rephasés et la composante d'aimantation transversale est mesuré au temps d'écho (TE). Si la lecture du signal survient au moment de la formation d'un écho de spin, la pondération T2 est maximale.

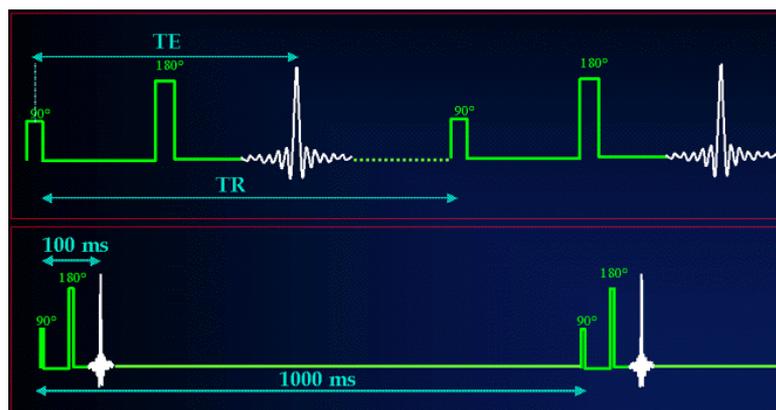


Figure 3 : Une séquence écho de spin comporte l'application d'une impulsion de 90° suivie d'une impulsion de 180° qui provoque l'apparition d'un écho. La périodicité d'acquisition de ces différents signaux définit le temps de répétition. La partie inférieure du schéma restitue les ordres de grandeurs puisque le TR est de l'ordre de la seconde et le TR de l'ordre du dixième de seconde (J.Bittoun).

1.2.1.4 Codage spatial du signal et reconstruction de l'image :

Pour la réalisation des images, il est indispensable de pouvoir localiser précisément les différentes sources du signal RMN. Alors qu'on ne sait pas localiser avec précision dans l'espace la source d'une onde électromagnétique, on peut par contre facilement mesurer avec une excellente résolution la fréquence des signaux magnétiques. Le codage spatial repose sur l'attribution artificielle à l'objet étudié d'une fréquence de Larmor légèrement différente en

fonction de la position dans l'espace. A chaque fréquence du signal correspond une position dans l'espace. Cette encodage spatial est réalisé par un gradient linéaire de champ magnétique qui se superpose au champ magnétique principal B_0 . Cette sélection spatiale se fait en deux temps : une première étape sélectionne une coupe selon l'axe (Oz) du volume et une seconde étape choisit un point particulier de cette coupe à l'aide de deux codages, l'un en fréquence et l'autre de phase. Cette méthode porte le nom de technique 2DFT car elle met en œuvre une double transformée de Fourier. En pratique, les imageurs sont munis de trois bobines générant des champ magnétiques dont les gradients G_x , G_y , G_z sont orthogonaux et orientés selon X, Y, Z.

Imagerie écho-planar :

Contrairement aux séquences en écho de spin , où le signal de chaque ligne du plan de Fourier est obtenu par impulsion de 90° , la technique écho-planar (EPI) permet d'acquérir l'ensemble du plan de Fourier en une impulsion de 90° . Toutefois le TR doit être allongé ce qui conduit à une pondération T2 des images acquises en EPI. Cette technique ultra-rapide, proposée dès 1977 et utilisée en clinique à partir des années 90, permet l'acquisition du plan de Fourier au cours d'une simple acquisition de 30 à 100 ms. La technique EPI entraîne des artéfacts, dont l'origine est variée (forte susceptibilité aux hétérogénéités du champ magnétique, distorsions liées aux courants de Foucault notamment). Cette réduction du temps d'acquisition a permis de nouvelles applications de l'IRM dans le domaine de l'imagerie cardiaque, de l'imagerie fonctionnelle cérébrale et de l'imagerie de diffusion.

1.2.1.5 Le contraste T1, T2 :

Le contraste des images correspond à la traduction des signaux RMN en niveaux de gris et traduit essentiellement la différence des temps de relaxation T1 et T2 entre les tissus (différence pouvant aller jusqu'à 500%) et à un moindre degré la différence en densité de protons (allant de 0 à 15%). La modulation des paramètres TE et TR permet de pondérer variablement les images en T1 et en T2. La mesure directe de l'aimantation longitudinale étant impossible, le signal mesuré en RMN correspond toujours à la valeur de l'aimantation transversale au temps TE.

Une caractéristique générale de la résonance des tissus est la grande différence des comportements des solides et des liquides. Par exemple, le signal de résonance du proton dans de l'eau pure est une réponse étroite avec une largeur de 0,1 Hz, avec un T1 et T2 autour de 3 secondes. Par contre à l'état solide, sous forme de glace, le signal de résonance du proton est beaucoup plus étalé avec une largeur autour de 50 kHz avec un T1 d'environ 600 secondes et un T2 de 10 microsecondes.

Généralement, on observe pour la plupart des tissus : T1 (solides) >> T1(liquides) et T2(liquides) >> (T2 solides)

Le choix des paramètres TE et TR contrôle le contraste en T1 et en T2.

TE et contraste en T2 : Une fois basculée dans le plan transversal, l'aimantation transversale, qui décrit une exponentielle décroissante, est mesurée au temps d'écho TE. Ainsi plus on allonge le TE, plus la décroissance de l'aimantation transversale entre des différents tissus ayant des T2 différents sera notable et donc plus le contraste en T2 entre ces tissus sera important.

TR et contraste en T1 : L'aimantation longitudinale 'repousse' selon une exponentielle croissante. L'aimantation longitudinale est accessible indirectement par la mesure au temps d'écho de l'aimantation transversale. A la fin de chaque cycle, le niveau de repousse l'aimantation longitudinale correspond au niveau à partir duquel décroît l'aimantation transversale. Le TR, temps qui sépare deux excitations successives, conditionne la quantité de l'aimantation ayant eu le temps de repousser : un corps présentant un T1 long produira un signal faible si le TR est court (temps limité pour la repousse de Mz) ; à l'opposé, pour un corps présentant un T1 court, la repousse de Mz plus rapide conduit à un signal plus intense.

Au total, Pour obtenir un contraste en T1, il faut un TR court et un TE court (pour éliminer l'effet de T2, dépendance en T2). Pour obtenir un contraste T2, il faut un TR long et un TE long (pour éliminer l'effet de T1).

1.2.1.6 Application au système nerveux central :

Dans le système nerveux, il faut savoir que la substance blanche a les temps de relaxation les plus courts, le LCR les temps de relaxation les plus longs, la substance grise des temps de relaxation intermédiaires (mais très proches de ceux de la substance blanche). Ainsi dans les

séquences pondérées en T1 en spin-écho (à TR court), le contraste anatomique est donc le suivant : le liquide céphorachidien (LCR) apparaît noir, la substance grise est hypointense par rapport à la substance blanche. Dans les séquences pondérées en T2 (TE long), c'est l'inverse la substance blanche est relativement hypo-intense comparativement à la substance grise.

Séquence inversion-récupération : Le contraste entre la substance grise et la substance blanche reste assez faible en spin-écho car les différences des temps de relaxation T1 a tendance à être annulé par les différences des temps de relaxation T2 (la dépendération en T2 n'est pas totale dans les séquences en T1). Pour augmenter le contraste gris-blanc, permettant de segmenter plus facilement la substance blanche de la substance grise, il faut introduire une impulsion de -180° avant l'impulsion de 90° (séquence d'inversion récupération) (Figure 6)

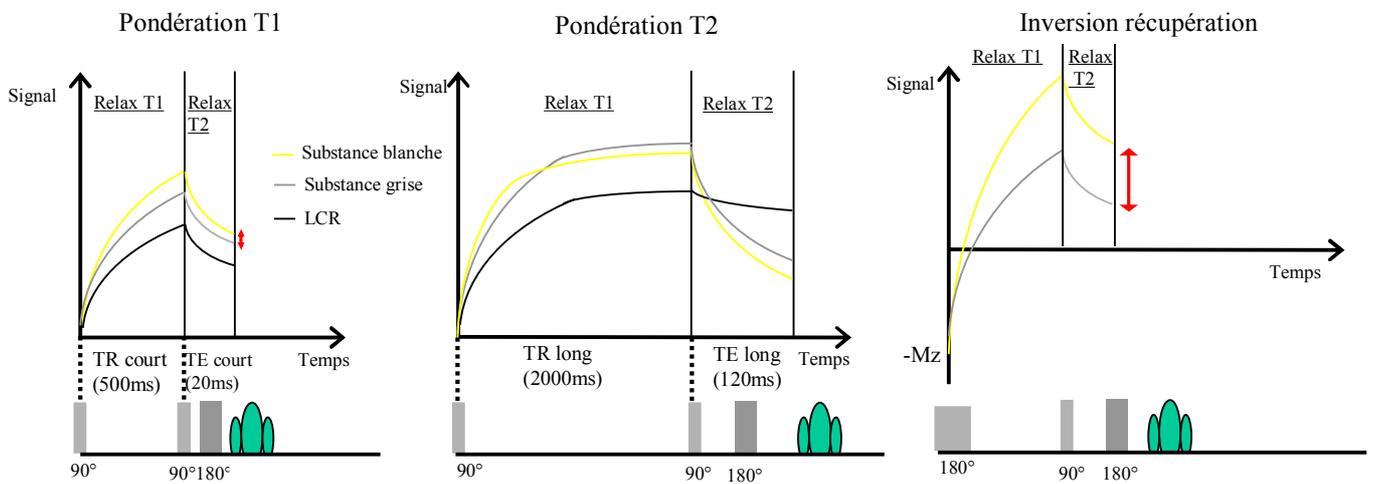
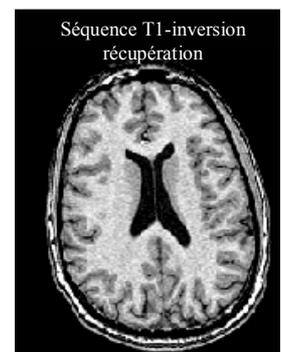


Figure 4 : La pondération en T1 s'obtient pour des temps TR et TE court. La substance blanche apparaît hyperintense (c'est-à-dire en blanc) par rapport à la substance grise (grise) et au LCR (noir). La pondération T2 s'obtient pour des temps de TR et TE long. La substance blanche et la substance grise sont approximativement iso-intense et le LCR est hyperintense. Les lésions associées à un œdème ou une inflammation apparaissent hypo-intenses en T1 et hyperintenses en T2. Le contraste entre la substance blanche et substance grise est meilleur dans des séquences d'inversion-récupération (flèches rouges) car lors la repousse l'aimantation longitudinale, M_z décrit un double parcours de $-M_z$ à $+M_z$, augmentant ainsi la pondération en T1.

Structure en hypersignal T1 :

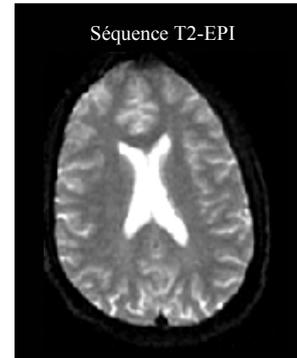
- augmentation de la densité de proton (lymphôme, gliome, gliose)
- substance à T1 court : le plus souvent substance contenant des lipides (graisse sous-cutanée), ou un contenu en protéines important
- raccourcissement du T1 : cations paramagnétiques (gadolinium, manganèse, fer)



mélanine (métastase cancer de la peau), hématome et produits de dégradation de l'hémoglobine (signal variable en fonction de la forme de l'hémoglobine), calcium

Structure en hypersignal T2 :

- Eau libre et eau extracellulaire (LCR, œdème)
- Substance à T1 court (graisse, gadolinium)
- Hémoglobine (signal variable)



Structure donnant peu de signal (contenant peu de protons)

- Os et calcium
- cavités aériques (sinus, poumons, trachées)

Devant l'intrication des multiples paramètres qui déterminent le signal RMN, il est souvent difficile d'expliquer l'origine du signal obtenu pour un tissu donné. Les temps de relaxation T1 et T2, la densité de protons, la présence de protéines ou de lipides sont des paramètres importants mais la contribution de ces différents paramètres pour un tissu donné n'est pas complètement élucidée. Pour montrer la complexité des mécanismes, prenons par exemple le cas de la myéline. Pour interpréter les signaux de la myéline, il faut tenir compte de la densité de protons, du T1 et du T2. La myéline contenant de nombreux lipides apparaît en hypersignal relatif par rapport à celui de la substance grise dans des séquences à TR court (contraste T1). Par contre dans des séquences à TE long, la myéline a un TE global plus court que la substance grise et peut apparaître en hyposignal relatif. Sur les séquences en densité de protons, la myéline apparaît en hyposignal comparée à la substance grise malgré un nombre de protons plus élevé.

En pathologie, les processus pathologiques s'accompagnant d'une inflation hydrique (réaction inflammatoire, œdème vasogénique) auront donc des temps de relaxation rallongés ce qui se traduit par un hyposignal en T1 et un hypersignal en T2 car l'eau a un T1 et un T2 très long comparés à la substance grise et à la substance blanche.

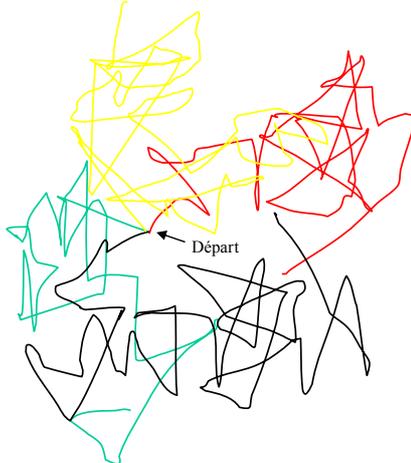
1.2 Imagerie de diffusion

1.2.1 Le phénomène de diffusion : *la goutte de vin dans un verre d'eau*

Le phénomène de diffusion moléculaire correspond aux mouvements aléatoires de translation des molécules, appelés mouvements browniens. Ces mouvements browniens, qui sont liés principalement à l'énergie thermique des molécules, peuvent être décrits comme une marche aléatoire, influencée notamment par les interactions entre les particules, comme par exemple des collisions moléculaires (Figure 5). Si on considère le trajet aléatoire et libre de chaque particule, la probabilité de déplacement d'une particule a une distribution gaussienne et un déplacement moyen proportionnel au temps t suivant l'équation d'établit par Einstein :

$$\langle r^2 \rangle = 6Dt$$

où D est le coefficient de diffusion moléculaire. Il s'agit d'un coefficient de proportionnalité qui caractérise la mobilité d'un fluide dans un liquide donné à une température donnée.



Déplacements de 4 particules à partir du même point de départ

Figure 5: Les mouvements browniens des molécules peuvent être comparés à une marche aléatoire. Dans une structure non orientée comme dans de l'eau pure, les molécules d'eau se dirigent de façon équiprobable dans toutes les directions de l'espace. Nous verrons que la diffusion des molécules d'eau est influencée par la microstructure du tissu qui limite leur mobilité.

La diffusion moléculaire dépend du milieu dans lequel se déroule la diffusion, en particulier de la température T et de la viscosité η , et de la taille des molécules diffusant. Dans le cas de particules sphériques (de rayon a) dans un milieu homogène, la formule de Stokes exprime cette relation :

$$D = \frac{kT}{6\pi a\eta}$$

Dans l'eau, $D \sim 3.10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ à $T = 37^\circ\text{C}$ et $(\langle r^2 \rangle)^{1/2} \sim 17 \text{ }\mu\text{m}$ pour $t_{\text{diffusion}} = 50 \text{ ms}$ d'après

l'équation d'Einstein dans une direction de l'espace

Les mouvements moléculaires de diffusion peuvent s'observer macroscopiquement quand on verse une goutte de vin dans un verre d'eau. L'homogénéisation progressive de la couleur de l'eau est la traduction de la diffusion des molécules contenues dans la goutte de vin. Ce phénomène de diffusion, où le liquide diffusant a une concentration inhomogène, obéit à la loi de Fick qui décrit la densité de flux en fonction du coefficient de diffusion des molécules et de son gradient de concentration :

$$\mathbf{j}(\mathbf{r},t) = -D\Delta c(\mathbf{r},t)$$

où \mathbf{j} est le flux de particules, $c(\mathbf{r},t)$ est la concentration des espèces à la position \mathbf{r} et au temps t , D est le coefficient de diffusion. et Δ est ici l'opérateur Laplacien.

A l'équilibre (quand la couleur de l'eau est devenue rosée de façon homogène), la diffusion moléculaire n'est plus accessible macroscopiquement. Nous verrons dans la section suivante comment les spins des protons « marqués magnétiquement » permettent de mesurer *in vivo* la diffusion des molécules d'eau.

1.2.2 Mesure de la diffusion de l'eau par résonance magnétique

Un deuxième facteur, habituellement négligeable comparé à la relaxation T_2 , participe aux déphasages des spins, : la diffusion des spins. L'adjonction de gradients à une séquence d'écho de spin permet de sensibiliser cette séquence à la diffusion des molécules d'eau. L'effet de la diffusion moléculaire sur l'amplitude d'un écho de spin dans un gradient de champ statique a d'abord été observé par Hahn (Hahn, 1950), puis analysé par Carr et Purcell (Carr and Purcell, 1954). La démonstration d'une atténuation de l'aimantation en présence d'inhomogénéités de champ magnétique a conduit Stejskal et Tanner à développer la séquence PGSE (pulsed-gradient spin-echo) pour mesurer les coefficients de diffusion par RMN (Stekjskal and Tanner, 1965) (Figure 6).

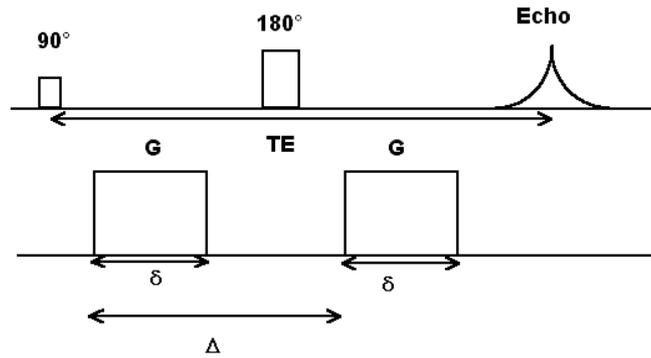


Figure 6 : Pondération en diffusion schématisée de la séquence 'Stejskal-Tanner'. G est l'amplitude des gradients, δ leur durée, Δ l'écart entre les deux.

Cette séquence d'écho de spin utilise deux gradients de champ magnétique d'amplitudes très supérieures aux hétérogénéités du champ magnétique B_0 , de part et d'autre de l'impulsion de 180° (gradient bipolaire). Après l'impulsion de 90° , un premier gradient de diffusion induit un déphasage important de l'aimantation transverse suivant un codage spatial en fréquence. Au temps $TE/2$, l'impulsion RF de 180° , commune à toutes les séquences d'écho de spin impulsion, inverse le mécanisme de déphasage des spins. L'application d'un deuxième gradient de diffusion, identique au premier, induit un déphasage des spins identique au le déphasage lié au premier gradient de diffusion (Figure 7).

Dans le cas d'un spin immobile, les deux impulsions de gradients de champ annulent leur effet et l'atténuation de signal observée lors du temps d'écho correspond alors à la relaxation T_2 .

Dans le cas d'un spin ayant diffusé, la position initiale du spins est changée. Les spins ne sont pas rephasés, conduisant à une atténuation supplémentaire de l'aimantation transverse s'ajoutant à celle observée suite à la relaxation T_2 . La diminution de signal observée est fonction à la fois de l'intensité des gradients employés, du temps de diffusion et du coefficient de diffusion D spécifique du tissu. Pour une séquence comportant un seul écho, la formule du signal pour un temps d'écho donné devient :

$$S = S_0 e^{-bD}$$

où S est le signal de diffusion, S_0 est le signal sans diffusion, et le facteur d'atténuation b est fonction du gradient de diffusion et du temps de diffusion.

La durée des gradients de diffusion de l'eau implique un allongement du temps d'écho et explique la pondération en T_2 des images de diffusion.

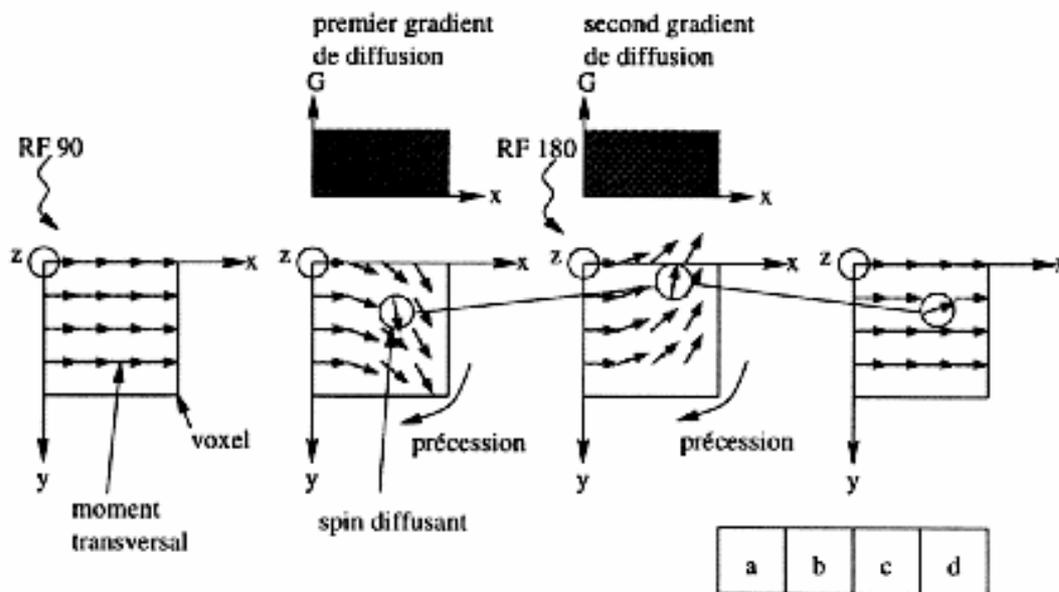


Figure 7 : Atténuation de l’aimantation transverse par déphasage des spins ayant diffusé. La diffusion du spin entouré est responsable d’un déphasage des spins qui se traduira par une atténuation de signal (Poupon, 1999).

L’acquisition d’une image T2 sans gradient de diffusion ou l’acquisition de plusieurs images de diffusion avec différentes valeurs de b permet d’obtenir des images de diffusion, indépendantes de la pondération T2 et de mesurer le coefficient de diffusion. Le calcul du coefficient de diffusion de l’eau est simple dans les milieux où la valeur de coefficient de diffusion est homogène, indépendante des gradients utilisés et du temps de diffusion. On obtient, avec l’application de 2 pondérations en diffusion différentes, le signal de l’image S1, $S1 = S_0 e^{-b1D}$, et le signal S2, $S2 = S_0 e^{-b2D}$. Le rapport S1/S2 devient e^{-b1D}/e^{-b2D} et par conséquent $\text{Log}(S1/S2)=D(b2-b1)$. Il est ainsi possible de calculer D qui est la pente de la droite correspondant à la courbe de $\ln(S1/S2)$ en fonction de b. En pratique, pour une meilleure précision du calcul, plusieurs images pondérées en diffusion doivent être acquises pour calculer D par régression linéaire. Ce calcul permet de s’affranchir des conditions expérimentales et permet potentiellement de comparer les résultats obtenus à des temps différents ou à partir d’imageurs différents. Le coefficient de diffusion est appelé “ coefficient apparent de diffusion ” ou ADC car d’autres mouvements moléculaires s’associent aux mouvements de diffusion (comme les mouvements liés aux transports actifs intracellulaires). Dans les tissus non-homogènes, comme les tissus biologiques, nous verrons que le coefficient de diffusion varie en fonction de b et du temps de diffusion ce qui rend difficile le calcul de D.

Il est remarquable que le signal mesuré par l'imagerie de diffusion provient de déplacements moléculaires de l'ordre de 20 μm , une dimension rarement accessible « in vivo » par des méthodes non-invasives. On comprend aisément pourquoi les séquences de diffusion sont si sensibles à toutes les formes de mouvements, comme les mouvements de la tête et les mouvements liés à la pulsativité cérébrale. Les séquences de spin-écho pondérées en diffusion sont souvent beaucoup trop artéfactées pour permettre une mesure fiable du coefficient de diffusion. La rapidité des séquences écho-planar apparaît comme un pré-requis quasi indispensable à toutes les études en diffusion. En pratique, à quelques exception près, toutes les applications en diffusion sont réalisées en écho-planar.

Bien évidemment, l'information concernant ces déplacements moléculaires microscopiques n'est pas présentée sur une image avec une résolution extrêmement forte, comme sur des images obtenues en microscopie électronique (Boesch, 2001). La résolution des voxels étant de l'ordre de quelques mm^3 , l'information obtenue ne résulte en fait que d'une moyenne statistique de ces mouvements microscopiques. Cette technique ouvre des perspectives nouvelles dans le domaine des sciences du vivant, permettant l'étude « in vivo » et de façon non invasive de la microstructure du tissu, normal ou pathologique.

1.2.3 Mesure de la diffusion de l'eau dans le tissu cérébral

Contrairement à la diffusion de l'eau dans un liquide où les molécules d'eau se déplacent de façon isotrope sans rencontrer d'obstacle physique, la mobilité des molécules d'eau dans les tissus biologiques est influencée par la microstructure des tissus. Les différents composants de la microstructure des tissus, comme les membranes cytoplasmiques, la myéline, le cytosquelette ou les organites cellulaires, constituent des obstacles physiques qui entravent la mobilité des molécules d'eau. Quelque soit la nature des tissus biologiques, l'interaction des molécules d'eau avec les composants tissulaires se traduit par une réduction des coefficients de diffusion de l'eau, comparée à ceux mesurés dans l'eau pure. Par exemple, dans le tissu cérébral, le coefficient de diffusion de l'eau est de 2 à 10 fois inférieur à celui mesuré dans l'eau pure. La structure des tissus biologiques est complexe, organisée en de multiples secteurs fonctionnellement distincts (extracellulaire, cytoplasme, noyaux, mitochondries....) et délimitée par des membranes plasmiques semi-perméables. L'interprétation de la réduction de la diffusion in vivo est donc complexe et les rôles

respectifs de différents facteurs comme la tortuosité du tissu, la compartimentation tissulaire en différents secteurs, le ratio des volumes de ces différents secteurs, la perméabilité membranaire, restent à clarifier. L'existence de différences structurelles entre les compartiments tissulaires pourrait être à l'origine d'une hétérogénéité du coefficient de diffusion de l'eau en fonction de la structure des compartiments (en fonction de la viscosité, de densité de membranes ou macromolécules dans chaque compartiment). Certains auteurs ont ainsi mesuré deux coefficients de diffusion dans le tissu cérébral : un lent (pour une fraction tissulaire de 20%) et un rapide (pour une fraction tissulaire de 80%) (Clark and Le Bihan, 2000).

Nous allons dans ce chapitre décrire l'influence des paramètres d'acquisition et des paramètres tissulaires sur les valeurs du coefficient de diffusion. Nous verrons dans un premier temps, que la valeur du coefficient de diffusion varie en fonction du temps de diffusion et des valeurs de b et que l'interprétation des données de diffusion est fonction des paramètres d'acquisitions. Dans un deuxième temps, nous étudierons comment la tortuosité et le volume extracellulaire influencent la diffusion dans le secteur extracellulaire (techniques de iontophorèse) et dans des modèles pathologiques, comme l'infarctus cérébral. Ces données expérimentales suggèrent que la diffusion de l'eau est très sensible aux modifications du volume des cellules.

1.2.3.1 Influence du temps de diffusion :

Afin d'étudier la réduction de la diffusion observée dans les tissus biologiques, il est possible d'étudier des degrés d'interactions variables entre les molécules d'eau et les composants tissulaires, en faisant varier le temps de diffusion. En effet, en réduisant les temps de diffusion à des temps infiniment courts, on réduit la probabilité de rencontre des molécules d'eau avec les différents composants tissulaires. Cependant, les petites dimensions des compartiments tissulaires rendent ces études techniquement difficiles et nécessitent l'utilisation de temps de diffusion très courts pour s'affranchir le plus possible des interactions des molécules avec la microstructure. Malgré ces difficultés techniques, différents travaux suggèrent l'existence d'une réduction du coefficient de diffusion de l'eau avec la diminution du temps de diffusion. Ce phénomène a été observé dans les tissus végétaux, où les membranes cellulaires sont imperméables aux molécules d'eau, dans le tissu cérébral chez

l'animal en mesurant soit la diffusion de métabolites purement intracellulaires soit la diffusion de l'eau à des temps très court (Figure 8) (Le Bihan et al., 1993; Norris et al., 1994b).

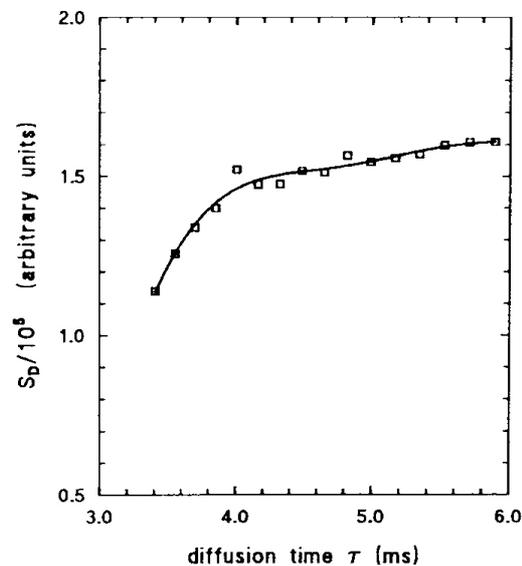


Figure 8 : Variation de l'atténuation du l'intensité signal en fonction du temps de diffusion (valeur de b constante de 210 s/mm²) dans le tissu cérébral du rat (région d'intérêt placée dans le striatum) (Norris et al., 1994b)

D'autres études sur des nerfs excisés de grenouille confirment que la réduction du temps de diffusion de 28 à 2 ms s'accompagne d'une augmentation du coefficient de diffusion de l'eau (Beaulieu and Allen, 1996). Cependant chez l'homme, aucune variation du coefficient de diffusion de l'eau n'a été observée pour des durées de diffusion allant de 8-80ms (Clark et al., 2001; Le Bihan et al., 1993). Malgré les temps de diffusion courts, les distances parcourues par les molécules d'eau restent importantes, au minimum de l'ordre de 10 μm , comparées par exemple aux dimensions de l'espace extracellulaire, inférieure à 1 μm . Des temps de diffusion plus courts, inférieurs à la millisecondes pourraient être nécessaires pour observer une diminution du coefficient de diffusion en fonction du temps de diffusion. L'existence dans de nombreuses pathologies d'une augmentation de l'espace extracellulaire pourrait permettre plus aisément de détecter une variation de la diffusion en fonction des temps de diffusion (Clark et al., 2001).

Au total, malgré l'existence de données contradictoires, il apparaît dans la majorité des travaux que le coefficient de diffusion de l'eau dans les tissus biologiques varie en fonction des temps de diffusion. Ces travaux expérimentaux ont conduit aux concepts de diffusion restreinte et de diffusion entravée (Figure 9) (Norris et al., 1994b). Pendant la

période de diffusion, les molécules vont rencontrer les barrières comme les membranes cellulaires, les macromolécules et les organites cellulaires. On parle de diffusion restreinte lorsque les barrières rencontrées sont totalement imperméables aux molécules et que ces molécules peuvent rebondir sur ces frontières. On parle de diffusion entravée, et non complètement restreinte, lorsque les barrières, comme c'est le cas des membranes cellulaires, sont semi-perméables. Pour des temps suffisamment courts, la diffusion de l'eau se rapproche de la diffusion dans un milieu homogène sans obstacle physique.

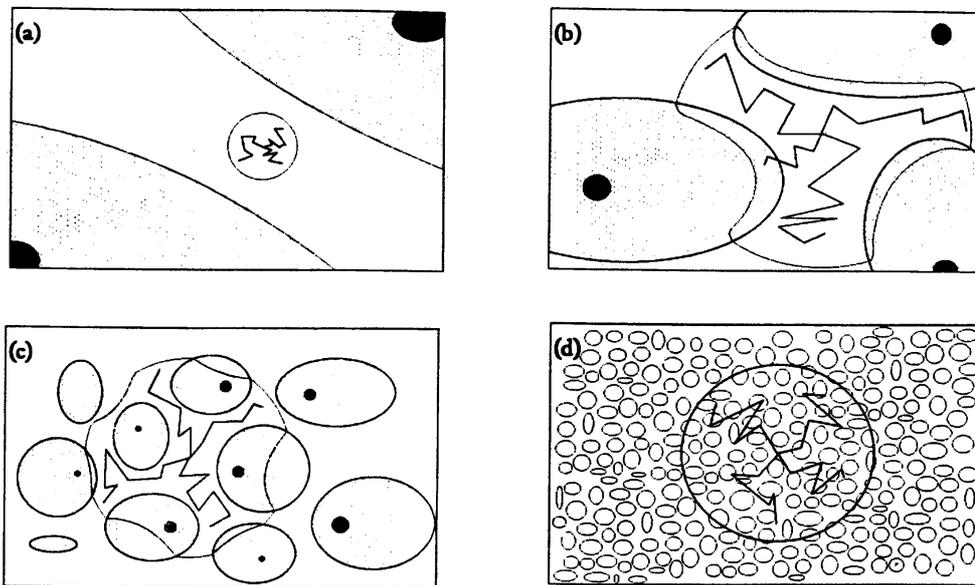


Figure 9 : Modèle de la restriction apparente de la diffusion. Diagramme schématique du parcours lié à la diffusion des molécules d'eau en fonction du temps. (a) La diffusion est isotrope pour des temps de diffusion extrêmement courts et les molécules d'eau n'ont pas le temps d'interagir avec les cellules et les composants tissulaires. La diffusion est non-restreinte et s'apparente à la diffusion dans l'eau libre (b) Pour des temps de diffusion plus long, les molécules d'eau diffusent préférentiellement le long des cellules (diffusion restreinte), à l'origine d'une anisotropie de la diffusion. (c) Plus les temps de diffusion s'allongent, plus le niveau d'anisotropie de la diffusion se réduit jusqu'en (d) où la diffusion est isotrope (Norris et al., 1994b).

1.2.3.2 influence des valeurs de b :

Dans les séquences pondérées en diffusion, l'atténuation du signal mesuré dans un milieu uniforme suit une mono-exponentielle fonction de b, avec $S = S_0 e^{-bD}$. Dans ce cas, il existe une relation linéaire entre le logarithme du signal et b, dont la pente représente le coefficient de diffusion D. Dans le tissu cérébral, différentes études ont montré une non-linéarité du logarithme du signal en fonction des facteurs b et des modèles plus complexes (avec une bi voire une tri-exponentielle) sont nécessaires pour modéliser l'atténuation du signal (Figure10) (Assaf and Cohen, 1998b; Clark et al., 2002; Clark and Le Bihan, 2000; Mulkern et al., 1999; Niendorf et al., 1996; Norris et al., 1994a). L'hypothèse d'une atténuation bi-exponentielle du signal a d'abord été proposée, suggérant l'existence de deux composantes indépendantes à l'origine de l'atténuation du signal (Clark and Le Bihan, 2000). Dans le cadre de ce modèle, il était alors séduisant d'attribuer ces deux composantes à la compartimentation tissulaire et notamment aux secteurs intra et extracellulaires. Cependant, certains auteurs suggèrent que ce modèle à deux compartiments est encore insuffisant et que des modèles plus complexes sont nécessaires (Stanisz et al., 1997). De plus, les fractions volumiques des deux composantes de diffusion ne correspondent pas aux fractions volumiques des secteurs intra et extracellulaires.

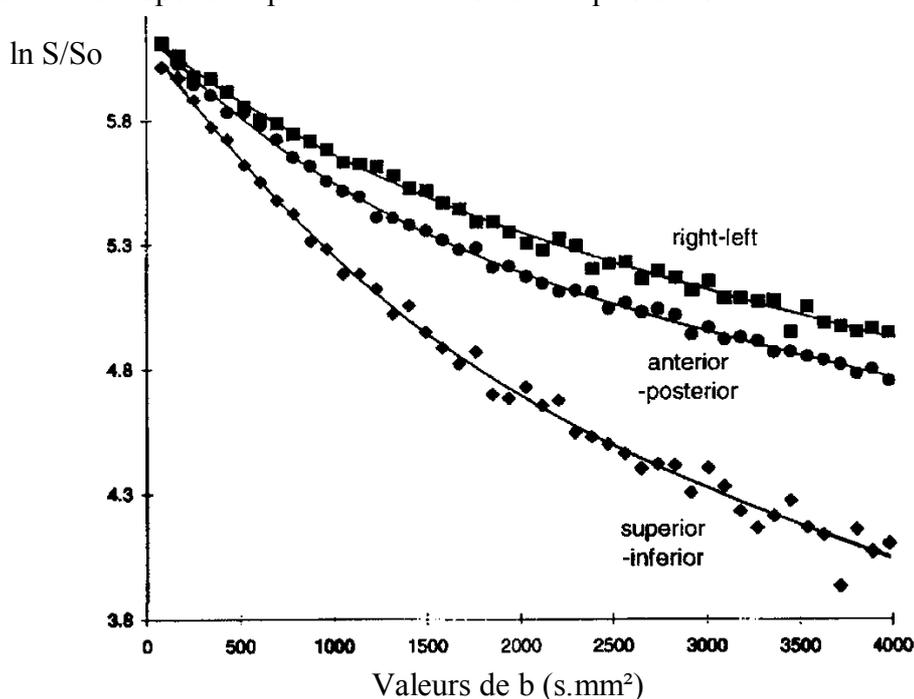


Figure 10 : Courbe représentant la non-linéarité de la relation entre le $\ln(S/S_0)$ et b. Une bi-exponentielle est ici nécessaire pour modéliser l'atténuation du signal en fonction de b (Clark and Le Bihan, 2000).

Les contributions suspectées de la compartimentation tissulaire et de la restriction de la diffusion restent à déterminer pour expliquer les variations des valeurs de D en fonction de b . Afin d'étudier le rôle de la compartimentation tissulaire, de récents travaux, utilisant la méthode du q -space avec des hautes valeurs de b dans le tissu cérébral de rat, ont comparé les profils de déplacement moléculaire de l'eau et du N-acétyl-aspartate (NAA), une molécule exclusivement intracellulaire (Assaf and Cohen, 1998a; Assaf and Cohen, 1998b). L'influence du temps de diffusion sur les profils de diffusion de ces deux molécules est très différente : Pour les molécules d'eau, le déplacement des molécules augmente avec le temps de diffusion. Pour le NAA, la diffusion du NAA apparaît indépendante des temps de diffusion utilisés. Ce profil de diffusion est en rapport avec la restriction de la diffusion du NAA et les auteurs suggèrent que la restriction de la diffusion du NAA témoigne de la compartimentation intracellulaire de la molécule. Cette étude suggère qu'une information structurelle sur le compartiment intracellulaire peut être obtenue à partir de la diffusion des métabolites. Une étude récente montre que la valeur de la diffusion moyenne de la composante lente de diffusion est plus faible dans la substance blanche comparée à la substance grise et que l'orientation principale de la diffusion de la composante lente est superposable à celle de la composante rapide, suggérant l'intérêt de l'étude de la composante lente dans la pathologie de la substance blanche et dans le traçage des fibres (Clark et al., 2002).

Ces difficultés à modéliser parfaitement le signal de diffusion n'influencent pas la majorité des résultats obtenus en clinique avec des valeurs de b faibles inférieures à 1000 et des temps de diffusion relativement long (autour de 30ms). En effet, dans ces conditions, la composante rapide d'atténuation du signal prédomine et l'atténuation du signal peut être modélisée correctement par une mono-exponentielle, fonction de b et d'un coefficient de diffusion D . Il est important de garder en mémoire que le choix de b influence la valeur du coefficient de diffusion (Figure 11) (Clark et al., 2002).

Au total, la détection, avec des hautes valeurs de b , d'au moins deux composantes de diffusion dans le tissu cérébral pose de nombreuses questions concernant l'origine de ces composantes et l'importance de la pertinence des informations procurée par ces composantes sur la microstructure des tissus. Potentiellement, les différentes composantes de diffusion représenteraient différents compartiments cellulaires et l'analyse séparée de ces différentes composantes permettrait d'obtenir des informations plus spécifiques sur la microstructure des tissus. Certains récents travaux suggèrent l'intérêt de l'analyse de la composante lente de la diffusion dans la détection de la pathologie de la substance blanche.

L'interprétation des valeurs de diffusion doit tenir compte du choix des valeurs de b .

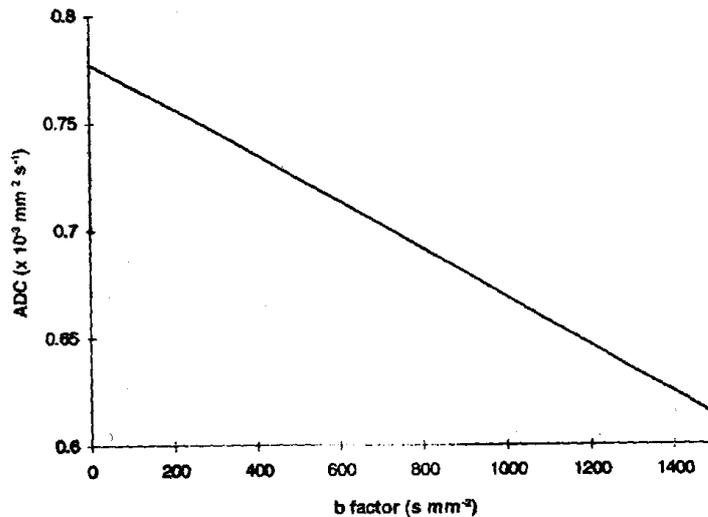


Figure 11 : Estimation de l'ADC à partir de 2 valeurs de b . La valeur de l'ADC diminue de façon linéaire avec l'augmentation des valeurs du b maximum (Clark and Le Bihan, 2000).

1.2.3.3 Influence du facteur de tortuosité et du volume extracellulaire :

Le modèle de restriction apparente de la diffusion suggère que la diffusion des molécules d'eau est contrainte dans les tissus biologiques. Deux facteurs semblent jouer un rôle prépondérant : le volume de diffusion (notamment les fractions du volume extracellulaire, α_E , et du volume intracellulaire, α_i) et le facteur tortuosité du tissu λ . Dans ce chapitre, nous allons étudier l'influence de ces deux paramètres sur les valeurs de la diffusion dans le tissu cérébral.

La mesure de ces paramètres n'est pas facile « in vivo ». Différentes techniques, comme les techniques d'iontophorèse, permettent cependant d'étudier l'influence de la géométrie de l'espace extracellulaire sur la diffusion des molécules d'eau. L'iontophorèse au TMA^+ (tetraméthylammonium) permet de mesurer en temps réel des caractéristiques de la diffusion des ions TMA^+ dans l'espace extracellulaire, dans des extraits de tissus ou sur des animaux anesthésiés. A un endroit précis du tissu cérébral, des ions TMA^+ sont libérés d'une pipette par iontophorèse et la concentration est mesurée à une distance connue par des électrodes spécifiques au TMA^+ . Les ions TMA^+ diffusent uniquement dans l'espace extracellulaire et le facteur de tortuosité mesuré par cette méthode ne reflète que la géométrie du secteur extracellulaire. La confrontation des mesures de diffusion par iontophorèse et par résonance

magnétique a permis de mieux comprendre les résultats d'imagerie de diffusion.

Fraction du volume extracellulaire α_E : Les mesures de l'espace extracellulaire obtenues par iontophorèse sont concordantes avec les mesures obtenues avec d'autres méthodes et évaluent le volume extracellulaire à 20% du volume total du cerveau. Il est intéressant de noter que la fraction du volume extracellulaire α_E varie au cours du développement ($\alpha_E = 10\%$ dans le cortex de rat immature) et qu' α_E est variable en fonction des régions cérébrales. Par exemple, α_E augmente graduellement des couches corticales II à VI, passant de 0.19 à 0.23 et varie considérablement dans les différentes régions de l'hippocampe, de 0.12 dans CA1 à 0.19 dans CA3 et dans le gyrus denté (Sykova, 1997). Des différences structurelles complexes comme la taille des canaux intercellulaires pourraient être à l'origine des variations régionales de α_E .

Le facteur de tortuosité est un facteur sans dimension qui décrit comment les obstacles physiques (organites intracellulaires, glycoprotéines, macromolécules, membranes cellulaires, etc.) dans un tissu réduisent le coefficient de diffusion par rapport à la valeur de la diffusion mesurée en l'absence de barrière. Ce facteur de tortuosité est particulièrement pertinent pour la compréhension de la diffusion des neurotransmetteurs et des communications intercellulaires non-synaptiques, notamment des communications entre les cellules gliales et les cellules neuronales. On représente cet effet par la variable λ ($\lambda > 1$) définie par :

$$\lambda^2 = \frac{D_{\text{libre}}}{D_{\text{tissu}}}$$

Le facteur de tortuosité dans le secteur extracellulaire du cortex cérébral est autour de 1.6, ce qui reflète bien une réduction de diffusion dans les tissus biologiques comparées à la diffusion dans l'eau pure (Sykova, 1997). L'étude du facteur de tortuosité dans des situations pathologiques montre une diminution dans l'ischémie ($\lambda = 2.25$) et une augmentation dans les oedèmes ($\lambda = 1.25$) (Sykova, 1997). L'étude des facteurs du facteur de tortuosité montre que la diffusion dans l'espace extracellulaire du tissu cérébral est anisotrope. L'anisotropie de la diffusion a d'abord été montré avec cette méthode dans la couche moléculaire du cervelet puis dans la substance blanche cérébrale. Ces données sont en accord avec les données obtenues in vivo montrant une réduction de la diffusion de l'eau dans l'infarctus cérébral, une augmentation de la diffusion de l'eau dans l'œdème cérébrale et une diffusion anisotrope dans la substance blanche.

Influence des variations de α_E et λ sur la diffusion, exemple de la maturation cérébrale:

L'étude de la maturation cérébrale a permis d'étudier l'influence à la fois des variations de α_E et de la myélinisation sur la diffusion du TMA (Vorisek and Sykova, 1997). La réduction de α_E débute dans les phases précoces du développement cérébral avant le début de la myélinisation et n'influence pas le facteur de tortuosité. Avant le début de la myélinisation, l'anisotropie de la diffusion du TMA est nulle. L'anisotropie de la diffusion du TMA apparaît de façon progressive parallèlement à la myélinisation des fibres, en rapport avec une augmentation du facteur de tortuosité perpendiculairement aux fibres, sans modification du facteur de tortuosité parallèle aux fibres.

Ces études suggèrent l'importance de la myéline dans l'apparition de l'anisotropie de la diffusion dans le secteur extracellulaire et le faible impact des variations de α_E sur l'anisotropie de la diffusion. Cependant la diffusion de l'eau diffère considérablement de celle du TMA en raison de la perméabilité des membranes cellulaires aux protons, du poids moléculaire et des propriétés physico-chimiques différentes de l'eau. Ces différences pourraient expliquer pourquoi l'anisotropie de la diffusion de l'eau, à l'inverse de celle du TMA, est détectée en présence de fibres axonales non myélinisées (Beaulieu and Allen, 1994c).

1.2.3.4 Apports des modèles pathologiques :

Une des principales applications cliniques de l'imagerie de diffusion est en rapport avec la sensibilité de cette technique aux variations des volumes extracellulaires et intracellulaires. Différents modèles expérimentaux de gonflement cellulaire au cours d'œdème cytotoxique concordent pour démontrer la sensibilité du coefficient de diffusion aux variations de α_E et α_i . Nous ne discuterons ici que les modèles expérimentaux d'ischémie cérébrale, mais d'autres modèles d'œdème cytotoxique (état de mal épileptique par injection d'acide kaïnique, spreading depression, manipulation osmotique du volume extracellulaire) apportent des éléments convergents.

Modèles expérimentaux d'ischémie cérébrale :

L'application clinique la plus importante de la diffusion est liée à la découverte en 1990 de la chute précoce du coefficient de diffusion à la phase aigue de l'ischémie cérébrale par occlusion sylvienne chez le rat (Moseley et al., 1990b). L'ischémie expérimentale, par occlusion de l'artère sylvienne, entraîne une réduction brutale du débit sanguin cérébral et des apports en oxygène et en nutriments qui conduit un blocage rapide de la chaîne respiratoire et de la synthèse d'ATP. Les modifications tissulaires en rapport avec l'ischémie sont bien connues. A la phase aigue de l'ischémie, suite à une défaillance des systèmes énergétiques cellulaires, il apparaît un dysfonctionnement des pompes ioniques transmembranaires Na⁺/K⁺ et de nombreuses enzymes cellulaires conduisant à un afflux intracellulaire massif de sodium et de calcium qui dépolarise les cellules. Cet afflux ionique entraîne par des phénomènes osmotiques un gonflement des cellules, *œdème cytotoxique*, et une libération massive de neurotransmetteurs dans l'espace extracellulaire qui vont entraîner des phénomènes d'excito-toxicité. Le volume de l'espace extracellulaire, obtenu par des mesures d'impédance corticale chez le chat, passe de 19,8% à 14,6% cinq minutes après le début de l'ischémie dans le cas étudié par Schuier (Schuier and Hossman, 1980). En cas d'ischémie prolongée, les cellules vont se dégrader, les membranes cellulaires vont se rompre et un œdème vasogénique réactionnel va succéder à la baisse du débit sanguin local. Progressivement, la fraction du volume extracellulaire va augmenter, revenir à la normale puis prendre des valeurs élevées suite à la perte cellulaire et à l'œdème vasogénique.

Dès la première heure suivant l'ischémie, une réduction du coefficient de diffusion est observée, allant de -30 à -60 % de sa valeur initiale, coïncidant avec la phase d'œdème cytotoxique et la réduction du volume extracellulaire (Figure 12) (Norris, 2001). Il est particulièrement intéressant de noter que durant ces premières heures, les modifications de la relaxation T2 sont faibles voire nulles et que seule la réduction de la valeur de diffusion permet de détecter la zone tissulaire en souffrance ischémique aigue.

Dans la transition de la phase aigue à la phase subaigue ou chronique, des modifications importantes des valeurs de diffusion sont observées. Après la réduction brutale du coefficient de diffusion, il augmente progressivement, retourne à la normale après quelques jours avant d'augmenter ensuite vers des valeurs élevées anormales. Cette augmentation progressive du coefficient de diffusion coïncide bien avec le développement de

l'œdème vasogénique et avec ensuite la perte tissulaire. Cette augmentation de la diffusion est corrélée avec l'augmentation locale de la densité de protons, mesuré par des séquences en densité de protons et avec l'augmentation du temps de relaxation T2.

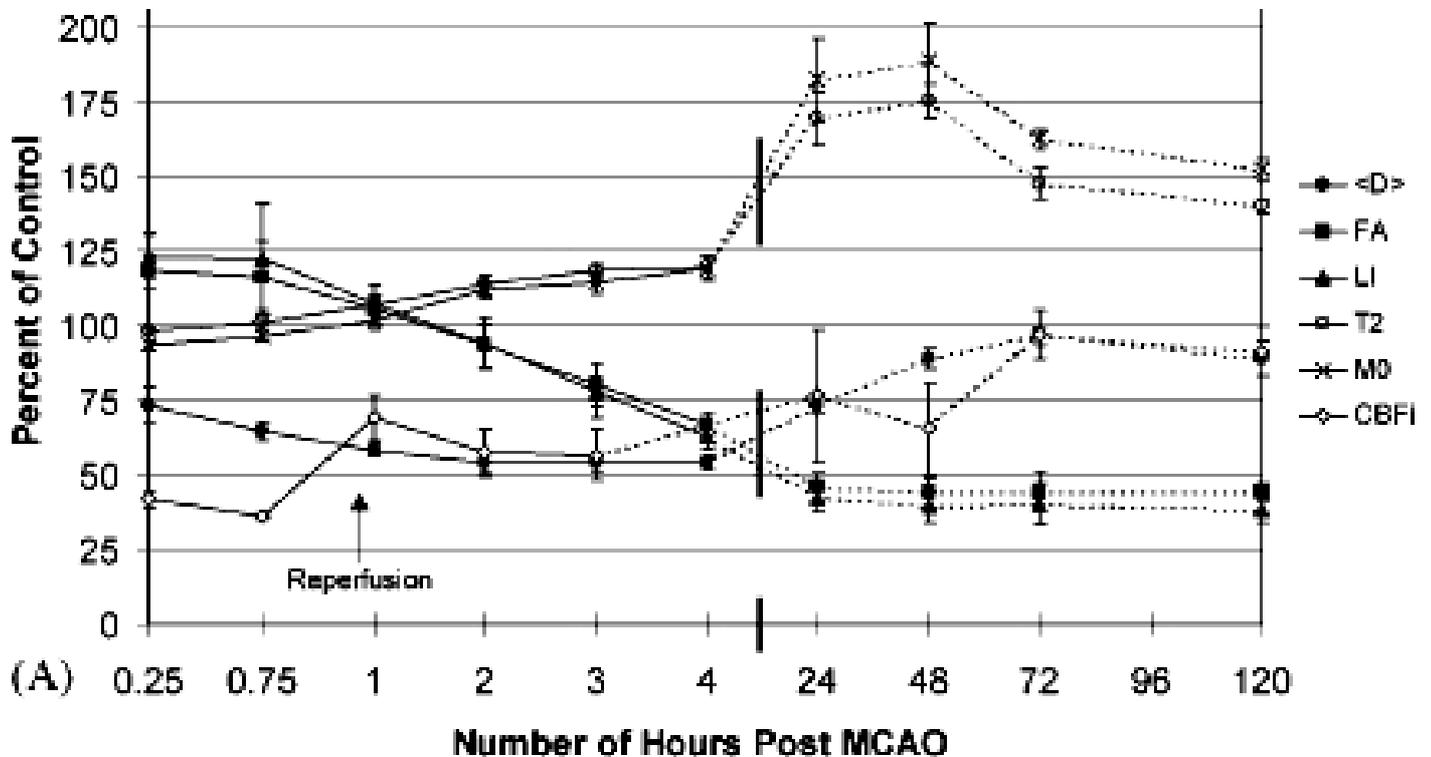


Figure 12 : Evolution au cours du temps de la diffusion moyenne et de la relaxation transverse après une ischémie aigüe par occlusion sylvienne (Norris, 2001). On notera en particulier la baisse précoce de la diffusion moyenne parallèlement au débit sanguin cérébral alors que les autres paramètres restent normaux à la phase précoce. <D> : diffusion moyenne, FA et LI : index d'anisotropie de diffusion, CBF : débit sanguin cérébral, M0 : métabolisme oxydatif

Au total, dans l'ischémie expérimentale, l'évolution temporelle du coefficient de diffusion semble étroitement liée aux variations de volume des secteurs extra et intracellulaires. La réduction très précoce du coefficient de diffusion suggère la sensibilité de la diffusion de l'eau aux modifications du volume cellulaire. Les mécanismes à l'origine de cette réduction du coefficient de diffusion dans l'ischémie restent cependant à clarifier. L'augmentation de la tortuosité de l'espace extracellulaire et le gonflement cellulaire sont les hypothèses les plus probables pour expliquer la réduction du coefficient de diffusion à la phase aigüe de l'ischémie. Mais d'autres mécanismes comme la baisse de la température (diminution de la température de 1 à 2°), des modifications de la perméabilité membranaire, des modifications des flux intracellulaires, une réduction de la perfusion avec une augmentation de la déoxyhémoglobine (modifiant les champs magnétiques locaux) peuvent

influencer les valeurs de diffusion et compliquent l'interprétation des modifications de la diffusion dans l'ischémie aigue.

1.2.3.5 Diffusion fonctionnelle :

Différents travaux ont montré récemment qu'il existe des modifications de la diffusion de l'eau durant les activations cérébrales (Darquie et al., 2001; Song et al., 2002a; Song et al., 2002b). Plus précisément, une réduction du coefficient de diffusion de l'eau a été observée dans le cortex strié lors de stimulations visuelles (Darquie et al., 2001). Cette réduction de la diffusion est de faible ampleur, autour de 1% et pourrait être en rapport avec un gonflement des cellules dans le cortex visuel primaire (Darquie et al., 2001). La sensibilité de la diffusion aux modifications physiologiques du volume des cellules nerveuses pourrait ainsi permettre l'étude fonctionnelle du cortex avec une meilleure résolution spatiale que l'imagerie BOLD dont l'origine du signal est vasculaire (Song et al., 2002a; Song et al., 2002b).

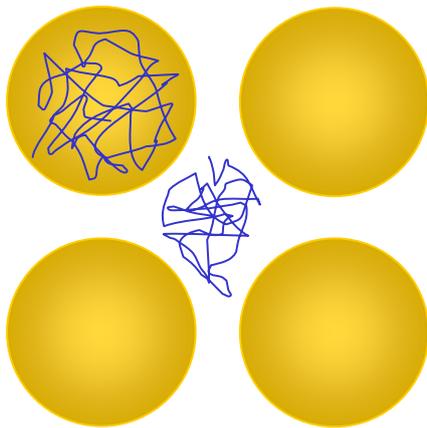
1.3 Imagerie du tenseur de diffusion :

L'imagerie de diffusion, décrite au chapitre précédent, est une technique unidimensionnelle, qui est fonction de l'axe du gradient de diffusion appliqué. Cette technique permet de caractériser la diffusion de l'eau dans la substance grise, où la diffusion de l'eau peut être considérée comme isotrope. Nous allons voir dans ce chapitre que la diffusion des molécules d'eau varient en fonction de la direction des gradients appliqués, en rapport avec une anisotropie de la diffusion. La diffusion de l'eau dans le tissu cérébral doit être considérée comme un processus tridimensionnel.

1.3.1 Anisotropie de la diffusion

L'anisotropie de la diffusion dans un tissu biologique a d'abord été décrit dès les années soixante dix dans le tissu musculaire du rat avec l'observation que la diffusion de l'eau était plus importante le long des fibres musculaires que perpendiculairement aux fibres (Beaulieu, 2002). Dès ces premiers travaux, il est suggéré que la diffusion de l'eau puisse être anisotrope dans le tissu cérébral (Beaulieu, 2002).

Isotropie de la diffusion



Anisotropie de la diffusion

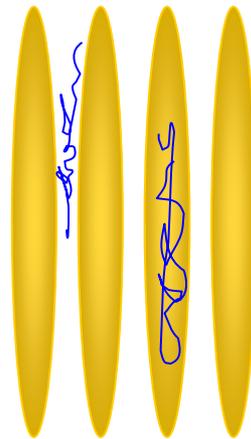


Figure 13 : Illustration de l'influence de l'organisation des tissus sur la diffusion. A gauche, la structure du tissu n'est pas orientée et la diffusion est isotrope (comme dans la substance grise). A droite, la structure est clairement orientée et les molécules d'eau ont une mobilité préférentielle dans le grand axe de la structure, la diffusion est dite anisotrope (comme dans la substance blanche).

La première étude systématique a été réalisée par Moseley en 1990 qui a confirmé que la diffusion de l'eau est anisotrope dans la substance blanche cérébrale et la moëlle épinière du chat alors que la diffusion de l'eau mesurée dans la substance grise apparaît isotrope (Figure 13). L'anisotropie de la diffusion a été observée dans de nombreux tissus comme par exemple dans le nerf sciatique, le nerf optique, le corps calleux. Le degré d'anisotropie dans différents types de fibres nerveuses, représenté par le ratio de diffusion parallèle sur la diffusion perpendiculaire aux fibres, est de l'ordre de 2 à 4, en dépit des différents tissus étudiés. Une anisotropie de la diffusion est aussi observée dans d'autres structures comme dans le rein et le muscle cardiaque. Bien que l'arrangement des fibres myélinisées des nerfs et de la substance blanche participe au caractère anisotrope de la diffusion, l'origine précise de l'anisotropie reste encore à clarifier. Par exemple, différents travaux ont montré que l'anisotropie de la diffusion n'est pas spécifique à la substance blanche et qu'elle est aussi détectable dans le cortex des nouveau nés prématurés et chez l'adulte en utilisant la composante lente de la diffusion.

1.3.1.1 Anisotropie de la diffusion dans la substance blanche

Parmi les différents composants des fibres nerveuses, la myéline, la membrane axonale et les neurofilaments sont tous des composants orientés dans l'axe des fibres et pouvant être à l'origine de l'anisotropie. Le transport axonal, phénomène cellulaire actif, a aussi une orientation similaire. La contribution de ces différents composants a été largement étudiée par Beaulieu et al (Beaulieu and Allen, 1994a; Beaulieu and Allen, 1994b; Beaulieu and Allen, 1994c; Beaulieu and Allen, 1996).

Rôle de la myéline : La présence d'une anisotropie de la diffusion dans le nerf olfactif du « garfish », qui est un nerf non-myélinisé, démontre que d'autres constituants que la myéline peuvent contribuer à l'anisotropie de la diffusion (Beaulieu and Allen, 1994a). Le ratio de diffusion parallèle sur la diffusion perpendiculaire aux fibres est dans ce nerf non-myélinisé de 3.6 et donc du même ordre de grandeur que le ratio obtenu pour les nerfs myélinisés. Des études au cours de la maturation cérébrale dans des modèles animaux et chez l'homme ont démontré par la suite que l'anisotropie de la diffusion apparaît avant la myélinisation des faisceaux de fibres, renforçant l'idée que l'arrangement d'axones non-myélinisés est une condition suffisante pour l'apparition de l'anisotropie. L'étude de souris déficientes en myéline par Gulani montre que l'anisotropie, bien que présente chez les souris

mutantes, est inférieure à celle de souris contrôles (ratio d'anisotropie de 4.5 et 3.5 respectivement pour les souris contrôles et mutantes) (Gulani et al., 2001). La diminution d'anisotropie chez ces souris mutantes est liée à une augmentation de la diffusion mesurée dans la direction perpendiculaire aux fibres de 75% pour une augmentation de 35% dans la direction parallèle aux fibres.

Cytosquelettes et transport axonal : La vinblastine, agent pharmacologique utilisé comme anticancéreux qui dépolymérise les filaments du cytosquelette et qui inhibe le transport axonal, a été utilisée dans différents nerfs excisés (Beaulieu and Allen, 1994a). L'anisotropie de la diffusion persiste après le traitement par vinblastine, suggérant que ni le cytosquelette, ni le transport axonal ne sont nécessaires à l'apparition de l'anisotropie.

Membranes cytoplasmiques : L'étude de l'axone géant de calamar (~ 200 à 1000 μm) permet l'étude la diffusion intra-cytoplasmique avec un minimum d'interférence avec les membranes cytoplasmiques pour des temps de diffusion ~ 30 ms (correspondant à un trajet moyen des molécules d'eau de 11 μm) (Beaulieu and Allen, 1994c). Le ratio d'anisotropie de diffusion parallèle sur la diffusion perpendiculaire est autour de 1.2, suggérant le rôle des membranes cytoplasmiques. A noter que la diffusion intracytoplasmique mesurée dans cette est rapide, équivalente à 80% de celle observée dans l'eau pure.

1.3.1.2 Anisotropie de la diffusion dans la substance grise

Les premiers travaux sur la diffusion en imagerie du tenseur de diffusion ont rapporté une anisotropie de la diffusion nulle dans le cortex, qui suggérait l'absence d'orientation prédominante de la diffusion dans le cortex cérébral {Pierpaoli, 1996 #455; Pierpaoli, 1996 #454}. Un travail récent su qu'une anisotropie est détectable dans le cortex des enfants nés prématurément (Figure 14 A) (McKinstry et al., 2002). Cette anisotropie de la diffusion apparaît de façon transitoire durant le développement cérébral et décroît progressivement à partir de 26 semaine de grossesse pour disparaître à la naissance. L'anisotropie de diffusion dans le cortex cérébral immature est associée à une orientation radiale du vecteur principal à travers la plaque corticale, potentiellement en rapport avec l'orientation de la glie radiale et dendrites des neurones pyramidales (Figure 14 B). Au cours de la maturation corticale et du développement des connexions, intracorticales (tangentiellles) et des connexions thalamo-corticales, l'anisotropie de la diffusion disparaît (Figure 14 C). Très récemment, une étude en

tenseur de diffusion multidirectionnel à 9.7 teslas a montré dans le cortex visuel du chat que l'anisotropie de la diffusion de la composante lente était plus importante que l'anisotropie de la composante rapide de diffusion dans la substance blanche mais aussi dans la substance grise (Ronen et al., 2003). Cette étude suggère l'existence d'une anisotropie de diffusion de la composante lente dans le cortex cérébral en rapport avec une orientation radiale des fibres par rapport à la surface du cortex. La persistance d'une anisotropie de la diffusion pourrait permettre la poursuite du traçage des fibres au niveau du cortex et ainsi de faire le lien direct avec les activations obtenues en IRMf (Figure 15). Ce travail suggère que l'organisation radiale présente au cours des phases précoces du développement persiste chez l'adulte, en accord avec l'organisation fonctionnelle en colonne radiale du cortex cérébral démontrée dans les études anatomiques et électrophysiologiques (Figure 14 D) (Mountcastle, 1997).

Au total, l'anisotropie de la diffusion est présente dans de nombreux tissus dont l'organisation est orientée mais apparaît particulièrement importante dans la substance blanche du tissu nerveux. L'organisation des membranes cellulaires axonales est probablement à l'origine de l'anisotropie et l'importance de l'anisotropie pourrait être modulée par la présence ou non de myéline. L'origine de la variabilité de l'anisotropie dans les différents faisceaux cérébraux n'est pas connu (rôle de la densité des fibres ?, de la quantité de myéline ?)

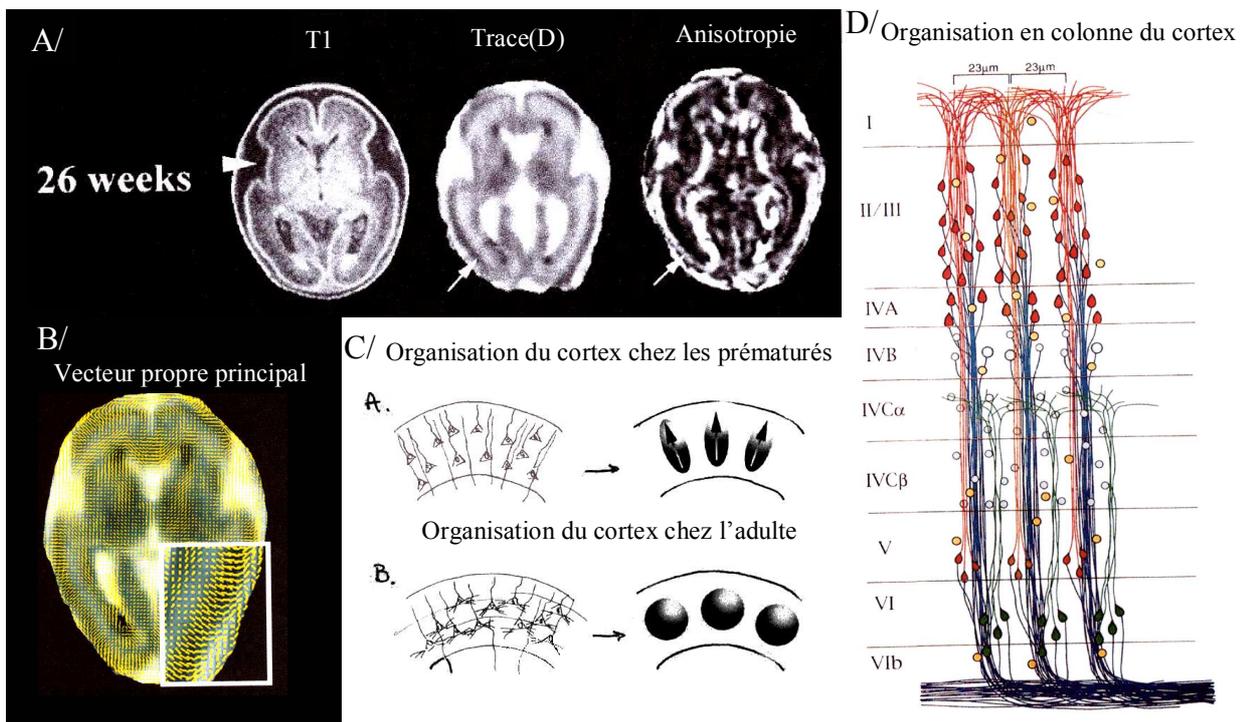


Figure 14 : A/ Présence d'une anisotropie dans le cortex cérébral des enfants nés prématurément (26^{ème} semaine de grossesse) (McKinstry et al., 2002). B/ La représentation bidimensionnelle du vecteur propre principal montre orientation radiale préférentielle de la diffusion (McKinstry et al., 2002). C/ Diagramme décrivant pour les hypothèses sur l'origine de l'anisotropie transitoire au cours du développement cortical. Dans les phases précoces, l'orientation de la glie radiale et des dendrites des cellules pyramidales serait à l'origine de l'orientation radiale préférentielle de la diffusion. Au cours de la maturation, la complexité de l'organisation corticale avec l'augmentation des connexions intracorticales tangentiels et les connexions thalamocorticales serait à l'origine de la perte d'anisotropie (McKinstry et al., 2002). D/ Diagramme de l'organisation des neurones, axones, et dendrites dans un module vertical du cortex strié d'un macaque adulte suggérant qu'il existe encore dans le cortex chez l'adulte une organisation radiale prédominante (cellules pyramidales et leurs dendrites en rouge, leurs axones en bleu) (Mountcastle, 1997).

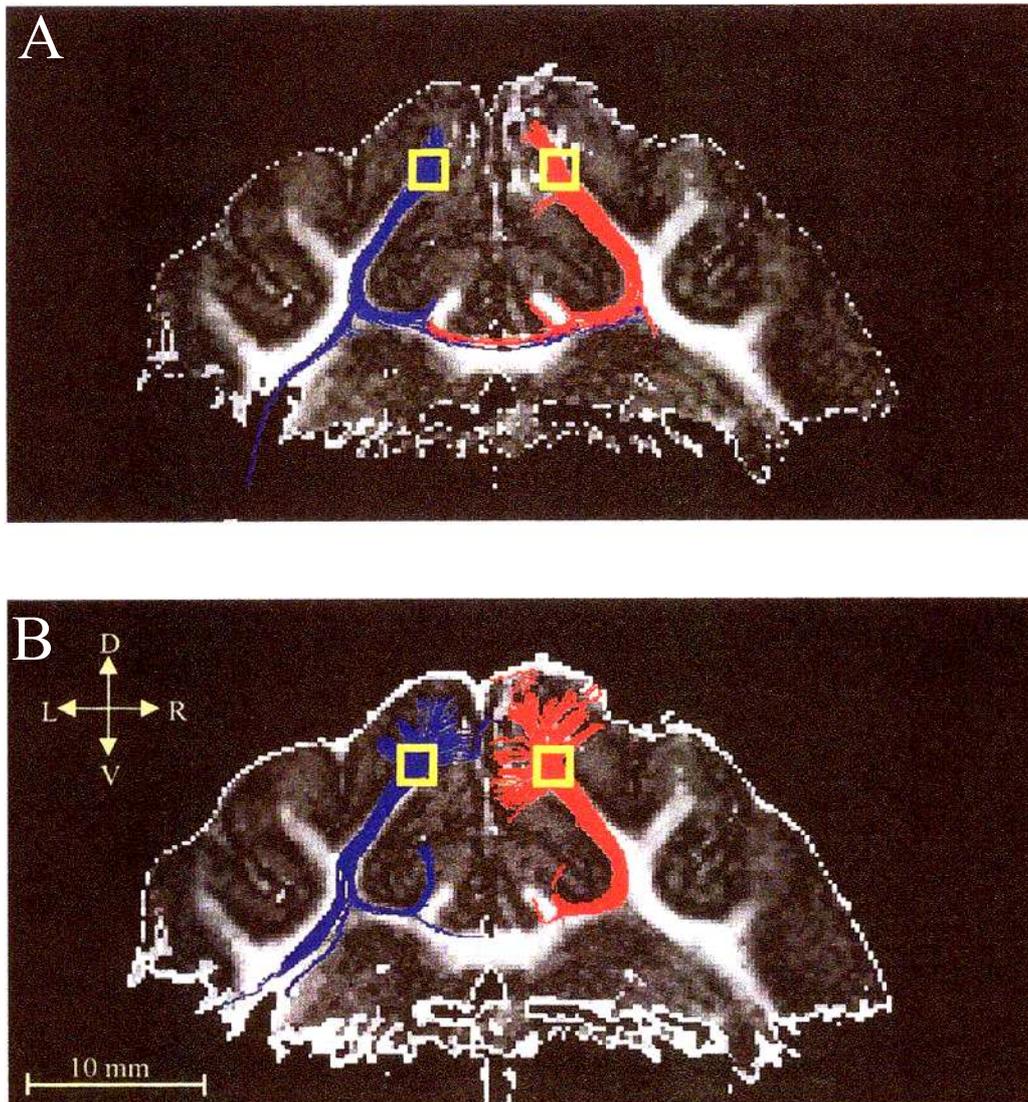


Figure 15: Expériences de reconstruction des trajectoires de fibres de fibres à partir des bandelettes optiques. (A) L'utilisation de la composante rapide de diffusion ne permet pas de suivre les fibres au niveau du cortex. (B) La persistance de l'anisotropie dans la substance grise au niveau de la composante lente de la diffusion permet le suivi des fibres dans leur trajet intra-cortical montrant une pénétration des fibres dans le cortex perpendiculairement à la surface (Ronen et al., 2003).

1.3.2 Technique tri-dimensionnelle :

L'imagerie de diffusion, décrite au chapitre précédent, est de façon inhérente une technique unidimensionnelle, qui est fonction de l'axe du gradient de diffusion appliqué. Cette technique est suffisante pour caractériser la diffusion de l'eau dans la substance grise, où l'ADC de l'eau peut être considérée comme isotrope. Cependant, la diffusion des molécules d'eau correspond à un processus tridimensionnel et les valeurs de l'ADC varient en fonction de la direction des gradients. La distribution des valeurs de l'ADC de l'eau dans la substance blanche peut être modélisée par une ellipsoïde dont le grand axe représente la direction des fibres et le petit axe représente la direction perpendiculaire aux fibres (Figure 16). Le tenseur de diffusion permet de caractériser, pour chaque voxel, l'ellipsoïde définissant localement la diffusion des molécules d'eau, permettant ainsi d'inférer l'orientation préférentielle des molécules d'eau à partir de la mesure de l'ADC obtenue dans 6 directions (Basser et al., 1994).

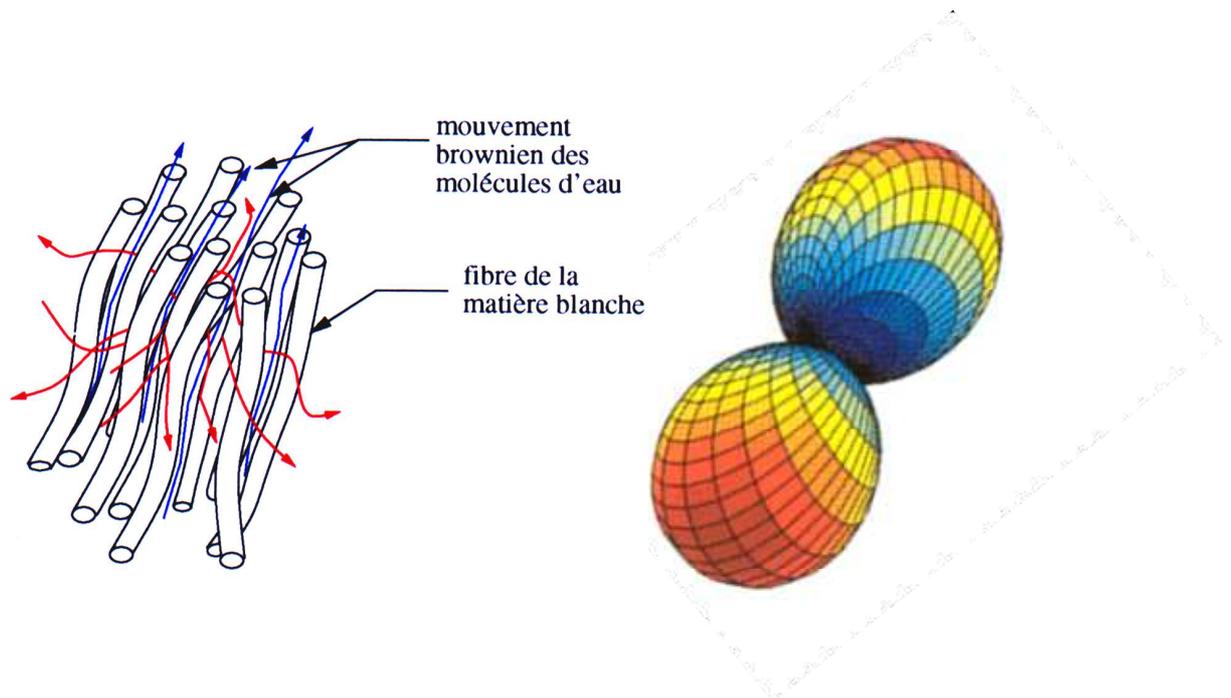


Figure 16 : Modélisation de la diffusion de l'eau d'un faisceau unique de fibres nerveuses. La mobilité des molécules d'eau est préférentielle le long des fibres (à gauche , en bleu), permettant d'inférer l'orientation des faisceaux dans substance blanche. A droite, la simulation des valeurs du coefficients de diffusion en fonction des coordonnées sphériques des gradients de diffusion caractérise la forme du processus de diffusion (forme en cacahuète) dans le cas d'un faisceau unique.

