

Neurodégénérescence secondaire de la substance noire après un infarctus touchant le striatum : évaluation par relaxométrie R2*

Pierre-Antoine Linck

▶ **To cite this version:**

Pierre-Antoine Linck. Neurodégénérescence secondaire de la substance noire après un infarctus touchant le striatum : évaluation par relaxométrie R2*. Médecine humaine et pathologie. 2018. dumas-02088239

HAL Id: dumas-02088239

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02088239

Submitted on 2 Apr 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université de Bordeaux

U.F.R. DES SCIENCES MEDICALES

Année 2018 N°3145

Thèse pour l'obtention du
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement

Le 22 Octobre 2018, à Bordeaux

Par Pierre-Antoine LINCK

Né le 26 janvier 1990, à Ajaccio (2A)

Neurodégénérescence secondaire de la substance noire après un infarctus touchant le striatum : évaluation par relaxométrie R2*

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur Thomas TOURDIAS

Rapporteur de thèse : Monsieur le Docteur Bertrand GLIZE

Membres du Jury :

Monsieur le Professeur Vincent DOUSSET	Président
Monsieur le Docteur Bertrand GLIZE	Jury
Monsieur le Professeur Igor SIBON	Jury
Monsieur le Professeur François TISON	Jury
Monsieur le Professeur Thomas TOURDIAS	Directeur de thèse

Remerciements

Aux membres du jury,

A mon directeur de thèse, Monsieur le Professeur Thomas TOURDIAS,

Tu as toujours fait preuve de bienveillance et tu as été là à chacune de mes interrogations. Tu m'as aidé à comprendre ce qu'est la recherche et à ne jamais baisser les bras. J'ai également eu la chance de profiter de ton enseignement, clair et précis, dans mon apprentissage de la neuroradiologie. Enfin, au-delà des vacations et gardes passées ensemble, tu m'as permis de réussir dans cette (petite) aventure qu'a été pour moi le quiz européen de Vienne. Je te suis très reconnaissant pour tout cela et aussi pour la confiance que tu m'as accordée.

Au président du jury, Monsieur le Professeur Vincent DOUSSET,

Je suis conscient de l'honneur que vous m'accordez en présidant ce jury. Merci pour votre optimisme, votre patience et votre écoute. Vous m'avez montré l'importance du respect à porter envers l'ensemble du personnel hospitalier et insisté, avec raison, sur la nécessité de conserver un sens clinique et un dialogue avec le patient, préalables indispensables à une interprétation pertinente de nos examens. Je n'oublierai pas vos conseils.

Monsieur le Docteur Bertrand GLIZE,

Merci pour le temps que vous avez consacré à la lecture et au jugement de ce travail en tant que rapporteur. Votre présence à la soutenance est un honneur pour moi.

Monsieur le Professeur François TISON,

Je suis honoré que vous ayez accepté d'évaluer l'intérêt scientifique de ce travail et vous en remercie. Veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Monsieur le Professeur Igor SIBON,

Merci pour la pertinence de vos réflexions à chaque étape de ce travail. Que ce soit dans le déroulement de cette étude ou lors des gardes aux urgences, c'est un honneur de travailler avec vous et de profiter de la qualité de votre raisonnement.

A tout(es) celles et ceux qui ont aussi participé à ce travail,

A Gregory, merci pour ton enthousiasme communicatif, ton intuition et ta disponibilité. J'ai eu beaucoup de chance de travailler avec toi. A bientôt sur Lille.

A Fanny, merci pour ton optimisme, ta bonne humeur et ton implication dans ce travail d'abord depuis Bordeaux puis outre-Atlantique.

A Marion, merci d'avoir joué le rôle de messagère entre Bordeaux et Lille. Tu m'accordes en plus ta confiance, et me permets d'appréhender mon futur semestre à Lille avec plus de sérénité.

A Pierrick, pour m'avoir confié un accès illimité à ce super outil qu'est Volbrain. Le serveur a tenu bon malgré le petit millier de séquences chargées !

A Romain Griffier, au Dr Julien Asselineau et au Dr Paul Perez, merci pour votre participation et vos remarques constructives nécessaires au déroulement de ce travail.

My sincere thanks also go to **Dr. Okubo Gosuke** with whom I had the opportunity to work on this project.

A toutes les personnes qui ont participé à mon apprentissage (et continuent !) et/ou qui m'ont entouré au cours de ce bel internat,

Aux Professeurs N. GRENIER et J.F. CHATEIL, pour avoir contribué à part entière dans ma formation en radiologie lorsque j'étais « jeune semestre ».

Aux chefs, assistant(e)s, attaché(e)s : Elise T. et Anne-Sophie (les deux mamans), Giulia P. (merci pour tes recettes !), Marion H. (les « p'tits loups »), Alice B. (depuis Clermont-Ferrand), Antoine B. (le plus brillant !!), Gaultier M. (la classe américaine), Paul E. (« Is it blue ? »), Jean-Thomas P. (le charmeur), Sylvain (B(r)ise), Benjamin D. (l'écho « sexy »), Claude G. (et sa maitrise du doppler), Thomas G… **Et PH/MCU :** Mounir, Sandrine, Elise, FPP**,** Amaury, Bruno, Delphine, Yann, Xavier, Patrice, Jérôme, l'équipe de Pau et d'anapath (merci Claire !).

Au Dr Pierre Bessou, un des chefs les plus formidables que j'ai rencontré au C.H.U. Merci pour ce savoir que vous aimez transmettre et votre belle humanité. Votre modestie vous honore.

Aux manipulateurs radio et aides manips, de jour et de nuit, à l'écho/radio/scanner/bloc et IRM, merci pour la bienveillance dont vous faites preuve. C'est un plaisir de faire équipe avec vous !

A Marie-Hélène pour la gentillesse de ton accueil lors de mon passage à Haut-Lévêque et aux autres assistant(e)s médico-administratif(ve)s du C.H.U. et d'ailleurs.

A Gary, qui m'a permis d'améliorer nettement mon expression orale et écrite en anglais. Merci pour votre pédagogie et votre patience.

Aux co-internes,

De ma (belle) promo : Cédric, Joseph, MC, François, Sandy**,** Alexis, Christophe et Maxime **Aux plus « vieux » :** John, Adrien, Louise, Clément (marcellino !), Fanny, Pierre-François, Adrian, Paul, Marie-Annaïg, Caroline…. **Et aux plus « jeunes »** : Pauline, Thibaut, Nicolas, Sybille, Pierre, Adrien, Lydia, Benjamin, YO, Romane, Agnès, Arthur, Camille, Jean, Charlotte… Et à tous les autres !

A Amelie, co-interne numéro 1 dans mon cœur, redoutable référente et amie formidable. Quelle chance j'ai eu de te rencontrer dès mon premier semestre ! Surtout ne change rien !

A Clémence, pour ta franchise et ta spontanéité toujours accompagnées de ce sourire communicatif. Ton empathie est une très belle qualité !

A Juliette, pour tous les fous rires qui ont suivi les fois où je croyais t'aider (« c'est bon tu es dans l'articulation tu peux injecter ! ») et pour nos discussions. Tu es brillante, keep in touch !!

A Eva, co-interne la plus dégourdie pour qui un problème s'accompagne toujours d'une solution efficace. C'est génial de travailler avec toi et de te compter parmi mes amis.

A Julia B., merci pour cet appel décisif, la semaine des choix post-ECN, où depuis Clermont je n'étais sûr de rien. Tu m'as permis de prendre la bonne décision (et la bonne ville) !

A Florent G., merci pour l'altruisme dont tu fais preuve, tes explications (toujours justes) et ton humour dont j'ai pu bénéficier dès mon 2ème semestre ! Je souhaite que tu ailles le plus loin possible.

A Florian, jeune externe de neuroradiologie devenu mon co-interne sur Pau. Tu as beaucoup de qualités et un cœur immense. Je suis heureux de t'avoir rencontré.

Aux internes hors-filières et inter-CHU que j'ai eu la chance de rencontrer, Thomas C. pour les comiques de situation en premier semestre, Marine A. pour nos pauses café et la danse de ton chef en anapath, Sonia M., pour avoir partagé avec nous ta joie de vivre (et tes connaissances !) en stage de neuroradio, Laura J. pour ta bienveillance en radiopédiatrie…

Aux internes d'anapath (Anaïs, Marie, Julia, Julie, Camille, Chloé, Magalie…) et à votre monde plein de guimauves et de nounours en chocolat. Nos spécialités sont bien plus proches -et dépendantes- que je ne l'imaginais. Merci de m'avoir toujours fait bon accueil.

A « Crépon », la coloc de Gan : Aude (merci pour ton accueil, ta gentillesse, ta tolérance et ta capacité à profiter de l'instant présent), Mégane (ultra-sociable, toujours souriante et motivée pour les quiz du Sherlock !), Paul (pour ces fous rires et ton auto-dérision) et Anne-Iris (pour ta super personnalité et un peu aussi pour ton far Breton). Merci à tous pour votre bonne humeur et votre écoute quelles que soient les circonstances (et la météo).

A mes amis Clermontois, du Sud(-est) et d'ailleurs,

A Marie O.D., dont la première question a été « est-ce que tu es heureux dans la vie ? ». Merci pour ton amitié qui dure depuis maintenant presque huit ans. Tes élèves ont de la chance +++

A Bérangère (mon héroïne, capable de tout gérer !), **Laura** (que j'ai suivie jusqu'au Burkina !)**, Claire** (« on la remet cette épaule ? »)**, Julie** (la Miss !)**, Marie-Victoria** (l'as du volant !) … pour les épreuves traversées ensemble, les supers moments et tous ceux qui restent à venir !

A Emilie et Bertrand, mes compagnons de scène/danse. On remet ça quand vous voulez !

A Sandra, pour toute l'aide que tu m'as apportée et ta générosité. Je suis heureux d'avoir ton amitié ! Pense à te reposer un peu de temps en temps.

A Mario et Jacqueline, Merci de m'avoir accueilli chez vous et d'avoir pris spontanément soin de moi à un moment difficile de mon externat. Jacqueline, tu pourras toujours compter sur moi.

Au groupe 7, et notamment à Céline, Clémence, Célia, Meggy, Pierrick, Vincent, Rémi, Marine, Julia et Bruno qui restera le meilleur groupe d'externes Clermontois !

A Julien, mon plus vieil ami, à toutes ces journées passées ensemble sur Toulon. Nous avons su conserver notre âme d'enfant et rester en contact malgré la distance !

A Ludivine, avec qui nous avons breveté le balancier de peluches tout en jouant de la guitare après avoir fait naitre un petit incendie dans ma chambre dès l'âge de 4 ans. Super période !

A Caro, Malou et Antoine, pour les excellents moments passés ensemble, les fous rires, les soirées…Votre amitié m'est précieuse.

A Grimmy, pour les situations « cocasses » que nous avons vécues et les nombreux fous rires qui ont ponctué nos années lycée.

A Léa, pour ta générosité, ton accueil et tous ces étés inoubliables passés ensemble en Corse à Cupabia, agrémentés de glace au rhum-raisin et de rougets au fenouil. A très vite !

A Dolores, pour ton incroyable personnalité et pour avoir accepté de devenir ma marraine.

A Carole, ces prochains mois on s'éloigne (un peu), pour mieux se retrouver après et continuer nos sorties (revanche à l'ultimate dodgeball !).

A Bastoun et Marianne, mes deux brillants externes que j'ai rencontrés en radiopédiatrie… j'ai de la chance de vous avoir comme amis aujourd'hui ! Je vais tâcher de venir vous embêter plus souvent dans le « Grand Nord ».

Enfin à ma famille,

A mes merveilleux parents, pour m'avoir soutenu en toutes circonstances et avoir toujours cru en moi. Je ne serais pas arrivé jusqu'ici sans vos encouragements et votre confiance. Je vous aime fort.

A mes frères Guillaume et Vincent : je suis fier d'être votre petit frère et heureux de notre complicité. Restons unis.

A Ludivine et Marie, mes deux supers belles sœurs, je ne sais pas si mes frères réalisent tous les jours la chance qu'ils ont mais moi oui. Je vous embrasse fort.

A mes deux neveux : Lucas (10 ans) **et Zacharie** (5 mois), ne grandissez pas trop vite ! Tonton Pierre sera toujours là si besoin !

A ma grand-mère Madeleine, qui continue de garder le sourire depuis mon enfance.

A Sylvie, Jean-Pascal, Anthony, Sébastien, Marion et Maxine : merci pour votre accueil et la place que vous m'avez faite dans votre famille.

A Madeleine (Minette) **et Guy**, merci de partager avec nous vos expériences de voyages à travers le monde et de nous avoir fait découvrir le Maroc.

Pour finir à Tom, pour le bonheur que tu m'apportes et l'écoute dont tu fais preuve depuis maintenant plus de sept ans.

TABLES DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS 9

A. INTRODUCTION 10

I. La neurodégénérescence secondaire 11

1. Définition 11
2. Observations histologiques et radiologiques 11
3. Corrélation radio-clinique 13
4. Hypothèses physiopathologiques à l'échelle cellulaire 14
5. Une cible thérapeutique potentielle 15

II. La substance noire 17

1. Anatomie 17
2. Fonctions et pathologies 19
3. Exploration de la substance noire non pathologique en IRM 20

III. Le métabolisme du fer cérébral 24

1. Le rôle paradoxal du fer 24
2. Métabolisme du fer cérébral 25
3. Ferruginisation des NGC et pathologies neurodégénératives 28
4. Le fer et la neurodégénérescence secondaire 29

IV. La mesure du fer par relaxométrie R2* 32

1. Principes physiques 32
2. Validation post-mortem 35
3. Une autre approche : l'imagerie de susceptibilité magnétique quantitative 36
4. Quelle forme de fer est mesurée en IRM ? 36

B. ETUDE MENEE 38

I. Cohorte BBS 38

II. Objectif de notre étude 38

III. Article 39

IV. Tables 54

V. Figures 58

VI. Appendix 62

C. DISCUSSION SUPPLEMENTAIRE 75

I. Cartographies VLSM 75

II. Contribution du SN-AI$_{95}$ à l'évolution clinique 75

III. Limites de l'étude 77

1. Validité externe 77

2. Segmentation manuelle de la substance noire 77

3. Amplitude des valeurs de R2* 78

4. Résultats sur les paramètres cliniques 78

IV. Perspectives thérapeutiques 79

D. CONCLUSION 80

BIBLIOGRAPHIE 81

LISTE DES ABREVIATIONS

ACM	Artère Cérébrale Moyenne
ADC	Apparent Diffusion Coefficient / Coefficient Apparent de Diffusion
ARN	Acide RiboNucléique
ARNm	Acide RiboNucléique messager
ATP	Adénosine TriPhosphate
BBS	Brain Before Stroke
BHE	Barrière Hémato-Encéphalique
DCC	Diaschisis Cortico-cérébelleux Croisé
DMT1	Divalent Metal ion Transporteur-1
DTI	Diffusion Tensor Imaging / Imagerie en Tenseur de Diffusion
DRO	Dérivés réactifs de l'oxygène
IRE	Iron Responsive Element /Eléments de réponse au fer
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
IRP	Iron Regulatory Proteins / Protéines régulatrices du fer
LCS	Liquide Cérébro-Spinal
NGC	Noyaux Gris Centraux
PHRC	Programme Hospitalier de Recherche Clinique
RMC	Régulation de Mort Cellulaire
R2*	Relaxométrie R2*
SN	Substance Noire
SNc	Substance Noire pars Compacta
SNr	Substance Noire pars Reticulata
$SN\text{-}AI_{95}$	$95^{ème}$ percentile de l'index d'asymétrie de la substance noire à 1 an
TEP	Tomographie par Emission de Positon
TfR1	Transferrine Receptor 1/ Récepteur de la transferrine de type 1
VSLM	Voxel-Based Lesion-Symptom Mapping

A. INTRODUCTION

Dans les suites d'un infarctus cérébral, les séquelles cliniques dépendent de son volume (1) et de sa localisation (2) mais peuvent aussi dépendre d'anomalies plus à distance induites par l'infarctus qui déconnecte et interrompt des réseaux.

Dans ce cadre, nous nous sommes particulièrement intéressés aux altérations de la substance noire (SN) qui peuvent survenir dans les suites d'un infarctus supratentoriel, épargnant initialement la SN, mais interrompant des projections afférentes ou efférentes de la SN. Ces phénomènes qui débutent dans les jours suivant l'infarctus sont connus sous le terme de neurodégénérescence secondaire et peuvent affecter plusieurs régions déconnectées par l'infarctus. Dans le premier paragraphe de cette introduction nous présentons d'abord ces phénomènes d'une manière générale. Dans le second paragraphe de l'introduction nous discutons plus en détail de l'anatomie et des fonctions de la SN pour comprendre comment ses projections peuvent être interrompues par un infarctus et quelles pourraient en être les conséquences cliniques. Dans les troisième et quatrième paragraphes nous discutons du métabolisme du fer et des moyens pour quantifier le fer en IRM. En effet, plusieurs travaux chez l'animal, détaillés dans ces parties, indiquent que la neurodégénérescence secondaire s'accompagne d'un excès de fer. ***Nous faisons donc l'hypothèse que l'imagerie du fer en IRM pourrait devenir un biomarqueur de la neurodégénérescence secondaire de la SN qui permettrait de suivre son développement et de comprendre son impact sur les capacités de récupération des patients.***

I. La neurodégénérescence secondaire

1) Définition

La neurodégénérescence secondaire dans les suites d'un infarctus fait référence aux modifications morphologiques et neuronales dans des régions cérébrales distantes (mais connectées avec) la zone lésionnelle initiale (3). Ce concept est fondé sur des observations histologiques, radiologiques et cliniques ne pouvant être expliquées directement par la zone concernée par l'ischémie.

2) Observations histologiques et radiologiques : exemple de l'occlusion de l'artère cérébrale moyenne (ACM)

Après un infarctus touchant le territoire de l'ACM, des modifications histologiques et radiologiques de la partie distale du faisceau pyramidal, du thalamus et de la substance noire (SN) ipsilatéraux (4) ainsi que de l'hémisphère cérébelleux controlatéral (5) peuvent être observées . Ces structures ne dépendent pourtant pas de la vascularisation de l'ACM (Figure 1).