L'application de trois directions de gradients a d'abord été utilisée pour caractériser l'anisotropie de la diffusion, définie alors comme le rapport de la diffusion maximale sur la diffusion minimale (Le Bihan et al., 1993). Il est clair que, dans ces conditions, si un faisceau est orienté de façon non colinéaire aux trois axes des gradients de diffusion, la diffusion maximale dans la direction des fibres ne peut être obtenue. Ces premières études ont montré que l'anisotropie calculée à partir de 3 directions de gradients variait en fonction de la direction des gradients choisies et conduisait à des erreurs importantes sur l'orientation réelle des structures (Pierpaoli and Basser, 1996).

Pour caractériser la géométrie du phénomène de diffusion de façon indépendante des gradients de diffusion, l'estimation d'un tenseur de diffusion a été proposée (Basser et al., 1994). Pour avoir suffisamment d'information pour estimer un tenseur, il est nécessaire d'appliquer des gradients de diffusion dans différentes directions, au minimum six directions, non-colinéaires et non-coplanaires, par exemple en xx , yy , zz , xy , xz et yz . Cette matrice est symétrique car la diffusion est identique selon l'axe xy et yx et peut être caractérisée par six vecteurs, qui sont dépendants des directions de gradients choisis.

Une matrice représentant ces coefficients est obtenue pour chaque voxel de l'image :

$$\begin{pmatrix} ADC_{xx} & ADC_{yx} & ADC_{zx} \\ ADC_{xy} & ADC_{yy} & ADC_{zy} \\ ADC_{xz} & ADC_{yz} & ADC_{zz} \end{pmatrix}$$

Cette matrice résume l'atténuation du signal en fonction de la direction des gradients appliqués. Dans chaque voxel, un nouveau système de coordonnées unique d'ellipsoïde (\vec{e}_1 , \vec{e}_2 , \vec{e}_3) peut être déterminé avec comme axes principaux les axes majeurs et mineurs de l'ellipsoïde. Le tenseur de diffusion dans ce nouveau référentiel est diagonal. La diagonalisation de la matrice du tenseur permet de reformuler l'équation du produit tensoriel dans une base propre de 3 eigenvecteurs \vec{e}_1 , \vec{e}_2 , \vec{e}_3 et de valeur λ_1 , λ_2 , λ_3 :

$$\begin{pmatrix} ADC_{xx} & ADC_{yx} & ADC_{zx} \\ ADC_{xy} & ADC_{yy} & ADC_{zy} \\ ADC_{xz} & ADC_{yz} & ADC_{zz} \end{pmatrix} \Rightarrow \begin{pmatrix} \lambda_1 & 0 & 0 \\ 0 & \lambda_2 & 0 \\ 0 & 0 & \lambda_3 \end{pmatrix}$$

Les valeurs et l'orientation de λ_1 , λ_2 , λ_3 sont indépendants des gradients de diffusion appliqués et de l'orientation des tissus dans l'IRM. La direction des vecteurs propres correspond aux directions dans lesquelles les processus de diffusion sont les plus importants et les plus décorrélés pour chaque voxel. Elles sont classées par ordre décroissant ($\lambda_1 > \lambda_2 > \lambda_3$). La diffusion des molécules d'eau est maximale le long de la direction parallèle au vecteur \vec{e}_1 . Ce vecteur est le vecteur propre principal et représente l'orientation principale de la diffusion au sein du voxel.

1.3.3 Représentations du tenseur de diffusion

Représentation de la direction principale de diffusion : La confrontation de l'orientation du vecteur principale λ_1 avec les données de l'anatomie cérébrale montre la pertinence anatomique des données de diffusion, validant l'inférence de l'orientation des fibres à partir des données de diffusion. Différentes techniques peuvent être utilisées pour représenter ce vecteur. L'une d'entre elle consiste à montrer, centré en chaque voxel, le vecteur principal après sélection des voxels au sein desquels la diffusion est fortement anisotrope (Figure 17). Une autre technique consiste à représenter le vecteur principal en projection sur une coupe 2D d'IRM anatomique permettant de comparer directement l'orientation des fibres de la matière blanche (Figure 18). La direction principale des fibres peut aussi être codée à l'aide d'un système de couleurs dans lequel les couleurs rouge/vert/bleue sont attribuée aux 3 coordonnées qui constituent alors une couleur dans l'espace de composantes RVB (Figure19).

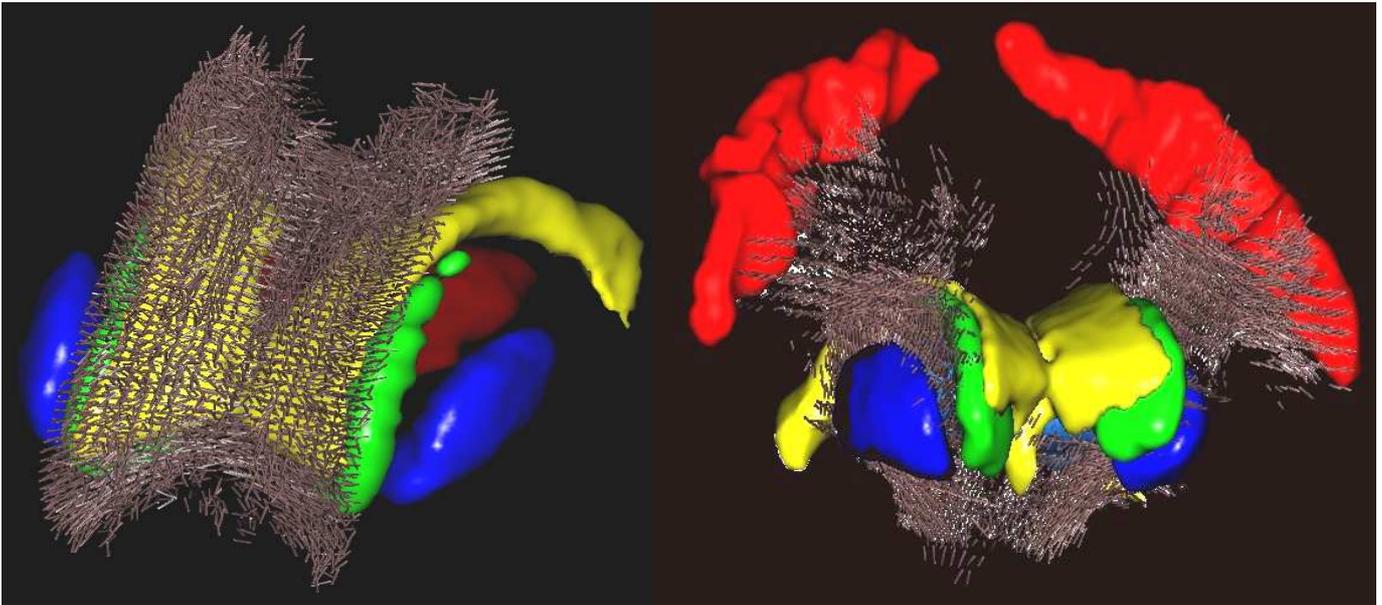


Figure 17 : Représentation tridimensionnelle du vecteur propre principale du tenseur de diffusion dans le corps calleux et dans le faisceau pyramidal (C. Poupon et J.F Mangin, 1998). La direction du vecteur principal dans ces deux faisceaux correspond bien aux directions principales de ces faisceaux. Cependant, il faut garder à l'esprit que cette représentation des faisceaux est schématique et qu'il existe au sein de ces faisceaux une hétérogénéité dans l'orientation des fibres qui n'est pas accessible par l'imagerie du tenseur de diffusion.

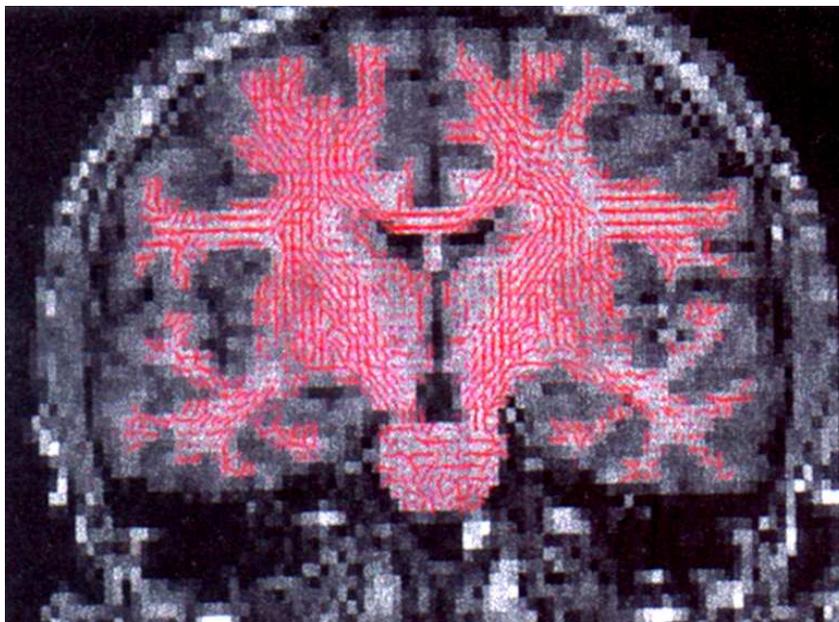


Figure 18 : Représentation bidimensionnelle de la projection du vecteur propre principale dans le plan coronal (C. Poupon et J.F Mangin, 1998).

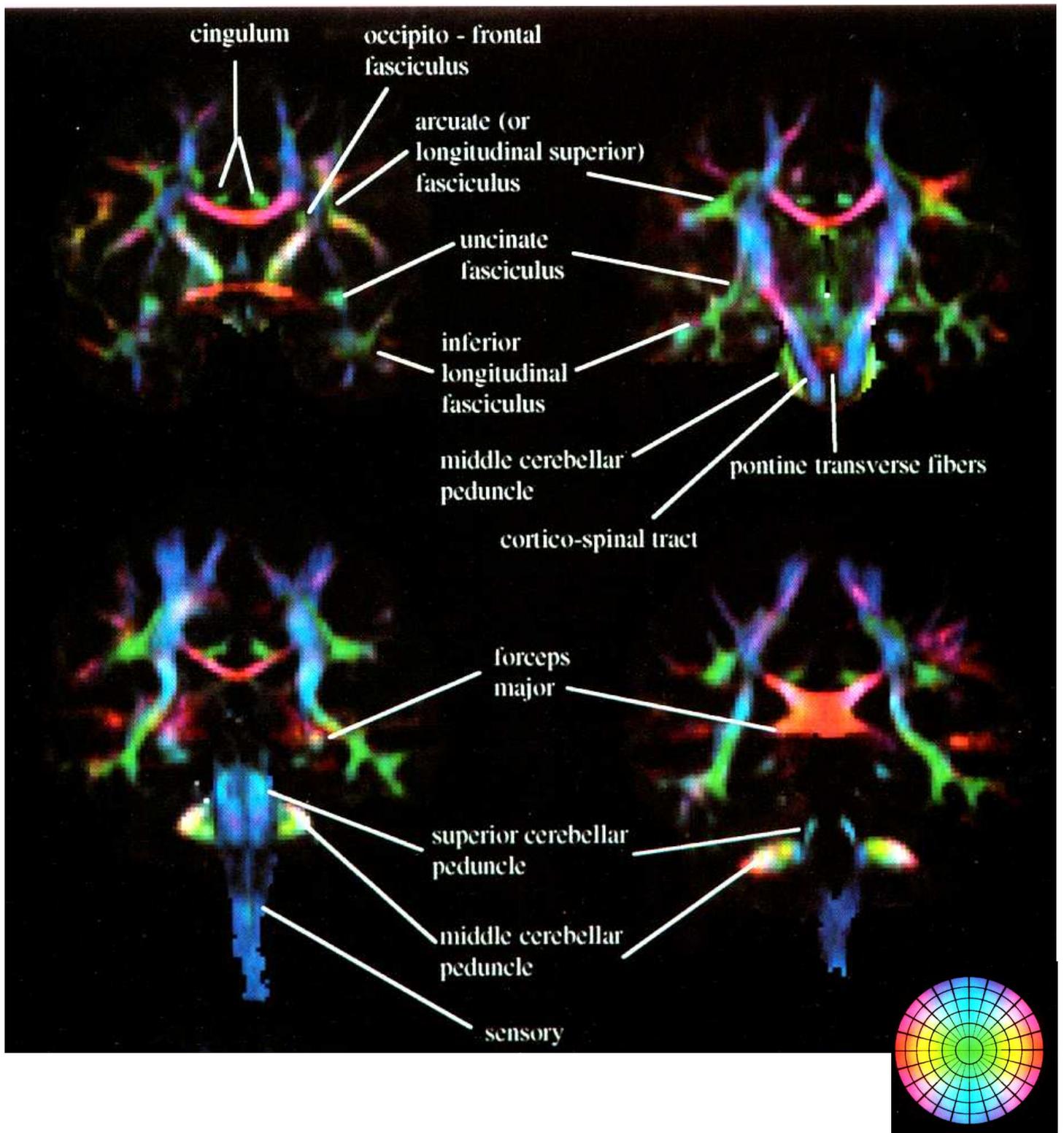


Figure 19 : Représentation de la direction du vecteur propre principal selon un code de couleur, présenté en bas à droite de l'image. L'intensité de la couleur est pondérée par le degré d'anisotropie. Ce type de représentation permet de visualiser les principaux faisceaux de fibres associatifs et commissuraux (Pajevic and Pierpaoli, 1999).

1.3.4 Paramètres quantitatifs dérivés du tenseur de diffusion :

Diffusion moyenne (D) : correspond à la somme des ADC obtenus dans les directions xx, yy, zz, c'est-à-dire de Trace(D) divisée par trois.

$$\langle D \rangle = (ADC_{xx} + ADC_{yy} + ADC_{zz})/3 = (\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3)/3 = \langle \lambda \rangle$$

Ce paramètre est extrêmement homogène à la fois dans le tissu cérébral, y compris dans des régions de structure très variable comme la substance blanche et la substance grise, et aussi entre les individus. Plus généralement, il est notable que les valeurs diffusion moyenne dans le tissu cérébral de différentes espèces de mammifère sont très similaires. L'homogénéité de ce paramètre tant sur le plan phylogénétique qu'ontogénétique pourrait témoigner d'une organisation tissulaire commune, optimisée au cours de la phylogénèse. Dans le cadre de cette hypothèse, il serait très intéressant d'un point de vue physiologique de comprendre ce que reflète l'homogénéité de cette valeur de diffusion moyenne dans l'organisation de la microstructure des tissus (taille du secteur extracellulaire, compartimentation tissulaire...). Sur le plan clinique, de faibles déviations des valeurs normales sont statistiquement significatives ce qui rend ce paramètre très sensible à la détection d'anomalies tissulaires. De plus, ce paramètre correspond à une moyenne de la diffusion dans les différentes directions ce qui donne à ce paramètre un faible niveau de bruit.

Index d'anisotropie : De multiples index d'anisotropie ont été proposés (Figure 21) (Pierpaoli and Basser, 1996; Pierpaoli et al., 1996). Un index d'anisotropie doit être quantitatif et indépendant de l'orientation des gradients, de la position de la tête des patients, du système de référentiel du laboratoire. Les index d'anisotropie les plus intuitifs sont représentés par les rapports de λ_1/λ_3 ou de $\lambda_1/(\lambda_2+\lambda_3)$. Cependant ces rapports nécessitent le classement de $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ ce qui peut créer des biais statistiques et une forte sensibilité au bruit, notamment pour les valeurs d'anisotropie faibles. D'autres paramètres d'anisotropie ne nécessitent pas le classement de $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$, comme par exemple le Volume Ratio, VR, qui correspond au rapport entre le volume de l'ellipsoïde ($\lambda_1\lambda_2\lambda_3$) et le volume de la sphère $(\lambda_1+\lambda_2+\lambda_3)^3$.

$$\text{Volume ratio, VR} = \lambda_1\lambda_2\lambda_3 / (\lambda_1+\lambda_2+\lambda_3)^3$$

Ainsi, si la diffusion est isotrope, $\lambda_1 = \lambda_2 = \lambda_3$, le VR est égal à 1. Si la diffusion est anisotrope avec $\lambda_1 \gg \lambda_2 \sim \lambda_3$, l'ellipsoïde s'allonge et son volume diminue, alors le VR diminue. De nombreux index d'anisotropie ont été décrits comme l'anisotropie fractionnelle (FA), qui évalue la fraction de la norme du tenseur attribuée à la diffusion anisotrope, et l'anisotropie relative (RA) qui est représentée par le quotient de l'écart-type des valeurs propres $\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$ sur la moyenne de ces valeurs propres.

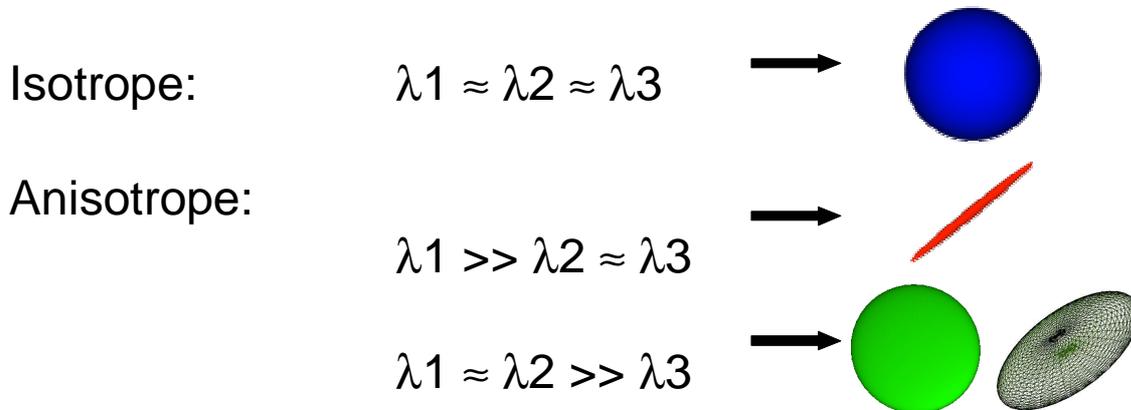
Ces index d'anisotropie restent fortement sensibles au bruit. D'autres paramètres d'anisotropie prennent en compte la cohérence des valeurs d'anisotropie entre les voxels en les moyennant, fournissant un index d'anisotropie intervoxel moins sensible aux bruits. Ces paramètres d'index intervoxel d'anisotropie sont fondés sur l'hypothèse d'une homogénéité locale de l'orientation des fibres. Le Lattice Index est un index d'anisotropie intervoxel qui est fonction du tenseur local, du voxel, mais aussi d'un tenseur moyen du voisinage.

Au contraire de la diffusion moyenne, les valeurs d'anisotropie sont très hétérogènes dans le parenchyme cérébrale, y compris au sein de la substance blanche (Pierpaoli et al., 1996). Différents facteurs comme le diamètre des fibres, la densité des fibres, le degré de myélinisation, ou la densité de cellules gliales pourraient contribuer à l'hétérogénéité des valeurs d'anisotropie dans la substance blanche. Le diamètre des fibres est le plus souvent hétérogène au sein d'un faisceau et certaines fibres du faisceau pyramidal peuvent avoir un diamètre de 25 μm alors que la majorité des fibres ont un diamètre autour de 1 μm . La différence de la densité des fibres entre le corps calleux (338 000/ mm^2) et la capsule interne (38 000/ mm^2) ne se traduit pas par une différence d'anisotropie entre ces deux faisceaux, suggérant que la densité des fibres ne joue pas un rôle majeur dans le degré d'anisotropie. La densité des cellules gliales est relativement homogène dans les différentes régions cérébrales et ne pourrait donc pas expliquer l'hétérogénéité des valeurs d'anisotropie de diffusion. Le caractère myélinisé ou non des fibres et le degré de myélinisation des fibres sont des paramètres hétérogènes au sein des faisceaux avec une densité de myéline globalement homogène dans les différents faisceaux de substance blanche.

Analyse géométrique des mesures du tenseur de diffusion :

La forme géométrique du tenseur de diffusion est modélisée classiquement par une ellipsoïde dont la forme varie en fonction de la valeur relative des vecteurs propres, d'une

forme cylindrique ($\lambda_1 \gg \lambda_2 \sim \lambda_3$) ou planaire ($\lambda_1 \sim \lambda_2 \gg \lambda_3$) à une forme sphérique ($\lambda_1 = \lambda_2 = \lambda_3$) :



La représentation « barycentrique » du tenseur de diffusion est une représentation quantitative de la forme du tenseur qui est décomposée en trois composantes : linéaire, planaire et sphérique. Cette méthode montre que la majorité des tenseurs dans le tissu cérébral n'ont pas une forme cylindrique, y compris dans la substance blanche, et trois grands groupes de tissu peuvent se différencier par la géométrie de la représentation de leur tenseur de diffusion: la substance grise (le cortex, le thalamus et le noyaux lenticulaire), la substance blanche sous-corticale et les fibres associatives, et la capsule interne et le corps calleux (Figure 20). Cette classification en fonction de la forme du tenseur est corrélée au degré d'anisotropie. La diffusion dans le corps calleux a la composante linéaire la plus importante, alors que la diffusion dans le faisceau arqué a une composante planaire, suggérant l'existence de croisements ou d'une tortuosité au sein du faisceau

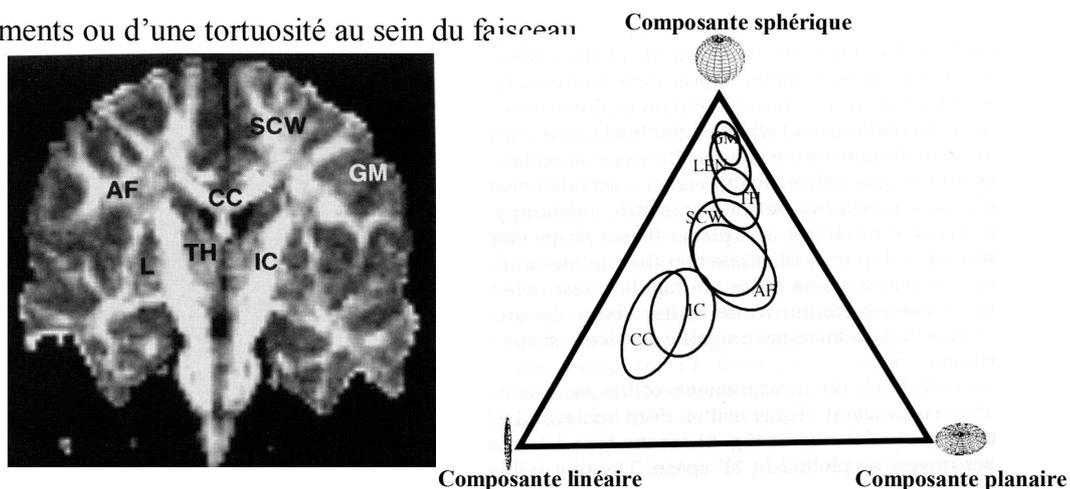
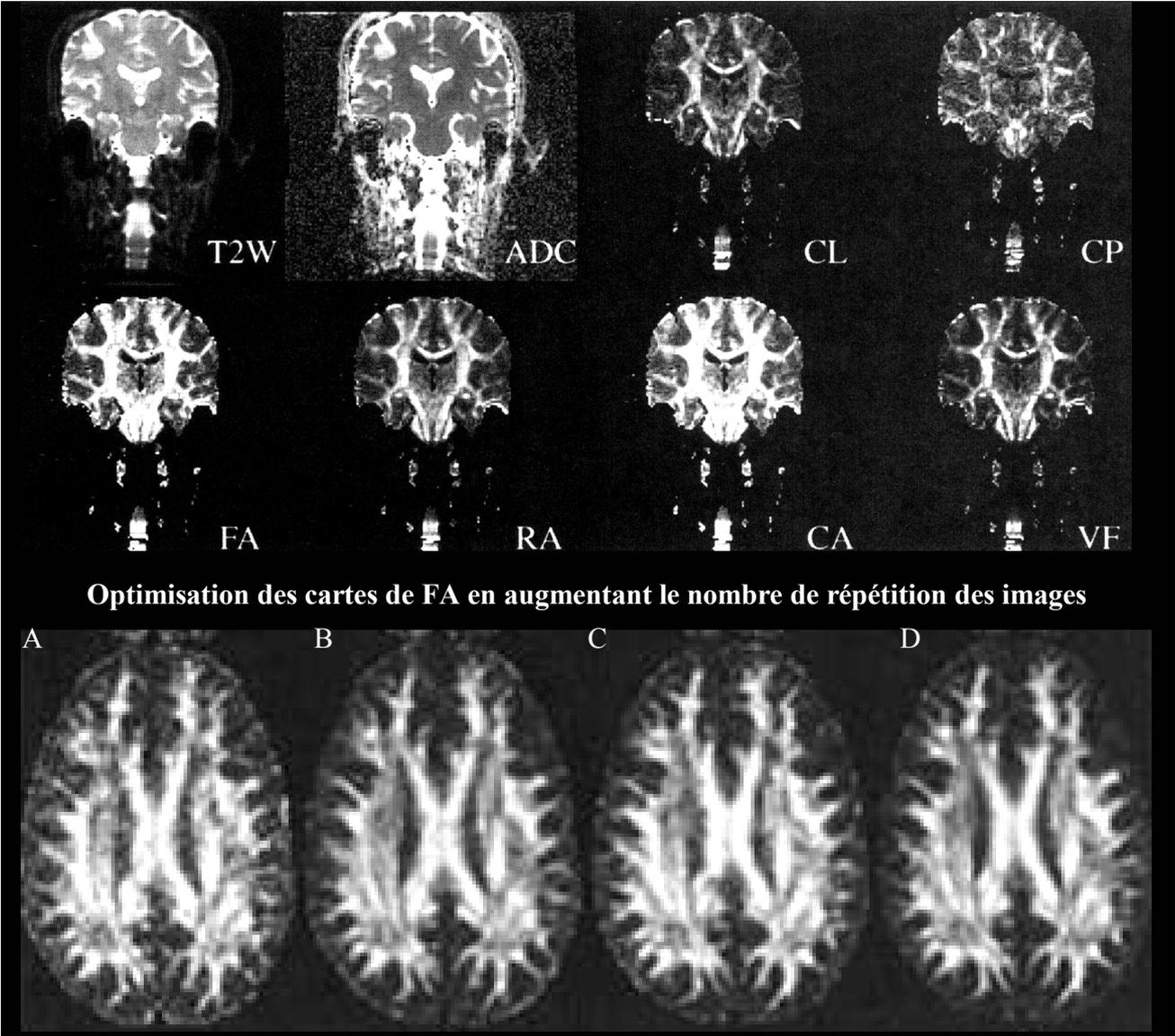


Figure 20 : Représentation barycentrique du tenseur de diffusion. Les mesures de la forme du tenseur, effectuées dans la substance grise et dans différents faisceaux de substance blanche (régions représentées sur l'image de gauche) montrent trois grands groupes de tissus : corps calleux (CC) et capsule interne (IC), faisceau arqué (AF) et substance blanche sous corticale (SCW), et enfin cortex (GM), thalamus (TH) et noyaux lenticulaire (LHN)(Alexander et al, 2000).

Figure 21 : Images représentant les différents paramètres dérivés du tenseur de diffusion.



1.3.5 Reconstruction des trajectoires des faisceaux de fibres :

La caractérisation de la direction principale des fibres par l'imagerie du tenseur de diffusion permet de relier les informations de diffusion obtenues voxel-par-voxel pour reconstruire la trajectoire tridimensionnelle des faisceaux de fibres. Cette approche permet pour la première fois d'aborder in vivo et de façon non-invasive la connectivité cérébrale (Conturo et al., 1999; Mori and van Zijl, 2002; Poupon et al., 2000). Les premiers résultats obtenus ont montré qu'il est possible de reconstruire les principaux faisceaux de substance blanche comme le corps calleux, les radiations thalamiques, le faisceau pyramidal, les fibres associatives et les pédoncules cérébelleux (Behrens et al., 2003; Catani et al., 2002; Catani et al., 2003; Conturo et al., 1999; Poupon et al., 2000). Cependant, cette technique récente nécessite encore d'être validée et il faut bien comprendre les limites d'une telle approche. La première limite concerne la résolution de l'image, de l'ordre du millimètre, qui ne permet l'étude que de faisceaux de fibres principaux mais pas l'étude individuelle des connexions axonales dont la taille est de l'ordre du micromètre. De plus il n'est pas envisageable par cette technique d'étudier les connexions dans les régions isotropes, comme les connexions intracorticales. Dans la substance blanche, la proportion des connexions cérébrales accessibles par l'imagerie de diffusion dépend de l'organisation des connexions cérébrales, et en particulier de la taille des faisceaux et de la proportion des axones qui s'organisent en faisceaux de taille millimétrique. L'effet de volume partiel entre les faisceaux rend indiscernable les croisements et l'enchevêtrement des fibres dont les différentes composantes de diffusion sont moyennées. La proportion des voxels ayant un profil de diffusion favorable pour la reconstruction des trajectoires de fibres, c'est à dire modélisable par une ellipse, n'est pas majoritaire dans la substance blanche et il existe une proportion importante de voxels avec forte composante planaire, en forme de « pancake », qui rend difficile la détermination de l'orientation préférentielle des fibres (Alexander et al, 2000). Enfin, la diffusion de l'eau le long des fibres est un processus symétrique et le sens des connexions n'est pas accessible par l'imagerie du tenseur de diffusion.

Reconstruction des fibres par des techniques de propagation de lignes :

Cette technique est la plus intuitive et reconstruit la trajectoire des faisceaux de fibres en propageant l'information de l'orientation des fibres au centre de chaque voxel (Figure 22, 23, 24). La propagation de l'information de voxel en voxel nécessite que l'information qui est

discrète au centre de chaque voxel soit converti en un champ continu de nombres (interpolation des valeurs). Ces techniques peuvent être optimisées par des méthodes d'interpolation qui permettent d'obtenir des trajectoires lisses et plus précises. La propagation de ces algorithmes nécessitent des critères de terminaison. Le plus fréquemment, la reconstruction des trajectoires de fibres s'arrêtent sur des critères d'anisotropie (arrêt quand l'anisotropie devient trop faible) et/ou selon des critères d'angle entre les différents voxels (impossibilité de faire chemin inverse, par exemple).

L'effet du bruit des images de diffusion entraîne des erreurs dans l'orientation du vecteur principal et ainsi des erreurs dans la propagation des trajectoires de fibres. Différentes méthodes ont été proposées pour minimiser l'effet du bruit, en injectant notamment des a priori sur le faible degré de courbure des fibres (Mori et al., 2002).

Cette méthode peut être initialisée en partant de tous les voxels du cerveau et seules les trajectoires passant au sein d'un voxel cible ou d'une région d'intérêt sont gardées (méthode de recherche dite exhaustive). Cette méthode permet de décrire plusieurs trajectoires pour un même voxel ou une même région d'intérêt. Il est ensuite possible, utilisant plusieurs régions d'intérêt, judicieusement choisies, d'identifier les faisceaux en fonction des régions traversées par ces faisceaux. Des faisceaux enchevêtrés à un certain niveau peuvent être individualisés par ces techniques en utilisant des régions intérêts à distance dans des zones où les faisceaux sont bien individualisables (Figure 23) (Stieltjes et al., 2001).

Autres techniques : Les techniques de minimisation d'énergie permettent d'obtenir des probabilités de connexions. La trajectoire la plus probable entre un point arbitraire et un voxel cible correspond à la trajectoire la plus directe en terme d'énergie.

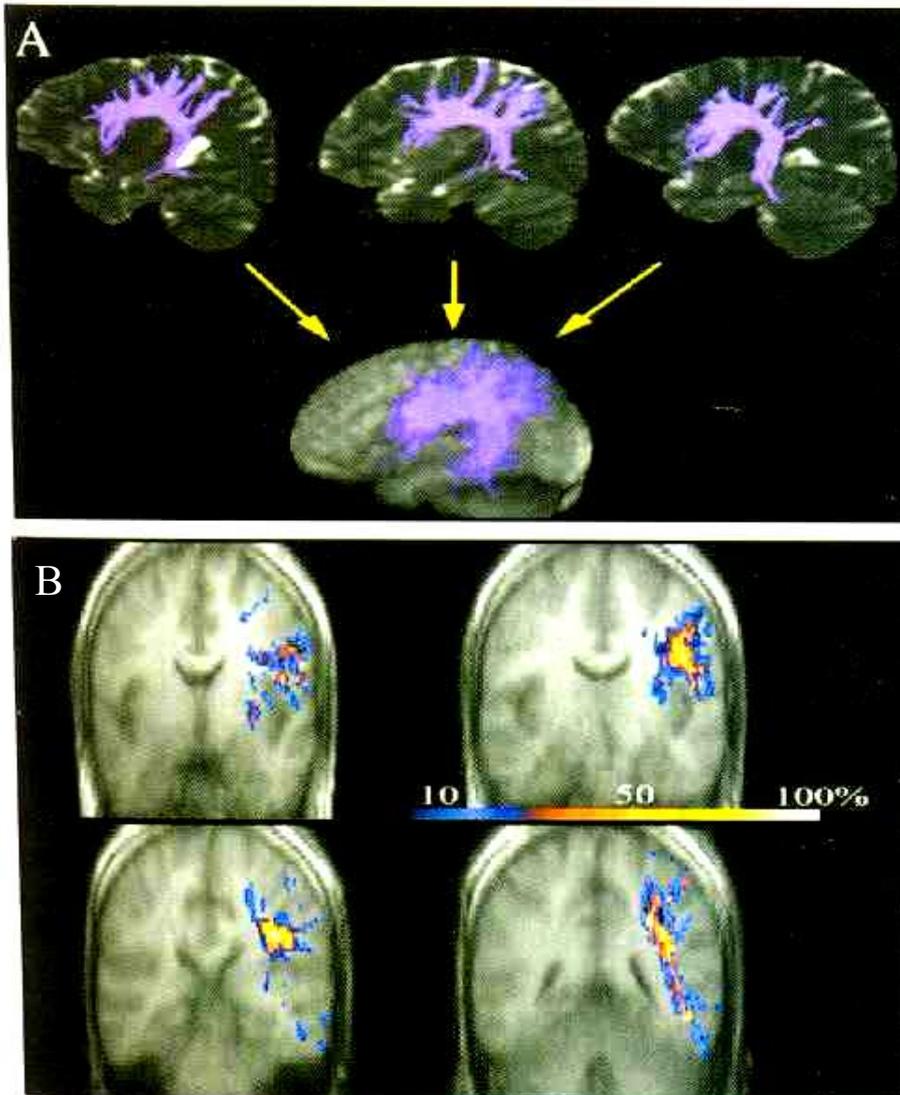


Figure 22 : Application de l'approche probabiliste. La reconstruction des trajectoires de fibres obtenue pour le faisceau longitudinal supérieur dans l'espace natif pour chaque sujet est recalé dans l'espace de Talairach (A) et des cartes de probabilité de présence du faisceau sont obtenues (B). il est remarquable que le centre du faisceau ait une position identique chez tous les sujets alors que les différentes branches du faisceau ont des positions extrêmement variables d'un sujet à l'autre, et des probabilités de présence variables allant de 10 à 50 % (Mori et al., 2002).

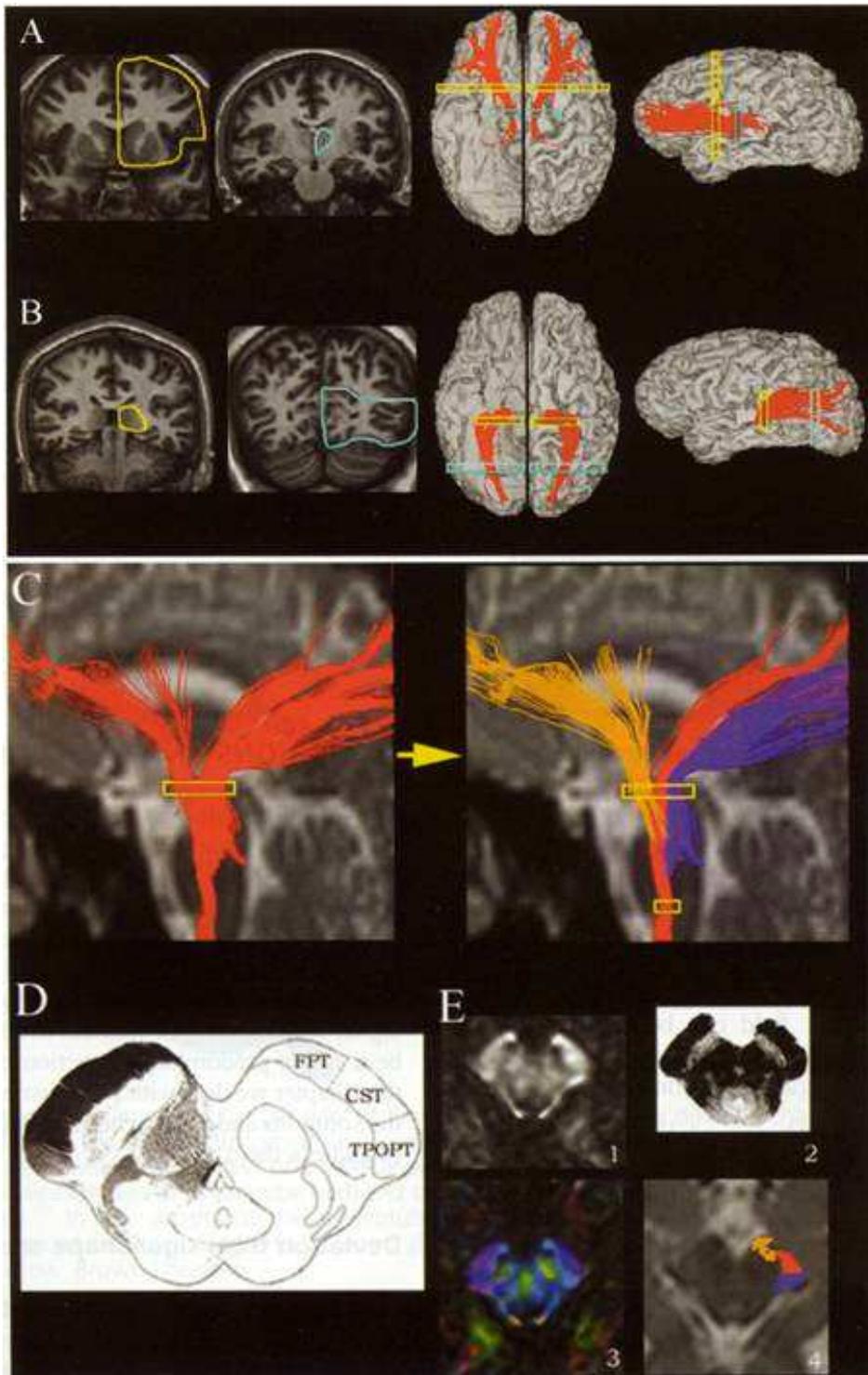


Figure 23 : Approche par régions d'intérêt (ROI) multiples pour la reconstruction des faisceaux de substance blanche. (A) Le choix de 2 ROI d'intérêts sur les coupes coronales permet de sélectionner exclusivement les faisceaux passant par ces 2 régions d'intérêt, ici respectivement les radiations thalamiques antérieures et postérieures (Mori et al., 2002). (C) Le choix d'une région d'intérêt dans le pédoncule cérébral permet de sélectionner tous les faisceaux passant dans cette région. L'utilisation d'une ROI supplémentaire à la partie inférieure du tronc permet ensuite de sélectionner le faisceau cortico-spinal (CST) des faisceaux fronto-pontaux (FPT) et des faisceaux reliant le lobe pariétal, temporal et occipital au pont (TPOPT) (Stieltjes et al., 2001). (D) et (E) montrent la bonne correspondance entre les données anatomiques (Carpenter) et les données de diffusion.

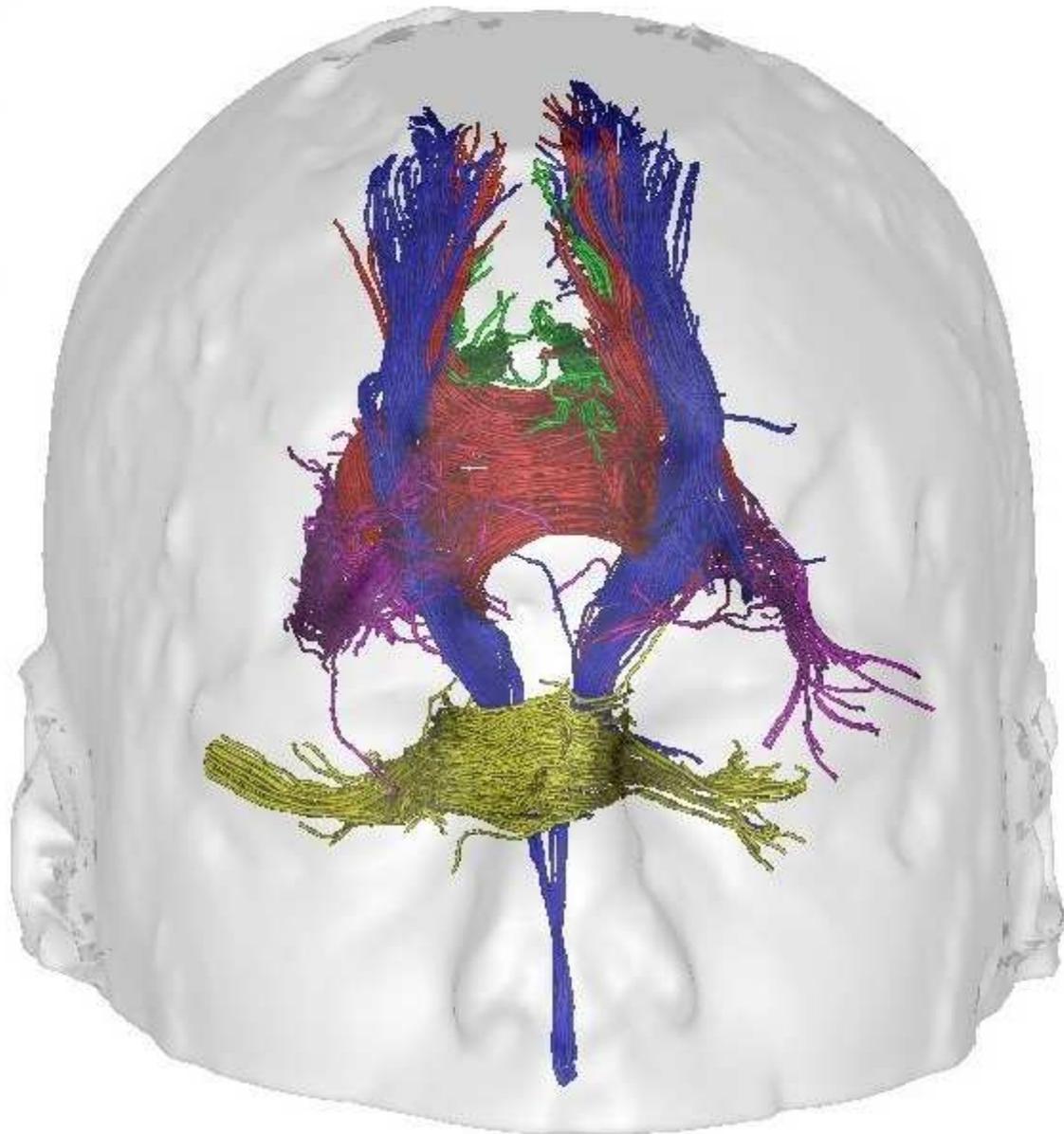


Figure 24 : Exemple de reconstruction des trajectoires de fibres obtenu dans notre centre au service hospitalier Frédéric Joliot à partir d’algorithmes de propagation de ligne associés à des méthodes d’interpolation des données. Le faisceau pyramidal, le corps calleux, le pédoncule cérébelleux moyen sont facilement reconstruits (Y.Cointepas, C.Poupon, JF Mangin).

1.3.6 Limites du tenseur de diffusion

1.3.6.1 Artéfacts des images de diffusion :

Les artéfacts de mouvement sont à l'origine de « fantômes » ou d'artéfacts de redistribution du signal qui rendent impossible les mesures de diffusion. Plusieurs types de mouvements sont à l'origine d'artéfacts comme par exemple les mouvements globaux du sujet, les mouvements oculaires, la pulsativité cérébrale. Ces artéfacts peuvent être minorés par la synchronisation de l'acquisition des images avec le rythme cardiaque, ou par l'utilisation de séquences ultrarapides. L'intérêt potentiel des échos navigateurs a été aussi suggéré.

Les courants de Foucault sont des courants induits dans l'aimant, liés à l'alternance rapide des champs magnétiques dans les bobines de gradients. Ces courants perturbent la lecture de l'image, entraînant des déformations qui peuvent partiellement être corrigées durant le post-processing des images par le recalage des images de diffusion sur l'image T2 ou bo.

Les artéfacts liés à l'estimation du tenseur sont de plusieurs types. Ces artéfacts sont liés à l'erreur dans la modélisation de la diffusion qui assimile l'atténuation du signal à une décroissance mono-exponentielle. L'estimation du tenseur est aussi très sensible au bruit des images de diffusion, notamment dans les structures isotropes où il existe un biais important dans le classement des valeurs des vecteurs propres. Enfin, les artéfacts liés au volume partiel en rapport avec le croisement des fibres constitue une limite du modèle du tenseur de diffusion.

Les artéfacts de susceptibilité magnétique. Les interfaces, notamment air-tissu, produisent des gradients de champ magnétique locaux qui dégradent et déforment les images de diffusion. Ces artéfacts sont particulièrement nets en imagerie écho-planar et augmentent avec l'intensité du champ magnétique. Ces artéfacts sont très importants dans les orbites, en regard des sinus et du rocher. L'étude en imagerie de diffusion du pôle temporal, ou du cortex perihippocampique est par conséquent limitée avec ces techniques en écho-planar. L'évolution vers des IRM de plus haut champ magnétique, permettant un meilleur rapport signal sur bruit, s'accompagne d'une augmentation des artéfacts de susceptibilité.

1.3.6.2 Limites du modèle du tenseur de diffusion :

Modèle de la diffusion : Différents travaux ont montré que l'atténuation de la diffusion en fonction des valeurs de b ne pouvait pas être modélisée par une mono-exponentielle et que l'hypothèse d'une diffusion non restreinte et gaussienne n'était pas valide dans le tissu cérébral pour des valeurs de b élevées (Cohen and Assaf, 2002). Ces travaux ont révélé l'existence de différentes composantes de diffusion dans le tissu cérébral dont les origines précises restent à déterminer. L'étude de ces différentes composantes de diffusion est une perspective intéressante qui apportera peut-être des informations supplémentaires sur la structure ou la physiologie des tissus étudiés. L'hypothèse d'une possibilité d'accéder par l'intermédiaire de ces différentes composantes à l'étude sélective des différents compartiments tissulaires est très séduisante mais reste encore à démontrer.

Croisement de fibres : L'existence de croisements de fibres dans les voxels des images est à l'origine d'un effet de volume partiel au sein des voxels. La résolution des images de diffusion, de l'ordre du millimètre est une limitation majeure du tenseur de diffusion. L'existence d'un croisement de fibres dans un voxel est à l'origine d'une hétérogénéité dans l'orientation des processus de diffusion qui est probablement à rapprocher de la faible proportion des voxels dont le tenseur est modélisable par une ellipse (essentiellement le corps calleux et la capsule interne). Prenons le cas de deux faisceaux qui se croisent à angle droit, la modélisation de la mobilité d'eau ne correspond plus à une ellipsoïde mais à deux ellipsoïdes dont les grands axes correspondent à la direction des deux faisceaux et modélisable par un minimum de deux tenseurs de diffusion (Figure 25) (Frank, 2001). L'estimation de la diffusion par le tenseur de diffusion correspond à une sorte de moyenne des différents tenseurs, dont la traduction géométrique correspond à une sphère ou un disque.

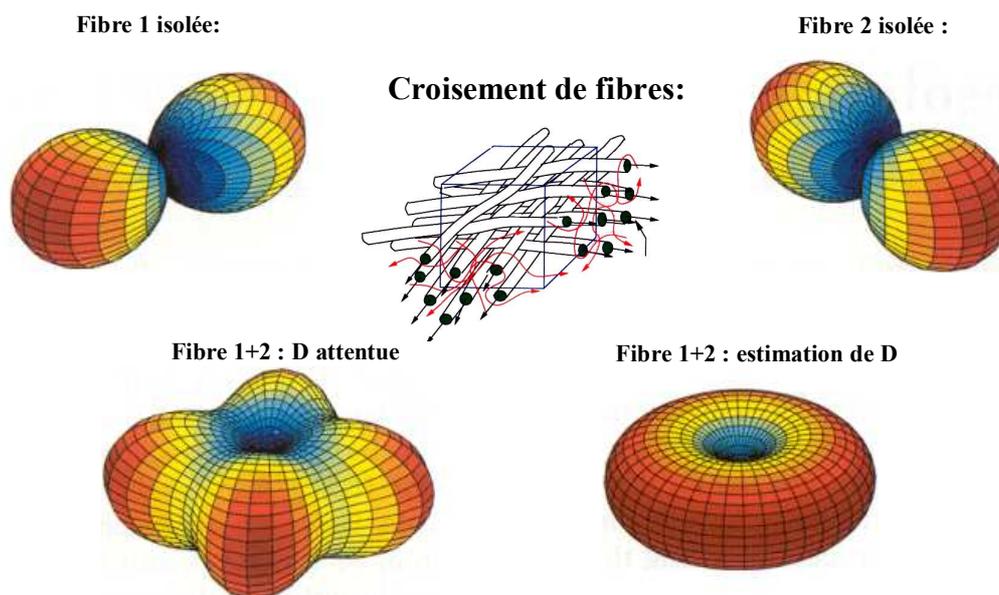


Figure 25 : Simulation de la diffusion en cas de croisement de fibres. La diffusion pour chacune des fibres est modélisée par une forme de cacahuète dont le grand axe est parallèle à l'axe de la fibre. En cas de croisement de fibres, le modèle de diffusion théorique permet de retrouver les deux composantes de diffusion correspondant à chacune des fibres alors que le modèle estimé par le tenseur de diffusion est plat dans le plan du croisement des fibres (Frank, 2001).

1.4 Autres techniques d'imagerie de diffusion :

1.4.1 Modèle du « q-space » :

Le q-space est une technique qui permet de caractériser directement la distribution des probabilités de déplacement des molécules d'eau en réalisant une transformée de Fourier de l'atténuation de signal qui est étudiée en fonction, non pas du facteur b mais du facteur q, « vecteur spatial réciproque », définie par $q = (2\pi)^{-1} \gamma \delta g$ (Figure 26) (Cohen and Assaf, 2002). Dans un milieu homogène, des pics de diffraction dans l'atténuation du signal se forment en fonction de la taille et de la forme du compartiment dans lequel se déroule la diffusion. Après une transformée de Fourier, on obtient la probabilité de déplacement des molécules et la distance parcourue en μm . Cette méthode permet de s'affranchir des difficultés concernant la modélisation de l'atténuation de signal c'est-à-dire qu'elle n'utilise

pas d'a priori sur le modèle d'atténuation du signal de diffusion. Cette méthode donne accès à une mesure concrète du déplacement des molécules d'eau. Les principales caractéristiques de la diffusion ont été confirmées par la méthode du q-space qui a, notamment, permis d'illustrer une nouvelle fois la restriction de la diffusion in vivo (Cohen and Assaf, 2002). L'étude par la méthode du q-space des profils de déplacements des molécules dans le nerf optique de bœuf a permis de confirmer la distribution non-gaussienne du déplacement moyen des molécules d'eau avec une absence d'augmentation linéaire du déplacement avec l'augmentation du temps de diffusion (Figure 25) (Assaf and Cohen, 1999). La probabilité de déplacement d'une fraction des molécules d'eau apparaît restreinte dans un compartiment autour de $2 \mu\text{m}$, indépendamment du temps de diffusion et de façon variable en fonction de la direction des fibres. L'anisotropie de la diffusion se traduit par une variation du profil du q-space, en fonction de la direction des gradients.

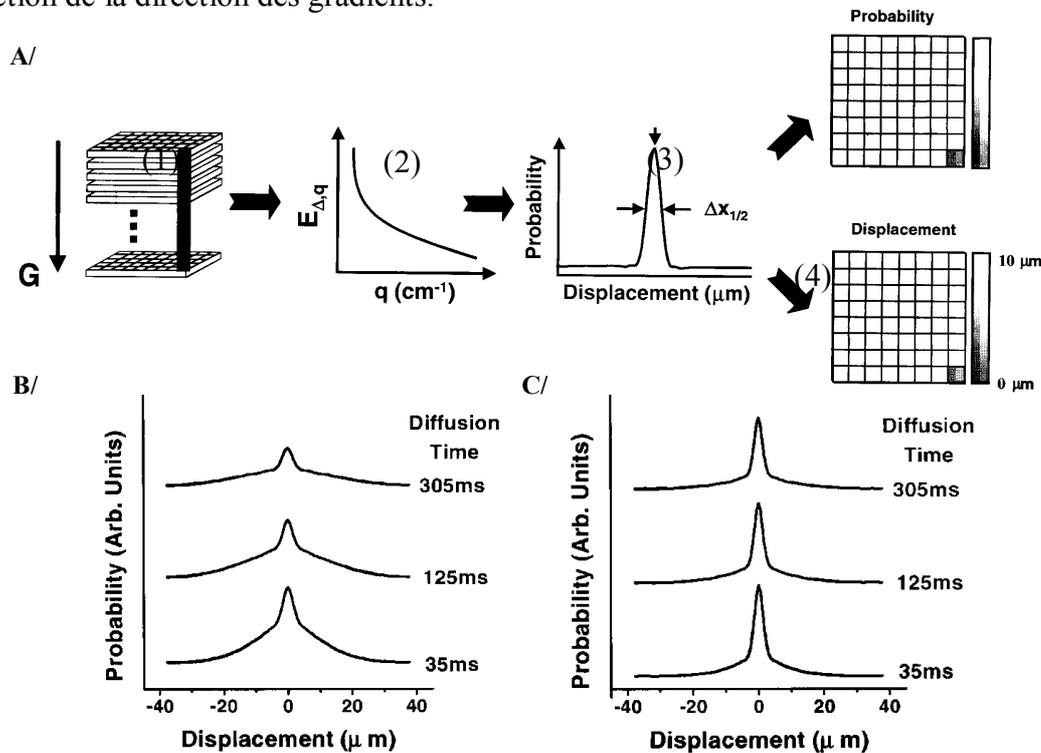


Figure 26 : A/ Schéma représentant les différentes étapes pour obtenir des images de q-space. : 1) acquisition d'une série d'images avec une pondération croissante en diffusion, 2) obtention d'une courbe par voxel d'atténuation du signal en fonction de q , 3) obtention de la distribution des probabilités de déplacement dans le pixel après transformée de fourrier dont on dérive (4) la probabilité de déplacement et le déplacement moyen B/ et C/ représentent le profil de déplacement des molécules d'eau du nerf optique de bœuf mesuré respectivement le long et perpendiculairement de l'axe du nerf (mesure avec des hautes valeurs de b et à haut champ magnétique (11.7 Teslas). Ces profils de déplacements montrent une distribution non-gaussienne des déplacements. L'absence d'augmentation linéaire du déplacement moyen avec le temps de diffusion témoigne d'une diffusion restreinte (dans un compartiment d'une dimension autour de $2 \mu\text{m}$). La pondération de la composante de restriction dépend de l'orientation des fibres.

L'analyse du q-space peut être couplée avec un tenseur dans une approche similaire à celle du tenseur de diffusion (analyse du q-space dans 6 directions) (Cohen and Assaf, 2002). Le déplacement minimum et la probabilité maximum pour un déplacement nul représente la diffusion perpendiculaire à l'axe des fibres et sont obtenues en prenant la plus petite valeur propre du tenseur de déplacement et la plus grande propre du tenseur de probabilité. Le profil de l'atténuation de signal et le profil du q-space d'un patient atteint par une sclérose en plaque montrent que la composante lente de la diffusion permet de distinguer les lésions de sclérose en plaque, du tissu d'apparence normale et du tissu d'un sujet contrôlé (Figure 27) (Assaf et al., 2002). Ces données suggèrent que la composante lente de la diffusion procure des informations supplémentaires concernant l'organisation des tissus.

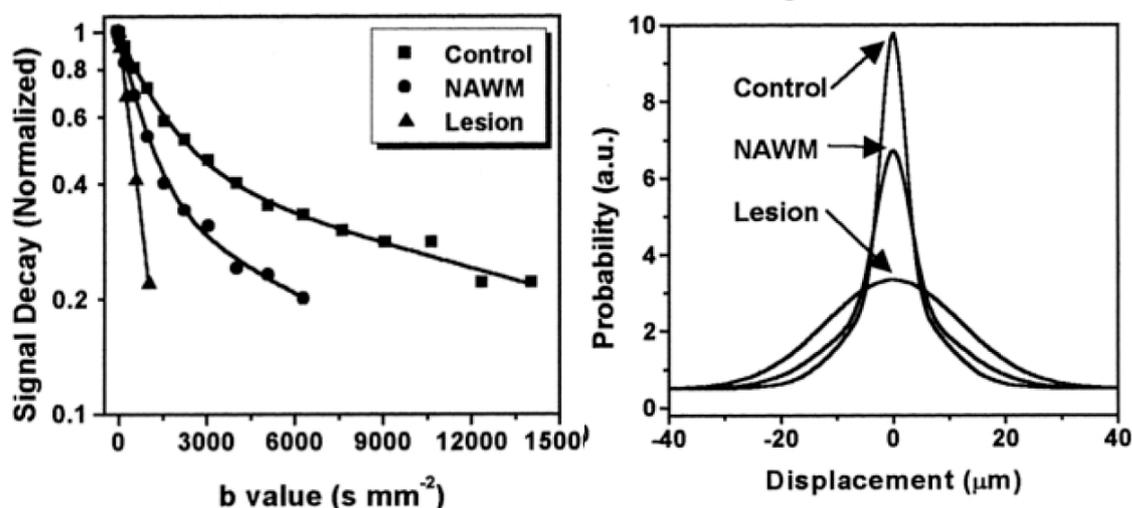


Figure 27 : Illustration de la variation du profil du q-space en fonction du degré de lésions tissulaires dans la sclérose en plaque après extrapolation des données. La composante lente du profil du q-space est prééminente dans le tissu normal et se réduit en fonction du degré de lésions tissulaires (Assaf et al., 2002).

1.4.2 Modèle de diffusion à haute résolution angulaire :

Le modèle de diffusion à haute résolution angulaire consiste à mesurer le coefficient de diffusion sur un large échantillonnage de directions, d'une vingtaine à plus d'une centaine, afin d'échantillonner au mieux les caractéristiques spatiales de la diffusion dans un voxel donné (Figure 28). L'objectif de cette méthode est de permettre la distinction de différentes orientations de diffusion en cas de croisement de fibres. Considérant la résolution des voxels

de l'ordre du millimètre, le nombre de voxels présentant une hétérogénéité dans l'orientation de la diffusion à l'intérieur du voxel doit être considérable. Le couplage de l'augmentation du nombre de directions avec l'utilisation de haute valeurs de b est une méthode prometteuse pour modéliser des croisements de fibres au sein d'un même voxel, soit en utilisant plusieurs tenseurs par voxel, soit en utilisant la variance de la diffusion en fonction des directions. Le premier travail avec l'utilisation de deux tenseurs par voxel montre que la direction principale des différents tenseurs est cohérente avec l'orientation attendue sur des bases anatomiques (Figure 29).

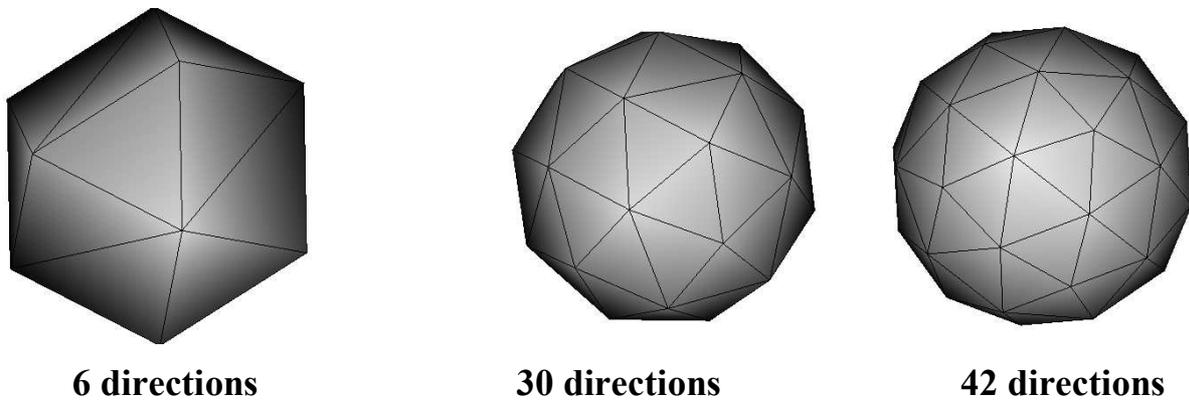
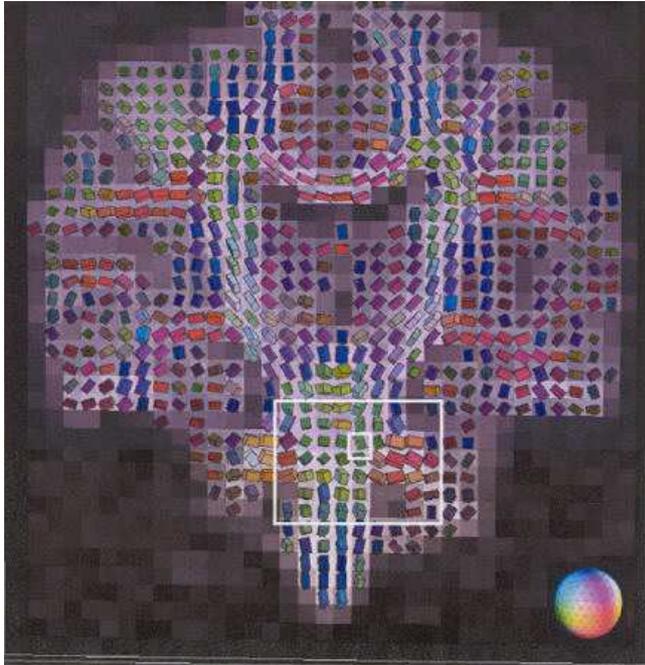


Figure 28 : Construction d'une distribution uniforme de gradients en fonction du nombre de directions (Poupon, 1999).

Diffusion tensor imaging



Diffusion spectrum imaging

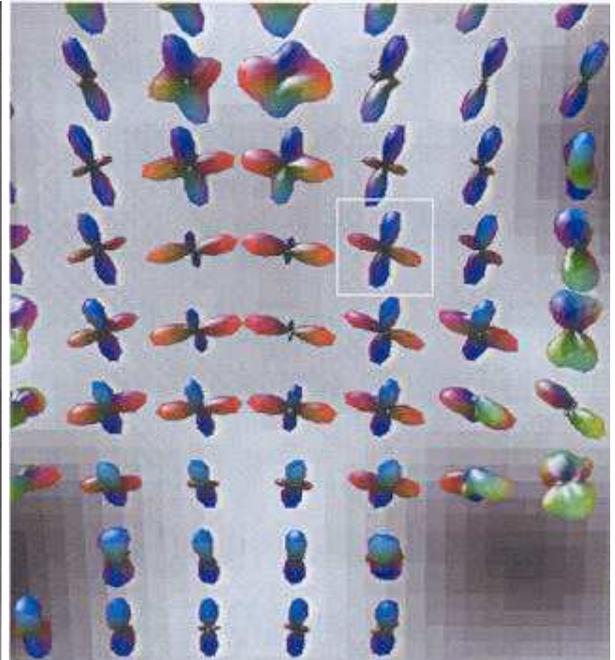


Figure 29 : Comparaison de la direction principale obtenue par une modélisation avec un simple tenseur de diffusion (gauche) ou avec un double tenseur de diffusion (droite) (Tuch et al., 2002; Wiegell et al., 2000). L'analyse avec deux tenseurs de diffusion permet de retrouver des intersections de fibres, cohérentes avec les connaissances anatomiques (faisceau pyramidal et pédoncule cérébelleux moyen), et se traduisant par l'obtention de deux directions principales de diffusion. Ces modèles avec de multiples tenseurs restent encore à valider.

1.5 Références

- Assaf, Y., Ben-Bashat, D., Chapman, J., Peled, S., Biton, I. E., Kafri, M., Segev, Y., Hendler, T., Korczyn, A. D., Graif, M., and Cohen, Y. (2002). High b-value q-space analyzed diffusion-weighted MRI: application to multiple sclerosis. *Magn Reson Med* *47*, 115-126.
- Assaf, Y., and Cohen, Y. (1998a). In vivo and in vitro bi-exponential diffusion of N-acetyl aspartate (NAA) in rat brain: a potential structural probe? *NMR Biomed* *11*, 67-74.
- Assaf, Y., and Cohen, Y. (1998b). Non-mono-exponential attenuation of water and N-acetyl aspartate signals due to diffusion in brain tissue. *J Magn Reson* *131*, 69-85.
- Assaf, Y., and Cohen, Y. (1999). Structural information in neuronal tissue as revealed by q-space diffusion NMR spectroscopy of metabolites in bovine optic nerve. *NMR Biomed* *12*, 335-344.
- Basser, P., Mattiello, J., and Le Bihan, D. (1994). Estimation of the effective self-diffusion-tensor from the NMR spin echo. *J Magn Reson* *103*, 247-254.
- Beaulieu, C. (2002). The basis of anisotropic water diffusion in the nervous system - a technical review. *NMR Biomed* *15*, 435-455.
- Beaulieu, C., and Allen, P. (1994a). Determinants of anisotropic water diffusion in nerves. *MRM* *31*, 394-400.
- Beaulieu, C., and Allen, P. S. (1994b). Determinants of anisotropic water diffusion in nerves. *Magn Reson Med* *31*, 394-400.
- Beaulieu, C., and Allen, P. S. (1994c). Water diffusion in the giant axon of the squid: implications for diffusion-weighted MRI of the nervous system. *Magn Reson Med* *32*, 579-583.
- Beaulieu, C., and Allen, P. S. (1996). An in vitro evaluation of the effects of local magnetic-susceptibility-induced gradients on anisotropic water diffusion in nerve. *Magn Reson Med* *36*, 39-44.
- Behrens, T. E., Johansen-Berg, H., Woolrich, M. W., Smith, S. M., Wheeler-Kingshott, C. A., Boulby, P. A., Barker, G. J., Sillery, E. L., Sheehan, K., Ciccarelli, O., *et al.* (2003). Non-invasive mapping of connections between human thalamus and cortex using diffusion imaging. *Nat Neurosci* *6*, 750-757.
- Bloch, F. (1946). Nuclear Induction. *Phys Rev* *70*, 7-8.
- Boesch, C. (2001). How MRI and MRS can probe tissue far below the spatial dimension of a voxel. *NMR Biomed* *14*, 55-56.
- Carr, H. Y., and Purcell, E. M. (1954). Effects of diffusion on free precession in nuclear magnetic resonance experiments. *Physical Review* *94*, 630-639.
- Catani, M., Howard, R. J., Pajevic, S., and Jones, D. K. (2002). Virtual in vivo interactive dissection of white matter fasciculi in the human brain. *Neuroimage* *17*, 77-94.
- Catani, M., Jones, D. K., Donato, R., and Ffytche, D. H. (2003). Occipito-temporal connections in the human brain. *Brain* *126*, 2093-2107.
- Clark, C. A., Hedehus, M., and Moseley, M. E. (2001). Diffusion time dependence of the apparent diffusion tensor in healthy human brain and white matter disease. *Magn Reson Med* *45*, 1126-1129.
- Clark, C. A., Hedehus, M., and Moseley, M. E. (2002). In vivo mapping of the fast and slow diffusion tensors in human brain. *Magn Reson Med* *47*, 623-628.
- Clark, C. A., and Le Bihan, D. (2000). Water diffusion compartmentation and anisotropy at high b values in the human brain. *Magnetic Resonance in Medicine* *44*, 852-859.

- Cohen, Y., and Assaf, Y. (2002). High b-value q-space analyzed diffusion-weighted MRS and MRI in neuronal tissues - a technical review. *NMR Biomed* *15*, 516-542.
- Conturo, T. E., Lori, N. F., Cull, T. S., Akbudak, E., Snyder, A. Z., Shimony, J. S., McKinstry, R. C., Burton, H., and Raichle, M. E. (1999). Tracking neuronal fiber pathways in the living human brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* *96*, 10422-10427.
- Darquie, A., Poline, J. B., Poupon, C., Saint-Jalmes, H., and Le Bihan, D. (2001). Transient decrease in water diffusion observed in human occipital cortex during visual stimulation. *Proc Natl Acad Sci U S A* *98*, 9391-9395.
- Frank, L. R. (2001). Anisotropy in high angular resolution diffusion-weighted MRI. *Magn Reson Med* *45*, 935-939.
- Gulani, V., Webb, A. G., Duncan, I. D., and Lauterbur, P. C. (2001). Apparent diffusion tensor measurements in myelin-deficient rat spinal cords. *Magn Reson Med* *45*, 191-195.
- Hahn, E. L. (1950). Spin echoes. *Physical Review* *80*, 580-594.
- Klingberg, T., Hedehus, M., Temple, E., Salz, T., Gabrieli, J. D., Moseley, M. E., and Poldrack, R. A. (2000). Microstructure of temporo-parietal white matter as a basis for reading ability: evidence from diffusion tensor magnetic resonance imaging. *Neuron* *25*, 493-500.
- Le Bihan, D. (1991). Molecular diffusion nuclear magnetic resonance imaging. *Magn Reson Q* *7*, 1-30.
- Le Bihan, D., Breton, E., Lallemand, D., Grenier, P., Cabanis, E., and Laval-Jeantet, M. (1986). MR imaging of intravoxel incoherent motions : application to diffusion and perfusion in neurologic disorders. *Radiology* *161*, 401-407.
- Le Bihan, D., Mangin, J. F., Poupon, C., Clark, C. A., Pappata, S., Molko, N., and Chabriat, H. (2001). Diffusion tensor imaging: concepts and applications. *J Magn Reson Imaging* *13*, 534-546.
- Le Bihan, D., Turner, R., and Douek, P. (1993). Is water diffusion restricted in human brain white matter? An echo-planar NMR imaging study. *Neuroreport* *4*, 887-890.
- Mansfield, P. (1977). Multi-planar image formation using NMR spin-echoes. *J Phys C* *10*, L55-L58.
- McKinstry, R. C., Mathur, A., Miller, J. H., Ozcan, A., Snyder, A. Z., Scheffl, G. L., Alml, C. R., Shiran, S. I., Conturo, T. E., and Neil, J. J. (2002). Radial organization of developing preterm human cerebral cortex revealed by non-invasive water diffusion anisotropy MRI. *Cereb Cortex* *12*, 1237-1243.
- Minami, T., Nobuhara, K., Okugawa, G., Takase, K., Yoshida, T., Sawada, S., Ha-Kawa, S., Ikeda, K., and Kinoshita, T. (2003). Diffusion tensor magnetic resonance imaging of disruption of regional white matter in schizophrenia. *Neuropsychobiology* *47*, 141-145.
- Mori, S., Kaufmann, W. E., Davatzikos, C., Stieltjes, B., Amodei, L., Fredericksen, K., Pearlson, G. D., Melhem, E. R., Solaiyappan, M., Raymond, G. V., *et al.* (2002). Imaging cortical association tracts in the human brain using diffusion-tensor-based axonal tracking. *Magn Reson Med* *47*, 215-223.
- Mori, S., and van Zijl, P. C. (2002). Fiber tracking: principles and strategies - a technical review. *NMR Biomed* *15*, 468-480.
- Moseley, M., Cohen, Y., Kucharczyk, J., Asgari, H., Wendland, M., Tsuruda, J. S., and Norman, D. (1990a). Diffusion-weighted MR imaging of anisotropic water diffusion in cat central nervous system. *Radiology* *176*.
- Moseley, M. E., Cohen, Y., Mintorovitch, J., Chileuitt, L., Shimizu, H., Kucharczyk, J., Wendland, M. F., and Weinstein, P. R. (1990b). Early detection of regional cerebral ischemia

- in cats: comparison of diffusion- and T₂- weighted MRI and spectroscopy. *Magnetic Resonance in Medicine* *14*, 330-346.
- Moseley, M. E., Kucharczyk, J., Mintorovitch, J., Cohen, Y., Kurhanewicz, J., Derugin, N., Asgari, H., and Norman, D. (1990c). Diffusion-weighted MR imaging of acute stroke: correlation with T₂- weighted and magnetic susceptibility-enhanced MR imaging in cats. *AJNR Am J Neuroradiol* *11*, 423-429.
- Mountcastle, V. B. (1997). The columnar organization of the neocortex. *Brain* *120 (Pt 4)*, 701-722.
- Mulkern, R. V., Gudbjartsson, H., Westin, C.-F., Zengingonul, H. P., Gartner, W., Guttman, C. R., Robertson, R. L., Kyriakos, W., Schwartz, R., Holtzman, D., *et al.* (1999). Multi-component apparent diffusion coefficients in human brain. *NMR in Biomedicine* *12*, 51-62.
- Niendorf, T., Dijkhuizen, R. M., Norris, D. G., van Lookeren Campagne, M., and Nicolay, K. (1996). Biexponential diffusion attenuation in various states of brain tissue: implications for diffusion-weighted imaging. *Magn Reson Med* *36*, 847-857.
- Norris, D. G. (2001). The effects of microscopic tissue parameters on the diffusion weighted magnetic resonance imaging experiment. *NMR Biomed* *14*, 77-93.
- Norris, D. G., Niendorf, T., Hoehn-Berlage, M., Kohno, K., Schneider, E. J., Hainz, P., Hropot, M., and Leibfritz, D. (1994a). Incidence of apparent restricted diffusion in three different models of cerebral infarction. *Magn Reson Imaging* *12*, 1175-1182.
- Norris, D. G., Niendorf, T., and Leibfritz, D. (1994b). Healthy and infarcted brain tissues studied at short diffusion times: the origins of apparent restriction and the reduction in apparent diffusion coefficient. *NMR in Biomedicine* *7*, 304-310.
- Pajevic, S., and Pierpaoli, C. (1999). Color schemes to represent the orientation of anisotropic tissues from diffusion tensor data: application to white matter fiber tract mapping in the human brain. *Magn Reson Med* *42*, 526-540.
- Pierpaoli, C., and Basser, P. J. (1996). Toward a quantitative assessment of diffusion anisotropy. *Magn Reson Med* *36*, 893-906.
- Pierpaoli, C., Jezzard, P., Basser, P. J., Barnett, A., and Di Chiro, G. (1996). Diffusion tensor MR imaging of the human brain. *Radiology* *201*, 637-648.
- Poupon, C. (1999) Détection des Faisceaux de fibres de la substance blanche pour l'étude de la connectivité anatomique cérébrale, Ecole Nationale supérieure des télécommunications, Paris.
- Poupon, C., Clark, C. A., Frouin, V., Regis, J., Bloch, I., Le Bihan, D., and Mangin, J. (2000). Regularization of diffusion-based direction maps for the tracking of brain white matter fascicles. *Neuroimage* *12*, 184-195.
- Purcell, E., Horrey, H., and Pound, R. (1946). Resonance absorption by nuclear magnetic moments in a solid. *Phys Rev* *69*, 37-38.
- Ronen, I., Kim, K. H., Garwood, M., Ugurbil, K., and Kim, D. S. (2003). Conventional DTI vs Slow and Fast Diffusion Tensors in Cat Visual Cortex. *Magnetic Resonance in Medicine* *49*, 785-790.
- Schuijer, F. J., and Hossman, K.-A. (1980). Experimental brain infarcts in cats. II. Ischemic brain edema. *Stroke* *11*, 593-601.
- Song, A. W., Fichtenholtz, H., and Woldorff, M. (2002a). BOLD signal compartmentalization based on the apparent diffusion coefficient. *Magn Reson Imaging* *20*, 521-525.
- Song, A. W., Woldorff, M. G., Gangstead, S., Mangun, G. R., and McCarthy, G. (2002b). Enhanced spatial localization of neuronal activation using simultaneous apparent-diffusion-

coefficient and blood-oxygenation functional magnetic resonance imaging. *Neuroimage* 17, 742-750.