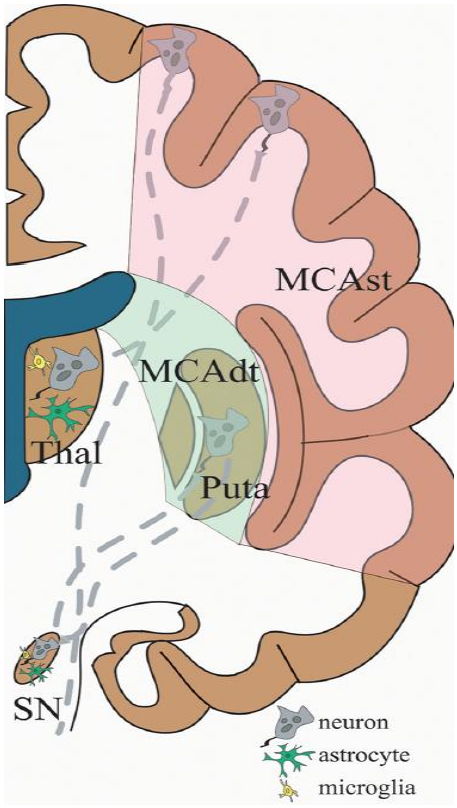


FIGURE 1. Illustration du phénomène de neurodégénérescence secondaire après un infarctus du territoire de l'artère cérébrale moyenne (ACM).
L'infarctus dans le territoire de l'ACM entraine une perte neuronale au niveau de la zone ischémiée ainsi que des modifications dans les régions connectées à distance comme le thalamus, la substance noire et la partie distale du faisceau pyramidal.
(D'après J. Zang et al., Stroke 2012)

a) Faisceau pyramidal

La neurodégénérescence secondaire de la partie distale du faisceau pyramidal est aussi connue sous le nom de dégénérescence Wallérienne. Elle se caractérise d'un point de vue histologique par une dégénérescence axonale suivi d'un phénomène de démyélinisation s'accompagnant d'un élargissement liquidien de l'espace extracellulaire (6). Ces anomalies sont directement corrélées aux modifications visibles en imagerie par résonance magnétique (IRM). Dès le troisième jour après l'infarctus, une diminution de la fraction d'anisotropie est quantifiable sur les séquences en tenseur de diffusion (DTI) (7) suivie dans les premières semaines d'un hypersignal sur les séquences pondérées en T2, FLAIR et Diffusion (6). A terme, une atrophie du pédoncule cérébrale peut être constatée (8).

b) Thalamus

D'un point de vue histologique, la neurodégénérescence secondaire se manifeste par une activation et une prolifération microgliale, un dépôt extracellulaire de plaques amyloïdes et une perte neuronale (9).
Les premières anomalies IRM décrites au niveau du thalamus chez l'homme étaient essentiellement qualitatives avec une élévation du signal en séquence pondérée T2 (10). Par la suite des anomalies quantitatives notamment en diffusion (11) et spectroscopie (12) ont été mises en évidence. Le recours à la tomographie par émission de positrons (TEP) retrouve une augmentation de la distribution du [11C](R)-PK11195, traceur associé à l'activation de la microglie (13). Récemment notre groupe a démontré que la neurodégénérescence secondaire au sein du thalamus pouvait se traduire par une augmentation du fer (probablement en partie au sein de la microglie activée) quantifiable en IRM.

c) Substance noire

Les résultats histologiques révèlent un œdème astrocytaire et un élargissement des espaces périvasculaires (14,15) corrélés en imagerie avec une élévation précoce (48-72h) du signal T2 (16,17), et une diminution de l'ADC (18–20). Ces anomalies IRM n'en restent pas moins transitoires et régressent selon un délai variable (de quelques jours à plusieurs semaines selon les données de la littérature) alors qu'une perte neuronale définitive et une prolifération microgliale sont observées histologiquement sur modèle animal (21–23). Aucune étude à notre

connaissance n'a démontré de modification persistante en IRM qui pourrait refléter cette neurodégénérescence secondaire.

d) Hémisphère cérébelleux controlatéral

La voie cortico-ponto-cérébelleuse débute en regard du cortex cérébral fronto-pariétal, passe au niveau du pont et franchit la ligne médiane pour rejoindre l'hémisphère cérébelleux controlatéral (5). La survenue d'un infarctus dans le territoire de l'ACM peut entrainer une interruption de cette dernière et une inhibition fonctionnelle de l'hémisphère cérébelleux controlatéral (24). On parle de diaschisis cortico-cérébelleux croisé (DCC) (25). Ce phénomène se traduit précocement par une hypoperfusion de l'hémisphère cérébelleux en scanner (26) et IRM de perfusion (27) ainsi qu'un hypométabolisme en TEP (28) et une diminution de la fixation en scintigraphie au technitium-99 (29) . A terme ces anomalies peuvent évoluer favorablement ou plus rarement, aboutir à une atrophie cérébelleuse (30). Une perte significative des cellules de Purkinje est observée dans ce dernier cas (31).

3) Corrélation radio-clinique

a) Faisceau pyramidal

L'atrophie de la partie distale du faisceau pyramidal visible en imagerie dans les suites d'un infarctus est un facteur de mauvais pronostic moteur (32,33). Il en va de même pour les modifications observées précocement à savoir la baisse de l'ADC (34) et la diminution du nombre de fibres à 24-72h obtenue en imagerie par tenseur de diffusion (35).

b) Thalamus

L'impact clinique de la neurodégénérescence secondaire au niveau du thalamus, après un infarctus touchant la tête du noyau caudé et/ou certaines zones corticales connectées, a été récemment testé. L'augmentation de la charge en fer mesurée en IRM dans le thalamus (reflétant sa neurodégénérescence secondaire) influençait directement, et de manière indépendante de l'infarctus lui-même, l'évolution clinique motrice, cognitive et émotionnelle du patient à un an de l'Infarctus (36).

c) Substance noire

L'occlusion de l'ACM chez la souris est associée à une perte de neurones dopaminergiques au niveau du mésencéphale (substance noire et aire tegmentale ventrale) et à une augmentation modérée mais significative de l'anxiété chez l'animal (37). Toutefois aucune conséquence clinique corrélée aux anomalies transitoires observées en IRM au niveau de la SN n'a été démontrée chez l'homme (18,38).

d) Hémisphère cérébelleux controlatéral

L'asymétrie de fixation entre les deux hémisphères cérébelleux observée précocement en scintigraphie au technitium-99 après un infarctus était corrélée de manière indépendante à une évolution clinique péjorative du patient à 3 mois (29). Ces résultats ne concernaient toutefois qu'un nombre limité de patients.

4) Hypothèses physiopathologiques à l'échelle cellulaire

Les dommages observés dans la neurodégénérescence secondaire ne sont pas une simple répétition à plus faible échelle des mécanismes physiopathologiques observés dans la zone primitive.
Des mécanismes différents permettraient d'expliquer ce phénomène et pourraient coexister en fonction de la localisation initiale de l'infarctus (3,39) (Figure 2).

a) Dégénérescence rétrograde

La dégénération rétrograde (retrouvée fréquemment dans la littérature sous le terme de « dying back ») se propage de la lésion axonale au corps neuronal, aboutissant à une dégénérescence de l'ensemble du neurone.

b) Dégénérescence antérograde

La neurodégénérescence secondaire peut également s'étendre au-delà des synapses : c'est le cas de la dégénération antérograde trans-synaptique liée à la perte de signaux entrants (« dying forward »). Elle peut aboutir à la mort du neurone ou dans le cas de réseaux de connexions plus

complexes, à des modifications subtiles comme une atrophie des dendrites ou du corps neuronal.

c) L'interneurone : la voie indirecte

Une voie « indirecte » a été démontrée au niveau du cortex. L'interneurone s'active après la perte du signal entrant aboutissant à l'apoptose des neurones pyramidaux connectés (40).

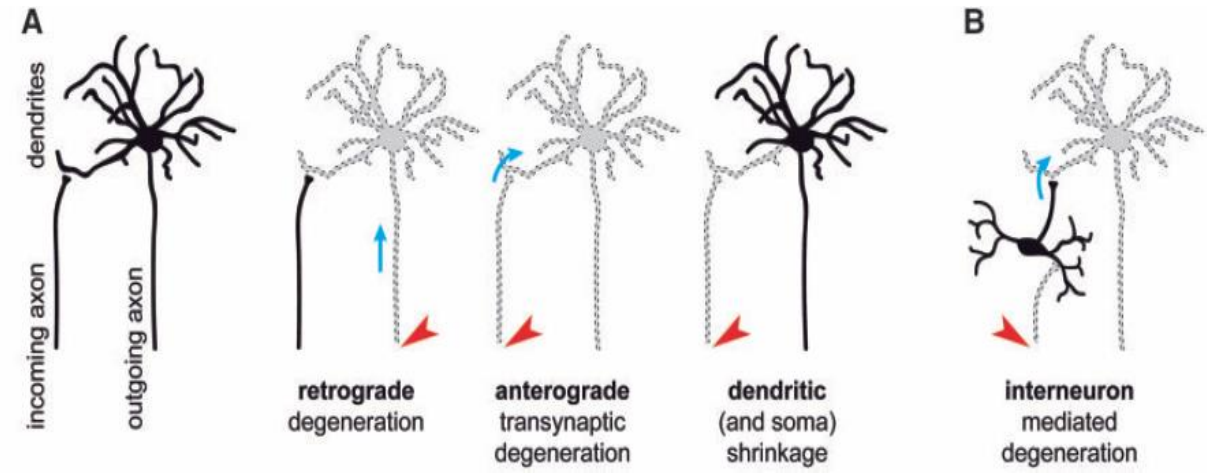


FIGURE 2. Représentation des mécanismes potentiels de neurodégénérescence secondaire à l'échelle cellulaire.
A. Modification neuronale à distance d'un AVC ischémique (tête de flèche rouge) touchant un axone afférent ou efférent.
B. Les interneurones pourraient jouer le rôle d'intermédiaire en induisant l'apoptose de neurones à la suite de la perte de l'entrée synaptique.
(D'après Marco Duering et al. ; Brain 2017)

5) Une cible thérapeutique potentielle

La fenêtre thérapeutique dans l'infarctus est étroite. La rapidité de la mise en œuvre du traitement (thrombolyse et/ou thrombectomie) constitue un facteur pronostic majeur.
Ce n'est pas le cas de la neurodégénérescence secondaire qui survient quelques jours après l'infarctus et continue de progresser sur plusieurs mois et années (39). Cette caractéristique en fait une cible thérapeutique potentielle, d'autant que l'impact sur l'évolution clinique du patient est désormais démontré dans certaines structures comme le faisceau pyramidal ou le thalamus.

La principale difficulté d'une approche thérapeutique neuroprotectrice résulte des nombreux mécanismes présents à l'échelle moléculaire (4,39). Des facteurs inflammatoires (41), apoptotiques (42), autophagiques (43), oxydatifs (44) ainsi que des neurotransmetteurs (45) sont en effet impliqués.

SYNTHESE :

. La neurodégénérescence secondaire correspond aux modifications morphologiques et neuronales en regard d'une ou plusieurs région(s) cérébrale(s) à distance mais connectée(s) avec la zone touchée par l'infarctus.

. C'est le cas du faisceau pyramidal, du thalamus, de la SN ipsilatéraux et de l'hémisphère cérébelleux controlatéral après occlusion de l'ACM.

. Au niveau de la SN, la neurodégénérescence se manifeste histologiquement par une prolifération microgliale et une perte neuronale. Pour cette structure de petite taille, il n'y a pas encore de marqueur fiable de neurodégénérescence en imagerie et l'impact sur l'évolution clinique du patient reste inconnu.

. Sur le plan physiopathologique et à l'échelle cellulaire cette neurodégénérescence secondaire peut être rétrograde, antérograde, ou indirecte.

. Compte tenu de son apparition retardée et donc de la fenêtre thérapeutique qu'elle offre, elle pourrait constituer une cible thérapeutique de choix malgré les nombreux mécanismes pouvant être impliqués à l'échelle moléculaire.

II. La substance noire

1) Anatomie

a) Les noyaux gris centraux

Les noyaux gris centraux (NGC) peuvent être divisés en deux groupes selon leur localisation anatomique. Le premier groupe correspond à la substance grise sous-corticale télencéphalique qui comprend le striatum (constitué du noyau caudé, du putamen et du globus pallidus), le claustrum et l'amygdale. Le second groupe, plus profond est diencéphalique (représenté par le thalamus et le noyau sous-thalamique) et mésencéphalique (représenté par la SN). L'ensemble de ces structures possèdent des interconnexions complexes et travaillent de concert avec le cortex à l'exécution des fonctions motrices, cognitives et émotionnelles (46,47).

b) La substance noire

La SN est localisée au niveau du mésencéphale, à la partie postérieure des pédoncules cérébraux et ventralement par rapport aux noyaux rouges et à l'aire tegmentale ventrale. Elle débute dans le plan cranio-caudal à hauteur des corps mamillaires et se termine à hauteur des noyaux propres du pont (48).
Elle peut être divisée sur le plan histologique, anatomique, et fonctionnelle en deux parties : latéralement la pars reticulata (SNr) et médialement la pars compacta (SNc) (49,50) (Figure 3).

i) Pars reticulata

La SNr est principalement composée de neurones gabaergiques et dans une moindre mesure, de neurones cholinergiques et dopaminergiques. C'est l'une des principales structures de « sortie » des NGC vers le thalamus avec la partie interne du globus pallidus (51).

i.a) Connexions afférentes

Les principales afférences proviennent du striatum et du noyau sous-thalamique et correspondent respectivement à la voie directe et à la voie indirecte (52,53). La voie directe est inhibitrice et comprend les projections neuronales gabaergiques provenant directement du striatum. La voie indirecte est excitatrice et comprend les projections neuronales gabaergiques depuis le striatum (globus pallidus externe) vers le noyau sous-thalamique d'où partent des projections neuronales glutamatergiques vers la SNr (54).

i.b) Connexions efférentes

La SNr envoie ses principales efférences gabaergiques au thalamus (55) (notamment en regard de son noyau ventro-médian) (56) et dans une moindre mesure au colliculus supérieur (57) et au noyau pédonculopontin (58). Elle est également étroitement connectée avec la SNc vers laquelle elle envoie ses projections inhibitrices (59,60).

ii) Pars compacta

La SNc, comme l'aire tegmentale ventrale, est principalement composée de neurones dopaminergiques.

ii.b) Connexions afférentes

Plus de 70% des afférences de la SNc sont gabaergiques (61). Elles proviennent pour la majorité du striatum (62) (dont la partie externe du globus pallidus) et de la SNr.
Plus récemment des projections gabaergiques provenant de de la queue de l'aire tegmentale ventrale (tVTA) ont été mises en évidence (63,64).
Les principales afférences glutamatergiques proviennent du noyau pédonculopontin (65) et du noyau sous-thalamique (66).

ii.a) Connexions efférentes

Les neurones dopaminergiques de la SNc projettent la majorité de leurs axones vers le striatum et forment la voie nigro-striée (46,67) . Des projections dendritiques vers la pars reticulata (68) et le noyau sus-thalamique (69) sont également rapportées dans la littérature.

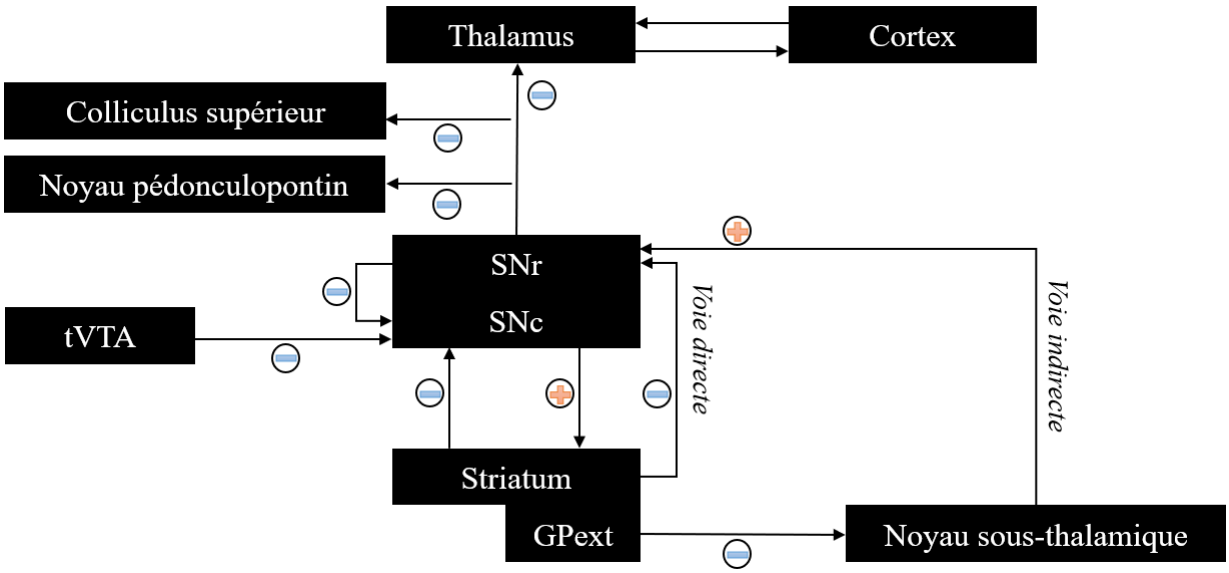


FIGURE 3. Représentation simplifiée des afférences et efférences de la substance noire basée sur les données de la littérature. SNr= Substance noire pars reticulata, SNc = Substance noire pars compacta, GPext = Globus pallidus externe, tVTA = queue de l'aire tegmentale ventrale. (Figure réalisée d'après les données de la littérature)

2) Fonctions et pathologies

a) Pars reticulata

D'un point de vue fonctionnel, la SNr joue un rôle clef dans la régulation de boucle cortico-NGC-thalamo-corticale de par ses connexions gabaergiques avec le reste des NGC. Cette boucle est impliquée dans le contrôle moteur (70), les processus associatifs (71) et émotionnels (72). Ainsi, chez l'animal, l'inhibition des neurones de la SNr par une injection locale d'agonistes gabaergiques est à l'origine de mouvements choréiques des membres supérieurs et inférieurs ainsi que d'un torticolis (73). A l'inverse, la stimulation à haute fréquence de cette zone entraine une anhédonie et une perte de motivation (74).

b) Pars compacta

La SNc joue un rôle majeur dans le contrôle du mouvement involontaire par l'intermédiaire de la voie nigro-striée (47,75). La perte des neurones dopaminergiques au niveau de cette voie est à l'origine des anomalies motrices observées dans la maladie de Parkinson (76).
La destruction sélective chez l'animal des neurones dopaminergiques de la SNc (n'impliquant pas l'aire tegmentale ventrale) induit par ailleurs une profonde apathie (77) suggérant un rôle significatif de la SNc dans le comportement affectif et motivationnel (78).
Les différentes études chez l'animal tendent également à confirmer sa participation aux processus cognitifs comme la mémoire (79,80) ainsi que la régulation du sommeil (81).
Enfin elle est impliquée dans le processus de l'apprentissage par l'intermédiaire du circuit de la récompense dans lequel la dopamine joue un rôle fondamental (82). C'est ce même circuit qui est impliqué dans les comportements addictifs (83).

3) Exploration de la substance noire non pathologique en IRM

a) Aspect en IRM conventionnelle

La SN est hypo intense sur les séquences pondérées en T2* en rapport avec la présence de fer confirmée histologiquement (84–86). Ce signal est rattaché plus précisément à la SNr contenant deux fois plus de fer que la SNc en situation physiologique (87).
Elle présente également un hypersignal visible sur les séquences pondérées en T1 spin-écho et en densité proton (88). Cet hypersignal est en rapport avec la présence d'un pigment, la neuromélanine (89), présente en concentration importante dans les neurones dopaminergiques de la SNc (90,91) (Figure 4).
Toutefois la distinction précise entre SNr et SNc reste difficile en IRM, car il existe une importante superposition de la zone en hyposignal T2* et celle en hypersignal T1(92) (Figure 4).

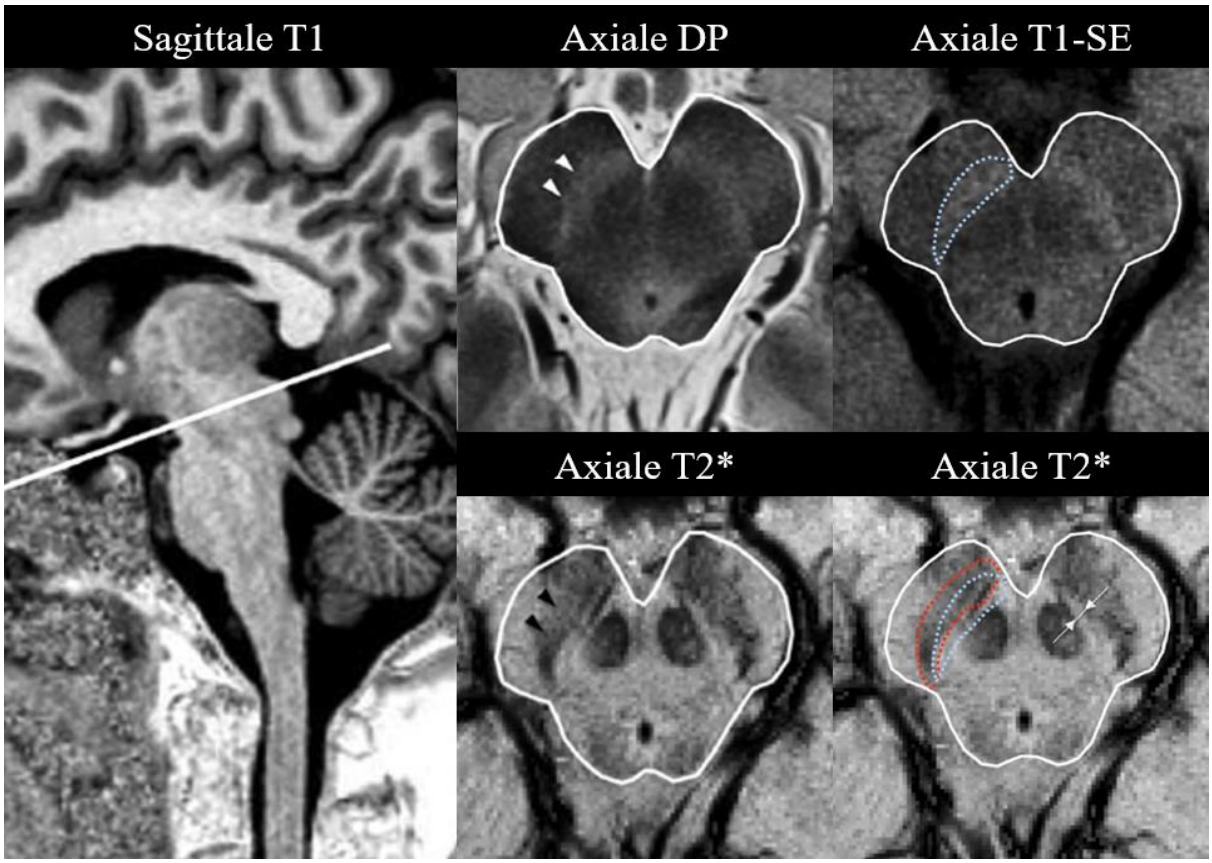


FIGURE 4. Anatomie de la substance noire en IRM 3 tesla (situation non pathologique) et illustration de la superposition entre la pars reticulata (SNr) et pars compacta (SNc). A gauche : séquence parasagittale T1 indiquant le niveau et l'orientation de la coupe axiale. A droite : Coupes axiales passant par la substance noire (le mésencéphale est contouré en blanc). La SN apparait en hypersignal sur les séquences pondérées en densité de proton (DP) (têtes de flèches blanches) et en T1 spin-echo (T1-SE) (contour bleu en pointillé). Elle apparait en hyposignal sur la séquence pondérée en T2* (têtes de flèches noires et contour rouge en pointillé). Notez la superposition entre la SNr (contour rouge pointillé) sur la séquence T2* et la SNc (contour bleu pointillé) sur la séquence T1-SE (Adapté de S.Lehéricy et al., Movement Disorders, 2014).

b) Aspect en très haut champ magnétique (7 Tesla)

L'IRM 7T par rapport à l'IRM 1,5 et 3T présente une résolution spatiale accrue avec une amélioration du rapport signal sur bruit et un meilleur contraste car plus sensible à l'effet de susceptibilité magnétique des zones riches en fer (93). Elle reste toutefois plus sensible aux inhomogénéités de champs non liées au fer et aux artefacts de mouvements. Plusieurs îlots (nigrosomes) en hypersignal sur la séquence pondérée en T2* ont été mis en évidence à la partie postéro-latérale de la SN. Ils correspondent aux neurones dopaminergiques de la SNc et tendent à disparaitre dans la maladie de Parkinson (94).

c) Apport de la tractographie

Jusqu'à récemment, la majorité des données permettant d'expliquer le rôle, le fonctionnement et l'anatomie de la SN relevait d'analyses histologiques ou électrophysiologiques chez l'animal. L'avènement des nouvelles techniques IRM comme la tractographie fait état de connexions beaucoup plus complexes et étendues qu'initialement supposées (95,96). Cette technique repose sur l'imagerie en tenseur de diffusion et correspond à une reconstruction en 3D des faisceaux de la substance blanche. Une récente étude réalisée chez l'homme a permis de mettre en avant une segmentation anatomique tripartite de la SN (latérale, ventrale et médiale) connectée avec les zones respectivement impliquées dans les fonctions motrices, cognitives et limbiques (95) (Figure 5). Elle propose ainsi une vision plus complète et complexe de l'organisation anatomique et fonctionnelle de la SN. La disposition de ces connexions motrices, cognitives et limbiques dans la SN est semblable à celle de l'organisation corticale (97,98)

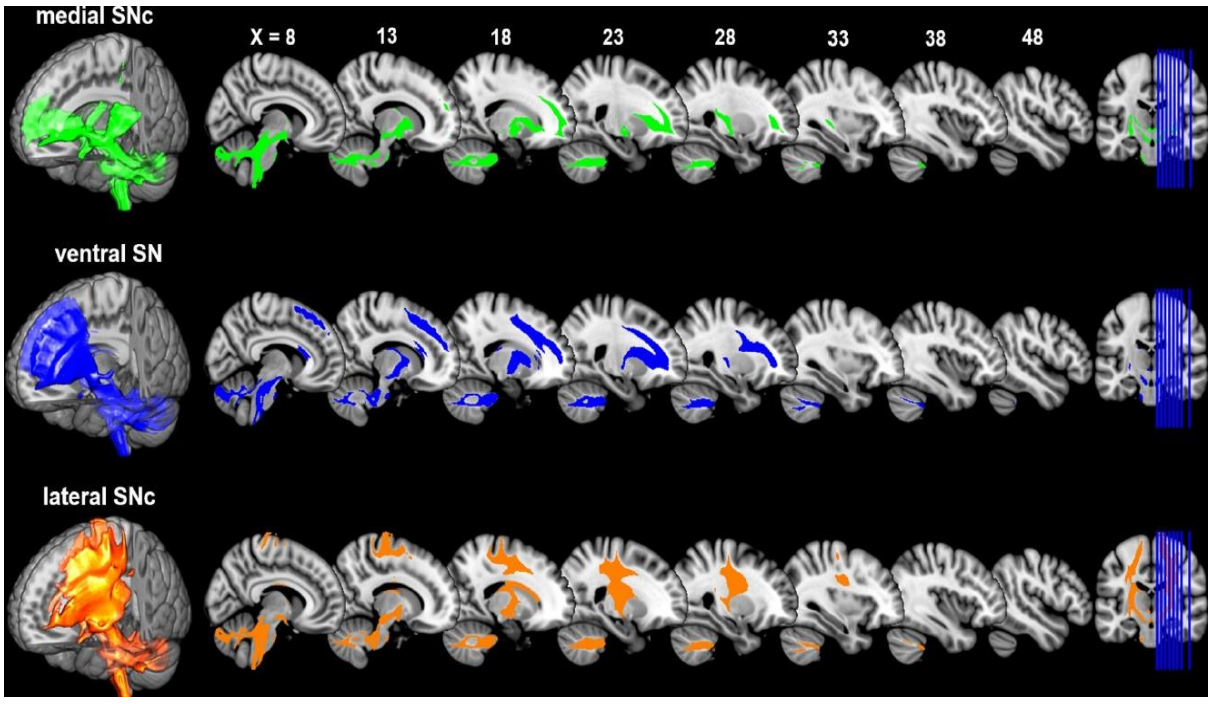


FIGURE 5. Segmentation anatomique et fonctionnelle tripartie latérale, ventrale et médiale de la substance noire en connexion avec respectivement les régions motrices, cognitives et le système limbique de l'encéphale explorées par tractographie et superposées à une séquence anatomique en trois dimensions pondérée en T1 (3DT1). (D'après Zhang et al., eLife 2017)

SYNTHESE :

. La SN peut être divisée anatomiquement et histologiquement en deux parties : la pars compacta (SNc), composée de neurones dopaminergiques, et la pars reticulata (SNr) composée de neurones gabaergiques.

. Elle partage des connexions fortes avec le striatum, formant la voie nigro-striée mais aussi avec d'autres structures faisant partie des NGC, tel que le thalamus ou le noyau sous-thalamique.

. Son rôle est fondamental et va au-delà de la motricité puisqu'il intéresse également les fonctions cognitives et émotionnelles.

. En IRM, la SNc apparaît en relatif hypersignal T1, liée à la présence de neuromélanine dans les neurones dopaminergiques, et la SNr en hyposignal T2* en raison de sa richesse en fer.

. Récemment, l'utilisation de la tractographie a permis de mettre en évidence une division tripartite de la SN (latérale, ventrale, médiale) respectivement connectée aux régions motrices, cognitives et au système limbique de l'encéphale.

III. Le métabolisme du fer cérébral

1) Le rôle paradoxal du fer

a) Un élément essentiel

Le fer est un cofacteur indispensable à de nombreux processus métaboliques nécessaires au fonctionnement cérébral. Il est impliqué dans le transport de l'oxygène, la synthèse d'ADN, d'adénosine triphosphate (ATP), de myéline (99) et de neurotransmetteurs comme la dopamine (100).

Il apparaît sous deux formes distinctes : le fer hémique, principalement lié à l'hémoglobine et le fer non-hémique, comprenant le fer ferrique (Fe^{2+}, très réactif) et le fer ferreux (Fe^{3+}, peu réactif) (101). Ces deux ions peuvent être liés à des protéines de stockage comme la ferritine ou de transport comme la transferrine.

b) Un élément toxique

Le métabolisme du fer cérébral doit être parfaitement régulé, avec une quantité suffisante pour remplir son rôle de cofacteur sans dépasser une certaine concentration au-delà de laquelle il devient toxique pour la cellule. En effet, l'excès de fer en présence d'oxygène est à l'origine d'une production de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) comme les radicaux libres par l'intermédiaire de la réaction d'oxydoréduction de Fenton (102) :

$$Fe^{2+}_{(aq)} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+}_{(aq)} + OH^-_{(aq)} + HO$$

Ces DRO endommagent l'ADN mitochondrial et nucléaire (103), affectent son expression par des mécanismes épigéniques (104), et détruisent la membrane lipidique cellulaire par un mécanisme de peroxydation (105). Ces éléments aboutissent à la mort cellulaire et illustrent un nouveau concept, la ferroptose, mécanisme de régulation de la mort cellulaire fer- et DRO-dépendant (106).

2) Métabolisme du fer cérébral

a) L'absorption du fer

i) Le passage de la barrière hémato-encéphalique

La régulation du métabolisme du fer au sein du SNC est complexe et encore imparfaitement comprise (107). La barrière hémato-encéphalique (BHE) est principalement formée de cellules endothéliales présentant des jonctions serrées (ainsi que de pieds astrocytaires et d'une membrane basale) protégeant l'encéphale des fluctuations de la concentration en fer dans le sang (108) (Figure 6).

Le fer lié à la transferrine traverse le versant luminal des cellules endothéliales de la BHE via le récepteur à la transferrine TFR1 (109). Le complexe transferrine/TFR1 est alors internalisé. Le fer se sépare de la transferrine sous l'impulsion du pH acide endosomique avant d'être exporté vers le cytosol par l'intermédiaire du transporteur DMT1 (Divalent Metal ion Transporteur-1). Il traverse ensuite le versant adluminal des cellules endothéliales vers l'interstitium par l'intermédiaire d'une protéine exportatrice : la ferroportine (110).

Une autre voie d'absorption n'impliquant pas le transporteur DMT1 et faisant appel à des récepteurs et transporteurs non identifiés est évoquée dans la littérature (111).

ii) L'absorption du fer par les cellules

Les cellules gliales (oligodendrocytes, astrocytes et microglie) et les neurones absorbent le fer par des mécanismes distincts. Les neurones captent le fer via le récepteur DMT1 et TfR1 qui va pouvoir être stocké grâce à la ferritine ou être exporté par la ferroportine (112). La ferroportine est par ailleurs réprimée par l'hepcidine (113), peptide sécrété par le foie et dans certaines conditions par les cellules gliales (114). Les oligodendrocytes participent à la myélinisation des axones et ont besoin de quantités importantes de fer qui sont absorbées par l'intermédiaire de leurs propres récepteurs nommés Tim2 (115). Les astrocytes utilisent pour l'absorption du fer le récepteur DMT1 et un autre récepteur encore non identifié (116). Enfin, le mécanisme d'absorption de la microglie reste peu connu et peu étudié (107).

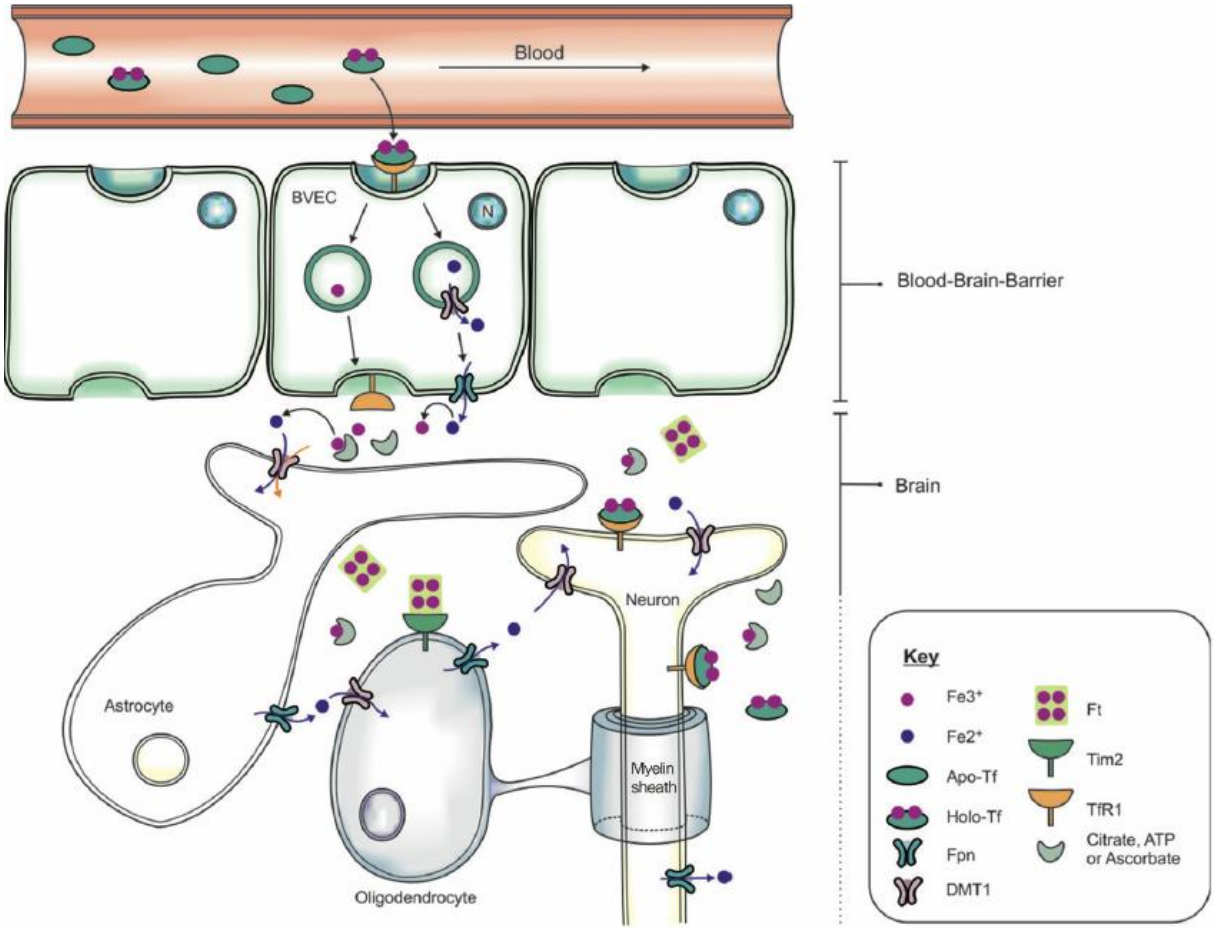


FIGURE 6. Schéma représentant le passage du fer au niveau de la barrière hémato-encéphalique et dans les différentes cellules de l'encéphale.
(D'après Azhaar Ashraf et al., Frontiers in Aging Neuroscience 2018)

b) Mécanismes de régulations

i) La répartition du fer intracellulaire

Au sein de la cellule, le pool total de fer peut être divisé en trois catégories :

- « Un pool de stockage » correspondant à la ferritine, qui constitue une réserve en fer accessible.
- « Un pool fonctionnel » comprenant le fer nécessaire aux fonctions intra et extra-mitochondriales de la cellule.
- « Un pool de fer labile » correspondant au fer libre intracytoplasmique qui joue un rôle essentiel dans le métabolisme du fer puisqu'il régule l'importation et l'exportation du fer dans la cellule. C'est ce fer libre qui, à trop haute concentration, va devenir toxique pour la cellule via la production de DRO (117).

ii) Protéines régulatrices du fer (IRP) et éléments de réponse au fer (IRE)

Deux protéines (IRP1 et 2) sensibles au fer du pool labile intracytoplasmique régulent le métabolisme du fer au niveau post-transcriptionnel (118). Pour cela elles doivent se lier aux éléments de la réponse en fer (IRE) situés à proximité de la région non traduite de l'ARN messager (ARNm) des protéines de stockage et de transport du fer. En fonction de leur site de liaison au niveau de l'ARNm (5'-UTR ou 3'-UTR), l'expression de la protéine peut être augmentée (3'-UTR) ou diminuée (5'-UTR) pour répondre au besoin de la cellule (119).