Stanisz, G. J., Szafer, A., Wright, G. A., and Henkelman, M. (1997). An analytical model of restricted diffusion in bovine optic nerve. *Magnetic Resonance in Medicine* 37, 103-111.

Stekjalskal, E., and Tanner, J. (1965). Spin diffusion measurements: spin echoes in the presence of time-dependent field gradient. *J Chem Phys* 9, 530-536.

Stieltjes, B., Kaufmann, W. E., van Zijl, P. C., Fredericksen, K., Pearlson, G. D., Solaiyappan, M., and Mori, S. (2001). Diffusion tensor imaging and axonal tracking in the human brainstem. *Neuroimage* 14, 723-735.

Sykova, E. (1997). The extracellular space in the CNS : its regulation, volume and geometry in normal and pathological neuronal function. *The Neuroscientist* 3, 28-36.

Tuch, D. S., Reese, T. G., Wiegell, M. R., Makris, N., Belliveau, J. W., and Wedeen, V. J. (2002). High angular resolution diffusion imaging reveals intravoxel white matter fiber heterogeneity. *Magn Reson Med* 48, 577-582.

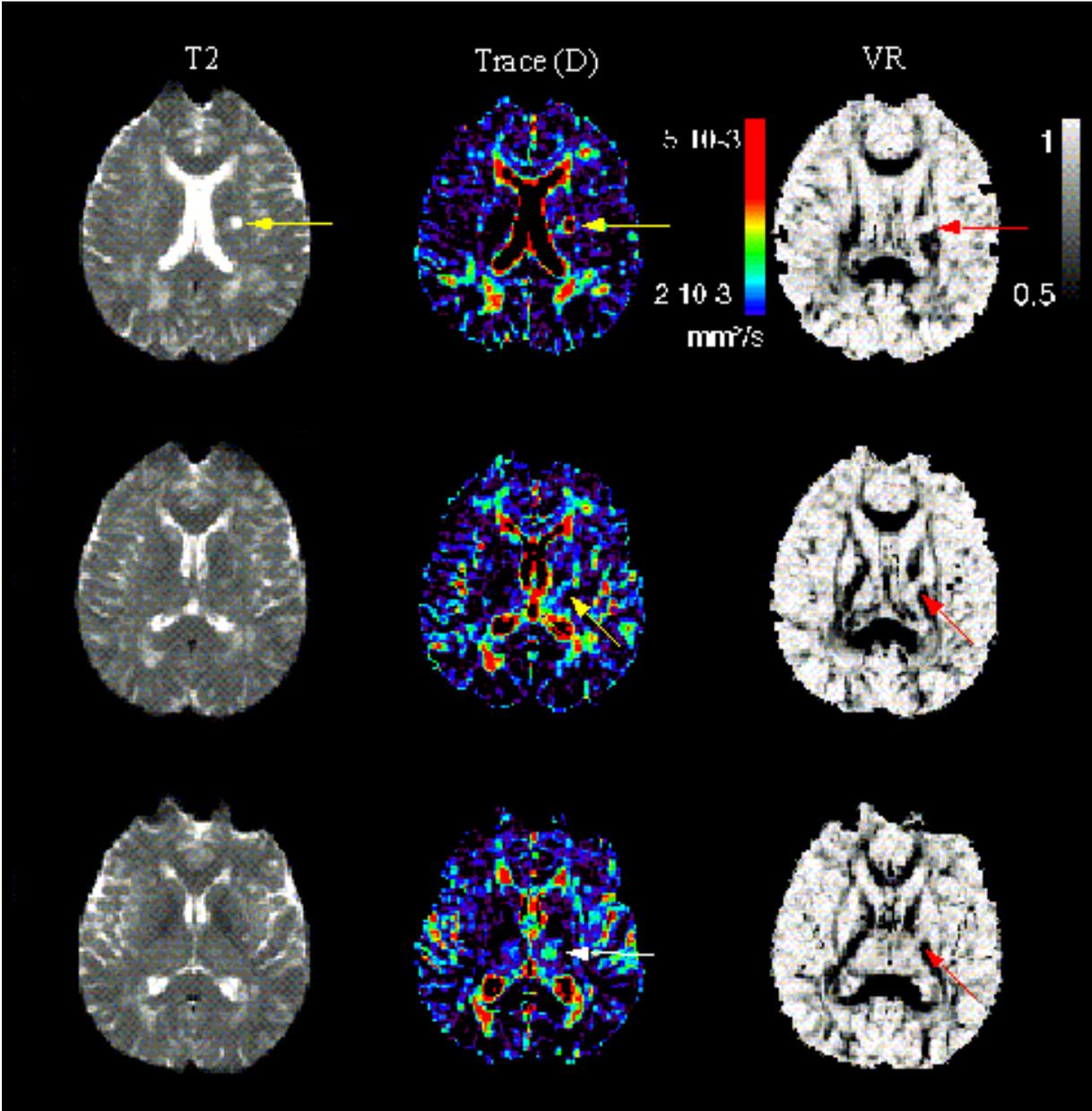
Vorisek, I., and Sykova, E. (1997). Evolution of anisotropic diffusion in the developing rat corpus callosum. *J Neurophysiol* 78, 912-919.

Wiegell, M. R., Larsson, H. B., and Wedeen, V. J. (2000). Fiber crossing in human brain depicted with diffusion tensor MR imaging. *Radiology* 217, 897-903.

Wolkin, A., Choi, S. J., Szilagyi, S., Sanfilippo, M., Rotrosen, J. P., and Lim, K. O. (2003). Inferior frontal white matter anisotropy and negative symptoms of schizophrenia: a diffusion tensor imaging study. *Am J Psychiatry* 160, 572-574.

Chapitre 2

APPORT DE L'IMAGERIE DU TENSEUR DE DIFFUSION DANS LA MALADIE DE CADASIL*



* Les données inclus dans ce chapitre ont fait l'objet de 2 articles qui sont en annexe à la fin de la thèse

2.1 Introduction

2.1.1 CADASIL (CEREBRAL AUTOSOMAL DOMINANT ARTERIOPATHY WITH SUBCORTICAL INFARCTS AND LEUCOENCEPHALOPATHY)

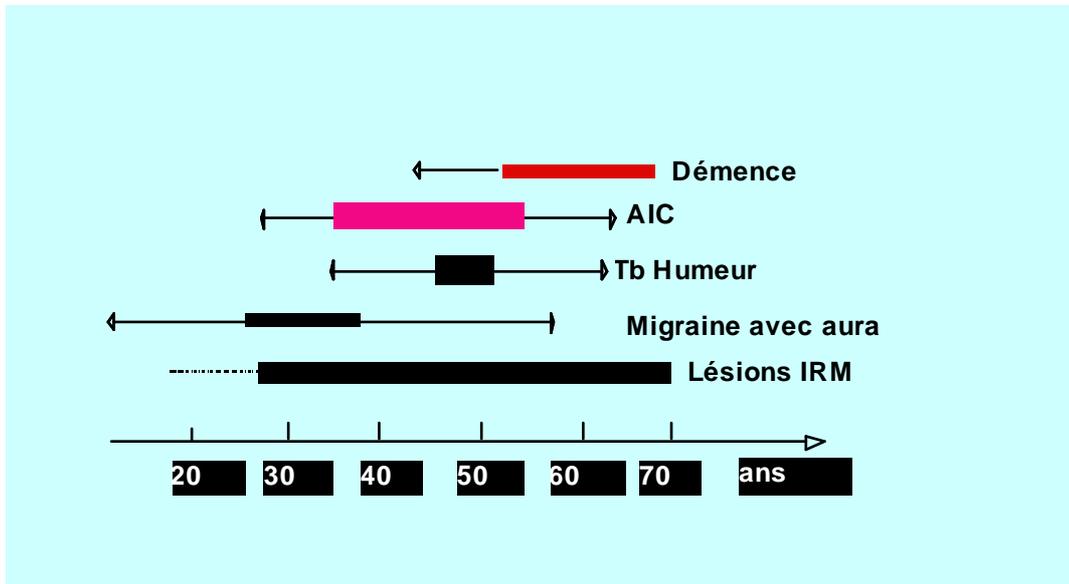
CADASIL est une artériopathie systémique, de transmission autosomique dominante, secondaire à différentes mutations du gène *Notch3* (Joutel et al., 1996). Cette artériopathie se caractérise par une dégénérescence des cellules musculaire lisse de la paroi vasculaire et par la présence, au contact de leur membrane cellulaire, d'un matériel granulaire osmiophile dont l'origine reste indéterminée (Ruchoux and Maurage, 1997). CADASIL représente un modèle d'étude particulièrement intéressant pour mieux comprendre l'histoire naturelle et les mécanismes physiopathologiques impliqués dans les démences secondaires aux maladies des petites artères cérébrales.

La maladie se manifeste à l'âge adulte (âge moyen du début des symptômes autour de 37 ans) exclusivement par des symptômes neurologiques. Les principales manifestations cliniques sont des accidents ischémiques cérébraux sous-corticaux, des crises de migraine avec aura, des troubles de l'humeur (Chabriat et al., 1995; Chabriat et al., 1997; Dichgans et al., 1998). L'évolution se fait progressivement vers une démence de type sous-cortical et un état grabataire associant un syndrome pseudo-bulbaire, une incontinence urinaire et un syndrome tétrapyramidal. Le décès survient en moyenne 20 ans après le début des premières manifestations cliniques en raison de complications liés au décubitus ou aux troubles de la déglutition. La sévérité du phénotype clinique est variable d'un patient à un autre, parfois au sein d'une même famille. Quelques rares patients peuvent ainsi demeurer asymptomatiques après l'âge de 60 ans. Aucun traitement médicamenteux préventif ou symptomatique de CADASIL n'a été évalué à ce jour. Néanmoins, un traitement anti-agrégant plaquettaire est souvent proposé en raison de leur efficacité dans la prévention des accidents ischémiques cérébraux liés à l'athérosclérose.

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) cérébrale est essentielle au diagnostic car il s'agit d'un examen très sensible pour mettre en évidence l'atteinte de la substance blanche qui est l'une des caractéristiques essentielles de cette affection (Chabriat et al., 1998; Yousry et al., 1999). L'IRM montre sur les séquences pondérées en T1 des hyposignaux punctiformes ou nodulaires au niveau des noyaux gris et de la substance blanche, et sur les séquences pondérées en T2, des hypersignaux de topographie identique aux hyposignaux en T1 associés à des plages d'hypersignaux plus étendues (Chabriat et al., 1998). L'IRM cérébrale est

toujours anormale chez les sujets symptomatiques. Les anomalies IRM peuvent être détectées pendant la phase pré-symptomatique dès l'âge de 20 ans (Chabriat et al., 1998).

Figure 1: Histoire Naturelle de CADASIL (Chabriat et al., 1997)



L'examen anatomo-pathologique de patients décédés de CADASIL révèle au sein de la substance blanche, une raréfaction étendue de la myéline respectant plus ou moins les fibres en U sous corticales (Baudrimont et al., 1993; Ruchoux and Maurage, 1997). Ces lésions prédominent dans les régions périventriculaires et dans les centres semi-ovales. Elles sont fréquemment associées à des infarctus lacunaires au sein de la substance blanche, du thalamus, des noyaux lenticulaires et caudés (Baudrimont et al., 1993; Ruchoux and Maurage, 1997). L'examen microscopique de la paroi des artéριοles cérébrales montre que l'endothélium est presque toujours respecté. Au sein de la média, les cellules musculaires lisses sont déformées et contiennent parfois plusieurs noyaux évoquant des cellules en dégénérescence (Ruchoux et al., 1995). Au contact des cellules musculaires lisses, on note la présence d'un matériel extracellulaire, granulaire, osmiophile, qui semble spécifique à CADASIL. La composition et l'origine de ce matériel restent indéterminées (Joutel et al., 2000). La présence de ce matériel granulaire osmophile a été retrouvée dans de nombreux territoires extracérébraux, faisant de CADASIL une artériolopathie systémique. Le diagnostic histologique de la maladie est donc possible à partir d'un simple prélèvement de vaisseaux cutanés (punch-biopsie) (Ruchoux and Maurage, 1997).

Figure 2: IRM pondérée en T1 et T2 d'un patient âgé de 50 ans (IA-IB) ayant une histoire d'accidents ischémiques cérébraux et une démence de type "sous-corticale" et de son cousin asymptotique âgé de 48 ans (IIA-IIB) n'ayant pas d'altération cognitive évidente. Des plages étendues d'hypersignal sont observées en T2. En T1, des lésions évoquant des infarctus profonds de la substance blanche et des noyaux gris sont observés chez les patient dément (Tournier-Lasserre et al., 1991).

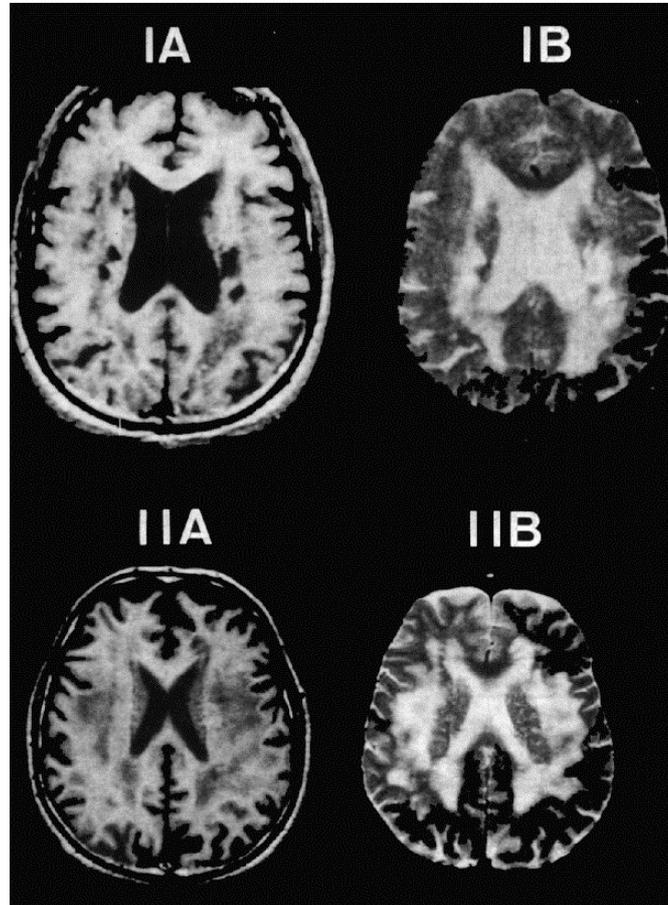
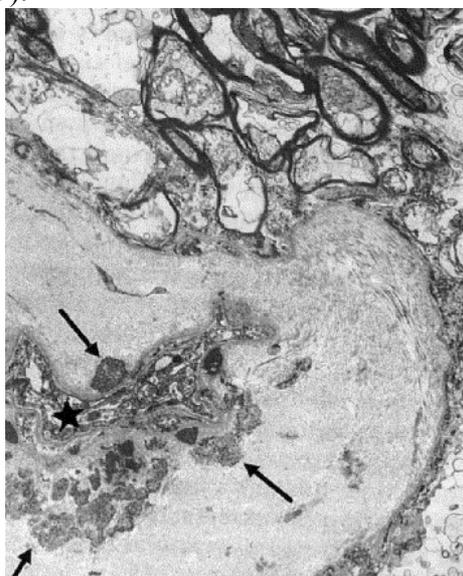


Figure3: dépôt granuleux autour d'un vaisseau du nerf optique (flèche), lumière rétrécie (étoile) (Ruchoux et al., 1995).



Le gène *Notch3* code pour une protéine appartenant à la famille de récepteurs Notch/Lin-12 (Joutel et al., 1996). La fonction de *Notch3* est inconnue, mais les autres protéines Notch semblent principalement impliquées dans le contrôle de la différenciation cellulaire. Dans le tissu normal, l'expression de *Notch3* est restreinte aux cellules musculaires lisses de la paroi vasculaire (Joutel et al., 2000). Comme les autres protéines Notch, *Notch3* est clivée par protéolyse dans l'appareil de golgi en deux fragments, un fragment extracellulaire de 210-kDa et un fragment intracellulaire de 97-kDa (Joutel et al., 2000). Les patients CADASIL ont une mutation toujours localisée au niveau des répétitions EGF du domaine extra-cellulaire de la protéine *Notch3* conduisant à l'addition ou à la perte d'un résidu cystéine (Joutel et al., 1996). De telles mutations pourraient altérer la conformation de la protéine et/ou modifier le traitement post-traductionnel et la destinée de la protéine à la surface cellulaire. Il a été récemment démontré dans des cerveaux de patients atteints de CADASIL une accumulation du produit de clivage de *Notch3* au niveau de la membrane cellulaire des cellules musculaires lisses à proximité du matériel granulaire osmiophile suggérant une élimination anormale du fragment extracellulaire de *Notch3* (Joutel et al., 2000).

CADASIL représente un modèle d'étude particulièrement intéressant pour mieux comprendre l'histoire naturelle et les mécanismes physiopathologiques impliqués dans les démences secondaires aux maladies des petites artères cérébrales. CADASIL peut aussi être considéré comme un excellent modèle d'étude des mécanismes physiopathologiques à l'origine des hypersignaux de la substance blanche fréquemment observés dans d'autres cadres nosologiques comme au cours du vieillissement normal, de la maladie d'Alzheimer, de l'angiopathie amyloïde ou de la maladie de Biswanger.

2.1.2 Imagerie du tenseur de diffusion et CADASIL

Une première étude réalisée avec l'imagerie du tenseur de diffusion dans CADASIL avait montré dans la substance blanche (SB), y compris la SB d'apparence normale sur les séquences pondérées T1 et T2, une augmentation de la diffusion associée à une diminution de l'anisotropie (figure 5) (Chabriat et al., 1999). Ces résultats obtenus in vivo, suggère une perte axonale et/ou myélinique de degré variable et sont en accord avec les données neuropathologiques de la maladie. Ces anomalies microstructurales de la SB apparaissent fortement corrélées à la sévérité du statut clinique des patients.

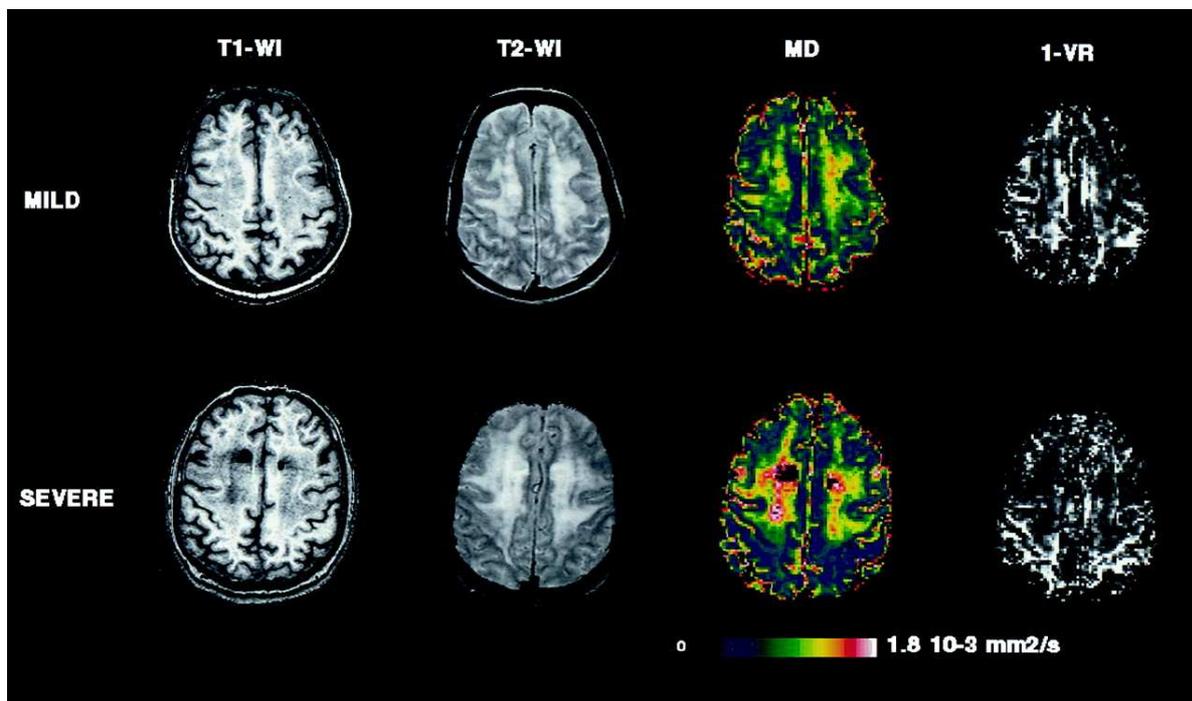


Figure 5 : Image pondérée en T2 , cartographie de la diffusion moyenne et de l'anisotropie chez un patient ayant un tableau clinique modéré et chez un patient dément. Les pixels dont la valeur de diffusivité moyenne dépassait $1,8 \cdot 10^{-3}$ mm²/s ont été exclus (aspect noir identique au LCR). L'augmentation de la diffusion apparaît plus sévère en dehors des infarctus au sein des plages d'hypersignaux observés en pondération T2 au sein de la substance blanche (Chabriat et al., 1999).

2.2 Etude de la substance grise sous-corticale en imagerie du tenseur de diffusion : Phénomènes dégénératifs dans le thalamus secondaire aux lésions de la substance blanche*

2.2.1 Introduction

L'implication du thalamus et des ganglions de la base dans l'apparition des troubles cognitifs dans la pathologie vasculaire cérébrale est bien documentée dans la littérature (Baron et al., 1992). La fréquence des lésions thalamiques au sein des noyaux gris a été ainsi retrouvé de façon constante chez les patients CADASIL ayant un tableau démentiel sévère (Chabriat et al., 1999). L'intégrité de la substance grise sous-corticale, indispensable à l'activité fonctionnelle corticale, apparaît comme essentiel dans le bon fonctionnement des boucles cortico-sous-corticales. Dans la substance grise sous corticale, seuls des infarctus lacunaires ont été rapportés dans CADASIL dans des études d'imagerie "in vivo", ou, en post-mortem (Chabriat et al., 1998; Hedera and Friedland, 1997). L'objectif de ce travail est de rechercher par l'imagerie du tenseur de diffusion des anomalies discrètes se situant à l'échelle de la microstructure tissulaire de la substance grise sous-corticale, qui ne sont pas détectables sur les conséquences conventionnelles. Le rôle de ces éventuelles anomalies microstructurelles dans le statut cognitif des patients sera aussi évalué.

2.2.2 Méthode :

Sujets : Tous les sujets ayant participé à l'étude ont eu un examen neurologique détaillé durant les 2 heures précédant l'IRM incluant une évaluation du handicap fonctionnel avec le score de Rankin et du déficit cognitif avec le score du Mini-Mental-Test (MMS) (Cockrell and Folstein, 1988; De Haan et al., 1995; MacKenzie et al., 1996; Rankin, 1957).

20 patients avec une mutation délétère du gène Notch 3 ont été sélectionnés (âge moyen : $56,8 \pm 8,9$ ans). A l'exception de deux patients, tous avaient des manifestations cliniques de la maladie : 8 avaient eu des crises de migraine avec aura, 14 avaient eu un ou plusieurs accidents ischémiques transitoires ou constitués, 8 présentaient un déficit neurologique focal et 6 patients avaient une démence (MMS < 25 et tous les critères DSM IV) le jour de l'examen. Sept patients avaient un score de rankin >2.

12 sujets sains appariés pour l'âge (âge moyen = $51,4 \pm 10$ ans) ont été sélectionnés à partir des critères suivants: 1) absence d'antécédent vasculaire familial, 2) absence de maladie

* Article en annexe à la fin de la thèse (Molko et al. *Stroke*. 2001 Sep;32(9):2049-54)

neurologique, 3) examen général et neurologique normal, 4) score MMS >28, 5) normalité des séquences IRM T1 et T2.

Un consentement éclairé fut obtenu pour chaque patient. Un comité d'éthique indépendant a approuvé cette étude.

IRM : Les séquences T1 et les séquences pondérées en diffusion ont été acquises avec l'imageur Signa de 1,5 teslas du Service Hospitalier Frédéric Joliot. Les séquences pondérée en T1 ont été acquises dans le plan axial en utilisant une séquence SPGR (spoiled gradient echo sequence) de 124 coupes de 1,2 mm d'épaisseur avec un champ de vue de 24x24 cm et les paramètres suivants : TR= 10,3ms, TE =2,1 ms, TI = 600 ms (résolution spatiale de 0,937 x 0,937 x 1,2 mm). Le temps d'acquisition était de 7 minutes et 38 secondes.

Les images pondérées en diffusion ont été acquises dans le plan axial avec 26 coupes de 5 mm d'épaisseur. Pour chaque niveau, une image T2 sans gradient de diffusion a été systématiquement obtenue suivie de 11 valeurs de b (avec une incrémentation linéaire jusqu'à un maximum de 1000 s/m²) dans 6 directions non colinéaires (x, y, z, xy, xz, yz). L'image avait une résolution de 128 x 128, un champ de vue de 24 x 24 cm, TE = 96,4ms, TR = 3300ms. Le durée totale de l'acquisition de l'imagerie du tenseur était de 8 minutes 12 secondes. Les paramètres du tenseur de diffusion ont été ensuite calculés à partir d'une analyse pixel par pixel. La Trace(D) et VR ont été calculés selon la méthode décrite respectivement par Basser et al et Pierpaoli et al (Basser et al., 1994; Pierpaoli et al., 1996).

Régions d'intérêt (regions of interest ROI) : Pour tous les sujets, les régions d'intérêt ont été délimitées en utilisant un logiciel dédié à la segmentation. Pour le putamen et le thalamus, les ROIs ont été positionnées sur 3 coupes consécutives de façon bilatérale. Bokura et al ont récemment montré dans une étude de corrélation IRM-histologie que la taille moyenne des anomalies de signal correspondant à des infarctus lacunaires était presque toujours supérieure à 2 x 3 mm de diamètre (Bokura et al., 1998). Nous avons donc choisi de définir des ROIs rectangulaires dans le thalamus non infarci (NIT) et le putamen non infarci (NIP) à distance de toute anomalie de signal détectée sur les séquences pondérées en T1 et T2 supérieure à 2 mm et iso intense au liquide céphalorachidien. Le volume d'intérêt délimité de chaque côté variait chez les patients de 316 à 844 mm³ pour le NIT et de 160 à 633 mm³ pour le NIP. Chez les témoins, des régions d'intérêt de taille fixe ont été positionnés de chaque côté dans le thalamus (900 mm³) et le putamen (650 mm³).

Afin d'évaluer les relations possibles entre les modifications de la diffusion dans la substance grise sous corticale et les anomalies microstructurales de la substance blanche, nous avons calculé les index de diffusion dans la substance blanche du centre semi-ovale selon la technique rapportée par Chabriat et al (Chabriat et al., 1999). Cette région de la substance blanche du centre semi-ovale comprenait tous les hypersignaux T2 retrouvés au niveau des 4 coupes axiales situées au-dessus des ventricules latéraux. Sur ces mêmes coupes axiales étaient délimités les infarctus lacunaires typiques. Le volume total de ces lésions était ensuite divisé par le volume hémisphérique calculé sur ces mêmes coupes pour obtenir la charge des infarctus lacunaires du centre semi-ovale comme une fraction du volume hémisphérique de chaque patient.

Analyse statistique : Une analyse de variance a été réalisée pour comparer les paramètres de diffusion, Trace(D) et VR dans le NIT entre les patients et les témoins. Cette analyse a été répétée pour la comparaison des résultats obtenus dans le NIP. Chaque fois, les patients ont été séparés en deux groupes en fonction de la présence ou de l'absence d'au moins un infarctus lacunaire associé dans la structure correspondante. La valeur moyenne de la Trace(D) et VR pour le côté droit et gauche a été utilisé dans le NIP et le NIT.

Le test de Fischer (PLSD) a été utilisé pour l'analyse post hoc des comparaisons multiples en présence d'une différence significative entre les 3 groupes. (patients ayant un ou plusieurs infarctus dans la structure étudiée, patients sans infarctus associé dans la structure étudiée, témoins).

Quand la différence entre les groupes de patients et les témoins n'était pas expliquée par l'association d'un ou de plusieurs infarctus dans la structure étudiée, une corrélation entre les paramètres significatifs de diffusion de la structure et les paramètres de diffusion dans la substance blanche a été recherchée par une analyse par régression linéaire multiple, incluant l'âge comme covariable. Une corrélation similaire a été recherchée entre les mêmes paramètres de diffusion et la charge lésionnelle des infarctus lacunaires de la SB. Enfin, une corrélation avec le score MMS a été recherchée par un test de corrélation des rangs de Spearman.

Les valeurs de $p < 0,05$ étaient considérées comme significatives. Les résultats sont représentés par : moyenne \pm écart type. Les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le logiciel Statview (Abacus Concepts Inc, Berkeley, CA).

2.2.3 Résultats :

Imagerie T1 et T2:

Dans le centre semi-ovale, tous les patients avaient des hypersignaux T2, diffus (n = 18) ou punctiformes (n = 2).

Dans le thalamus, 11 patients avaient des anomalies de signal identiques au liquide céphalo-rachidien sur les séquences pondérées T1 et T2 (bilatérales dans 8 cas, unilatérales dans 3 cas). 5 autres avaient un signal hétérogène dans le thalamus sur les images pondérées T2 sans anomalies visibles sur les images pondérées en T1. Le thalamus était d'apparence normale sur les séquences pondérées T1 et T2 chez 4 patients.

Dans le putamen, 13 patients avaient des anomalies de signal identiques au liquide céphalo-rachidien sur les séquences pondérées T1 et T2 (bilatérales dans 9 cas, unilatérales dans 4 cas). Les 7 autres patients avaient des anomalies punctiformes seulement visibles sur les images pondérées en T2.

Imagerie du tenseur de diffusion:

L'analyse de variance a montré que les valeurs moyennes de la Trace(D) et du VR différaient significativement dans les 3 groupes au sein du thalamus et du putamen.

Dans le NIP, La Trace(D) était de $3,071 \pm 0,754 \cdot 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ en présence d'infarctus associé, de $2,513 \pm 0,420 \cdot 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ en l'absence d'infarctus associé, et de $2,097 \pm 0,157 \cdot 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ chez les témoins. L'analyse post hoc a montré que, chez les patients, seule la Trace(D) calculée en présence d'infarctus associé(s) dans le putamen différait significativement de la Trace(D) calculée chez témoins ($p < 0,0001$). La différence entre les deux groupes de patients était aussi significative ($p < 0,05$). Des résultats similaires ont été obtenus pour le VR mesuré dans le NIP (infarctus associé(s) : $0,948 \pm 0,023 \cdot 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ ($p = 0,01$), absence d'infarctus associé : $0,923 \pm 0,027 \cdot 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, témoins : $0,925 \pm 0,16 \cdot 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$). Individuellement, la valeur de la Trace(D) de 12 des 20 patients se situait hors de l'intervalle de confiance à 95% de la valeur moyenne des témoins (figure 6 et 8).

Dans le NIT, la Trace(D) était significativement augmentée à la fois en présence (NIT+ : $3,0004 \pm 0,425 \cdot 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, $p=0,02$) et en l'absence d'infarctus associé(s) (NIT- : $3,823 \pm 0,73 \cdot 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, $p=0,01$) comparativement aux témoins ($2,193 \pm 0,085 \text{ mm}^2/\text{s}$) (figure 7 et 8). La différence entre les 2 groupes de patients n'était pas significative. De façon similaire, la valeur moyenne du VR était significativement augmentée en présence ($0,920 \pm 0,027 \cdot 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$, $p < 0,0001$) et en absence d'infarctus associé(s) ($0,930 \pm 0,021 \cdot 10^{-3}$

mm²/s, p=0,003) comparativement aux témoins ($0,881 \pm 0,018 \cdot 10^{-3}$ mm²/s). Individuellement, la valeur de la Trace(D) de tous les patients se situait au dessus des limites supérieures de l'intervalle de confiance à 95% de la valeur moyenne des témoins.

L'examen visuel des cartes de Trace(D) chez 5 de nos patients a révélé une augmentation plus importante de la Trace(D) de façon homolatérale à un infarctus du bras antérieur de la capsule interne (figure 9). Nous avons suivi au cours du temps un patient présentant une aggravation progressive des lésions tissulaires au niveau du centre semi-ovale droit secondaire à sténose de l'artère sylvienne droite. La figure 10 montre chez ce patient l'existence d'une augmentation asymétrique de la diffusion (droit > gauche) de façon ipsilatérale aux lésions centre semi-ovale. De façon plus intéressante, le suivi évolutif de ce patient sur 3 ans montrent une aggravation de l'asymétrie des valeurs de la Trace(D) dans thalamus. La suggestion par ces patients d'un lien entre les valeurs de diffusion dans le thalamus et le centre semi-ovale nous a amené à rechercher une corrélation entre les indices d'asymétrie droit/gauche de ces paramètres. Les indices d'asymétrie de la Trace(D) calculés dans la substance blanche étaient significativement corrélés aux indices d'asymétrie dans le NIT ($r=0,56$, $p=0,01$) mais pas à ceux calculés dans le NIP ($p=0,3$). Une corrélation similaire a été trouvée avec les indices d'asymétrie du VR calculés dans la SB ($r=0,554$, $p=0,01$).

D'autres part, l'augmentation de la Trace(D) dans le NIT était positivement corrélée à fois l'augmentation de la Trace(D) ($r = 0,7$, $p = 0,0006$) (figure 11) et du VR ($r = 0,55$, $p = 0,01$) aussi bien qu'à la charge lésionnelle des infarctus lacunaires ($r = 0,67$, $p = 0,004$) dans le centre semi-ovale. Une analyse de régression multiple montre ces résultats sont indépendants de l'âge des sujets.

Enfin, la Trace(D) dans le NIT mais pas dans le NIP était trouvée négativement corrélée au score MMS ($r = -0,45$, $p = 0,05$). Une tendance non significative pour une corrélation entre la Trace(D) dans le NIT et le Rankin score est aussi observé ($r = 0,4$, $p = 0,75$).

Figure 6: Valeur moyenne et individuelle de la Trace(D) dans le putamen non infarci (NIP) en présence (+) ou en absence (-) d'infarctus associé (analyse de variance). La valeur moyenne de Trace(D) dans le NIP différait des témoins seulement en présence d'infarctus associé (***, $p < 0.0001$). La différence entre les deux groupes de patients était aussi significative (\dagger , $p < 0.05$). L'aire en gris représente la limite de l'intervalle de confiance à 95% de la valeur moyenne des témoins.

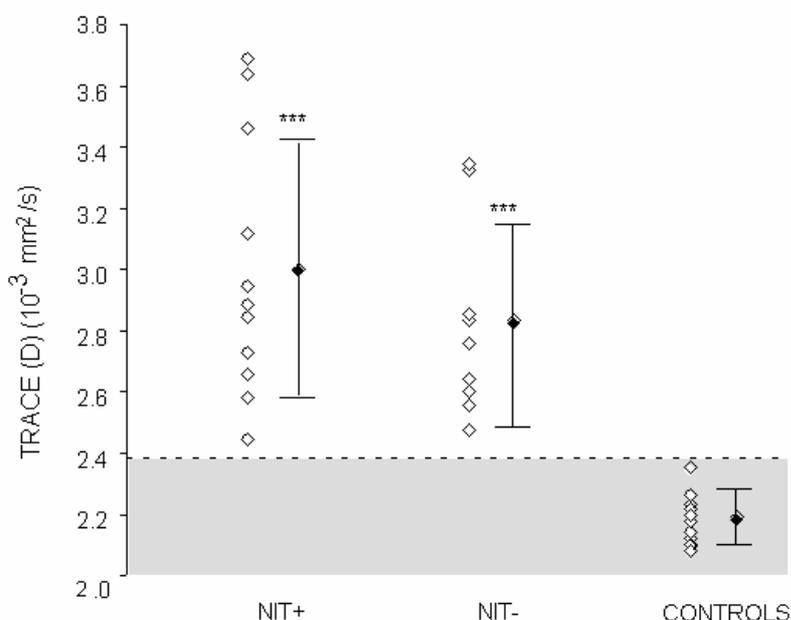
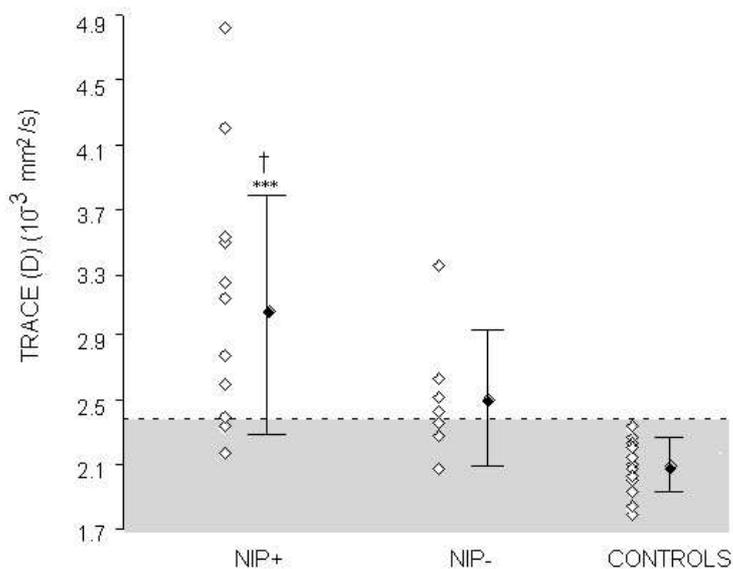


Figure7: Valeur moyenne et individuelle de la Trace(D) dans le thalamus non infarci (NIT) en présence (+) ou en l'absence (-) d'infarctus associé(s) (analyse de variance). La valeur moyenne de la Trace(D) différait de la valeur moyenne des témoins en présence et en absence d'infarctus associé(s) (***, $p < 0.0001$). Il n'existait pas de différence entre les groupes de patients. Notez que la valeur de la Trace(D) de tous les patients se situait en dehors de l'intervalle de confiance à 95% de la valeur moyenne des témoins.



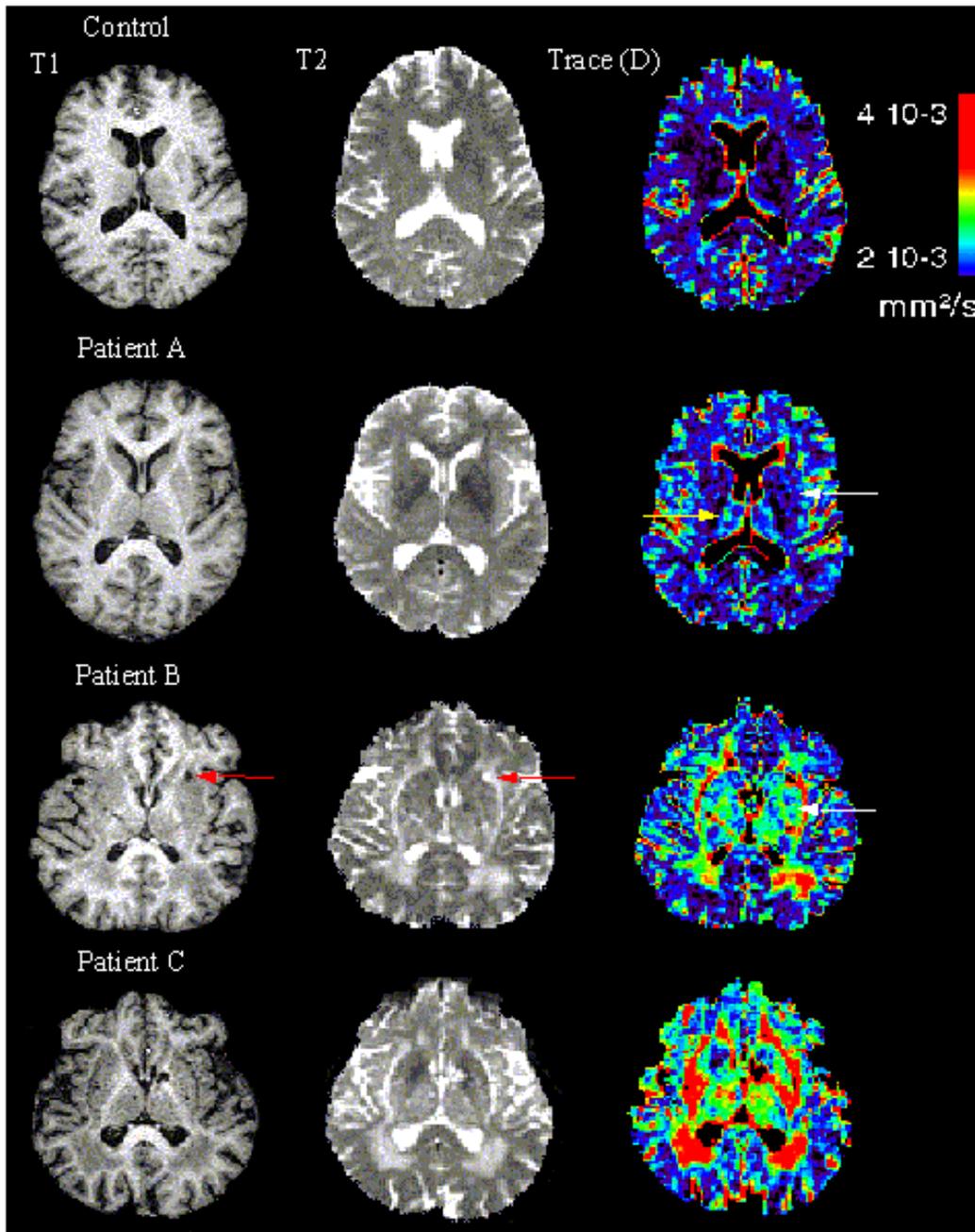


Figure 8 : Images pondérées en T1, T2, et cartes de la Trace(D) chez un témoin et trois patients CADASIL. Chez le patient A, patient asymptotique, (deuxième rangée) on observe une augmentation de la Trace(D) dans le thalamus (flèche jaune) alors que les valeurs apparaissent normales dans le putamen (flèche blanche). Les patients B et C sont symptomatiques. Chez le patient B, une augmentation de la diffusion est observée dans le putamen (flèche blanche) à distance d'un petit infarctus (flèches rouges). Chez le patient C, une augmentation diffuse de la diffusion est observée dans le putamen et dans le thalamus en l'absence d'infarctus typique. A noter chez ce patient des anomalies modérées de signal sur les séquences T2 au sein du thalamus.

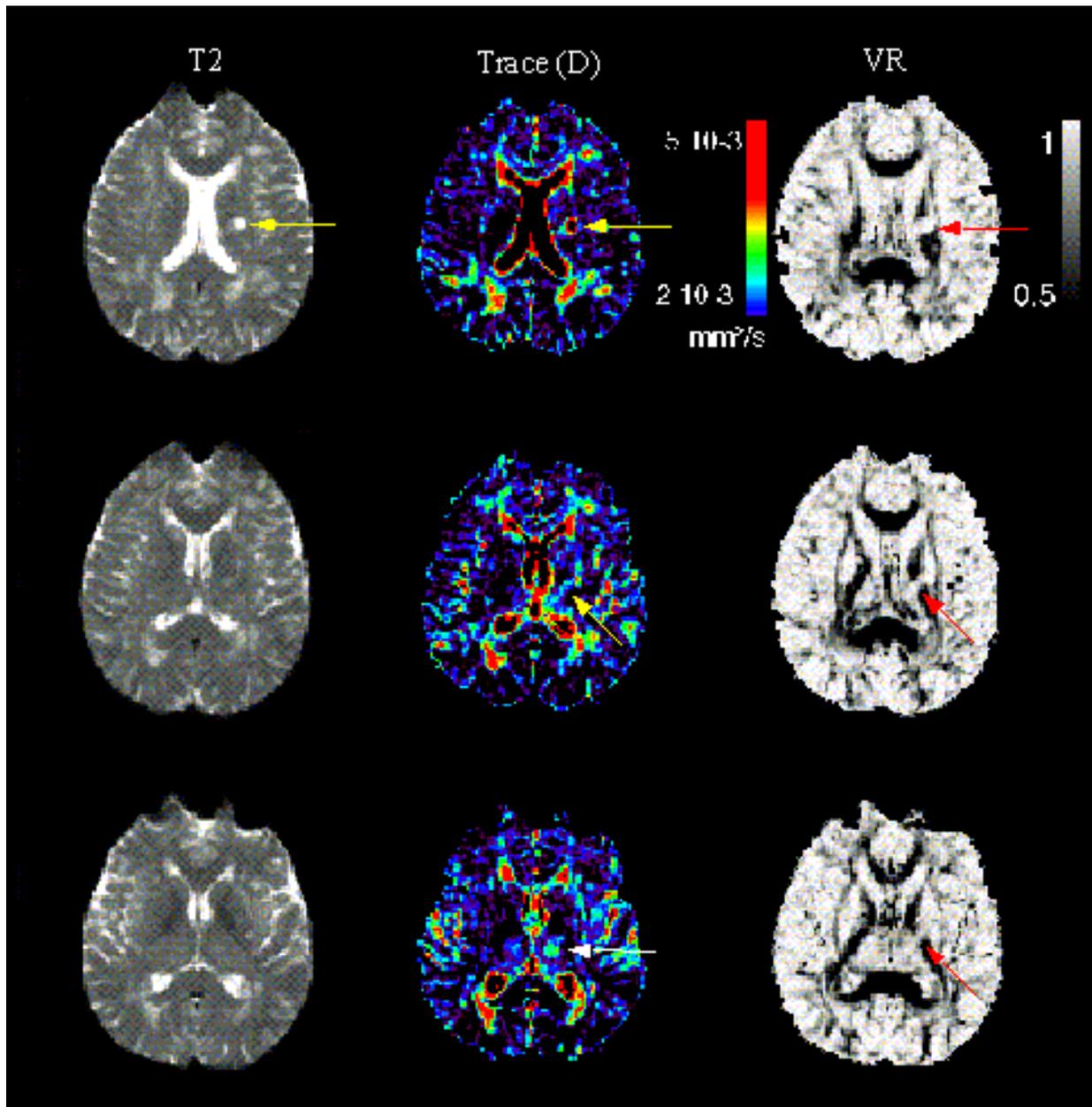


Figure 9 : Séquence T2 et carte de la Trace(D) et de l'anisotropie (VR) d'un patient ayant un infarctus lacunaire du bras antérieur de la capsule interne gauche (flèches, première rangée). Entre l'infarctus et le thalamus, une augmentation de forme linéaire de la diffusion avec une perte d'anisotropie (flèches, seconde rangée) est observée. Au niveau du thalamus qui apparaît normal sur les séquences T2, l'augmentation de la diffusion est plus importante du côté de l'infarctus capsulaire

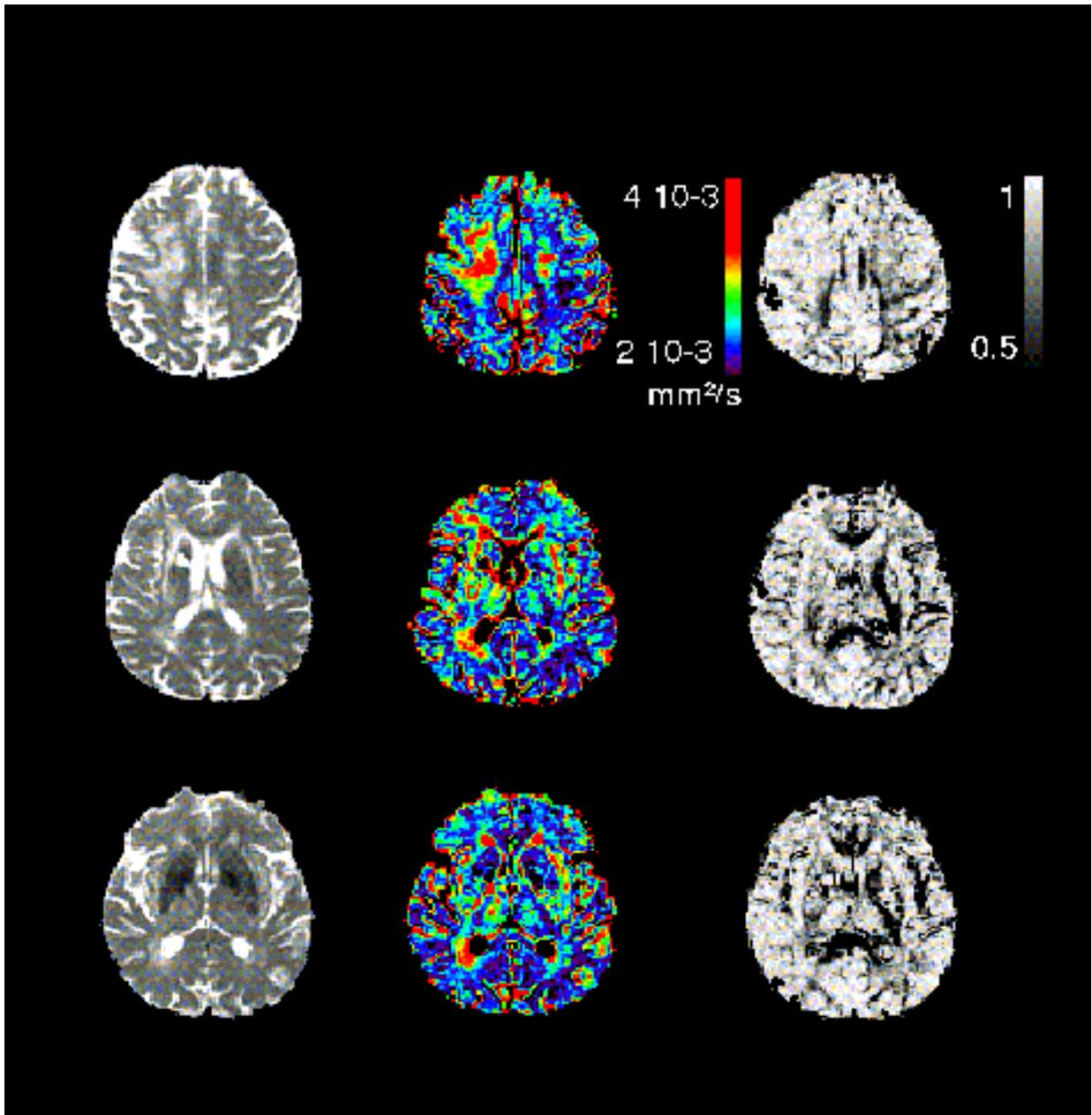


Figure 10 : Séquence T2 et carte de la Trace(D) et d'anisotropie (VR) d'un patient avec une importante asymétrie des lésions de la substance blanche du centre semi-ovale. Du côté où les lésions du centre semi-ovale sont les plus importantes, notez l'importante de la perte d'anisotropie dans le bras antérieur et postérieur de la capsule interne (flèches rouges) où sont concentrées les radiations thalamiques. Il existe aussi une asymétrie franche de la Trace(D) dans le thalamus (flèche blanche) du même côté.

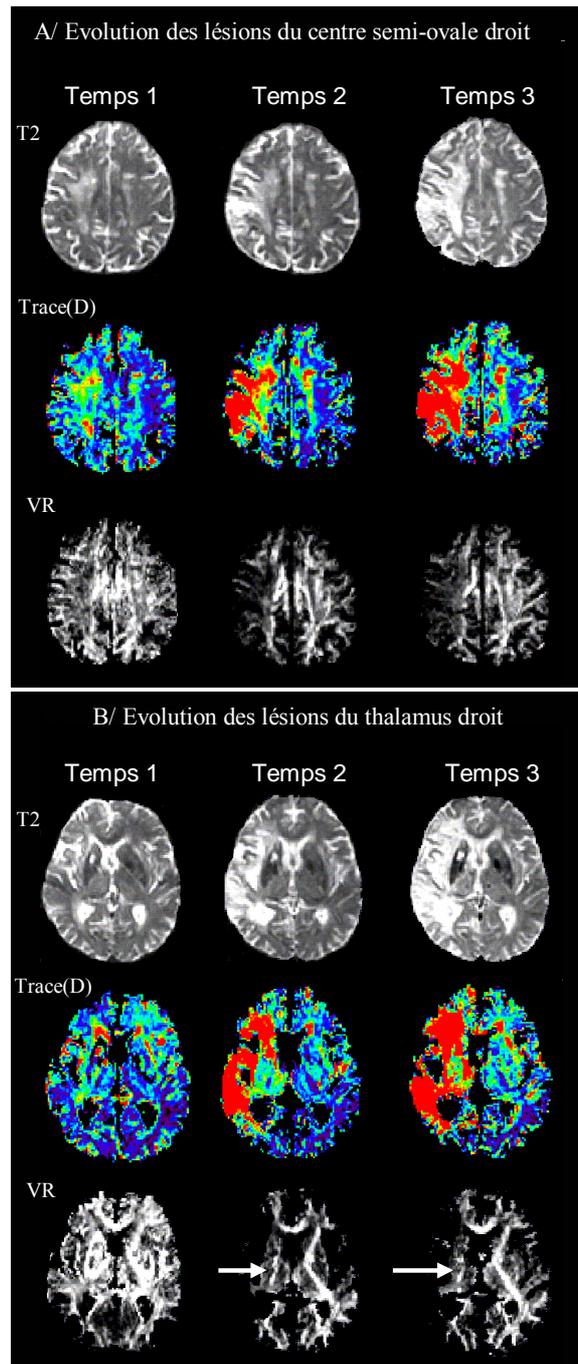


Figure 11 : A/ Evolution des lésions du centre semi-ovale droit sur les images T2 en rapport avec la progression d’une sténose de l’artère sylvienne droite. Les images de diffusion montrent une augmentation progressive de la Trace(D) associée à une diminution de l’anisotropie de la diffusion. B/ De façon parallèle à l’augmentation des lésions dans le territoire sylvien droit, augmentation de la Trace(D) dans le thalamus droit. On note aussi une perte d’anisotropie progressive dans la capsule interne droite qui est déplacée dans une position plus interne, comparée au côté gauche, en rapport avec une atrophie thalamique majeur (flèches).

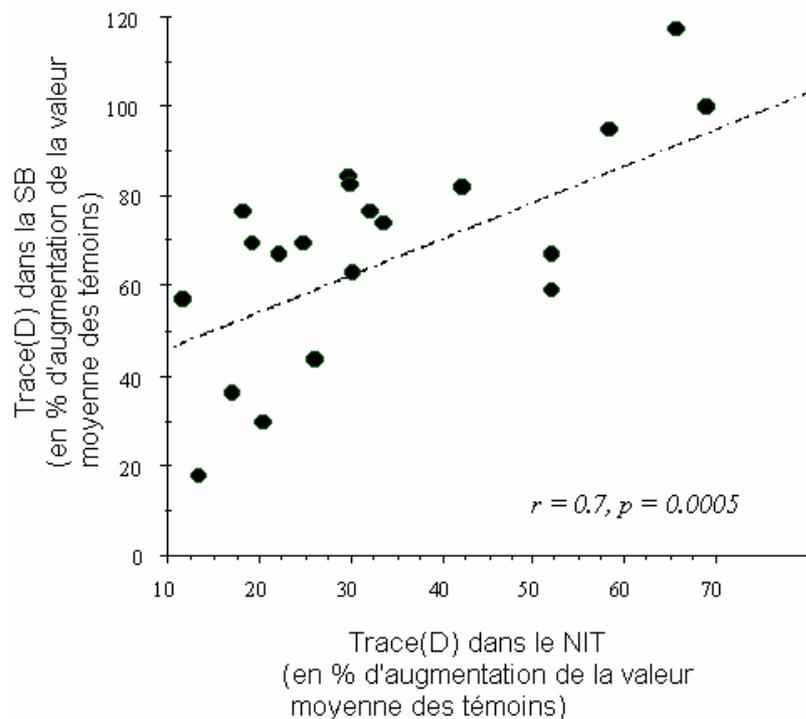


Figure 12 : Corrélation entre la Trace(D) dans le NIT et dans la substance blanche (SB) du centre semi-ovale. L'analyse de régression linéaire montre que la Trace(D) dans le NIT et dans la substance blanche du centre semi-ovale sont corrélés positivement ($r =$ coefficient de régression)

2.2.4 Discussion :

L'implication du thalamus et des ganglions de la base dans les démences vasculaires est bien documenté (Baron et al., 1992). Cependant, la grande majorité des études histologiques des noyaux sous corticaux dans CADASIL ou dans d'autres artériopathies cérébrales ont été consacrées à l'étude des infarctus lacunaires (Baron et al., 1992; Chabriat et al., 1998; Hedera and Friedland, 1997). Notre travail, réalisé in-vivo à l'aide de l'imagerie du tenseur de diffusion, permet de mieux comprendre les modifications de microstructure tissulaire, dans les régions non-infarctées de la substance grise sous corticale au cours d'une maladie des petites artères cérébrales.

Nos résultats montrent une augmentation de la diffusion de l'eau dans le NIT et le NIP de patients ayant un CADASIL. Cette augmentation est détectée dans des zones d'apparence normale sur les images pondérées en T1 mais pouvant présenter de discrètes anomalies de signal sur les images pondérées en T2. L'augmentation de la diffusion de l'eau est en moyenne de 35% dans les deux structures étudiées mais peut varier dans chacune des structures, de 13 à

69% dans le NIT et de 0 à 113% dans le NIP. A l'inverse de l'ischémie aiguë produisant une réduction massive de la mobilité de l'eau, principalement liée à la réduction de l'espace extracellulaire et à l'œdème cytotoxique (Hossmann and Hoehn-Berlage, 1995; Moseley et al., 1990a; Moseley et al., 1990b), les modifications de diffusion observées dans notre étude sont probablement secondaires à la perte des barrières membranaires cellulaires limitant les mouvements de l'eau (Chabriat et al., 1999; Jones et al., 1999; Le Bihan et al., 2001). De plus, l'anisotropie des mouvements des molécules d'eau est diminuée dans le NIP et le NIT comparativement aux témoins ce qui suggère des modifications importantes de l'architecture tissulaire au sein du thalamus et du putamen. Des études post-mortem avaient déjà montré une perte plus ou moins sévère des composants structurels tels les astrocytes, les oligodendrocytes, les neurones ou la myéline dans le tissu cérébral de patients CADASIL (Baudrimont et al., 1993; Davous and Fallet-Bianco, 1991; Ruchoux et al., 1995). Nous pensons que des modifications tissulaires du même ordre seraient à l'origine de l'augmentation majeure de la diffusion observée dans le NIT et le NIP chez nos patients.

Dans le NIP, l'augmentation de la diffusion apparaît significative seulement en présence d'infarctus associé dans le putamen. Ces résultats suggèrent que les altérations microstructurales à l'origine de l'augmentation de la diffusion et les infarctus lacunaires pourraient avoir une physiopathologie commune. Les modifications de la diffusion pourraient avoir une origine ischémique et refléter différents degrés de perte tissulaire avant la progression vers la cavitation. Chez l'homme, Lammie et al ont décrit dans une étude post-mortem, des lésions qualifiées d'« infarctus lacunaires incomplets » associant une perte neuronale sélective de degré variable et une démyélinisation au sein des noyaux gris associés à des infarctus lacunaires typiques et/ou à une artériolosclérose sévère (Lammie et al., 1998). Des lésions identiques ont été observées chez une patiente décédée d'une maladie de type CADASIL (Ruchoux, résultats non publiés). Par ailleurs, dans des modèles expérimentaux d'hypoperfusion chronique, des altérations tissulaires de degré variable ont été rapportées en fonction de la durée et de l'amplitude de la réduction du débit sanguin cérébral chez l'animal (Kudo et al., 1993; Kurumatani et al., 1998; Sekhon et al., 1997). Certaines modifications histologiques comme la disparition des dendrite apicaux, la perte neuronale, la gliose ou la démyélinisation pourraient rendre compte de modifications de la diffusion de l'eau telles qu'elles sont observées dans notre étude (Kudo et al., 1993; Kurumatani et al., 1998). L'hypothèse d'une souffrance ischémique prolongée du tissu cérébral et plus particulièrement au sein des noyaux gris dans CADASIL est corroborée par le caractère diffus de l'atteinte vasculaire qui dépasse largement les seules zones infarctées (Ruchoux et al., 1995; Ruchoux

and Maurage, 1997), la réduction diffuse du débit sanguin cérébral avec une augmentation de l'extraction d'oxygène cérébral rapportés au niveau sous cortical (Chabriat et al., 1995; Chabriat et al., 2000). Les anomalies microstructurales à l'origine de l'augmentation de la diffusion dans le NIP pourraient aussi être en rapport avec une augmentation du nombre des espaces dilatés périvasculaires de taille microscopique (lacunes de type III (Poirier and Derouesné, 1984)). Un grand nombre de ces lésions (diamètre < 200 µm) a été observé par Ruchoux et al dans le putamen d'un patient ayant un CADASIL (Ruchoux and Maurage, 1997). Nous ne pouvions pas détecter de telles lésions sur l'imagerie classique pondérée en T1 et T2 en raison de la résolution spatiale limitée de notre technique. D'autre part, nous n'avons pas exclu les anomalies punctiformes de diamètre inférieur à 2 mm dans notre stratégie de positionnement des régions d'intérêt. Récemment, Bokura et al ont montré dans une étude post-mortem que la plupart des hypersignaux de diamètre inférieur à 2 mm correspondaient effectivement principalement à des espaces dilatés de Virchow Robin (Bokura et al., 1998). Des travaux complémentaires basées sur des corrélations entre les données d'imagerie et l'histologie sont donc nécessaires pour préciser l'origine précise de l'augmentation de la diffusion observée au sein du NIP.

Dans le NIT, l'augmentation de la diffusion de l'eau pourrait être secondaire à des mécanismes similaires à ceux envisagés pour le NIP. Cependant, nous avons noté quelques différences majeures entre les résultats obtenus dans le NIT et le NIP. D'abord, contrairement aux résultats obtenus dans le NIP, la diffusion dans le NIT apparaît significativement augmentée à la fois en présence et en absence d'infarctus associé(s) dans le thalamus. De plus, à l'inverse de l'augmentation de la diffusion retrouvée chez 12/20 patients dans le NIP, l'augmentation de la diffusion apparaît constante dans le NIT. Elle est ainsi observée chez nos deux patients asymptomatiques. Cette augmentation de la diffusion dans le NIT peut être observée en l'absence de toute anomalie de signal IRM sur les images pondérées en T1 et T2. Les mécanismes à l'origine des modifications de la diffusion dans le thalamus et dans le putamen semblent donc différer. Nos résultats suggèrent que des modifications de la diffusion dans le thalamus seraient secondaires à des lésions distantes de la substance blanche. Chez cinq de nos patients, les cartes de diffusion montrent une augmentation plus importante de la Trace(D) dans le thalamus homolatéral à un infarctus du bras antérieur de la capsule interne où d'importantes radiations thalamiques sont concentrées. Chez trois de ces patients, une augmentation de la diffusion et une perte de l'anisotropie de forme linéaire reliant l'infarctus au thalamus du même côté apparaît évident. De plus, le suivi longitudinal d'un patient avec une aggravation progressive des lésions tissulaires au niveau du centre semi-ovale montre une

augmentation parallèle de la diffusion dans le thalamus qui s'atrophie progressivement. Ces résultats suggèrent fortement le rôle de la destruction des faisceaux de la SB dans l'émergence de lésions secondairement dégénératives au niveau des thalamus. Des anomalies observées dans le thalamus à distance d'une lésion ischémique ont été rapportées par de nombreux auteurs (Nordborg and Johansson, 1996; Ogawa et al., 1997; Tamura et al., 1991). Dans les modèles expérimentaux d'occlusion de l'artère cérébrale moyenne, une diminution précoce de l'activité métabolique est suivie d'une perte neuronale progressive avec une gliose aboutissant à une atrophie progressive du thalamus (Watanabe et al., 1998). Des résultats similaires ont été rapportés chez l'homme par Ogawa et al (Ogawa et al., 1997). *Ces anomalies tissulaires thalamiques sont attribuées principalement à la dégénérescence rétrograde des neurones thalamo-corticaux (Fujii et al., 1990; Kataoka et al., 1989; Ogawa et al., 1997; Watanabe et al., 1998).* Dans notre étude, le lien entre la diffusion dans le thalamus et les lésions à distance est corroboré par la corrélation significative des index d'asymétrie de diffusion dans le thalamus et dans la substance blanche du centre semi-ovale. En effet, cette relation peut aussi être expliquée par la dégénérescence des radiations thalamiques qui traversent de façon diffuse et abondante le centre semi-ovale. Ces phénomènes secondairement dégénératifs dans le thalamus sont aussi suggérés par la corrélation observée entre la diffusion mesurée dans le centre semi-ovale, la charge en infarctus lacunaires du centre semi-ovale et la diffusion mesurée dans le NIT. Nous avons détecté une augmentation de diffusion bilatérale dans le NIT chez nos deux patientes asymptomatiques qui ont des anomalies de signal T2 punctiformes au sein de la substance blanche en l'absence de tout infarctus cérébral. Il est donc possible qu'une raréfaction axonale isolée au sein de la substance blanche puisse être responsable de modifications tissulaires très précoces au sein du thalamus. *En résumé, nos résultats suggèrent que la destruction de faisceaux de la substance blanche pourrait avoir des conséquences au niveau microstructural au sein de structures connectées mais situées à distance de ces lésions.. Le thalamus, qui est un relais majeur pour de nombreux faisceaux de SB, pourrait être particulièrement sensible à ce type de lésions.*

L'augmentation de la diffusion dans le NIT mais pas celle observée dans le NIP apparaît corrélée au score du MMS. Ces résultats rappellent les données des travaux précédents concernant l'étude de la diffusion de la substance blanche du centre semi-ovale (Chabriat et al., 1999). Ils soulignent *l'importance de l'intégrité du réseau thalamo-cortical dans le statut clinique des patients CADASIL.* Plusieurs auteurs ont précédemment rapporté un déclin progressif des capacités fonctionnelles et cognitives des patients CADASIL (Hedera and Friedland, 1997). *Nous pensons que les processus dégénératifs secondaires suggérés par*

notre étude pourraient être impliqués dans ce déclin progressif des capacités fonctionnelles et cognitives. Cette problématique mérite d'être explorée dans l'avenir et pourrait ouvrir des perspectives intéressantes sur le plan thérapeutique, en particulier dans le cadre d'une neuroprotection (Novikova et al., 2000; Weiss and Sensi, 2000).

2.3 Mesure de la progression des lésions tissulaires dans CADASIL : étude longitudinal sur 3 ans*

2.3.1 Introduction:

Les modifications tissulaires observés au cours de la maladie d'alzheimer ont fait l'objet de nombreux travaux d'imagerie à la recherche de marqueurs sensibles et spécifiques qui pourrait être utile dans des perspectives de thérapeutiques préventives (Adalsteinsson et al., 2000; Fox et al., 2001). Dans le cadre des démences vasculaires liés aux maladies des petits vaisseaux, l'évolution naturelle des lésions tissulaire reste mal connue contenue de l'hétérogénéité de la pathologie vasculaire et de la fréquente association des lésions de vasculaires et de la maladie d'alzheimer après 70 ans (démence mixte). CADASIL apparaît comme un modèle intéressant pour la compréhension des mécanismes physiopathologiques impliqués dans les démences vasculaires liés aux petits vaisseaux pour différentes raisons. D'abord, CADASIL est une maladie génétique secondaire à des mutations du gène Notch3 qui affecte de façon élective les cellules musculaires lisses de la paroi vasculaire (Joutel et al., 2000). Les démences observées au cours de la maladie de CADASIL constituent ainsi un groupe de démence homogène dont l'origine est purement vasculaire. Ensuite, le suivi de patients asymptomatiques rend possible l'étude des modifications tissulaires à un stade précoce de la maladie bien avant la survenue de la démence vasculaire (Joutel et al., 1997). Enfin, les lésions tissulaires observés au cours de la maladie de CADASIL sont non-spécifiques et ont un aspect similaire aux lésions retrouvées dans les autres artériopathies (Baudrimont et al., 1993; Joutel et al., 1997; Ruchoux and Maurage, 1997).

Le but de cette étude longitudinale est d'évaluer la sensibilité de l'imagerie du tenseur de diffusion pour mesurer la progression des lésions microstructurales dans la maladie de CADASIL.

* Article en annexe à la fin de la thèse (Molko et al. *Stroke*. 2002 Dec;33(12):2902-8)

2.3.2 Méthodes :

Sujets : 22 patients (âge moyen : 54 ± 11 ans) avec une mutation délétère du gène Notch3 ont été inclus dans cette étude et ont passé une première IRM cérébrale (IRM-1). Parmi ces patients, 14 ont été inclus dans l'étude de suivi et ont passé une deuxième IRM (IRM-2) entre 1 et 2 ans après la première IRM (délai moyen $21 \text{ mois} \pm 6 \text{ mois}$). Une troisième IRM cérébrale (IRM-3) a été réalisée chez 7 d'entre eux $14 \text{ mois} \pm 1 \text{ mois}$ après la deuxième IRM. 12 contrôles appariés pour l'âge (âge moyen : 51 ± 11 ans) et sans antécédent neurologique ou psychiatrique ont été sélectionnés. 5 de ces sujets contrôles (âge moyen : 44 ± 14 ans) ont été inclus dans l'étude de suivi avec une deuxième IRM $29 \text{ mois} \pm 6 \text{ mois}$ après la première IRM.

Tous les sujets ayant participé à l'étude ont eu un examen neurologique détaillé durant les 2 heures précédant chaque IRM incluant une évaluation du handicap fonctionnel avec le score de Rankin et du déficit cognitif avec le score du Mini-Mental-Test (MMS) (Cockrell and Folstein, 1988; De Haan et al., 1995; MacKenzie et al., 1996; Rankin, 1957).

Un consentement éclairé fut obtenu pour chaque patient. Un comité d'éthique indépendant a approuvé cette étude.

MRI : Le protocole d'imagerie est identique celui à celui utilisé dans l'étude précédente concernant la substance grise sous-corticale.

Histogrammes : Un même examinateur a produit pour chaque sujet des histogrammes des valeurs de la Trace(D) mesurés sur le cerveau entier après avoir éliminé le signal provenant des tissus extracérébraux et du liquide céphalo-rachidien en utilisant un logiciel dédié à la segmentation. Les histogrammes de Trace(D) ont été réalisés pour chaque sujet avec un largeur de bin de $0.08 \text{ mm}^2 / \text{s}$ pour des valeurs de Trace(D) allant de 0 à $8 \cdot 10^{-3} \text{ mm}^2 / \text{s}$. Afin de corriger pour les différences de volume de cerveau entre les sujets, les histogrammes de Trace(D) ont été normalisés pour le nombre de voxels correspondant au volume global du cerveau. Pour chaque histogramme, les paramètres suivants ont été extraits : la hauteur du pic, i.e la proportion des pixels avec la valeur la plus représentée de diffusion, le pic location, i.e la valeur de diffusion la plus représentée, et la valeur moyenne. La fiabilité de la procédure a été évaluée par deux examinateurs sur sept sujets sélectionnés au hasard. Le coefficient de variation intra et inter-examinateur du nombre de voxels sélectionnés est inférieur à 1%

(respectivement 0,4 et 0,9%). La variabilité intra et inter-examineur des différents paramètres dérivés des histogrammes est respectivement pour la valeur moyenne de la Trace(D) de 0,4 et 0,5 %, pour la hauteur du pic de 0,8 et 0,7 % , pour la localisation du pic de 0,3 et 0,3 %.

Analyses statistiques : Les paramètres de diffusion obtenus avec l'IRM-1 chez les patients et les contrôles ont été comparés en utilisant un test de Student. Les paramètres de diffusion des sujets inclus dans l'étude de suivi ont été analysés par une ANOVA avec un facteur groupe (patients et contrôles) et facteur temps (IRM-1 et IRM-2). Les analyses Post-hoc ont été réalisées en utilisant des t-test pour comparer les moyennes entre les groupes. Dans le sous groupe avec 7 patients, les variations des paramètres de diffusion entre chaque IRM ont été analysés en utilisant des tests de t appariés. Enfin, le test des rangs de Spearman a été utilisé pour rechercher une corrélation entre les paramètres de diffusion et les scores cliniques de Rankin et du MMS. Les valeurs de $p < 0,05$ ont été considérées comme significative. Les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le logiciel Statview (Abacus Concepts Inc, Berkeley, CA).

2.3.3 Résultats :

Résultats cliniques :

Le Tableau 1 résume les principales caractéristiques des patients inclus dans l'étude longitudinale. Durant la période de l'étude, nous avons observé cinq nouveaux accidents ischémiques (3 transitoires et 2 constitués) qui sont survenus chez 4 patients. A l'état basal lors de l'IRM-1, les scores du MMSE et du Rankin évalués chez les 22 patients sont respectivement de $25,3 \pm 7,8$ et $1,95 \pm 1,35$. Dans le groupe des patients qui ont eu deux examens, aucun changement de ces scores n'a été observé entre l'IRM-1 et l'IRM-2. De façon similaire, dans le sous-groupe de 7 patients qui ont passé les trois examens, ces scores sont aussi restés inchangés entre l'IRM-1 et l'IRM-2. Par contre entre l'IRM-2 et l'IRM-3, le score de Rankin a significativement augmenté dans ce sous groupe (médiane et valeurs extrêmes: 1 [1-3] vs 2 [1-4], $p = 0,03$) alors que le score du MMSE est resté stable.

Tableau 1 : Principales caractéristiques des patients inclus dans l'étude de suivi

age	M/F	mutation (exon/position)	Initial Rankin score	Final Rankin score	Initial MMSE score	Final MMSE score	time interval between MRI 1 and 2 (months)	time interval between MRI 2 and 3 (months)	New clinical stroke
58	M	4/475	1	2	25	27	23	14	1 transient and 1 completed
64	M	3/406	1	1	29	30	24	13	
66	F	3/406	3	4	29	28	24	14	
66	M	23/1261	5	5	17	8	27		
63	M	4/622	1	2	28	25	44		
43	M	4/622	1	1	27	28	23		
58	M	4/622	1	1	29	26	29		
67	F	23/3859	5	5	0*	0*	25		
54	F	18/3031	1	1	30	29	20	16	
65	M	4/deletion419-439	3	3	18	25	20		transient
48	M	4/499	2	3	29	17	12	14	
60	M	3/406	1	2	27	27	12	14	completed
48	F	4/622	1	1	30	30	12	13	transient
44	M	4/631	1	1	30	30	18		

Etude IRM :

Dans le groupe témoin, les valeurs de la diffusion de la Trace(D) se situent dans des gammes de valeurs étroites. L'histogramme moyen de Trace(D) des témoins est caractérisé par un pic étroit et les coefficients de variation des paramètres dérivés des histogrammes sont faibles (respectivement 2,6%, 5% et 3% pour la valeur moyenne, la localisation du pic et la hauteur du pic). Comparé aux témoins, l'histogramme moyen de la Trace(D) des patients CADASIL a une distribution des valeurs de diffusion plus large (Figure 1A). La hauteur du pic est significativement diminuée (7.3% vs 11.1%, $p < 0.0001$) et le pic est déplacé vers des valeurs de diffusion plus élevées (2.43 vs 2.22 10^{-3} mm²/s) (Tableau 2). La valeur moyenne de l'histogramme de Trace(D) est significativement plus élevée chez les patients CADASIL que chez les témoins (2.82 ± 0.27 vs 2.43 ± 0.06 10^{-3} mm²/s, $p < 0.0001$) (Tableau 2).