En cas de concentration intracellulaire faible, les IRP 1 et 2 se lient aux IRE aboutissant à une augmentation de l'importation de fer par TFR1 et DMT1 (fixation 3'-UTR) et à une diminution de l'exportation et de du stockage du fer par la ferroportine et la ferritine (fixation 5'-UTR).

A l'inverse en cas de forte concentration en fer, le fer interagit avec les IRP empêchant leur fixation aux IRE et entrainant une augmentation de l'exportation fer et de son stockage, ainsi qu'une diminution de son importation (108) (Figure 7).

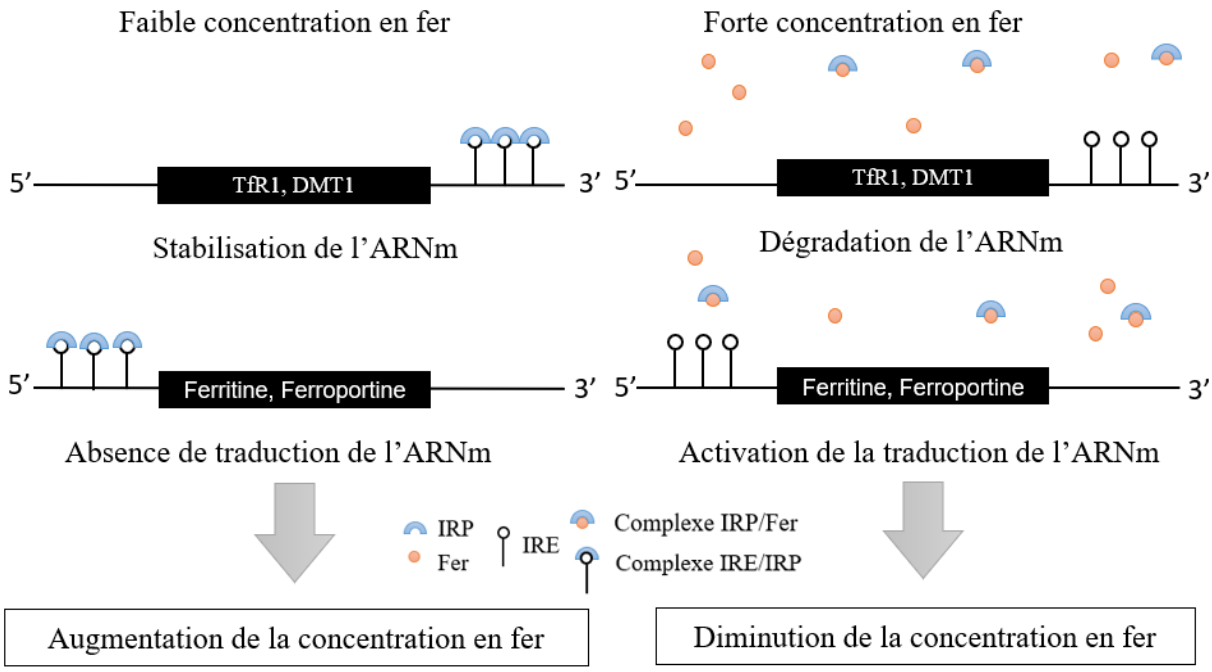


FIGURE 7. Mécanisme de régulation post-transcriptionnel du fer au sein de la cellule.
DMT1 = Divalent metal ion transporteur-1, IRE = Iron responsive elements, IRP = Iron regulatory proteins, TfR1 = Transferrine receptor 1.
(Figure réalisée d'après les données de la littérature)

3) Ferruginisation des NGC et pathologies neurodégénératives

a) La concentration en fer cérébral augmente avec l'âge

Basé sur des études post-mortem, le fer cérébral chez l'homme est corrélé positivement avec l'âge avec une concentration maximum retrouvée au niveau des NGC et plus particulièrement dans le putamen, le globus pallidus et la SN (120) : c'est la ferruginisation des NGC. A l'inverse les plus faibles concentrations sont retrouvées en regard du cortex, du tronc cérébral et du cervelet (121).
Plusieurs facteurs ont été avancés pour expliquer ce phénomène parmi lesquels l'augmentation de la perméabilité de la BHE (122), la prolifération de cellules microgliales actives aboutissant à un état pro-inflammatoire (123) et l'augmentation de l'expression de DMT1 (124).

b) L'implication du fer cérébral dans les pathologies neurodégénératives

L'accumulation anormale de fer intracérébral dans certaines régions spécifiques accompagne de nombreuses pathologies neurodégénératives telle que la maladie de Parkinson (MP) ou la maladie d'Alzheimer (125). Il n'est pas encore déterminé si cette accumulation est la cause ou la conséquence de telles pathologies (3,107). Toutefois, du fait de sa toxicité, il semble qu'elle participe à l'accélération de la neurodégénérescence et donc à l'aggravation de de ces pathologies.

c) Exemple de la maladie de Parkinson (MP)

La MP est associée à une augmentation du fer dans la SN (126). Cette augmentation est corrélée positivement à la sévérité de la maladie (127). Plusieurs mécanismes altérant le métabolisme du fer sont susceptibles d'expliquer cette accumulation par rapport aux sujets sains du même âge. En plus de l'augmentation de la perméabilité de la BHE (128) et de l'augmentation de l'expression du transporteur membranaire DMT1 au sein des neurones dopaminergiques (129), il existe une dysfonction de la céruléoplasmine (enzyme oxydant Fe2+ en fer ferrique Fe3 +) ainsi que du récepteur à la transferrine (130,131). La neuromélanine, dans des conditions physiologiques, protège les neurones dopaminergiques en stockant la dopamine excédentaire et le fer. La destruction de ces neurones dans la MP s'accompagne donc d'une dégradation de

cette molécule libérant le fer préalablement stocké et aggrave le stress oxydatif préexistant (132).

4) Le fer et la neurodégénérescence secondaire

a) Etudes pré-cliniques

Les études pré-cliniques ont démontré une accumulation en fer dans le thalamus (133) et la SN (134,135) en lien avec la neurodégénérescence secondaire à un infarctus cérébral. L'origine du fer dans ces régions de neurodégénérescence secondaire est débattue mais pourrait être en rapport avec l'afflux de cellules inflammatoires riches en fer et la libération dans le milieu extra-cellulaire du fer normalement contenu dans les neurones et la myéline.

i) L'activation de la microglie

Expérimentalement, la neurodégénérescence de la SN a été étudiée en lésant le striatum (injection d'acide ibotenique) qui présente de nombreuses connections avec la SN (cf. au-dessus). Progressivement, une perte neuronale et une accumulation de cellules inflammatoires microgliales activées riches en fer ont été détectées au niveau de la SNr. Il est supposé que la microglie activée et riche en fer, marqueur de l'inflammation (136), phagocyte les neurones endommagés par la déconnexion nigro-striée. Le turn-over et la mort cellulaire des microglies vont donc relarguer du fer dans le compartiment extracellulaire (137). Le fer ainsi libéré va aggraver et entretenir la perte neuronale par l'intermédiaire de production de DRO (138). Cette hypothèse semble être confirmée par l'augmentation réactionnelle de l'expression de l'hème oxygénase, protéine chaperonne luttant contre le stress oxydatif (139).
Les mêmes phénomènes sont observés au niveau du thalamus après occlusion expérimentale de l'ACM avec en plus une accumulation du fer extra-cellulaire se concentrant principalement à la périphérie de dépôts amyloïdes.

ii) La dégradation de la myéline

Une autre hypothèse évoquée mais moins étudiée est la possibilité d'un lien entre l'accumulation de fer et la myéline (3). En effet, la myéline est connue pour son fort contenu en fer non-hémique au sein du parenchyme cérébral (140). La neurodégénérescence des axones

des neurones (et donc leur gaine de myéline) pourrait participer à l'accumulation de fer au sein des zones déconnectées.

b) Etudes chez l'homme

Récemment et pour la première fois, l'accumulation en fer en lien avec la neurodégénérescence secondaire a été démontrée chez l'homme au niveau du thalamus (36). Cette accumulation contribuait à une évolution clinique péjorative des patients à 1 an, sur le plan fonctionnel, cognitif et émotionnel. La mesure précise de la charge en fer a été obtenue in vivo, grâce à l'IRM, particulièrement sensible à cet élément. Cette modalité d'imagerie tient une place de plus en plus importante dans la compréhension du dysfonctionnement du métabolisme du fer et de son rôle dans les pathologies neurodégénératives (101). A notre connaissance, aucune donnée concernant la mesure de la charge en fer par IRM dans la SN en rapport avec la neurodégénérescence secondaire n'est rapportée dans la littérature.

SYNTHESE :

. Le fer est un métabolite indispensable au fonctionnement cérébral de par son implication dans le transport de l'oxygène et son rôle de cofacteur dans la synthèse d'ATP, d'ADN, de myéline, et des neurotransmetteurs.

. Il peut être sous forme hémique (lié à l'hémoglobine) ou non-hémique (soluble ou lié à une protéine de stockage comme la ferritine ou de transport comme la transferrine).

. En trop grande quantité il aboutit à la formation de dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) qui favorisent le stress oxydatif et causent la destruction de la cellule. Ce mécanisme de mort cellulaire fer-dépendant est appelé ferroptose.

. De nombreuses protéines de transport participent au passage du fer au niveau de la BHE. De même chaque cellule a ses propres mécanismes d'adaptation.

. La régulation de la concentration du fer, et notamment du pool labile, se fait principalement au niveau post-transcriptionnel via les protéines de la régulation du fer (IRP) et les éléments de réponses au fer (IRE).

. Une augmentation de la concentration en fer est retrouvée dans de nombreuses pathologies neurodégénératives comme la maladie de Parkinson.

. La neurodégénérescence secondaire de la SN après lésion du striatum s'accompagne également d'une nette augmentation de la concentration en fer corrélée à l'activation de la microglie et à la perte neuronale et myelinique.

. Le fer constitue donc un marqueur pertinent de la neurodégénérescence secondaire. Aucune étude à notre connaissance n'a évalué ce paramètre en imagerie au niveau de la SN après un infarctus.

GLOSSAIRE

Céruloplasmine

Ferroxidase impliquée dans le métabolisme du fer, oxydant le fer ferreux (Fe^{2+}) en fer ferrique (Fe^{3+}). Elle utilise le cuivre comme cofacteur.

Dérivés réactifs de l'oxygène (DRO)

Molécules réactives dérivant de la molécule d'oxygène comprenant les radicaux libres, les ions oxygénés et les peroxydes.

Divalent métal transporteur (DMT1)

Principal transporteur transmembranaire de Fe^{2+} et d'autres cations métalliques vers le cytoplasme.

Fer non-hémique

Se définit par opposition au fer hémique retrouvé dans l'hémoglobine. Présent dans toutes les cellules, il peut être lié à une protéine (ferritine ou transferrine) ou non (fer ferreux (Fe^{2+}) et fer ferriques (Fe^{3+})).

Ferritine

Principale protéine de stockage du fer. Le fer y est stocké sous une forme soluble et non-réactive.

Ferroportine

Principale protéine exportatrice de fer (sous sa forme Fe^{2+}) en dehors de la cellule.

Ferroptose

Mécanisme de régulation de mort cellulaire (RMC) fer- et DRO-dépendante se distinguant d'un point de vue génétique, biochimique et morphologique des autres formes de RMC.

Hepcidine

Petit peptide produit par le foie et les cellules gliales dont la sécrétion dépend la charge en fer et dont le rôle est de moduler la quantité de fer exporté par la ferroportine.

Neuromélanine

Pigment complexe intra neuronal ayant la capacité d'accumuler différents métaux dont le fer. Elle est principalement retrouvée dans les neurones dopaminergiques de la substance noire.

Réaction de Fenton

Réaction d'oxydoréduction au cours de laquelle le peroxyde d'hydrogène oxyde le fer ferreux (Fe^{2+}) pour aboutir à la production du radical hydroxyl (OH^-)

Récepteur de la transferrine TFR1

TFR1 est un récepteur membranaire ubiquitaire de la transferrine aboutissant à une endocytose de celle-ci.

Transferrine

Protéine ayant une forte affinité avec le fer, présent dans le serum, le système lymphatique et le liquide cérébro-spinale (LCS).

IV. La mesure du fer par relaxométrie R2*

1. Principes physiques

a) Le phénomène de susceptibilité magnétique

La susceptibilité magnétique (notée χ) désigne la capacité intrinsèque d'un matériau à induire une variation du champ magnétique local en présence d'un champ magnétique externe.
L'aimantation résultante pourra soit :
- S'opposer au champ magnétique (χ <0) : c'est le diamagnétisme.
- S'aligner sur le champ magnétique (χ > 0) : c'est le paramagnétisme.
Les principales substances paramagnétiques rencontrées dans l'organisme contiennent du fer : la ferritine, l'hémosidérine et les produits de la dégradation de l'hémoglobine.
Le calcium et la myéline se comportent à l'inverse comme des substances diamagnétiques.

b) Relaxation transversale T2 et T2*

i) La relaxation transversale T2

L'excitation (l'apport d'énergie) du vecteur d'aimantation tissulaire (vecteur M) par l'impulsion d'une onde de radiofréquence (RF) entraine l'apparition d'une composante transversale (vecteur Mxy) par rephasage des protons (spins).
Dès l'arrêt de l'impulsion de l'onde de RF, le phénomène inverse survient avec un déphasage des protons. L'aimantation transversale décroît alors rapidement : c'est la relaxation transversale T2 aussi nommée relaxation spin-spin car elle résulte d'une interaction des protons entre eux. La valeur du T2 correspond au temps auquel 63% de la décroissance de l'aimantation transversale a eu lieu (figure 8).

ii) Le T2 écho-de-gradient (T2*)

A l'échelle microscopique, le champ magnétique (vecteur B0) n'est pas homogène. Ces inhomogénéités résultent notamment du phénomène de susceptibilité magnétique lié au fer (décrit au-dessus) et vont accélérer le déphasage des spins (141).

La séquence T2* prend en compte ces inhomogénéités (propres au champ magnétique) ainsi que celles d'origine moléculaire liées à l'interaction des protons entre eux (T2). La valeur du T2* est donc plus courte que celle du T2 (Figure 8).

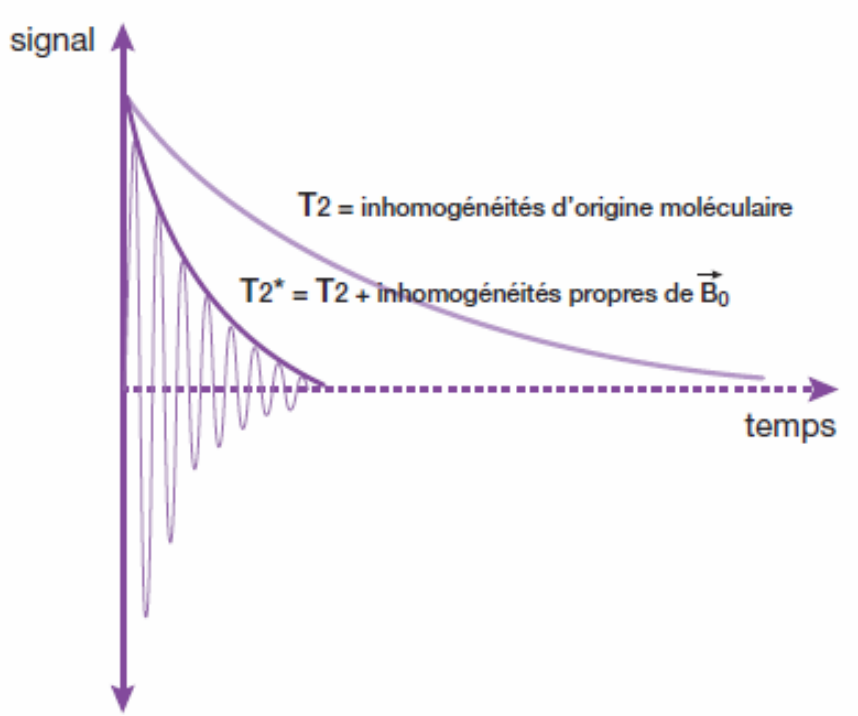


FIGURE 8. Evolution du signal de T2 et T2* en fonction du temps d'écho (TE).
(D'après B.Kastler et al, comprendre l'IRM, 7ème édition)

c) La relaxométrie R2*

Le taux de relaxation transverse R2* est donc particulièrement sensible aux inhomogénéités de champ (directement liées à la susceptibilité magnétique) engendrées par la présence de fer. Il correspond à l'inverse de T2* (1/T2*). Une structure riche en fer apparaitra en hyposignal T2* et présentera un R2* d'autant plus augmenté qu'elle est plus riche en fer.
L'équation suivante lie les temps de relaxation T2 et T2* :

$$R2^* = \frac{1}{T2*} = \frac{1}{T2} + \frac{\gamma}{2\pi}.\Delta BI$$

Avec :

R2* = taux relaxation transverse exprimé en s^{-1}
γ = rapport gyromagnétique exprimé en $rad.s^{-1}.T^{-1}$
ΔBI = inhomogénéités de champs magnétique dans le voxel exprimé en tesla

Pour mesurer le taux de relaxation transverse R2* il faut donc échantillonner la décroissance du signal en imagerie pondérée en T2* au cours de plusieurs temps d'échos (Figure 9).