L'ANOVA réalisée pour les sujets inclus dans l'étude longitudinale montre qu'il existe à la fois un effet groupe pour les différents paramètres dérivés de l'histogramme de Trace(D) et un effet temps (Tableau 2). L'analyse post-hoc indique qu'il existe chez entre l'IRM-1 et l'IRM-2 une diminution de la hauteur du pic associée à une augmentation de la valeur moyenne de l'histogramme de Trace(D) alors qu'aucune modification significative n'est observé dans le groupe témoin (Tableau 2 et Figure 1B).

Dans le sous groupe des 7 patients ayant passé trois examens, les modifications observés entre l'IRM-1 et l'IRM-2 sont identiques à celle du groupe entier (valeur moyenne 2.74 ± 0.18 vs 2.80 ± 0.2 , $p = 0.04$; hauteur du pic : 0.80 ± 0.20 vs 0.73 ± 0.20 , $p = 0.01$). Des changements similaires des paramètres de diffusion sont encore observés entre l'IRM-2 et l'IRM-3, avec une diminution de la hauteur du pic associée à une augmentation de la valeur moyenne de l'histogramme de Trace(D) (MRI 3 : valeur moyenne : 2.97 ± 0.29 , $p = 0.001$; hauteur du pic : 0.65 ± 0.02 , $p = 0.006$) (Figure 1C).

Une analyse de régression multiple montre que les variations de la valeur moyenne de l'histogramme de Trace(D) entre l'IRM1 et l'IRM-2 sont fortement corrélées avec la valeur moyenne de l'histogramme de Trace(D) mesurée lors de l'IRM-1 (n = 14 patients, r = 0.63, p = 0.01). Les valeurs individuelles de la Trace(D) sont présentées Figure 2, montrant que les variations les plus importantes de la Trace(D) surviennent chez les patients ayant les valeurs de Trace(D) les plus élevées lors de l'examen initial. Cet effet apparaît indépendant de l'âge et du délai entre les examens. L'inspection visuelle des cartes de Trace(D) illustre ce résultat montrant chez un patient suivi pendant 3 ans une augmentation progressive de la diffusion de façon diffuse mais qui prédomine dans les zones préalablement atteintes (Figure 3).

Tableau 2 : Paramètres dérivés de l'histogramme de Trace(D) à l'état basal et durant le suivi :Légende : Etat basal: \boxtimes $p < 0.0001$ patients vs témoins. Etude longitudinale : * $p < 0.01$ patients vs témoins et † $p < 0.01$ IRM-1 vs IRM-2 (après correction de Bonferroni)

	Patients	Témoins
Etat basal	n = 22	n = 12
Valeur moyenne (10^{-3} mm ² /s)	2.82 ± 0.27 \boxtimes	2.44 ± 0.06
Hauteur du pic (%)	7.3 ± 2.1 \boxtimes	11.1 ± 0.9
Localisation du pic (10^{-3} mm ² /s)	2.43 ± 0.15 \boxtimes	2.22 ± 0.08
Etude de suivie	n = 14	n = 5
Valeur moyenne (10^{-3} mm ² /s)		
IRM 1	2.80 ± 0.25*	2.44 ± 0.05
IRM 2	2.91 ± 0.06*†	2.41 ± 0.09
Hauteur du pic (%)		
IRM 1	7.6 ± 2.0*	10.0 ± 1.4
IRM 2	6.6 ± 2.0*†	9.9 ± 0.4
Location du pic (10^{-3} mm ² /s)		
IRM 1	2.43 ± 0.15*	2.23 ± 0.05
IRM 2	2.47 ± 0.19*	2.17 ± 0.10

Figure 1: Histogrammes moyen de Trace(D) chez les témoins (n=12) et chez les patients (n=22) à l'état basal (A). Comparé aux témoins, le pic de l'histogramme moyen est déplacé vers des valeurs de diffusion plus élevées avec une réduction de sa hauteur. Résultats obtenus avec 14 patients ayant passés deux IRM (B) et avec un sous groupe de 7 patients ayant passés trois IRM (C). Une augmentation significative de la valeur moyenne associée à une réduction de la hauteur du pic de l'histogramme de Trace(D) est observé à la fois entre l'IRM-1 et l'IRM-2 et entre l'IRM-2 et l'IRM-3.

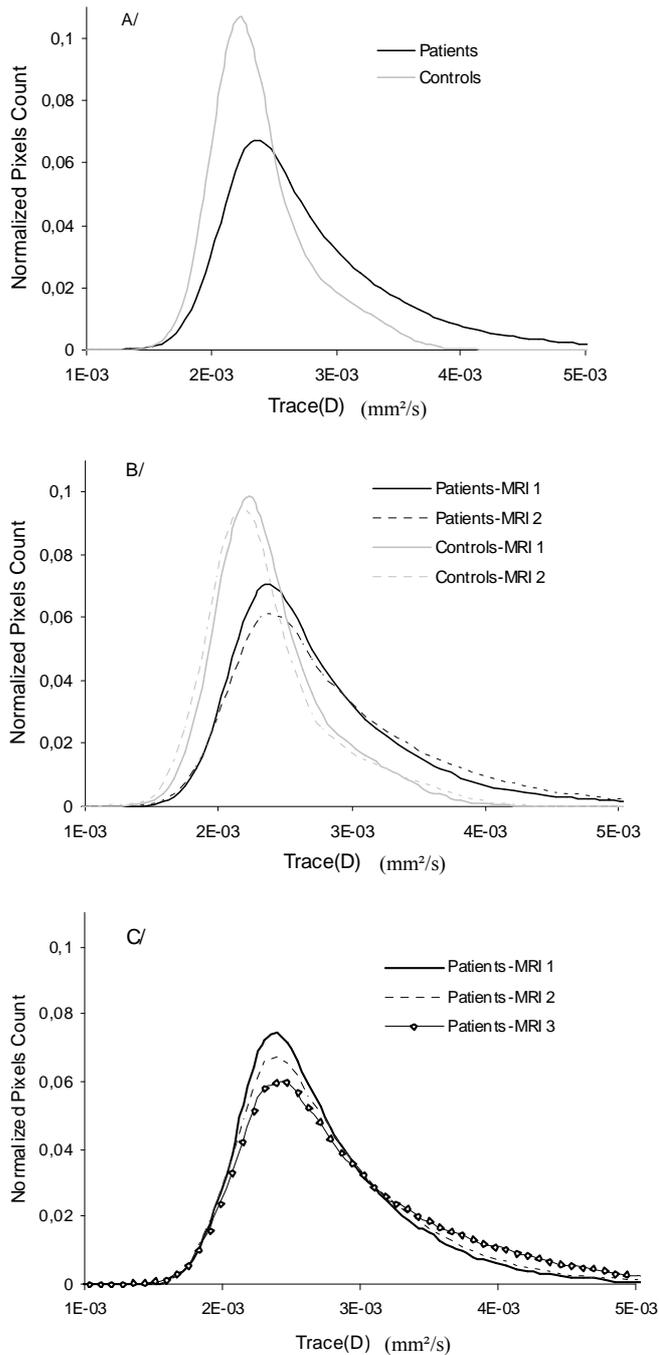
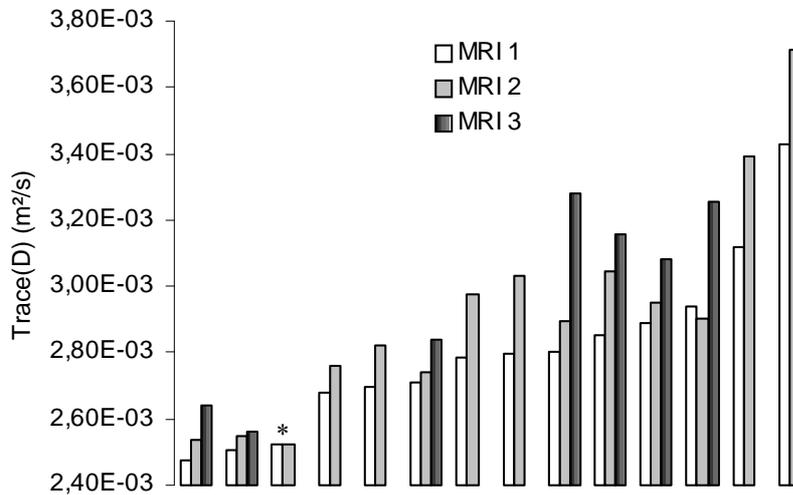


Figure 2 : Variations de la valeur moyenne de la Trace(D) sur l'ensemble du cerveau chez les patients inclus dans l'étude longitudinale. Notez qu'il existe une augmentation de la valeur moyenne de diffusion chez tous les patients symptomatiques. Cette augmentation de la diffusion est d'autant plus importante que la diffusion au temps 1 est élevée. Seul le patient asymptomatique (*) a une valeur moyenne de diffusion qui reste stable au cours du temps.



Corrélat cliniques :

A l'état basal dans le groupe de 22 patients, les paramètres dérivés de l'histogramme sont fortement corrélés avec le score du MMSE et du Rankin (Figure 4 et tableau 3). Dans le sous-groupe de 14 patients, ces corrélations restent significatives au temps de l'IRM-1 et de l'IRM-2. Sur le plan individuel, une augmentation du score de Rankin de 1 point chez 5 patients a été observé durant la période de l'étude. Chez ces patients, l'augmentation de la valeur moyenne de l'histogramme de Trace(D) est plus importante que chez les patients qui ont un score de Rankin stable inchangé ($+ 0.304 \pm 0.012$ vs $+ 0.144 \pm 0.008$ 10^{-3} mm²/s, $p = 0.01$).

Figure 3 : Images de diffusion illustrant l'augmentation de la diffusion chez un patient CADASIL de 55 ans survenant au cours de 3 ans. Ces images indiquent que l'augmentation de la diffusion n'est pas restreinte à quelques voxels mais ces changements sont diffus et prédominant dans les régions déjà atteintes .

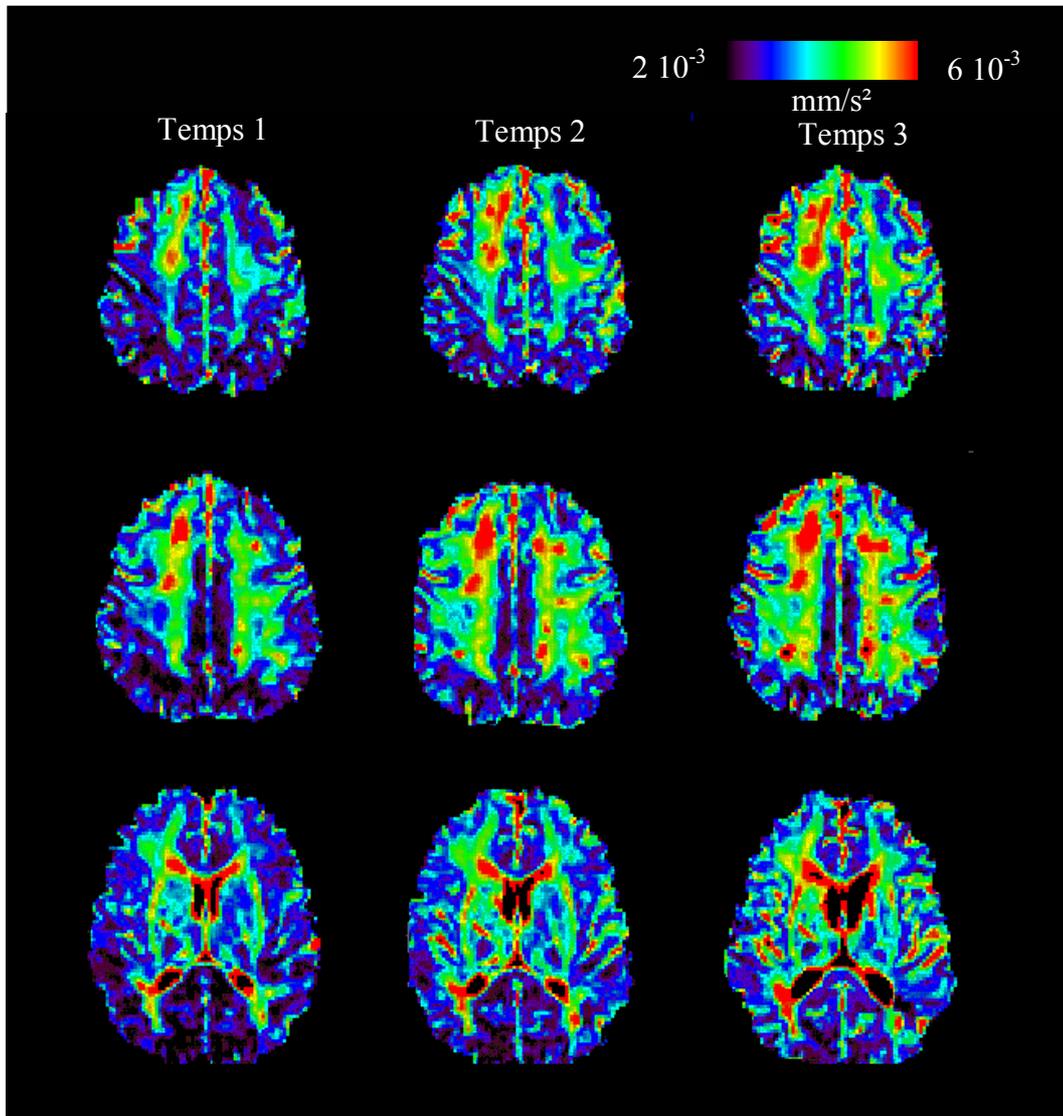
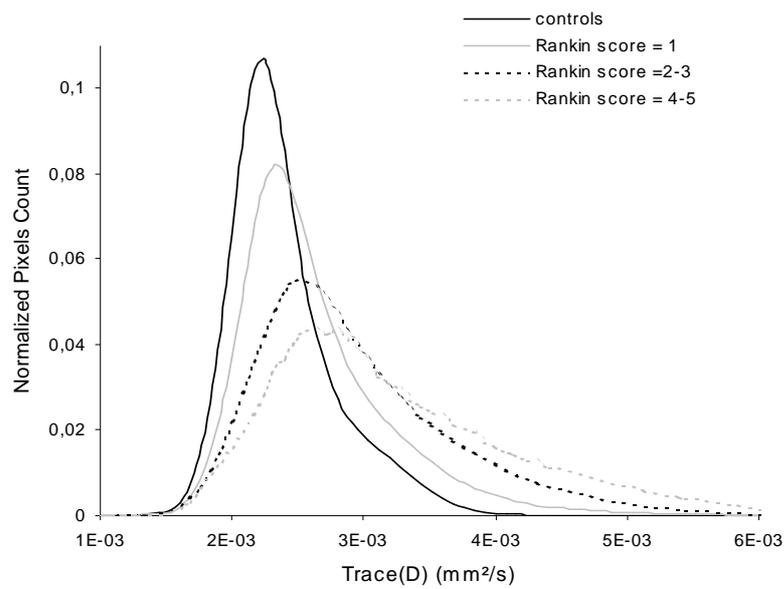


Tableau 3 : Corrélations entre les paramètres dérivés des histogrammes de Trace(D) et les scores cliniques des patients à l'état basal (n = 22)

	<i>Score du MMSE (valeur de r)</i>	valeur de p	<i>Score du Rankin (valeur de r)</i>	valeur de p
<i>Valeur moyenne</i>	-0.677	0.002	0.754	<0.001
<i>Hauteur du pic</i>	0.653	0.003	-0.533	<0.001
<i>Localisation du pic</i>	-0.670	0.004	0.674	0.002

Figure 4 : Histogrammes moyens de Trace(D) chez les patients en fonction de leur score de Rankin



2.3.4 Discussion :

Cette étude en imagerie du tenseur de diffusion décrit pour la première fois une approche permettant un suivi quantitatif de la progression des lésions cérébrales dans CADASIL. Nos résultats montrent que la mesure de la diffusion de l'eau est un marqueur sensible des modifications microstructurales du tissu cérébral survenant au cours de l'évolution de la maladie de CADASIL.

Les études précédentes en imagerie du tenseur de diffusion dans la maladie de CADASIL ont été réalisées en utilisant des régions d'intérêt qui fournissent une estimation locale de la perte microstructurale du tissu cérébral. Ces études ont montré l'existence d'une augmentation de la diffusion et d'une perte d'anisotropie dans la substance blanche et la substance grise sous corticale des patients à la fois dans des régions d'apparence anormale mais aussi dans des régions d'apparence normale sur les séquences conventionnelles (Chabriat et al., 1999; Molko et al., 2001). Ces études indiquent que les modifications tissulaires dans CADASIL sont beaucoup plus diffuses que les lésions visibles sur les séquences conventionnelles et ainsi une analyse par régions d'intérêt n'est pas pertinente pour mesurer l'évolution de la progression des lésions tissulaires dans CADASIL. Afin d'estimer la charge lésionnelle totale dans le tissu cérébral CADASIL, nous avons utilisé une approche globale avec une analyse par histogramme des valeurs de diffusion. Cette technique combine la sensibilité de l'imagerie du tenseur de diffusion pour détecter les anomalies tissulaires macro et microstructurales avec une approche permettant d'obtenir une mesure de la diffusion de tous les voxels du cerveau. Cette approche globale par histogramme a déjà été utilisée dans d'autres processus affectant de façon diffuse le système nerveux central comme le SEP et dans le vieillissement cérébral (Rovaris et al., 2003; van Buchem et al., 1996). Cette méthode est facilement reproductible et ne nécessite pas de recalage pour comparer les différents examens lors d'une étude longitudinale (Rovaris et al., 1997; Sormani et al., 2000). La méthode d'analyse par histogrammes ne permet cependant qu'une étude globale de l'ensemble du cerveau et l'information anatomique est perdue dans ce type d'analyse.

Chez les contrôles, l'histogramme de diffusion montre que la distribution des valeurs est unimodale et que les valeurs de diffusion sont dans une gamme étroite de valeur. Chez les patients, on observe toujours une distribution unimodale mais avec une distribution plus large des valeurs. Comparé aux contrôles, la localisation du pic et la valeur moyenne de l'histogramme de Trace(D) sont déplacées chez les patients vers des valeurs plus importantes de diffusion tandis que la hauteur du pic est plus réduite. Les figures 2 et 4 montrent que les

valeurs de diffusion sont extrêmement variables chez les patients symptomatiques, confirmant les études précédentes en diffusion ou en transfert de magnétisation qui suggéraient que les lésions tissulaires étaient de degrés variables dans CADASIL (Chabriat et al., 1999; Iannucci et al., 2001; Molko et al., 2001). Nos résultats montrent que les principaux paramètres de l'histogramme sont fortement corrélés avec les scores du MMSE et du Rankin. L'ensemble de ces résultats confirment les travaux précédents indiquant que la diffusion est augmentée de façon diffuse dans CADASIL et que cette augmentation est variable en fonction de la sévérité clinique de la maladie (Chabriat et al., 1999; Molko et al., 2001). Ces études suggèrent que le phénotype clinique des patients CADASIL est en rapport avec l'étendue et la sévérité des modifications tissulaire cérébrales.

L'étude longitudinale montre l'existence de modifications significatives des valeurs de diffusion durant la courte période de cette étude. Entre l'IRM-1 et l'IRM-2 après un intervalle moyen de 20 mois, une augmentation de la valeur moyenne et une diminution de la hauteur de l'histogramme de Trace(D) sont observées chez les patients indiquant une augmentation du nombre des voxels avec une valeur de diffusion élevée. Ces modifications de l'histogramme de Trace(D) sont détectées en l'absence de modification des scores cliniques globaux suggérant que l'imagerie du tenseur de diffusion est hautement sensible aux modifications microstructurales du tissu cérébral. Dans le sous groupe des 7 patients qui ont eu trois IRM, des modifications significatives similaires à celles observées entre l'IRM-1 et l'IRM-2 sont observée entre l'IRM-2 et l'IRM-3 après un intervalle très court de 14 mois. Finalement à la fin de l'étude longitudinale, cinq ont une aggravation de 1 point de leur score de Rankin. Il est intéressant de noter que la diffusion avait augmenté de façon plus importante, comparée aux patients avec un statut clinique stable.

Cette étude fournit aussi de nouveaux éléments concernant la physiopathologie de la maladie de CADASIL. Il est intéressant de constater que l'augmentation de la diffusion survient dans cette étude, alors que seulement deux infarctus cérébraux constitués sont survenus chez deux patients durant la période de suivi. Cela suggère que les modifications tissulaires peuvent progresser de façon silencieuse dans CADASIL. De plus, la détection par des méthodes d'analyse aussi globale que la valeur moyenne de la diffusion cérébrale suggère que les modifications tissulaires observées durant cette étude ne sont pas focales, comme par exemple dans le cas de l'apparition d'un infarctus lacunaire, mais plutôt diffuses. Enfin, l'existence d'une corrélation entre l'augmentation de la diffusion durant la période de l'étude et la valeur de la diffusion au temps 1 suggère que la maladie ne s'aggrave pas de façon linéaire mais que plus les lésions tissulaires sont importantes plus la progression de la maladie

est importante. La seule patiente n'ayant pas eu de modifications de la diffusion au cours de la lésion est une patiente qui était asymptomatique et qui avait la plus faible charge lésionnelle. Ce profil évolutif est compatible avec l'existence de mécanismes dégénératifs secondaire à l'accumulation des lésions ischémiques cérébrales au cours du temps ou encore avec l'aggravation de l'ischémie chronique.

Cette étude montre que la diffusion de l'eau augmente progressivement dans le tissu cérébral des patients atteints de la maladie de CADASIL. De plus, cette augmentation de diffusion semble précéder l'aggravation clinique. Jusqu'à présent, aucun essai thérapeutique n'avait été réalisé dans CADASIL. De tels essais thérapeutiques aurait été particulièrement difficile à construire contenu de la rareté de la maladie, de la variabilité des symptômes et de la longue évolution de la maladie. Cette étude montre que l'imagerie du tenseur de diffusion est une technique très sensible pour suivre l'évolution des lésions tissulaires et que cette technique pourrait être utilisée dans l'évaluation de l'efficacité de nouvelles molécules dans de futures essais thérapeutiques. L'intérêt de cette approche dans l'évaluation de la progression de la maladie des autres maladies des petites artères reste à évaluer.

2.4 Références

- Adalsteinsson, E., Sullivan, E. V., Kleinmans, N., Spielman, D. M., and Pfefferbaum, A. (2000). Longitudinal decline of the neuronal marker N-acetyl aspartate in Alzheimer's disease. *Lancet* 355, 1696-1697.
- Baron, J., Mazoyer, B., Legault-Demare, F., Mauguière, F., Pappata, S., Jedynak, P., Derome, P., Cambier, J., Tran-Dinh, S., and al, e. (1992). Thalamocortical diaschisis: positron emission tomography in humans. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 55, 935-942.
- Basser, P., Mattiello, J., and Le Bihan, D. (1994). Estimation of the effective self-diffusion-tensor from the NMR spin echo. *J Magn Reson* 103, 247-254.
- Baudrimont, M., Dubas, F., Joutel, A., Tournier-Lasserre, E., and Bousser, M. (1993). Autosomal dominant leukoencephalopathy and subcortical ischemic strokes: a clinicopathological study. *Stroke* 24, 122-125.
- Bokura, H., Kobayashi, S., and Yamaguchi, S. (1998). Distinguishing silent lacunar infarction from enlarged Virchow-Robin spaces: a magnetic resonance imaging and pathological study. *J Neurol* 245, 116-122.
- Chabriat, H., Bousser, M. G., and Pappata, S. (1995). Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy: a positron emission tomography study in two affected family members. *Stroke* 26, 1729-1730.
- Chabriat, H., Joutel, A., Vahedi, K., Iba-Zizen, M. T., Tournier-Lasserre, E., and Bousser, M. G. (1997). CADASIL. Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy. *Rev Neurol (Paris)* 153, 376-385.
- Chabriat, H., Levy, C., Taillia, H., Iba-Zizen, M. T., Vahedi, K., Joutel, A., Tournier-Lasserre, E., and Bousser, M. G. (1998). Patterns of MRI lesions in CADASIL. *Neurology* 51, 452-457.
- Chabriat, H., Pappata, S., Ostergaard, L., Clark, C., Pachot-Clouard, M., Vahedi, K., Jobert, A., LeBihan, D., and Bousser, M. (2000). Cerebral hemodynamics in CADASIL before and after acetazolamide challenge assessed with MRI bolus tracking. *Stroke* 31, 1904-1912.
- Chabriat, H., Pappata, S., Poupon, C., Clark, C., Vahedi, K., Poupon, F., Mangin, J., Pachot-Clouard, M., Jobert, A., Le Bihan, D., and Bousser, M. (1999). Clinical severity in CADASIL related to ultrastructural damage in white matter. In-vivo study with diffusion tensor MRI. *Stroke* 30, 2637-2643.
- Cockrell, J. R., and Folstein, M. F. (1988). Mini-Mental State Examination (MMSE). *Psychopharmacol Bull* 24, 689-692.
- Davous, P., and Fallet-Bianco, C. (1991). Démence sous-corticale familiale avec leucoencéphalopathie artériopathique. Observation clinicopathologique. *Rev Neurol (Paris)* 5, 376-384.
- De Haan, R., Limburg, M., Bossuyt, P., Van der Meulen, J., and Aaronson, N. (1995). The clinical meaning of Rankin "handicap" grades after stroke. *Stroke* 26, 2027-2030.
- Dichgans, M., Mayer, M., Uttner, I., Bruning, R., Müller-Höcker, J., Rungger, G., Ebke, M., Klockgether, T., and Gasser, T. (1998). The phenotypic spectrum of CADASIL: clinical findings in 102 cases. *Ann Neurol* 44, 731-739.
- Fox, N. C., Crum, W. R., Scahill, R. I., Stevens, J. M., Janssen, J. C., and Rossor, M. N. (2001). Imaging of onset and progression of Alzheimer's disease with voxel-compression mapping of serial magnetic resonance images. *Lancet* 358, 201-205.
- Fujii, K., Sadoshima, S., Okada, Y., Yao, H., Kuwabara, Y., Ichiya, Y., and Fujishima, M. (1990). Cerebral blood flow and metabolism in normotensive and hypertensive patients with transient neurologic deficits. *Stroke* 21, 283-290.

Hedera, P., and Friedland, R. P. (1997). Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy: study of two American families with predominant dementia. *J Neurol Sci* 146, 27-33.

Hossmann, K. A., and Hoehn-Berlage, M. (1995). Diffusion and perfusion MR imaging of cerebral ischemia. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 7, 187-217.

Iannucci, G., Dichgans, M., Rovaris, M., Bruning, R., Gasser, T., Giacomotti, L., Yousry, T. A., and Filippi, M. (2001). Correlations between clinical findings and magnetization transfer imaging metrics of tissue damage in individuals with cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Stroke* 32, 643-648.

Jones, D. K., Lythgoe, D., Horsfield, M. A., Simmons, A., Williams, S. C., and Markus, H. S. (1999). Characterization of white matter damage in ischemic leukoaraiosis with diffusion tensor MRI. *Stroke* 30, 393-397.

Joutel, A., Andreux, F., Gaulis, S., Domenga, V., Cecillon, M., Battail, N., Piga, N., Chapon, F., Godfrain, C., and Tournier-Lasserre, E. (2000). The ectodomain of the Notch3 receptor accumulates within the cerebrovasculature of CADASIL patients [see comments]. *J Clin Invest* 105, 597-605.

Joutel, A., Corpechot, C., Ducros, A., Vahedi, K., Chabriat, H., Mouton, P., Alamowitch, S., Domenga, V., Cecillon, M., Marechal, E., *et al.* (1996). Notch3 mutations in CADASIL, a hereditary adult-onset condition causing stroke and dementia. *Nature* 383, 707-710.

Joutel, A., Corpechot, C., Ducros, A., Vahedi, K., Chabriat, H., Mouton, P., Alamowitch, S., Domenga, V., Cecillon, M., Marechal, E., *et al.* (1997). Notch3 mutations in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL), a mendelian condition causing stroke and vascular dementia. *Ann N Y Acad Sci* 826, 213-217.

Kataoka, K., Hayakawa, T., Yamada, K., Mushiroy, T., Kuroda, R., and Mogami, H. (1989). Neuronal network disturbance after focal ischemia in rats. *Stroke* 20, 1226-1235.

Kudo, T., Takeda, M., Tanimukai, S., and Nishimura, T. (1993). Neuropathologic changes in the gerbil brain after chronic hypoperfusion. *Stroke* 24, 259-264; discussion 265.

Kurumatani, T., Kudo, T., Ikura, Y., and Takeda, M. (1998). White matter changes in the gerbil brain under chronic cerebral hypoperfusion. *Stroke* 29, 1058-1062.

Lammie, G., Brannan, F., and Wardlaw, J. (1998). Incomplete lacunar infarction (type 1B lacunes). *Acta Neuropathol* 96, 163-171.

Le Bihan, D., Mangin, J. F., Poupon, C., Clark, C. A., Pappata, S., Molko, N., and Chabriat, H. (2001). Diffusion tensor imaging: concepts and applications. *J Magn Reson Imaging* 13, 534-546.

MacKenzie, D. M., Copp, P., Shaw, R. J., and Goodwin, G. M. (1996). Brief cognitive screening of the elderly: a comparison of the Mini- Mental State Examination (MMSE), Abbreviated Mental Test (AMT) and Mental Status Questionnaire (MSQ). *Psychol Med* 26, 427-430.

Molko, N., Pappata, S., Mangin, J. F., Poupon, C., Vahedi, K., Jobert, A., LeBihan, D., Boussier, M. G., and Chabriat, H. (2001). Diffusion tensor imaging study of subcortical gray matter in cadasil. *Stroke* 32, 2049-2054.

Moseley, M. E., Kucharczyk, J., Mintorovitch, J., Cohen, Y., Kurhanewicz, J., Derugin, N., Asgari, H., and Norman, D. (1990a). Diffusion-weighted MR imaging of acute stroke: correlation with T2- weighted and magnetic susceptibility-enhanced MR imaging in cats. *AJNR Am J Neuroradiol* 11, 423-429.

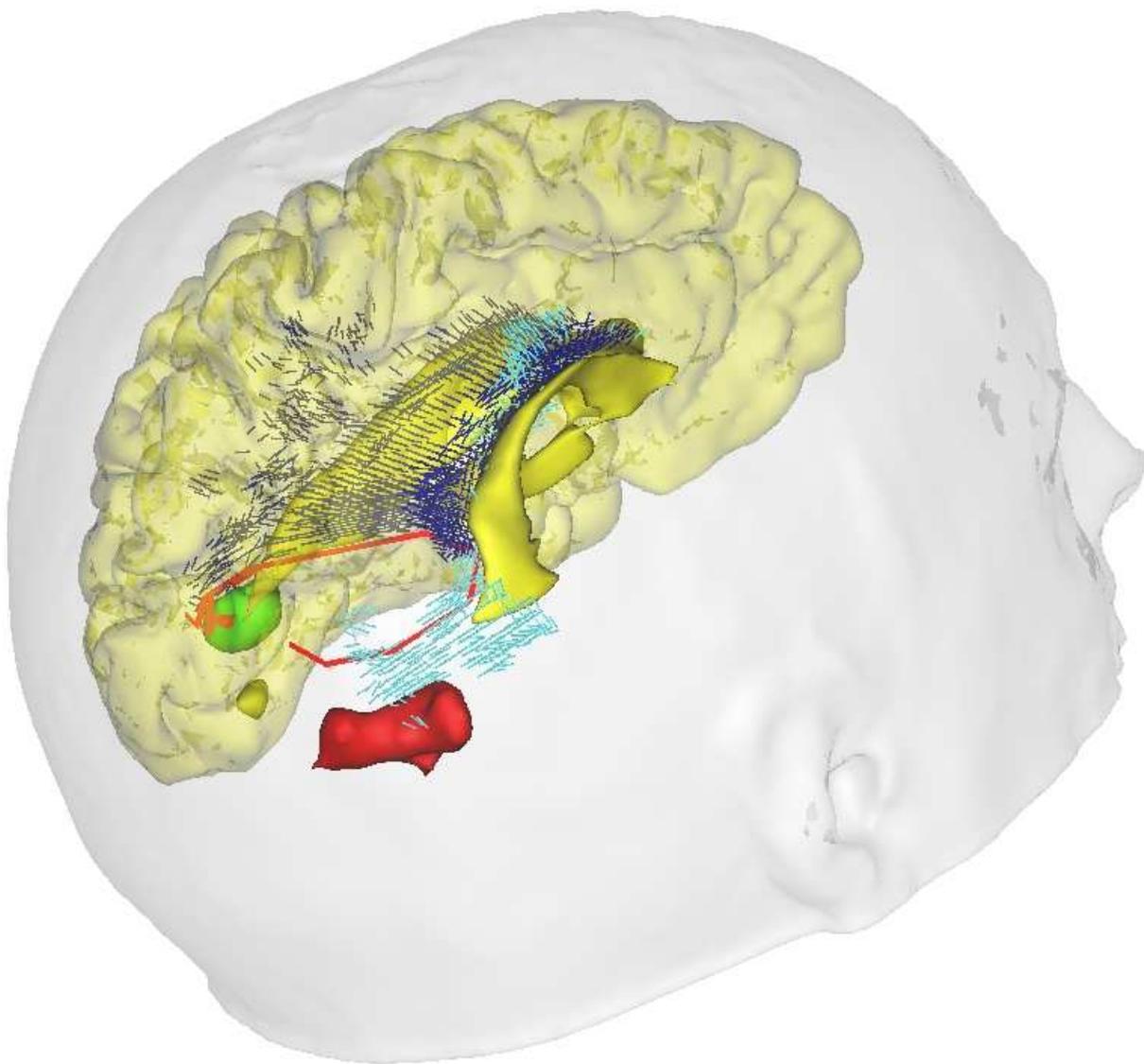
Moseley, M. E., Mintorovitch, J., Cohen, Y., Asgari, H. S., Derugin, N., Norman, D., and Kucharczyk, J. (1990b). Early detection of ischemic injury: comparison of spectroscopy, diffusion-, T2-, and magnetic susceptibility-weighted MRI in cats. *Acta Neurochir Suppl* 51, 207-209.

- Nordborg, C., and Johansson, B. B. (1996). Secondary thalamic lesions after ligation of the middle cerebral artery: an ultrastructural study. *Acta Neuropathol* 91, 61-66.
- Novikova, L. N., Novikov, L. N., and Kellerth, J. O. (2000). Survival effects of BDNF and NT-3 on axotomized rubrospinal neurons depend on the temporal pattern of neurotrophin administration. *Eur J Neurosci* 12, 776-780.
- Ogawa, T., Yoshida, Y., Okudera, T., Noguchi, K., Kado, H., and Uemura, K. (1997). Secondary thalamic degeneration after cerebral infarction in the middle cerebral artery distribution: evaluation with MR imaging. *Radiology* 204, 255-262.
- Pierpaoli, C., Jezzard, P., Basser, P. J., Barnett, A., and Di Chiro, G. (1996). Diffusion tensor MR imaging of the human brain. *Radiology* 201, 637-648.
- Poirier, J., and Derouesné, C. (1984). Cerebral lacunae. A proposed new classification. *Clin Neuropathol* 3, 266.
- Rankin, J. (1957). cerebral vascular accidents in patients over the age of 60. *Scott Med J* 2, 210-215.
- Rovaris, M., Filippi, M., Calori, G., Rodegher, M., Campi, A., Colombo, B., and Comi, G. (1997). Intra-observer reproducibility in measuring new putative MR markers of demyelination and axonal loss in multiple sclerosis: a comparison with conventional T2-weighted images. *J Neurol* 244, 266-270.
- Rovaris, M., Iannucci, G., Cercignani, M., Sormani, M. P., De Stefano, N., Gerevini, S., Comi, G., and Filippi, M. (2003). Age-related changes in conventional, magnetization transfer, and diffusion-tensor MR imaging findings: study with whole-brain tissue histogram analysis. *Radiology* 227, 731-738.
- Ruchoux, M. M., Guerrouaou, D., Vandenhoute, B., Pruvo, J. P., Vermersch, P., and Leys, D. (1995). Systemic vascular smooth muscle cell impairment in Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy. *Acta Neuropathol* 89, 500-512.
- Ruchoux, M. M., and Mauraige, C. A. (1997). CADASIL: Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *J Neuropathol Exp Neurol* 56, 947-964.
- Sekhon, L., Morgan, M., Spence, I., and Weber, N. (1997). Chronic cerebral hypoperfusion: pathological and behavioural consequences. *Neurosurg* 40, 548-556.
- Sormani, M. P., Iannucci, G., Rocca, M. A., Mastronardo, G., Cercignani, M., Minicucci, L., and Filippi, M. (2000). Reproducibility of magnetization transfer ratio histogram-derived measures of the brain in healthy volunteers. *AJNR Am J Neuroradiol* 21, 133-136.
- Tamura, A., Tahira, Y., Nagashima, H., Kirino, T., Gotoh, O., Hojo, S., and Sano, K. (1991). Thalamic atrophy following infarction in the territory of the middle cerebral artery. *Stroke* 22, 615-618.
- Tournier-Lasserre, E., Iba-Zizen, M. T., Romero, N., and Bousser, M. G. (1991). Autosomal dominant syndrome with stroke-like episodes and leukoencephalopathy. *Stroke* 22, 1297-1302.
- van Buchem, M. A., McGowan, J. C., Kolson, D. L., Polansky, M., and Grossman, R. I. (1996). Quantitative volumetric magnetization transfer analysis in multiple sclerosis: estimation of macroscopic and microscopic disease burden. *Magn Reson Med* 36, 632-636.
- Watanabe, H., Kumon, Y., Ohta, S., Sakaki, S., Matsuda, S., and Sakanaka, M. (1998). Changes in protein synthesis and calcium homeostasis in the thalamus of spontaneously hypertensive rats with focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 18, 686-696.
- Weiss, J. H., and Sensi, S. L. (2000). Ca²⁺-Zn²⁺ permeable AMPA or kainate receptors: possible key factors in selective neurodegeneration. *Trends Neurosci* 23, 365-371.
- Yousry, T. A., Seelos, K., Mayer, M., Bruning, R., Uttner, I., Dichgans, M., Mammi, S., Straube, A., Mai, N., and Filippi, M. (1999). Characteristic MR lesion pattern and correlation

of T1 and T2 lesion volume with neurologic and neuropsychological findings in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL). *AJNR Am J Neuroradiol* 20, 91-100.

Chapitre 3

BASES CERVEBRALE D'UN SYNDROME DE DYSCONNECTION*



* Les données présentées dans ce chapitre correspondent intégralement à l'article publié dans Journal of Cognitive Neuroscience 2002 : May 15;14(4):629-36 (Article en annexe)

3.1 Introduction

Les troubles cognitifs chez les patients cérébro-lésés sont parfois mieux expliqués par des disconnexions entre deux processus cérébraux que par des lésions directes de ces processus eux-mêmes (Geschwind, 1965). Ces syndromes de disconnection sont souvent représentés schématiquement à l'aide de flèches et de boîtes sans lien anatomique précis. Jusqu'à récemment, la visualisation directe des connexions cérébrales chez l'homme n'était possible que par des techniques histologiques post-mortem. Depuis l'avènement de l'imagerie du tenseur de diffusion, l'orientation des connexions cérébrales peut être inférée *in vivo* à partir de l'orientation du vecteur principale de diffusion mesurée à chaque voxel (cf chapitre 1 -méthodes). L'utilisation d'algorithmes informatiques permet en connectant entre eux les vecteurs principaux de diffusion de reconstruire voxel par voxel la trajectoire des connexions cérébrales sur de longues distances (Conturo et al., 1999; Poupon et al., 2000). Cependant, cette technique très prometteuse reste actuellement limitée par la résolution spatiale insuffisante qui entraîne des ambiguïtés dans le tracé des connexions secondaire aux croisements des faisceaux de fibres au sein d'un même voxel. Nous décrivons dans ce travail une méthode de tracking de fibres mettant à profit la sensibilité de l'imagerie du tenseur de diffusion dans la détection de la dégénérescence des faisceaux de fibres secondaire à une lésion cérébrale (Werring et al 2000). Cette méthode consiste chez un patient ayant une lésion focale à isoler un faisceaux en identifiant les voxels qui ont une diminution significative d'anisotropie en rapport présumé avec la dégénérescence secondaire à la lésion. A l'instar des méthodes histologiques basées sur le suivi des axones dégénérés après une lésion cérébrale, cette méthode de tracking « négatif » peut être utilisée pour isoler un faisceau de fibres dans le réseau complexe et enchevêtré des connexions cérébrales. Dans un deuxième temps, les connexions cérébrales isolées peuvent être comparées avec le résultat obtenu par les méthodes de reconstruction par algorithmes informatiques des trajectoires des connexions.

Utilisée chez un patient ou un témoin, l'IRM de diffusion permet en quelques minutes sur une IRM standard l'étude *in vivo* et de façon non invasive des connexions cérébrales. L'IRM de diffusion peut facilement être combinée à une imagerie par résonance fonctionnelle qui permet l'étude des aires cérébrales activées dans une tâche cognitive donnée. Ces deux méthodes apparaissent potentiellement complémentaires en permettant d'établir les connexions entre des aires cérébrales co-activées dans une tâche cognitive donnée. La potentialité de la combinaison de ces techniques n'a pas été utilisé au delà de la description

des projections visuelles du corps genouillé latéral au cortex visuel occipital (Conturo et al., 1999).

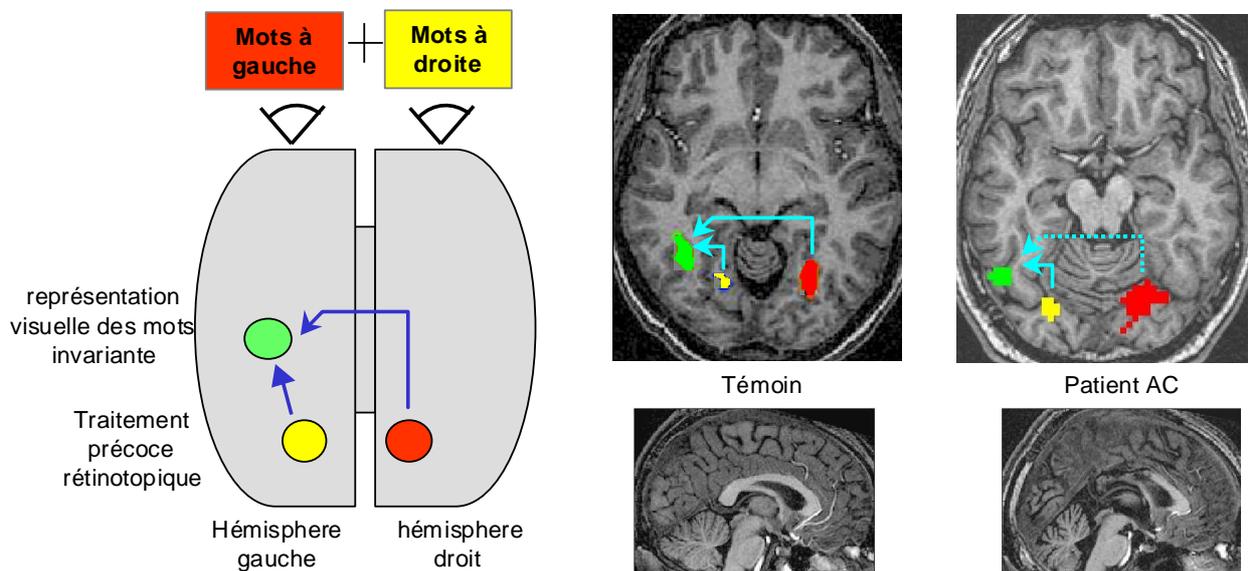
L'objectif de ce travail est d'étudier en utilisant cette approche la connectivité cérébrale impliquée dans les étapes initiales de la lecture. Les étapes initiales de la lecture consistent en la construction d'une représentation des lettres indépendamment de paramètres de perception non pertinents comme la localisation de l'hémichamps, le type de caractère, la taille, la couleur de l'encre, Cette représentation abstraite a été nommée « Visual Word Form » (VWF) par Warrington et Shallice (Warrington & Shallice, 1980). Chez le sujet normal, la présentation des mots par hémichamps visuel montre l'existence d'activations occipitales dépendants de l'hémichamps visuel dans les aires visuelles rétinotopiques et des activations indépendantes de l'hémichamps visuel dans le gyrus fusiforme gauche et dans d'autres aires temporales latérales, pariétales et frontales de l'hémisphère gauche (Figure 1) (Cohen et al., 2000; Fiez & Petersen, 1998; Price, 1997). De ce réseau étendu d'activations cérébrales, de nombreux éléments convergent pour attribuer à une sous région du gyrus fusiforme un rôle crucial dans les bases cérébrales de la VWF. Le nom d'aire de la représentation visuelle des mots (VWF area ou VWFA) a été proposée pour cette sous région du gyrus fusiforme gauche (dont les coordonnées de Talairach sont approximativement $x=-43$ $y=-54$ $z=-12$) (Beauregard et al., 1997; Cohen et al., 2000; Puce, Allison, Asgari, Gore, & McCarthy, 1996). Une étude d'imagerie récente utilisant la méthode de priming de répétition indique que la VWFA répond spécifiquement aux mots, indépendamment de la casse dans laquelle ils sont présentés (Dehaene et al., 2001). Enfin, la région du gyrus fusiform gauche semble correspondre à la région critique dont la lésion entraîne une alexie pure, c'est-à-dire un déficit sélectif de la lecture des mots, épargnant l'écriture et la compréhension orale des mots (Beversdorf, Ratcliffe, Rhodes, & Reeves, 1997; Binder & Mohr, 1992; Damasio & Damasio, 1983; Dejerine, 1892; Leff et al., 2001). L'ensemble de ce faisceau d'argument a conduit à appeler cette région la VWFA (Cohen et al., 2000).

La VWFA est ainsi l'aire cérébrale où l'on suppose que l'identification des chaînes de lettres est après la convergence des projections des aires rétinotopiques ipsi et controlatérales. Depuis le cas princeps de Dejerine, les neuropsychologues ont postulé que la lésion des connexions de la VWFA puissent être responsable de troubles de la lecture, par un mécanisme de disconnection cérébrale (Figure 1) (Binder & Mohr, 1992; Dejerine, 1892). En particulier, les patients avec une lésion du splénium du corps calleux sont incapables de lire des mots présentés dans l'hémichamps visuel gauche, un déficit classiquement attribué à un transfert anormal d'informations visuelles de bas niveau des régions occipitales droites vers

les régions de l'hémisphère gauche spécialisées dans le traitement du langage écrit (Cohen et al., 2000; Suzuki et al., 1998).

Nous avons étudié un patient de 26 ans avec une hémialexie gauche présentant une lésion gauche s'étendant du lobe pariétal mésial au splénium du corps calleux en rapport avec le saignement d'une malformation artérioveineuse (figure 1) (Cohen et al., 2000; Intriligator, Henaff, & Michel, 2000; Michel, Hénaff, & Intriligator, 1996). Au moment de l'étude des troubles de lecture du patient AC, AC pouvait lire normalement les mots présentés dans l'hémichamps visuel droit mais était sévèrement ralenti dans la lecture des mots présentés dans son hémichamps gauche. Ce pattern d'erreur de lecture est compatible avec une disconnection de la VWFA (Figure 1). Afin de préciser les bases anatomiques de ce probable syndrome de disconnection, nous avons réalisé une étude en imagerie fonctionnelle chez AC et 9 témoins dans le but d'identifier les régions inférotemporales gauches activées lors de la lecture de mots présentés par hémichamps visuels. Ensuite, des acquisitions en imagerie du tenseur de diffusion ont été réalisées chez AC et 11 témoins pour comparer voxel par voxel les cartes d'anisotropie du patient avec les témoins afin de localiser les connexions anormales chez AC. Ensuite, nous avons analysé chez un témoin l'orientation des fibres localisés dans les clusters avec une anisotropie diminuée et démontré que ces clusters correspondent en partie à des fibres longues distances connectant les régions visuelles de l'hémisphère droit avec la VWFA.

Figure 1 : *A gauche*, diagramme schématique représentant les réseaux fonctionnels impliqués dans les étapes précoces de la lecture jusqu'à l'aire de la représentation visuelle des mots, « visual word form ». Lors d'une tâche de lecture, les mots présentés dans l'hémichamps visuel droit ou gauche activent les aires rétino-topiques controlatérales puis l'information visuelle dépendante de l'hémichamps visuel converge dans une région unique dans le gyrus fusiforme gauche où sont codées de façon invariante et abstraite les chaînes de lettres. Dans le cas de mots présentés dans l'hémichamps visuel gauche, un transfert de l'information visuelle via le corps calleux est donc nécessaire. *Au milieu*, régions cérébrales activées en imagerie fonctionnelle chez le sujet normal lors de la lecture de mots présentés par hémichamps visuels. *A droite*, régions cérébrales activées par le patient AC. L'aire de la représentation visuelle des mots s'active normalement quand les mots sont présentés dans l'hémichamps visuels droits mais pas quand les mots sont présentés à gauche. *En bas*, les images anatomiques dans le plan sagittal montre le corps calleux d'un témoin et celui du patient AC.



3.2 Methods

All experiments were approved by the regional ethical committee for biomedical research, and subjects gave informed consent. All scans were acquired using an 1.5T Signa horizon Echospeed MRI system (General Electric Medical Systems, Milwaukee, WI). Statistical analysis was done with SPM99 software.

Case description.

Patient AC was a 26-year-old right-handed man, with no significant medical history until the age of 22. His cognitive development and educational achievements were normal. About 4 years before the present study was carried-out, he suffered from a haemorrhage in his left mesial parietal lobe. This haemorrhage was due to a small arteriovenous malformation, which was then surgically removed. The cerebral sequellae, as revealed by anatomical MRI, consisted of a split of the posterior half of his corpus callosum, with a lesion extending into the left hemisphere up to the white matter of the superior parietal lobule. The right hemisphere was completely spared. His visual field was normal, and he showed no spatial neglect. Initially, he made 30-80% errors when reading aloud words presented in his LVF, while he could read normally words presented in his RVF. His performance improved over the following months and years through the use of compensation strategies, such as 'semantic browsing' and letter-by-letter reading (see Michel et al., 1996 for a detailed description). However, his reading latencies remained abnormally long with LVF stimuli (Cohen et al., 2000).

Anatomical MR imaging.

High-resolution anatomical images were acquired in the axial plane using a spoiled gradient echo sequence (124 slices 1.2 mm thick, TR = 10.3 ms, TE = 2.1 ms, TI = 600 ms) and 24 x 24 cm field of view (resolution of 0.937 x 0.937 x 1.2 mm). Images were normalised to Talairach space using a linear transform and the template of the Montreal Neurological Institute (MNI). To isolate patient AC's lesion, we computed a two-sample t-test between patient AC's and 40 controls' T1 images, after smoothing with a Gaussian kernel with full-width at half-maximum (FWHM) = 5 mm. We used a voxelwise significance level of 0.01, corrected to $P < 0.05$ for cluster extent.

Functional imaging.

Functional images were acquired in patient AC and in 9 normal subjects. In each of four sequences, 150 functional volumes sensitive to blood oxygen level dependent contrast were acquired with a T2-weighted gradient echo, echo planar imaging sequence (TR = 2400 ms, $\alpha = 90^\circ$, TE = 60 ms) and 24 x 24 cm field of view (resolution of 3.75 x 3.75 x 5 mm; 23 slices). Words, consonant strings and checkerboards were presented in random order in the left and right hemifields (total of 100 trials per condition; SOA=2400 ms; display duration=200 ms; display eccentricity 2°-6°). Word stimuli consisted of 168 frequent and highly imageable nouns (mean log₁₀ frequency per million = 1.75), 3-6 letters and 1-3 syllables in length. Consonant strings were matched to the words in length.

Images were corrected for different slice acquisition times and for subject motion, normalized to MNI coordinates, and smoothed (FWHM 5 mm). For each subject, the generalized linear model was used to fit each voxel with a linear combination of functions derived by convolving a standard hemodynamic response function with the known time series of the six stimulus types. An equal number of time-derivative functions modeled possible variations in activation onset. Degrees of freedom were adjusted for high-pass filtering (period 120 seconds) and low-pass filtering by a Gaussian function with a 4-second width. We report here the single-subject analysis of patient AC (voxelwise $P < 0.001$, corrected $P < 0.001$ for cluster extent), and the random-effect analysis of the group of normal subjects (voxelwise $P < 0.01$, corrected $P < 0.05$ for cluster extent).

Behavioral control. As a behavioral control to the fMRI experiment, the patient was presented with 200 word and consonant string stimuli drawn randomly from the original set of 336 stimuli. He was asked to name each word, and to utter the word “consonant” whenever he thought he was presented with consonant strings. Naming latencies were measured using a voice key, and all responses were recorded for subsequent scoring of errors.

Diffusion Tensor imaging.

Diffusion-weighted images were acquired in patient AC and 11 aged-matched controls with echo-planar imaging in the axial plane covering the whole brain (48 slices, 2.8 mm thick; TE=84.4 ms, TR 2.5 s) and 24 x 24 cm field of view (resolution 128 x 128). For each slice location, a T2-weighted image with no diffusion sensitisation, followed by 5 b values (incrementing linearly to a maximum value of 1000 s/mm²) were obtained in 6 directions. In

order to improve the signal-to-noise ratio, this sequence was repeated four times, providing 124 images per slice location. Before performing the tensor estimation, an unwarping algorithm was applied to the diffusion-weighted dataset to correct for distortion related to eddy currents induced by the large diffusion-sensitizing gradients (Poupon et al., 2000). Thereafter, the diffusion tensor was calculated on a pixel by pixel basis as described (Pierpaoli & Basser, 1996). Images of fractional anisotropy (FA) were normalised to MNI coordinates using the linear transform calculated on the anatomical images, and smoothed (FWHM 5 mm). A two-sample t test was used to compare FA between patient AC and the controls. We used a voxelwise significance level of 0.01, corrected to $p < 0.05$ for cluster extent.

3.3 Results

Behavior. Patient AC's reading behavior replicated earlier findings (Cohen et al., 2000; Michel et al., 1996). The patient experienced no difficulty in reading right visual field (RVF) words (2% errors, mean latency = 728 ms) and in saying the word "consonant" to RVF consonant string (0 errors, 1148 ms). However, he was significantly slower with LVF words than with RVF words (2125 ms versus 728 ms; $t(94 \text{ d.f.})=7.67$, $p < 10^{-4}$), though his error rate remained almost at floor level (6% errors). There was no significant difference between hemifields for responses to consonant strings (1048 ms; 2% errors).

Functional MRI. To first identify the disconnected areas, fMRI images were collected in patient AC and in 9 control subjects during passive presentation of high-frequency words, consonant strings, and checkerboards, in the left or right hemifield (total of 100 trials per condition) randomly intermixed in a fast-event related design (4 series of 150 images; 1.5 Tesla GE Signa scanner; TR=2.4 s, TE = 60 ms, FOV = 24 x 24 cm, resolution = $3.75 \times 3.75 \times 5$ mm; 23 slices). In normals, a non-specific retinotopic activation, showing greater activation to contralateral stimuli, whether they consisted of alphabetic strings or checkerboards ($P < 0.005$ each at the peak voxels), was observed in each hemisphere at coordinates close to those of area V4 (left, TC 36 -72 -3, $t(8)=20.5$; right, TC -24 -81 -3, $t(8)=7.07$; both $P_s < 10^{-4}$). Those retinotopic activations were also present in patient AC (left, TC -24 -75 -18; $t(291)=7.32$; right, TC 18 -75 -12, $t(291)=8.64$; both $P_s < 10^{-11}$).

In normals, a distinct left-lateralized and more anterior fusiform area showed a greater activation for alphabetic stimuli than for checkerboards, irrespective of whether they appeared

in the left or in the right hemifield ($P < 0.005$ each at the peak voxel) (TC -42 -57 -15; $t(8) = 4.61$; $P < 10^{-3}$). This location corresponds to previously published coordinates of the VWF area (Cohen et al., 2000). These findings confirm that this area codes letter strings in a spatially invariant manner. In patient AC, a similar anatomical region was also activated more strongly by alphabetic stimuli than by checkerboards, but only when those stimuli appeared in the right hemifield (TC = -45 -60 -12; $t(291) = 6.50$; $P < 10^{-9}$)ⁱ. When alphabetic strings were contrasted to checkerboards in the left hemifield, this region failed to activate at the conventional statistical threshold. Note however that a weakly significant effect was measured at the peak voxel of the patient's VWF area ($t(291) = 2.25$, $P < 0.05$). This difference between the patient and the controls was significant in a random-effect analysis of the difference in VWF activity induced by right-hemifield versus left-hemifield alphabetic stimuli, relative to checkerboards ($t(8) = 3.34$, $P < 0.01$ at the patient's peak voxel). The abnormal weakness of the activation of the patient's VWF by LVF alphabetic stimuli was also apparent when comparing it to the activation induced by RVF stimuli. In normals, the peak activation was not stronger for RVF than for LVF stimuli ($t(8) = 1.92$, $P < 0.1$), while this difference was highly significant in patient AC ($t(291) = 6.86$, $P < 10^{-9}$). Again this difference between the patient and the controls was significant in a random-effect analysis ($t(8) = 4.00$, $P = 0.004$ at the patient's peak voxel). We suggest that this abnormal deficit of activation of the left VWF area by left-hemifield words underlies patient AC's inability to read those words normally (Cohen et al., 2000).

Analysis of diffusion anisotropy. To demonstrate anatomically the disconnection of the left VWF area from contralateral visual regions, we collected whole-brain diffusion tensor images in patient AC and in 11 normal controls (TR = 2.5 s; TE = 82.4 ms, 4 repetitions of 5 regularly spaced b values in each of 6 directions, FOV = 24 x 24 cm, resolution = 128x128x2.8 mm, 48 slices). To identify degeneration of white matter tracts in patient AC, images of fractional anisotropy (Pierpaoli & Basser, 1996) were compared voxel by voxel between the patient and the controls. The results revealed a significant drop of anisotropy in several sectors of the posterior left and right hemispheres (figure 2). We studied the overlap of these regions with the lesion itself, defined formally by a statistical comparison of the patient's T1-weighted image with T1 images from 40 normal subjects ($p < 0.01$). This allowed us to distinguish two different clusters with reduced anisotropy (table 1). A large set of voxels, which consistently corresponded to fiber bundles in normal subjects, were directly damaged by the lesion or were displaced by lateral ventricle enlargement in patient AC.

However, decreased anisotropy was also observed in a second set of voxels outside of the lesion and distant from it. Those voxels were interpreted as indicating degeneration of white matter bundles. Indeed, they formed an almost contiguous set that spanned from the left ventral occipito-temporal region to its right homolog across the lesioned area of corpus callosum, in each case stopping a few millimeters from the areas found active in fMRI.

Table 1 : Brain regions where fractional anisotropy was significantly reduced in patient AC compared to 11 normal controls. Cluster 1 is located in normal appearing tissue as seen on T1 images and is consistent with secondary degeneration of white matter tracts whereas cluster 2, located in abnormal T1 region, is related to tissue directly damaged by the lesion.

Anatomical location	Talairach coordinates of local maxima	patient AC's fractional anisotropy	normal fractional anisotropy (mean +/- 1 sd)	t test	p value
Cluster 1: white matter below the right parieto occipital junction, the fusiform gyrus and the middle occipital gyrus (89 voxels)	39, -57, 6	0.312	0.568 +/- 0.027	9.24	3.E-06
	30, -78, 15	0.184	0.442 +/- 0.042	5.95	1.E-04
	30, -81, 0	0.206	0.462 +/- 0.042	5.93	1.E-04
Cluster 2: splenium, posterior half of callosum, bilateral major forceps, left mesial parietal lobe (1465 voxels)	0, -36, 15	0.177	0.758 +/- 0.032	17.46	8.E-09
	-18, -36, 51	0.228	0.513 +/- 0.023	12.07	3.E-07
	-18, -54, 36	0.193	0.517 +/- 0.035	8.80	5.E-06
	-30, -69, 18	0.195	0.495 +/- 0.046	6.20	1.E-04
	-30, -75, 15	0.208	0.450 +/- 0.049	4.42	1.E-03
	12, -3, 30	0.271	0.641 +/- 0.032	10.88	7.E-07
	-6, -9, 30	0.217	0.657 +/- 0.034	12.44	2.E-07

Diffusion tensor direction. To reveal the topology of the impaired connections, we plotted in a normal subject, for each of the impaired voxels, the first eigenvector of the diffusion tensor, which indicates the principal direction of diffusion and therefore the main direction of neural fibers (figure 3). The vectors aligned smoothly to form a bilateral tract which started posteriorly in the white matter above the left and right fusiform gyri, passed over the posterior horns of the lateral ventricles, and joined in the splenium of the corpus callosum.

To confirm that the voxels with decreased anisotropy may correspond in part to a long-distance fiber tract connecting right-hemispheric visual regions to the VWFA, we used a fiber tracking algorithm (Poupon et al., 2000). Within the large set of vector directions observed in the whole normal brain, this algorithm attempts to find chains of contiguous voxels along which the vector direction changes smoothly and which may therefore correspond to the trajectory of a main fiber tract. When the algorithm was seeded to trace long-distance connections in a normal brain starting from one of the voxels with anomalous anisotropy in patient AC, it often extracted transcallosal fibers joining the left and right

occipito-temporal regions at various antero-posterior levels (figure 3). Although the trajectory of those fibers was computed solely based on diffusion data from a normal brain, it closely matched the shape of the region with decreased anisotropy in patient AC. This strengthens the hypothesis that the decreased anisotropy in patient AC reflects in part the degeneracy of an entire transcallosal fiber tract.

Figure 2 : Localization of the regions with reduced fractional anisotropy in patient AC compared to 11 controls. Formal statistical comparison of anisotropy values in patient AC and in the 11 controls identified two regions with significantly reduced anisotropy. Within those regions, light blue is used to indicate voxels of reduced anisotropy where patient AC's T1 image was statistically indistinguishable from that of 40 normal subjects (hence presumably reflecting secondary degeneration distant from the original lesion). Dark blue indicates voxels of reduced anisotropy belonging to the lesion itself. In the leftmost column, those regions are filled and have been superimposed to the normalized T1 image of patient AC. In the middle columns, their outline is shown superimposed on anisotropy images from the patient (second column) and the normals (third column). The rightmost column shows the raw T1 image for reference. For direct comparison with fMRI results, patient AC's fMRI activation clusters are shown as in figure 1 (red = retinotopic activation to LVF stimuli; yellow = retinotopic activation to RVF stimuli; green = VWFA). It can be seen that the regions with reduced anisotropy form an almost continuous path whose endpoints stop close to the left and right hemisphere activations.

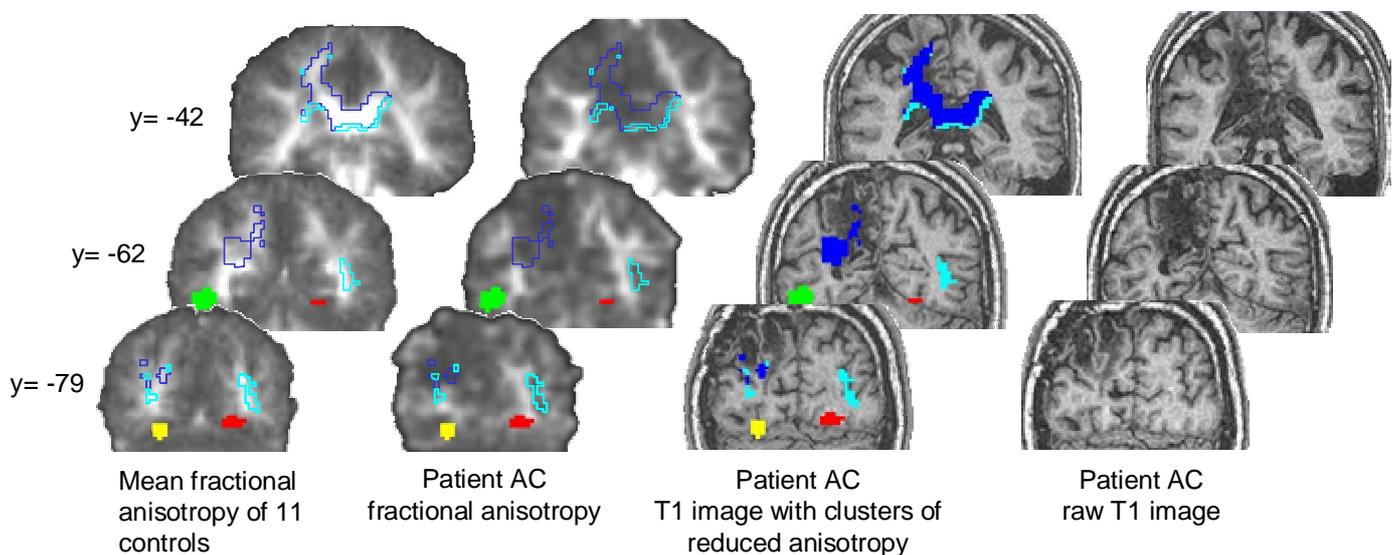
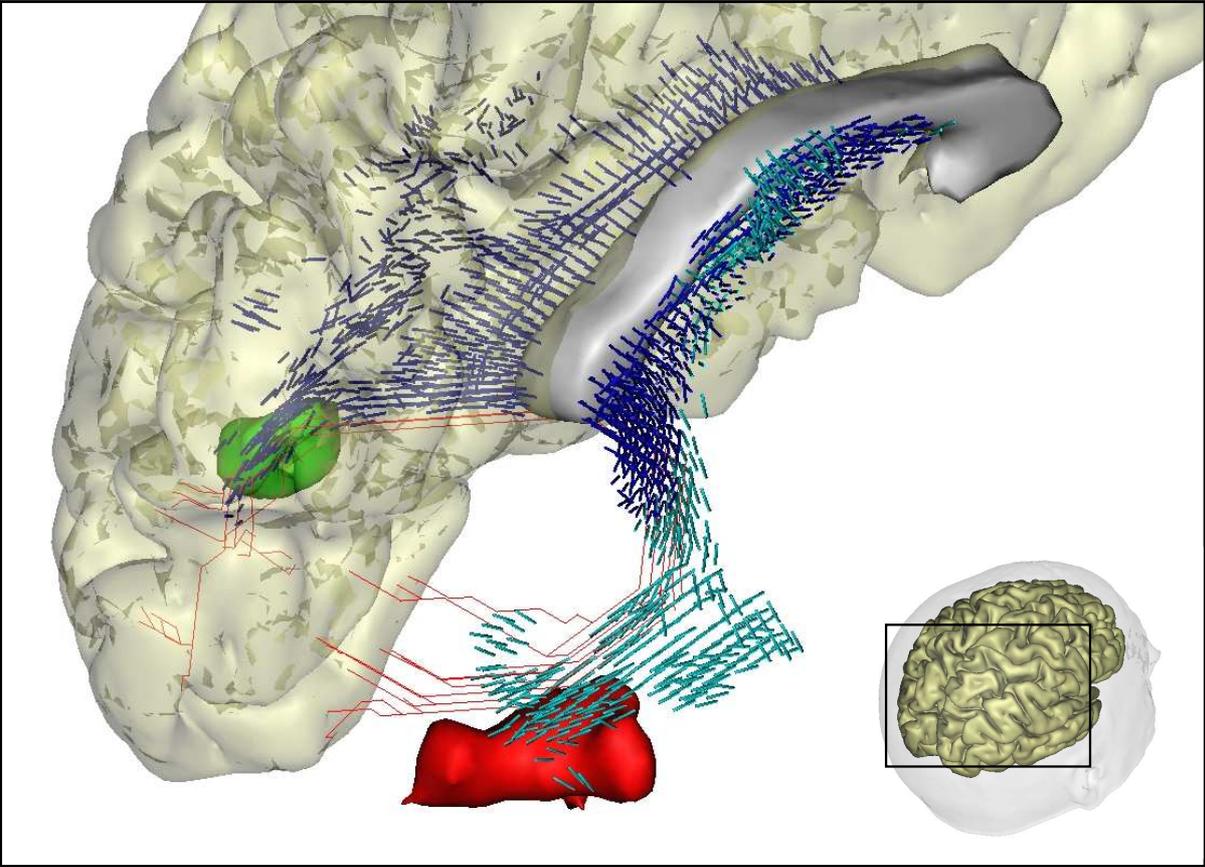


Figure 3 : 3D representation of the postulated transcallosal fiber tract. This figure illustrates the tight match between the voxels with reduced anisotropy in patient AC (shown in blue) and the trackings obtained by computerized tracking of diffusion data from a normal subject (showing in red lines). The same color code as in figure 2 is used (red cluster = patient AC’s retinotopic fMRI activation to LVF stimuli, green = patient AC’s VWFA, light blue = voxels with reduced anisotropy outside the T1 lesion; dark blue = voxels with reduced anisotropy inside the T1 lesion). Each blue vector represents the principal direction of the diffusion tensor in a normal subject, in voxels where patient AC showed significant reduced anisotropy. This representation suggests that the voxels with reduced anisotropy reflect the degeneracy of a transcallosal tract which normally starts in the close vicinity of the right occipital cortex, passes over the posterior horns of the lateral ventricles and then through the splenium of the corpus callosum to the left occipito-temporal region.



3.4 Discussion

The combination of structural imaging techniques such as diffusion tensor imaging and functional imaging represent a promising approach for the study of brain connectivity and the analysis of disconnection syndromes. Combining both techniques in a posterior split brain patient, we showed that his left hemialexia could be related, functionally, to abnormal fMRI activations, and anatomically, to an impairment of connections between those activations. Using diffusion tensor imaging, statistical analysis revealed microstructural abnormalities at distance from the callosal lesions in regions without any T1-weighted MR signal changes and particularly in the white matter underlying right occipital cortical areas activated during reading. These microstructural alterations strongly suggest retrograde degeneration of a fiber tract crossing the lesioned area of the corpus callosum and running over the occipital horn of the lateral ventricle connecting the left ventral occipito-temporal region to its right homolog. At the relatively coarse resolution used here (~3 mm), connections could not be traced to their precise final cortical targets, because diffusion tensor information became imprecise in the white matter just underlying the cortex, presumably due the crossing of multiple fiber tracts. Furthermore, we do not claim that only the connections involved in position-invariant word identification were impaired. Rather, the lesion disconnected an extended set of bilateral ventral occipito-temporal areas. This agrees with previous behavioral evidence for impaired inter-hemispheric transfer of visual word, but also color and face information in patient AC (Intriligator et al., 2000).

Our study suggests that the left fusiform gyrus plays a crucial role in word reading by collecting and representing visual word form information independently of its retinal location. Dejerine's (1892) initial interpretation of pure alexia was that the fusiform lesion severed two bundles of white matter respectively conveying visual information from the right- to the left-hemispheric primary visual cortex through the corpus callosum, and from left-hemispheric visual regions towards the left angular gyrus where words forms were thought to be stored. More recent studies allow us to update this initial anatomo-functional model. We now know that pure alexia can result from purely cortical lesions affecting the portion of the fusiform gyrus where the visual word form area is found, but sparing the underlying long-distance connections (Beverdort et al., 1997). While such cases are not amenable to a disconnection account, other variants of pure alexia are still best explained by considering the connections of the VWFA originating from more peripheral visual regions, or heading towards lateral language cortex. The so-called subangular alexia which results from subcortical parietal

lesions, presumably depriving the left inferior parietal lobule of its input, is thought to correspond to the latter mechanism (Greenblatt, 1973; Iragui & Kritchevsky, 1991). As for impairments of the input routes to the VWF area, the best documented situation corresponds to callosal lesions with a resulting alexia restricted to the left visual hemifield, as in the present case (Cohen et al., 2000; Suzuki et al., 1998). Suzuki et al. (1998) suggested that the critical portion of the callosum for the transfer of alphabetical information is the infero-posterior part of the splenium. From the study of lesion topography and reading abilities in several alexic patients, Binder and Mohr (Binder & Mohr, 1992) further proposed a schematic diagram of posterior callosal projections, suggesting that they run posterolaterally over the occipital horn of the lateral ventricle before reaching extrastriate visual cortex on the lateral and ventrolateral convexity. Our data are in good agreement with those neuropsychological inferences, and further reveal that the entire course of those fibers can now be traced in the normal human brain.

Contrary to Dejerine's initial hypothesis, the VWFA probably does not receive its main input from primary visual cortex. Rather, our fMRI results suggest that the stage of processing immediately prior to the VWFA is a retinotopic visual processing stage putatively identified as area V4, and present in both hemispheres (see Cohen 2000). This predicts that it should be possible to observe a reading impairment symmetrical to callosal alexia, with pure alexia restricted to the right hemifield due to a disconnection depriving the VWFA of its visual inputs within the left hemisphere (see figure 1). Indeed, such right hemialexia has been reported following a predominantly subcortical left occipito-temporal lesion, presumably depriving the VWFA of its input from the ipsilateral area V4 (Castro-Caldas & Salgado, 1984). It would be interesting to use diffusion tensor imaging in such a patient to examine if this would indeed show the predicted degenerated posterior fiber tract within the left hemisphere.

3.5 Conclusion

The present approach, based on the 'negative tracking' of degenerated bundles can be used to isolate a neural pathway within the otherwise complex and intermingled connections of the normal human brain. While we applied it to a large impairment of interhemispheric connections, further studies will be needed to demonstrate the feasibility of this approach to the study of smaller intrahemispheric connections. This *in vivo* approach may be useful, not only in focal acquired lesions, but also to clarify the possible contribution of disconnections to

degenerative diseases (Rose et al., 2000) or to developmental disorders such as developmental dyslexia (Klingberg et al., 2000).

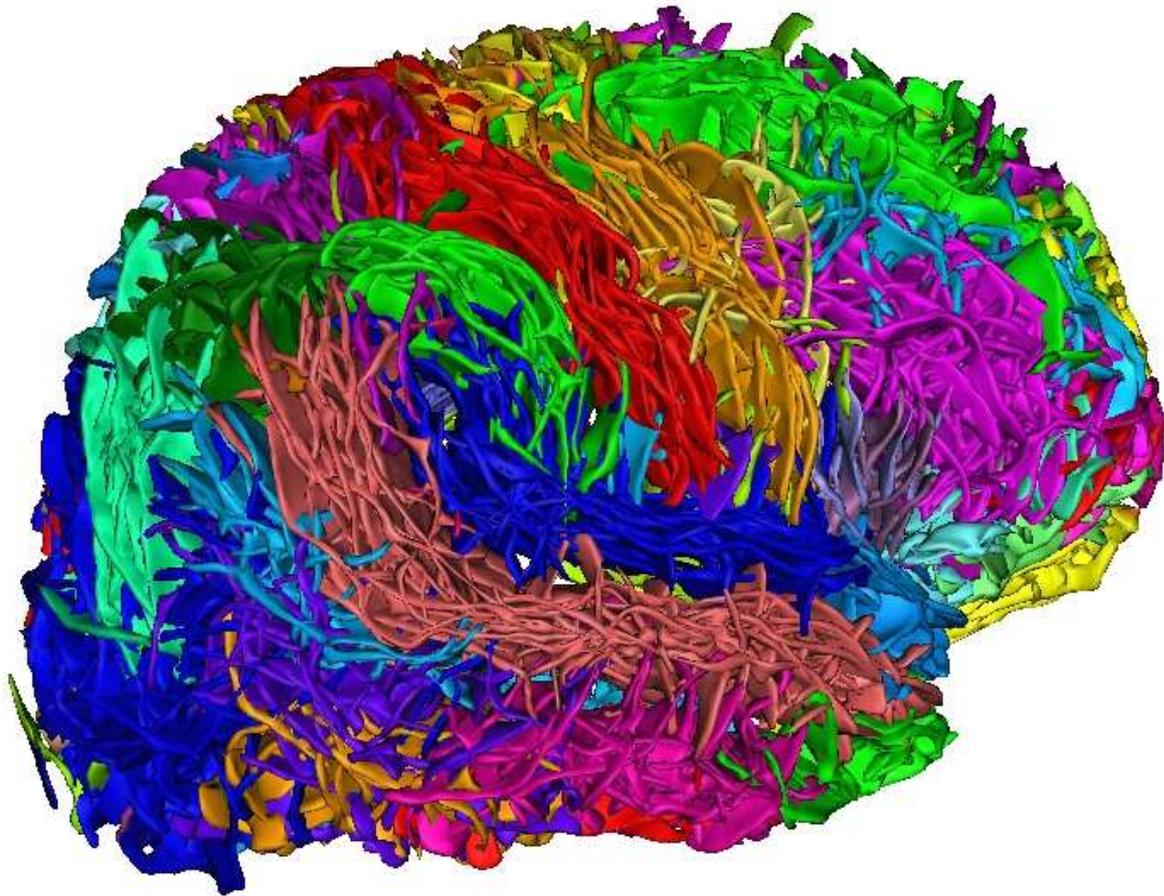
3.6 Références :

- Beauregard, M., Chertkow, H., Bub, D., Murtha, S., Dixon, R., & Evans, A. (1997). The neural substrate for concrete, abstract, and emotional word lexica: A positron emission tomography study. *J. Cog. Neurosci.*, *9*, 441-461.
- Beversdorf, D. Q., Ratcliffé, N. R., Rhodes, C. H., & Reeves, A. G. (1997). Pure alexia: clinical -pathologic evidence for a lateralized visual language association cortex. *Clinical Neuropathology*, *16*, 328-331.
- Binder, J. R., & Mohr, J. P. (1992). The topography of callosal reading pathways. A case-control analysis. *Brain*, *115*, 1807-1826.
- Castro-Caldas, A., & Salgado, V. (1984). Right hemifield alexia without hemianopia. *Arch Neurol*, *41*(1), 84-7.
- Cohen, L., Dehaene, S., Naccache, L., Lehéricy, S., Dehaene-Lambertz, G., Hénaff, M. A., & Michel, F. (2000). The visual word form area: Spatial and temporal characterization of an initial stage of reading in normal subjects and posterior split-brain patients. *Brain*, *123*, 291-307.
- Conturo, T. E., Lori, N. F., Cull, T. S., Akbudak, E., Snyder, A. Z., Shimony, J. S., McKinstry, R. C., Burton, H., & Raichle, M. E. (1999). Tracking neuronal fiber pathways in the living human brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *96*(18), 10422-10427.
- Damasio, A. R., & Damasio, H. (1983). Anatomical basis of pure alexia. *Neurology*, *33*, 1573-1583.
- Dehaene, S., Naccache, L., Cohen, L., Le Bihan, D., Mangin, J. F., Poline, J. B., & Rivière, D. (2001). Cerebral mechanisms of word masking and unconscious repetition priming. *Nature Neurosci.*, *4*, 752-758.
- Dejerine, J. (1892). Contribution à l'étude anatomo-pathologique et clinique des différentes variétés de cécité verbale. *Mémoires de la Société de Biologie*, *4*, 61-90.
- Fiez, J. A., & Petersen, S. E. (1998). Neuroimaging studies of word reading. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, *95*(3), 914-21.
- Geschwind, N. (1965). Disconnection syndromes in animals and man. *Brain*, *88*, 237-294.
- Greenblatt, S. H. (1973). Alexia without agraphia or hemianopsia, *Anatomical analysis of an autopsied case* (Vol. 96, pp. 307-316).
- Intriligator, J., Hénaff, M. A., & Michel, F. (2000). Able to name, unable to compare: the visual abilities of a posterior split-brain patient [In Process Citation]. *Neuroreport*, *11*(12), 2639-42.
- Iragui, V. J., & Kritchewsky, M. (1991). Alexia without agraphia or hemianopia in parietal infarction. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, *54*(9), 841-2.
- Klingberg, T., Hedehus, M., Temple, E., Salz, T., Gabrieli, J. D., Moseley, M. E., & Poldrack, R. A. (2000). Microstructure of temporo-parietal white matter as a basis for reading ability: evidence from diffusion tensor magnetic resonance imaging [see comments]. *Neuron*, *25*(2), 493-500.
- Le Bihan, D. (Ed.). (1995). *Diffusion and perfusion MR imaging: Application to functional MRI*. New York: Raven Press.
- Leff, A. P., Crewes, H., Plant, G. T., Scott, S. K., Kennard, C., & Wise, R. J. (2001). The functional anatomy of single-word reading in patients with hemianopic and pure alexia. *Brain*, *124*(Pt 3), 510-21.
- Michel, F., Hénaff, M.-A., & Intriligator, J. (1996). Two different readers in the same brain after a posterior callosal lesion. *NeuroReport*, *7*, 786-788.
- Pierpaoli, C., & Basser, P. J. (1996). Toward a quantitative assessment of diffusion anisotropy. *Magn Reson Med*, *36*(6), 893-906.
- Poupon, C., Clark, C. A., Frouin, V., Regis, J., Bloch, I., Le Bihan, D., & Mangin, J. (2000). Regularization of diffusion-based direction maps for the tracking of brain white matter fascicles. *Neuroimage*, *12*(2), 184-95.
- Price, C. J. (1997). Functional anatomy of reading. In R. S. J. Frackowiak, K. J. Friston, C. D. Frith, R. J. Dolan, & J. C. Mazziotta (Eds.), *Human brain function* (pp. 301-328). San Diego: Academic Press.
- Puce, A., Allison, T., Asgari, M., Gore, J. C., & McCarthy, G. (1996). Differential sensitivity of human visual cortex to faces, letterstrings, and textures: a functional magnetic resonance imaging study. *J. Neurosci.*, *16*, 5205-5215.
- Rose, S. E., Chen, F., Chalk, J. B., Zelaya, F. O., Strugnell, W. E., Benson, M., Semple, J., & Doddrell, D. M. (2000). Loss of connectivity in Alzheimer's disease: an evaluation of white matter tract integrity with colour coded MR diffusion tensor imaging. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, *69*(4), 528-30.
- Suzuki, K., Yamadori, A., Endo, K., Fujii, T., Ezura, M., & Takahashi, A. (1998). Dissociation of letter and picture naming resulting from callosal disconnection. *Neurology*, *51*, 1390-1394.
- Warrington, E. K., & Shallice, T. (1980). Word-form dyslexia. *Brain*, *103*, 99-112.
- Werring, D. J., Toosy, A. T., Clark, C. A., Parker, G. J., Barker, G. J., Miller, D. H., & Thompson, A. J. (2000). Diffusion tensor imaging can detect and quantify corticospinal tract degeneration after stroke. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, *69*(2), 269-72.

ⁱ As noted by Cohen et al. (2000), there is a variability amongst normals in the exact location of the VWFA. Though it is always found in the vicinity of the left occipito-temporal sulcus, the Talairach coordinates show a standard deviation of about 5 mm in each direction. Furthermore, the VWFA in patient AC tends to be higher than in most controls, perhaps revealing a slight displacement following brain atrophy. Because of this variability, the axial slices in figure 1 were centered on the main activation peak of the VWFA.

Chapitre 4

ETUDE DE LA DYSCALCULIE DEVELOPPEMENTALE DANS LE SYNDROME DE TURNER *



* Les données présentées dans ce chapitre ont fait l'objet de deux articles, un article sur l'anatomie cérébrale du syndrome de Turner, en révision à Cerebral Cortex, et un article sur l'imagerie fonctionnelle durant du calcul mental et l'anatomie du sillon intraparétal, Neuron sous presse

4.1 Introduction :

Avec une prévalence autour de 5%, les troubles de la lecture et les troubles du calcul sont les deux principales conséquences de la pathologie développementale (Kosc, 1974; Lewis et al., 1994; Shalev et al., 2000). La dyscalculie développementale est définie par des difficultés inhabituelles dans l'apprentissage de l'arithmétique qui ne peuvent pas être expliquées par un retard mental, un pauvre environnement social ou un parcours scolaire inapproprié (Kosc, 1974). Contrairement aux nombreuses études concernant les profils neuropsychologiques et les bases cérébrales de la dyslexie (Klingberg et al., 2000; Paulesu et al., 2001; Shaywitz et al., 1995), peu d'études se sont consacrées à l'étude des bases cérébrales de la dyscalculie développementale. Les études en imagerie dans la dyscalculie sont entravées par l'hétérogénéité des difficultés en arithmétique et par la fréquente association avec la dyslexie. En effet, une grande variété de problèmes non spécifiques peut influencer les performances en arithmétique comme des difficultés attentionnelles, des déficits en mémoire de travail, une lenteur dans le traitement des données et des déficits de la mémoire à long terme des faits arithmétiques (Temple and Sherwood, 2002).

L'étude de syndromes génétiques permet la sélection d'une population avec un phénotype neurobiologique homogène. Cependant, parmi les syndromes génétiques conduisant à une dyscalculie développementale, la présence d'un retard mental, souvent sévère, limite les possibilités d'étude des troubles du calcul comme dans le syndrome de Williams, le syndrome de l'X fragile et le syndrome vélo-cardiofacial. Le profil cognitif des patientes avec un syndrome de Turner (TS) associe des difficultés en arithmétique et dans le traitement visuo-spatial en l'absence de retard mental et de troubles du langage.

Le syndrome de Turner est un syndrome génétique résultant de la perte partielle ou complète d'un chromosome X (Turner, 1938). Le syndrome de Turner affecte une naissance sur 2000 naissance féminine et 3% des conceptions de sexe féminin (Ranke and Saenger, 2001; Saenger, 1996). Le phénotype physique du syndrome de Turner est bien connu et comprend une petite taille, une insuffisance ovarienne et un développement pubertaire anormal, ainsi qu'une variété d'anomalies physiques (cou palmé, dysgénésie rénale, malformation cardiaque) (Ranke and Saenger, 2001; Saenger, 1996). Contrairement au phénotype physique, les conséquences de la perte d'un chromosome X sur le développement cérébral et les fonctions cérébrales sont bien moins connues. Les études neuropsychologiques montrent que le profil cognitif des patientes avec un syndrome de Turner est caractérisé par

une dissociation entre des capacités non-verbales faibles et des capacités verbales normales voire légèrement supérieures à la normale (Ross et al., 2000; Temple and Carney, 1996; Temple and Sherwood, 2002). La sévérité du profil cognitif varie de façon importante entre les patientes mais certains déficits, comme les troubles visuo-spatiaux et du calcul, les troubles de la mémoire de travail et les troubles de la perception sociale, sont des symptômes caractéristiques du syndrome de Turner.

L'association d'un trouble visuo-spatial et d'une dyscalculie développementale est potentiellement le reflet d'une relation étroite entre les représentations cérébrales visuo-spatiales et numériques (Fischer et al., 2003; Zorzi et al., 2002) et oriente vers une dyscalculie de type "spatial", en rapport avec un développement anormal de la représentation numérique. Autour de 75% des patients avec syndrome de Turner ont des difficultés inhabituelles en mathématique, affectant particulièrement les soustractions, les opérations avec les grands nombres, l'estimation cognitive et le subitizing (Alexander and Money, 1966; Bruandet et al., 2003; Rovet et al., 1994; Temple and Marriot, 1998). Ces difficultés en arithmétique sont observées quelque soit l'âge des patientes et ne régressent pas sous traitement hormonal substitutif (Ross et al., 2002).

Dans une première étude, nous avons étudié les bases cérébrales du syndrome de Turner avec une étude morphométrique combinant l'imagerie anatomique de haute résolution et l'imagerie du tenseur de diffusion. Cette étude montre des arguments convergents suggérant l'existence d'anomalies régionales spécifiques dans des régions impliquées dans les troubles cognitifs des patientes, comme le sillon intrapariétal pour les troubles visuo-spatiaux et numériques et le sillon temporal supérieur pour les troubles de la perception sociale. Cette étude suggère le rôle de facteurs génétiques liés aux chromosomes X, direct ou indirects via les facteurs hormonaux, dans le développement de la cognition sociale et de la cognition numérique. Dans une deuxième étude, nous avons étudié plus précisément les bases cérébrales de la dyscalculie, avec une étude comportementale, une étude en imagerie fonctionnelle durant des tâches de calcul mental et une étude morphométrique de la géométrie du sillon intrapariétal. L'étude en imagerie fonctionnelle montre une insuffisance du recrutement du sillon intrapariétal, prédominant au niveau du sillon intrapariétal droit, quand la difficulté des calculs augmentent. Cette étude révèle aussi l'utilisation de stratégies compensatoires, impliquant le sillon intrapariétal gauche. L'étude anatomique montre une anomalie de la profondeur, de la longueur et de la géométrie du sillon intrapariétal droit, reflétant une importante désorganisation anatomique de cette région. L'ensemble de cette

étude suggère le rôle clé du sillon intrapariétal dans le développement de la représentation des nombres.

4.2 Bases anatomiques des troubles cognitifs dans le syndrome de Turner

4.2.1 Introduction :

All the behavioral studies in Turner syndrome (TS) tentatively evoke the possible impairment of multiple neural systems distributed across distinct cerebral regions. However, no brain abnormalities are obvious on visual inspection as expected in such developmental disorders where cognitive dysfunctions are more likely related to subtle changes in neuronal size and degree of myelination. Nevertheless, previous volumetric MRI studies in TS showed a bilateral decrease of grey matter volumes in the parietal lobes and in parieto-occipital regions associated with a decreased volume of the subcortical gray matter and the hippocampus on both sides (Brown et al., 2002; Murphy et al., 1993; Reiss et al., 1993; Reiss et al., 1995). Functional neuro-imaging studies using positron emission tomography (PET) in TS have found a decrease of glucose metabolism in parietal and occipital regions and in the temporal cortex, and insula (Clark et al., 1990; Murphy et al., 1997). A putative loss of occipito-parietal connections has been advanced to explain the parietal hypometabolism (Clark et al., 1990; Murphy et al., 1997).

In the present paper, we used high resolution anatomical and diffusion tensor images, two different MRI techniques providing complementary multi-scale information on tissue density, microstructural organisation and sulcal geometry. Contrary to previous anatomical studies in TS, based on the selection of a limited number of regions of interest, we used a whole brain analysis using statistical parametric mapping (SPM) for characterizing local tissue changes (Ashburner and Friston, 2000; Good et al., 2001). In addition, sulcal morphometry of the intraparietal and superior temporal sulcus, two candidate regions that may underlie the cognitive impairment of TS, was analyzed. Using voxel-based morphometry, high resolution T1-weighted images have been shown to be sensitive to subtle macroscopic changes in developmental disorders (Isaacs et al., 2001; Sowell et al., 2001; Watkins et al., 2002) and even to correlations between brain morphology and specific cognitive abilities (Golestani et al., 2002; Maguire et al., 2000; Sluming et al., 2002). Relative to the macroscopical information provided by T1-weighted images, diffusion tensor imaging (DTI) is a complementary MRI technique which is sensitive to microstructural features of the cerebral tissue based on the measurement of water diffusion (Klingberg et al., 2000; Le Bihan et al., 2001; Rose et al., 2000). Through their diffusion-driven displacements, water molecules interact with many tissue components such as cell membranes, fibers and

macromolecules, allowing DTI to provide quantitative information on tissue structure at microscopic level (typically 10-30 microns)(Le Bihan et al., 2001). In particular, within cerebral white matter, the coherent orientation of axons constrains water molecules to move preferentially along the main direction of neural fibers, introducing a measurable diffusion anisotropy revealing the local orientation of fibers (Conturo et al., 1999; Pierpaoli et al., 1996; Poupon et al., 2000). In developmental and psychiatric disorders, analysis of brain structure using DTI has been shown useful in dyslexia and schizophrenia, revealing microstructural anomalies in normal appearing tissue on conventional MRI (Klingberg et al., 2000; Wolkin et al., 2003).

In the present study, we reported the detailed analyses from these complementary MRI methods in 14 TS subjects and 14 controls.

4.2.2 Methods :

Subjects :

14 subjects with TS (mean age : 24.5 ± 6.0 years) were recruited on a volunteering base from the national TS association (AGAT association) and the endocrinology department of Saint-Vincent-de Paul hospital. All had the main physical features of the TS phenotype, 10 were of the 45,X karyotype, four showed a mosaic (mosaic pattern : 45,X/ 46,XX for three subjects, 45,X/46,Xi(Xq) for one subject). All but one TS subjects were taking sex steroids (oestrogen and progesterone). All TS subjects included in this study were either student or employed and lived an independant life whithout any social help. All but one achieved their high school and their number of study year after high school differed only slightly between the two groups (vs). The same imaging protocol was also run on 14 control subjects matched on age, sex, and laterality (mean age : 24.3 ± 3.4 years). All subjects gave informed consent to participate in the study, which was approved by the regional ethical committee.

Magnetic resonance imaging protocol

All scans were acquired using a 1.5T Signa horizon Echospeed MRI system (General Electric Medical Systems, Milwaukee, WI). High-resolution anatomical images were acquired in the axial plane using a spoiled gradient echo sequence (124 slices 1.2 mm thick, TR = 10.3 ms, TE = 2.1 ms, TI = 600 ms) and 24 x 24 cm field of view (resolution of 0.937 x 0.937 x 1.2 mm). Diffusion-weighted images were acquired with echo-planar imaging in the axial

plane covering the whole brain (48 slices, 2.8 mm thick; TE=84.4 ms, TR 2.5 s) and 24 x 24 cm field of view (resolution 128 x 128). For each slice location, a T2-weighted image with no diffusion sensitisation, followed by 5 b values (incrementing linearly to a maximum value of 1000 s/mm²) were obtained in 6 directions. In order to improve the signal-to-noise ratio, this sequence was repeated two times, providing 62 images per slice location. Before performing the tensor estimation, an unwarping algorithm was applied to the diffusion-weighted dataset to correct for distortion related to eddy currents induced by the large diffusion-sensitizing gradients (Poupon et al., 2000). Thereafter, the diffusion tensor was calculated on a pixel by pixel basis as described (Pierpaoli and Basser, 1996). DTI images of one TS subject were not used because of excessive head movements during acquisition.

Voxel-based morphometry.

To characterize the local differences of cerebral tissue density between TS subjects and controls, we used a standard voxel-based morphometry approach (Ashburner and Friston, 2000; Good et al., 2001). As previously described, anatomical images were processed using three different steps : creation of customised templates, normalisation and smoothing (Ashburner and Friston, 2000; Good et al., 2001). In the present study, we chose to investigate each hemisphere separately and excluding the cerebellum which offers two advantages (Riviere et al., 2002). First, it allows to optimise the normalisation on a customised template dedicated for each hemisphere, and second, it provides a precise analysis of medial structures without partial volume effect of the contralateral homologue region after image smoothing. Similarly, the split of the cerebellum from each hemisphere avoids a partial volume effect of cerebellum structures on the inferior occipito-temporal region. For the first step, anatomical images of controls were normalised to Talairach space using a linear transform and the template of the Montreal Neurological Institute (MNI). After correction for standard intensity inhomogeneities of MR images, these normalised anatomical images were segmented using an automatic procedure that separates the grey and white-matter from each hemisphere and from the cerebellum (Riviere et al., 2002). The grey matter templates were created by averaging and then smoothing the normalised grey matter images of each hemisphere. The second step consisted in the normalisation of the grey matter images in the native space onto grey matter templates. A new segmentation procedure was then applied to all the anatomical images in the native space and the resulted grey matter images were normalised to the corresponding grey matter template using a linear transform, and then smoothed using a 5-

mm FWHM isotropic Gaussian kernel. Last, we compared the smoothed grey images of each hemisphere between TS and controls on a voxel-by-voxel basis using a one-way anova (SPM99 software). We used a voxelwise significance threshold of 0.01, and a cluster extent threshold of $p < 0.05$ corrected for multiple comparisons across the whole brain volume. An uncorrected P value of < 0.005 was used for regions that were the exact contralateral homologous regions to any of the regions already identified or for regions that were predicted a priori, i.e the superior temporal sulcus and the intraparietal sulcus. A similar procedure was applied on the white matter images. However, as previously reported, in brain regions in which grey matter and white matter tissues are in close proximity such as the cerebral cortex, our results showed an inverse relationship between grey and white matter (Golestani et al., 2002). There was an increase in grey matter in areas of reduced white matter and vice versa. To avoid redundancy of these results, we therefore decided not to report the white matter analysis in this work.

Voxel based-diffusion.

Two complementary diffusion parameters were computed from the diffusion tensor, the mean diffusivity, a measure of water diffusion averaged across all directions, and the fractional anisotropy, an index of directional selectivity of water diffusion. Images of mean diffusivity and fractional anisotropy were coregistered to the anatomical images using the mutual information algorithm of SPM99. The diffusion images were then normalised to Talairach space using the linear transform calculated on the anatomical images, and smoothed (FWHM 5 mm). We compared the diffusion parameters between TS and controls on a voxel-by-voxel basis using a one-way anova. We used the same thresholds as in voxel-based morphometry.

Sulcal morphometry.

To further investigate the cerebral changes identified using voxel-based analysis, we studied the sulcal morphometry of the superior temporal sulcus and of the intraparietal sulcus, two candidate regions that may underlie the cognitive impairment of TS. The superior temporal sulcus has been shown to play a crucial role in monitoring gaze direction and in affect recognition, and the intraparietal sulcus is a critical region for numerical sense and visuo-spatial processing. The central sulcus served as a reference sulcus for which no

anomalie was expected a priori. We used an automatic sulcus extraction and identification procedure as described by Riviere et al (Riviere et al., 2002). Sulci were extracted from high resolution anatomical images through a procedure that converts the anatomical images to abstract representations of the cortical folding pattern. Thereafter, an automatic recognition algorithm, using a congregation of neural networks trained on a manually labelled database, was applied for the main sulci of the cerebral cortex, except for occipital lobe sulci. As previously reported, a mean recognition rate of 76% is obtained using this method (Riviere et al., 2002). Errors are mainly due to ambiguous sulci configurations. For each subject, the automatic recognition was visually verified and, if necessary, corrected. We compared the length and the maximal depth of the STS, IPS and CS between TS subjects and controls using Student's t-test. Values of $p < 0.05$ were considered statistically significant. Those results should be considered exploratory given that we did not perform a bonferoni correction for the number of comparisons performed (2 parameters x 3 sulci x 2 hemispheres = 12 comparisons total).

4.2.3 Results

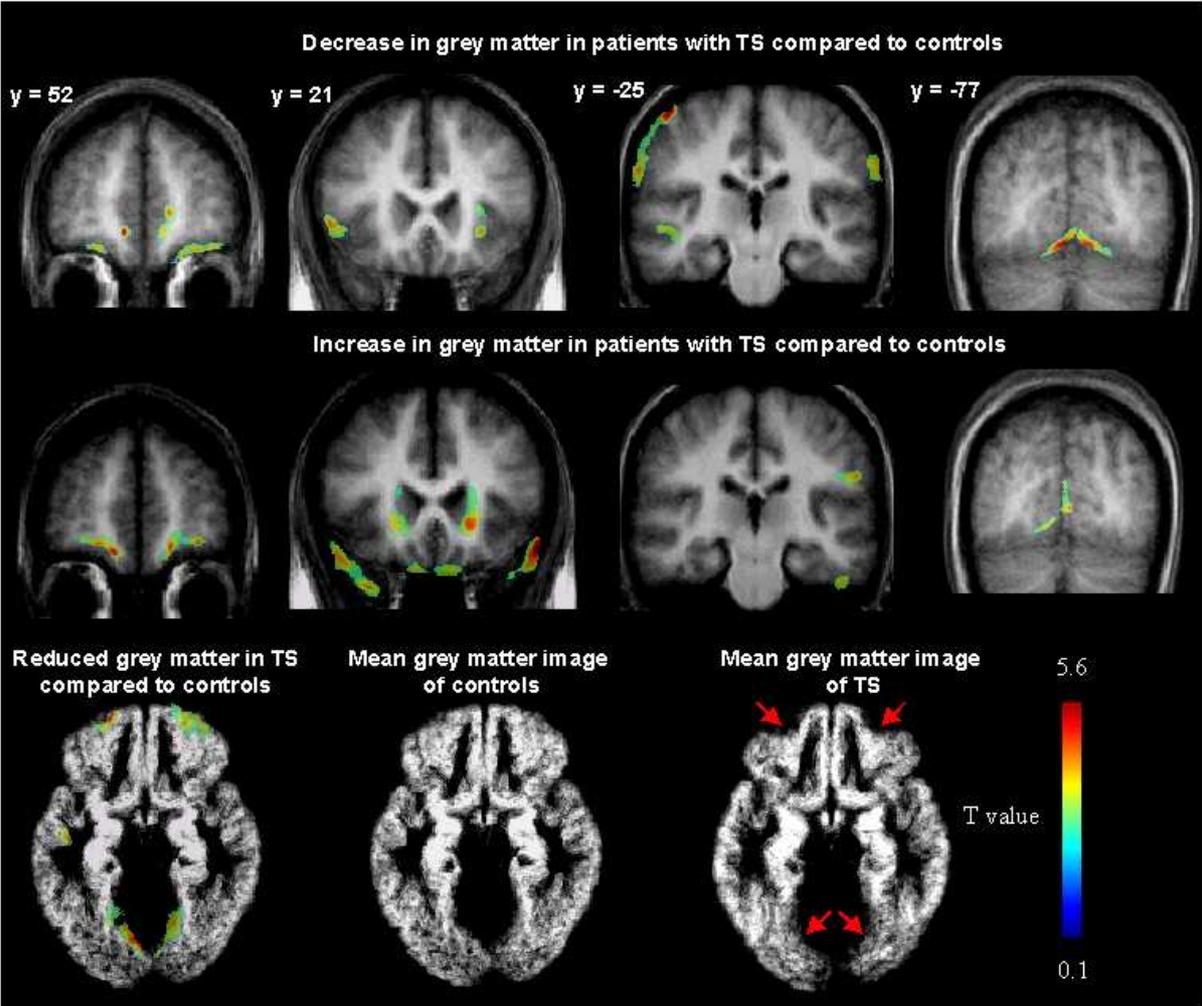
Voxel-based morphometry.

The analyses of grey matter density are summarized in Table 1 and are illustrated in Figure 1. Significant clusters of reduced grey matter in TS subjects compared to controls were found at symmetrical loci in anterior cingular cortex, orbito-frontal cortex, insula, post-central and supramarginal gyrus, and lingual gyrus. With respect to our a priori hypothesis, a decrease in the grey matter was found in the bottom of the left superior temporal sulcus and the right intraparietal sulcus. The peak difference in the grey-matter density of the right intraparietal was at (TC) -43, -30, 37 ($Z = 4,02$). This cluster did not survive to the correction for multiple comparisons but this anomaly was confirmed in the sulcal morphometric analysis described below. In the opposite contrast, increase in grey-matter in TS subjects compared to controls was found symmetrically in the temporal pole, the caudate nucleus and the orbito-frontal cortex and in the right lingual gyrus. The orbito-frontal and lingual clusters bordered the internal face of the orbito-frontal and lingual clusters observed in the opposite contrast. These clusters therefore seem to correspond to tissue displacement related to global atrophy of the orbito-frontal and internal occipito-temporal regions, as illustrated by the average grey matter images of controls and TS subjects (Figure 1).

Table 1 : Brain regions where grey matter density was significantly different between TS subjects and normal controls.

	Anatomical region	P value cluster-level	Number of voxels (1 voxel = 1mm ³)	Z score voxel-level	Talairach coordinates x,y,z
<i>Less grey matter in TS than in controls</i>					
R hemisphere	Right anterior cingulate cortex BA 32	0.011	1413	4.93	14, 48, -3
	Right lingual gyrus BA 18	< 0.001	2560	4.78	10, -70, -9
	Right Insula BA 45	0.003	1693	4.58	30, 16, -8
	Right postcentral gyrus BA 2	0.121	287	4.20	49, -25, 63
	Right intraparietal sulcus BA 40	0.398	621	4.02	43, -30, 37
	Right orbito-frontal cortex BA 11	0.002	1859	4.00	19, 60, -19
	Right supramarginal gyrus BA 40	0.001	1961	3.94	71, -17, 26
L hemisphere	Left postcentral and supramarginal gyri BA 1, 2, 40	0.006	1530	4.94	-51, -23, 62
	Left anterior cingulate cortex BA 32	0.121	912	4.63	-10, 51, -10
	Left lingual gyrus BA 18	< 0.001	2824	4.58	-7, -74, -12
	Left orbito-frontal cortex BA 11	0.133	892	4.40	-20, 61, -16
	Left superior temporal sulcus BA 22, 21	0.01	1431	4.09	-49, -19, -11
<i>More grey matter in TS than in controls</i>					
R hemisphere	Right temporal pole BA 38	< 0.001	3624	5.20	57, 16, -11
	Right postcentral and supramarginal gyri BA 1, 40	0.001	2055	4.51	50, -17, 52
	Right caudate and accubens nuclei	< 0.001	3954	4.35	19, -5, 24
	Right orbito-frontal cortex BA 11	< 0.001	2407	3.92	16, 52, -13
	Right lingual gyrus BA 18	0.021	1277	3.79	3, -79, 1
	Right fusiform gyrus BA 20	0.014	1375	3.75	49, -30, -34
	Right orbito-frontal cortex BA 11	0.012	1402	3.54	12, 26, -31
L hemisphere	Left lingual gyrus BA 18	0.012	1390	4.56	-10, -82, -10
	Left orbito-frontal cortex BA 11	0.003	1668	4.24	-16, -47, -16
	Left temporal pole BA 38	< 0.001	2452	4.03	-51, 19, -19
	Left accubens nucleus	0.015	1336	3.99	-21, 18, -2
	Left caudate nucleus	0.016	1324	3.90	-17, -5, 21
	Left orbito-frontal cortex BA 11	0.046	1109	3.79	-8, -24, -31

Figure 1 : Brain regions showing differences in grey matter density in TS subjects compared to controls. Top row, coronal views illustrating areas with a decrease in grey matter in TS subjects compared to controls. Middle row shows areas with an increase in grey matter in TS subjects. Bottom row, axial views of mean grey matter images of the 14 controls (left and middle) and the 14 TS subjects (right) showing the anatomical abnormalities in the orbito-frontal and occipito-temporal cortex of TS subjects (red arrows).



Voxel-based diffusion.

Increase in mean diffusivity was observed in TS subjects compared to controls in the left and right occipito-temporal region, the left lingual gyrus, the right fusiform gyrus and the left and right cerebellum (Table 2 and Figure 2). No significant cluster was observed in the opposite contrast for regions of decrease in mean diffusivity in TS group compared to controls.

Increase in anisotropy in TS group compared to controls was found bilaterally in depth of the superior temporal sulcus, in the right semi-ovale centrum and in the right external capsule (Table 2 and Figure 3). Two symmetrical clusters of decreased anisotropy were observed in the temporal white matter in regions with increased mean diffusivity (table 2 and Figure 2). However, no clusters of decreased anisotropy survived at corrected P value.

Analyses of fibers orientation within the temporal lobe.

From DTI, the main diffusion direction within each voxel can be used to infer fibers orientation in the region of abnormal white matter in TS. In figure 2, fibers orientation in one control is represented using a color code for the orientation of the main temporal fiber tracts. The orientation of fibers within the two temporal clusters of increased mean diffusivity has a clear antero-posterior direction (shown in green Figure 2), suggesting microstructural alterations of sagittally oriented white matter tracts. The other clusters of abnormal diffusion do not have a clear preferential orientation.

Table 2 : Brain regions where Mean Diffusivity and Fractional Anisotropy were significantly different between TS subjects and normal controls.

Anatomical region	P value cluster-level	Number of voxels (1 voxel = 9 mm ³)	Z score voxel-level	Talairach coordinates x,y,z
<i>Increase in Mean Diffusivity in TS relative to controls</i>				
Right fusiform gyrus BA 19	0.006	129	4.44	42,-66, -9
Left and right cerebellum, left lingual gyrus BA 18	<0.001	406	4.23	-9, -93, -36
Right temporo-occipital region	0.032	98	3.62	39, -42, 15
Left temporo-occipital region	0.001	167	3.45	-48, -15, -27
Left cerebellum, fourth ventricle	0.003	145	3.36 3.33	-36, -48, 3 -6 -66 -51
<i>Decrease in Mean Diffusivity in TS relative to controls</i>		None		
<i>Increase in Fractional Anisotropy in TS relative to controls</i>				
Right semi-ovale centrum	0.019	109	4.57	30, -3, 33
Right superior temporal sulcus, right middle temporal gyrus	0.573	47	4.43	48, 0, -24
Left superior temporal sulcus, left middle temporal gyrus, left temporo-occipito-parietal region	<0.001	199	4.25	-51, -18, -12
Right external capsule	0.047	92	3.82	39, 3, -15
<i>Decrease in Fractional Anisotropy in TS relative to controls</i>				
Right inferior occipito-temporal white matter	0.778	26	3.87	39, -45, -6
Left inferior occipito-temporal white matter	0.188	49	3.46	-36, -45, 0

Figure 2: Brain regions with an increase in Mean Diffusivity in TS subjects compared to controls (A). Note the bilateral and symmetric diffusion changes in the temporal white matter in areas where no macroscopical abnormality was observed on anatomical images. Analysis of the fiber tracts orientation within the diffusion clusters (B). Color representations of the fiber tracts of one controls are presented at the same level than the diffusion clusters. In this RGB encoded plot, red voxels correspond to left-right direction of diffusion, blue voxels to a superior-inferior orientation and green voxels to an antero-posterior orientation. The increase in mean diffusivity and the decrease in anisotropy affect antero-posterior pathways suggesting a disconnection between anterior and posterior regions within the temporal lobe.

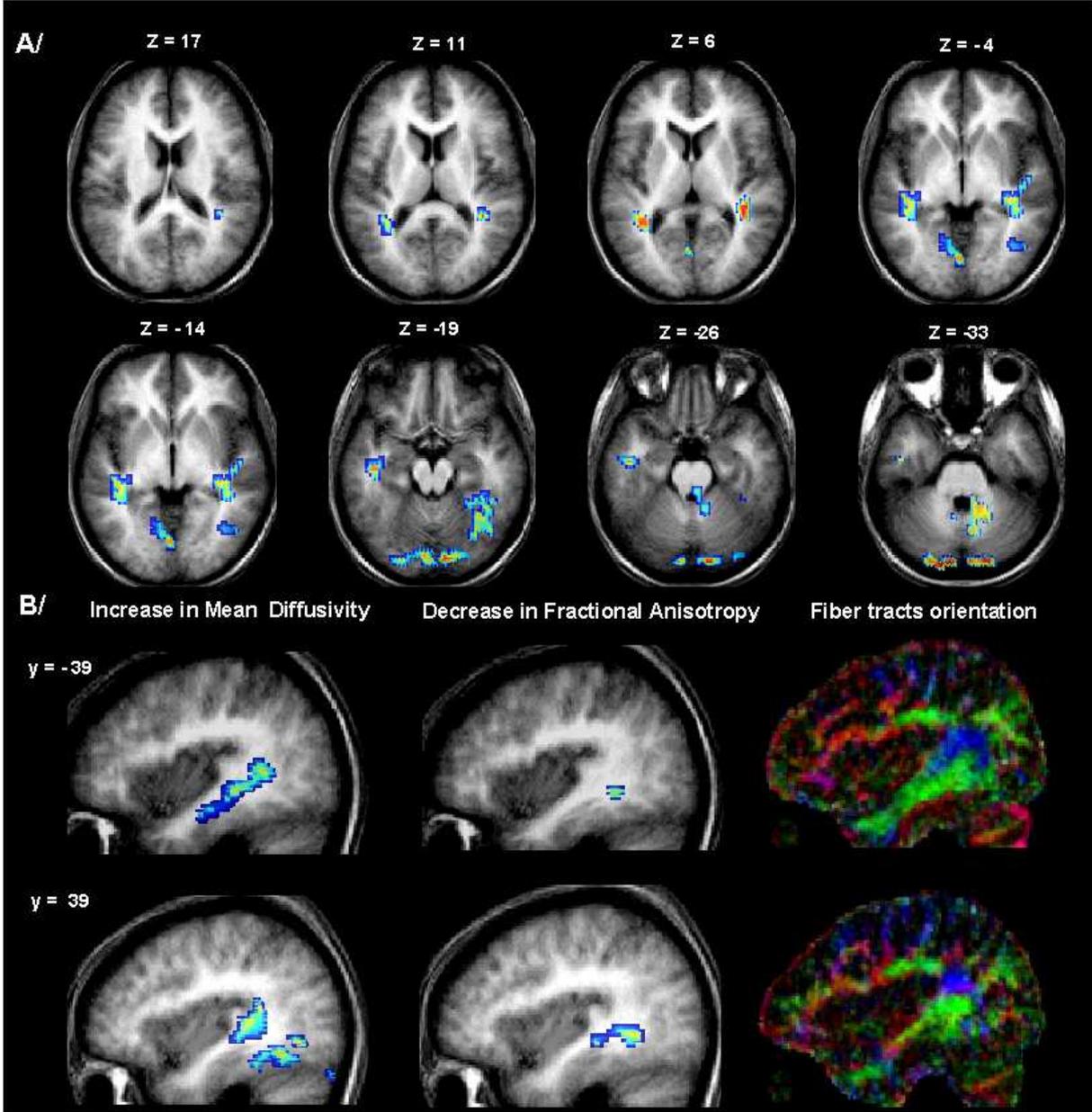
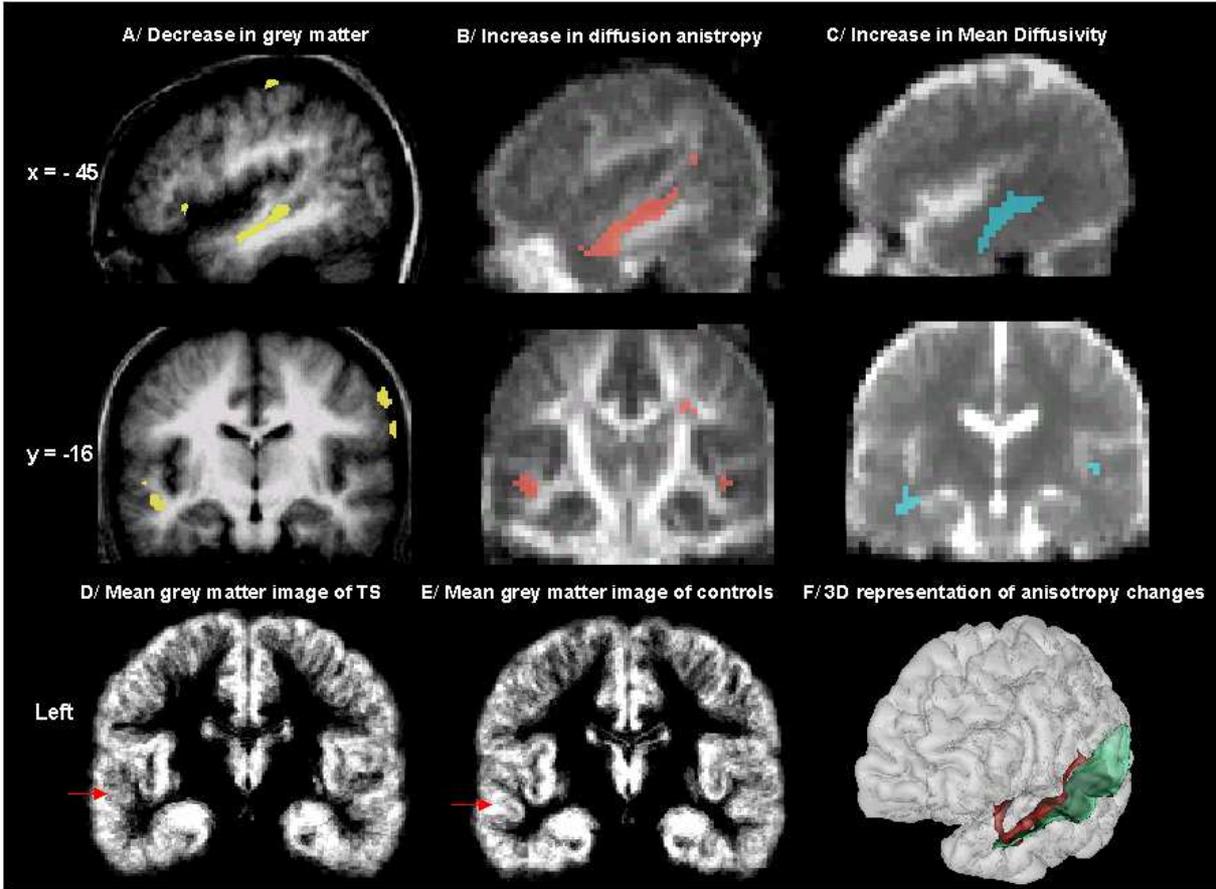


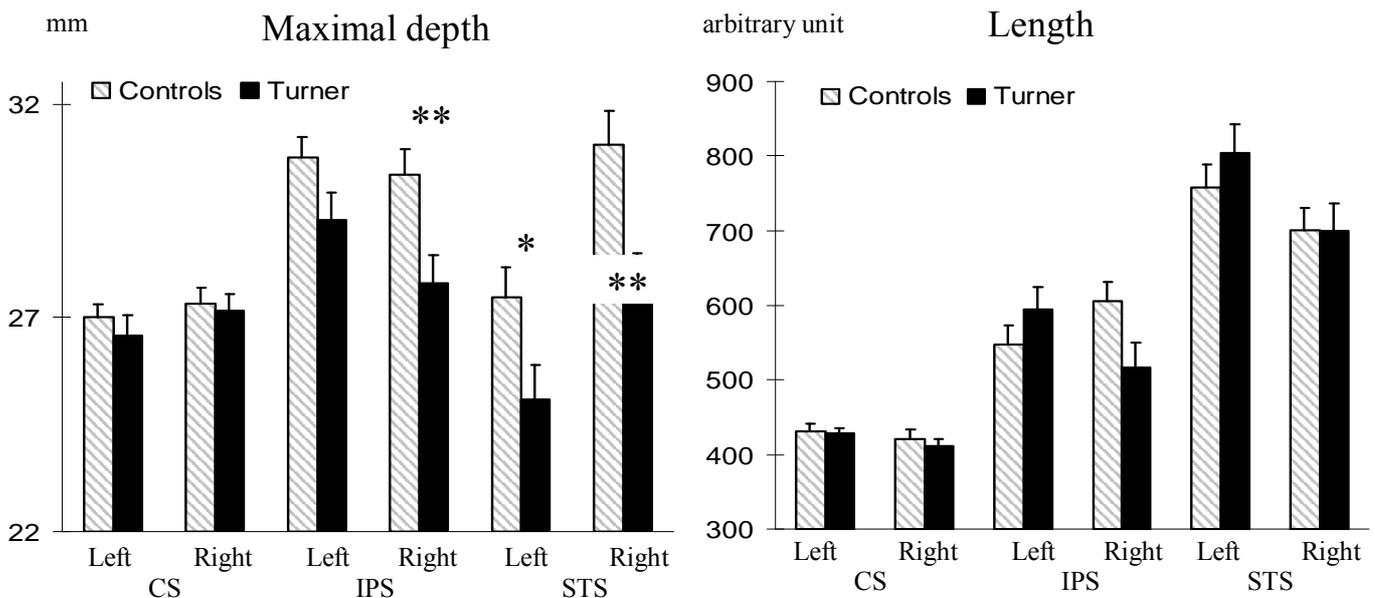
Figure 3 : Converging results showing the abnormalities of the left superior temporal sulcus in TS subjects. Abnormalities in a similar region of the left superior temporal sulcus are found on both anatomical images (A) (yellow clusters) and on Fractional Anisotropy images (B) (red clusters). Increase in Mean diffusivity (C) (blue clusters) in the temporal white matter of TS subjects suggest microstructural changes of projections pathways. The left superior temporal sulcus appears more blurred and less deep in the mean image of grey matter of 14 TS subjects (D) compared to those of the mean image of the 14 controls (E) (red arrows). Fractional Anisotropy changes (red) (F) are observed along the superior temporal sulcus (green) at the grey-white matter interface.



Sulcal morphometry.

Sulcal morphometry was investigated for the superior temporal sulcus and the intraparietal sulcus, two sulci for which we have a priori hypotheses based on the cognitive profile of TS. The central sulcus was used as a reference sulcus for which no impairment was expected (figure 4). For the central sulcus, both length and maximal depth did not differ between TS subjects and controls. However, the maximal depth of the left and right superior temporal sulci were significantly smaller in TS subjects than in controls (mean \pm standart error : left, TS = 25.2 ± 0.8 mm, controls = 27.7 ± 0.7 , $p = 0.03$; right, TS = 28.4 ± 0.4 , controls = 31.5 ± 0.8 , $p = 0.003$). Sulcal length was unaffected. For the right intraparietal sulcus, we observed a significant decrease in the maximal depth (TS = 28.1 ± 0.83 , controls = 30.7 ± 0.6 , $p = 0.005$). There was also a trend for length reduction (TS = 516 ± 34 , controls = 606 ± 26 , $p = 0.057$). No difference in either length and depth was observed for the left intraparietal sulcus.

Figure 4 : Histograms of length and maximal depth of the central sulcus (CS), the superior temporal sulcus (STS) and the intraparietal sulcus (IPS). A significant decrease in maximal depth is found in the left and right superior temporal sulci and in the right intraparietal sulcus in TS subjects compared to controls (* $p < 0.05$, ** $p < 0.005$). A trend towards a decrease in length of the right intraparietal is also observed.



4.2.4 Discussion

Our study provides converging evidence of regionally specific structural changes in TS at both macroscopical and microscopical levels using two independent neuroimaging methods, high-resolution anatomical T1-weighted imaging and diffusion tensor imaging. The voxel-based analysis of anatomical images provided evidence for macroscopical changes in several cortical regions: bilateral orbitofrontal and anterior cingulate regions, temporal poles and lingual gyri, the left superior temporal sulcus and the right intraparietal sulcus. Further below, we will consider to what extent those abnormalities can be related to the patients' deficits in two main domains, social abilities and visuo-spatial/numerical processing. The analysis of diffusion anisotropy images indicated the presence of white matter in TS subjects at coordinates that correspond to the grey matter located at bottom of the left superior temporal sulcus in controls, confirming a displacement of the grey–white matter interface in this sulcus (figure 3). A smaller but symmetrical anomaly was present in the right superior temporal sulcus. Diffusion images also revealed a symmetrical and bilateral increase in mean diffusivity and decrease in anisotropy in the temporal white matter that seemed macroscopically normal on anatomical images (figure 2). The analysis of fibers orientation showed that areas with diffusion changes contain fiber tracts with a posterior to anterior orientation suggesting microstructural changes of sagittally oriented pathways in the temporal lobes. This finding is consistent with anatomical studies showing that, within these temporo–occipital regions, axons are running oriented sagittally in the inferior longitudinal fasciculus (Crosby et al., 1962; Dejerine, 1895). This fasciculus contains mainly long association fibers connecting the temporal pole to the occipital pole but also carries some shorter cortico-cortical fibers (Gloor, 1997). These microstructural anomalies plausibly alter the connections between anterior and posterior regions of the temporal lobes. This appears particularly relevant in the context of bilateral macroscopical anomalies of grey matter distribution in the lingual gyrus, in the superior temporal regions and temporal poles. Finally, analyses of sulcal morphometry confirmed the anomalies found in the left and right superior temporal sulcus and in right intraparietal sulcus and further clarified voxel-based analyses showing an abnormal depth of this sulcus.

The previous anatomical studies in TS were based on measures of the volume of large regions of interest and lead to partially conflicting results in parietal lobes. One study reported a decreased volume in parieto-occipital regions together with a normal volume of the parietal lobes proper (Murphy et al., 1993), while another found a decreased volume of the parietal lobes (Reiss et al., 1995). A more recent volumetric MRI study using high resolution

anatomical images found a decrease in grey matter in the parietal lobes associated with a decrease in the white matter of the occipital lobes and cerebellar abnormalities (Brown et al., 2002). Our results confirm that there are measurable anomalies in parietal and occipital regions of TS patients, particularly in the intraparietal cortex. We also evidenced important and unidentified anomalies in the temporal lobes and orbito-mesial frontal regions. These focal effects could not be detected in more traditional volumetric studies where the temporal and frontal lobes are measures as a whole. These new findings in the temporal lobes are consistent with functional imaging using positron emission tomography showing bitemporal hypometabolism in TS (Murphy et al., 1997).

Before proposing a functional interpretation of our results, it is important to keep in mind the limitations, but also the complementarity, of our methods. The first limitation of the study concerns the design. We acknowledge that, although similar to other studies in TS or utilizing DTI, the number of subjects included in this study was rather small and thus could not guarantee an unbiased representativity of the population with TS. The inclusion of mosaic genotypes is also a potential confound but the presence of a normal cell line in mosaic genotypes would militate against the possibility of finding group differences. Moreover, the identification of mosaicism depends directly on the method of ascertainment and tissue-specific karyotyping can give divergent results. Some authors have also argued that mosaicism with a normal cell line in fetal membranes may be necessary for adequate placental function and fetal survival. Thus, the genotypes showing a monosomy 45X should always be interpreted cautiously. Voxel-based morphometry of T1 images detects macroscopic changes in the distribution of grey matter. Such changes are generally interpreted as reflecting an abnormal organization of brain tissue. However, they may potentially be due to a local deformation of brain shape secondary to more global changes in skeletal anatomy, which may have little or no impact on brain function. This could be important given that the physical phenotype of TS patients includes skeletal anomalies that may also influence the skull. Some effort was made to control for such global factors by first normalizing the global brain shape onto a common template prior to statistical analysis. Conversely, anomalies in internal regions such as the anterior cingulate, superior temporal, and intraparietal sulcus are unlikely to be modulated by major changes in brain shape, and are more likely to reflect genuine structural disorganization, especially when they are confirmed by direct measurement of sulcal depth. Another limitation of the voxel-based morphometry methods concerns the interpretation of the increases or decreases of grey matter density. Similarly to previous voxel-based morphometry studies in developmental disorders such as autism or fetal alcohol

syndrome, our results revealed the grey matter density in TS can decrease or increase according to the brain regions. While the influence of cell size or of cell density packing on the grey matter density is not known, it has been suggested that increases in grey matter corresponds to increase in cell density packing related to early abnormal cell events during gestation such as apoptosis. Decreases in grey matter may be attributed to a decrease in cells density due to abnormal neuronal migration. Limitations of voxel-based morphometry methods show the importance of the cross-validations using independent methods such diffusion MRI and sulcal morphometry. Relative to the information provided on anatomical images, diffusion images, which reflect the Brownian motion of water molecules at a scale of about 10 microns, provide access to independent information on the microstructure of brain tissue. Once the images of patients and controls are correctly aligned, so that measurement is effected within regions of white matter that appear normal on anatomical images, diffusion reflects the fine-grained organization of fiber tracts. Here, two diffusion parameters were analyzed statistically on a voxel-by-voxel basis: fractional anisotropy and mean diffusivity. Fractional anisotropy characterizes the local consistency in orientation of the fiber tracts, while mean diffusivity is thought to reflect mainly the size of the extracellular space (Le Bihan et al., 2001). In the present work, increases in mean diffusivity were found in the white matter that appeared normal on anatomical images, particularly in the white matter underneath the temporal lobes, suggesting a microstructural disorganization of a major antero-posterior fiber tract. Few changes in anisotropy were observed in these regions. Most significant anisotropy changes seemed to reflect displacement of the boundary between grey and white matter in patients compared to controls.

How do these results bear on the known cognitive profile of TS ? Numerous psychological studies have reported psycho-social difficulties in TS. Compared to controls, subjects with TS have fewer friends, engage in fewer social activity and show affective immaturity and attentional deficits (Mazzocco et al., 1998; McCauley et al., 1986a; McCauley et al., 1995; McCauley et al., 1986b; Ross et al., 2000). These social difficulties might be dismissed as secondary to the daily life difficulties associated with TS phenotype (e.g small size) but they might also indicate a specific deficit in social cognition. Autistic features has been described in TS subjects and a 500 fold-increased risk of autism is associated with TS (Creswell and Skuse, 2000; Skuse et al., 1997). Current cognitive theories suggest that the human brain may have evolved a specific module for social cognition based on the perception of the dispositions and the intentions of others (Allison et al., 2000; Frith, 2001). In particular, the perception of movements of the eyes, the face and the hands of others individuals provides

information on their intentions and their actions that may play a key role in social cognition and strongly influence human interactions (Allison et al., 2000). Recent studies have specifically investigated the socio-perceptual processing in TS. Like autistic children, TS patients showed deficits both in face recognition and in affect recognition on facial expressions (Lawrence et al., 2003). Gaze-monitoring abilities is another classical socio-perceptual task, where children with autism have reduced ability (Baron-Cohen et al., 1996). Accuracy of gaze direction detection has also been found abnormal in a large cohort of 41 TS subjects, reflecting a difficulty in ascribing social intention to gaze direction (Elgar et al., 2002). Converging evidence suggest that social perception from visual cues involves specific brain regions and in particular the superior temporal sulcus in both hemispheres (Allison et al., 2000; Frith, 2001). Neuroimaging studies using PET and fMRI have pinpointed activations of the left and right superior temporal sulci during the detection of eye gaze and the perception of biological motion such as lip-reading (Allison et al., 2000). In monkeys, single cell recordings revealed neurons in the superior temporal sulcus that respond according to gaze direction. Furthermore, lesions of the superior temporal sulcus in monkeys lead to impaired judgements of gaze directions (Perrett et al., 1985).

Taken together, such data suggest that the bilateral superior temporal sulcus anomalies that we have observed in TS subjects constitute the cerebral bases of deficits in social perception from visual cues. Beside the crucial role of the superior temporal sulcus in the social perception, single cells recordings in monkeys and neuroimaging studies in humans have suggested that social cognition involves an extended bilateral network including the amygdala, temporal pole, orbito-frontal cortex and anterior cingulate (Allison et al., 2000; Frith, 2001). It is remarkable that most of these regions, except the amygdala, were found anomalous in our anatomical analyses. (Note that the amygdala, which was not studied in detail here, has been found of increased volume in TS in a previous work (Good et al., 2000)). There is no definitive model of how these highly connected regions are functionally linked but they all appear to be engaged in the processing of intentions of biological agents. Neuroimaging studies during mentalizing tasks have characterised a reproducible network implicating the most anterior part of the anterior cingulate cortex, the temporal pole adjacent to the amygdala and the superior temporal sulcus (Frith, 2001). In autism, preliminary results suggest that the functional connectivity of these three regions is compromised (Baron-Cohen et al., 1999; Happe et al., 1996) and anatomical anomalies of the amygdala and of the medial frontal cortex have been reported using voxel based morphometry (Abell et al., 1999). Transcranial stimulation of the medial frontal cortex affects the processing of angry facial

expressions and small lesions of the orbito-frontal cortex may result in deficits in affect recognition from facial or vocal expression (Harmer et al., 2001; Hornak et al., 1996). Early lesions of the orbito-frontal cortex occurring before 16 months resulted in acquired sociopathy with deficits in social reasoning (Anderson et al., 1999). In this context, our findings of abnormal grey matter density in the superior temporal sulcus, the temporal pole, the orbito-frontal cortex and the anterior cingulate fit particularly well with the hypothesis of an impairment of ‘the social brain’ in TS. Moreover, the diffusion changes within the temporal lobes suggest microstructural changes of the long distance antero-posterior temporal projections, which may plausibly disconnect the different components of this network, and in particular the temporal pole and the superior temporal region. The previous behavioral data together with these anatomical results thus suggest that social difficulties may be a primary deficit in TS. This conclusion entails an implication of X-linked genes in the development of the cerebral networks for social cognition. This fits with the greater vulnerability of males to developmental disorders of language and social cognition, such as autism (Creswell and Skuse, 2000) and with a previous report suggesting a role of an imprinted X-linked locus in social cognition (Skuse et al., 1997). A recent MRI study in TS using regional measurements did not find any influence of genomic imprinting on cerebral lobes volumes (Brown et al., 2002). However, the present fine-grained methods may be better adapted to evidence such subtle differences. In the present study, we did not ascertain whether the remaining X chromosome was maternal or paternal. Future studies focusing on the brain regions found abnormal in this study are needed to investigate the possible influence of genomic imprinting on the development of cerebral networks involved in social cognition.

Deficits in visuo-spatial/numerical processing constitute another hallmark symptom associated with TS. Visuo-spatial deficits in TS include difficulties in judgement of line orientation, mental rotation in space, and right-left disorientation in extrapersonal space (Alexander and Money, 1966; Pennington et al., 1985; Ross et al., 2002; Rovet and Netley, 1980; Temple and Carney, 1995). TS subjects also experience difficulties in mathematics, particularly in arithmetic tasks such as subtraction, operations with large numbers, subitizing and cognitive estimation (Bruandet et al., 2003; Butterworth et al., 1999; Mazzocco, 1998; Pennington et al., 1985; Ross et al., 2002; Rovet et al., 1994; Temple and Marriot, 1998). These deficits in TS are consistent across a wide range of ages and are not reversible with estrogen substitution (Ross et al., 2002). In the present study, several tests that will be reported in a forthcoming publication confirmed that our TS subjects were impaired in arithmetic. For instance, they performed significantly worse than controls on Warrington’s

graded arithmetic test, a graded difficulty test of arithmetic computations. The mean percentage of problems solved was $41.1 \pm 4.5\%$ for TS subjects and $60.1 \pm 4.2\%$ for controls, ($t(26)=2.85$, $p=0.008$). Neuropsychological and functional neuroimaging studies in normal subjects and in patients with cerebral lesions have provided compelling evidence for the crucial role of the intraparietal sulcus in visuo-spatial and numerical processing (Cohen and Dehaene, 1994; Dehaene and Cohen, 1997; Dehaene et al., 1998; Lee, 2000; Stanesco-Cosson et al., 2000). Functional imaging in normal subjects has revealed that numerical quantity manipulation relies on a reproducible cerebral network that systematically involves the left and right intraparietal sulci, with increasing activation as the task puts greater emphasis on quantity processing (Dehaene et al., 1999; Pinel et al., 2001). Anatomical MRI studies in developmental dyscalculia have shown a clear impairment of the left parietal cortex, (Isaacs et al., 2001; Levy et al., 1999). In particular, using voxel-based morphometry, a decrease in the grey matter density has been found in the left intraparietal sulcus (Talairach coordinates : -39, -39, 45) in premature children with dyscalculia (Isaacs et al., 2001). In the present study, a decrease in grey matter subjects was found at a symmetrical location in the right intraparietal sulcus of TS subjects (Talairach coordinates : 43, -30, 37). Morphometric analysis of the right intraparietal sulcus revealed that this sulcus was shallower and tended to be shorter in TS. The finding of a morphological difference in the right intraparietal sulcus is consistent with the results of our forthcoming fMRI study during calculation tasks in the same TS subjects. We found that, while TS activated similarly to controls the classical parieto-frontal networks during calculation tasks, a decreased activation of the right intraparietal sulcus is observed when the tasks put greater emphasis on quantity manipulation. This decreased activation in the right intraparietal sulcus during calculation tasks is closely located to the region found abnormal using voxel-based morphometry (Talairach coordinates : 48, -36, 48). Our results suggest that reduced grey matter in the right intraparietal sulcus may be responsible for the visuo-spatial and number processing deficits in TS. More broadly, this result and the previous report in children with developmental dyscalculia associated with prematurity suggest that the intraparietal sulcus may play a crucial role in the development of arithmetic abilities, although the possibility of a distinct role of the left and right intraparietal sulci remains to be clarified.

Finally, reduced performance on tests classically associated with frontal lobe function such as the n-back task, the tower of Hanoi task, the Wisconsin Card sorting Test, and verbal fluency has been repeatedly reported in TS (Bender et al., 1993; Haberecht et al., 2001; Romans et al., 1998; Temple et al., 1996; Waber, 1979). Our results do not provide evidence for anatomical changes in the prefrontal cortex. Although we cannot exclude that a subtle

deficit might be identified with higher resolution images, our result is consistent with previous volumetric MRI studies (Brown et al., 2002; Murphy et al., 1993; Reiss et al., 1993; Reiss et al., 1995). Two Recent fMRI studies in TS during frontal tasks have shown bilateral abnormal prefrontal activations. Decreased activations have been found bilaterally in the dorso-lateral prefrontal cortex and also in the supramarginal gyrus during n-back tasks (Haberecht et al., 2001), and increased activations in the superior and middle frontal gyri have been also reported during a Go/noGo task (Tamm et al., 2003). The absence of anatomical anomalies associated with those functional changes may indicate that such changes are a secondary reflection of greater efforts due to primary deficits in more posterior brain systems. In addition, parieto-frontal connections may be abnormal, as suggested by anisotropy changes in the right centrum semi-ovale. Finally, one should stress that the neuropsychological tasks used in TS studies such as the tower of Hanoi task, the Wisconsin Card sorting Test, or verbal fluency do not isolate an individual cognitive process and do not target a precise anatomical region. A more detailed analysis of executive dysfunction in TS is needed to disentangle the relative contributions of spatial and verbal working memory, attention and inhibition.

4.2.5 Conclusions

Our MRI study used two independent MRI techniques to provide converging evidence of regionally specific structural changes in TS. The multifocal and bilateral cerebral abnormalities found in TS are highly consistent with the hallmark symptoms associated with TS. In particular, our results showed bilateral macroscopical anomalies in the main components of a distributed network implicated in social cognition and microstructural alterations in the putative temporal connections of this network. A more focal anomaly was also found in the right intraparietal sulcus which has been implicated in visuo-spatial and numerical processing. The observation that a genetic X-linked disease can impair social and spatial-numerical cognition strengthens the hypothesis that those functions are laid down by genetic and neurobiological systems in the course of both phylogenetic evolution and child development (Allison et al., 2000; Brothers, 1990; Dehaene et al., 1998). Although it is currently hard to separate direct genetic effects on brain development from indirect effects of hormonal depletion in TS, the correlation of genetic anomalies with functional and anatomical imaging methods provides a powerful method to narrow down the search for genes involved in brain cognition and in cognitive development (Watkins et al., 2002).

4.3 Anomalies fonctionnelles et anatomiques du sillon intrapariétal dans le syndrome de Turner :

4.3.1 Introduction :

Current cognitive theories assume that a supramodal abstract representation of numbers conveys the semantic information of numbers (Dehaene and Cohen, 1995). Neuropsychological studies of patients with left parietal lesions support the existence of a distinct semantic system for numerical quantities, showing that numbers double dissociate from other categories of words at the semantic level (Cappelletti et al., 2001; Cipolotti et al., 1991; Dehaene and Cohen, 1997). In normal subjects, converging neuroimaging results demonstrate that active manipulation of numbers, for instance during calculation or number comparison tasks, systematically activates the horizontal segment of intraparietal sulci independently of the notation used for the numbers (Chochon et al., 1999; Dehaene et al., 1999; Gruber et al., 2001; Naccache et al., 2002; Pesenti et al., 2000; Pinel et al., 2001). Even the simple presentation of numbers without explicit magnitude processing appears sufficient to specifically activate the intraparietal sulci (Eger et al., 2003). Together, these results suggest that number-driven intraparietal activations reflect automatic access to an abstract representation of numerical quantity.

Some genetic disorders such as Turner syndrome, Williams syndrome or Fragile X syndrome are known to lead to developmental dyscalculia (Reiss et al., 2000). In particular, subjects with Turner syndrome (TS), a genetic condition resulting from a partial or complete absence of one of the two X chromosome in a phenotypic female, typically experience visuo-spatial and number processing deficits in the absence of mental retardation and verbal disability (Ross et al., 2000). TS occurs in approximately 1 female in 2500 and is associated with well-documented physical disorders (including short stature, webbed neck, and low set ears) and abnormal oestrogen production and pubertal development (Ranke and Saenger, 2001). While the severity of the cognitive profile in TS varies widely, some hallmark symptoms include deficits in visuo-spatial and number processing, executive function, and social cognition (Ross et al., 2000). Arithmetic difficulties in TS subjects are particularly evident on subtractions and operations with large numbers, subitizing and cognitive estimation (Alexander and Money, 1966; Bruandet et al., 2003; Rovet et al., 1994; Temple and Marriot, 1998). The association of developmental dyscalculia and visuo-spatial-

processing deficits in TS may reflect the intimate relationship between number and visuo-spatial representations (Dehaene et al., 1993; Fischer et al., 2003; Zorzi et al., 2002) and points towards a “spatial” subtype of dyscalculia, presumably related to an abnormal developmental trajectory of numerical representation.

Previous anatomical MRI studies in TS have not revealed any anomaly apparent on visual inspection, but volumetric MRI studies have shown a bilateral decrease in grey matter volume in the parietal lobes and in parieto-occipital regions as well as a reduced volume of bilateral subcortical and hippocampal grey matter (Brown et al., 2002; Murphy et al., 1993; Reiss et al., 1995). Functional neuro-imaging studies using positron emission tomography (PET) in TS have shown a decrease in glucose metabolism in parietal and occipital regions, and in the temporal cortex and insula (Clark et al., 1990; Murphy et al., 1997).

In the current study, we provide a more direct link between the abnormal development of the intraparietal sulcus and dyscalculia by studying 14 TS subjects using functional and structural imaging. First, we examine the arithmetic performance of subjects with TS and the functional correlates of calculation impairments using fMRI. We use a previously reported experimental design, including exact and approximate addition tasks, that examines both the impact of number size on parietal activation and its modulation depending on the emphasis that the task places on quantity processing (Dehaene et al., 1999). In controls, the comparison of these two numerical tasks, with virtually identical input and output requirements, has shown the use of distinct cognitive strategies : exact calculation with small numbers is acquired in a language specific format and recruits networks involved in linguistic processes, whereas approximate and exact calculation with large numbers rely on non-verbal quantity manipulation and recruit bilaterally the intraparietal sulci (Dehaene et al., 1999; Stanescu-Cosson et al., 2000). We demonstrate that this functional pattern is disorganized in TS subjects. Second, using complementary morphometric measures, we investigate the anatomical bases of the anomalies found in fMRI and show an unusual pattern of gyrification in the intraparietal region which is abnormally activated during calculation tasks.

4.3.2 Methods :

Behavioral tests.

Arithmetic achievement was assessed using the Warrington’s graded arithmetic test, which is a graded difficulty test of arithmetic computations (Jackson and Warrington, 1986). During a time limit of ten seconds for each calculation, twelve additions and then twelve

subtractions were orally presented ranging in difficulty from very simple items made up of single digit numbers to three digit numbers. A timed reading test of ten words and ten pseudo-words was also included to provide a reading level.

Functional imaging.

Procedure : Cerebral activation was studied during three experimental tasks: exact calculation, approximate calculation and a letter matching control task. Each experimental task was presented in random order in a block of 30 trials. Within each number task block, three sequences were shown, each comprising 5 small problems (involving numbers from 1 to 5) followed by a resting period, and 5 large problems (involving numbers from 5 to 9), followed by a second resting period. The subjects received task instructions before each block and were trained just before the MRI with the same protocol. Subjects were not warned, however, of the alternation of small and large numbers.

Experimental tasks : Subjects held a button in each hand and continuously fixated on a small square. During the number task, an addition problem was flashed for 200ms, with the plus sign centered, followed by 200 ms fixation interval, and then by two numerical choices, also presented for 200ms. For the exact calculation task, they had to select the correct sum of the addition by pressing the corresponding button as quickly as possible. For the approximate calculation task, they had to select the most plausible number amongst two false results. Subjects were told that, because one of the two choices was grossly false, they did not have to compute the exact addition but could rely on a coarse estimation. During the control letter matching task, individual letters were flashed instead of numbers and subjects were asked to press the button on the side of the repeated letter. The choice of stimuli was as described by Stanescu-Cosson et al (2000) avoiding tie problems such as 2+2. Stimuli were presented visually using a video projector and a translucent screen. The experiment was programmed using expe5 software (Pallier et al., 1997).

Image processing and statistical analysis : All fMRI analyses were performed using Statistical Parameter Mapping software, version 99 (SPM99). The first four images of each block were excluded. Images were corrected for different slice acquisition times and for motion, normalized to the reference template of the Montreal Neurological Institute (MNI) using the linear transform calculated on the anatomical images, and smoothed (FWHM 5 mm). The normalised functional images had voxels of 4 x 4 x 4 mm³. Each subject was first analysed using the general linear model and the theory of Gaussian random fields as implemented in SPM99 with predictors based on the known experimental blocks convolved

by the standard hemodynamic function and its derivative. Group analyses were then performed with a random effect analysis of variance. We tested each calculation task versus rest and versus the letter task for areas showing a significant activation. The voxelwise for within- and between-group comparisons was set to $P < 0.001$ and $P < 0.01$ respectively. Clusters are reported if their extent was significant at $P < 0.05$ corrected for multiple comparisons across the whole brain.

4.3.3 Results :

Behavioral results

Behavioral data were compared between the 14 Turner subjects (TS) and the 14 normal controls. TS subjects performed significantly worse than controls on Warrington's graded arithmetic test. The mean percentage of correct responses, plus or minus one standard error, was 41.1 ± 4.5 for TS and 60.1 ± 4.2 for controls, $t(26) = 2.85$, $p = 0.008$. TS subjects were also impaired in a computerized word reading test. Although both groups performed close to ceiling in reading either words or pseudo-words ($>92\%$ correct), TS subjects were slower in reading both types of stimuli (words: 841 versus 646 ms, $t(26) = 2.57$, $p = 0.016$; pseudo-words, 1092 versus 860 ms, $t(22) = 2.68$, $p = 0.013$).

We analyzed behavioral performance in controls on the exact and approximate calculation tasks performed during fMRI scanning (Figure 5). There was no significant difference between exact and approximate calculation on the response times (RTs) and error rates. However, we observed a significant main effect of number size (RTs: $F(1,25) = 39.2$, $p < 0.0001$; errors: $F(1,25) = 64.5$, $p < 0.0001$), with larger numbers inducing responses that were 290 ms slower and that contained 10.9% more errors than did smaller numbers. Finally, a size by task interaction indicated that the size effect was larger in exact calculation than in approximation (RTs: $F(1,25) = 27.6$, $p < 0.0001$; errors: $F(1,21) = 5.06$, $p = 0.033$).

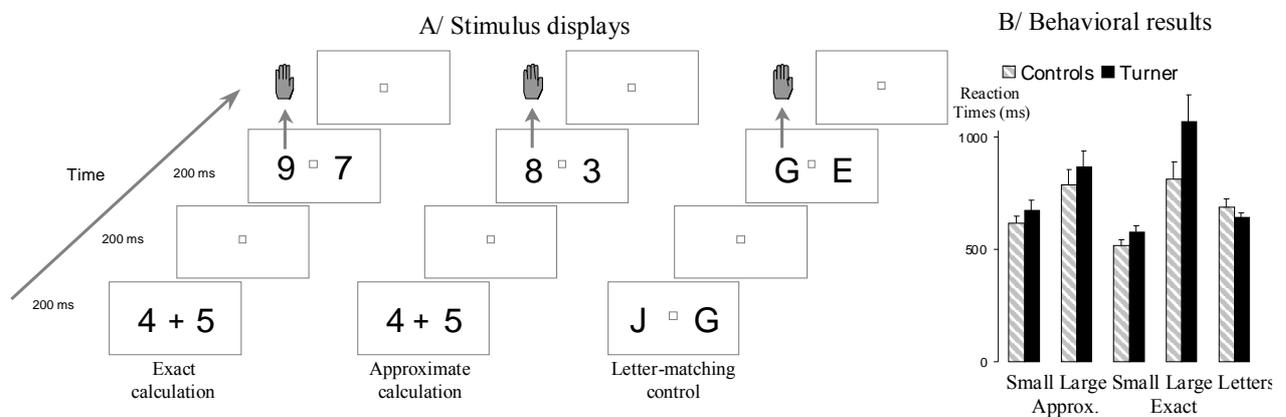
We then examined the differences between groups. Overall, the TS subjects were slower and made more errors than the controls on the number tasks. However, differences did not reach significance (RTs: 796 versus 682 ms, $F(1,25) = 2.40$, $p = 0.13$; Errors: 12.0% versus 7.3%, $F(1,25) = 3.71$, $p = 0.065$). The only significant effect involving the group factor was a triple interaction of size, task, and group ($F(1,25) = 4.69$, $p = 0.04$). As shown in figure 1, this indicated that the TS subjects were disproportionately slow in the exact condition with large numbers (RTs: 1070 versus 811 ms, $F(1,25) = 3.28$, $p = 0.08$). A similar trend was observed in

the error rates, with up to 20.5% errors in the exact large number condition in TS subjects, though none of the differences involving error rates reached significance.

Another interesting difference emerged when we compared the number tasks with the control letter-matching task. A task by group interaction indicated that TS subjects responded more slowly than the controls in the number tasks relative to the letter task ($F(1,21)=7.72$, $p=0.010$), though no such difference emerged on error rates ($p=0.13$). This suggests that number processing caused greater difficulty for the patients than did the letter task.

In summary, the behavioral results confirmed that the patients were impaired in number processing, on both a standardized arithmetic battery and the specific cognitive test that we used during fMRI. The numerical impairment was mild, affecting mostly response times to exact calculation with large numbers and was significantly greater than in a corresponding letter processing task. Importantly, Turner subjects performed the requested fMRI tasks accurately, some of them at a normal speed, thus providing ideal conditions to compare their fMRI activation patterns with those of normal subjects.

Figure 5: A/ Examples of stimulus displays used in the three tasks during fMRI. B/ Reaction times during the behavioral study, showing that TS subjects were significantly slower than controls only for exact calculation with large numbers. (* $p<0.05$).



fMRI results

Number processing in controls:

We first report cerebral activation in controls, and compare the results to those of a previous fMRI study using a similar paradigm (Dehaene et al., 1999).

Overall activation : Regions activated during all the number processing tasks versus rest replicate the classical fronto-parietal network found in various studies of number processing (Table 3 and Figure 6). All of these areas were also activated for the letter matching task. While in our previous study the intraparietal sulci were more activated during calculation than during the letter matching task, in the present study the level of activation was similar in both tasks. This suggests a tight intermingling within the parietal lobe of numerical circuits and of spatial working memory circuits needed for the letter tasks (see Grüber et al, 1999, for similar result).

Number size effect : As in our previous study, number size had an impact on brain activation in exact calculation, while no impact of number size was found during approximate calculation (Table 4, Figure 6). This resulted in a significant size by task interaction in three areas, the left intraparietal sulcus at TC -44, -48, 52 (125 voxels, $Z = 5.15$, $P < 0.001$), the right intraparietal sulcus at TC 44, -48, 44 (67 voxels, $Z = 4.24$, $P < 0.001$) and the right precuneus at TC 4, -60, 52 (24 voxels, $Z = 3.93$, $P = 0.01$). These three regions, which form a subset of those showing a size effect in exact calculation, may thus be considered as the cerebral basis of the behavioral number size effect.

Exact and approximate calculation : The distinct pattern of cerebral activation for exact and approximate calculation was also partially replicated. There was a trend towards greater activation in approximate relative to exact calculation in the right intraparietal sulcus at TC 32, -52, 56 (16 voxels, $P = 0.06$, $Z=3.58$). This trend became significant for the left and right intraparietal sulci when the analysis was restricted to calculations with small numbers (Table 5, Figure 6). In contrast with the previous study, no region showed greater activation during exact relative to approximate calculation. It is possible that the use of a simpler design (fixed task compared to rest), which no longer required fast switching between tasks within an fMRI run, reduced the reliance on some of the brain regions previously reported, included the rostral inferior prefrontal cortex (Koechlin et al., 1999).

Number processing in TS subjects

Overall activation : During calculation relative to rest, the cerebral network activated in TS subjects overlapped considerably with the one observed in controls (Table 3). Only the anterior cingulate cortex, at TC -12, 40, 32, was significantly less activated in the TS group than in controls (110 voxels, $Z = 3.10$, $P = 0.011$). No region was significantly more activated in the TS group.

Number size effect : In contrast to controls, no size effect was observed during exact calculation in TS subjects, resulting in a significant interaction between group and number size in exact calculation in the right intraparietal sulcus (Table 4 and Figure 7). No interaction between number size and calculation tasks was observed in TS subjects, resulting in a significant group difference in the size by task interaction in the left intraparietal sulcus at TC -44, -48, 52 (260 voxels, $Z = 4.25$, $P < 0.001$) and in the right intraparietal sulcus at TC 44, -28, 44 (207 voxels, $Z = 3.62$, $P < 0.001$) (Figure 3). This result suggests a key role of the intraparietal sulci in the difficulties that TS subjects experienced in exact calculation as a function of problem size.

Exact and approximate calculation : No difference in the cerebral networks activated in exact and in approximate calculation was observed in TS subjects, nor between groups. However, while controls recruited the intraparietal sulci more for small approximate relative to small exact calculation, brain activation in TS subjects did not differ in this contrast. This resulted in a significant group by task interaction restricted to small numbers in the left intraparietal sulcus, left precuneus and left caudate (Table 5, Figure 7). A non-significant trend towards a similar interaction was observed in the contralateral right precuneus and right posterior intraparietal region.