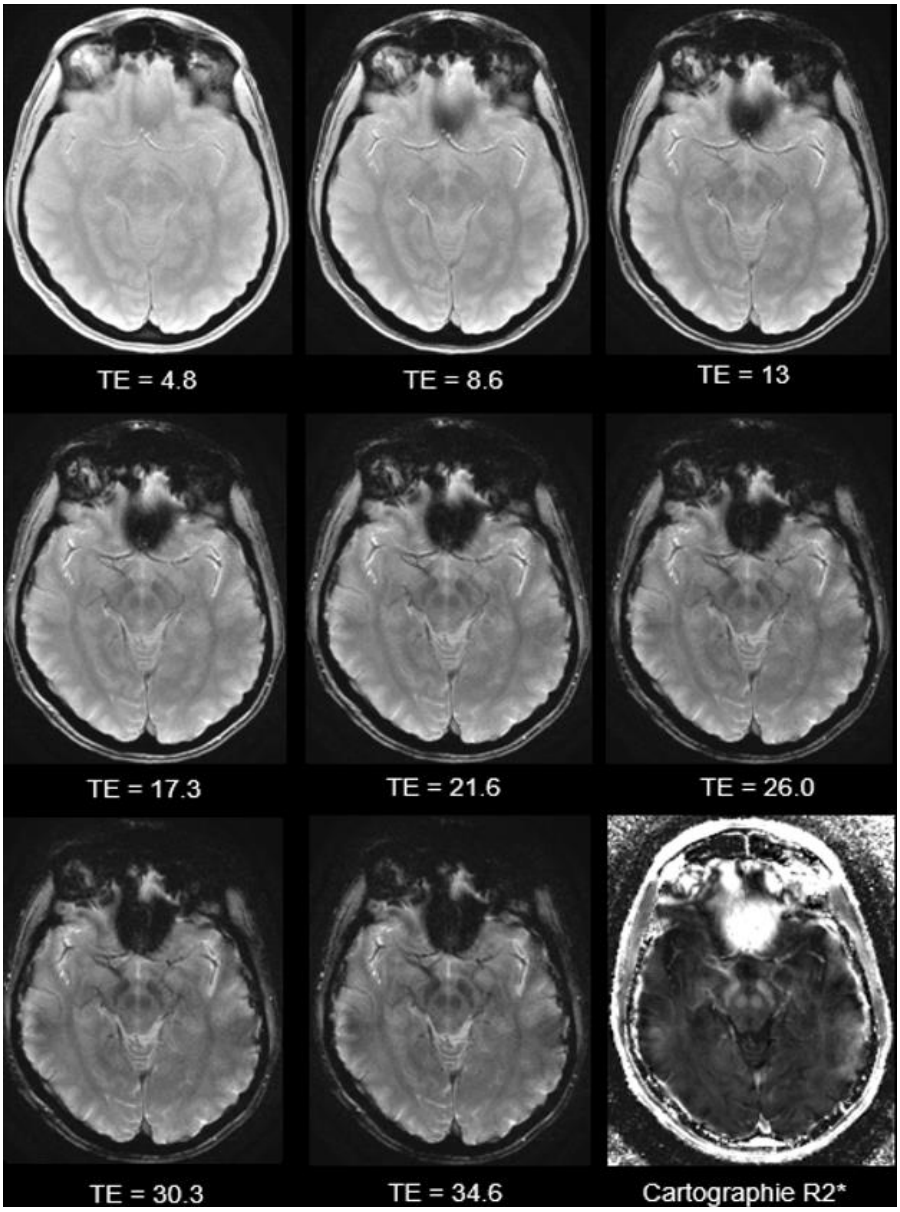


FIGURE 9. Exemple d'acquisitions en coupes axiales centrées sur le mésencéphale en pondération T2* à 8 temps d'échos (TE) différents (étape 1) avec construction de la cartographie R2* après ajustement voxel à voxel obtenu par une équation mono-exponentielle (étape 2). (Patient issu de la cohorte BBS)

Le choix du nombre d'échos et des valeurs de TE optimales est débattu mais est proposé dans la littérature.

L'étape suivante consiste à quantifier la valeur de T2* voxel à voxel à partir de la chute du signal mesurée et de l'équation théorique qui régit cette chute de signal (142) :

$$S(t) = S_0 . e^{-t/T2^*}$$

Une cartographie R2* (1/T2*) peut alors être réalisée voxel à voxel (Figure 9) et permet des mesures précises en regard de régions d'intérêt (ROI) comme la SN.

2) Validation post-mortem

Des études post-mortem chez l'homme ont été publiées sur la corrélation entre les valeurs de R2* et la concentration en fer mesurée histologiquement (143,144).
L'une d'entre elles confirme une forte corrélation positive linéaire (r^2=0.9) entre les valeurs R2* en IRM 3T et la concentration en fer mesurée par spectroscopie de masse au niveau des NGC (Figure 10). Une corrélation semblable a été identifiée au niveau de la SN chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer (145) et chez l'animal (146).
Par ailleurs d'autres méthodes de mesures du fer peuvent être employées en IRM.

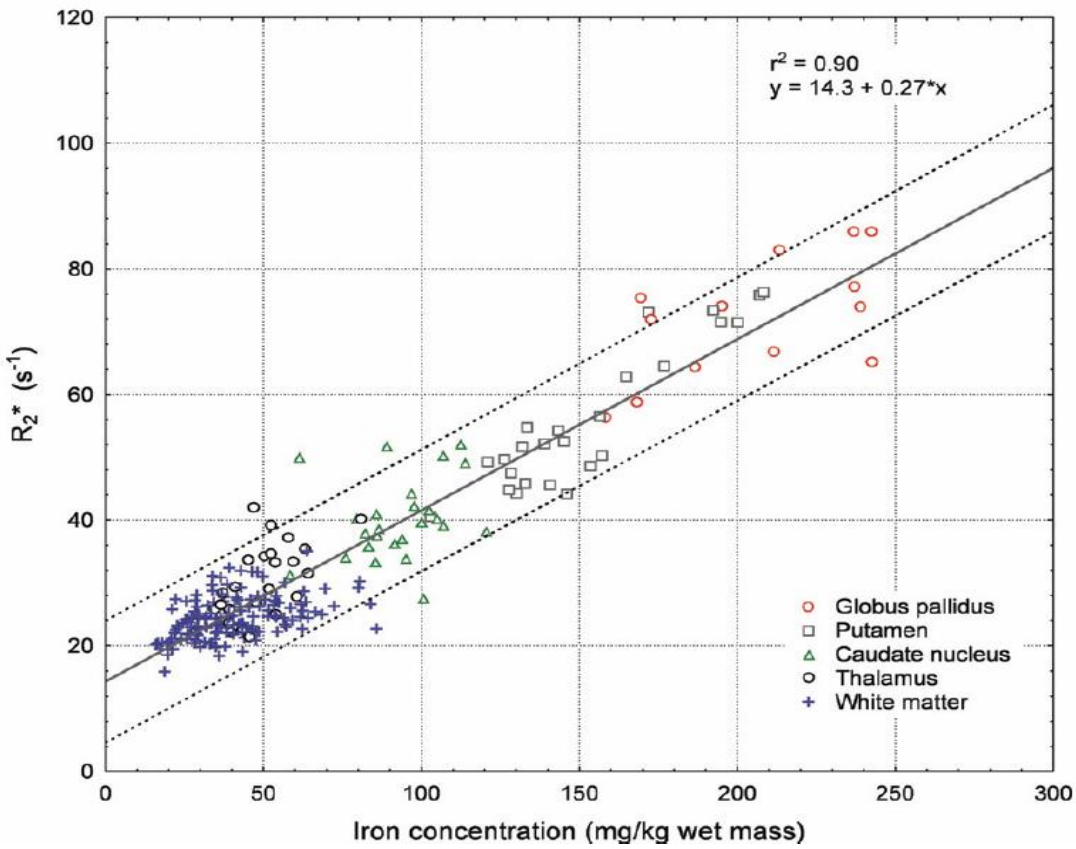


FIGURE 10. Corrélation entre la concentration en fer (données histologiques post-mortem) et les valeurs de R2 * chez l'homme (régression linéaire).
(D'après C.Langkammer et al, Radiology, November 2010)

3) Une autre approche : l'imagerie de susceptibilité magnétique quantitative

L'imagerie de susceptibilité magnétique quantitative est une technique récemment développée qui va utiliser l'information de phase pour produire une cartographie des propriétés magnétiques du tissu (147).
Elle a été validée en post-mortem pour la mesure du fer cérébral (148), et présenterait une sensibilité supérieure à celle du R2* dans la quantification du fer au niveau des NGC dans certaines conditions pathologiques (143). Elle a l'avantage à très haut champ (>7T) de conserver un excellent contraste anatomique et une délimitation de la substance grise comparativement au R2* (149). Toutefois cette méthode est complexe et les valeurs obtenues dépendent de manière significative de l'algorithme de post-traitement utilisé. De plus, les valeurs obtenues sont relatives et non absolues : elles dépendent du référentiel initialement choisi (le plus souvent le LCS dans les ventricules) (150).

4) Quelle forme de fer est mesurée en IRM ?

Les données histologiques suggèrent que la ferritine et l'hémosidérine sont les seuls matériaux paramagnétiques en concentration suffisante pour affecter le signal IRM au niveau de l'encéphale (151). En effet, environ 90 % du fer non-hémique cérébral est lié à la ferritine (152). Les concentrations de transferrine ou de fer soluble seraient trop faibles pour affecter le signal IRM de même que les autres composants paramagnétiques tels que le cuivre ou le manganèse en situation non pathologique (153). Il est donc important de noter que le fer mesuré in vivo n'est pas celui directement responsable du stress oxydatif mais reflète très probablement ce contingent.
En effet, il existe une forte corrélation linéaire positive entre la ferritine d'une part et le fer soluble d'autre part (154). De plus, les corrélations entre le fer mesuré en IRM et les manifestations cliniques de certaines pathologies dégénératives (101) sont en accord avec les données histologiques post-mortem (155).
Ainsi, même si la mesure du fer in vivo par IRM reflète le fer lié à la ferritine, il reste probablement un marqueur fiable des dysfonctionnements métaboliques et du stress oxydatif (156).

SYNTHESE :

. La susceptibilité magnétique désigne la capacité intrinsèque d'un matériau (comme le fer) à induire une variation du champ magnétique local en présence d'un champ magnétique externe.

. En T2* la chute du signal est liée à l'interaction des protons entre eux (effet T2) ainsi qu'aux inhomogénéités propres au champ magnétique en lien avec la susceptibilité (induite principalement par la présence de fer).

. La mesure du taux de relaxation transverse R2* (1/T2*) nécessite dans un premier temps l'échantillonnage de la décroissance du signal T2* au cours de plusieurs temps d'échos. La chute de signal mesurée et l'équation théorique qui régit cette chute de signal permet de quantifier le T2* voxel à voxel et donc de générer une cartographie R2* de l'encéphale sur laquelle des mesures peuvent être réalisées.

. Les valeurs obtenues avec la relaxométrie R2* ont été validées par des études post-mortem comme reflétant la charge en fer.

. Le fer cérébral mesuré en IRM correspond majoritairement au fer non-hémique lié à la ferritine mais reste corrélé au fer soluble responsable du stress oxydatif.

B. ETUDE MENEE

I. Cohorte BBS

Le travail de cette thèse est un des objectifs secondaires de l'étude « Brain Before stroke » (BBS) qui est une cohorte prospective monocentrique menée entre juin 2012 et février 2015 au CHU de Bordeaux dans le cadre d'un programme hospitalier de recherche clinique (PHRC) inter-régional. 428 patients victimes d'un AVC ischémique supratentoriel datant de 24 à 72h ont été inclus et suivi pendant 1 an (Figure 11).

L'étude BBS vise à démontrer l'intérêt de l'IRM dans l'évaluation précoce du devenir fonctionnel et cognitif des patients par l'analyse du parenchyme directement touché par l'infarctus (région A) et du parenchyme cérébral non ischémié (région B). Le parenchyme cérébral non ischémié correspond au phénotype du cerveau sur lequel survient l'infarctus (vieillissement cérébral, maladie des petits vaisseaux) et aussi aux régions déconnectées par l'infarctus et à risque de neurodégénérescence secondaire.

Notre travail a nécessité l'utilisation des données cliniques et IRM initiales (24-72h) et à 1 an (suivi).

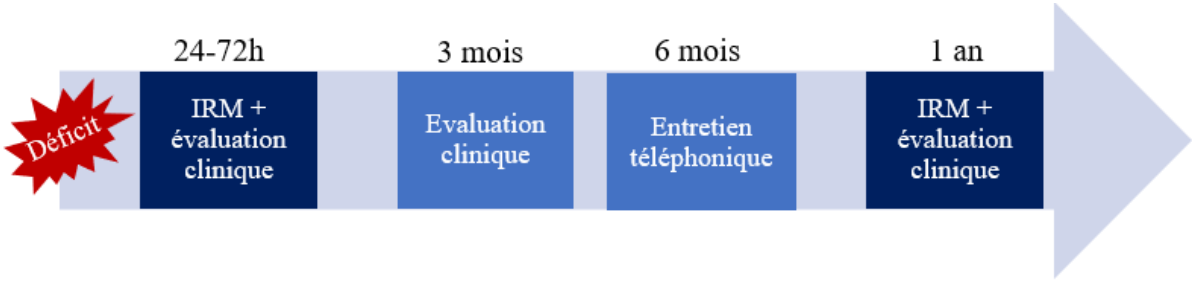


FIGURE 11. Frise chronologique récapitulative de l'étude

II. Objectifs de notre étude

L'objectif principal de notre étude est de démontrer que la neurodégénérescence à long terme de la SN secondaire à un infarctus supratentoriel peut être mesurée grâce à la séquence R2* et contribue de manière indépendante à l'évolution clinique du patient.

III. Article

Long-term neurodegeneration of substantia nigra secondary to ipsilateral infarct is quantified with iron-sensitive imaging and impacts motor outcome

Pierre Antoine Linck[1,2], Gregory Kuchcinski[3,4], Fanny Munsch[1,2*], Romain Griffier[5*], Renaud Lopes[3,4], Gosuke Okubo[2], Sharmila Sagnier[2,6], Pauline Renou[6], Julien Asselineau[5], Paul Perez[5], Vincent Dousset[1,2,7], Igor Sibon[2,6], Thomas Tourdias[1,2,7]

[1] CHU de Bordeaux, Neuroimagerie diagnostique et thérapeutique, F-33000 Bordeaux, France
[2] Université de Bordeaux, F-33000 Bordeaux, France
[3] CHU de Lille, Department de neuroradiologie, F-5900 Lille, France
[4] Université de Lille, F-59000 Lille, France
[5] CHU de Bordeaux, Pôle de santé publique, Unité de Soutien Méthodologique à la Recherche Clinique et Epidémiologique, F-33000 Bordeaux, France
[6] CHU de Bordeaux, Unité neurovasculaire, F-33000 Bordeaux, France
[7]INSERM, U1215, Neurocentre Magendie, F-33000 Bordeaux, France

* Both authors contributed equally to this work.

Corresponding author: Thomas Tourdias, Neuroimagerie diagnostique et thérapeutique, CHU de Bordeaux, France. Tel : +33(0)556795604. Mail to thomas.tourdias@chu-bordeaux.fr

Funding: The study was supported by public grants from the French Agence Nationale de la Recherche within the context of the Investments for the Future Program, referenced ANR-10-LABX-57 and named “TRAIL” (Translational Research and Advanced Imaging Laboratory). The study was funded by a public grant from the French government (PHRC protocole hospitalier de recherche clinique inter-régional) funded in 2012.

Manuscript type: Original research
Word count: abstract, 250 words; Text, 2989 words.
Unblinded acknowledgments: The authors thank Athenais Lair for help with data analyses.

Radiology

Long-term neurodegeneration of substantia nigra secondary to ipsilateral infarct is quantified with iron-sensitive imaging and impacts motor outcome

Journal:	*Radiology*
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Original Research
Manuscript Categorization Terms:	MR-Imaging < 2. MODALITIES/TECHNIQUES, CNS < 4. AREAS/SYSTEMS, Brain/Brain Stem < 5. STRUCTURES, Ischemia/Infarction < 6. TOPICS, Stroke < 6. TOPICS

SCHOLARONE™
Manuscripts

10 E. Doty St., Suite 441, Madison, WI 53703, 630-481-1047, radiology@rsna.org

Article soumis à *Radiology* le 9 septembre 2018

ABBREVIATED TITLE PAGE

Long-term neurodegeneration of substantia nigra secondary to ipsilateral infarct is quantified with iron-sensitive imaging and impacts motor outcome

Manuscript type: Original research

Word count: abstract, 250 words; Text, 2989 words.

KEYWORDS

Substantia nigra, iron, MRI, R2*, secondary neurodegeneration, striatal infarct.

SUMMARY STATEMENTS

Transverse relaxation rate R2* quantifies long-term neurodegeneration of substantia nigra remotely from ipsilateral infarcts, which independently impacts long-term motor outcome after stroke.

IMPLICATIONS FOR PATIENT CARE

1. Iron-sensitive imaging such as R2* may be added to the standard post-stroke imaging to monitor neurodegeneration of disconnected areas.
2. Iron-sensitive imaging such as R2* may be used as a quantitative and sensitive biomarker to screen new neuroprotective strategies.
3. Therapy preventing iron deposition may be tested to mitigate secondary neurodegeneration and to improve long-term outcome of stroke patients.

ABSTRACT

Purpose

To demonstrate that long-term neurodegeneration of substantia nigra (SN) secondary to disconnection by a supra-tentorial infarct can be quantified with iron-sensitive imaging and contributes independently to clinical outcome.

Materials and Methods

181 stroke patients (75 striatum infarcts, 106 other locations) were prospectively evaluated at 24-to-72h (baseline) and at one-year (follow-up) clinically and with MRI to quantify iron through R2*. SN was segmented to measure an asymmetry index (SN-AI) of R2*. We focused on the 95th percentile as a metric of high iron content. SN-AI_{95} was compared according to infarct location with unpaired *t*-test and also regressed with variables expected to influence iron accumulation. Voxel-based analysis was conducted on average R2* maps. We also identified individual voxels whose infarction was significantly associated with high SN-AI_{95} through voxel-based lesion-symptom mapping (VLSM). Multiple regression models were used to test the independent association between SN-AI_{95} and clinical scores.

Results

Visual inspection, SN-AI_{95} and average maps consistently showed a delayed increase of R2* within SN that was significantly higher if ipsilateral striatum was involved than if not ($p<0.0001$). VLSM confirmed that striatum but also insula, internal and external capsules were associated with increased SN-AI_{95}. This association was independent of infarct volume, baseline SN-AI_{95} and other confounders ($\beta=4.99$ [2.94; 7.04], $p< 0.0001$). Such increase of SN-AI_{95} was an independent contributor of poor motor outcome (Box-and-Block, $p=0.01$) but not of cognitive or emotional outcome.

Conclusion

Long-term neurodegeneration of SN remotely from an ipsilateral infarct can be quantified with R2* and independently impacts motor outcome at follow-up.

INTRODUCTION

Post-stroke outcome includes motor but also cognitive and emotional impairments (1, 2). Some of these symptoms are directly driven by the infarct itself. However a more comprehensive view of long-term clinical outcome should also consider that the infarct can disrupt networks (3) and can induce neurodegeneration of remote, disconnected, areas that could be clinically relevant (4).

Substantia nigra (SN) is likely to be disconnected after a supra-tentorial infarct regarding its large panel of connections, with striatum through the nigrostriatal pathway (5, 6), but also with other parts of motor, limbic and cognitive circuits (7). Overall, SN is strongly involved in motor control (8), regulation of emotions (9), and also cognition and motivation through reward circuit (10). Whether secondary degeneration of SN could worsen the overall clinical outcome after a supra-tentorial stroke remains elusive.

To tackle this issue, the long-term integrity - or degeneration - of SN must be quantified non-invasively in stroke patients. On magnetic resonance imaging (MRI), T2 hyperintensity (11), and/or reduction of apparent diffusion coefficient (ADC) (12, 13), have been widely reported within SN, as early as four-to-six days following ipsilateral infarcts, and especially when striatum is involved. MR-to-histological correlations revealed that such T2 and ADC changes might capture astrocytic swelling (14, 15). However, these MRI abnormalities are only transiently observed and typically regress while histological evidences of irreversible alterations including microglial proliferation and neuronal loss are reported (16, 17). So far, no MRI marker has been found to capture the long-term neurodegeneration of SN post disconnection by an infarct.