Sulcal Morphometry :

Sulcal morphometry : We used an automatic segmentation technique to extract and measure the length and the maximal depth of the central sulcus and of the intraparietal sulcus. In the left and right central sulci and in the left intraparietal sulcus, no significant difference was found in these measures between the two groups (Figure 4). In contrast, a decrease in the maximal depth, as well as a trend towards a reduced length ($P = 0.057$), were observed in the right intraparietal sulcus in TS subjects relative to controls (Figure 4). The center of gravity of the central sulci also showed a significant posterior displacement (along the y axis in Talaraich space) in TS subjects compared to controls (left central sulcus, $y = -42.6 \pm 4.4$ and $y = -30.9 \pm 4.2$, respectively, $p = 0.004$; right central sulcus, $y = -39.8 \pm 5.2$ and $y = -27.3 \pm 4.3$, respectively, $p = 0.01$) (Figure 9). Figure 9 illustrates these results, showing a roughly symmetrical sulcal pattern in controls and an asymmetrical length of the intraparietal sulcus in TS subjects.

We also investigated possible qualitative differences in the configuration of the right intraparietal sulcus. One major limitation in studies of sulcal configuration lies in the large

inter-individual variability of the intraparietal sulcal pattern in controls. However, although the surface appearance of the intraparietal sulcus was extremely complex and differed greatly from brain to brain, some simple features of the intraparietal sulcus were remarkably consistent across the controls (Figure 10). For instance, the antero-posterior orientation and downward convexity of the intraparietal sulcus, as well as its classical segmentation into three parts, were observed in all controls. In contrast, the right intraparietal sulcal pattern of most TS subjects did not respect these basic features because of aberrant branches, abnormal interruption, or unusual orientation (Figure 10). The three segments of the right intraparietal sulcus were observed only in 7 out of 14 TS subjects due to an absence of either the anterior or the descending part of the sulcus. The main orientation of the sulcus was highly variable in the TS group and the downward convexity of the sulcus was observed only in 3 TS subjects. Finally, an unusual configuration of the horizontal segment of the right intraparietal sulcus was found in 6 TS subjects, due to sulcal interruption, an upward-oriented V-shape and aberrant branches or ending (Figure 10).

Voxel-based morphometry : We also analyzed our data for differences in voxel-by-voxel grey matter density. The result of this analysis is summarized in Table 6. After restriction of the analysis to the parietal lobe, only a small and marginally significant decrease in grey matter density was found in TS subjects in the depth of the right intraparietal sulcus (coordinates 43, -30, 37), close to the abnormal activation found in fMRI. Another decrease was found in the left central sulcus, while increases in grey matter were observed in the right central sulcus and left occipito-parietal sulcus. Note that the voxel-based approach is dependent on a prior whole-brain normalization, which does not take into account the localization of individual sulci. Thus, the observed differences could be spurious consequences of the displaced sulci in TS subjects.

Table 3 : Brain regions activated during all the calculation tasks relative to rest

Anatomical region	P value cluster-level	Number of voxels (1 voxel = 16mm ³)	Z score voxel-level	Talairach coordinates x,y,z
<i>Controls</i>				
Bilateral inferior occipital cortex (BA 18, 19) and cerebellum	<0.001	1023	6.29 6.09 5.70	-44, -64, -20 24, -64, -28 -36, -48, -24
Left and right intraparietal sulcus (BA 7, 19, 39, 40), left dorsal premotor cortex (BA 6) and left anterior cingulate cortex (BA 32)	<0.001	1053	5.92 5.87 5.72	44, -32, 44 -44, -40, 44 0, 12, 52
Left middle and inferior frontal gyrus (BA 9, 44)	<0.001	67	5.13	-52, 8, 28
Left dorsolateral prefrontal cortex (BA 9, 46)	0.001	45	4.84	-48, 40, 24
Left frontal operculum (BA 44)	0.001	47	4.63	-36, 28, 4
Right dorsal premotor cortex (BA 6)	0.001	50	4.04	16, 0, 72
Right caudate nucleus	0.011	30	3.87	8, 0, 8
<i>TS subjects</i>				
Left dorsal premotor cortex (BA 6), Left frontal operculum (BA 44)	<0.001	250	6.06	-48, 12, 4 -52, 8, 32
Right intraparietal sulcus (BA 7, 19, 39, 40)	<0.001	272	6.01 5.68 5.28	28, -64, 52 28, -64, 40 32, -56, 44
Left and right anterior cingulate cortex (BA 32)	<0.001	184	5.99	4, 12, 44
Left intraparietal sulcus (BA 7, 19, 39, 40)	<0.001	286	5.87	-40, -44, 40 -20, -78, 44 -32, -68, 52
Left inferior occipital cortex (BA 18, 19), left cerebellum	<0.001	264	5.44	-48, -64, -16
Right inferior occipital cortex (BA 18, 19), left cerebellum	<0.001	260	5.44	28, -64, 32
Right frontal operculum (BA 44)	0.003	38	5.29	36, 20, 4
Left dorsolateral prefrontal cortex (BA 9, 46)	0.005	36	4.85	-32, 48, 28
Right middle and inferior frontal gyrus (BA 9, 44)	<0.001	94	4.64	36, 0, 44
Right caudate nucleus	0.006	34	4.51	16, -8, 16
Left precentral cortex (BA 4)	<0.001	54	4.42	-28, -8, 56
Cerebellum vermis	<0.001	94	4.39	0, -64, -24
Right dorsolateral prefrontal cortex (BA 9)	0.003	38	4.25	32, 32, 44
Left lenticular nucleus	0.003	38	4.21	-24, 0, 8

Table 4 : Areas showing an effect of number size during exact

Anatomical region	P value cluster-level	Number of voxels (1 voxel = 16mm ³)	Z score voxel-level	Talairach coordinates x,y,z
<i>Controls</i>				
Left intraparietal sulcus (BA 7, 19, 39, 40)	<0.001	187	5.54	-44, -52, 52
Right intraparietal sulcus (BA 7, 19, 39, 40)	<0.001	157	5.17	28, -68, 48
Left and right cerebellum hemispheres	0.004	30	4.51	-12, -76, -32
Left and right anterior cingulate cortex (BA 32)	<0.001	70	4.29	0, 20, 48
Right middle prefrontal gyrus (BA 9)	0.045	18	4.25	24, 12, 56
Right precuneus (BA 7)	0.016	23	4.12	12, -72, 40
Left cerebellum hemisphere	0.005	29	3.69	-32, -68, -36
<i>TS subjects</i>				
No foci of activation				
<i>Controls superior to TS subjects</i>				
Right intraparietal sulcus (BA 7, 39, 40)	<0.001	207	4.29	48, -36, 48
<i>TS subjects superior to Controls</i>				
No foci of activation				

Table 5 : Areas showing greater activation for small approximate calculation relative to small exact calculation

Anatomical region	P value cluster-level	Number of voxels (1 voxel = 16mm ³)	Z score voxel-level	Talairach coordinates x,y,z
<i>Controls</i>				
Right intraparietal sulcus (BA 7, 39, 40)	<0.001	125	5.05	48, -44, 44
Left intraparietal sulcus (BA 7, 39, 40)	<0.001	115	5.01	-48, -48, 48
Left and right anterior cingulate cortex (BA 32)	0.001	32	4.27	-4, 32, 48
Right precuneus (BA 7)	0.004	27	4.25	8, -64, 44
Right dorsolateral prefrontal cortex (BA 9, 46)	0.057	15	3.97	-48, 32, 24
<i>TS subjects</i>				
No foci of activation				
<i>Controls superior to TS subjects</i>				
Left and right caudate nucleus, right intraparietal sulcus	<0.001	333	4.34	-20, -16, 32
Left intraparietal sulcus, left precuneus (BA 7, 39, 40)	<0.001	463	3.90	-16, -40, 48
			3.83	-48, -48, 48
<i>TS subjects superior to Controls</i>				
No foci of activation				

Table 6 : Results of voxel-based morphometry restricted to parietal lobes

Anatomical region	P value cluster-level	Number of voxels (1 voxel = 1mm ³)	Z score voxel-level	Talairach coordinates x,y,z
<i>More grey matter in controls than in TS</i>				
Left primary motor cortex	0.039	202	4.93	50, -23, 63
Right intraparietal sulcus	0.069	170	4.02	43, -30, 37
<i>More grey matter in TS than in controls</i>				
Right primary motor cortex	0.024	227	4.51	50, -17, 52
Left parieto-occipital region	0.014	261	4.25	-19, -74, -37

Figure 6 : Brain activation during calculation tasks in controls. A bilateral fronto-parietal network, including the intraparietal sulci, was found to be activated during calculation tasks. Intraparietal activation increased with number size in exact calculation, and was larger in approximate than in exact calculation, presumably related to an increase in quantity manipulation.

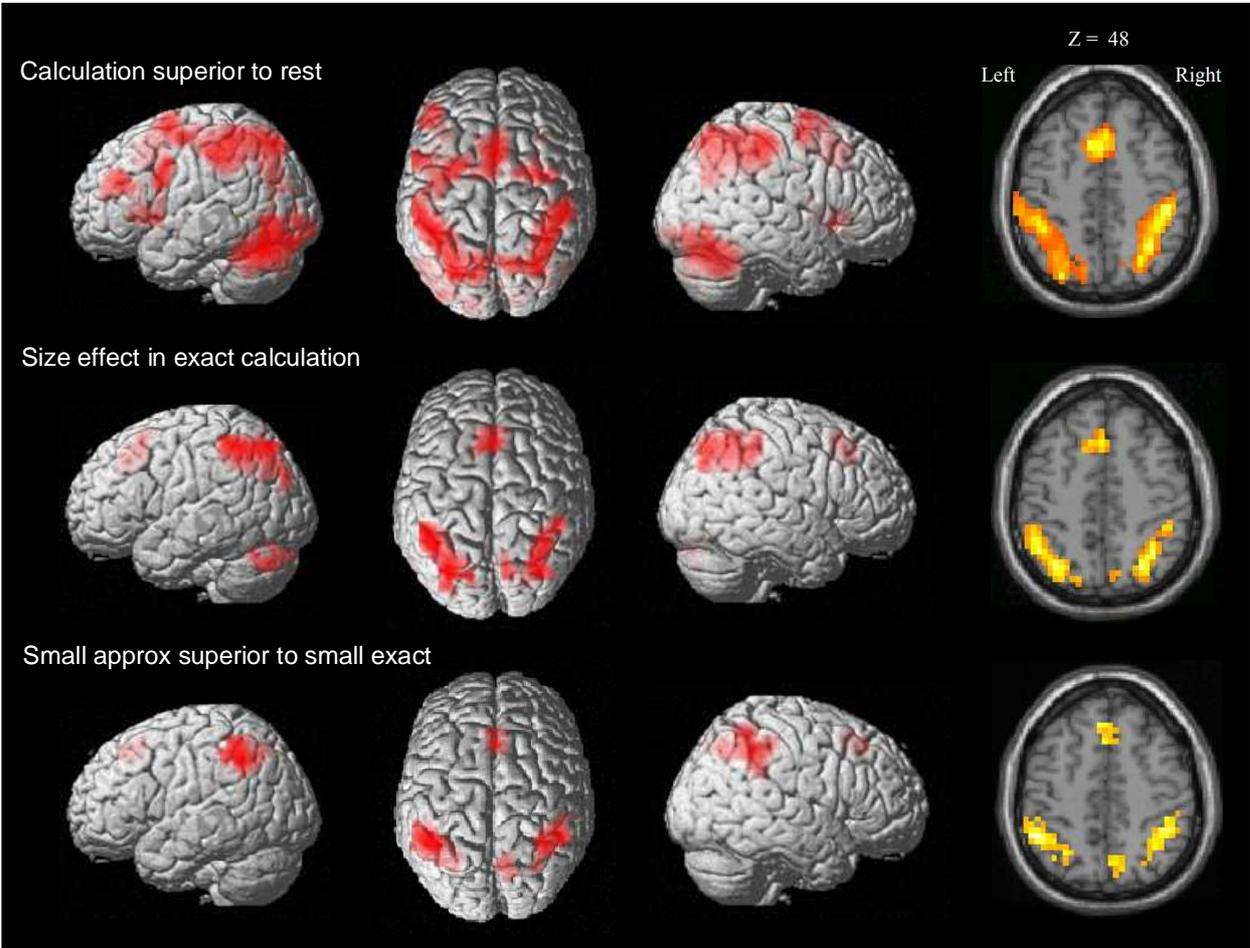


Figure 7 : Brain activation in TS subjects compared to controls during calculation tasks. Compared to controls, intraparietal activation in TS subjects did not increase with number size in exact calculation, and was not larger in small approximate relative to small exact calculation. Both the left and right intraparietal sulci showed an abnormal size by task interaction in TS subjects.

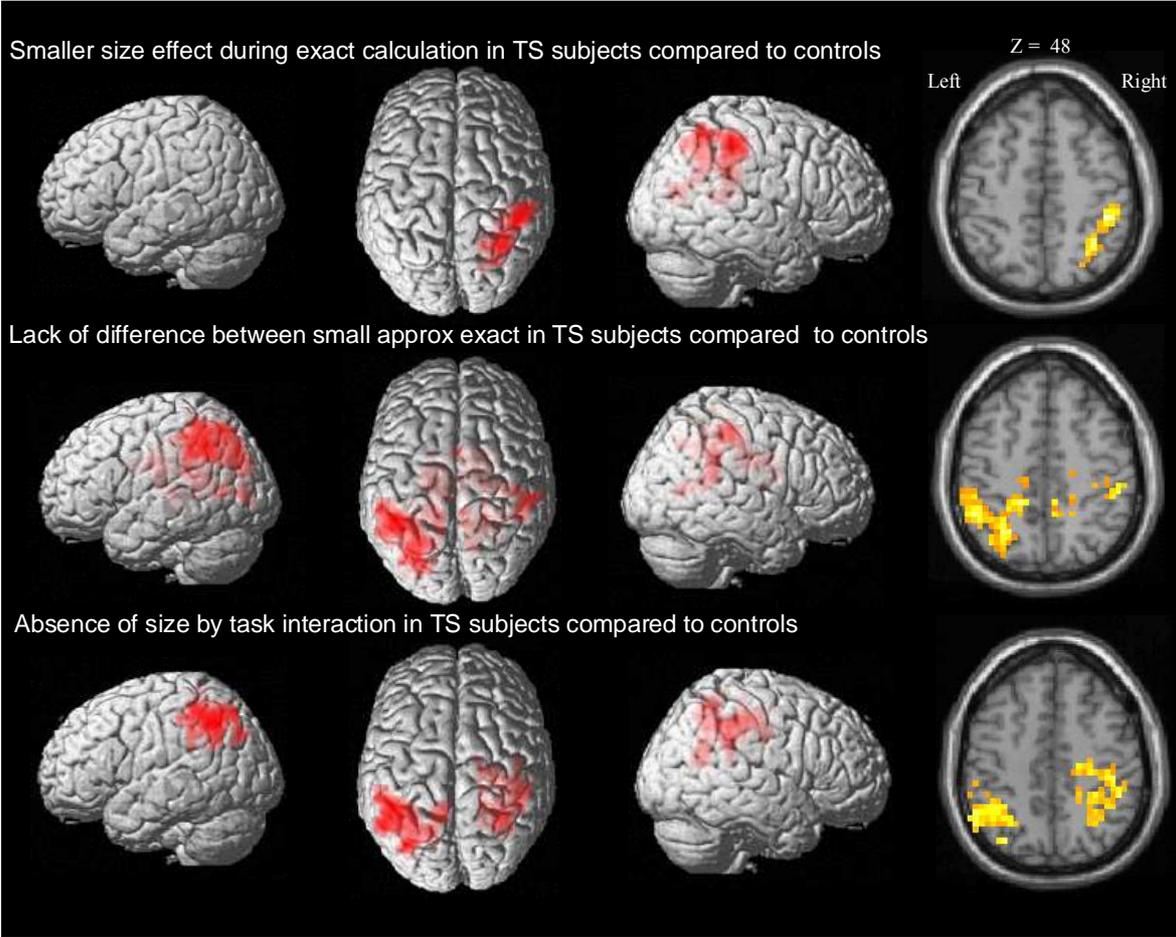
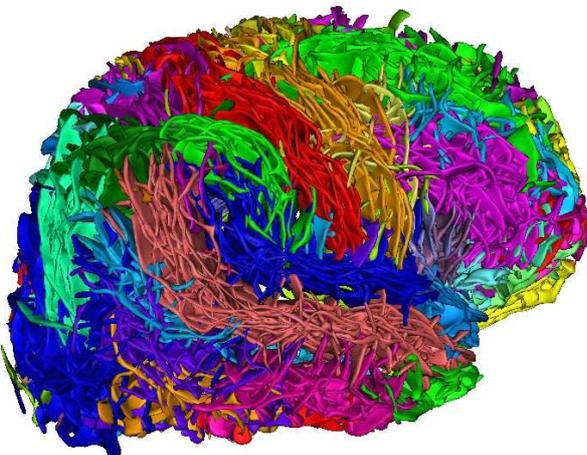
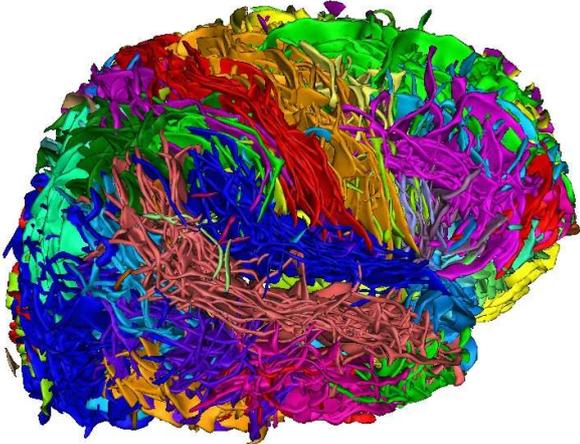


Figure 8 : Superimposed images of the automatic sulci recognition algorithm in the right hemisphere of all controls and all TS subjects, with zoom on the intraparietal region.

Right hemisphere sulci recognition



Controls



TS subjects

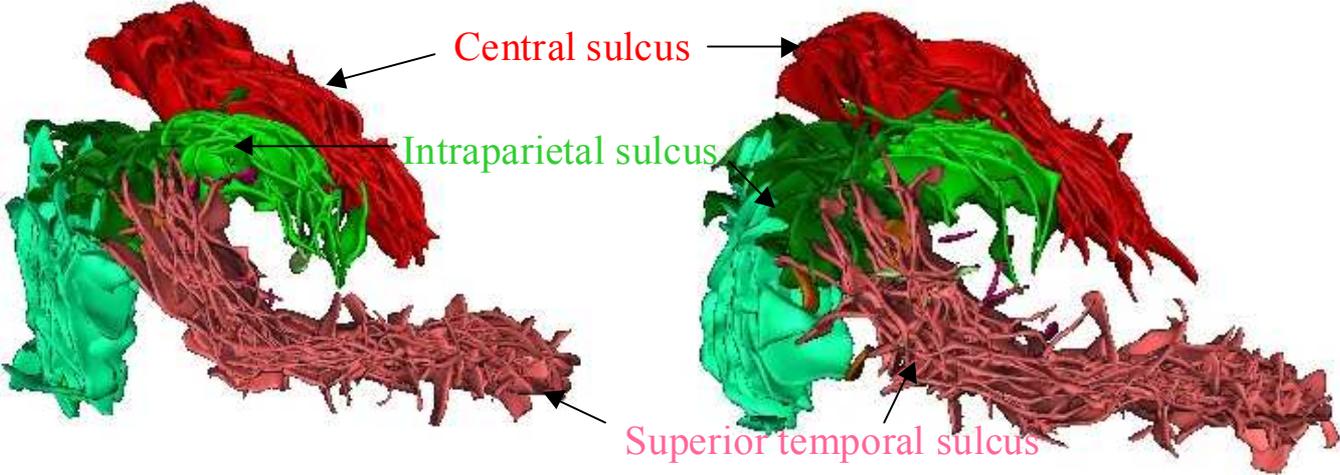
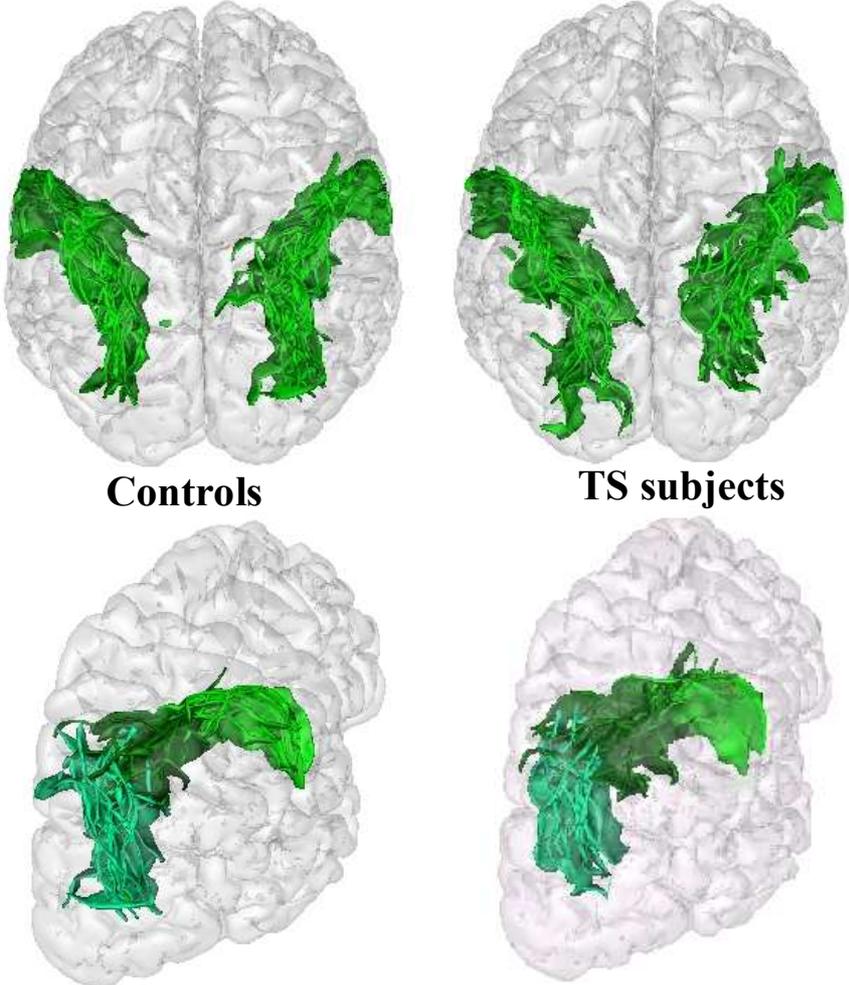


Figure 9 : A/ While, in controls, the left and right intraparietal sulci (IPS) appeared symmetric, the right intraparietal sulcus of TS had a reduced length compared to the left intraparietal one. Compared to controls, the right intraparietal sulcus of TS subjects appeared both smaller and more variable, leading to a more blurry aspect of the sulcal geometry. B/ The central sulci in TS subjects, shown in red, had a more posterior location compared to the controls ones, shown in blue, presumably related to bilateral parietal atrophy.

A/ Reduced size of the right IPS in TS subjects



B/ Posterior displacement of central sulcus in TS

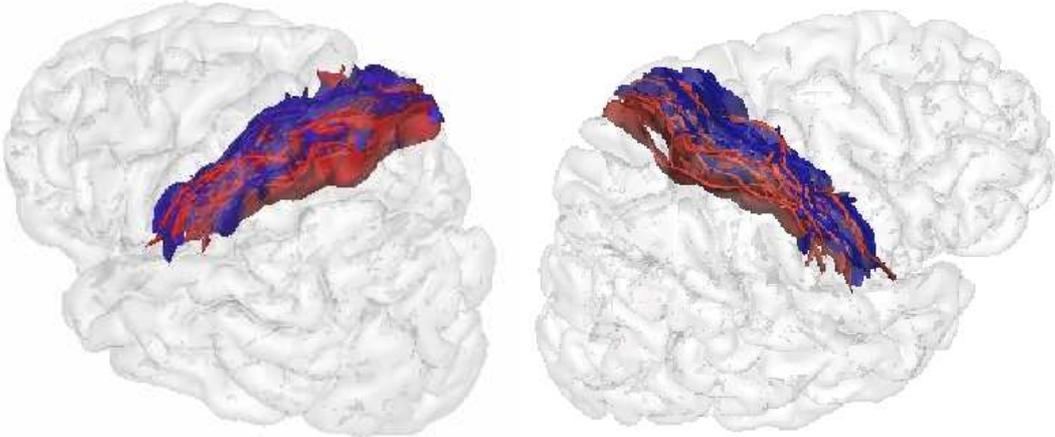
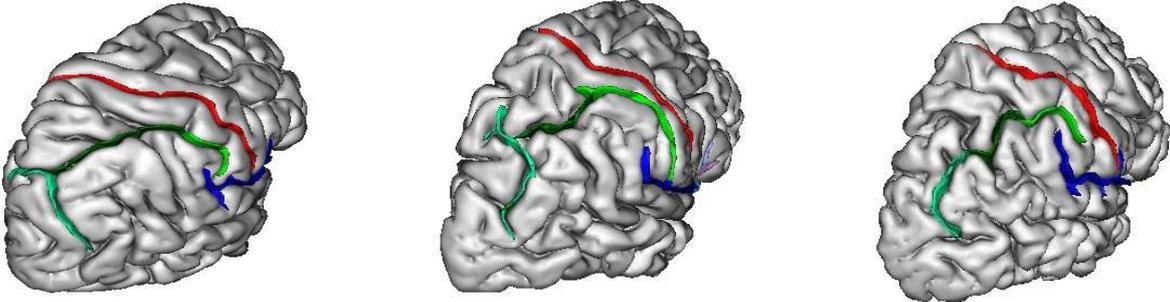
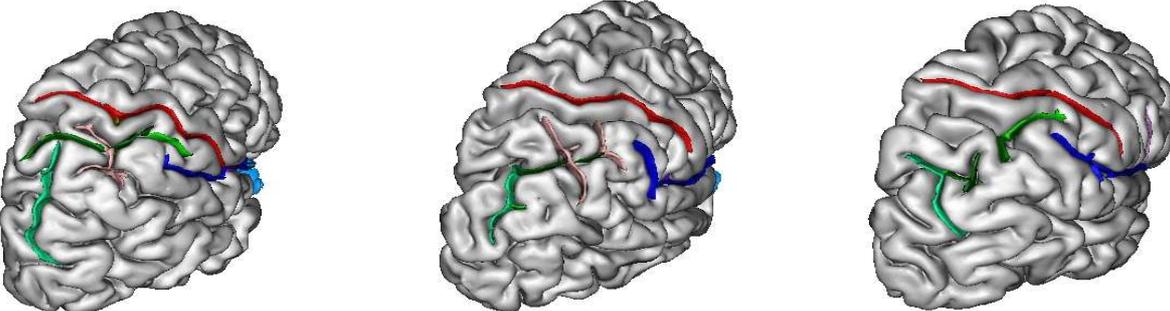


Figure 10 : Sulcal pattern of the right intraparietal sulcus (IPS) in sample of control and TS subjects. In controls (first row), although highly variable, some basic features of the right intraparietal sulcus appeared consistent across subjects such as its segmentation in three well-defined parts (light green : anterior IPS, dark green : horizontal IPS and light blue: posterior IPS) and its orientation with a downward concavity. In many TS subjects, the organisation and the shape of the sulcus appeared abnormal due to unusual interruption of the horizontal segment of the IPS, to numerous small branches (shown in pink) or to an unusual ending.

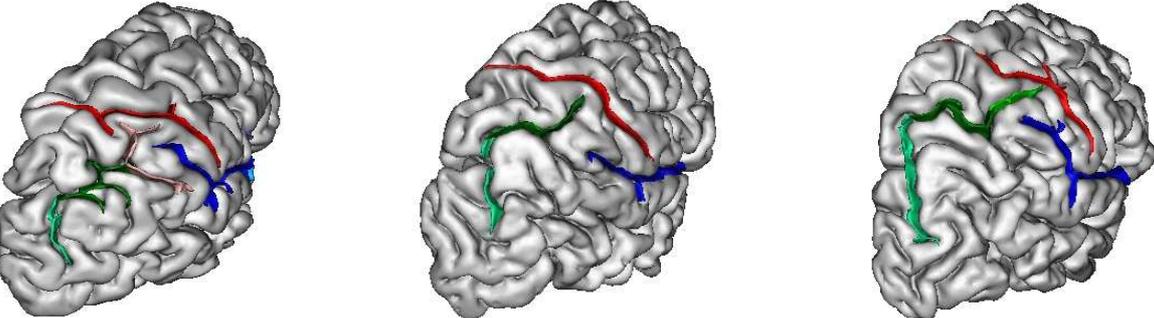
Normal variability of the right IPS in three controls



Unusual interruption of the horizontal portion of the right IPS in three TS subjects



Abnormal shape and segmentation of the right IPS in three TS subjects



3.3.4 Discussion

The main goal of this study was to investigate the functional activation and the morphology of the intraparietal sulcus, a region thought to be critical for the representation of numbers in adults, in a developmental dyscalculia of genetic origin. fMRI revealed a functional correlate of the arithmetic impairment : there was an insufficient recruitment of the right intraparietal sulcus as a function of number size. The morphological analysis showed an abnormal length, depth, and sulcal geometry of the right intraparietal sulcus, reflecting an important anatomical disorganization of this region in TS.

Arithmetic difficulties in TS were subtle and characterized by slower reaction times, particularly as the size of the numbers increased, while error rate remained at a low level. This fits well with previous behavioral results in TS (Bruandet et al., 2003; Rovet et al., 1994; Temple and Marriot, 1998) and provides ideal conditions to investigate subtle developmental impairments in arithmetic. The relative preservation of arithmetic networks was supported by fMRI results showing largely overlapping networks during calculation in TS subjects and in controls. Crucially, however, fMRI revealed an abnormal modulation of intraparietal activation as a function of number size. During exact calculation, as the size of the numbers increased, a bilateral increase in activation of the intraparietal sulci was observed in controls, replicating earlier work (Stanescu-Cosson et al., 2000). In TS subjects, however, the level of activation of the intraparietal sulci remained unchanged. Previous studies in controls indicate that the number size effect in exact calculation is due to a progressively greater difficulty in retrieving corresponding facts in rote memory, and therefore to an increasing reliance on alternative strategies involving quantity manipulation, such as counting or transforming the problem to a simpler one (Lefevre, 1996). The insufficient recruitment of the intraparietal sulci in TS subjects when number size increases appears to be a direct neural correlate of the arithmetic difficulties exhibited by these subjects with large numbers, and suggests that selection and/or execution of such quantity-based strategies is deficient in TS. The insufficient recruitment of parietal areas as problem difficulty increases is consistent with a recent fMRI study with Fragile X syndrome subjects, in which they were asked to resolve arithmetic problems with 2 or 3 operands (Rivera et al., 2002). Compared to controls, subjects with fragile X failed to show an increase in activation with arithmetic difficulty in a large set of areas including both frontal and parietal regions.

The analysis of brain activation during exact and approximate calculation with small numbers also revealed an abnormal pattern of parietal activation even for such simple

operations for which performance was identical in TS subjects and in controls. In controls, there was a greater bilateral activation of the intraparietal sulci during approximation than during exact calculation. This is consistent with the hypothesis that small arithmetic facts such as $2+3$ are directly retrieved from rote memory without requiring quantity manipulations (Stanescu-Cosson et al., 2000). TS subjects, however, failed to show any difference between exact and approximate calculation, thus resulting in a significant group by task interaction. The discrepancy between superficially normal behavior and an abnormal pattern of underlying activation suggests that, contrary to controls, TS subjects did not solve small exact arithmetic facts by rote retrieval, but rather used quantity manipulation strategies similar to those used in approximate calculation.

In summary, fMRI results revealed that, although partially compensated, arithmetic difficulties in TS affected not only calculations with large numbers but also the most basic knowledge of arithmetic with numbers smaller than five. We tentatively postulate that, during exact calculation with small numbers, the lack of knowledge of arithmetic facts in TS subjects was compensated for by the use of alternative strategies mainly implicating the left intraparietal sulcus. When the task involved larger numbers, however, recruitment of the intraparietal sulci could not be increased further, thus leading to an overt behavioral impairment.

Whether or not this interpretation holds, the fMRI results clearly revealed an abnormal functional activation within the horizontal segment of the intraparietal sulcus. This region fits with the putative localization of a quantity processing system, based on previous fMRI studies of normal subjects (Dehaene et al., 2003). Interestingly, converging evidence from lesion studies suggests that damage to this region can cause acalculia (Dehaene and Cohen, 1997). Two previous anatomical MRI studies in developmental dyscalculia showed a clear abnormality of the left parietal cortex (Isaacs et al., 2001; Levy et al., 1999). In particular, using voxel-based morphometry in premature children with dyscalculia, Isaacs et al. (2001) observed a decrease in the grey matter density in the left intraparietal sulcus (coordinates -39, -39, 45). Similar voxel-based morphometry analyses of our data revealed a decrease in grey matter in the right intraparietal sulcus (coordinates 43, -30, 37). This location is highly consistent with the abnormal activation observed with fMRI (TC 48, -36, 48) and is also symmetrical to the one observed in the left parietal lobe of premature children. The respective roles of the left and right parietal regions in calculation remain to be fully understood. Acalculia in adulthood is generally caused by lesions of the left inferior parietal lobe (Dehaene et al., 1998). However, subtle deficits in the abstraction of numerical relations,

including the basic ability to bisect a numerical interval, have been reported following a right parietal lesion (Langdon and Warrington, 1997; Zorzi et al., 2002). Furthermore, parietal activation during calculation is always bilateral, and may predominate in the right hemisphere for basic operations such as comparison and numerosity estimation (Piazza et al., 2002; Pinel et al., 2001). The present data suggest that the right parietal lobe may play an important role in early numerical development, although we cannot exclude the possibility that subtle anomalies of the left parietal lobe might additionally be observed using more refined imaging methods.

Given the high intersubject variability of the intraparietal sulcus and its coarse inter-subject registration in Talaraich space (Bookstein, 2001; Thompson et al., 2000), results of voxel-based morphometry must be interpreted with caution. In order to go beyond these limitations, a specific analysis of sulcal morphology was performed using novel software for the automatic extraction and recognition of sulci (Riviere et al., 2002). While the grey-matter density differences found using voxel-based morphometry were mild and statistically weak, the new analysis showed important quantitative differences in the morphology of the intraparietal sulcus in TS subjects, whose depth and length were reduced. Importantly, the left and right central sulci as well as the left intraparietal sulcus appeared normal in this analysis, indicating that the anomalies were particularly prominent in the right intraparietal region. In addition, the central sulcus was posteriorly displaced, suggesting an atrophy of the parietal lobes as observed in previous studies. In spite of considerable variability in the intraparietal sulcal pattern in controls, some basic and consistent features of the normal intraparietal sulcus, such as its orientation and segmentation in three parts, were not respected in most of our TS subjects. We observed the presence of many additional branches, often interrupting the main course of the intraparietal sulcus. This disorganization did not seem to follow a reproducible pattern but was highly variable from subject to subject.

To explain the stable placement and orientation of the primary sulci in normal ontogeny and phylogeny, several authors assume that the basic features of gyrogenesis are under tight genetic control (Armstrong et al., 1995; Rakic, 1988). Indeed, the intraparietal sulcus figures amongst the deep sulci that are present in primates and that appear early during human gestation, around the 29th week (Armstrong et al., 1995; Chi et al., 1977). Finer and more superficial details, such as tertiary sulci, appear later on in development, mostly after birth, under a variety of cytoarchitectonic, connectivity, and presumably activity-dependent constraints (Armstrong et al., 1995; Van Essen, 1997). In this context, the presence of major anomalies in the right intraparietal sulcus of TS subjects suggests an early developmental

alteration, perhaps prior to birth, thus pointing to the role of X-linked genes in brain development. The role of one X-linked gene in neuronal migration and gyrogenesis is clearly established since mutations in the doublecortin (DCX) (Xq22.3, q23) gene lead to a simplified gyral pattern and cortical disorganization due to abnormal neuronal migration (Olson and Walsh, 2002). Other neurobiological mechanisms might also be involved, including abnormal mechanical constraints exerted by inappropriately targeted or missing neural connections (Fryer et al., 2003). Experimental lesion studies in monkeys indicate that the disruption of afferent pathways, when occurring very early in pregnancy, can lead to the emergence of abnormal sulcal/gyral patterns (Dehay et al., 1996; Rakic, 1988). In particular, early enucleation in monkeys leads to the presence of highly variable supplementary sulci in the occipital lobe and to a reduced size of the cortical area 17, which remains, however, well differentiated and of normal thickness (Rakic, 1988). A similar early deafferentation may explain the heavily disrupted and highly variable organization of sulci in the right parietal lobe of TS subjects.

An important issue for further investigation is the extent to which the disorganization in Turner syndrome is specific to arithmetic, or reflects a more general disruption of spatial, attentional, and/or working memory networks. It could be argued that TS subjects were impaired in tasks that were also more difficult for the control subjects, particularly the exact task with large numbers, and that this could be explained by a general reduction in working memory or attention ability. Indeed, the lack of a difference in activation between the number and letter tasks fails to provide evidence that the parietal regions under study are specific to quantity processing. This might reflect a lack of sensitivity, as significant differences between number processing and other control tasks were observed by others (e.g. Eger et al, 2003; Simon et al., 2002). Furthermore, some aspects of TS subjects results, such as their abnormal parietal activation even in small exact calculations, or their slowness in number tasks but not in the control letter task, are not easily explained by such an interpretation. Nevertheless, we emphasize that cautiousness is needed when inferring the cause of dyscalculia in Turner syndrome.

In summary, the observation that X-linked developmental dyscalculia can alter the basic anatomical and functional organization of the intraparietal region strengthens the hypothesis that the development of this region is laid down under genetic control in the course of both phylogenetic evolution and child development (Dehaene et al., 1998; Simon et al., 2002). Its disruption in Turner syndrome may explain the visuo-spatial and arithmetic impairments that are commonly observed in this condition. The correlation of genetic

anomalies with functional and anatomical brain abnormalities provides a powerful method to narrow down the search for genes involved in cognition and in cognitive development (Barnea-Goraly et al., 2003; Eliez et al., 2001; Watkins et al., 2002). Further research with a greater number of TS subjects, including patients with partial X deletions, should characterize the variability of the intraparietal sulcal pattern in TS subjects and the direct or indirect role of X-linked genes in the development of the intraparietal cortex and of arithmetic abilities.

4.4 References

- Abell, F., Krams, M., Ashburner, J., Passingham, R., Friston, K., Frackowiak, R., Happe, F., Frith, C., and Frith, U. (1999). The neuroanatomy of autism: a voxel-based whole brain analysis of structural scans. *Neuroreport* 10, 1647-1651.
- Alexander, D., and Money, J. (1966). Turner syndrome and Gerstmann's syndrome: neuropsychological comparison. *Neuropsychologia* 4, 265-273.
- Allison, T., Puce, A., and McCarthy, G. (2000). Social perception from visual cues: role of the STS region. *Trends Cogn Sci* 4, 267-278.
- Anderson, S. W., Bechara, A., Damasio, H., Tranel, D., and Damasio, A. R. (1999). Impairment of social and moral behavior related to early damage in human prefrontal cortex. *Nat Neurosci* 2, 1032-1037.
- Armstrong, E., Schleicher, A., Omran, H., Curtis, M., and Zilles, K. (1995). The ontogeny of human gyrification. *Cereb Cortex* 5, 56-63.
- Ashburner, J., and Friston, K. J. (2000). Voxel-based morphometry--the methods. *Neuroimage* 11, 805-821.
- Baron-Cohen, S., Cox, A., Baird, G., Swettenham, J., Nightingale, N., Morgan, K., Drew, A., and Charman, T. (1996). Psychological markers in the detection of autism in infancy in a large population. *Br J Psychiatry* 168, 158-163.
- Baron-Cohen, S., Ring, H. A., Wheelwright, S., Bullmore, E. T., Brammer, M. J., Simmons, A., and Williams, S. C. (1999). Social intelligence in the normal and autistic brain: an fMRI study. *Eur J Neurosci* 11, 1891-1898.
- Bender, B. G., Linden, M. G., and Robinson, A. (1993). Neuropsychological impairment in 42 adolescents with sex chromosome abnormalities. *Am J Med Genet* 48, 169-173.
- Brannon, E. M. (2002). The development of ordinal numerical knowledge in infancy. *Cognition* 83, 223-240.
- Brothers, L. (1990). The social brain: a project for integrating primate behaviour and neurophysiology in a new domain. *Concepts Neurosci* 1, 27-51.
- Brown, W. E., Kesler, S. R., Eliez, S., Warsofsky, I. S., Haberecht, M., Patwardhan, A., Ross, J. L., Neely, E. K., Zeng, S. M., Yankowitz, J., and Reiss, A. L. (2002). Brain development in Turner syndrome: a magnetic resonance imaging study. *Psychiatry Res* 116, 187-196.
- Bruandet, M., Molko, N., Cohen, L., and Dehaene, S. (2003). A cognitive characterisation of dyscalculia in Turner syndrome. *Neuropsychologia* in press.
- Butterworth, B., Grana, A., Piazza, M., Price, C. J., and Skuse, D. (1999). Language and the origins of number skills. *Brain and Language* 96, 486-488.
- Cappelletti, M., Butterworth, B., and Kopelman, M. (2001). Spared numerical abilities in a case of semantic dementia. *Neuropsychologia* 39, 1224-1239.
- Chi, J. G., Dooling, E. C., and Gilles, F. H. (1977). Gyral development of the human brain. *Annals of Neurology* 1, 86-93.
- Chochon, F., Cohen, L., van de Moortele, P. F., and Dehaene, S. (1999). Differential contributions of the left and right inferior parietal lobules to number processing. *Journal of Cognitive Neuroscience* 11, 617-630.
- Cipolotti, L., Butterworth, B., and Denes, G. (1991). A specific deficit for numbers in a case of dense acalculia. *Brain* 114, 2619-2637.
- Clark, C., Klonoff, H., and Hayden, M. (1990). Regional cerebral glucose metabolism in Turner syndrome. *Can J Neurol Sci* 17, 140-144.
- Cohen, L., and Dehaene, S. (1994). Amnesia for arithmetic facts: a single case study. *Brain Lang* 47, 214-232.
- Conturo, T. E., Lori, N. F., Cull, T. S., Akbudak, E., Snyder, A. Z., Shimony, J. S., McKinstry, R. C., Burton, H., and Raichle, M. E. (1999). Tracking neuronal fiber pathways in the living human brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96, 10422-10427.
- Creswell, C., and Skuse, D. (2000). Autism in association with Turner syndrome: implications for male vulnerability to pervasive developmental disorders. *Neurocase* 5, 511-518.
- Crosby, E. C., Humphrey, T., and Lauer, E. W. (1962). *Anatomy of the Nervous System*, Macmillan Co., New York).
- Dehaene, S., and Cohen, L. (1995). Towards an anatomical and functional model of number processing. *Mathematical Cognition* 1, 83-120.
- Dehaene, S., and Cohen, L. (1997). Cerebral pathways for calculation: double dissociation between rote verbal and quantitative knowledge of arithmetic. *Cortex* 33, 219-250.
- Dehaene, S., Dehaene-Lambertz, G., and Cohen, L. (1998). Abstract representations of numbers in the animal and human brain. *Trends Neurosci* 21, 355-361.
- Dehaene, S., Piazza, M., Pinel, P., and Cohen, L. (2003). Three parietal circuits for number processing. *Cognitive Neuropsychology* in press.
- Dehaene, S., Spelke, E., Pinel, P., Stanescu, R., and Tsivkin, S. (1999). Sources of mathematical thinking: behavioral and brain-imaging evidence. *Science* 284, 970-974.

- Dehay, C., Giroud, P., Berland, M., Killackey, H., and Kennedy, H. (1996). Contribution of thalamic input to the specification of cytoarchitectonic cortical fields in the primate: effects of bilateral enucleation in the fetal monkey on the boundaries, dimensions, and gyrification of striate and extrastriate cortex. *J Comp Neurol* 367, 70-89.
- Dejerine, J. (1895). *Anatomie des centres nerveux*, Vol 1, Rueff et Cie).
- Eger, E., Sterzer, P., Russ, M. O., Giraud, A. L., and Kleinschmidt, A. (2003). A supramodal number representation in human intraparietal cortex. *Neuron* 37, 719-725.
- Elgar, K., Campbell, R., and Skuse, D. (2002). Are you looking at me? Accuracy in processing line-of-sight in Turner syndrome. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 269, 2415-2422.
- Fischer, M. H., Castel, A. D., Dodd, M. D., and Pratt, J. (2003). Perceiving numbers causes spatial shifts or attention. *Nat Neurosci* 6, 555-556.
- Frith, U. (2001). Mind blindness and the brain in autism. *Neuron* 32, 969-979.
- Fryer, S. L., Kwon, H., Eliez, S., and Reiss, A. L. (2003). Corpus callosum and posterior fossa development in monozygotic females: a morphometric MRI study of Turner syndrome. *Dev Med Child Neurol* 45, 320-324.
- Gloor, P. (1997). *The Temporal Lobe and the Limbic System*, Oxford Univ. Press, New York).
- Golestani, N., Paus, T., and Zatorre, R. J. (2002). Anatomical correlates of learning novel speech sounds. *Neuron* 35, 997-1010.
- Good, C. D., Johnsrude, I. S., Ashburner, J., Henson, R. N., Friston, K. J., and Frackowiak, R. S. (2001). A voxel-based morphometric study of ageing in 465 normal adult human brains. *Neuroimage* 14, 21-36.
- Good, C. D., Kuntsi, J., Shah, B., Aldam, E. G., Price, C. J., Ashburner, J., Friston, K., Frackowiak, R., and Skuse, D. (2000). Voxel-based morphometry in deletion mapping studies of the X chromosome. FENS (Federation for Neuroscience Society), Brighton, June.
- Haberecht, M. F., Menon, V., Warsofsky, I. S., White, C. D., Dyer-Friedman, J., Glover, G. H., Neely, E. K., and Reiss, A. L. (2001). Functional neuroanatomy of visuo-spatial working memory in Turner syndrome. *Hum Brain Mapp* 14, 96-107.
- Happe, F., Ehlers, S., Fletcher, P., Frith, U., Johansson, M., Gillberg, C., Dolan, R., Frackowiak, R., and Frith, C. (1996). 'Theory of mind' in the brain. Evidence from a PET scan study of Asperger syndrome. *Neuroreport* 8, 197-201.
- Harmer, C. J., Thilo, K. V., Rothwell, J. C., and Goodwin, G. M. (2001). Transcranial magnetic stimulation of medial-frontal cortex impairs the processing of angry facial expressions. *Nat Neurosci* 4, 17-18.
- Hornak, J., Rolls, E. T., and Wade, D. (1996). Face and voice expression identification in patients with emotional and behavioural changes following ventral frontal lobe damage. *Neuropsychologia* 34, 247-261.
- Isaacs, E. B., Edmonds, C. J., Lucas, A., and Gadian, D. G. (2001). Calculation difficulties in children of very low birthweight: a neural correlate. *Brain* 124, 1701-1707.
- Jackson, M., and Warrington, E. K. (1986). Arithmetic skills in patients with unilateral cerebral lesions. *Cortex* 22, 611-620.
- Klingberg, T., Hedehus, M., Temple, E., Salz, T., Gabrieli, J. D., Moseley, M. E., and Poldrack, R. A. (2000). Microstructure of temporo-parietal white matter as a basis for reading ability: evidence from diffusion tensor magnetic resonance imaging. *Neuron* 25, 493-500.
- Koechlin, E., Basso, G., Pietrini, P., Panzer, S., and Grafman, J. (1999). The role of the anterior prefrontal cortex in human cognition. *Nature* 399, 148-151.
- Kosc, L. (1974). Developmental dyscalculia. *Journal of Learning Disabilities*, 46-59.
- Langdon, D. W., and Warrington, E. K. (1997). The abstraction of numerical relations: A role for the right hemisphere in arithmetic? *Journal of the International Neuropsychological Society* 3, 260-268.
- Lawrence, K., Kuntsi, J., Coleman, M., Campbell, R., and Skuse, D. (2003). Face and emotion recognition deficits in Turner syndrome: a possible role for X-linked genes in amygdala development. *Neuropsychology* 17, 39-49.
- Le Bihan, D., Mangin, J. F., Poupon, C., Clark, C. A., Pappata, S., Molko, N., and Chabriat, H. (2001). Diffusion tensor imaging: concepts and applications. *J Magn Reson Imaging* 13, 534-546.
- Lee, K. M. (2000). Cortical areas differentially involved in multiplication and subtraction: a functional magnetic resonance imaging study and correlation with a case of selective acalculia. *Ann Neurol* 48, 657-661.
- Lefevre, J.-A. (1996). Selection of procedures in mental addition: Reassessing the problem-size effect in adults. *Journal of Experimental Psychology: Learning* 00.
- Levy, L. M., Reis, I. L., and Grafman, J. (1999). Metabolic abnormalities detected by 1H-MRS in dyscalculia and dysgraphia. *Neurology* 53, 639-641.
- Lewis, C., Hitch, G. J., and Walker, P. (1994). The prevalence of specific arithmetic difficulties and specific reading difficulties in 9- and 10-year-old boys and girls. *Journal of Child Psychology and Psychiatry* 35, 283-292.

- Maguire, E. A., Gadian, D. G., Johnsrude, I. S., Good, C. D., Ashburner, J., Frackowiak, R. S., and Frith, C. D. (2000). Navigation-related structural change in the hippocampi of taxi drivers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97, 4398-4403.
- Mazzocco, M. M. (1998). A process approach to describing mathematics difficulties in girls with Turner syndrome. *Pediatrics* 102, 492-496.
- Mazzocco, M. M., Baumgardner, T., Freund, L. S., and Reiss, A. L. (1998). Social functioning among girls with fragile X or Turner syndrome and their sisters. *J Autism Dev Disord* 28, 509-517.
- McCauley, E., Ito, J., and Kay, T. (1986a). Psychosocial functioning in girls with Turner's syndrome and short stature: social skills, behavior problems, and self-concept. *J Am Acad Child Psychiatry* 25, 105-112.
- McCauley, E., Ross, J. L., Kushner, H., and Cutler, G., Jr. (1995). Self-esteem and behavior in girls with Turner syndrome. *J Dev Behav Pediatr* 16, 82-88.
- McCauley, E., Sybert, V. P., and Ehrhardt, A. A. (1986b). Psychosocial adjustment of adult women with Turner syndrome. *Clin Genet* 29, 284-290.
- Murphy, D. G., DeCarli, C., Daly, E., Haxby, J. V., Allen, G., White, B. J., McIntosh, A. R., Powell, C. M., Horwitz, B., Rapoport, S. I., and et al. (1993). X-chromosome effects on female brain: a magnetic resonance imaging study of Turner's syndrome. *Lancet* 342, 1197-1200.
- Murphy, D. G., Mentis, M. J., Pietrini, P., Grady, C., Daly, E., Haxby, J. V., De La Granja, M., Allen, G., Largay, K., White, B. J., et al. (1997). A PET study of Turner's syndrome: effects of sex steroids and the X chromosome on brain. *Biol Psychiatry* 41, 285-298.
- Naccache, L., Blandin, E., and Dehaene, S. (2002). Unconscious masked priming depends on temporal attention. *Psychological Science* 13, 416-424.
- Olson, E. C., and Walsh, C. A. (2002). Smooth, rough and upside-down neocortical development. *Curr Opin Genet Dev* 12, 320-327.
- Pallier, C., Dupoux, E., and Jeannin, X. (1997). Expe5: an expandable programming language for on-line psychological experiments. *Behavior Research, Methods, Instruments and Computers* 29, 322-327.
- Paulesu, E., Demonet, J. F., Fazio, F., McCrory, E., Chanoine, V., Brunswick, N., Cappa, S. F., Cossu, G., Habib, M., Frith, C. D., and Frith, U. (2001). Dyslexia: cultural diversity and biological unity. *Science* 291, 2165-2167.
- Pennington, B. F., Heaton, R. K., Karzmark, P., Pendleton, M. G., Lehman, R., and Shucard, D. W. (1985). The neuropsychological phenotype in Turner syndrome. *Cortex* 21, 391-404.
- Perrett, D. I., Smith, P. A., Potter, D. D., Mistlin, A. J., Head, A. S., Milner, A. D., and Jeeves, M. A. (1985). Visual cells in the temporal cortex sensitive to face view and gaze direction. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 223, 293-317.
- Pesenti, M., Thioux, M., Seron, X., and De Volder, A. (2000). Neuroanatomical substrates of arabic number processing, numerical comparison, and simple addition: A PET study. *J Cogn Neurosci* 12, 461-479.
- Piazza, M., Mechelli, A., Price, C., and Butterworth, B. (2002). The quantifying brain: functional neuroanatomy of numerosity estimation and counting. submitted.
- Pierpaoli, C., and Basser, P. J. (1996). Toward a quantitative assessment of diffusion anisotropy. *Magn Reson Med* 36, 893-906.
- Pierpaoli, C., Jezzard, P., Basser, P. J., Barnett, A., and Di Chiro, G. (1996). Diffusion tensor MR imaging of the human brain. *Radiology* 201, 637-648.
- Pinel, P., Dehaene, S., Riviere, D., and LeBihan, D. (2001). Modulation of parietal activation by semantic distance in a number comparison task. *Neuroimage* 14, 1013-1026.
- Poupon, C., Clark, C. A., Frouin, V., Regis, J., Bloch, I., Le Bihan, D., and Mangin, J. (2000). Regularization of diffusion-based direction maps for the tracking of brain white matter fascicles. *Neuroimage* 12, 184-195.
- Rakic, P. (1988). Specification of cerebral cortical areas. *Science* 241, 170-176.
- Ranke, M. B., and Saenger, P. (2001). Turner's syndrome. *Lancet* 358, 309-314.
- Reiss, A. L., Freund, L., Plotnick, L., Baumgardner, T., Green, K., Sozer, A. C., Reader, M., Boehm, C., and Denckla, M. B. (1993). The effects of X monosomy on brain development: monozygotic twins discordant for Turner's syndrome. *Ann Neurol* 34, 95-107.
- Reiss, A. L., Mazzocco, M. M., Greenlaw, R., Freund, L. S., and Ross, J. L. (1995). Neurodevelopmental effects of X monosomy: a volumetric imaging study. *Ann Neurol* 38, 731-738.
- Rivera, S. M., Menon, V., White, C. D., Glaser, B., and Reiss, A. L. (2002). Functional brain activation during arithmetic processing in females with Fragile X syndrome is related to FMR1 protein expression. *Hum Brain Mapp* 16, 206-218.
- Riviere, D., Mangin, J. F., Papadopoulos-Orfanos, D., Martinez, J., Frouin, V., and Regis, J. (2002). Automatic recognition of cortical sulci of the human brain using a congregation of neural networks. *Medical Image Analysis* 6, 77-92.
- Romans, S. M., Stefanatos, G., Roeltgen, D. P., Kushner, H., and Ross, J. L. (1998). Transition to young adulthood in Ullrich-Turner syndrome: neurodevelopmental changes. *Am J Med Genet* 79, 140-147.

- Rose, S. E., Chen, F., Chalk, J. B., Zelaya, F. O., Strugnell, W. E., Benson, M., Semple, J., and Doddrell, D. M. (2000). Loss of connectivity in Alzheimer's disease: an evaluation of white matter tract integrity with colour coded MR diffusion tensor imaging. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 69, 528-530.
- Ross, J., Zinn, A., and McCauley, E. (2000). Neurodevelopmental and psychosocial aspects of Turner syndrome. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 6, 135-141.
- Ross, J. L., Stefanatos, G. A., Kushner, H., Zinn, A., Bondy, C., and Roeltgen, D. (2002). Persistent cognitive deficits in adult women with Turner syndrome. *Neurology* 58, 218-225.
- Rovet, J., and Netley, C. (1980). The mental rotation task performance of Turner syndrome subjects. *Behav Genet* 10, 437-443.
- Rovet, J., Szekely, C., and Hockenberry, M. N. (1994). Specific arithmetic calculation deficits in children with Turner syndrome. *J Clin Exp Neuropsychol* 16, 820-839.
- Saenger, P. (1996). Turner's syndrome. *N Engl J Med* 335, 1749-1754.
- Shalev, R. S., Auerbach, J., Manor, O., and Gross-Tsur, V. (2000). Developmental dyscalculia: prevalence and prognosis. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 9, 1158-64.
- Shalev, R. S., Manor, O., Kerem, B., Ayali, M., Badichi, N., Friedlander, Y., and Gross-Tsur, V. (2001). Developmental dyscalculia is a familial learning disability. *Journal of Learning Disabilities* 34, 59-65.
- Shaywitz, B. A., Shaywitz, S. E., Pugh, K. R., Constable, R. T., Skudlarski, P., Fulbright, R. K., Bronen, R. A., Fletcher, J. M., Shankweiler, D. P., Katz, L., and Gore, J. C. (1995). Sex differences in the functional organization of the brain for language. *Nature* 373, 607-609.
- Simon, O., Mangin, J. F., Cohen, L., Le Bihan, D., and Dehaene, S. (2002). Topographical layout of hand, eye, calculation, and language-related areas in the human parietal lobe. *Neuron* 33, 475-487.
- Skuse, D. H., James, R. S., Bishop, D. V., Coppin, B., Dalton, P., Aamodt-Leeper, G., Bacarese-Hamilton, M., Creswell, C., McGurk, R., and Jacobs, P. A. (1997). Evidence from Turner's syndrome of an imprinted X-linked locus affecting cognitive function. *Nature* 387, 705-708.
- Sluming, V., Barrick, T., Howard, M., Cezayirli, E., Mayes, A., and Roberts, N. (2002). Voxel-based morphometry reveals increased gray matter density in Broca's area in male symphony orchestra musicians. *Neuroimage* 17, 1613-1622.
- Smith, E., and Jonides, J. (1999). Storage and executive processes in the frontal lobes. *Science* 283, 1657-1661.
- Sowell, E. R., Thompson, P. M., Mattson, S. N., Tessner, K. D., Jernigan, T. L., Riley, E. P., and Toga, A. W. (2001). Voxel-based morphometric analyses of the brain in children and adolescents prenatally exposed to alcohol. *Neuroreport* 12, 515-523.
- Stanescu-Cosson, R., Pinel, P., van De Moortele, P. F., Le Bihan, D., Cohen, L., and Dehaene, S. (2000). Understanding dissociations in dyscalculia: a brain imaging study of the impact of number size on the cerebral networks for exact and approximate calculation. *Brain* 123 (Pt 11), 2240-2255.
- Tamm, L., Menon, V., and Reiss, A. L. (2003). Abnormal prefrontal cortex function during response inhibition in Turner syndrome: functional magnetic resonance imaging evidence. *Biol Psychiatry* 53, 107-111.
- Temple, C. M., and Carney, R. (1996). Reading skills in children with Turner's syndrome: an analysis of hyperplexia. *Cortex* 32, 335-345.
- Temple, C. M., Carney, R., and S, M. (1996). Frontal lobe function and executive skills in children with Turner's syndrome. *Developmental Neuropsychology* 12, 343-363.
- Temple, C. M., and Carney, R. A. (1995). Patterns of spatial functioning in Turner's syndrome. *Cortex* 31, 109-118.
- Temple, C. M., and Marriot, A. J. (1998). Arithmetical Ability and Disability in Turner's syndrome: a cognitive neuropsychological analysis. *Developmental Neuropsychology* 14, 47-67.
- Temple, C. M., and Sherwood, S. (2002). Representation and retrieval of arithmetical facts: developmental difficulties. *Q J Exp Psychol A* 55, 733-752.
- Temple, E., and Posner, M. I. (1998). Brain mechanisms of quantity are similar in 5-year-olds and adults. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 95, 7836-7841.
- Turner, H. (1938). A syndrome of infantilism, congenital webbed neck and cubitus valgus. *Endocrinology* 28, 566-574.
- Van Essen, D. C. (1997). A tension-based theory of morphogenesis and compact wiring in the central nervous system. *Nature* 385, 313-318.
- Waber, D. P. (1979). Neuropsychological aspects of Turner's syndrome. *Dev Med Child Neurol* 21, 58-70.
- Watkins, K. E., Vargha-Khadem, F., Ashburner, J., Passingham, R. E., Connelly, A., Friston, K. J., Frackowiak, R. S., Mishkin, M., and Gadian, D. G. (2002). MRI analysis of an inherited speech and language disorder: structural brain abnormalities. *Brain* 125, 465-478.
- Wolkin, A., Choi, S. J., Szilagyi, S., Sanfilippo, M., Rotrosen, J. P., and Lim, K. O. (2003). Inferior frontal white matter anisotropy and negative symptoms of schizophrenia: a diffusion tensor imaging study. *Am J Psychiatry* 160, 572-574.
- Xu, F., and Spelke, E. S. (2000). Large number discrimination in 6-month-old infants. *Cognition* 74, B1-B11.

Zorzi, M., Priftis, K., and Umiltà, C. (2002). Brain damage: neglect disrupts the mental number line. *Nature* 417, 138-139.

Chapitre 5

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Conclusions et perspectives

Cette thèse montre l'intérêt de l'imagerie du tenseur de diffusion à travers différentes applications, mais aussi les limites de cette technique. Dans une première partie, nous avons poursuivi un travail initié par H. Chabriat dans la maladie de CADASIL (Chabriat et al., 2000; Chabriat et al., 1999) dans le but de caractériser les lésions cérébrales et d'étudier la progression de ces lésions au cours du temps. La maladie de CADASIL est un modèle unique d'étude de la pathologie vasculaire cérébrale, expliquant l'intérêt de la connaissance précise de la physiopathologie et de l'évolution naturelle de cette maladie. Des travaux complémentaires sont nécessaires pour vérifier si les résultats obtenus dans la maladie de CADASIL peuvent se généraliser aux autres maladies artériolaires cérébrales. Nous pensons en effet qu'il existe un syndrome, au spectre clinico-radiologique large, commun aux artériopathies cérébrales diffuses qui sont responsables d'une ischémie chronique sous-corticale plus ou moins étendue et sévère et dont la maladie de CADASIL représente le modèle génétique.

L'imagerie du tenseur de diffusion dans la maladie CADASIL a permis de montrer l'existence de modifications de la diffusion, précoces et constantes, dans le thalamus dans des régions d'apparence normale sur l'imagerie conventionnelle (Molko et al., 2001). L'augmentation de la diffusion moyenne et la réduction d'anisotropie de diffusion dans le thalamus des patients CADASIL suggèrent une désorganisation de la microstructure du thalamus, possiblement en rapport avec la perte axonale et myélinique observée dans les études neuropathologiques de patients CADASIL. Cette étude confirme les études réalisées dans la SEP suggérant que l'imagerie du tenseur de diffusion est plus sensible que l'IRM conventionnelle pour détecter des anomalies subtiles de la microstructure à distance de lésions macroscopiques (Filippi et al., 2001b). Par ailleurs, cette étude suggère que les anomalies de diffusion observées dans le thalamus sont secondaires à des lésions à distance affectant les connexions thalamo-corticales et conduisant à une disconnexion thalamique. Le thalamus est une structure où convergent de nombreux faisceaux moteurs, sensitifs et associatifs et apparaît donc comme une cible particulièrement sensible à la dégénérescence des fibres dans des maladies diffuses de la substance blanche, comme CADASIL. Plusieurs travaux en imagerie du tenseur de diffusion ont montré que la dégénérescence des fibres nerveuses secondaire à une lésion focale entraîne des modifications de la diffusion à distance le long du faisceau en voie de dégénérescence (Pierpaoli et al., 2001; Werring et al., 2000). Par exemple, Pierpaoli et

al ont montré que la dégénérescence antérograde du faisceau cortico-spinal secondaire à un infarctus sylvien se traduit par des modifications de l'anisotropie de diffusion le long du faisceau cortico-spinal sans modification de la diffusion moyenne (Pierpaoli et al., 2001; Werring et al., 2000). Cette étude dans CADASIL suggère que la dégénérescence des fibres thalamo-corticales entraîne une augmentation de la diffusion dans le thalamus. La sensibilité de l'imagerie du tenseur de diffusion à la disconnection corticale pourrait ainsi permettre de révéler les bases anatomiques du phénomène de diaschisis fonctionnel observé en tomographie par émissions de positons (hypométabolisme cortical secondaire à des phénomènes de disconnexions) (Baron et al., 1992; Baron et al., 1986).

Le suivi en imagerie du tenseur de diffusion de 14 patients avec une maladie de CADASIL sur une période de trois ans montre une augmentation progressive de la diffusion dans le tissu cérébral, probablement en rapport avec une diminution de la densité cellulaire, neurones et cellules gliales, et/ou une démyélinisation (Molko et al., 2002b). Cette augmentation de la diffusion est détectée chez tous les patients symptomatiques, y compris en l'absence d'aggravation clinique, et sur des périodes de temps aussi courtes qu'un an. Cette étude suggère que l'imagerie du tenseur de diffusion permet de suivre de manière quantitative la progression des lésions tissulaires dans la maladie de CADASIL. Il devient ainsi envisageable d'évaluer l'efficacité de traitements qui permettraient d'enrayer l'évolution progressive et quasi inexorable des lésions. Nous souhaitons que ce travail puisse servir à la réalisation de futurs essais thérapeutiques dans la maladie de CADASIL.

L'existence de phénomènes secondairement dégénératifs dans une artériolopathie diffuse comme celle de CADASIL est difficile à démontrer et une origine ischémique reste toujours envisageable. Il est en effet impossible par l'imagerie de distinguer des phénomènes secondairement dégénératifs de phénomènes en rapport avec une ischémie chronique. Pour étayer notre hypothèse d'une augmentation de la diffusion dans le thalamus secondaire à des lésions des connexions thalamo-corticales, nous avons étudié les conséquences dans le thalamus d'une lésion unique affectant largement les connections thalamo-corticales dans un territoire vasculaire n'intéressant pas le thalamus. Plus précisément, nous avons mesuré la diffusion dans le thalamus au 7^{ème} jour, à 3 mois et à 6 mois après un infarctus ischémique dans le territoire de l'artère sylvienne. Le suivi longitudinal de ces patients montre qu'une augmentation de la diffusion dans le thalamus homolatéral à l'infarctus sylvien apparaît 3 mois après l'infarctus cérébral, confirmant l'existence de phénomènes dégénératifs dans le thalamus secondaires à des lésions à distance (Hervé et al, soumis). Cependant, contrairement aux modifications précoces et constantes dans le thalamus des patients CADASIL, les

modifications thalamiques secondaires à un infarctus sylvien sont subtiles et inconstantes. Dans la sclérose en plaque, autre maladie affectant de façon diffuse la substance blanche, aucune anomalie de la diffusion n'est observée dans le thalamus (Filippi et al., 2001a). Ces études confirment que des lésions importantes des fibres thalamo-corticales entraînent une augmentation de la diffusion dans le thalamus mais suggèrent aussi l'existence de facteurs supplémentaires favorisant la dégénérescence des fibres dans la maladie de CADASIL. Parmi ces facteurs, il est possible que l'existence d'une maladie des petites artères associée fragilise les fibres nerveuses par des mécanismes d'ischémie chronique.

Nous avons aussi étudié par des mesures globales de diffusion sur l'ensemble de l'hémisphère la cinétique des modifications des valeurs de diffusion secondaires à un infarctus cérébral au septième jour, à 1 mois, 3 mois et 6 mois après l'épisode aigu de l'infarctus cérébral. Cette étude montre dans l'hémisphère homolatéral à l'infarctus cérébral une augmentation progressive de la diffusion à 1 mois et à 3 mois associée à une réduction de l'anisotropie de diffusion à 6 mois (Figure 1) (Buffon et al). Ces résultats suggèrent que les phénomènes dégénératifs secondaires à un infarctus cérébral se poursuivent au moins trois mois après l'infarctus. Dans l'hémisphère controlatéral, une discrète diminution d'anisotropie de la diffusion est aussi détectée à 6 mois, suggérant une perte dans la densité des connexions de l'hémisphère controlatéral à un infarctus cérébral.

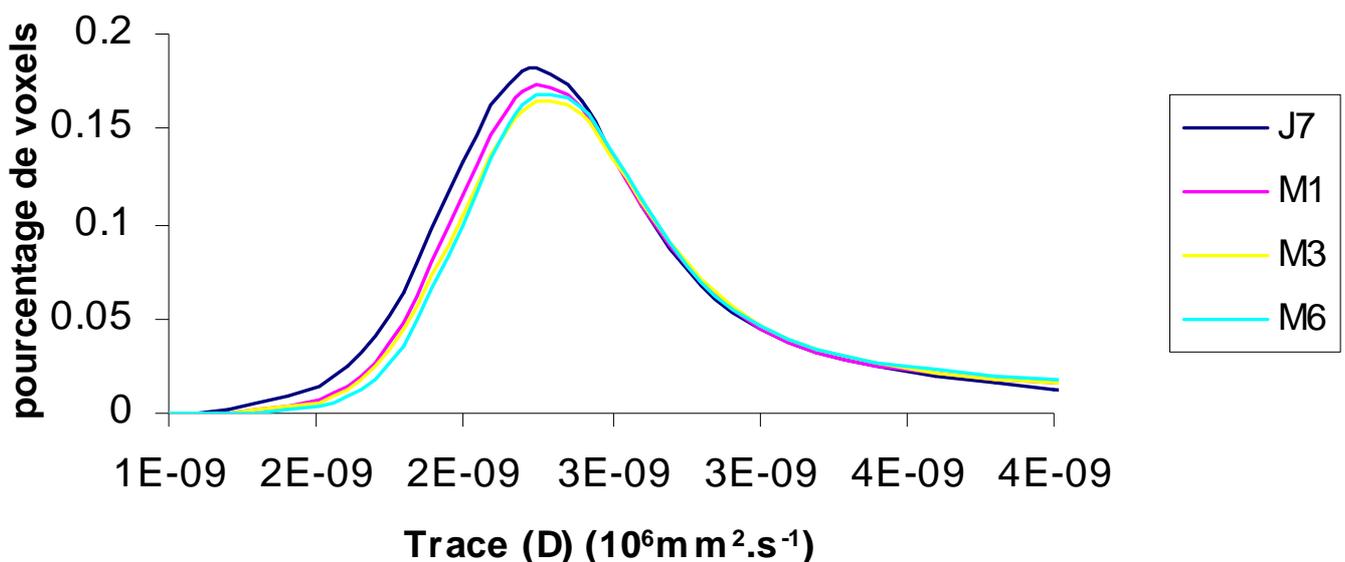


Figure 1 : Histogrammes moyens de la Trace (D) dans l'hémisphère homolatéral à un infarctus sylvien. Une augmentation de la diffusion moyenne est observée à 1 mois et 3 mois. La valeur de la diffusion moyenne est stable sur l'examen à 3 mois et 6 mois. Parallèlement à

l'augmentation de la diffusion moyenne, on note une tendance à la modification de la localisation et de la hauteur du pic à M1 et M3.

L'analyse statistique voxel par voxel (logiciel SPM99) permet d'étudier la topographie des phénomènes dégénératifs. Les modifications de la Trace (D) et de l'anisotropie de la diffusion concernent des régions différentes. L'augmentation de la Trace (D) est observée essentiellement dans le territoire sylvien, dans la région des infarctus cérébraux étudiés tandis que la réduction d'anisotropie est principalement observée le long du faisceau cortico-spinal, en rapport avec une dégénérescence antérograde de ce faisceau (Figure 2) (Buffon et al). Cette dégénérescence du faisceau cortico-spinal est observable très à distance de la zone infarctée, comme dans le tronc cérébral, dans des territoires ne dépendant plus de l'artère sylvienne.

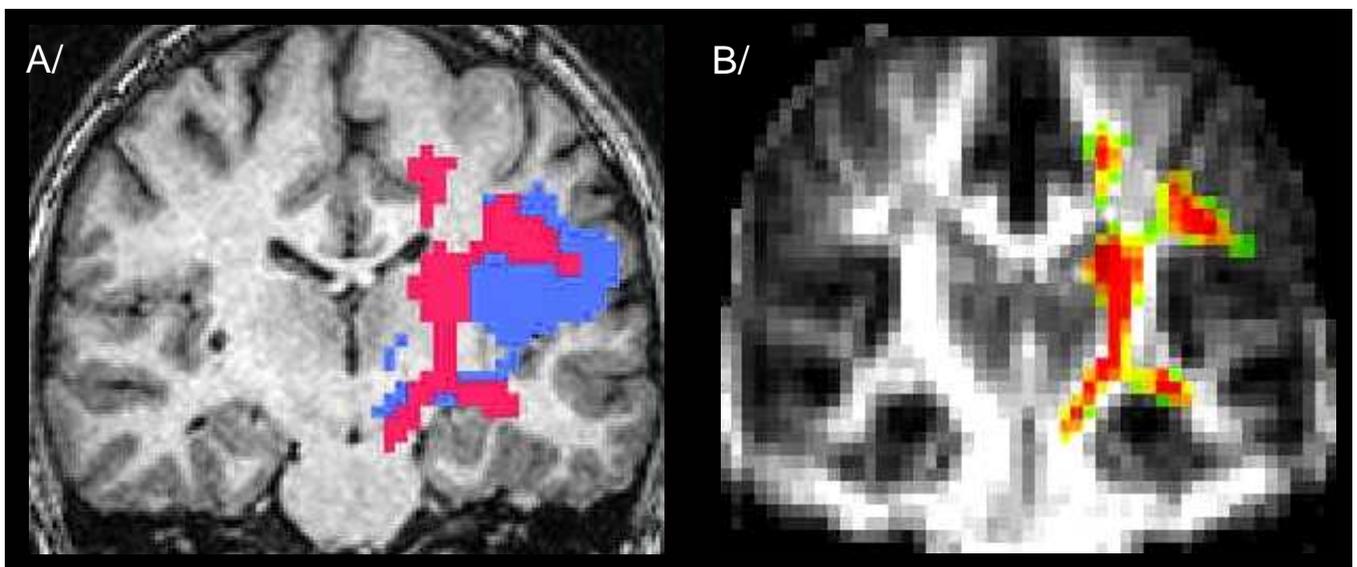


Figure 2 : Comparaison de la diffusion mesurée dans l'hémisphère homolatéral à un infarctus cérébral à J7 et M6 A/ Augmentation de la diffusion moyenne (cluster bleu) et diminution d'anisotropie (cluster rouge) dans l'hémisphère homolatéral à un infarctus sylvien à 6 mois comparé à l'examen réalisé à J7. L'augmentation de la diffusion moyenne correspond à l'augmentation de la diffusion liée à la destruction tissulaire en rapport avec le corps de l'infarctus cérébral. La diminution d'anisotropie correspond à la dégénérescence wallérienne du faisceau cortico-spinal. B/ dégénérescence wallérienne du faisceau cortico-spinal détectable de la capsule interne jusqu'au pédoncule cérébral, à distance de l'infarctus cérébral.

Dans une deuxième partie, l'imagerie du tenseur de diffusion a été utilisée en association avec l'imagerie fonctionnelle. Potentiellement, l'association de ces techniques permet d'une part de connaître les aires cérébrales activées durant une tâche cognitive et d'autre part d'étudier les connexions reliant ces aires cérébrales activées (Conturo et al., 1999;

Guye et al., 2003). Grâce à des paradigmes de lecture et de calcul mental (calcul exact et approximatif), établis par S. Dehaene et L. Cohen (Cohen et al., 2000; Dehaene et al., 1999), nous avons pu caractériser le substrat fonctionnel à l'origine des troubles de lecture dans le cadre d'un syndrome de disconnection calleux et à l'origine de la dyscalculie dans le syndrome de Turner. L'étude complémentaire en imagerie du tenseur de diffusion et en imagerie structurale a permis d'analyser finement les anomalies tissulaires à l'origine de troubles cognitifs.

Dans l'étude du syndrome de disconnection corticale, la sensibilité de l'imagerie du tenseur de diffusion à la dégénérescence wallérienne a permis de montrer l'existence d'une perte de connections entre les régions cérébrales activées en IRMf dans les étapes précoces de la lecture chez le sujet normal (Molko et al., 2002a). Plus précisément, cette étude suggère que l'hémi-alexie gauche du patient est secondaire à une perte de connections entre les régions occipitales droites et le gyrus fusiforme gauche, entraînant une disconnection de l'aire de la représentation visuelle des mots de ses afférences de l'hémi-champ visuel gauche. La perte d'anisotropie secondaire à la dégénérescence wallérienne d'un faisceau peut permettre l'étude des connections cérébrales in vivo selon une méthode similaire aux études histologiques basées sur le suivi des axones dégénérés après une lésion cérébrale. Cette méthode de « tracking négatif » apparaît intéressante et complémentaire aux données obtenues avec les algorithmes classiques de reconstruction automatique des trajectoires de fibres..

Dans l'étude des troubles du calcul associés au syndrome de Turner, alors que l'étude morphométrique révèle une désorganisation importante du sillon intrapariétal, l'imagerie du tenseur de diffusion n'a révélé aucune anomalie dans le lobe pariétal de ces patientes (Molko et al., 2003a). Ce résultat négatif suggère soit une méthode inappropriée d'analyse des données soit un manque de sensibilité de la technique d'imagerie. La méthode d'analyse utilisée dans cette étude est une méthode voxel par voxel qui nécessite une normalisation des images de diffusion dans l'espace de Talairach. La normalisation des données de diffusion utilise la matrice de normalisation des images anatomiques qui ne prend pas en compte les faisceaux de fibres. Nous illustrons Figure 3 la variabilité entre les individus des faisceaux de fibres dans le lobe pariétal et l'absence de recalage des connections pariétales dans l'espace de Talairach apparaît comme une limite importante de la méthode utilisée (Mori and van Zijl, 2002). Une étude spécifique des faisceaux de substance blanche dans l'espace natif pourrait être appropriée pour une étude précise des connections pariétales. La prise en compte des faisceaux de fibres pourrait être aussi envisagée avec la création d'un template d'anisotropie

de diffusion et l'utilisation d'une matrice non linéaire de normalisation. La faible résolution des images de diffusion et l'importance du bruit dans ces images sont aussi des facteurs limitants pour la détection d'anomalies subtiles dans les connexions pariétales des sujets avec un syndrome de Turner. En particulier, la faible anisotropie dans les régions sous corticales rend difficile l'étude des fibres en U. L'utilisation de nouvelles séquences de diffusion multidirectionnelles, qui permettent de détecter une anisotropie plus importante dans les régions sous corticales, serait intéressante dans la compréhension de la désorganisation anatomique du lobe pariétal des patientes avec un syndrome de Turner.

L'association de l'imagerie fonctionnelle et de l'imagerie anatomique est une approche nouvelle utilisée dans cette thèse. Cette méthode permet de rechercher un substrat anatomique aux anomalies fonctionnelles détectées mais permet aussi d'interpréter différemment les résultats d'imagerie fonctionnelle. L'existence d'une désorganisation du sillon intrapariétal droit, avec notamment un sillon plus court et moins profond, entraîne des conséquences inévitables sur la localisation des activations dans le syndrome de Turner et complique l'interprétation des résultats d'IRMf. Prenons l'exemple d'une région anormale en rapport avec une atrophie, l'existence d'activations anormales de cette région peut être en rapport avec les problèmes de normalisation de la région atrophiée mais aussi en rapport avec la moins grande quantité de substance grise impliquée dans la tâche cognitive. Bien que le pattern d'activation d'une région anormale sur le plan anatomique ne soient pas précises, il apparaît intéressant dans les études en imagerie fonctionnelle de la pathologie cérébrale d'associer une étude de morphométrie cérébrale. Dans notre étude concernant le syndrome de Turner, la normalité des activations cérébrales des sujets Turner durant les tâches de calcul mental comparées au repos suggère que les modifications anatomiques dans le lobe pariétal n'influencent pas de façon majeure la localisation des activations des patientes avec un syndrome de Turner.



Figure 3 : Variabilité du faisceau longitudinal supérieur chez trois sujets. Cette figure illustre la difficulté de l'étude de la connectivité cérébrale par les analyses de type SPM voxel par voxel. La variabilité dans les connexions pariétales est très nette (Mori and van Zijl, 2002).

Le travail dans le syndrome de Turner propose enfin un modèle général pour l'étude des bases cérébrales des troubles cognitifs associant une étude combinée en « Voxel-based Diffusion » et en « Voxel-based morphometry » et une étude en IRMf. Le nombre important de tests statistiques réalisées dans une analyse voxel par voxel rend difficile l'interprétation des données au regard de la possibilité de faux positifs et de faux négatifs. La combinaison de ces différentes méthodes d'imagerie, dont l'origine du signal est indépendante, permet d'obtenir un faisceau d'arguments convergents, permettant de cibler une région anatomique ou un sillon. Dans un deuxième niveau d'analyse, l'étude de la morphométrie sulcale de la région précédemment ciblée, permet de confirmer les résultats et de les préciser anatomiques en terme d'anomalies de la longueur, de la profondeur ou de la configuration géométrique d'un sillon. L'étude du syndrome de Turner montre qu'on ne peut pas attribuer une augmentation ou une diminution de la densité de matière grise en « Voxel-based Morphometry » à des atrophies ou des hypertrophies locales de densité de matière grise (Molko et al., 2003b). En effet, l'absence de la prise en compte des sillons dans la normalisation dans l'espace de Talairach peut entraîner des variations de densité de matière grise en rapport avec des déplacements de sillons. Dans notre étude sur le syndrome de Turner, l'étude des cartes d'analyse SPM de densité de matière grise montre l'existence dans le sillon central de 2 clusters dans des régions adjacentes avec des variations de densité de matière grise de sens opposé (augmentation et diminution). L'étude de la localisation du sillon central montre que les anomalies de densité de matière grise obtenues en VBM correspondent non pas à des anomalies de densité de matière grise du sillon central mais à un déplacement postérieur de ce sillon.

La faisabilité de l'approche utilisée dans le syndrome de Turner dans l'étude des troubles cognitifs de cas unique reste à valider. Dans le domaine de la dyscalculie, cette perspective pourrait aider, non pas au diagnostic de la dyscalculie qui est clinique, mais au démembrement des différents types de dyscalculie. En conclusion à cette thèse, nous avons étudié en utilisant le protocole d'imagerie utilisé pour le syndrome de Turner la dyscalculie développementale d'une patiente de 30 ans, AG, gauchère, présentant associée à la dyscalculie une dyslexie et une épilepsie temporale partielle sévère résistante et ayant nécessitée une amygdalo-hippocampectomie gauche. La dyscalculie de AG est majeure, comme en témoigne l'absence de réponse correcte à tous les calculs proposés dans le test de Warrington (dont les calculs les plus simples sont $15 + 7$ et $19 - 7$). Cette dyscalculie associe un déficit majeur dans les calculs exacts comme les multiplications avec une relative préservation de la manipulation des quantités non symbolique.

Seuls des résultats préliminaires sont rapportés dans cette thèse. Les données d'imagerie de AG sont comparées à 14 témoins de sexe féminin en utilisant le logiciel SPM (le seuil statistique utilisé est de 0,001 au niveau du voxel et seuls les clusters significatifs avec un $P > 0,05$ corrigé pour les comparaisons multiples sont rapportés).

Tableau 1 : Résultats de la voxel-based morphometry

Anatomical region	P value	Number of voxels	Z score	Talairach coordinates
<i>Decrease GM in AG compared to controls</i>				
Left temporal pole	< 0.001	25 488	7.57	-28, 4, -43
Left temporal pole			7.56	-36, -2, -46
Left hippocampus			7.54	-26, -6, -23
Left angular gyrus	< 0.001	8 814	5.51	-47, -58, 50
Left supramarginal gyrus			5.51	-50, -48, 53
Left supramarginal gyrus			5.39	-60, -39, 44
Right supramarginal gyrus	< 0.001	2305	4.96	61, -40, 43
<i>Increase GM in AG compared to controls</i>				
Left intraparietal sulcus	< 0.001	4 233	infini	-29, -50, 26
Right intraparietal sulcus	0.012	817	5.48	35, -37, 30
Right middle prefrontal gyrus	< 0.001	1312	5.02	22, 5, 37

Aspect normal du lobe pariétal d'une patiente avec une dyscalculie développementale sévère



Atrophie corticale bi-pariétale révélée par Voxel-based Morphometry

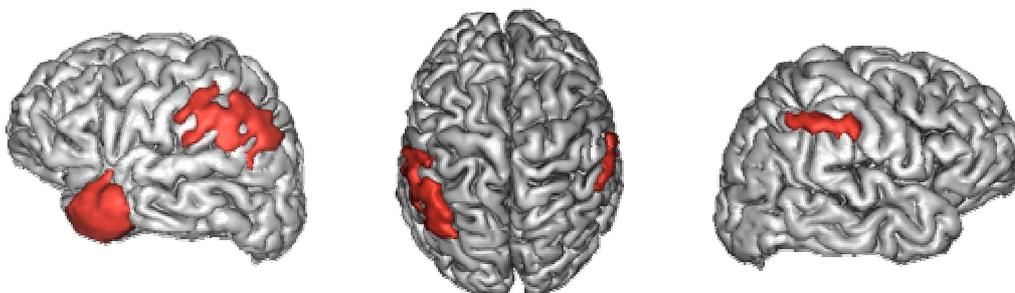


Figure 4 : Rangée du haut, aspect macroscopique normal du lobe pariétal sur l'imagerie conventionnelle. L'étude en VBM permet de détecter une réduction de la densité de la matière grise bilatérale et prédominant à gauche. L'ablation du pôle temporal gauche est remarquablement bien détectée par cette méthode.

Alors que l'aspect macroscopique du lobe pariétal est normal sur l'imagerie par résonance magnétique conventionnelle, il est intéressant de noter que des anomalies anatomiques majeures sont détectées en VBM dans les deux lobes pariétaux et prédominent dans l'hémisphère pariétal gauche. L'étude en VBM montre à la fois une réduction de la densité de matière grise dans la partie superficielle du sillon intrapariétal (cluster rouge) alors qu'une augmentation de la densité de matière grise est observée dans le fond du sillon intrapariétal (cluster vert) (Figure 5). L'étude en Voxel-based diffusion montre une réduction d'anisotropie dans le fond du sillon intrapariétal gauche, précisément dans la même région où une augmentation de la matière grise est trouvée en VBM (Figure 5). Ces données convergent pour suggérer un déplacement du sillon intrapariétal gauche chez AG. L'imagerie fonctionnelle durant les petits calculs suggère une hyperactivation dans le gyrus supramarginal droit et dans les régions dorsales préfrontales droites chez AG comparée aux témoins, suggérant une l'utilisation de stratégies compensatoires impliquant les boucles pariéto-frontales droites (Figure 5). Contrairement aux résultats obtenus dans le syndrome de Turner, l'analyse de la morphométrie des sillons montre une profondeur normal des sillons pariétaux chez AG. Un pattern inhabituel dans la gyrfication est cependant observé au niveau du lobe pariétal droit avec une terminaison de la fissure sylvienne droite entre la partie inférieure du sillon post central et le sillon central (Figure 6).

Bien que ces analyses soient encore préliminaires, ces résultats montrent l'existence d'un désorganisation importante des lobes pariétaux, prédominant à gauche, dans une dyscalculie développementale d'origine non génétique et suggèrent l'existence de mécanismes compensatoires reposant sur les boucles pariéto-frontales droites. Cette étude confirme que des patterns d'augmentation et de réduction de matière grise dans des régions voisines doivent orienter vers des déplacements de sillons. Cette étude montre la faisabilité de l'approche utilisée dans l'étude de groupe de la dyscalculie associée au syndrome de Turner pour l'étude de cas unique. Enfin, l'augmentation de la diffusion dans les régions orbito-frontales droites, région étroitement connectée à l'hippocampe et aux régions temporales antérieures, semble confirmer que l'imagerie de diffusion est sensible à la disconnection corticale, suggérant précisément une disconnection du cortex orbito-frontal secondaire à l'hippocampectomie droite (Figure 7).

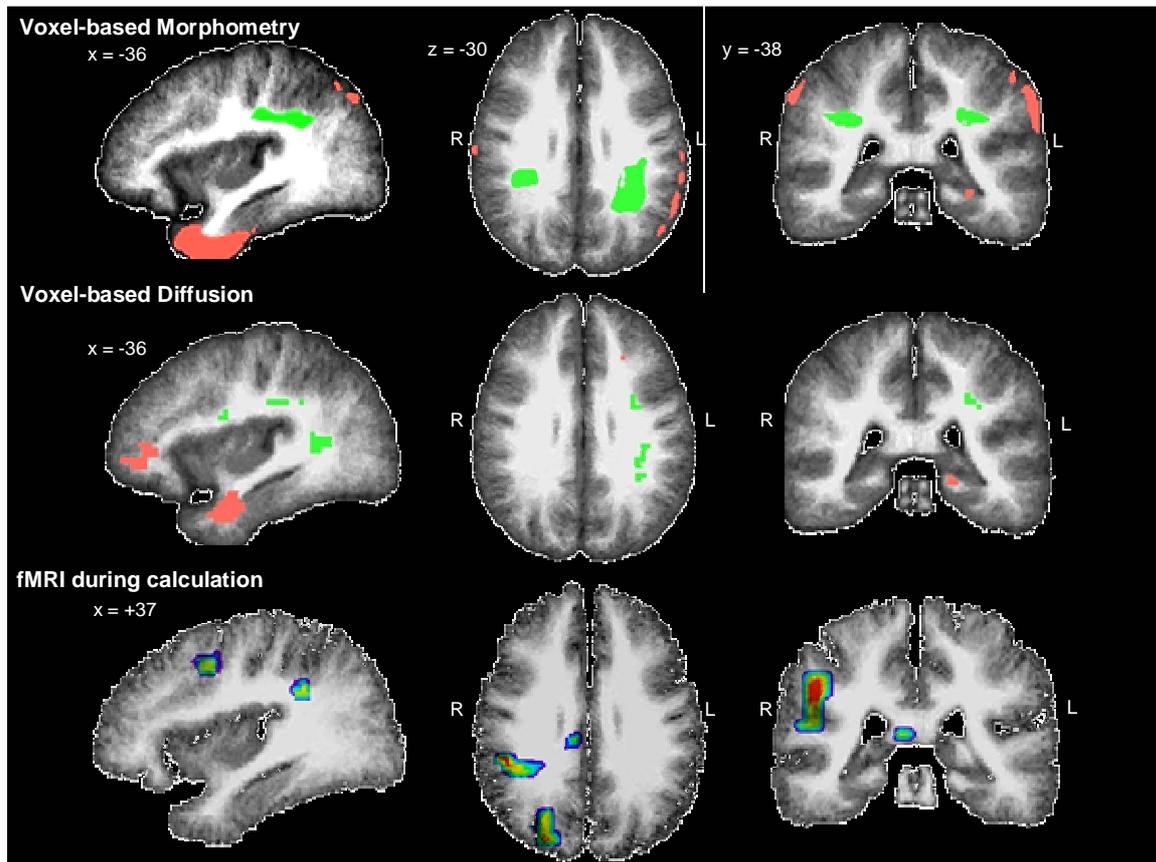


Figure 5 : A. Résultats de la Voxel-Based Morphometry chez AG. Une diminution de la substance grise (-cluster rouge) est observée au niveau des lobes pariétaux (gyrus supramarginaux droit et gauche et gyrus angulaire gauche) et au niveau de l'exérèse chirurgicale du lobe temporal. Une augmentation de la substance grise (cluster vert) est observée au niveau des sillons intrapariétaux droit et gauche. B. Résultats de la Voxel-Based diffusion. Une réduction d'anisotropie (cluster vert) est observée dans le fond du sillon intrapariétal gauche, précisément au niveau de l'augmentation de la substance grise détectée en VBM. Les clusters rouges représentent les régions avec une augmentation de la diffusion moyenne. C. Résultats de l'IRMf durant les petits calculs comparés au repos. Une augmentation de l'activité pariéto-frontale droite est observée chez AG comparée aux témoins

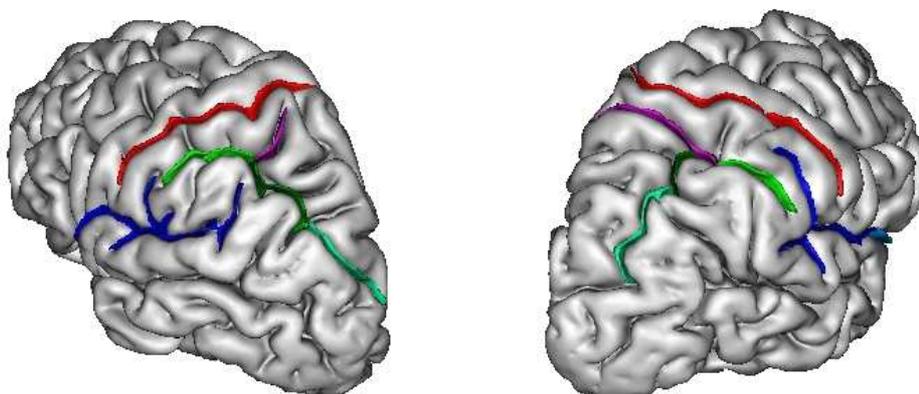


Figure 6 : Configuration des sillons intrapariétaux. Les trois segments du sillon intrapariétal (vert clair : segment antérieur ou ascendant (sillon post-central inférieur), vert foncé : segment horizontal, turquoise : segment descendant ou postérieur) sont observées chez AG. Le pattern de gyrification du lobe pariétal droit est inhabituel avec la fissure sylvienne droite qui se termine entre le sillon post-central et le sillon intrapariétal.

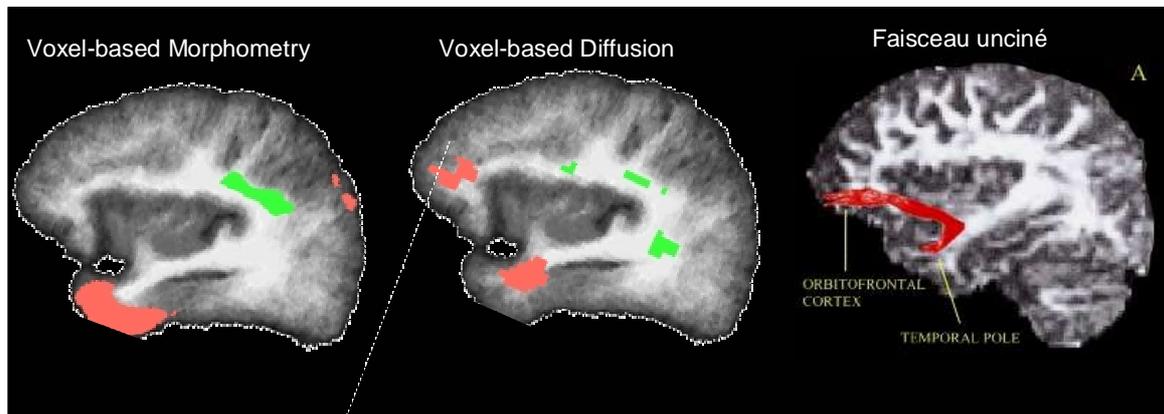


Figure 7 : Augmentation de la diffusion moyenne détectée en voxel-based Diffusion (cluster rouge) dans le cortex orbito-frontal chez une patiente avec une hippocampectomie droite. Cette augmentation de la diffusion dans une région étroitement connectée à l'hippocampe pourrait suggérer une disconnection partielle du cortex orbito-frontal via une perte des connections du faisceau unciné suite à l'ablation chirurgicale du pôle temporal droit détecté en voxel-based morphometry (cluster rouge).

Un deuxième fil conducteur de cette thèse est l'étude de pathologies d'origine génétique. Les pathologies génétiques offrent des modèles d'étude pour la compréhension du rôle et de l'expression des gènes. La compréhension des facteurs génétiques, qui par exemple influencerait le développement cérébral, la formation des synapses ou la plasticité neuronale, a un intérêt évident tant sur le plan des neurosciences que sur le plan médical. Ce niveau d'étude dépasse largement les corrélations préliminaires entre génotype et phénotype réalisées dans cette thèse mais ce travail s'intègre dans un nouveau champ des neurosciences, la génétique du comportement. La découverte récente en 2001 que la mutation d'un seul gène, le gène FOXP2, puisse entraîner des perturbations majeures de l'acquisition du langage parlé montre les perspectives fascinantes de cette approche (Lai et al., 2001; Marcus and Fisher, 2003). Cette découverte a été largement dépendante de l'étude d'une famille unique, connue sous le nom de KE, où un membre sur deux de la famille présente des difficultés sévères de langage sans retard mental associé. Les études en voxel-based morphometry et en imagerie fonctionnelle montrent respectivement chez les personnes porteuses de la mutation FOXP2 une réduction de la matière grise dans le noyau caudé et une hypoactivation dans la région de Broca durant une tâche de génération de mot (Vargha-Khadem et al., 1998; Watkins et al., 2002). FOXP2 est un gène régulateur qui code pour un facteur de transcription qui régule la transcription de nombreux gènes qui ne sont pas encore connus. Ce gène est extrêmement conservé au cours de l'évolution avec une homologie très forte entre les différentes espèces (seuls trois acides aminés diffèrent entre la souris et l'homme) mais dont certaines mutations de FOXP2 seraient contemporaines de l'émergence du langage (Marcus and Fisher, 2003).

Les conséquences d'une mutation de FOXP2 sont très complexes à étudier car elles impliquent une cascade de gènes. De plus, FOXP2 est probablement impliqué dans de nombreuses fonctions, comme le témoigne son expression ubiquitaire (poumons, cœur, intestin), et son rôle ne serait donc pas donc spécifique à l'acquisition du langage. La compréhension du lien entre la mutation de FOXP2 et le déficit du langage qui lui est associé reste encore à préciser. La compréhension du pattern d'expression des gènes pourrait aussi permettre de mieux comprendre la variabilité de certaines fonctions cognitives entre les individus (normaux). Un premier travail concernant l'étude du polymorphisme génétique du récepteur de la dopamine DR4 et de la monoamine oxydase suggère un lien entre le polymorphisme génétique et les ressources attentionnelles mobilisées en cas de conflit cognitif (Fan et al., 2003; Fan et al., 2001).

Le rôle des gènes dans le développement de la cognition numérique et sociale est fortement suggéré par les similitudes dans le développement de ces fonctions au cours de l'ontogénie et de la phylogénie des espèces, comme le montrent les études chez l'homme, chez les nourrissons, et les études dans d'autres espèces animales (Allison et al., 2000; Dehaene et al., 1998). Il devrait donc être possible d'identifier des anomalies génétiques qui perturbent le développement de certains circuits impliqués dans la cognition, comme des circuits fronto-pariétaux impliqués la cognition numérique ou des circuits fronto-temporaux impliqués dans la cognition sociale. Les études réalisées dans cette thèse dans le syndrome de Turner suggèrent le rôle de facteurs génétiques liés au chromosome X, direct ou indirects via les facteurs hormonaux, dans le développement de la cognition sociale et de la cognition numérique. Des études génétiques plus précises étudiant des délétions partielles voire des mutations du chromosome X ou son caractère parental sont nécessaires pour une meilleur compréhension du rôle des gènes localisés sur le chromosome X.

Enfin, la pathologie génétique permet l'étude de pathologies homogènes sur le plan de la physiopathologie. Dans CADASIL, la mutation d'un gène unique, le gène Notch3, entraîne une accumulation d'un matériel osmiophile dans la paroi artérielle des vaisseaux et une dégénérescence élective des cellules musculaires lisses, responsables de l'artériolopathie (Joutel et al., 2000). Le processus pathologique dans CADASIL est spécifiquement lié à une atteinte vasculaire homogène ce qui différencie les patients CADASIL des patients avec une démence vasculaire d'origine non génétique où les lésions vasculaires sont hétérogènes et où une maladie d'alzheimer est fréquemment associée après 70 ans.

Dans le syndrome de Turner, la génétique est bien plus complexe car elle ne concerne pas qu'un seul gène et car il est difficile d'expliquer pourquoi la perte d'un chromosome X

qui est physiologiquement inactivé chez la femme (corpuscule de Barr) entraîne des complications si importantes. La première explication simple est qu'une petite partie du chromosome X, dite pseudo-autosomale, n'est pas inactivée, conduisant à un déficit quantitatif dans l'expression de ces gènes, puisqu'un seul des deux allèles est exprimé. Le deuxième point résulte du phénomène d'empreinte génétique, traduisant des différences dans l'expression d'un même gène en fonction de son origine parentale. Le caractère aléatoire de l'inactivation du chromosome X chez la femme, affectant autant le chromosome X d'origine paternelle que maternelle, assure dans les conditions physiologiques l'expression des gènes du chromosome X provenant de chacun des parents. Dans le syndrome de Turner, la perte d'un chromosome X pourrait se traduire par une absence d'expression de gènes dans les tissus où l'expression génique serait différente en fonction de l'origine parentale du gène.

Pour résumer, l'imagerie du tenseur de diffusion a permis dans cette thèse :

- *La détection d'anomalie de la microstructure tissulaire dans des régions d'apparence normale sur les séquences conventionnelles, à distance de lésions macroscopiques, dans CADASIL.* L'origine et la contribution au tableau clinique de ces anomalies de diffusion restent encore à préciser. Les résultats obtenus dans CADASIL suggèrent que l'augmentation de la diffusion de l'eau et la réduction d'anisotropie sont en rapport avec la perte axonale et myélinique observée dans les études neuropathologiques de patients CADASIL.

- La détection d'anomalies de la diffusion dans une pathologie développementale où le tissu cérébral apparaît normal sur les séquences conventionnelles. Dans le syndrome de Turner, la contribution de la densité cellulaire, de la taille des cellules, de la densité axonale et du degré de myélinisation dans ces anomalies de diffusion n'est pas connue.

- *La détection de la perte de cohérence des fibres en rapport avec une dégénérescence wallérienne.* La dégénérescence d'un faisceau de fibres secondaire à une lésion cérébrale focale n'est classiquement pas accessible sur l'imagerie conventionnelle T1 et T2. Cette sensibilité à la dégénérescence wallérienne nous a permis de décrire une méthode de suivi des fibres en voie de dégénérescence par une méthode dite de tracking négatif. Cette méthode apparaît très complémentaire aux méthodes de tracking de fibres, basées sur la valeur de diffusion maximale.

- *La détection d'une anomalie de la connectivité cérébrale en rapport avec un trouble du développement cérébral* au niveau des fibres de projection longue distance à orientation antéro-postérieure du lobe temporal.

- *La détection d'une disconnexion de la substance grise* en révélant des anomalies de la diffusion dans la substance grise secondaire à des lésions de la substance blanche à distance (disconnection thalamique en rapport avec des lésions diffuses des fibres thalamo-corticales).

- *Le suivi longitudinale de la progression des lésions tissulaires* dans la maladie de CADASIL, sur des périodes de suivi aussi courte que 1 an.

De nombreux développements méthodologiques dans l'imagerie du tenseur de diffusion sont encore à venir avec notamment l'utilisation de champs magnétiques plus importants, de méthodes comme le q-space et de séquences à haute résolution angulaire. Ces travaux pourraient permettre d'utiliser la diffusion dans la détection des modifications fonctionnelles du cortex des aires cérébrales activées, dans la détection de modifications de la cytoarchitecture corticale entre les différentes aires corticales. L'apport de l'imagerie du tenseur diffusion dans l'étude du tissu cérébral fera sans aucun doute l'objet d'autres thèses.

Références :

- ALLISON, T., PUCE, A., AND MCCARTHY, G. (2000). SOCIAL PERCEPTION FROM VISUAL CUES: ROLE OF THE STS REGION. *TRENDS COGN SCI* 4, 267-278.
- BARON, J., MAZOYER, B., LEGAULT-DEMARE, F., MAUGUIERE, F., PAPPATA, S., JEDYNAK, P., DEROME, P., CAMBIER, J., TRAN-DINH, S., AND AL, E. (1992). THALAMOCORTICAL DIASCHISIS: POSITRON EMISSION TOMOGRAPHY IN HUMANS. *J NEUROL NEUROSURG PSYCHIATRY* 55, 935-942.
- BARON, J. C., D'ANTONA, R., PANTANO, P., SERDARU, M., SAMSON, Y., AND BOUSSER, M. G. (1986). EFFECTS OF THALAMIC STROKE ON ENERGY METABOLISM OF THE CEREBRAL CORTEX. A POSITRON TOMOGRAPHY STUDY IN MAN. *BRAIN* 109, 1243-1259.
- CHABRIAT, H., PAPPATA, S., OSTERGAARD, L., CLARK, C., PACHOT-CLOUARD, M., VAHEDI, K., JOBERT, A., LEBIHAN, D., AND BOUSSER, M. (2000). CEREBRAL HEMODYNAMICS IN CADASIL BEFORE AND AFTER ACETAZOLAMIDE CHALLENGE ASSESSED WITH MRI BOLUS TRACKING. *STROKE* 31, 1904-1912.
- CHABRIAT, H., PAPPATA, S., POUPON, C., CLARK, C., VAHEDI, K., POUPON, F., MANGIN, J., PACHOT-CLOUARD, M., JOBERT, A., LE BIHAN, D., AND BOUSSER, M. (1999). CLINICAL SEVERITY IN CADASIL RELATED TO ULTRASTRUCTURAL DAMAGE IN WHITE MATTER. IN-VIVO STUDY WITH DIFFUSION TENSOR MRI. *STROKE* 30, 2637-2643.
- COHEN, L., DEHAENE, S., NACCACHE, L., LEHERICY, S., DEHAENE-LAMBERTZ, G., HENAFF, M. A., AND MICHEL, F. (2000). THE VISUAL WORD FORM AREA: SPATIAL AND TEMPORAL CHARACTERIZATION OF AN INITIAL STAGE OF READING IN NORMAL SUBJECTS AND POSTERIOR SPLIT-BRAIN PATIENTS. *BRAIN* 123, 291-307.
- CONTURO, T. E., LORI, N. F., CULL, T. S., AKBUDAK, E., SNYDER, A. Z., SHIMONY, J. S., MCKINSTRY, R. C., BURTON, H., AND RAICHLER, M. E. (1999). TRACKING NEURONAL FIBER PATHWAYS IN THE LIVING HUMAN BRAIN. *PROC NATL ACAD SCI U S A* 96, 10422-10427.
- DEHAENE, S., DEHAENE-LAMBERTZ, G., AND COHEN, L. (1998). ABSTRACT REPRESENTATIONS OF NUMBERS IN THE ANIMAL AND HUMAN BRAIN. *TRENDS NEUROSCI* 21, 355-361.
- DEHAENE, S., SPELKE, E., PINEL, P., STANESCU, R., AND TSIVKIN, S. (1999). SOURCES OF MATHEMATICAL THINKING: BEHAVIORAL AND BRAIN-IMAGING EVIDENCE. *SCIENCE* 284, 970-974.
- FAN, J., FOSSELLA, J., SOMMER, T., WU, Y., AND POSNER, M. I. (2003). MAPPING THE GENETIC VARIATION OF EXECUTIVE ATTENTION ONTO BRAIN ACTIVITY. *PROC NATL ACAD SCI U S A* 100, 7406-7411.
- FAN, J., WU, Y., FOSSELLA, J. A., AND POSNER, M. I. (2001). ASSESSING THE HERITABILITY OF ATTENTIONAL NETWORKS. *BMC NEUROSCI* 2, 14.
- FILIPPI, M., BOZZALI, M., AND COMI, G. (2001A). MAGNETIZATION TRANSFER AND DIFFUSION TENSOR MR IMAGING OF BASAL GANGLIA FROM PATIENTS WITH MULTIPLE SCLEROSIS. *J NEUROL SCI* 183, 69-72.
- FILIPPI, M., CERCIGNANI, M., INGLESE, M., HORSFIELD, M. A., AND COMI, G. (2001B). DIFFUSION TENSOR MAGNETIC RESONANCE IMAGING IN MULTIPLE SCLEROSIS. *NEUROLOGY* 56, 304-311.
- GUYE, M., PARKER, G. J., SYMMS, M., BOULBY, P., WHEELER-KINGSHOTT, C. A., SALEK-HADDADI, A., BARKER, G. J., AND DUNCAN, J. S. (2003). COMBINED FUNCTIONAL MRI AND TRACTOGRAPHY TO DEMONSTRATE THE CONNECTIVITY OF THE HUMAN PRIMARY MOTOR CORTEX IN VIVO. *NEUROIMAGE* 19, 1349-1360.
- JOUTEL, A., ANDREUX, F., GAULIS, S., DOMENGA, V., CECILLON, M., BATTAIL, N., PIGA, N., CHAPON, F., GODFRAIN, C., AND TOURNIER-LASSERVE, E. (2000). THE ECTODOMAIN OF THE

NOTCH3 RECEPTOR ACCUMULATES WITHIN THE CEREBROVASCULATURE OF CADASIL PATIENTS [SEE COMMENTS]. *J CLIN INVEST* 105, 597-605.

LAI, C. S., FISHER, S. E., HURST, J. A., VARGHA-KHADEM, F., AND MONACO, A. P. (2001). A FORKHEAD-DOMAIN GENE IS MUTATED IN A SEVERE SPEECH AND LANGUAGE DISORDER. *NATURE* 413, 519-523.

MARCUS, G. F., AND FISHER, S. E. (2003). FOXP2 IN FOCUS: WHAT CAN GENES TELL US ABOUT SPEECH AND LANGUAGE? *TRENDS COGN SCI* 7, 257-262.

MOLKO, N., CACHIA, A., RIVIERE, D., MANGIN, J., BRUANDET, M., LE BIHAN, D., COHEN, L., AND DEHAENE, S. (2003A). BRAIN ANATOMY IN TURNER SYNDROME :EVIDENCE FOR IMPAIRED SOCIAL AND SPATIAL-NUMERICAL NETWORKS. SUBMITTED.

MOLKO, N., CACHIA, A., RIVIERE, D., MANGIN, J. F., BRUANDET, M., LE BIHAN, D., COHEN, L., AND DEHAENE, S. (2003B). FUNCTIONAL AND STRUCTURAL ALTERATIONS OF THE INTRAPARIETAL SULCUS IN A DEVELOPMENTAL DYSCALCULIA. *NEURON*.

MOLKO, N., COHEN, L., MANGIN, J. F., CHOCHON, F., LEHERICY, S., LE BIHAN, D., AND DEHAENE, S. (2002A). VISUALIZING THE NEURAL BASES OF A DISCONNECTION SYNDROME WITH DIFFUSION TENSOR IMAGING. *J COGN NEUROSCI* 14, 629-636.

MOLKO, N., PAPPATA, S., MANGIN, J. F., POUPON, C., VAHEDI, K., JOBERT, A., LEBIHAN, D., BOUSSER, M. G., AND CHABRIAT, H. (2001). DIFFUSION TENSOR IMAGING STUDY OF SUBCORTICAL GRAY MATTER IN CADASIL. IN *STROKE*, pp. 2049-2054.

MOLKO, N., PAPPATA, S., MANGIN, J. F., POUPON, F., LEBIHAN, D., BOUSSER, M. G., AND CHABRIAT, H. (2002B). MONITORING DISEASE PROGRESSION IN CADASIL WITH DIFFUSION MAGNETIC RESONANCE IMAGING: A STUDY WITH WHOLE BRAIN HISTOGRAM ANALYSIS. *STROKE* 33, 2902-2908.

MORI, S., AND VAN ZIJL, P. C. (2002). FIBER TRACKING: PRINCIPLES AND STRATEGIES - A TECHNICAL REVIEW. *NMR BIOMED* 15, 468-480.

PIERPAOLI, C., BARNETT, A., PAJEVIC, S., CHEN, R., PENIX, L. R., VIRTA, A., AND BASSER, P. (2001). WATER DIFFUSION CHANGES IN WALLERIAN DEGENERATION AND THEIR DEPENDENCE ON WHITE MATTER ARCHITECTURE. *NEUROIMAGE* 13, 1174-1185.

VARGHA-KHADEM, F., WATKINS, K. E., PRICE, C. J., ASHBURNER, J., ALCOCK, K. J., CONNELLY, A., FRACKOWIAK, R. S., FRISTON, K. J., PEMBREY, M. E., MISHKIN, M., *ET AL.* (1998). NEURAL BASIS OF AN INHERITED SPEECH AND LANGUAGE DISORDER. *PROC NATL ACAD SCI U S A* 95, 12695-12700.

WATKINS, K. E., VARGHA-KHADEM, F., ASHBURNER, J., PASSINGHAM, R. E., CONNELLY, A., FRISTON, K. J., FRACKOWIAK, R. S., MISHKIN, M., AND GADIAN, D. G. (2002). MRI ANALYSIS OF AN INHERITED SPEECH AND LANGUAGE DISORDER: STRUCTURAL BRAIN ABNORMALITIES. *BRAIN* 125, 465-478.

WERRING, D. J., TOOSY, A. T., CLARK, C. A., PARKER, G. J., BARKER, G. J., MILLER, D. H., AND THOMPSON, A. J. (2000). DIFFUSION TENSOR IMAGING CAN DETECT AND QUANTIFY CORTICOSPINAL TRACT DEGENERATION AFTER STROKE. *J NEUROL NEUROSURG PSYCHIATRY* 69, 269-272.

Annexes

Diffusion Tensor Imaging Study of Subcortical Gray Matter in CADASIL

N. Molko, MD; S. Pappata, MD; J.F. Mangin, PhD; C. Poupon, PhD; K. Vahedi, MD; A. Jobert, BSc; D. LeBihan, MD, PhD; M.G. Bousser, MD; H. Chabriat, MD, PhD

Background and Purpose—In cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL), water diffusion changes suggestive of microstructural tissue alterations have been recently reported in abnormal- and normal-appearing white matter as seen on T2-weighted images. In the subcortical gray matter, typical lacunar infarcts are repeatedly observed. Whether microstructural tissue changes are also present outside these lesions within the putamen or thalamus remains unknown.

Methods—We used diffusion tensor imaging, an MRI method highly sensitive to cerebral microstructure, in 20 CADASIL patients and 12 controls. Both the trace of the diffusion tensor [Tr(D)] and an anisotropic diffusion index (volume ratio) of diffusion were measured within the putamen and thalamus outside typical lacunar infarcts as detected on both T1- and T2-weighted images.

Results—A significant increase in Tr(D) and a decrease in anisotropy were observed in the putamen and thalamus in patients. The right/left indices of Tr(D) in the thalamus, but not in the putamen, were strongly correlated with the corresponding indices calculated in the white matter of the centrum semiovale. In addition, the diffusion increase in the thalamus was positively correlated with Tr(D) and with the load of small deep infarcts within the white matter and negatively correlated with the Mini-Mental State Examination score.

Conclusions—Our results suggest that microstructural tissue alterations are present in the putamen and thalamus, outside the typical lacunar infarcts in CADASIL. In the thalamus, these microstructural changes appear constant and are even observed in asymptomatic subjects. Some of these thalamic changes appear to result from degeneration of thalamocortical pathways secondary to ischemic white matter damage. The importance of this degenerative phenomenon in the pathophysiology of CADASIL requires further investigation. (*Stroke*. 2001;32:2049-2054.)

Key Words: magnetic resonance imaging ■ small-vessel disease

Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL) is a systemic arteriopathy caused by mutations of the *Notch3* gene on chromosome 19.¹ The main clinical manifestations of the disease include attacks of migraine with aura, mood disturbances, recurrent subcortical ischemic strokes, and stepwise or progressive dementia.²⁻⁴ One of the hallmarks of CADASIL is the presence of white matter (WM) hyperintensities on MR T2-weighted images (T2-WI).^{5,6} These WM lesions are inconsistently associated with small infarcts in basal ganglia and/or thalamus.⁵

Water molecular diffusion, which corresponds to the random motion of water molecules,⁷ is determined by both physicochemical properties (viscosity, temperature) and structural features (membranes, macromolecules) of the tissue.⁷⁻⁹ In a liquid such as the cerebrospinal fluid, water diffusion is isotropic, ie, identical in all directions in space. This is not the case in WM, where diffusion is faster parallel

to the WM fibers than in the perpendicular direction (anisotropic diffusion).¹⁰ In gray matter, anisotropy is much lower since the cellular membranes are not orientated along a preferential direction.¹¹ MR diffusion tensor imaging (DTI) evaluates diffusion in at least 6 noncolinear directions of space.¹² This MRI method can provide an orientationally averaged measure of water diffusion [Tr(D)] and the degree of diffusion anisotropy (volume ratio [VR]).¹³ Several studies have shown that this in vivo technique is highly sensitive to variable microstructural changes of the cerebral tissue.¹⁴⁻¹⁶

Using DTI, we recently observed an increase in diffusion with a loss of anisotropy in areas of abnormal WM as seen on T2-WI in CADASIL.¹⁶ These diffusion changes may reflect the extent of axonal and/or myelin loss and appear to be related to the clinical severity of the disease. We also detected significant diffusion changes within the normal-appearing WM as defined on both T1- and T2-WI. Whether these tissue alterations are due to ischemia or to secondary wallerian degeneration remains disputed.¹⁶

Received November 17, 2000; final revision received May 18, 2001; accepted May 18, 2001.

From Unité Neuroimagerie Anatomo-Fonctionnelle (J.F.M., C.P., D.L., H.C.) and INSERM U334 (N.M., S.P., K.V., A.J.), Service Hospitalier Frederic Joliot-Commissariat à l'Energie Atomique, Orsay, and Department of Neurology, CHU Lariboisière, Paris (M.G.B., H.C.), France.

Correspondence to Dr Hugues Chabriat, Department of Neurology, CHU Lariboisière, 2 rue Ambroise Paré, 75010 Paris, France. E-mail chabriat@ccr.jussieu.fr

© 2001 American Heart Association, Inc.

Stroke is available at <http://www.strokeaha.org>

The involvement of thalamic or basal ganglia lesions in the occurrence of vascular dementia has been extensively reported.¹⁷ These nuclei play a central role in the subcortico-cortical functional loops and are essential for the maintenance of cortical functional integrity and cognitive status.¹⁸ In CADASIL, only lacunar lesions within the basal ganglia or thalamus have been reported in vivo or postmortem.^{5,19} In addition, dementia has been observed in 2 affected subjects in the absence of small infarcts within the thalamus or basal ganglia,¹⁹ raising the question of whether additional tissue changes are present in these structures at distance from the typical infarcts in CADASIL. In this study we used DTI to investigate the tissue microstructure in the putamen and the thalamus in the absence of typical small infarcts, or at distance from these lesions, in 20 patients with *Notch3* gene mutations and 12 controls.

Subjects and Methods

Subjects

All subjects had a detailed neurological examination during the 2 hours preceding the MRI examination, including an evaluation of the cognitive deficit with the Mini-Mental State Examination (MMSE)^{20,21} and the degree of handicap with the Rankin Scale score.²²

Twenty CADASIL patients with a deleterious mutation in the *Notch3* gene were studied (mean age, 56.8 ± 8.9 years).²³ All, except 2 asymptomatic subjects, had the typical clinical manifestations of the disease. Eight had a history of recurrent attacks of migraine with aura. Fourteen had previous transient ischemic attacks and/or completed strokes. Eight presented with a focal neurological deficit at time of MRI examination. Six were demented (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Third Edition* criteria).²⁴ Seven had a Rankin Scale score >2 .

The control group consisted of 12 healthy subjects (mean age, 51.4 ± 10 years) selected from a larger database with (1) no familial vascular disorder, (2) no history of neurological disorder, (3) normal neurological and general examination, (4) MMSE score >28 , and (5) normal MR T1- and T2-WI.

An independent institutional ethics committee approved the present study (CCPPRB Bicêtre 9724), and informed consent was obtained from each participant.

Magnetic Resonance Imaging

T1-WI and diffusion-weighted images were acquired with the use of a 1.5-T MRI system (Signa General Electric Medical Systems) equipped with gradient hardware allowing up to 22 mT/m. A standard quadrature head coil was used for radio frequency transmission and reception of the MR signal. Reduction of head motion was achieved with pillows placed on either side of the participant's head and a fixed strap positioned around the forehead.

T1-WI (inversion-recovery) were acquired first in the axial plane with a spoiled gradient echo sequence (124 slices 1.2 mm thick, repetition time = 10.3 ms, echo time = 2.1 ms, inversion time = 600 ms) and 24×24 cm field of view (resolution of $0.937 \times 0.937 \times 1.2$ mm). Acquisition time was 7 minutes, 38 seconds.

Diffusion-weighted images (5 mm thick) were acquired with an echo-planar imaging sequence (single shot) sensitized to diffusion by application of gradient pulses on either side of the refocusing radio frequency pulse, in the axial plane, at 26 slice locations. For each slice location, T2-WI with no diffusion sensitization, followed by 11 *b* values (incremented linearly to a maximum value of 1000 s/mm²), were obtained in 6 noncolinear directions (*x*, *y*, *z*, *x-y*, *x-z*, *y-z*). The image resolution was 128×128 , field of view 24×24 cm (in-plane resolution of 1.875×1.875), echo time = 96.4 ms, and repetition time = 3300 ms. Total acquisition time for DTI was 8 minutes, 12 seconds.

The diffusion tensor parameters were calculated on a pixel-by-pixel basis. Tr(D) and VR were calculated as described by Basser et al¹² and Pierpaoli et al,¹¹ respectively.

Regions of Interest

In all subjects, regions of interest were defined on 3 T2-WI slices in the right and left thalamus and putamen. By visual inspection, we delineated rectangular regions of interest at a distance from lacunar lesions defined as any circumscribed signal abnormality of diameter >2 mm and isointense to the cerebrospinal fluid signal on T1- and T2-WI. These criteria were based on the results of Bokura et al,²⁵ who recently showed that the mean size of lacunar infarctions, in 73 postmortem and MRI-identified lesions, was $\geq 3 \times 2$ mm. Because of the variable size of these lesions in our patients, the volume of interest delineated on each side varied from 316 to 844 mm³ in the thalamus and from 160 to 633 mm³ in the putamen. In controls, volumes of fixed size were used, on each side, in the thalamus (900 mm³) and putamen (650 mm³).

To investigate the possible relationships between diffusion changes in the subcortical gray matter and microstructural WM changes, we also calculated Tr(D) and VR within the centrum semiovale, as previously reported.¹⁶ The WM region of interest included areas of increased signal delineated on T2-WI using the 4 consecutive axial planes located just above the lateral ventricles. At the same level, all typical small infarcts, as defined above, were delineated. Total infarct volume was then divided by the corresponding hemispheric volume calculated on the same slices to obtain the load of small infarcts within the centrum semiovale as a fraction of the corresponding hemispheric volume in each patient.

Statistical Analysis

The patients were separated in 2 groups according to the presence or absence of at least 1 associated typical small infarct within the corresponding structure. ANOVA was then performed to compare the diffusion parameters in the putamen between patients and controls. This analysis was repeated for comparison of the data obtained in the thalamus. Tr(D) and VR were calculated in the thalamus and putamen as the mean value of both sides in each subject. The analysis was performed after adjustment for age between groups (covariate = age).

Fisher's test of protected least significant difference was used for post hoc analysis of multiple comparisons only in the presence of a significant difference between the 3 groups (patients with associated infarcts within the same structure, patients without these lesions, and controls).

When the difference between the groups was not related to the presence of associated small infarcts (lack of a significant difference between the 2 groups of patients), correlation between the significant parameters and Tr(D) or VR within the WM was investigated by multiple linear regression analysis, including age as covariate. Correlation between the same parameters and the load of small infarcts in WM was similarly tested. In addition, relationships with the MMSE score and the Rankin score were investigated with the Spearman rank correlation test.

Values of $P < 0.05$ were considered statistically significant. Data are presented as mean \pm SD. The statistical analysis was performed with Statview software (Abacus Concepts, Inc).

Results

T1- and T2-WI Findings

All patients presented with typical widespread ($n=18$) or multiple punctiform ($n=2$) T2 hyperintensities located in the centrum semiovale. Eleven patients had thalamic signal abnormalities suggestive of lacunar infarcts (bilateral in 8, unilateral in 3). Five patients presented with a heterogeneous signal of the thalamus on T2-WI but had no focal changes on T1- or T2-WI. Four patients had normal signal on both T1- and T2-WI in the thalamus. Thirteen patients had focal signal

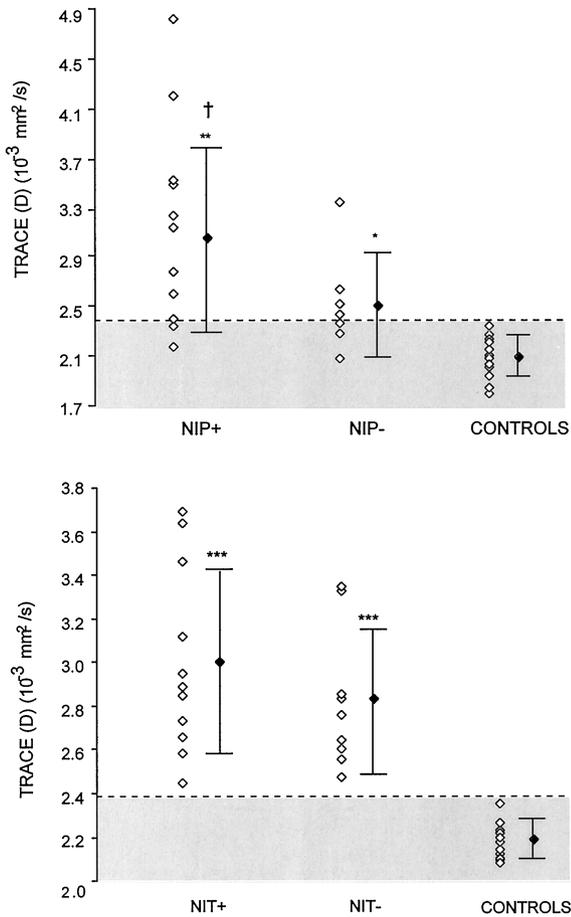


Figure 1. Individual and mean Tr(D) values in patients and controls calculated in the noninfarcted putamen (NIP) or thalamus (NIT) in the presence (+) or absence (-) of associated infarct (ANOVA). The mean Tr(D) value in the putamen, in both presence and absence of associated infarcts, significantly differed from that measured in controls (** $P < 0.01$ and * $P < 0.05$, respectively). The mean Tr(D) value in the thalamus, in both presence and absence of associated infarcts, significantly differed from that measured in controls (** $P < 0.0001$). The difference between the 2 groups of patients was significant only for the Tr(D) measured in the putamen ($\dagger P < 0.05$). Note that all individual thalamic Tr(D) values were above the 95% confidence limit of the corresponding mean value in controls (gray area). This was not the case for values from the putamen.

abnormalities suggestive of lacunar infarcts in the putamen (bilateral in 9, unilateral in 4). All 7 other patients had only a few punctiform hyperintensities on T2-WI within the same structure without significant abnormalities on T1-WI.

Diffusion Parameters

ANOVA showed that the mean Tr(D) and VR significantly differed among the 3 groups in both the putamen and thalamus. In the putamen, Tr(D) in patients was $3.01 \pm 0.75 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ in the presence of associated infarcts and $2.48 \pm 0.42 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ in their absence. Tr(D) was $2.17 \pm 0.15 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ in controls (Figures 1 and 2). The post hoc analysis showed that Tr(D) calculated in both the presence and absence of associated small infarcts in the putamen significantly differed from the mean value calculated in controls ($P < 0.01$ and $P < 0.05$, respectively). The difference between the 2 groups of patients was also

statistically significant ($P < 0.01$). The VR index measured in the putamen in the presence of associated infarcts (0.95 ± 0.02 ; $P = 0.01$), but not that measured in the absence of typical small infarcts (0.92 ± 0.02), differed from the mean value obtained in controls (0.92 ± 0.16).

In the thalamus, Tr(D) was significantly increased in both the presence ($3.00 \pm 0.42 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; $P < 0.0001$) and absence of associated small thalamic infarcts ($2.82 \pm 0.31 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; $P < 0.0001$) in comparison to controls ($2.22 \pm 0.085 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$) (Figures 1 and 2). The difference between the 2 groups of patients was not statistically significant. In addition, the mean value of VR was significantly increased in both the presence (0.92 ± 0.02 ; $P < 0.0001$) and absence of small infarcts (0.93 ± 0.02 ; $P = 0.003$) compared with controls (0.88 ± 0.018). Individually, 12 of 20 patients had a Tr(D) value in the putamen above the 95% confidence limit of the control mean value. All patients had a Tr(D) value in the thalamus above the 95% confidence limits of the control mean value (Figure 1).

Visual examination of the Tr(D) map in 5 of our patients shows an obvious asymmetry of diffusion, with a larger increase in the thalamus ipsilateral to a unilateral capsular lacunar infarct (Figure 3). The right/left indices of Tr(D) values calculated in the WM were significantly correlated with the corresponding asymmetry indices in the thalamus ($r = 0.56$; $P = 0.01$) but not with those calculated in the putamen ($P = 0.3$). A correlation between the right/left indices of Tr(D) in the thalamus and the right/left indices of VR in the WM was also observed ($r = 0.55$; $P = 0.01$). In addition, Tr(D) in the thalamus was positively correlated with both Tr(D) ($r = 0.49$; $P = 0.002$) and the load of small infarcts ($r = 0.59$; $P = 0.02$) in the centrum semiovale. Multiple regression analysis showed that these results were independent of age effect in the CADASIL group.

Finally, Tr(D) in the thalamus but not in the putamen correlated negatively with the MMSE score ($\rho = -0.45$; $P = 0.05$). Our analysis revealed only a trend for a correlation between Tr(D) in the thalamus and the Rankin disability score ($\rho = 0.4$; $P = 0.075$).

Discussion

This DTI study was undertaken to investigate the tissue microstructure within subcortical gray matter outside typical small infarcts in CADASIL. Our results show a significant increase in water diffusion in both the putamen and thalamus in our patients. This increase was detected in areas devoid of significant signal changes on T1-WI and with inconsistent or minor signal changes on T2-WI. The mean increase in water mobility was 35% in both structures but greatly varied in each one, from +13% to +69% in the thalamus and from 0% to +113% in the putamen. In contrast to acute ischemia causing a reduction in diffusion mainly related to cytotoxic edema,^{26,27} the present diffusion changes are presumably secondary to the loss of structural barriers to water motion and to expansion of the extracellular space.^{15,16} Furthermore, diffusion anisotropy, which is usually low in these structures, was decreased in both nuclei, which further suggests a loss of the normal microstructural organization within the putamen and thalamus. Postmortem studies have demonstrated varying

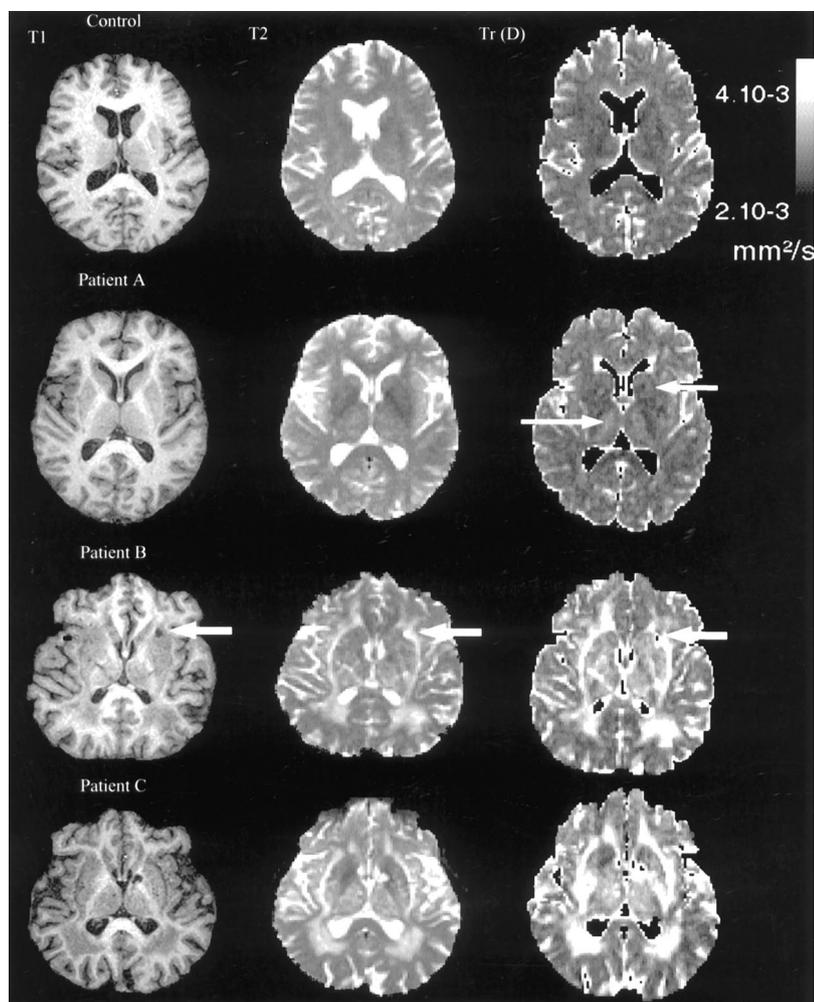


Figure 2. T1-WI, T2-WI, and map of Tr(D) in 1 control subject (first row) and 3 CADASIL patients. In an asymptomatic patient (patient A, second row), a significant increase in Tr(D) is observed within the thalamus (arrow) but not in the putamen (arrow). In a symptomatic patient (patient B, third row), a significant increase in diffusion was also observed in the putamen at a distance from a small infarct (arrows). In another symptomatic patient (patient C, fourth row), a diffuse increase in diffusion was observed in the thalamus and putamen in the absence of typical infarcts in both structures. Note, in this patient, the moderate but diffuse signal changes observed on T2-WI in these structures.

degrees of loss of structural components such as astrocytes, oligodendrocytes, neurons, or myelin within the cerebral tissue of CADASIL patients.^{28–30} Therefore, we hypothesize that the variable diffusion increase observed within the noninfarcted thalamus and putamen may also reflect various degrees of ultrastructural tissue changes.

In the putamen, the increase in diffusion was maximal in the presence of associated lacunar infarcts. This suggests that the microstructural alterations underlying the diffusion changes and the lacunar lesions in the putamen might share some common pathophysiological features. One possibility is that the diffusion changes in the putamen correspond to different degrees of tissue ischemic injury up to cavitation. Lammie et al³¹ previously observed a selective but variable neuronal loss and demyelination (termed “incomplete lacunar infarcts”) in the basal ganglia, which were associated with multiple small deep infarcts and severe arteriolosclerosis. Identical lesions have been observed in the cerebral tissue of 1 patient with *Notch3* gene mutation (M.M. Ruchoux, MD, PhD, personal data). The vessel alterations in CADASIL are widespread and not restricted to the infarcted areas.^{28,32} These vascular lesions are presumably responsible for “chronic ischemia” in the subcortical areas, as supported by previous reports of widespread reduction in cerebral blood flow³³ and increase in oxygen extraction³⁴ at this anatomic level. In animal models of chronic hypoperfusion, various degrees of

tissue damage have been reported, depending on both the duration and amplitude of the blood flow reduction.^{35–37} Underlying histological changes, such as the disappearance of apical dendrites, neuronal loss, demyelination, or gliosis,^{36,37} would likely modify water mobility within the cerebral tissue. Alternatively, the microstructural changes underlying the diffusion increase in the putamen may be related to an increased number of very small, dilated perivascular Virchow-Robin spaces (type III lacunes³⁸). An unusually high number of these lesions (diameter <200 μm) have been observed by Ruchoux et al³² within the putamen of 1 CADASIL patient. Because of the limited spatial resolution of our MRI technique, we were unable to detect such lesions. Furthermore, punctiform T2 signal abnormalities of diameter <2 mm, which mainly correspond to small dilated Virchow-Robin spaces,²⁵ were not excluded from our regions of interest.

Our data from the thalamus suggest that additional processes might underlie the diffusion increase. It is noteworthy that the thalamic diffusion changes appear mostly diffuse, arguing against the putative role of “microscopic” small infarcts. In 5 of our patients, the Tr(D) map shows a greater increase in diffusion in the thalamus ipsilateral to a unilateral infarct within the anterior limb of the internal capsule. In 3 of them, a linearly shaped diffusion increase, with parallel loss of anisotropy, was even clearly visible between the infarction

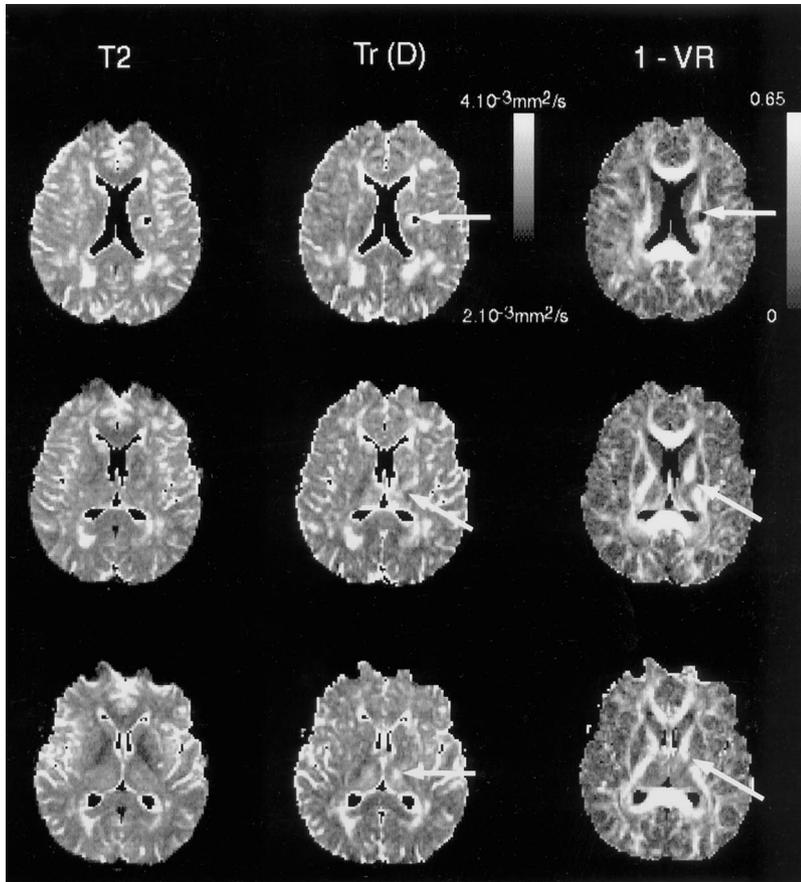


Figure 3. T2-WI with map of Tr(D) and anisotropy (1 - VR map is presented to provide a white on black appearance) in 1 CADASIL patient with a lacunar infarct in the anterior limb of the internal capsule (arrows, first row). Between the infarct and the thalamus, a linearly shaped increased diffusion and loss of anisotropy is observed (arrows, second row). In the thalamus, which was apparently normal on T2-WI, the increase in diffusion is more severe on the side ipsilateral to the capsular infarct (horizontal arrow).

and the thalamus. Such findings suggest that retrograde and/or anterograde degeneration of axonal bundles from the WM lesion into the thalamus may underlie the thalamic diffusion changes. Microstructural thalamic tissue alterations secondary to remote cerebral ischemic lesions have been extensively reported.^{39–41} In experimental models of middle cerebral artery occlusion and in human studies, a decrease in metabolic activity⁴² followed by a progressive neuronal loss and gliosis with secondary shrinkage and atrophy of the thalamus has been mainly attributed to retrograde degeneration of thalamocortical pathways.^{39,42–44} One main result of this study is the significant correlation found in CADASIL patients between the asymmetry indices of diffusion in the thalamus and those measured in the centrum semiovale. Furthermore, we found a significant correlation between the diffusion increase in the thalamus and that measured in the remote regions of WM, which suggests that the degree of the underlying tissue alterations are actually related. Taken together, these data strongly support the hypothesis of secondary thalamic degeneration in CADASIL.

Interestingly, all subjects, including 2 asymptomatic carriers of the mutated gene, presented with an increased diffusion in the thalamus. In addition, significant bilateral diffusion changes were found in the thalamus of 2 asymptomatic subjects who presented with only punctate T2 hyperintensities in the WM, suggesting that even isolated axonal rarefaction within WM tracts may alter the tissue microstructure of the thalamus. Thus, our data support the hypothesis that WM degeneration in CADASIL has early and important conse-

quences for the microstructure of the connected neuronal network and that the thalamus, a major relay for numerous myelinated fibers, might be particularly sensitive to the WM lesions in CADASIL.

The diffusion increase within the noninfarcted thalamus, but not that observed in the putamen, was correlated with the MMSE score in our patients. This finding, together with the previously reported correlation between diffusion changes in the WM and the MMSE score,¹⁶ suggests that damage of thalamocortical pathways passing through the hemispheric WM has a crucial role in the clinical status of CADASIL. In this regard, secondary degeneration processes, such as those described above, might contribute to the progressive decline of functional and cognitive capabilities in CADASIL.¹⁹ Finally, further elucidation of these degenerative mechanisms might aid in understanding the pathophysiology of vascular dementia and provide potential targets for future therapeutic interventions,^{45,46} thus highlighting the importance of DTI studies in CADASIL and in other types of vascular dementia.

Acknowledgments

The application of diffusion imaging in CADASIL was supported by a grant from Assistance Publique des Hôpitaux de Paris (PHRC96-AOM96084). Genetic studies were performed by Prof E. Tournier-Lasserre and Dr A. Joutel at INSERM U25. We thank Prof M.M. Ruchoux for her interesting comments on this work. We are grateful to all patients and their families who participated in this study.

References

- Joutel A, Corpechot C, Ducros A, Vahedi K, Chabriat H, Mouton P, Alamowitch S, Domenga V, Cecillion M, Marechal E, Maciazek J,

- Vayssiere C, Cruaud C, Cabanis EA, Ruchoux MM, Weissenbach J, Bach JF, Bousser MG, Tournier-Lasserre E. Notch3 mutations in CADASIL, a hereditary adult-onset condition causing stroke and dementia. *Nature*. 1996;383:707-710.
2. Chabriat H, Joutel A, Vahedi K, Iba-Zizen MT, Tournier-Lasserre E, Bousser MG. CADASIL: cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Rev Neurol (Paris)*. 1997; 153:376-385.
 3. Chabriat H, Vahedi K, Iba-Zizen MT, Joutel A, Nibbio A, Nagy TG, Krebs MO, Julien J, Dubois B, Ducrocq X, et al. Clinical spectrum of CADASIL: a study of 7 families: cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Lancet*. 1995; 346:934-939.
 4. Dichgans M, Mayer M, Uttner I, Bruning R, Muller-Hocker J, Rungger G, Ebke M, Klockgether T, Gasser T. The phenotypic spectrum of CADASIL: clinical findings in 102 cases. *Ann Neurol*. 1998;44:731-739.
 5. Chabriat H, Levy C, Taillia H, Iba-Zizen MT, Vahedi K, Joutel A, Tournier-Lasserre E, Bousser MG. Patterns of MRI lesions in CADASIL. *Neurology*. 1998;51:452-457.
 6. Yousry TA, Seelos K, Mayer M, Bruning R, Uttner I, Dichgans M, Mammi S, Straube A, Mai N, Filippi M. Characteristic MR lesion pattern and correlation of T1 and T2 lesion volume with neurologic and neuropsychological findings in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL). *AJNR Am J Neuroradiol*. 1999;20:91-100.
 7. Le Bihan D, Breton E, Lallemand D, Grenier P, Cabanis E, Laval-Jeantet M. MR imaging of intravoxel incoherent motions: application to diffusion and perfusion in neurologic disorders. *Radiology*. 1986;161:401-407.
 8. Tanner JE. Self diffusion of water in frog muscle. *Biophys J*. 1979;28: 107-116.
 9. Chenevert TL, Brunberg JA, Pipe JG. Anisotropic diffusion in human white matter: demonstration with MR techniques in vivo. *Radiology*. 1990;177:401-405.
 10. Henkerman R, Stanisz G, Kim J, Bronskill M. Anisotropy of NMR properties of tissues. *Magn Reson Med*. 1994;32:592-601.
 11. Pierpaoli C, Jezzard P, Basser PJ, Barnett A, Di Chiro G. Diffusion tensor MR imaging of the human brain. *Radiology*. 1996;201:637-648.
 12. Basser P, Mattiello J, Le Bihan D. Estimation of the effective self-diffusion-tensor from the NMR spin echo. *J Magn Reson*. 1994;103:247-254.
 13. Pierpaoli C, Basser PJ. Toward a quantitative assessment of diffusion anisotropy. *Magn Reson Med*. 1996;36:893-906.
 14. Huppi PS, Maier SE, Peled S, Zientara GP, Barnes PD, Jolesz FA, Volpe JJ. Microstructural development of human newborn cerebral white matter assessed in vivo by diffusion tensor magnetic resonance imaging. *Pediatr Res*. 1998;44:584-590.
 15. Jones DK, Lythgoe D, Horsfield MA, Simmons A, Williams SC, Markus HS. Characterization of white matter damage in ischemic leukoaraiosis with diffusion tensor MRI. *Stroke*. 1999;30:393-397.
 16. Chabriat H, Pappata S, Poupon C, Clark CA, Vahedi K, Poupon F, Mangin JF, Pachot-Clouard M, Jobert A, Le Bihan D, Bousser MG. Clinical severity in CADASIL related to ultrastructural damage in white matter: in vivo study with diffusion tensor MRI. *Stroke*. 1999;30:2637-2643.
 17. Baron JC, Levasseur M, Mazoyer B, Legault-Demare F, Mauguier F, Pappata S, Jedynak P, Derome P, Cambier J, Tran-Dinh S, et al. Thalamo-cortical diaschisis: positron emission tomography in humans. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1992;55:935-942.
 18. Chabriat H, Bousser M. Pure vascular dementia. In: Leys D, Pasquier F, Scheltens P, eds. *Stroke and Alzheimer's Disease*. The Hague, Netherlands: Holland Academic Graphics; 1999:28-43.
 19. Hedera P, Friedland RP. Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy: study of two American families with predominant dementia. *J Neurol Sci*. 1997;146:27-33.
 20. MacKenzie DM, Copp P, Shaw RJ, Goodwin GM. Brief cognitive screening of the elderly: a comparison of the Mini-Mental State Examination (MMSE), Abbreviated Mental Test (AMT) and Mental Status Questionnaire (MSQ). *Psychol Med*. 1996;26:427-430.
 21. Cockrell JR, Folstein MF. Mini-Mental State Examination (MMSE). *Psychopharmacol Bull*. 1988;24:689-692.
 22. de Haan R, Limburg M, Bossuyt P, van der Meulen J, Aaronson N. The clinical meaning of Rankin "handicap" grades after stroke. *Stroke*. 1995;26:2027-2030.
 23. Joutel A, Vahedi K, Corpechot C, Troesch A, Chabriat H, Vayssiere C, Cruaud C, Maciazek J, Weissenbach J, Bousser MG, Bach JF, Tournier-Lasserre E. Strong clustering and stereotyped nature of Notch3 mutations in CADASIL patients. *Lancet*. 1997;350:1511-1515.
 24. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Third Edition (DSM-III)*. Washington, DC: American Psychiatric Association; 1987.
 25. Bokura H, Kobayashi S, Yamaguchi S. Distinguishing silent lacunar infarction from enlarged Virchow-Robin spaces: a magnetic resonance imaging and pathological study. *J Neurol*. 1998;245:116-122.
 26. Moseley ME, Mintorovitch J, Cohen Y, Asgari HS, Derugin N, Norman D, Kucharczyk J. Early detection of ischemic injury: comparison of spectroscopy, diffusion-, T2-, and magnetic susceptibility-weighted MRI in cats. *Acta Neurochir Suppl*. 1990;51:207-209.
 27. Hossmann KA, Hoehn-Berlage M. Diffusion and perfusion MR imaging of cerebral ischemia. *Cerebrovasc Brain Metab Rev*. 1995;7:187-217.
 28. Ruchoux MM, Guerouaou D, Vandenhaute B, Pruvot JP, Vermersch P, Leys D. Systemic vascular smooth muscle cell impairment in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1995;89:500-512.
 29. Baudrimont M, Dubas F, Joutel A, Tournier-Lasserre E, Bousser MG. Autosomal dominant leukoencephalopathy and subcortical ischemic strokes: a clinicopathological study. *Stroke*. 1993;24:122-125.
 30. Davous P, Fallet-Bianco C. Démence sous-corticale familiale avec leucoencéphalopathie artériopathique: observation clinicopathologique. *Rev Neurol (Paris)*. 1991;5:376-384.
 31. Lammie G, Brannan F, Wardlaw J. Incomplete lacunar infarction (type 1B lacunes). *Acta Neuropathol (Berl)*. 1998;96:163-171.
 32. Ruchoux MM, Maurage CA. CADASIL: cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1997;56:947-964.
 33. Chabriat H, Pappata S, Ostergaard L, Clark CA, Pachot-Clouard M, Vahedi K, Jobert A, Le Bihan D, Bousser MG. Cerebral hemodynamics in CADASIL before and after acetazolamide challenge assessed with MRI bolus tracking. *Stroke*. 2000;31:1904-1912.
 34. Chabriat H, Bousser MG, Pappata S. Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy: a positron emission tomography study in two affected family members. *Stroke*. 1995;26:1729-1730.
 35. Sekhon L, Morgan M, Spence I, Weber N. Chronic cerebral hypoperfusion: pathological and behavioural consequences. *Neurosurgery*. 1997; 40:548-556.
 36. Kudo T, Takeda M, Tanimukai S, Nishimura T. Neuropathologic changes in the gerbil brain after chronic hypoperfusion. *Stroke*. 1993;24:259-264; comment 265.
 37. Kurumatani T, Kudo T, Ikura Y, Takeda M. White matter changes in the gerbil brain under chronic cerebral hypoperfusion. *Stroke*. 1998;29:1058-1062.
 38. Poirier J, Derouesné C. Cerebral lacunae: a proposed new classification. *Clin Neuropathol*. 1984;3:266. Letter.
 39. Ogawa T, Yoshida Y, Okudera T, Noguchi K, Kado H, Uemura K. Secondary thalamic degeneration after cerebral infarction in the middle cerebral artery distribution: evaluation with MR imaging. *Radiology*. 1997;204:255-262.
 40. Tamura A, Tahira Y, Nagashima H, Kirino T, Gotoh O, Hojo S, Sano K. Thalamic atrophy following infarction in the territory of the middle cerebral artery. *Stroke*. 1991;22:615-618.
 41. Nordberg C, Johansson BB. Secondary thalamic lesions after ligation of the middle cerebral artery: an ultrastructural study. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1996;91:61-66.
 42. Watanabe H, Kumon Y, Ohta S, Sakaki S, Matsuda S, Sakanaka M. Changes in protein synthesis and calcium homeostasis in the thalamus of spontaneously hypertensive rats with focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1998;18:686-696.
 43. Fujie W, Kirino T, Tomukai N, Iwasawa T, Tamura A. Progressive shrinkage of the thalamus following middle cerebral artery occlusion in rats. *Stroke*. 1990;21:1485-1488.
 44. Kataoka K, Hayakawa T, Yamada K, Mushiroy T, Kuroda R, Mogami H. Neuronal network disturbance after focal ischemia in rats. *Stroke*. 1989; 20:1226-1235.
 45. Novikova LN, Novikov LN, Kellerth JO. Survival effects of BDNF and NT-3 on axotomized rubrospinal neurons depend on the temporal pattern of neurotrophin administration. *Eur J Neurosci*. 2000;12:776-780.
 46. Weiss JH, Sensi SL. Ca²⁺-Zn²⁺ permeable AMPA or kainate receptors: possible key factors in selective neurodegeneration. *Trends Neurosci*. 2000;23:365-371.

Monitoring Disease Progression in CADASIL With Diffusion Magnetic Resonance Imaging

A Study With Whole Brain Histogram Analysis

Nicolas Molko, MD; Sabina Pappata, MD; Jean-François Mangin, PhD; Fabrice Poupon, PhD; Denis LeBihan, MD, PhD; Marie-Germaine Bousser, MD; Hugues Chabriat, MD, PhD

Background and Purpose—In cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL), a large increase in water diffusion has been found both inside and outside the cerebral lesions as detected on conventional MRI. The aim of the present study was to assess the sensitivity of diffusion tensor imaging for monitoring the progression of cerebral tissue damage during the course of CADASIL.

Methods—With the use of diffusion tensor imaging, whole brain trace of the diffusion tensor [Trace(D)] histograms were obtained in 22 CADASIL patients and 12 age-matched controls at baseline, in 14 patients after a mean delay of 21 months, and in 5 controls after a mean delay of 29 months. Parameters derived from these histograms (mean value, peak height, and peak location) were analyzed at baseline and during the follow-up.

Results—At baseline, all the histogram parameters differed between patients and controls and were found to be significantly correlated with both the Mini-Mental State Examination score and Rankin Scale score in the patient group. The follow-up study showed a decrease in the peak height associated with an increase in the mean value of whole brain Trace(D) histograms in the 14 CADASIL patients scanned twice. The diffusion changes appeared larger in the patients whose Rankin score increased during the study period.