Iron is a vital contributor to many aspects of normal brain (18). However, excess of iron is also clearly associated with neurodegeneration. Indeed, iron is released from dying neurons and also comes from iron-rich macrophages/microglia invasion accompanying neurodegeneration. Such excess of iron further aggravates neurodegeneration through oxidative stress in a vicious circle (19). Therefore in histological studies, neurodegeneration of SN induced by a striatal lesion, or neurodegeneration of thalamus induced by cortico-thalamic disconnection, were associated with marked increase of macrophages/microglia containing iron and, later on, with extracellular iron deposits going with neuronal loss (20, 21). MRI is particularly sensitive to iron and the transverse relaxation rate R2* is linearly correlated with chemically-determined iron concentration in post-mortem brain (22).

Therefore, by analogy with recent work within the thalamus (23), we hypothesized that R2* mapping could uniquely capture the long-term remote neurodegeneration of SN in order to test its clinical relevance on stroke outcome.

MATERIALS AND METHODS

ETHIC and STUDY POPULATION

This study was approved by the institutional ethics committee. All patients or legal representatives provided written informed consent. Data from some of these patients have already been reported to test hypotheses unrelated to the present paper (**Appendix).**

Patients admitted for a suspected clinical diagnosis of supra-tentorial stroke between June 2012 and February 2015 were prospectively included if cerebral infarct sparing SN was confirmed on MRI. Detailed inclusion and exclusion criteria are provided in **Appendix**.

The study included clinical and MRI evaluations at 24-to-72h ("baseline visit") and after one-year ("follow-up visit").

For this analysis, 181 patients had a complete set of data and were dichotomized in "striatum group" if the infarct involved at least one part of the striatum (n=75) or in "control group" if the infarct totally spared the striatum (n=106; **Appendix, Figure 1**).

CLINICAL ASSESSMENT

The National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) was recorded at baseline and at follow-up.

At follow-up, more detailed motor scoring was performed with the box-and-block and the 10-meter walk tests (10-MWT). Furthermore, post-stroke cognitive disability was evaluated by the Montreal cognitive assessment (MoCA) and the Isaacs set test, while post-stroke emotional disability was evaluated by the hospital anxiety and depression scale (HADS). Level of education and pre-cognitive state were also recorded (details in **Appendix**).

Evaluations were performed by a trained neurologist blinded from MRI.

MRI

MRI examinations were performed on a 3T scanner (Discovery MR 750w, GE Healthcare, Milwaukee, Wisconsin) with a 32-channel phased array head-coil with the same protocol at baseline and at follow-up that included diffusion-weighted images (DWI) and the corresponding ADC, 3D-T1-weighted images and 2D-T2* multi-echo fast gradient-echo images (parameters in **Appendix**).

IMAGE ANALYSES

Maps and coregistration: R2* maps were computed from a mono-exponential fitting of the multi-echo T2*. All sequences and maps (R2*, ADC) were coregistered to the native 3D-T1. For specific analyses described below, normalizations to the MNI152 space were also performed (**Appendix**).

Baseline diffusion: Infarct location, volume and laterality were recorded from baseline DWI blinded from R2* data. Location was dichotomized according to the involvement or not of at least one part of the striatum (caudate nucleus, putamen or globus pallidus). Infarct volumes were segmented on DWI using intensity variation and edge detection tools available in 3D Slicer (http://www.slicer.org) (24).

Baseline and follow-up measurements with SN: Analyses were done blinded from DWI and clinical information. R2* maps and raw T2* images were first inspected for quotation of asymmetry between right and left SN using a Likert-type scale (**Appendix**) and to count microbleeds. Masks of SN were then manually drawn based on the high signal intensity pattern of SN on R2* and known anatomy. Values of the parameters of R2* histogram (5^{th} percentile, median, 95^{th} percentile and full-width at half-maximum - FWHM) were extracted from the SN masks at baseline and at follow-up. By considering the non-infarct side as an intrinsic control, we calculated a SN asymmetry index (SN-AI) of R2* for each parameter ($SN\text{-}AI_5$, $SN\text{-}AI_{med}$, $SN\text{-}AI_{95}$, $SN\text{-}AI_{FWHM}$) according to the following equation (25):

$$SN\text{-}AI = 100 \times [(R2^*_{ipsilateral} - R2^*_{contralateral}) / (R2^*_{ipsilateral} + R2^*_{contralateral})]$$

The same masks were also used to extract the parameters of ADC histogram within SN at baseline and the corresponding SN-AI values.

Regional analyses: To look for specific spatial distribution of R2*, we built average color-coded R2* maps (for the striatum and control groups) from MNI152-coregistered maps with all infarcts flipped on the left side. This was followed by a voxel-based comparison (26) of striatum versus control groups as described in **Appendix.**

Finally, to demonstrate the relation between specific infarct location at the voxel level (and not solely according to striatum involvement) and high R2* ($SN\text{-}AI_{95}$), we adapted the voxel-based lesion-symptom mapping (VLSM) method (27). This strategy allowed us to test without any *a priori* whether infarction of each single voxel was significantly associated with increased R2* within the homolateral SN (**Appendix**).

All the manual analyses described above were conducted by a trained reader with 4 years of radiological experience.

STATISTICAL ANALYSES

Statistical analyses were performed with SAS v9.3 software. SN-AI of R2* and ADC were compared to 0 (the hypothesis being a symmetric distribution) within the total population with one-sample *t*-tests, and then, compared between striatum and control groups with unpaired *t*-tests.

Association between $SN\text{-}AI_{95}$ of R2* at follow-up and variables expected to influence iron accumulation (infarct location, volume, $SN\text{-}AI_{95}$ at baseline, microbleeds, age, gender) was adjusted with linear multiple regression model.

The clinical impact of $SN\text{-}AI_{95}$ of R2* at follow-up was also tested with linear multiple regression models whenever possible or logistic regression models with fixed dichotomy in the other cases (details in **Appendix**).

Association between $SN\text{-}AI_{5}$ of ADC at baseline and $SN\text{-}AI_{95}$ of R2* at follow-up was tested with Pearson correlation.

All tests were performed with a global type I error set at $\alpha=0.05$.

RESULTS

PATIENT CHARACTERISTICS

Out of the 181 patients, the striatum was involved in 75 patients (49 men, mean age = 64.2±12.3 years) and it was not in 106 patients (78 men, mean age = 64.3±13.6 years). Detailed characteristics of the populations can be found in **Table 1**.

R2* QUANTIFIES DELAYED MODIFICATIONS WITHIN SUBSTANTIA NIGRA COMPATIBLE WITH LONG-TERM NEURODEGENRATION SECONDARY TO INFARCT DISCONNECTION

Visual inspection of R2* maps (and of raw multi-echo T2*) identified obvious area of high R2* within the SN ipsilateral to the infarct in 61/181 cases (++, n=25 and +++, n=36). This was observed on follow-up MRI but never on baseline MRI. Considering infarct location, such a pattern of strong and delayed asymmetry of R2* was observed in 76% of patients with infarct involving the striatum and in 4% of patients with infarct in another location (**Figure 1**). Illustrative cases also showed that brighter R2* spots could be observed within the lateral part of SN (**Figure 2**). Altogether, R2* captured delayed modifications of SN that are likely to represent long-term neurodegeneration secondary to disconnection because striatum is known as the main area of projection of SN; the spatial heterogeneity being possibly related to specific disconnections.

Quantitative data from masks of SN manually drawn confirmed no modification of SN-AI at baseline while $SN\text{-}AI_{med}$, $SN\text{-}AI_{95}$ and $SN\text{-}AI_{FWHM}$ significantly increased at follow-up ($p<0.03$, $p<0.02$ and $p<0.03$ respectively; **Table 2**). Such delayed modifications in the total population were clearly driven by patients from the striatum group who showed higher $SN\text{-}AI_{med}$, $SN\text{-}AI_{95}$ and $SN\text{-}AI_{FWHM}$ than patients from the control group ($p<0.0001$ in all cases). We can note that $SN\text{-}AI_{95}$ might reflect the spatial heterogeneity of R2* described above, that could be better represented by the tail of the histogram than by median values. $SN\text{-}AI_{95}$ was thus chosen as the main metric to represent focal iron accumulation in the following analyses.

To confirm these quantitative data without any operator-dependent task such as the manual delineation of SN, we also computed average R2* maps within the MNI space. Consistently

with the previous results, we showed delayed increase of R2* ipsilateral to infarct when striatum was involved. The voxel-based analysis also confirmed the visual inspection by identifying significant increase of R2* only within the lateral part of SN (**Figure 3**).

To ensure that such increase of R2* at follow-up was mainly due to infarct location and not to other variables differently balanced between the two groups that might influence iron accumulation, we performed linear regression within the total population with the aim to predict SN-AI_{95} at follow-up. We confirmed that, on top of infarct volume (β=0.02 [0.00; 0.05], p=0.04), the location within the striatum had the strongest and independent predictive value of high SN-AI_{95} at follow-up (β=4.99 [2.94; 7.04], p< 0.0001; **Table 3**).

Because infarct location was such a strong predictor of high SN-AI_{95} of R2* at follow-up, we aimed at mapping the most significant locations at the voxel level instead of considering only the *a priori* dichotomy based on striatum involvement. The VLSM maps confirmed the strong association between striatum infarction and significant increase of SN-AI_{95} at follow-up but also identified infarcts involving the insula, the internal and external capsules as significantly associated with increased SN-AI_{95} at follow-up (**Figure 4**).

SECONDARY NEURODEGENRATION OF SUBSTANTIA NIGRA MEASURED BY R2* SIGNIFICANTLY IMPACTS MOTOR OUTCOME

For motor outcome, in simple linear regression, decreased performances at the box-and-block test for the non-dominant arm (lower scores) were significantly associated with higher SN-AI_{95} of R2* (p=0.02) but also with striatum location (p<0.0001), infarct side (p=0.02) and age (p=0.0003) (**Table 4**). Because striatum infarction and high SN-AI_{95} were so strongly associated (see above), we reasoned that the potential independent impact of high SN-AI_{95} on the clinical score, if any, could only be highlighted in the striatum group. Therefore we introduced the interaction between striatum location and SN-AI_{95} in the multiple linear regression (**Table 4**). Interestingly we found that on top of striatum location (p=0.003), infarct side (p=0.02) and age (p=0.0001), high SN-AI_{95} was significantly and independently associated with lower scores when infarct was involving the striatum (β= -0.62[-1.10;-0.15], p=0.01). Neither association of high SN-AI_{95} and box-and-block score could be found if striatum was not involved, nor if the dominant arm was considered instead of the non-dominant. Performances to 10-MWT were consistent with those of the box-and-block non-dominant arm

(**Table 4**) as we found significant and independent association with striatum location (0.005), together with infarct volume ($p<0.0001$) and gender ($p=0.001$), but also a tendency for an independent association of high $SN\text{-}AI_{95}$ when striatum was involved ($p=0.059$).

For cognitive and emotional outcomes, in multiple logistic regression, age was always the most significant and independent predictor of poor performances to MOCA test ($\leqslant 25$) and Isaacs test ($\leqslant 28$) but striatum location and $SN\text{-}AI_{95}$ had no independent significant contribution (**Appendix Table 1**). We also did not find any association between $SN\text{-}AI_{95}$ and scores of anxiety and depression (HADS; **Appendix Table 2**).

SECONDARY NEURODEGENRATION OF SUBSTANTIA NIGRA MEASURED BY R2* IS UNRELATED TO BASELINE ADC

Because, in the literature, remote modifications of SN have only been quantified so far by using ADC few days after the infarct, we measured ADC at baseline within SN under the same masks as those used for R2* measurements. $SN\text{-}AI_5$ of ADC was significantly lower in striatum compared to control groups ($p<0.002$) indicating focal areas of low ADC values within SN when the striatum is infarcted (**Appendix Table 3**) in line with previous reports (12, 13). However, we only found a weak correlation between $SN\text{-}AI_5$ of ADC at baseline and $SN\text{-}AI_{95}$ of R2* at follow-up ($r=-0.18$[-0.32; -0.04] in the total population) suggesting that R2* at follow-up provided new information that was only weakly captured with early ADC.

Interestingly, while $SN\text{-}AI_{95}$ of R2* independently contributed to performances on motor scores (see above), we did not find any significant association between $SN\text{-}AI_5$ of ADC and the same scores. **(Appendix Table 4).**

DISCUSSION

We showed a delayed increase of R2* within SN ipsilateral to infarcts which we interpret as iron accumulation associated with long-term neurodegeneration. We provided evidences indicating that such a new biomarker could capture irreversible alterations that go unnoticed with ADC measurements. By doing so, we could demonstrate, for the first time, that

degeneration of SN significantly worsen clinical outcome independently from the remote infarct.

It is well established that infarcts exert effects distant from the acute lesion, in remote, connected regions (28). The mechanisms are complex including retrograde or anterograde trans-synaptic degeneration. In SN, another mechanism is the breakdown of a finely-tuned balance between inhibitory GABAergic striatal projections and excitatory glutamatergic inputs from the subthalamic nucleus. Loss of striatal projections accelerates degeneration through overstimulation of SN neurons and excitotoxicity-mediated lesions (29, 30). Interestingly, after experimental lesion of the striatum in rodents, marked increase of ferric iron and ferritin was noticed within the ipsilateral SN (21). Iron is supposed to be released by dying neurons, breakdown of iron-rich myelin and invasion by inflammatory cells to scavenge excess of iron up to a certain capacity (31). Excess of iron is therefore a clear epiphenomenon associated to neurodegeneration but also aggravates the damages *via* iron-dependent cell death pathways (19).

While R2* is not fully specific of iron, it is highly correlated to iron concentration in post-mortem (22). We provided several converging evidences to validate that R2* within SN likely reflects iron-associated neurodegeneration. Indeed, the increase of R2* within SN was strongly and independently associated with infarct location along known anatomic projections from SN. Infarct of the striatum can interrupt the nigro-striatal pathway (5) but we also highlighted insula and other cortical areas probably through interruption of nigro-cortical projections (32). Furthermore, the increase of R2* was delayed, in line with mechanisms that require time to develop (17). So far, the previous studies have only shown transient modifications, with early elevation of T2 and decrease of ADC followed by normalization weeks or months later (13, 14). Accordingly, we also measured early ADC decrease within SN ipsilateral to striatal infarcts. But importantly, low ADC values were poorly correlated to the delayed increase of R2* and were not associated with any clinical score in contrast to R2*. ADC likely captures transient modifications such as swelling of astrocytes (15, 17) and our data support the idea that it cannot accurately inform on the long-term neurodegeneration.

From a radiological point of view, it is interesting to note that R2* monitoring is likely a sensitive approach. Indeed, even though SN is a small structure, increase of R2* was consistently found either from values under masks manually drawn (that may suffer from

operator variability) or from average maps (that may suffer from inaccuracy of coregistration). Modifications could even be obvious enough for simple visual inspection and are therefore accessible to the radiologists interpreting post-stroke exams. The population reported here is furthermore of mild severity; another point supporting the sensitivity of R2*.

Although secondary neurodegeneration of SN has been known for several years, no insight on potential clinical relevance has been reported yet. Taking advantage of R2*, we provide first evidences for a link with long-term outcome after stroke. We acknowledge that these analyses are exploratory and will require validation from larger cohorts with statistical corrections for multiple comparisons that haven't been applied here. However, our first results argue for a clinical impact of R2* measurements. Even though R2* differences might appear small, it is in fact similar to those reported *in vivo* in conditions such as Parkinson disease (33). Interestingly, R2* was spatially heterogeneous and mainly increased within the lateral part of SN in relation with the vulnerability of this portion to the GABA/glutamate imbalance (16, 30). SN has been recently parcellated based on a tripartite connectivity with limbic (medial portion), cognitive (ventral portion) and motor (lateral portion) arrangements (7). In agreement with this parcellation, the predominantly lateral alterations were associated with motor scores but not with cognitive or emotional performances. Our data of statistical interactions between R2* and infarct location argue for mechanisms of potentiation; worse motor prognosis being related to striatum involvement and further aggravated if SN neurodegeneration is associated. It is also interesting to note that significant results were found only on non-dominant arm. This is not unexpected as non-dominant arm is more affected than dominant arm for equivalent stroke (34). The training effect of the dominant arm (35) might make it less sensitive to subtle problem of coordination induced by dysfunctions of SN and extra pyramidal loops.

In conclusion, we showed that R2* can quantify long-term secondary neurodegeneration of SN remotely from an infarct. This neurodegeneration impacts clinical outcome. Our finding paves the way toward utilization of iron-sensitive imaging to monitor neurodegeneration non-invasively within SN or other areas. This might become a future therapeutic target for neuroprotection in the after-match of stroke following reperfusion.

REFERENCES

1. Robinson RG, Jorge RE. Post-Stroke Depression: A Review. Am J Psychiatry. 2016;173(3):221-31.
2. Levine DA, Galecki AT, Langa KM, et al. Trajectory of Cognitive Decline After Incident Stroke. JAMA. 2015;314(1):41-51.
3. Siegel JS, Ramsey LE, Snyder AZ, et al. Disruptions of network connectivity predict impairment in multiple behavioral domains after stroke. Proc Natl Acad Sci U S A. 2016;113(30):E4367-76.
4. Zhang J, Zhang Y, Xing S, Liang Z, Zeng J. Secondary neurodegeneration in remote regions after focal cerebral infarction: a new target for stroke management? Stroke. 2012;43(6):1700-5.
5. Prensa L, Gimenez-Amaya JM, Parent A, Bernacer J, Cebrian C. The nigrostriatal pathway: axonal collateralization and compartmental specificity. J Neural Transm Suppl. 2009(73):49-58.
6. Theisen F, Leda R, Pozorski V, et al. Evaluation of striatonigral connectivity using probabilistic tractography in Parkinson's disease. Neuroimage Clin. 2017;16:557-63.
7. Zhang Y, Larcher KM, Misic B, Dagher A. Anatomical and functional organization of the human substantia nigra and its connections. Elife. 2017;6.
8. Crocker AD. The regulation of motor control: an evaluation of the role of dopamine receptors in the substantia nigra. Rev Neurosci. 1997;8(1):55-76.
9. Kronenberg G, Balkaya M, Prinz V, et al. Exofocal dopaminergic degeneration as antidepressant target in mouse model of poststroke depression. Biol Psychiatry. 2012;72(4):273-81.
10. Shohamy D, Adcock RA. Dopamine and adaptive memory. Trends Cogn Sci. 2010;14(10):464-72.
11. Nakane M, Tamura A, Nagaoka T, Hirakawa K. MR detection of secondary changes remote from ischemia: preliminary observations after occlusion of the middle cerebral artery in rats. AJNR Am J Neuroradiol. 1997;18(5):945-50.
12. Nakajima M, Inatomi Y, Okigawa T, Yonehara T, Hirano T. Secondary signal change and an apparent diffusion coefficient decrease of the substantia nigra after striatal infarction. Stroke. 2013;44(1):213-6.
13. Winter B, Brunecker P, Fiebach JB, Jungehulsing GJ, Kronenberg G, Endres M. Striatal Infarction Elicits Secondary Extrafocal MRI Changes in Ipsilateral Substantia Nigra. PLoS One. 2015;10(9):e0136483.
14. Zhao F, Kuroiwa T, Miyasaka N, et al. Characteristic changes in T(2)-value, apparent diffusion coefficient, and ultrastructure of substantia nigra evolving exofocal postischemic neuronal death in rats. Brain Res. 2001;895(1-2):238-44.
15. Nakane M, Tamura A, Miyasaka N, Nagaoka T, Kuroiwa T. Astrocytic swelling in the ipsilateral substantia nigra after occlusion of the middle cerebral artery in rats. AJNR Am J Neuroradiol. 2001;22(4):660-3.
16. DeGiorgio LA, Dibinis C, Milner TA, Saji M, Volpe BT. Histological and temporal characteristics of nigral transneuronal degeneration after striatal injury. Brain Res. 1998;795(1-2):1-9.
17. Prinz V, Hetzer AM, Muller S, et al. MRI heralds secondary nigral lesion after brain ischemia in mice: a secondary time window for neuroprotection. J Cereb Blood Flow Metab. 2015;35(12):1903-9.
18. Daugherty AM, Raz N. Appraising the Role of Iron in Brain Aging and Cognition: Promises and Limitations of MRI Methods. Neuropsychol Rev. 2015;25(3):272-87.

19. Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. Cell. 2012;149(5):1060-72.
20. Justicia C, Ramos-Cabrer P, Hoehn M. MRI detection of secondary damage after stroke: chronic iron accumulation in the thalamus of the rat brain. Stroke. 2008;39(5):1541-7.
21. Thomsen MS, Andersen MV, Christoffersen PR, Jensen MD, Lichota J, Moos T. Neurodegeneration with inflammation is accompanied by accumulation of iron and ferritin in microglia and neurons. Neurobiol Dis. 2015;81:108-18.
22. Langkammer C, Krebs N, Goessler W, et al. Quantitative MR imaging of brain iron: a postmortem validation study. Radiology. 2010;257(2):455-62.
23. Kuchcinski G, Munsch F, Lopes R, et al. Thalamic alterations remote to infarct appear as focal iron accumulation and impact clinical outcome. Brain. 2017;140(7):1932-46.
24. Fedorov A, Beichel R, Kalpathy-Cramer J, et al. 3D Slicer as an image computing platform for the Quantitative Imaging Network. Magn Reson Imaging. 2012;30(9):1323-41.
25. van Etten ES, van der Grond J, Dumas EM, van den Bogaard SJ, van Buchem MA, Wermer MJ. MRI Susceptibility Changes Suggestive of Iron Deposition in the Thalamus after Ischemic Stroke. Cerebrovasc Dis. 2015;40(1-2):67-72.
26. Peran P, Hagberg G, Luccichenti G, et al. Voxel-based analysis of R2* maps in the healthy human brain. J Magn Reson Imaging. 2007;26(6):1413-20.
27. Bates E, Wilson SM, Saygin AP, et al. Voxel-based lesion-symptom mapping. Nat Neurosci. 2003;6(5):448-50.
28. Duering M, Schmidt R. Remote changes after ischaemic infarcts: a distant target for therapy? Brain. 2017;140(7):1818-20.
29. Saji M, Reis DJ. Delayed transneuronal death of substantia nigra neurons prevented by gamma-aminobutyric acid agonist. Science. 1987;235(4784):66-9.
30. Yamada K, Goto S, Yoshikawa M, Okamura A, Ushio Y. Involvement of N-methyl-D-aspartate receptor in the delayed transneuronal regression of substantia nigra neurons in rats. Brain Res. 1996;743(1-2):233-9.
31. Rathnasamy G, Ling EA, Kaur C. Consequences of iron accumulation in microglia and its implications in neuropathological conditions. CNS Neurol Disord Drug Targets. 2013;12(6):785-98.
32. Cacciola A, Milardi D, Anastasi GP, et al. A Direct Cortico-Nigral Pathway as Revealed by Constrained Spherical Deconvolution Tractography in Humans. Front Hum Neurosci. 2016;10:374.
33. Barbosa JH, Santos AC, Tumas V, et al. Quantifying brain iron deposition in patients with Parkinson's disease using quantitative susceptibility mapping, R2 and R2. Magn Reson Imaging. 2015;33(5):559-65.
34. Harris JE, Eng JJ. Individuals with the dominant hand affected following stroke demonstrate less impairment than those with the nondominant hand affected. Neurorehabil Neural Repair. 2006;20(3):380-9.
35. Tanaka M, McDonagh MJ, Davies CT. A comparison of the mechanical properties of the first dorsal interosseous in the dominant and non-dominant hand. Eur J Appl Physiol Occup Physiol. 1984;53(1):17-20.

IV. TABLES

Table 1. Characteristics of the population according to involvement of the striatum (striatum group) or not (control group), at baseline (24-to-72h) and follow-up (1 year).

CHARACTERISTICS	Total population	Striatum group	Control group
BASELINE			
Male Gender, n (%)	127 (70.2)	49 (65.3)	78 (73.6)
Age (years), mean ± SD	64.2±13.1	64.2±12.3	64.3±13.6
Right handed, n (%)	166 (91.7)	70 (93.3)	96 (90.6)
Education level, n (%)			
None	7 (3.8)	3 (3.9)	4 (3.8)
Primary	30 (16.6)	15 (20.0)	15 (14.2)
Junior high school	73 (40.3)	28 (37.3)	45 (42.5)
Baccalaureate	23 (12.7)	12 (16.0)	11 (10.4)
Superior	41 (22.7)	15 (20.0)	26 (24.5)
Unknown	7 (3.9)	2 (2.7)	5 (4.7)
IQCODE, mean ± SD	3.1±0.2	3.1±0.2	3.0±0.3
Initial NIHSS score, mean ± SD	5.2±5.6	7.1±6.9	3.9±4.0
Hypertension, n (%)	115 (63.5)	53 (70.7)	62 (58.5)
Body mass index (BMI), mean ± SD	27.2±4.8	27.5±4.7	27.0±4.9
Current smoking, n (%)	53 (29.3)	25 (33.3)	28 (26.4)
Diabetes, n (%)	32 (17.7)	15 (20.0)	17 (16.0)
Dyslipidemia, n (%)	82 (45.3)	30 (40.0)	52 (49.1)
Infarct volume (cm^3), mean ± SD	26.5±45.6	31.0±46.2	23.2±45.2
Right-hemispheric infarct, n (%)	84 (46.4)	36 (48.0)	48 (45.2)
Microbleeds, mean ± SD	2.7±12.1	2.1±7.8	3.1±14.4
FOLLOW-UP			
NIHSS score, mean ± SD	1.8±3.3	2.7±3.8	1.2±2.7
Box and block test dominant arm (n), mean ± SD	56.1±19.0	47.8±21.7	61.8±14.3
Box and block test non-dominant arm (n), mean ± SD	56.5±16.4	50.7±18.6	60.7±13.2
10-MWT (second), median (Q1-Q3)	9 (7-11)	10 (8-16)	9 (7-11)
MoCA score, mean ± SD	25.0±4.4	24.6±5.2	25.3±3.8
Isaacs Set Test, mean ± SD	31.2±7.1	29.5±7.8	32.4±6.4
HADS-A, mean ± SD	5.8±3.9	6.1±4.0	5.5±3.8
HADS-D, mean ± SD	4.3±3.6	4.9±3.9	3.9±3.3

Notes.
HADS-A, hospital anxiety and depression scale – anxiety score; HADS-D, hospital anxiety and depression scale – depression score; IQCODE, informant questionnaire on cognitive decline in the elderly; NIHSS, national institutes of health stroke scale; MoCA, Montreal cognitive assessment; SD, standard deviation;10-MWT, 10-meter walk test; Data are presented for n=181 patients for the total population, n=75 for the striatum group and n=106 for the control group.
Missing data, if any, concerned less than 10 patients expect for IQCODE that was available for n=123 patients (n=49 for the striatum group and n=74 for the control group) and 10-meter walk test that was available for n=163 patients (n=64 for the striatum group and n=99 for the control group).

Table 2. Substantia nigra asymmetry index (SN-AI) of the parameters of R2* histogram within the total population and in both groups at baseline (24-to-72h) and at follow-up (1 year).

	Total population (n=181)	**p-value§**	**Striatum group (n=75)**	**Control group (n=106)**	**p-value†**
BASELINE	Mean [95%CI]		Mean [95%CI]	Mean [95%CI]	
SN-AI$_5$ of R2*	0.19 [-0.77 ; 1.15]	0.70	-0.59 [-1.95 ; 0.77]	0.74 [-0.59 ; 2.08]	0.18
SN-AI$_{med}$ of R2*	0.21 [-0.66 ; 1.10]	0.63	0.03 [-1.30 ; 1.35]	0.35 [-0.83 ; 1.53]	0.72
SN-AI$_{95}$ of R2*	-0.01 [-0.98 ; 0.97]	1	-0.04 [-1.54 ; 1.46]	0.03 [-1.26 ; 1.31]	0.95
SN-AI$_{FWHM}$ of R2*	-0.10 [-2.44 ; 2.24]	0.93	1.95 [-1.86 ; 5.75]	-1.55 [-4.52 ; 1.42]	0.15
FOLLOW-UP					
SN-AI$_5$ of R2*	0.40 [-0.59 ; 1.40]	0.43	1.94 [0.54 ; 3.34]	-0.69 [-2.05 ; 0.68]	**0.01**
SN-AI$_{med}$ of R2*	1.04 [0.10 ; 1.98]	**0.03**	3.23 [1.80 ; 4.66]	-0.51 [-1.69 ; 0.66]	**<.0001**
SN-AI$_{95}$ of R2*	1.24 [0.17 ; 2.32]	**0.02**	4.25 [2.53 ; 5.97]	-0.88 [-2.13 ; 0.37]	**<.0001**
SN-AI$_{FWHM}$ of R2*	2.92 [0.34 ; 5.51]	**0.03**	10.45 [6.49 ; 14.40]	-2.40 [-5.48 ; 0.69]	**<.0001**

Notes.
SN-AI$_5$, asymmetry index of the 5th percentile of R2* within substantia nigra;
SN-AI$_{med}$, asymmetry index of the median of R2* within substantia nigra;
SN-AI$_{95}$, asymmetry index of the 95th percentile of R2* within substantia nigra;
SN-AI$_{FWHM}$, asymmetry index of full-width at half-maximum of R2* within substantia nigra;
§ p values test whether SN-AI of each parameter is statistically different from 0 (one-sample *t*-test);
† p values test whether SN-AI of each parameter is statistically different between striatum and control groups (unpaired *t*-test);
p-values<0.05 are in bold.

TABLE 3. Linear regression analyses: predictors of SN-AI$_{95}$ of R2* at follow-up (1 year) in the total population (n=181).

	Simple regression		Multiple regression	
INDEPENDENT VARIABLES	β [95%CI]	p-value	β [95%CI]	p-value
Striatum location	5.13 [3.07 ; 7.19]	**<0.0001**	4.99 [2.94 ; 7.04]	**<0.0001**
Infarct volume (cm^3)	0.03 [0.01 ; 0.05]	**0.01**	0.02 [0.00 ; 0.05]	**0.04**
SN-AI$_{95}$ of R2* at baseline	0.16 [0.00 ; 0.33]	**0.05**	0.15 [-0.01 ; 0.30]	0.06
Microbleeds	0.00 [-0.09 ; 0.09]	0.93	0.02 [-0.07 ; 0.10]	0.72
Age (years)	0.00 [-0.08 ; 0.08]	1	-0.00 [-0.08 ; 0.08]	0.94
Female gender	0.00 [-2.36 ; 2.36]	1	-0.25 [-2.50 ; 1.99]	0.83

Notes.
SN-AI$_{95}$, asymmetry index of the 95th percentile of R2* within substantia nigra;
p-values<0.05 are in bold.

Table 4. Simple and multiple regression analyses: predictors of poor motor outcome at 1 year follow-up (low score at box-and-block test and high score at 10-meter walk test) in the total population.

	Box and block test: Non-dominant arm		**Box and block test: Dominant arm**		**10-MWT§**	
SIMPLE REGRESSION	β [95%CI]	p-value	β [95%CI]	p-value	β [95%CI]	p-value
SN-AI$_{95}$ of R2* at follow-up	-0.40[-0.74 ; -0.06]	**0.02**	-0.31[-0.71 ; 0.09]	0.13	0.33 [0.07 ; 0.59]	**0.01**
Striatum location	-9.97[-14.73 ; -5.21]	**<0.0001**	-14[-19.8 ; -8.61]	**<0.0001**	5.01[1.16 ; 8.87]	**0.01**
Infarct volume (cm^3)	-0.05[-0.11 ; 0.01]	0.14	-0.12[-0.19 ; -0.05]	**0.01**	0.08[0.03 ; 0.13]	**0.001**
Right-side infarct	-5.59[-10.44 ; -0.75]	**0.02**	7.71[2.13 ; 13.29]	**0.007**	1.92[-1.92 ; 5.75]	0.32
Age (years)	-0.33[-0.51 ; -0.15]	**0.0003**	-0.39[-0.60 ; -0.19]	**0.0002**	0.20[0.05 ; 0.34]	**0.008**
Female gender	-2.84[-8.16 ; 2.48]	0.30	-2.35[-8.53 ;3.82]	0.45	5.12[1.00 ; 9.23]	**0.015**
MULTIPLE REGRESSION						
Striatum location (Yes): SN-AI$_{95}$ of R2* at follow-up	-0.62 [-1.10 ; -0.15]	**0.01**	-0.18 [-0.71 ; 0.35]	0.50	0.22 [-0.01 ; 0.46]	0.059
Striatum location (No): SN-AI$_{95}$ of R2* at follow-up	0.32 [-0.14 ; 0.78]	0.18	0.24 [-0.28 ; 0.75]	0.36	-0.11 [-0.34 ; 0.11]	0.32
Striatum location	-7.42[-12.27 ; -2.56]	**0.003**	-13.06[-18.48 ; -7.65]	**<0.0001**	3.54[1.10 ; 5.97]	**0.005**
Infarct volume (cm^3)	-0.02[-0.08 ; 0.04]	0.52	-0.09[-0.15 ; -0.02]	**0.009**	0.08[0.05 ; 0.11]	**<0.0001**
Right-side infarct	-5.22[-9.64 ; -0.79]	**0.02**	7.97[3.03 ; 12.90]	**0.002**	-0.91[-3.09 ; 1.27]	0.41
Age (years)	-0.33[-0.50 ; -0.16]	**0.0001**	-0.38[-0.57 ; -0.20]	**<0.0001**	0.08[-0.00 ; 0.16]	0.06
Female gender	-1.51[-6.38 ; 3.36]	0.54	1.29[-4.14 ; 6.72]	0.64	4.12[1.70 ; 6.54]	**0.001**

Notes.
SN-AI$_{95}$, asymmetry index of the 95th percentile of R2* within substantia nigra;
10-MWT, 10-meter walk test;
Out of the 181 patients, analyses were conducted on n=174 available data for box and block test and n=163 available data for 10-meter walk test.
§ 3 patients were excluded from the multiple regression model (n=160) because of model adequacy;
p-values<0.05 are in bold

V.FIGURE

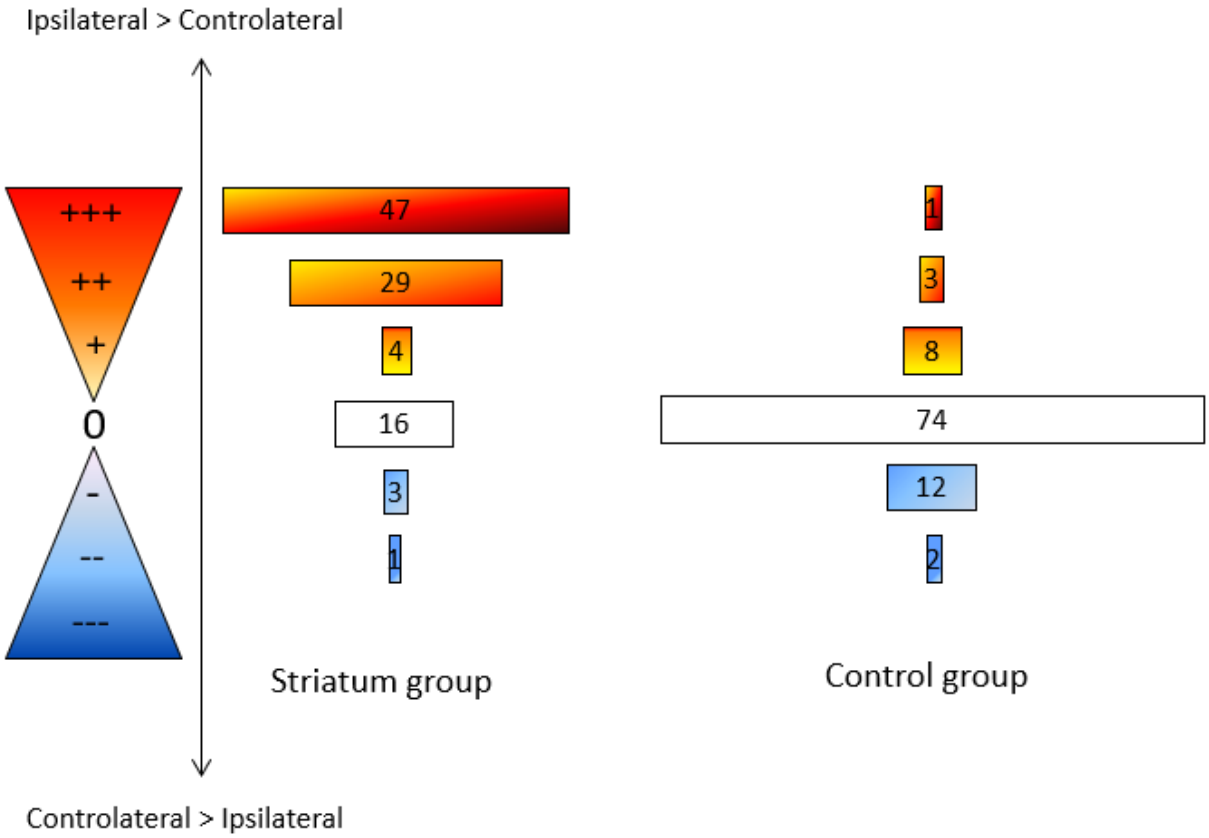


Figure 1. Visual quotation of asymmetry of R2* within substantia nigra at 1 year follow-up in striatum and control groups.

Asymmetry was quoted blinded from DWI and clinical information as absent (0), minor (+), moderate (++) or marked (+++) and then reassigned according to infarct location as positive if higher R2* signal was ipsilateral to the infarct or negative if higher R2* signal was contralateral to the infarct. Numbers in boxes are percentage of patients in striatum group (n=75) and in control group (n=106).