Conclusions—These results suggest that the measurement of water diffusion over time is a sensitive marker for the progression of tissue damage in the brain. Thus, quantitative diffusion MRI can be used to monitor disease progression in CADASIL and possibly in other types of small-vessel brain disorders. (*Stroke*. 2002;33:2902-2908.)

Key Words: CADASIL ■ magnetic resonance imaging

Alzheimer's disease and vascular dementia are the 2 main causes of dementia in the elderly.¹ Alzheimer's disease has been extensively investigated with MRI to obtain sensitive and specific neuroimaging markers that might be useful for preventive therapeutic strategies.^{2,3} In regard to vascular dementia secondary to small-vessel diseases, little is known concerning the natural history of the cerebral tissue lesions. This is due to the heterogeneity of the underlying vessel pathology and the frequent combination of cerebrovascular lesions with Alzheimer's disease in those older than 70 years.

Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL) has been recently identified as a new cause of "pure" vascular dementia.⁴⁻⁷ CADASIL provides a unique opportunity to investigate the pathophysiology of dementia related to small-vessel diseases for the following reasons. First, the disease is genetically homogeneous and always caused by mutations of the Notch3 gene leading to the accumulation of the 210-kDa cleavage product of the protein within the vessel wall.⁸

Second, diagnosis with genetic testing is available long before the occurrence of dementia.⁹ Third, in contrast to the specific vascular alterations, the cerebral tissue lesions in CADASIL are nonspecific and observed in various types of cerebral angiopathies.^{10,11}

One of the main characteristics of CADASIL is the presence of nonspecific white matter lesions, often termed *leukoaraiosis*, which are easily detected by T2-weighted MRI.^{12,13} As reported for other small-vessel diseases, the extent of these MRI signal abnormalities cannot predict the clinical severity.¹²⁻¹⁴ Diffusion tensor imaging is an MRI technique based on the measurement of water diffusion, which is due to the random motion of water molecules resulting from thermal energy.¹⁵⁻¹⁷ During these diffusion-driven displacements, water molecules interact with many tissue components such as cell membranes, nerve fibers, and macromolecules, which provides unique clues to the tissue structure at a microscopic level. The exquisite sensitivity of diffusion tensor imaging to tissue microstructure has been

Received February 8, 2002; final revision received June 25, 2002; accepted July 8, 2002.

From INSERM U562 (N.M., S.P.) and UNAF (J-F.M., F.P., D.L., M-G.B., H.C.), IFR 49, SHFJ-CEA, Orsay, and Department of Neurology, CHU Lariboisière (H.C.), Paris, France.

Reprint requests to Pr Hugues Chabriat, Service de Neurologie, CHU Lariboisière, 2 rue Ambroise Paré, 75010 Paris, France. E-mail hugues.chabriat@lrb.ap-hop-paris.fr

© 2002 American Heart Association, Inc.

Stroke is available at <http://www.strokeaha.org>

DOI: 10.1161/01.STR.0000041681.25514.22

TABLE 1. Main Characteristics of CADASIL Patients Included in the Longitudinal Study at Baseline and Over the Follow-Up

Age	M/F	Mutation (exon/position)	RankinScore			Interval Between MRI 1 and 2, mo	Interval Between MRI 2 and 3, mo	New Clinical Events (strokes)
			At MRI 1	At MRI 2	At MRI 3			
58	M	4/475	1	1	2	23	14	1 transient and 1 completed
64	M	3/406	1	1	1	24	13	...
66	F	3/406	3	3	4	24	14	...
66	M	23/1261	5	5	...	27
63	M	4/622	1	2	...	44
43	M	4/622	1	1	...	23
58	M	4/622	1	1	...	29
67	F	23/3859	5	5	...	25
54	F	18/3031	1	1	1	20	16	...
65	M	4/del 419-439	3	3	...	20	...	1 transient
48	M	4/499	2	2	3	12	14	...
60	M	3/406	1	2	2	12	14	1 completed
48	F	4/622	1	1	1	12	13	1 transient
44	M	4/631	1	1	...	18

used to reveal subtle tissue modifications in various diseases such as multiple sclerosis,¹⁸ Alzheimer's disease,¹⁹ schizophrenia,²⁰ and dyslexia.²¹ In CADASIL, a large increase in water diffusion has been reported within the white matter²² and basal ganglia²³ both inside and outside the cerebral lesions as detected with conventional MRI. This increase in molecular water displacement is presumably related to the enlargement of the extracellular space caused by demyelination and axon loss and is strongly correlated with cognitive and motor disabilities.

The aim of the present cross-sectional and longitudinal study was to determine differences in diffusion at baseline between patients and controls and to assess the sensitivity of diffusion tensor imaging for monitoring the progression of cerebral tissue damage during the course of CADASIL.

Subjects and Methods

Subjects

Twenty-two CADASIL patients from 10 unrelated families and with deleterious mutations of the Notch3 gene were selected (mean age, 54 ± 11 years). All subjects underwent a first MRI study (MRI 1). Of these patients, 14 patients (mean age, 57 ± 8 years) were included in the follow-up study and evaluated by a second MRI (MRI 2) within 1 or 2 years (mean delay from MRI 1 to MRI 2 = 21 ± 6 months) (Table 1). Seven patients (mean age, 56 ± 7 years) agreed to undergo a third MRI study (MRI 3) (mean delay from MRI 2 to MRI 3 = 14 ± 1 months).

Twelve healthy subjects (mean age, 51 ± 11 years) were selected on the basis of the following criteria: (1) no familial vascular disorder; (2) no history of neurological disorder; (3) normal neurological and general examinations; (4) Mini-Mental State Examination (MMSE) score >28 ; and (5) normal T1- and T2-weighted MRI. Five subjects (mean age, 44 ± 14 years) had a second MRI study within a period of approximately 2 years (mean delay = 29 ± 6 months).

All subjects had a detailed standard neurological examination at the time of each MRI study. The global cognitive status was evaluated with the MMSE^{24,25} and the *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition (DSM-IV)* criteria²⁶ for diagnosis of dementia. The degree of physical disability was evalu-

ated with the Rankin Scale score (5-item scale from 1 [no significant disability] to 5 [severe disability]).^{27,28}

Informed consent was obtained from each participant. An independent institutional ethical committee approved the protocol used in this study (CCPPRB Kremlin-Bicêtre 9724).

Magnetic Resonance Imaging

T1- and diffusion-weighted images were acquired with the use of a 1.5-T MRI system (Signa General Electric Medical Systems) equipped with gradient hardware allowing up to 22 mT/m, which was regularly monitored for quality assurance. A standard quadrature head coil was used for radiofrequency transmission and reception of the MR signal. Reduction of head motion was achieved with the use of standard foam padding as provided by the manufacturer.

T1-weighted images were acquired first in the axial plane with the use of a spoiled gradient echo sequence (124 slices 1.2 mm thick, repetition time = 10.3 ms, echo time = 2.1 ms, inversion time = 600 ms) and 24×24 -cm field of view (resolution of $0.937 \times 0.937 \times 1.2$ mm). Acquisition time was 7 minutes 38 seconds.

Diffusion-weighted images were acquired with echo-planar imaging in the axial plane at 26 slice locations, 5 mm thick. For each slice location, a T2-weighted image with no diffusion sensitization (b_0), followed by 11 b values (increasing linearly to a maximum value of 1000 s/mm²), was obtained in 6 noncolinear directions. The total acquisition time for diffusion tensor imaging was 8 minutes 12 seconds.

Image Postprocessing

Before the tensor estimation was performed, an unwrapping algorithm was applied to the diffusion-weighted data set to correct for distortions related to eddy currents induced by the large diffusion-sensitizing gradients.²⁹ After this correction, the diffusion tensor parameters were calculated on a pixel-by-pixel basis, and the trace of the diffusion tensor, Trace(D), was calculated as described by Bassler et al.³⁰

In all subjects, a single examiner, blind to the patient's clinical status, delineated a mask of the cerebral tissue on each slice of Trace(D) images using semiautomated software dedicated to segmentation. This software was based on a regional growing algorithm and local thresholding. The total volume of cerebral tissue (including all visible lesions) was obtained after exclusion of the surrounding extracerebral tissue and cerebrospinal fluid. The mask used to determine the whole brain volume was then checked visually for

accuracy on both b_0 and Trace(D) images, and, when necessary, corrections were made with computer-aided drawing tools. We then computed the histogram of Trace(D) for each subject using a bin width equal to $0.08 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ for the axis and a fixed upper limit of $8 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$. To correct for cross-subject differences in brain volume, each histogram was normalized to the total number of voxels corresponding to the brain tissue. For each histogram, the following parameters were derived: the peak height, ie, the fraction of pixels at the most common value, and the peak location, ie, the most common value and the mean value. The time required to obtain whole brain Trace(D) histogram varied from 20 to 30 minutes for each patient. The reliability of the segmentation procedure was evaluated in 7 randomly selected subjects by 2 raters. The mean interrater and intrarater coefficient of variation of the number of voxels selected by this procedure was <1% (0.4% and 0.9%, respectively). The interrater and intrarater variability values calculated for the histogram parameters were 0.5% and 0.4% for the mean value, 0.8% and 0.7% for the peak height, and 0.03% and 0.03% for the peak location, respectively.

Statistical Analysis

The diffusion parameters obtained at MRI 1 were first compared among patients ($n=22$) and controls ($n=12$) with a 2-tailed Student's t test. Afterward, we analyzed the diffusion parameters obtained in the group of subjects included in the follow-up study (patients, $n=14$; controls, $n=5$) using a 2-way ANOVA with 2 fixed factors (group: patients and controls; time: MRI 1 and MRI 2) assuming repeated measurements and a possible time-group interaction. For post hoc analysis, a t test with Bonferroni correction was applied to compare group means. In the subgroup of patients with 3 repeated examinations, the variations of diffusion parameters between each MRI were analyzed with a paired t test. The effects of diffusion parameters at baseline, the interexamination delay, and age were tested by multiple regression analysis. The Spearman rank test was used to assess correlation between diffusion parameters and the clinical scores, and the Friedman test was used to analyze changes in clinical scores between the 3 MRI studies.

Values of $P < 0.05$ were considered statistically significant. The statistical analysis was performed with the use of Statview software (Abacus Concepts Inc).

Results

Clinical Data

Twenty patients had the typical clinical manifestations of CADASIL, and 2 were asymptomatic. Eight had a history of recurrent attacks of migraine with aura; 14 had previous transient ischemic attacks and/or completed strokes, with a permanent focal deficit in 8 patients. Six were demented, and 7 had a Rankin Scale score >2 .

Five new ischemic events (3 transient and 2 completed) occurred in 4 patients during the follow-up (Table 1).

The average MMSE and Rankin scores obtained at the first scan in the whole group (22 patients) were 25.3 ± 7.8 and 1.95 ± 1.35 , respectively. For the group of patients ($n=14$) who had both first and second MRI scans, no significant change of the average MMSE or Rankin scores was observed between the 2 examinations. For the subgroup of patients ($n=7$) who had first, second, and third MRI scans, we also did not observe any significant change between the first and second scans. In this subgroup, the Rankin score was significantly increased at the time of the third scan (median values: 1 [range, 1 to 3] versus 2 [range, 1 to 4]; $P=0.03$), while the MMSE score remained unchanged.

MRI Study

In controls, the values of Trace(D) fell within a small range. The averaged whole brain Trace(D) histogram was characterized by a narrow peak (Figure 1A), and the coefficients of variation of histogram parameters were low (2.6%, 5.0%, and 3.6% for the mean, peak height, and location values, respectively).

In CADASIL patients, the average whole brain Trace(D) histogram was also unimodal but had wider distribution (Figure 1A). The peak height was significantly lower (7.3% versus 11.1%; $P < 0.0001$) and shifted toward higher diffusion values (2.43 versus $2.22 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$). The mean value of Trace(D) measured over the whole brain was significantly higher in patients than in controls (2.82 ± 0.27 versus $2.43 \pm 0.06 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; $P < 0.0001$). ANOVA for subjects included in the follow-up study confirmed the difference between patients and controls for the mean value, peak height, and location of Trace(D) histograms (Table 2) and showed a significant time effect. An increase in the mean Trace(D) value and a decrease in the peak height of Trace(D) histograms were observed in patients, while no change was found in the control group (Table 2 and Figure 1B).

In the subgroup of 7 patients who underwent a third MRI, significant changes in the histogram parameters between MRI 1 and MRI 2 were also observed (mean value, 2.74 ± 0.18 versus $2.80 \pm 0.2 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ [$P=0.04$]; peak height, 0.80 ± 0.20 versus 0.73 ± 0.20 [$P=0.01$]). Moreover, a further increase in the mean value and a decrease in the peak height of Trace(D) histograms were found between MRI 2 and MRI 3 (MRI 3, mean value, $2.97 \pm 0.29 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$ [$P=0.001$]; peak height, 0.65 ± 0.02 [$P=0.006$]) (Figure 1C).

Multiple regression analysis showed that the degree of changes (absolute values) in the mean value of Trace(D) found in patients between MRI 1 and MRI 2 was strongly correlated with the mean value of Trace (D) at baseline ($n=14$ patients; $r=0.63$, $P=0.01$). This effect was independent of age and interscan delay. The individual mean values of Trace(D) histograms are presented in Figure 2. The larger variations of this parameter are observed in patients with high diffusion values measured at baseline. Visual analysis of Trace(D) maps in a CADASIL patient illustrates these results (Figure 3). The increase in diffusion over time in this patient does not appear restricted to a focal area and predominates within the already affected regions.

Clinical Correlates

In the whole group of patients ($n=22$), the MMSE scores at the time of the first scan were positively correlated with the peak height and negatively correlated with both the mean value and the peak location of Trace(D) histograms. Conversely, the Rankin scores were negatively correlated with the peak height and positively correlated with both the mean value and peak location of Trace(D) histograms (Table 3 and Figure 4). In the subgroup of 14 patients, these correlations remained significant at both the first and second scan times.

On an individual level, the Rankin score increased in 5 patients (+1 point in each patient) during the interval of the MRI studies (Table 1). In these patients, the increase in the mean value of Trace(D) measured between the first and the last scan

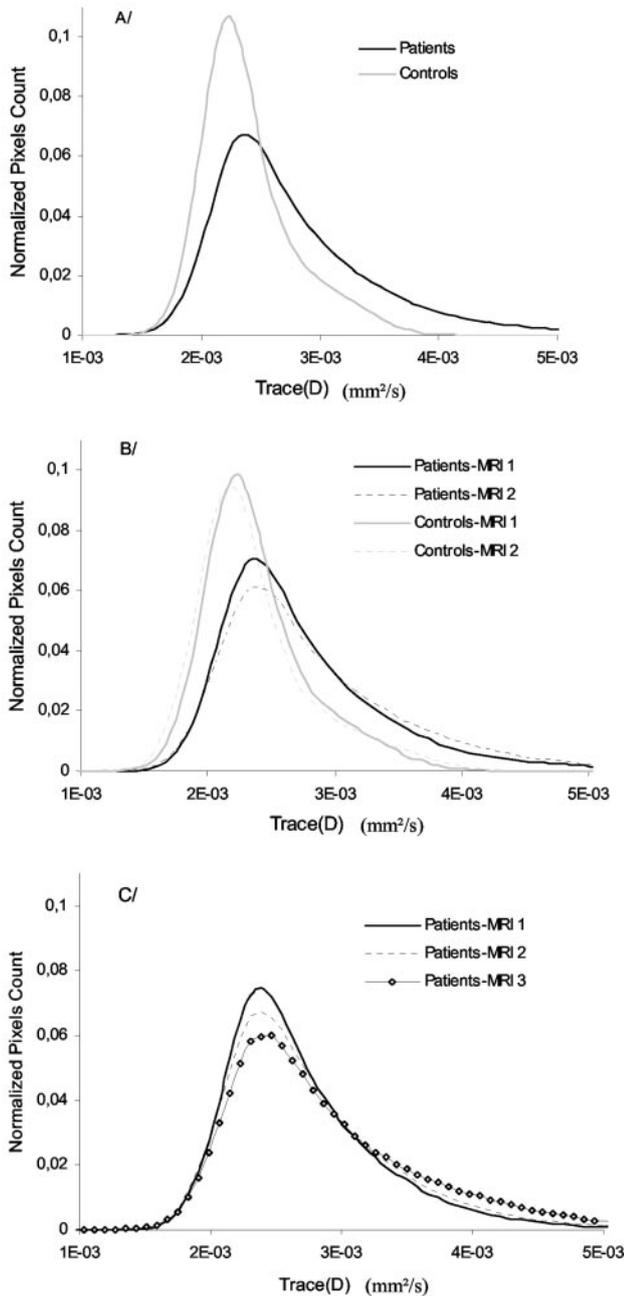


Figure 1. Average Trace(D) histograms in controls (n=12) and patients (n=22) at baseline (A). Compared with controls, the peak of the average histogram in patients shows a shift toward higher diffusion value associated with the lowering of its height. Average Trace(D) histograms were obtained in 14 patients investigated twice (B) and in the subgroup of 7 patients investigated 3 times (C). A significant increase in the mean value associated with a decrease in the peak height was observed between MRI 1 and MRI 2 in patients (mean delay=21±6 months). In the subgroup of patients investigated 3 times, an increase in the mean value associated with a decrease in the peak height was observed both between MRI 1 and MRI 2 (mean delay=18±5 months) and between MRI 2 and MRI 3 (mean delay=14±1 months).

was significantly higher than that observed in the patients whose Rankin score was unchanged (0.304 ± 0.012 versus $0.107 \pm 0.004 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$; $P=0.002$) in the absence of significant difference for the interscan delay (34 ± 8 versus 27 ± 8 months; $P=0.1$).

TABLE 2. Histogram Parameters in Patients and Controls at Baseline and During the Follow-Up Study

	Patients	Controls
Baseline	n=22	n=12
Mean value ($10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$)	$2.82 \pm 0.27^*$	2.44 ± 0.06
Peak height, %	$7.3 \pm 2.1^*$	11.1 ± 0.9
Peak location ($10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$)	$2.43 \pm 0.15^*$	2.22 ± 0.08
Follow-up	n=14	n=5
Mean value ($10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$)		
MRI 1	$2.80 \pm 0.25 \dagger$	2.44 ± 0.05
MRI 2	$2.91 \pm 0.06 \dagger \ddagger$	2.41 ± 0.09
Peak height, %		
MRI 1	$7.6 \pm 2.0 \dagger$	10.0 ± 1.4
MRI 2	$6.6 \pm 2.0 \dagger \ddagger$	9.9 ± 0.4
Peak location ($10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$)		
MRI 1	$2.43 \pm 0.15 \dagger$	2.23 ± 0.05
MRI 2	$2.47 \pm 0.19 \dagger$	2.17 ± 0.10

* $P < 0.0001$, patients vs controls.

† $P < 0.01$, patients vs controls.

‡ $P < 0.01$, MRI 1 vs MRI 2 (enduring Bonferroni correction).

Discussion

This is the first imaging study to quantitatively monitor the progression of cerebral tissue damage during the course of CADASIL with the use of whole brain Trace(D) histograms. Our results show that the measurement of water diffusion is a sensitive marker of the microstructural tissue loss occurring within the brain during the course of this disease. Previous diffusion tensor imaging studies in CADASIL were performed with the use of regions of interest that provide a local estimate of microscopic tissue damage within the brain. With this method, a significant increase in Trace(D) and a decrease in anisotropy were previously reported within both the abnormal and normal-appearing white matter, as observed on conventional MRI.²² Recently, early modifications of diffusion have been detected in the normal-appearing subcortical gray matter in CADASIL patients.²³ Together, these data indicate that the cerebral tissue damage in CADASIL is much more widespread than is evident after conventional MRI. We

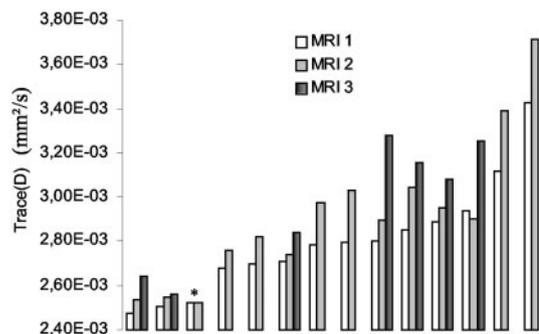


Figure 2. Individual mean values of Trace(D) histograms in patients. The data were classified in ascending order according to the mean value calculated at baseline. Note that the increase in the mean value of Trace(D) appears larger in patients with high diffusion values at baseline. In contrast, no change was detected in the only asymptomatic patient (star).

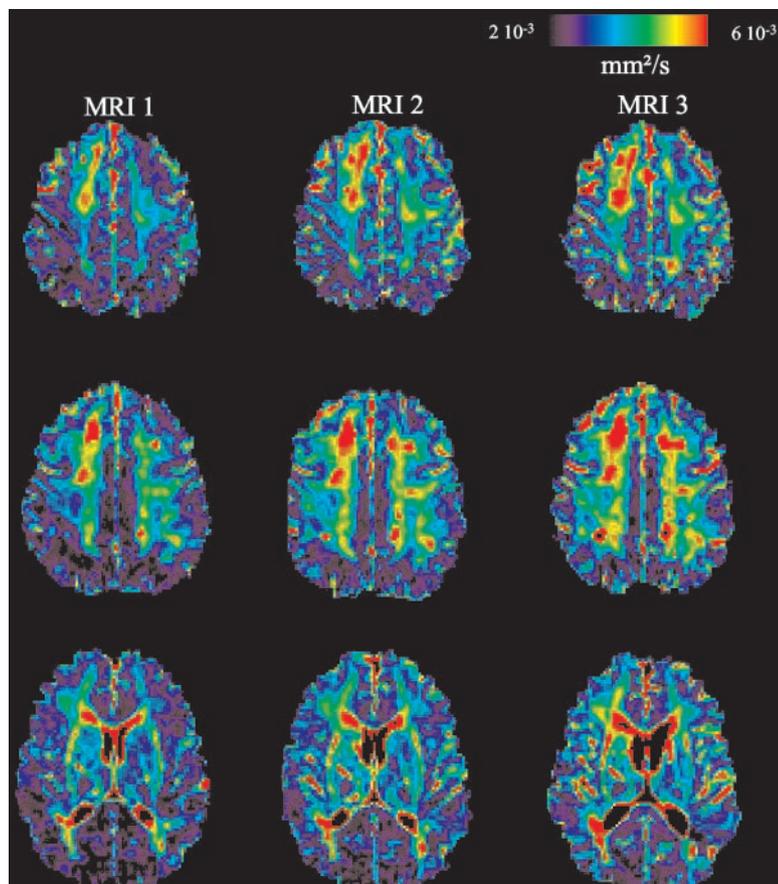


Figure 3. Diffusion images illustrating the diffusion increases in a CADASIL patient occurring over 3 years. These images show that the diffusion modifications observed are not restricted to a few voxels within a single region but are diffuse and mainly involve tissue that is already affected.

thought that the local measurement of diffusion was not relevant to monitor the progression of tissue damage in such a diffuse condition. Thus, to assess the overall burden of cerebral lesions, we selected a global approach with whole brain Trace(D) histogram analysis. This approach, already used in multiple sclerosis patients,³¹ combines the sensitivity of diffusion tensor imaging to assess both macroscopic and microscopic tissue damage with the ability to obtain a complete measurement of diffusion throughout all the voxels containing cerebral tissue. In contrast to techniques based on regions of interest, this approach cannot provide any information concerning the regional pattern of tissue changes. However, the whole brain histogram analysis is highly reproducible^{32,33} and provides easily comparable data for longitudinal studies without any image registration or subjective delineation of anatomic regions.

In healthy subjects, Trace(D) histograms are characterized by a unimodal distribution with a narrow peak, indicating that most of the diffusion values measured in the cerebral volume

are contained within a small range. In CADASIL patients, Trace(D) histograms are also characterized by a unimodal distribution. However, in contrast to controls, the peak height is reduced and shifted toward higher diffusion values with a significant increase in the mean value of Trace(D). Together, these changes indicate that diffusion is increased in most of the cerebral voxels in CADASIL patients. The main parameters derived from Trace(D) histograms were also highly

TABLE 3. Correlations Between the Parameters Derived From Trace(D) Histograms and the Clinical Scores in the Whole Group of Patients at Baseline (n=22)

	MMSE Score (<i>r</i>)	<i>P</i>	Rankin Score (<i>r</i>)	<i>P</i>
Mean value	-0.677	0.002	0.754	<0.001
Peak height	0.653	0.003	-0.533	<0.001
Peak location	-0.670	0.004	0.674	0.002

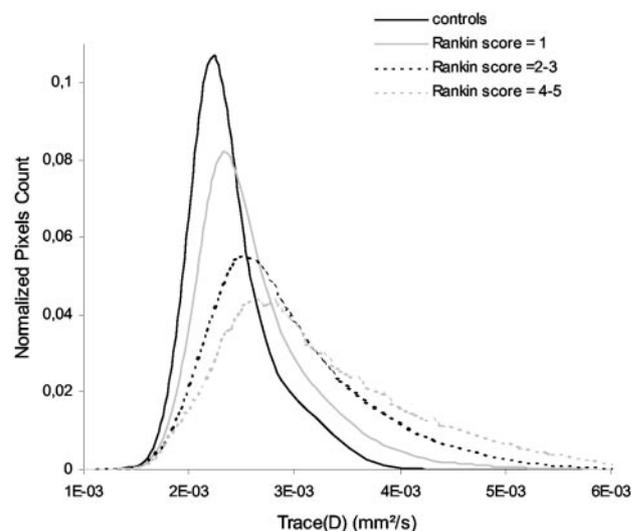


Figure 4. Averaged Trace(D) histograms in patients (n=22) at baseline according to Rankin score.

variable in our patients, which suggests different degrees of tissue changes in symptomatic patients, as previously observed with other MRI methods.³⁴ Finally, our data show that the main parameters derived from baseline Trace(D) histograms are strongly correlated with both the Rankin and MMSE scores in our patients. These results further support the idea that the clinical phenotype in CADASIL is closely related to a global measure of the amount and severity of microstructural tissue changes at the cerebral level.^{22,23} They also establish the clinical value of parameters derived from whole brain Trace(D) histograms in CADASIL.

During the follow-up study performed in 14 patients, significant modifications of Trace(D) histograms were observed after a mean delay of 21 months. The increase in the mean value and decrease in the peak height of Trace(D) histograms detected during this period indicate that the number of voxels with high diffusion values had increased in the patient group. These changes were detected in the absence of significant change of global clinical scales. These data suggest that global histogram analysis of diffusion tensor imaging is highly sensitive for detecting the disease progression in CADASIL. Interestingly, the data obtained in the subgroup of 7 patients who underwent 3 MRI exams show that diffusion further increased between MRI 2 and MRI 3, which suggests that significant modifications of Trace(D) histograms can be detected in a period as short as 14 months. Finally, at the end of the follow-up study, modifications of the Rankin score were noted in 5 patients whose increase in diffusion was greater than that measured in patients with a stable clinical status. Because of the limited size of our sample and the large variability of interscan intervals, this result should be interpreted with caution. Other studies are necessary to further investigate the relationships between the increase in diffusion over time and the clinical worsening in CADASIL.

These results provide new insights into the pathophysiology of CADASIL. It is noteworthy that diffusion changes in the cerebral tissue were detected in our series, even though only 2 new completed ischemic strokes occurred during the follow-up period. This suggests that the microstructural alterations underlying the diffusion changes can progress in the absence of acute ischemic events. In addition, these microstructural alterations appear widespread enough to be detected through a global analysis over the whole brain. The positive correlation between the baseline mean Trace(D) value and the degree of diffusion increase over time suggests that the amount of microstructural damage might influence the progression of tissue loss during the course of CADASIL. It is noteworthy that the only asymptomatic patient included in our follow-up study, who had a very low burden of lesions, was also the only person to have unchanged parameters of the Trace(D) histogram over the period of the study. Conversely, the visual examination of Trace(D) maps in symptomatic patients shows that the increase in diffusion during the course of the disease predominates within the affected cerebral areas. This might be related either to the growth of secondary degenerative processes occurring after the accumulation of ischemic lesions or to progressive tissue damage caused

directly by chronic ischemia.²³ Further investigations are necessary to settle this issue.

The present diffusion tensor imaging study shows that water diffusion progressively increases over time in the cerebral tissue during the course of CADASIL and that these diffusion changes precede the clinical worsening of CADASIL patients. To date, no therapeutic trial has been performed in CADASIL patients. Such a trial is particularly difficult to design because of the rarity of the disease, the variability of the symptoms, and the long course of the disease over several decades. The present study provides preliminary data suggesting that diffusion tensor imaging is a sensitive measure for monitoring tissue changes over a relatively short period of time and could thus be used in future therapeutic trials in CADASIL. Whether this approach is useful for monitoring disease progression in other types of small-artery disease requires further investigation.

Acknowledgments

The applications of diffusion imaging in CADASIL was supported by a grant from Assistance Publique des Hôpitaux de Paris (PHRC96-AOM96084). Genetic studies were performed by Professor E. Tournier-Lasserre and Dr A. Joutel at INSERM U25. We are grateful to all the patients and their families who participated in this study.

References

1. Desmond DW. Vascular dementia: a construct in evolution. *Cerebrovasc Brain Metab Rev.* 1996;8:296–325.
2. Fox NC, Crum WR, Schill RI, Stevens JM, Janssen JC, Rossor MN. Imaging of onset and progression of Alzheimer's disease with voxel-compression mapping of serial magnetic resonance images. *Lancet.* 2001;358:201–205.
3. Adalsteinsson E, Sullivan EV, Kleinmans N, Spielman DM, Pfefferbaum A. Longitudinal decline of the neuronal marker N-acetyl aspartate in Alzheimer's disease. *Lancet.* 2000;355:1696–1697.
4. Joutel A, Corpechot C, Ducros A, Vahedi K, Chabriat H, Mouton P, Alamowitch S, Domenga V, Cecillion M, Marechal E, Maciazek J, Vayssiere C, Cruaud C, Cabanis EA, Ruchoux MM, Weissenbach J, Bach JF, Bousser MG, Tournier-Lasserre E. Notch3 mutations in CADASIL, a hereditary adult-onset condition causing stroke and dementia. *Nature.* 1996;383:707–710.
5. Chabriat H, Vahedi K, Iba-Zizen MT, Joutel A, Nibbio A, Nagy TG, Krebs MO, Julien J, Dubois B, Ducrocq X, Levasseur M, Homeyer M, Mas JL, Lyon-Caen O, Tournier-Lasserre E, Bousser MG. Clinical spectrum of CADASIL: a study of 7 families: cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Lancet.* 1995;346:934–939.
6. Chabriat H, Bousser M. Pure vascular dementia. In: Leys D, Pasquier F, Scheltens P, eds. *Stroke and Alzheimer's Disease.* The Hague, Netherlands: Holland Academic Graphics; 1999:28–43.
7. Dichgans M, Mayer M, Uttner I, Bruning R, Muller-Hockner J, Rungger G, Ebke M, Klockgether T, Gasser T. The phenotypic spectrum of CADASIL: clinical findings in 102 cases. *Ann Neurol.* 1998;44:731–739.
8. Joutel A, Andreux F, Gaulis S, Domenga V, Cecillion M, Battail N, Piga N, Chapon F, Godfrain C, Tournier-Lasserre E. The ectodomain of the Notch3 receptor accumulates within the cerebrovasculature of CADASIL patients. *J Clin Invest.* 2000;105:597–605.
9. Joutel A, Vahedi K, Corpechot C, Troesch A, Chabriat H, Vayssiere C, Cruaud C, Maciazek J, Weissenbach J, Bousser MG, Bach JF, Tournier-Lasserre E. Strong clustering and stereotyped nature of Notch3 mutations in CADASIL patients. *Lancet.* 1997;350:1511–1515.
10. Baudrimont M, Dubas F, Joutel A, Tournier-Lasserre E, Bousser M. Autosomal dominant leukoencephalopathy and subcortical ischemic strokes: a clinicopathological study. *Stroke.* 1993;24:122–125.
11. Ruchoux MM, Maurage CA. CADASIL: cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *J Neuro-pathol Exp Neurol.* 1997;56:947–964.

12. Chabriat H, Levy C, Taillia H, Iba-Zizen MT, Vahedi K, Joutel A, Tournier-Lasserre E, Bousser MG. Patterns of MRI lesions in CADASIL. *Neurology*. 1998;51:452-457.
13. Yousry TA, Seelos K, Mayer M, Bruning R, Uttner I, Dichgans M, Mammi S, Straube A, Mai N, Filippi M. Characteristic MR lesion pattern and correlation of T1 and T2 lesion volume with neurologic and neuropsychological findings in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL). *AJNR Am J Neuroradiol*. 1999;20:91-100.
14. Dichgans M, Filippi M, Brüning R, Iannucci G, Berchtenbreiter C, Minicucci L, Uttner I, Crispin A, Ludwig H, Gasser T, Yousry T. Quantitative MRI in CADASIL. *Neurology*. 1999;52:1361-1367.
15. Le Bihan D, Breton E, Lallemand D, Grenier P, Cabanis E, Laval-Jeantet M. MR imaging of intravoxel incoherent motions: application to diffusion and perfusion in neurologic disorders. *Radiology*. 1986;161:401-407.
16. Le Bihan D, Mangin JF, Poupon C, Clark CA, Pappata S, Molko N, Chabriat H. Diffusion tensor imaging: concepts and applications. *J Magn Reson Imaging*. 2001;13:534-546.
17. Pierpaoli C, Jezzard P, Basser PJ, Barnett A, Di Chiro G. Diffusion tensor MR imaging of the human brain. *Radiology*. 1996;201:637-648.
18. Filippi M, Cercignani M, Inglese M, Horsfield MA, Comi G. Diffusion tensor magnetic resonance imaging in multiple sclerosis. *Neurology*. 2001;56:304-311.
19. Rose SE, Chen F, Chalk JB, Zelaya FO, Strugnell WE, Benson M, Semple J, Doddrell DM. Loss of connectivity in Alzheimer's disease: an evaluation of white matter tract integrity with colour coded MR diffusion tensor imaging. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2000;69:528-530.
20. Agartz I, Andersson JL, Skare S. Abnormal brain white matter in schizophrenia: a diffusion tensor imaging study. *Neuroreport*. 2001;12:2251-2254.
21. Klingberg T, Hedehus M, Temple E, Salz T, Gabrieli JD, Moseley ME, Poldrack RA. Microstructure of temporo-parietal white matter as a basis for reading ability: evidence from diffusion tensor magnetic resonance imaging. *Neuron*. 2000;25:493-500.
22. Chabriat H, Pappata S, Poupon C, Clark C, Vahedi K, Poupon F, Mangin J, Pachot-Clouard M, Jobert A, Le Bihan D, Bousser M. Clinical severity in CADASIL related to ultrastructural damage in white matter: in-vivo study with diffusion tensor MRI. *Stroke*. 1999;30:2637-2643.
23. Molko N, Pappata S, Mangin JF, Poupon C, Vahedi K, Jobert A, LeBihan D, Bousser MG, Chabriat H. Diffusion tensor imaging study of subcortical gray matter in CADASIL. *Stroke*. 2001;32:2049-2054.
24. MacKenzie DM, Copp P, Shaw RJ, Goodwin GM. Brief cognitive screening of the elderly: a comparison of the Mini-Mental State Examination (MMSE), Abbreviated Mental Test (AMT) and Mental Status Questionnaire (MSQ). *Psychol Med*. 1996;26:427-430.
25. Cockrell JR, Folstein MF. Mini-Mental State Examination (MMSE). *Psychopharmacol Bull*. 1988;24:689-692.
26. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Third Edition*. Washington, DC: American Psychiatric Association; 1987.
27. Rankin J. Cerebral vascular accidents in patients over the age of 60. *Scott Med J*. 1957;2:210-215.
28. De Haan R, Limburg M, Bossuyt P, Van der Meulen J, Aaronson N. The clinical meaning of Rankin "handicap" grades after stroke. *Stroke*. 1995;26:2027-2030.
29. Poupon C, Clark CA, Frouin V, Regis J, Bloch I, Le Bihan D, Mangin J. Regularization of diffusion-based direction maps for the tracking of brain white matter fascicles. *Neuroimage*. 2000;12:184-195.
30. Basser P, Mattiello J, Le Bihan D. Estimation of the effective self-diffusion-tensor from the NMR spin echo. *J Magn Reson*. 1994;103:247-254.
31. van Buchem MA, McGowan JC, Kolson DL, Polansky M, Grossman RI. Quantitative volumetric magnetization transfer analysis in multiple sclerosis: estimation of macroscopic and microscopic disease burden. *Magn Reson Med*. 1996;36:632-636.
32. Rovaris M, Filippi M, Calori G, Rodegher M, Campi A, Colombo B, Comi G. Intra-observer reproducibility in measuring new putative MR markers of demyelination and axonal loss in multiple sclerosis: a comparison with conventional T2-weighted images. *J Neurol*. 1997;244:266-270.
33. Sormani MP, Iannucci G, Rocca MA, Mastronardo G, Cercignani M, Minicucci L, Filippi M. Reproducibility of magnetization transfer ratio histogram-derived measures of the brain in healthy volunteers. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2000;21:133-136.
34. Iannucci G, Dichgans M, Rovaris M, Bruning R, Gasser T, Giacomotti L, Yousry TA, Filippi M. Correlations between clinical findings and magnetization transfer imaging metrics of tissue damage in individuals with cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Stroke*. 2001;32:643-648.

Visualizing the Neural Bases of a Disconnection Syndrome with Diffusion Tensor Imaging

N. Molko¹, L. Cohen^{1,2}, J. F. Mangin³, F. Chochon²,
S. Lehericy², D. Le Bihan³, and S. Dehaene¹

Abstract

■ Disconnection syndromes are often conceptualized exclusively within cognitive box-and-arrow diagrams unrelated to brain anatomy. In a patient with alexia in his left visual field resulting from a posterior callosal lesion, we illustrate how diffusion tensor imaging can reveal the anatomical bases of a disconnection syndrome by tracking the degeneration of neural pathways and relating it to impaired fMRI activations and behavior. Compared to controls, an abnormal pattern of brain activity was observed in the patient during word reading, with a lack of activation of the left visual word form area (VWFA) by left-

hemifield words. Statistical analyses of diffusion images revealed a damaged fiber tract linking the left ventral occipito-temporal region to its right homolog across the lesioned area of corpus callosum and stopping close to the areas found active in fMRI. The behavioral disconnection syndrome could, thus, be related functionally to abnormal fMRI activations and anatomically to the absence of a connection between those activations. The present approach, based on the “negative tracking” of degenerated bundles, provides new perspectives on the understanding of human brain connections and disconnections. ■

INTRODUCTION

The cognitive impairments that can be observed in brain-lesioned patients are sometimes better explained by a disconnection between two cerebral processes than by primary damage to those processes themselves (Geschwind, 1965). However, disconnections are often conceptualized exclusively within cognitive box-and-arrow diagrams unrelated to brain anatomy. Up to now, the only way to identify the anatomical basis of interarea connections was the postmortem histological visualization of fiber pathways. Diffusion tensor imaging, a magnetic resonance technique, represents a new approach for the study of brain connectivity. This non-invasive technique allows the measurement of the Brownian motion of water molecules on a voxel-by-voxel basis, thus providing quantitative information on the microstructure of biological tissues. The motion of water molecules is modified by local tissue components such as cell membranes, organelles, and macromolecules. In particular, within cerebral white matter, the coherent orientation of axons constrains water molecules to move preferentially along the main direction of neural fibers. This introduces a measurable anisotropy in the diffusion, which can be quantified and gives information about the local density and coherence of axons in the

measured voxel. In particular, this anisotropy parameter has been shown to be highly sensitive to the degeneration of white matter tracts in brain-injured patients, in whom focal decreases in anisotropy can be observed (Werring et al., 2000). Furthermore, the direction of water diffusion itself can be measured with diffusion tensor MRI and can be used to infer the local orientation of fibers (Poupon et al., 2000; Conturo et al., 1999; Le Bihan, 1995).

In normal subjects, the local orientation vectors measured at each voxel location can then be connected together using computer algorithms to infer the long-range trajectory of entire fiber tracts (Poupon et al., 2000; Conturo et al., 1999). However, such tracking of neural pathways remains impeded by the insufficient spatial resolution, which results in tracing ambiguities due to the crossing of fiber bundles within the same voxel. Here, we describe a different approach, based on the “negative tracking” of degenerated bundles, which may circumvent some of these problems. The method consists in isolating a fiber tract by identifying, in a patient with a focal brain lesion, the set of voxels that present a statistically significant decrease in anisotropy and which presumably reflect the degeneration of an entire fiber tract. Like classical histological methods based on the tracking of degenerated axons after lesions, this method can be used to isolate a neural pathway within the otherwise complex and intermingled connections of the normal human brain. The trajectory of the degenerated pathway can then be compared with

¹INSERM, Service Hospitalier Frédéric Joliot, ²Hôpital de la Salpêtrière, ³UNAF, Service Hospitalier Frédéric Joliot, Commissariat à l’Energie Atomique

the outcome of computerized tracking algorithms in normal subjects.

Whether used in normals or patients, diffusion tensor imaging allows for the estimation of the anatomical trajectory of fiber tracts in a few minutes in a living subject using standard magnetic resonance equipment. Thus, diffusion MRI can easily be combined with functional magnetic resonance imaging, which gives access to information about the activation of brain areas in a given cognitive task. The two methods are complementary. Potentially, diffusion MRI can give access to the connectivity of the regions that are identified as coactivated during functional MRI. However, at present, this approach has not been used beyond the description of the projections from the lateral geniculate nucleus to occipital visual cortex (Conturo et al., 1999).

In the present article, we used this approach to study the connectivity underlying the early visual stages of reading. The goal of the initial stages of reading is to build up a representation of letter strings that is invariant for irrelevant perceptual dimensions, such as the location in the visual field, the color of the ink, the size and type of characters, and so forth. This abstract representation has been termed the “visual word form” (VWF) by Warrington and Shallice (1980). In normal subjects, words flashed within a single hemifield, either left or right of fixation, cause both hemifield-dependent occipital activations in contralateral retinotopic areas, and hemifield-independent activations in the left fusiform gyrus and other lateral temporal, parietal, and frontal areas of the left hemisphere (Cohen et al., 2000; Fiez & Petersen, 1998; Price, 1997). Within this extensive network, converging evidence suggests that a subregion of the left fusiform gyrus, whose Talairach coordinates are approximately $x = -43$, $y = -54$, $z = -12$, contributes crucially to the cerebral basis of the VWF (Cohen et al., 2000; Beauregard et al., 1997; Puce, Allison, Asgari, Gore, & McCarthy, 1996). It is activated irrespective of the stimulated hemifield, thus achieving invariance for position (Cohen et al., 2000). A study using masked repetition priming indicates that the VWFA responds to specific words independently of the case in which they are presented (Dehaene et al., 2001). Finally, this area seems to overlap with the critical lesion site for pure alexia, a selective deficit of word reading with sparing of writing and of auditory word comprehension (Leff et al., 2001; Beversdorf, Ratcliffe, Rhodes, & Reeves, 1997; Binder & Mohr, 1992; Damasio & Damasio, 1983; Dejerine, 1892). As a consequence of such converging evidence, we proposed to name this left fusiform region the visual word form area (VWFA) (Cohen et al., 2000).

The VWFA is thought to achieve positional invariance in letter string identification by receiving connections from both ipsi- and contralateral retinotopic areas (Figure 1). Neuropsychologists have long postulated that damage to those connections can be responsible for reading deficits (Binder & Mohr, 1992; Dejerine, 1892).

In particular, patients with lesions affecting the splenium of their corpus callosum are unable to read words presented in the left half of their visual field, a deficit that is thought to reflect an impaired transfer of visual information from low-level right-hemispheric visual regions to left-hemispheric regions specialized in written language processing (Cohen et al., 2000; Suzuki et al., 1998).

We used functional and diffusion tensor MRI to study the anatomical connectivity and reading circuitry in patient AC, a 26-year-old right-handed man. Surgery for a hemorrhage in his left mesial parietal lobe, due to a small arteriovenous malformation, left patient AC with a split of the posterior half of his corpus callosum (Figure 1) (Cohen et al., 2000; Intriligator, Henaff, & Michel, 2000; Michel, Hénaff, & Intriligator, 1996). At the time of testing, AC could read words normally when presented in his right hemifield, but was severely slowed and occasionally failed whenever words were presented in his left hemifield (Cohen et al., 2000; Michel et al., 1996) (see Methods for further details). The pattern of reading errors in patient AC can be explained by his callosal lesion, which created a disconnection between the right-hemispheric retinotopic areas and the left-hemispheric VWFA (Figure 1). In order to study the precise anatomical basis of this disconnection hypothesis, we first used fMRI to identify the inferotemporal regions activated during reading words presented tachistoscopically in one or the other hemifield. We then collected whole-brain diffusion tensor images in both the patient and 11 normal subjects. A statistical voxel-by-voxel comparison of the anisotropy images of the patient compared to normals allowed us to localize the degenerated connections. We then went back to the diffusion images of a normal subject to infer the premorbid direction of fibers in this area, and showed that they correspond in part to a long-distance fiber tract connecting right-hemispheric visual regions to the VWFA.

RESULTS

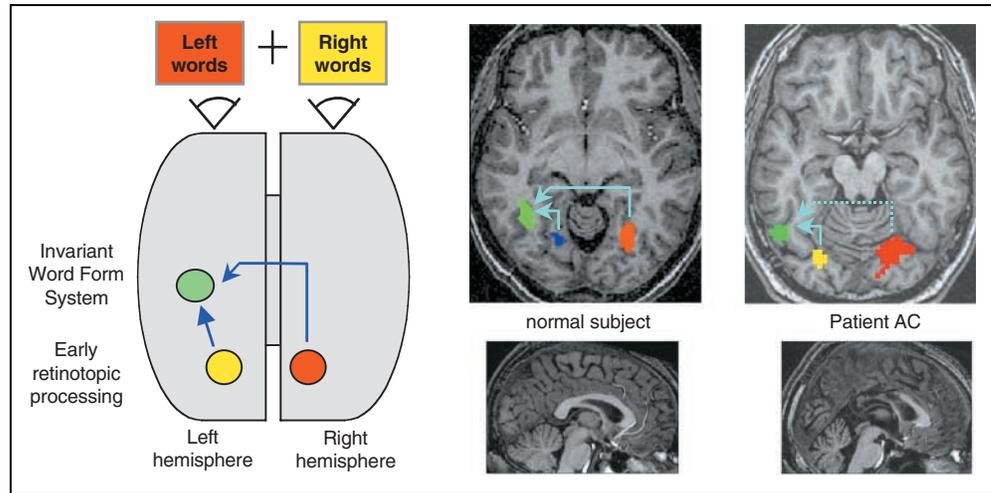
Behavior

Patient AC's reading behavior replicated earlier findings (Cohen et al., 2000; Michel et al., 1996). The patient experienced no difficulty in reading right visual field (RVF) words (2% errors, mean latency = 728 msec) and in saying the word “consonant” to RVF consonant string (0 errors, 1148 msec). However, he was significantly slower with LVF words than with RVF words, 2125 vs. 728 msec; $t(94 \text{ df}) = 7.67$, $p < 10^{-4}$, though his error rate remained almost at floor level (6% errors). There was no significant difference between hemifields for responses to consonant strings (1048 msec; 2% errors).

Functional MRI

To first identify the disconnected areas, fMRI images were collected in patient AC and in 9 control subjects

Figure 1. Left: schematic diagram of the brain architecture thought to support position-invariant identification of visual words. When a subject is engaged in reading words presented left or right of fixation, visual processing starts in contralateral retinotopic areas, which then project to a common left-hemispheric system, the visual word form, where an invariant representation of the letter string is constructed. In the case of words presented in the left hemifield, this implies an interhemispheric transfer of information across the corpus callosum. Middle: fMRI activations observed in a normal subject during reading of lateralized stimuli. The regions shown in red and yellow activated nonspecifically to alphabetic and checkerboard stimuli presented in the contralateral hemifield. The visual word form area, shown in green, activated to both left and right alphabetic stimuli. Right: fMRI activations observed in patient AC. The bilateral retinotopic activations were normal. Activation to alphabetic stimuli was present in the left fusiform gyrus at coordinates corresponding to the VWFA, but this region (shown in green) activated only when the stimuli were presented in the right hemifield. The sagittal T1 images at the bottom show the normal and lesioned corpus callosum.

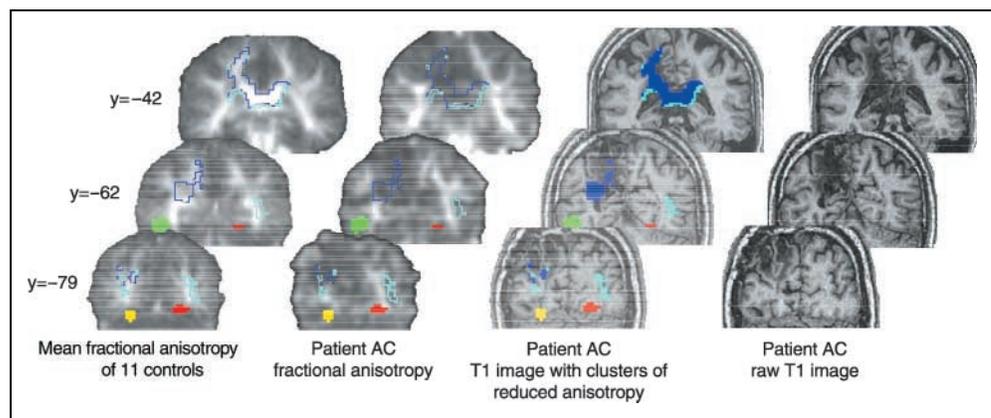


during passive presentation of high-frequency words, consonant strings, and checkerboards, in the left or right hemifield (total of 100 trials per condition) randomly intermixed in a fast-event related design (four series of 150 images; 1.5 T GE Signa scanner; TR = 2.4 sec, TE = 60 msec, FOV = 24 × 24 cm, resolution = 3.75 × 3.75 × 5 mm; 23 slices). In normals, a nonspecific retinotopic activation, showing greater activation to contralateral stimuli, whether they consisted of alphabetic strings or checkerboards ($p < .005$ each at the peak voxels), was observed in each hemisphere at coordinates close to those of area V4: left, TC 36 -72 -3, $t(8) = 20.5$;

right, TC -24 -81 -3, $t(8) = 7.07$; both $ps < 10^{-4}$. Those retinotopic activations were also present in patient AC: left, TC -24 -75 -18; $t(291) = 7.32$; right, TC 18 -75 -12, $t(291) = 8.64$; both $ps < 10^{-11}$.

In normals, a distinct left-lateralized and more anterior fusiform area showed a greater activation for alphabetic stimuli than for checkerboards, irrespective of whether they appeared in the left or in the right hemifield, $p < .005$ each at the peak voxel; TC -42 -57 -15; $t(8) = 4.61$; $p < 10^{-3}$. This location corresponds to previously published coordinates of the VWF area (Cohen et al., 2000). These findings confirm that this area

Figure 2. Localization of the regions with reduced fractional anisotropy in patient AC compared to 11 controls. Formal statistical comparison of anisotropy values in patient AC and in the 11 controls identified two regions with significantly reduced anisotropy. Within those regions, light blue is used to indicate voxels of reduced anisotropy where patient AC's T1 image was statistically indistinguishable from that of 40 normal subjects (hence presumably reflecting secondary degeneration distant from the original lesion). Dark blue indicates voxels of reduced anisotropy belonging to the lesion itself. In the leftmost column, those regions have been superimposed on images of mean anisotropy of 11 controls. In the second and third columns, their outline is shown superimposed on anisotropy images and T1 images from the patient. The rightmost column shows the raw T1 image for reference. For direct comparison with fMRI results, patient AC's fMRI activation clusters are shown as in Figure 1 (red = retinotopic activation to LVF stimuli; yellow = retinotopic activation to RVF stimuli; green = VWFA). It can be seen that the regions with reduced anisotropy form an almost continuous path whose endpoints stop close to the left and right hemisphere activations.



codes letter strings in a spatially invariant manner. In patient AC, a similar anatomical region was also activated more strongly by alphabetic stimuli than by checkerboards, but only when those stimuli appeared in the right hemifield, $TC = -45 -60 -12$; $t(291) = 6.50$; $p < 10^{-9}$.¹ When alphabetic strings were contrasted to checkerboards in the left hemifield, this region failed to activate at the conventional statistical threshold. Note, however, that a weakly significant effect was measured at the peak voxel of the patient's VWF area, $t(291) = 2.25$, $p < .05$. This difference between the patient and the controls was significant in a random-effect analysis of the difference in VWF activity induced by right-hemifield versus left-hemifield alphabetic stimuli, relative to checkerboards, $t(8) = 3.34$, $p < .01$ at the patient's peak voxel. The abnormal weakness of the activation of the patient's VWF by LVF alphabetic stimuli was also apparent when comparing it to the activation induced by RVF stimuli. In normals, the peak activation was not stronger for RVF than for LVF stimuli, $t(8) = 1.92$, $p < .1$, while this difference was highly significant in patient AC, $t(291) = 6.86$, $p < 10^{-9}$. Again this difference between the patient and the controls was significant in a random-effect analysis, $t(8) = 4.00$, $p = .004$ at the patient's peak voxel. We suggest that this abnormal deficit of activation of the left VWF area by left-hemifield words underlies patient AC's inability to read those words normally (Cohen et al., 2000).

Analysis of Diffusion Anisotropy

To demonstrate anatomically the disconnection of the left VWF area from contralateral visual regions, we

collected whole-brain diffusion tensor images in patient AC and in 11 normal controls (TR = 2.5 sec; TE = 82.4 msec, four repetitions of five regularly spaced b values in each of six directions, FOV = 24×24 cm, resolution = $128 \times 128 \times 2.8$ mm, 48 slices). To identify degeneration of white matter tracts in patient AC, images of fractional anisotropy (Pierpaoli & Basser, 1996) were compared voxel by voxel between the patient and the controls. The results revealed a significant drop of anisotropy in several sectors of the posterior left and right hemispheres (Figure 2). We studied the overlap of these regions with the lesion itself, defined formally by a statistical comparison of the patient's T1-weighted image with T1 images from 40 normal subjects ($p < .01$). This allowed us to distinguish two different clusters with reduced anisotropy (Table 1). A large set of voxels, which consistently corresponded to fiber bundles in normal subjects, were directly damaged by the lesion or were displaced by lateral ventricle enlargement in patient AC. However, decreased anisotropy was also observed in a second set of voxels outside of the lesion and distant from it. Those voxels were interpreted as indicating degeneration of white matter bundles. Indeed, they formed an almost contiguous set that spanned from the left ventral occipito-temporal region to its right homolog across the lesioned area of corpus callosum, in each case stopping a few millimeters from the areas found active in fMRI.

Diffusion Tensor Direction

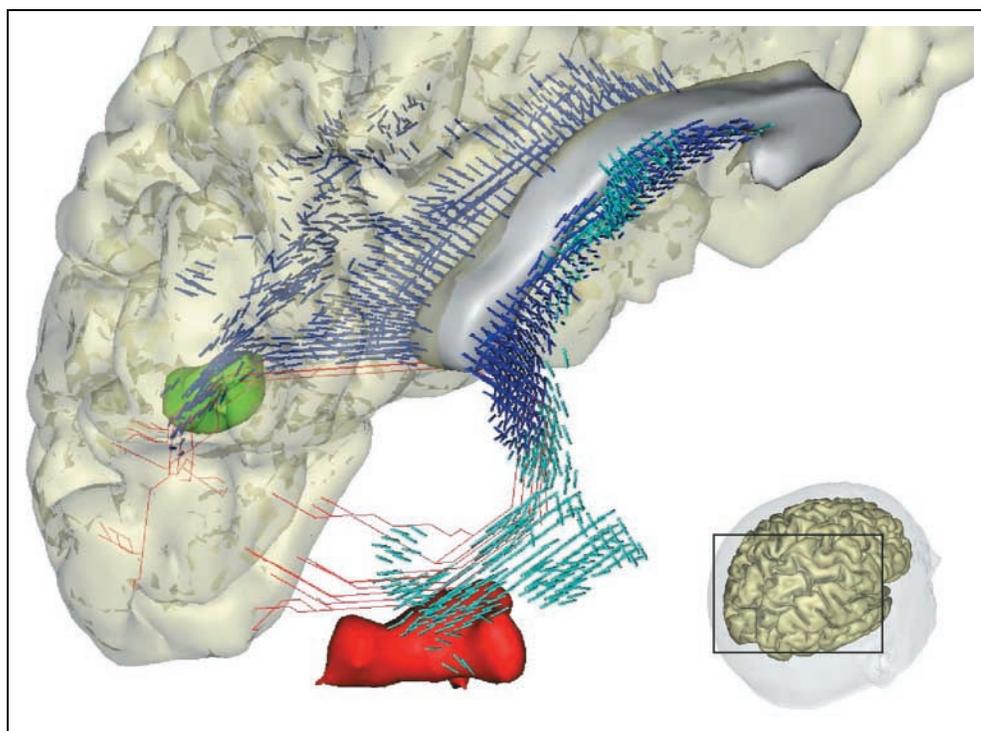
To reveal the topology of the impaired connections, we plotted in a normal subject, for each of the impaired

Table 1. Brain Regions Where Fractional Anisotropy Was Significantly Reduced in Patient AC Compared to 11 Normal Controls

<i>Anatomical Location</i>	<i>Talairach Coordinates of Local Maxima</i>	<i>Patient AC's Fractional Anisotropy</i>	<i>Normal Fractional Anisotropy (mean \pm 1 SD)</i>	<i>t Test</i>	<i>p Value</i>
Cluster 1: white matter underneath the right parieto-occipital junction, the fusiform gyrus and the middle occipital gyrus (89 voxels)	39, -57, 6	0.312	0.568 \pm 0.027	9.24	3E-06
	30, -78, 15	0.184	0.442 \pm 0.042	5.95	1E-04
	30, -81, 0	0.206	0.462 \pm 0.042	5.93	1E-04
Cluster 2: splenium, posterior half of callosum, bilateral major forceps, left mesial parietal lobe (1465 voxels)	0, -36, 15	0.177	0.758 \pm 0.032	17.46	8E-09
	-18, -36, 51	0.228	0.513 \pm 0.023	12.07	3E-07
	-18, -54, 36	0.193	0.517 \pm 0.035	8.80	5E-06
	-30, -69, 18	0.195	0.495 \pm 0.046	6.20	1E-04
	-30, -75, 15	0.208	0.450 \pm 0.049	4.42	1E-03
	12, -3, 30	0.271	0.641 \pm 0.032	10.88	7E-07
	-6, -9, 30	0.217	0.657 \pm 0.034	12.44	2E-07

Cluster 1 is located in normal-appearing tissue as seen on T1 images and is consistent with secondary degeneration of white matter tracts whereas Cluster 2, located in abnormal T1 region, is related to tissue directly damaged by the lesion.

Figure 3. 3-D representation of the postulated transcallosal fiber tract. This figure illustrates the tight match between the voxels with reduced anisotropy in patient AC (shown in blue) and the trackings obtained by computerized tracking of diffusion data from a normal subject (shown in red lines). The same color code as in Figure 2 is used (red cluster = patient AC's retinotopic fMRI activation to LVF stimuli; green = patient AC's VWFA; light blue = voxels with reduced anisotropy outside the T1 lesion; dark blue = voxels with reduced anisotropy inside the T1 lesion). Each blue vector represents the principal direction of the diffusion tensor in a normal subject, in voxels where patient AC showed significant reduced anisotropy. This representation suggests that the voxels with reduced anisotropy reflect the degeneracy of a transcallosal tract, which normally starts in the close vicinity of the right occipital cortex, passes over the posterior horns of the lateral ventricles and then through the splenium of the corpus callosum to the left occipito-temporal region.



voxels, the first eigenvector of the diffusion tensor, which indicates the principal direction of diffusion and therefore the main direction of neural fibers (Figure 3). The vectors aligned smoothly to form a bilateral tract, which started posteriorly in the white matter above the left and right fusiform gyri, passed over the posterior horns of the lateral ventricles, and joined in the splenium of the corpus callosum.

To confirm that the voxels with decreased anisotropy may correspond in part to a long-distance fiber tract connecting right-hemispheric visual regions to the VWFA, we used a fiber-tracking algorithm (Poupon et al., 2000). Within the large set of vector directions observed in the whole normal brain, this algorithm attempts to find chains of contiguous voxels along which the vector direction changes smoothly and which may, therefore, correspond to the trajectory of a main fiber tract. When the algorithm was seeded to trace long-distance connections in a normal brain starting from one of the voxels with anomalous anisotropy in patient AC, it often extracted transcallosal fibers joining the left and right occipito-temporal regions at various anteroposterior levels (Figure 3). Although the trajectory of those fibers was computed solely based on diffusion data from a normal brain, it closely matched the shape of the

region with decreased anisotropy in patient AC. This strengthens the hypothesis that the decreased anisotropy in patient AC reflects in part the degeneracy of an entire transcallosal fiber tract.

DISCUSSION

The combination of structural imaging techniques such as diffusion tensor imaging and functional imaging represent a promising approach for the study of brain connectivity and the analysis of disconnection syndromes. Combining both techniques in a posterior split brain patient, we showed that his left hemialexia could be related, functionally, to abnormal fMRI activations, and anatomically, to an impairment of connections between those activations. Using diffusion tensor imaging, statistical analysis revealed microstructural abnormalities at distance from the callosal lesions in regions without any T1-weighted MR signal changes and particularly in the white matter underlying right occipital cortical areas activated during reading. These microstructural alterations strongly suggest retrograde degeneration of a fiber tract crossing the lesioned area of the corpus callosum and running over the occipital horn of the lateral ventricle connecting the left ventral

occipito-temporal region to its right homolog. At the relatively coarse resolution used here (~ 3 mm), connections could not be traced to their precise final cortical targets, because diffusion tensor information became imprecise in the white matter just underlying the cortex, presumably due to the crossing of multiple fiber tracts. Furthermore, we do not claim that only the connections involved in position-invariant word identification were impaired. Rather, the lesion disconnected an extended set of bilateral ventral occipito-temporal areas. This agrees with previous behavioral evidence for impaired interhemispheric transfer of visual word, but also color and face information in patient AC (Intriligator et al., 2000).

Our study suggests that the left fusiform gyrus plays a crucial role in word reading by collecting and representing VWF information independently of its retinal location. Dejerine's (1892) initial interpretation of pure alexia was that the fusiform lesion severed two bundles of white matter, respectively, conveying visual information from the right- to the left-hemispheric primary visual cortex through the corpus callosum, and from left-hemispheric visual regions towards the left angular gyrus where word forms were thought to be stored. More recent studies allow us to update this initial anatomo-functional model. We now know that pure alexia can result from purely cortical lesions affecting the portion of the fusiform gyrus where the VWFA is found, but sparing the underlying long-distance connections (Beverdort et al., 1997). While such cases are not amenable to a disconnection account, other variants of pure alexia are still best explained by considering the connections of the VWFA originating from more peripheral visual regions, or heading towards lateral language cortex. The so-called subangular alexia that results from subcortical parietal lesions, presumably depriving the left inferior parietal lobule of its input, is thought to correspond to the latter mechanism (Iragui & Kritchevsky, 1991; Greenblatt, 1973). As for impairments of the input routes to the VWF area, the best documented situation corresponds to callosal lesions with a resulting alexia restricted to the left visual hemifield, as in the present case (Cohen et al., 2000; Suzuki et al., 1998). Suzuki et al. (1998) suggested that the critical portion of the callosum for the transfer of alphabetical information is the inferoposterior part of the splenium. From the study of lesion topography and reading abilities in several alexic patients, Binder & Mohr (1992) further proposed a schematic diagram of posterior callosal projections, suggesting that they run posterolaterally over the occipital horn of the lateral ventricle before reaching extrastriate visual cortex on the lateral and ventrolateral convexity. Our data are in good agreement with those neuropsychological inferences, and further reveal that the entire course of those fibers can now be traced in the normal human brain.

Contrary to Dejerine's initial hypothesis, the VWFA probably does not receive its main input from primary visual cortex. Rather, our fMRI results suggest that the stage of processing immediately prior to the VWFA is a retinotopic visual processing stage putatively identified as area V4, and present in both hemispheres (see Cohen et al., 2000). This predicts that it should be possible to observe a reading impairment symmetrical to callosal alexia, with pure alexia restricted to the right hemifield due to a disconnection depriving the VWFA of its visual inputs within the left hemisphere (see Figure 1). Indeed, such right hemialexia has been reported following a predominantly subcortical left occipito-temporal lesion, presumably depriving the VWFA of its input from the ipsilateral area V4 (Castro-Caldas & Salgado, 1984). It would be interesting to use diffusion tensor imaging in such a patient to examine if this would indeed show the predicted degenerated posterior fiber tract within the left hemisphere.

Conclusion

The present approach, based on the "negative tracking" of degenerated bundles can be used to isolate a neural pathway within the otherwise complex and intermingled connections of the normal human brain. While we applied it to a large impairment of interhemispheric connections, further studies will be needed to demonstrate the feasibility of this approach to the study of smaller intrahemispheric connections. This *in vivo* approach may be useful, not only in focal acquired lesions, but also to clarify the possible contribution of disconnections to degenerative diseases (Rose et al., 2000) or to developmental disorders such as developmental dyslexia (Klingberg et al., 2000).

METHODS

All experiments were approved by the regional ethical committee for biomedical research, and subjects gave informed consent. All scans were acquired using an 1.5T Signa horizon Echospeed MRI system (General Electric Medical Systems, Milwaukee, WI). Statistical analysis was done with SPM99 software.

Case Description

Patient AC was a 26-year-old right-handed man, with no significant medical history until the age of 22. His cognitive development and educational achievements were normal. About 4 years before the present study was carried out, he suffered from a hemorrhage in his left mesial parietal lobe. This hemorrhage was due to a small arteriovenous malformation, which was then surgically removed. The cerebral sequelae, as revealed by anatomical MRI, consisted of a split of the posterior half of his corpus callosum, with a lesion extending into the

left hemisphere up to the white matter of the superior parietal lobule. The right hemisphere was completely spared. His visual field was normal, and he showed no spatial neglect. Initially, he made 30–80% errors when reading aloud words presented in his LVF, while he could read normally words presented in his RVF. His performance improved over the following months and years through the use of compensation strategies, such as “semantic browsing” and letter-by-letter reading (see Michel et al., 1996 for a detailed description). However, his reading latencies remained abnormally long with LVF stimuli (Cohen et al., 2000).

Anatomical MR Imaging

High-resolution anatomical images were acquired in the axial plane using a spoiled gradient-echo sequence (124 slices 1.2-mm thick, TR = 10.3 msec, TE = 2.1 msec, TI = 600 msec) and 24 × 24-cm field of view (resolution of 0.937 × 0.937 × 1.2 mm). Images were normalized to Talairach space using a linear transform and the template of the Montreal Neurological Institute (MNI). To isolate patient AC’s lesion, we computed a two-sample *t* test between patient AC’s and 40 controls’ T1 images, after smoothing with a Gaussian kernel with full width at half maximum (FWHM) = 5 mm. We used a voxelwise significance level of .01, corrected to $p < .05$ for cluster extent.

Functional Imaging

Functional images were acquired in patient AC and in nine normal subjects. In each of four sequences, 150 functional volumes sensitive to blood oxygen level dependent contrast were acquired with a T2-weighted gradient-echo, echo planar imaging sequence (TR = 2400 msec, $\alpha = 90^\circ$, TE = 60 msec) and 24 × 24-cm field of view (resolution of 3.75 × 3.75 × 5 mm; 23 slices). Words, consonant strings, and checkerboards were presented in random order in the left and right hemifields (total of 100 trials per condition; SOA = 2400 msec; display duration = 200 msec; display eccentricity 2° to 6°). Word stimuli consisted of 168 frequent and highly imageable nouns (mean \log_{10} frequency per million = 1.75), three to six letters and one to three syllables in length. Consonant strings were matched to the words in length.

Images were corrected for different slice acquisition times and for subject motion, normalized to MNI coordinates, and smoothed (FWHM 5 mm). For each subject, the generalized linear model was used to fit each voxel with a linear combination of functions derived by convolving a standard hemodynamic response function with the known time series of the six stimulus types. An equal number of time-derivative functions modeled possible variations in activation onset. Degrees of freedom were adjusted for high-pass filtering (period 120 sec) and low-

pass filtering by a Gaussian function with a 4-sec width. We report here the single-subject analysis of patient AC (voxelwise $p < .001$, corrected $p < .001$ for cluster extent), and the random-effect analysis of the group of normal subjects (voxelwise $p < .01$, corrected $p < .05$ for cluster extent).

Behavioral Control

As a behavioral control to the fMRI experiment, the patient was presented with 200 word and consonant string stimuli drawn randomly from the original set of 336 stimuli. He was asked to name each word, and to utter the word “consonant” whenever he thought he was presented with consonant strings. Naming latencies were measured using a voice key, and all responses were recorded for subsequent scoring of errors.

Diffusion Tensor Imaging

Diffusion-weighted images were acquired in patient AC and 11 aged-matched controls with echo-planar imaging in the axial plane covering the whole brain (48 slices, 2.8 mm thick; TE = 84.4 msec, TR 2.5 sec) and 24 × 24-cm field of view (resolution 128 × 128). For each slice location, a T2-weighted image with no diffusion sensitization, followed by five *b* values (incrementing linearly to a maximum value of 1000 s/mm²) was obtained in six directions. In order to improve the signal-to-noise ratio, this sequence was repeated four times, providing 124 images per slice location. Before performing the tensor estimation, an unwarping algorithm was applied to the diffusion-weighted data set to correct for distortion related to eddy currents induced by the large diffusion-sensitizing gradients (Poupon et al., 2000). Thereafter, the diffusion tensor was calculated on a pixel by pixel basis as described (Pierpaoli & Basser, 1996). Images of fractional anisotropy (FA) were normalized to MNI coordinates using the linear transform calculated on the anatomical images, and smoothed (FWHM 5 mm). A two-sample *t* test was used to compare FA between patient AC and the controls. We used a voxelwise significance level of .01, corrected to $p < .05$ for cluster extent.

Reprint requests should be sent to Stanislas Dehaene, Unité INSERM 334, Service Hospitalier Frédéric Joliot, CEA, 4 Place du Général Leclerc, 91401 Orsay cedex, France, or via e-mail: dehaene@shfj.cea.fr.

The data reported in this experiment have been deposited in the fMRI Data Center (<http://www.fmridc.org>). The accession number is 2-2001-11256.

Note

1. As noted by Cohen et al. (2000), there is a variability among normals in the exact location of the VWFA. Though it is always found in the vicinity of the left occipito-temporal sulcus,

the Talairach coordinates show a standard deviation of about 5 mm in each direction. Furthermore, the VWFA in patient AC tends to be higher than in most controls, perhaps revealing a slight displacement following brain atrophy. Because of this variability, the axial slices in Figure 1 were centered on the main activation peak of the VWFA.

REFERENCES

- Beauregard, M., Chertkow, H., Bub, D., Murtha, S., Dixon, R., & Evans, A. (1997). The neural substrate for concrete, abstract, and emotional word lexica: A positron emission tomography study. *Journal of Cognitive Neuroscience*, *9*, 441–461.
- Beversdorf, D. Q., Ratcliffe, N. R., Rhodes, C. H., & Reeves, A. G. (1997). Pure alexia: Clinical-pathologic evidence for a lateralized visual language association cortex. *Clinical Neuropathology*, *16*, 328–331.
- Binder, J. R., & Mohr, J. P. (1992). The topography of callosal reading pathways. A case-control analysis. *Brain*, *115*, 1807–1826.
- Castro-Caldas, A., & Salgado, V. (1984). Right hemifield alexia without hemianopia. *Archives of Neurology*, *41*, 84–7.
- Cohen, L., Dehaene, S., Naccache, L., Lehéricy, S., Dehaene-Lambertz, G., Hénaff, M. A., & Michel, F. (2000). The visual word form area: Spatial and temporal characterization of an initial stage of reading in normal subjects and posterior split-brain patients. *Brain*, *123*, 291–307.
- Conturo, T. E., Lori, N. F., Cull, T. S., Akbudak, E., Snyder, A. Z., Shimony, J. S., McKinstry, R. C., Burton, H., & Raichle, M. E. (1999). Tracking neuronal fiber pathways in the living human brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.*, *96*, 10422–10427.
- Damasio, A. R., & Damasio, H. (1983). Anatomical basis of pure alexia. *Neurology*, *33*, 1573–1583.
- Dehaene, S., Naccache, L., Cohen, L., Le Bihan, D., Mangin, J. F., Poline, J. B., & Riviere, D. (2001). Cerebral mechanisms of word masking and unconscious repetition priming. *Nature Neuroscience*, *4*, 752–758.
- Dejerine, J. (1892). Contribution à l'étude anatomo-pathologique et clinique des différentes variétés de cécité verbale. *Mémoires de la Société Biologie*, *4*, 61–90.
- Fiez, J. A., & Petersen, S. E. (1998). Neuroimaging studies of word reading. *Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.*, *95*, 914–921.
- Geschwind, N. (1965). Disconnection syndromes in animals and man. *Brain*, *88*, 237–294.
- Greenblatt, S. H. (1973). Alexia without agraphia or hemianopsia. Anatomical analysis of an autopsied case. *Brain*, *96*, 307–316.
- Intriligator, J., Henaff, M. A., & Michel, F. (2000). Able to name, unable to compare: the visual abilities of a posterior split-brain patient [In Process Citation]. *NeuroReport*, *11*, 2639–2642.
- Iragui, V. J., & Kritchewsky, M. (1991). Alexia without agraphia or hemianopia in parietal infarction. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, *54*, 841–842.
- Klingberg, T., Hedehus, M., Temple, E., Salz, T., Gabrieli, J. D., Moseley, M. E., & Poldrack, R. A. (2000). Microstructure of temporo-parietal white matter as a basis for reading ability: evidence from diffusion tensor magnetic resonance imaging [see comments]. *Neuron*, *25*, 493–500.
- Le Bihan, D. (Ed.) (1995). *Diffusion and perfusion MR imaging: Application to functional MRI*. New York: Raven Press.
- Leff, A. P., Crewes, H., Plant, G. T., Scott, S. K., Kennard, C., & Wise, R. J. (2001). The functional anatomy of single-word reading in patients with hemianopic and pure alexia. *Brain*, *124*, 510–521.
- Michel, F., Hénaff, M.-A., & Intriligator, J. (1996). Two different readers in the same brain after a posterior callosal lesion. *NeuroReport*, *7*, 786–788.
- Pierpaoli, C., & Basser, P. J. (1996). Toward a quantitative assessment of diffusion anisotropy. *Magnetic Resonance in Medicine*, *36*, 893–906.
- Poupon, C., Clark, C. A., Frouin, V., Regis, J., Bloch, I., Le Bihan, D., & Mangin, J. (2000). Regularization of diffusion-based direction maps for the tracking of brain white matter fascicles. *Neuroimage*, *12*, 184–195.
- Price, C. J. (1997). Functional anatomy of reading. In R. S. J. Frackowiak, K. J. Friston, C. D. Frith, R. J. Dolan, & J. C. Mazziotta (Eds.), *Human brain function* (pp. 301–328). San Diego, CA: Academic Press.
- Puce, A., Allison, T., Asgari, M., Gore, J. C., & McCarthy, G. (1996). Differential sensitivity of human visual cortex to faces, letterstrings, and textures: A functional magnetic resonance imaging study. *Journal of Neuroscience*, *16*, 5205–5215.
- Rose, S. E., Chen, F., Chalk, J. B., Zelaya, F. O., Strugnell, W. E., Benson, M., Semple, J., & Doddrell, D. M. (2000). Loss of connectivity in Alzheimer's disease: An evaluation of white matter tract integrity with colour coded MR diffusion tensor imaging. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, *69*, 528–530.
- Suzuki, K., Yamadori, A., Endo, K., Fujii, T., Ezura, M., & Takahashi, A. (1998). Dissociation of letter and picture naming resulting from callosal disconnection. *Neurology*, *51*, 1390–1394.
- Warrington, E. K., & Shallice, T. (1980). Word-form dyslexia. *Brain*, *103*, 99–112.
- Werring, D. J., Toosy, A. T., Clark, C. A., Parker, G. J., Barker, G. J., Miller, D. H., & Thompson, A. J. (2000). Diffusion tensor imaging can detect and quantify corticospinal tract degeneration after stroke. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, *69*, 269–272.