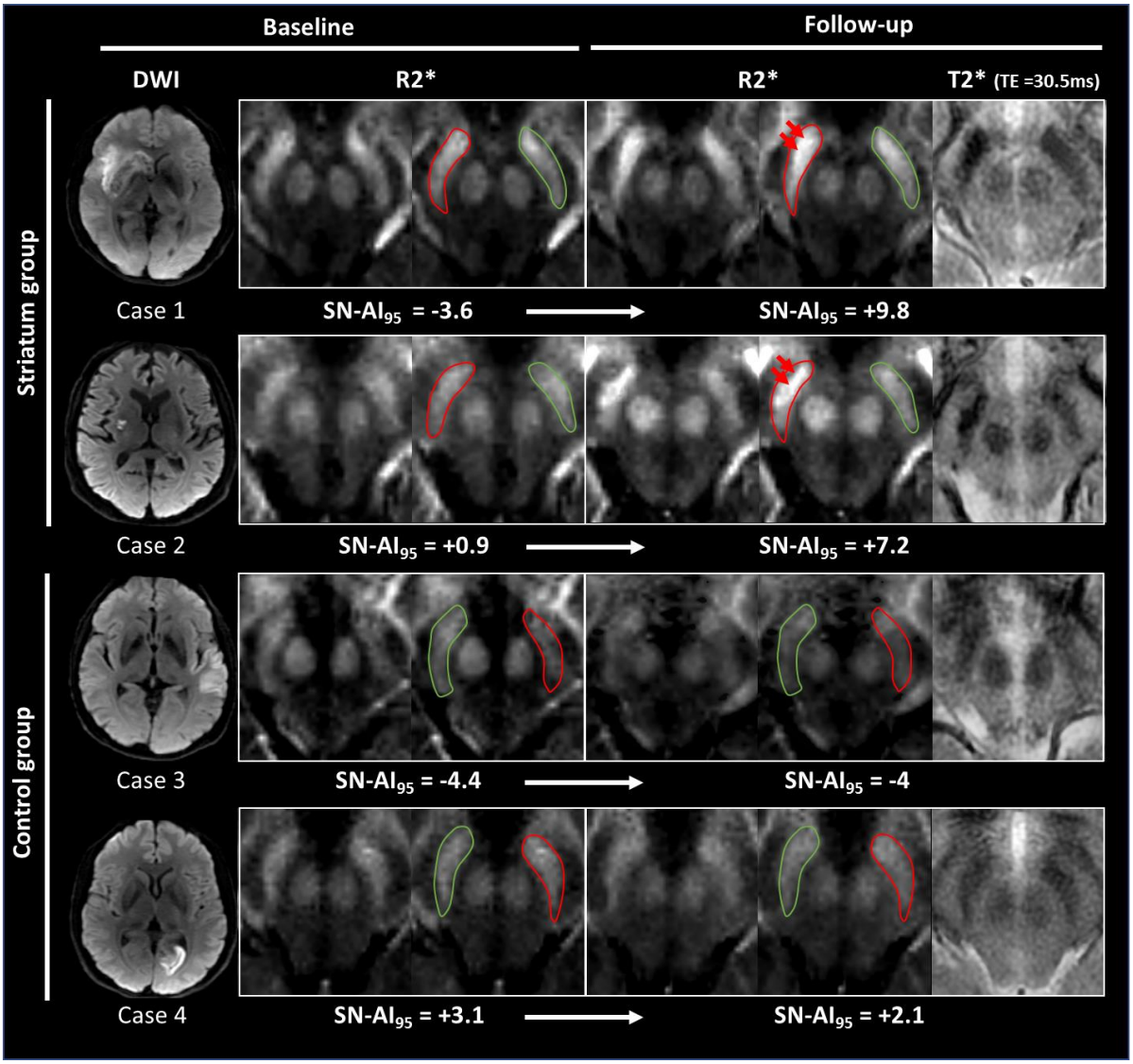


Figure 2. Illustrative cases of visual R2* modifications within substantia nigra (SN) at baseline (24-to-72h) and follow-up (1 year) in striatum (cases 1 and 2) and control groups (cases 3 and 4).

R2* maps are enlarged at the mesencephalon level and one of the individual T2* echoes (TE=30.5ms) is also shown at follow-up. SN is segmented in red ipsilateral to infarct and in green contralateral to infarct. Images without outlines are also shown. Brighter R2* spots are pointed with red arrows. The asymmetry index of the 95th percentile of R2* within SN (SN-AI_{95}) measured in these individual cases are indicated for reference. Cases 1 and 2 show marked asymmetry of R2* within the ipsilateral SN (visual quotation +++) at follow-up compared to baseline after infarct involving the entire striatum (case 1) or limited to the putamen (case 2). Asymmetry is also visible on the individual T2* echo at follow-up. Conversely, no asymmetry was observed in cases 3 and 4 sparing the striatum.

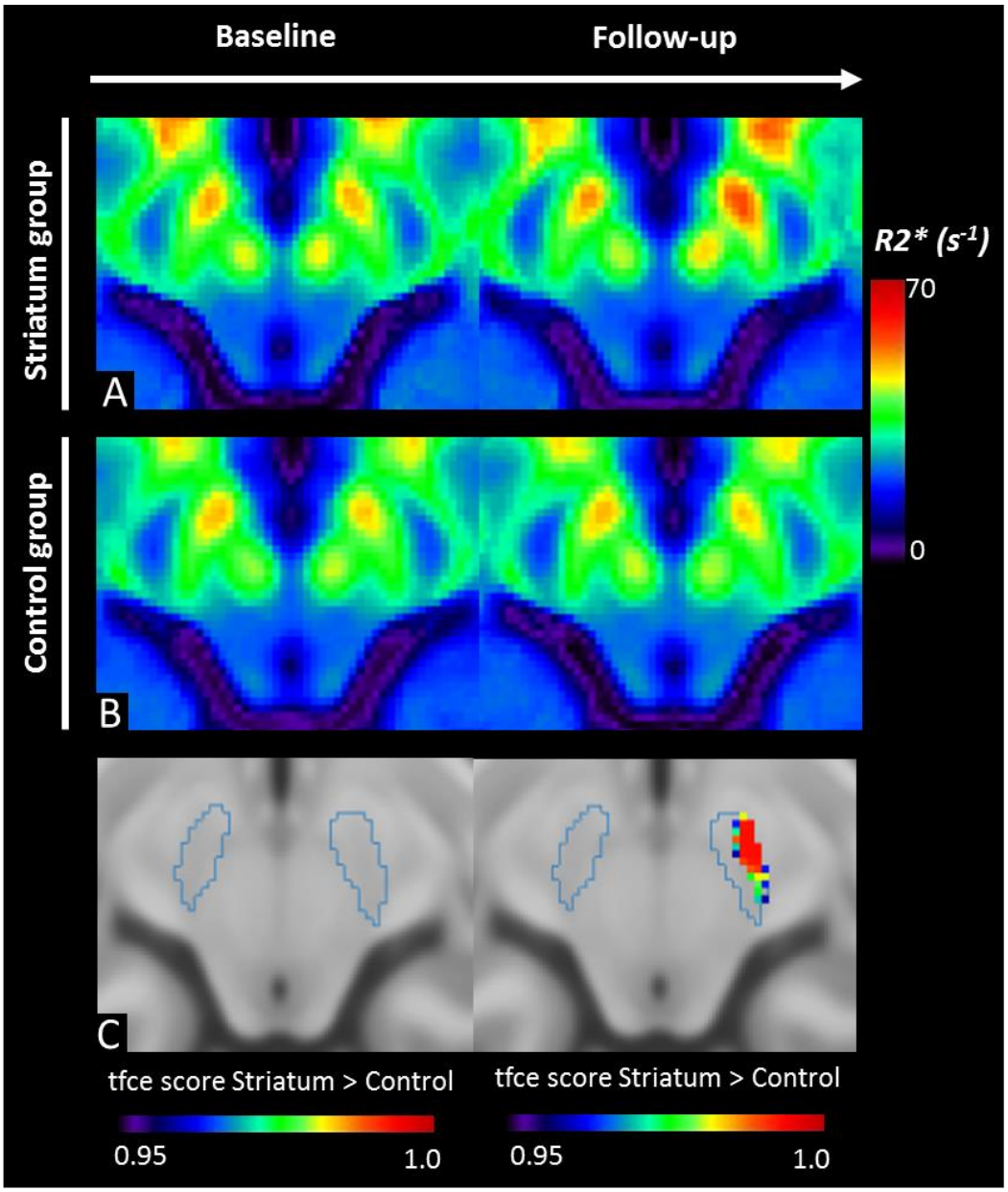


Figure 3. Average R2* maps in striatum (n=75) and control (n=106) groups at baseline (24-to-72h) and follow-up (1 year).

All infarcts were flipped on the left side. **(A)** shows color-coded R2* values for the striatum group at baseline and follow-up and **(B)** shows color-coded R2* values for the control group at baseline and follow-up. **(C)** shows voxel-based comparison of R2* values between striatum and control groups at baseline and follow-up. Unpaired *t*-tests were performed with family-wise error rate correction and threshold-free cluster enhancement (tfce) to ensure a false positive rate of $p<0.05$ corresponding to a threshold for *tcfe-score* of 0.95. Significantly higher R2* values are seen at follow-up within the lateral part of substantia nigra in striatum group compared to control group ($p<0.05$). Delineation of SN is from a probabilistic atlas (Euken MC, Forstmann BU. A probabilistic atlas of the basal ganglia using 7 T MRI. Data in Brief. 2015 Sep;4:577–82).

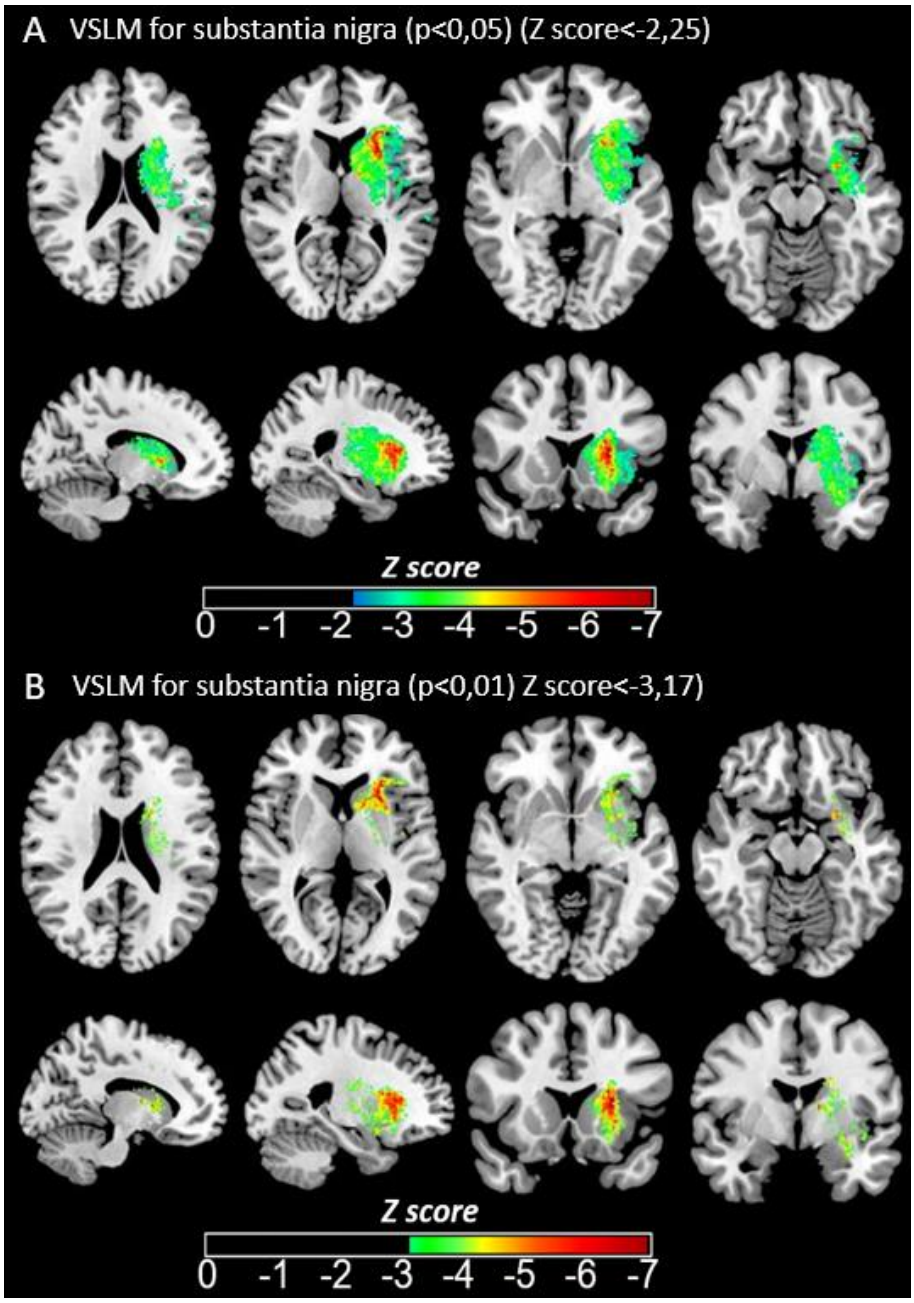


Figure 4. Voxel-based lesion-symptom mapping (VLSM) quantified the impact of baseline infarct location on SN-AI$_{95}$ of R2* at 1 year follow-up.

Z-score resulting from Brunner-Menzel testing is indicated by the color range and is overlaid on a 3D-T1-weighted image normalized to the MNI152 space atlas. Association between infarct voxels and higher SN-AI$_{95}$ is shown by lower Z-score. Controlled for multiple comparison using the false discovery rate was performed to reach a false positive rate of $p<0.05$ **(A)** and $p<0.01$ **(B)** in Z-score maps. **(A)** Voxels in the whole striatum, anterior limb of internal capsule, insula and external capsule are associated with high SN-AI$_{95}$ ($p<0.05$). **(B)** Significant associations with high SN-AI$_{95}$ persist for voxels in the head of the caudate nucleus, the anterior part of lenticular nucleus, external capsule and insula ($p<0.01$).

VI. APPENDIX

SUPPLEMENTAL METHODS

Population previously reported

Patients have been prospectively recruited in a cohort study called BBS for "Brain Before Stroke". Among a total of 428 screened patients, we have previously reported specific analyses on 117-to-289 of them (1-4). These previous analyses were unrelated to the question of iron accumulation within substantia nigra (SN) that is addressed in the present paper. Variability in the total number of patients considered from one analysis to another resulted from the necessity to obtain specific MRI sequences and clinical evaluations (which varied according to the hypothesis tested) of sufficient quality. A flow chart has been included in all the previous analyses (1-4) for comparison with the one of this new analysis.

Inclusion and exclusion criteria

Inclusion criteria were men or women, older than 18 years old, with a suspected clinical diagnosis of minor-to-severe supratentorial cerebral infarct (National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) between 1 and 25) confirmed on diffusion-weighted imaging (DWI) at 24-to-72 hours.

Exclusion criteria were history of symptomatic cerebral infarct with functional deficit (pre-stroke modified Rankin Scale score ≥1); infratentorial infarct; history of severe cognitive impairment (dementia) or psychiatric troubles matching to axis 1 of the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth edition (DSM-IV) criteria (except for major depression); coma; pregnant or breast-feeding women; and contraindications to MRI.

Supplemental information on clinical assessment

For motor evaluation, the box-and-block and the 10-meter walk tests (10-MWT) were assessed as described in previous papers (5, 6). Box-and-block test assesses bilateral upper-extremity functions and especially gross manual dexterity that is modulated by the extrapyramidal system (7). According to this, correlation between box-and-block test and the motor exam of Unified

Parkinson's Disease Rating Scale was found in Parkinson disease (8). The test consists in a box with 150 blocks and a partition in the middle that is placed in front of the patient who has to grasp one block at a time and transport it over the partition. The score measures the number of blocks carried from one compartment to the other during 1 minute. Higher scores are indicative of better manual dexterity. The procedure was performed with both hands.
Gait was evaluated by walking speed, using the 10-MWT. This test is widely used and recommended as a measure of gait speed in Parkinon disease (9). The test consists in walking at a usual pace over 10 meters, without any verbal distractor. A distance of 5 meters before and after the course serves to minimize the effect of acceleration and deceleration. The test was repeated three times and scores were averaged.

For cognitive evaluation, the Montreal cognitive assessment (MoCA) and the Isaacs set test were assessed as described in previous papers (10, 11) . For emotional evaluation, the hospital anxiety and depression scale (HADS) was assessed as described in previous paper (12).
The level of education was also evaluated according to a five-point ordinal scale adapted from the international standard classification of education (ISCE) (childhood, primary, lower secondary, upper secondary or tertiary education). This was used as a covariate in regression models predicting post-stroke cognitive disability. Furthermore, the pre-stroke cognitive state was estimated by informant questionnaire on cognitive decline in the elderly (IQCODE), which was completed by the patient's relative at the time of admission to ensure the absence of significant pre-existing impairment that could contribute to the long-term outcome independently from the infarct itself or from the secondary degeneration of SN.

Supplemental information on MRI

The diffusion-weighted images (DWI) were acquired with parameters as follows: 38 slices; repetition time, 9000ms; echo time, 76ms; slice thickness, 4mm; matrix, 128 x 128; field of view, 240mm x 240mm; b values, 0 and 1000 s/mm^2. The 3D-T1 weighted images were acquired with a 3D inversion-recovery-prepared fast spoiled gradient echo sequence: 196 sagittal slices; repetition time, 8.60ms; echo time, 3.27ms; inversion time, 450ms; flip angle, 12°; slice thickness, 1mm; matrix, 256 x 256; field of view, 240mm x 240mm. The multi-echo T2* images to compute R2* were acquired with a fast gradient-echo sequence: 28 slices; repetition time,775ms; eight echo times at 4.3, 8.7, 13.0, 17.4, 21.7, 26.1, 30.5 and 34.8ms; flip angle, 20°; slice thickness, 4mm; matrix, 320 x 320; field of view, 240mm x 240mm.

Supplemental information on image analyses

Maps and coregistration: ADC maps were computed directly at the MR console (Advantage Workstation, GE Healthcare, Milwaukee, Wisconsin). R2* maps were computed offline as previously described (13) with ImageJ software (https://imagej.nih.gov/ij). A mono-exponential signal decay with echo time was obtained by a voxel-by-voxel nonlinear least squares fitting of the multi-echo T2*-weighted data [$S(t) = S_0.e^{-t.R2^*}$; where t = echo time, S = measured signal, R2* = transverse relaxation rate].

ADC and R2* maps were coregistered to the native 3D-T1 sequence using SPM12 software package (Statistical Parametric Mapping, Welcome Trust Center for Neuroimaging, London, UK, http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm12/). Rigid registration of ADC to the native 3D-T1 volume was directly performed. For R2*, rigid registration of the first echo of the multi-echo T2*-weighted sequence to the native 3D-T1 was performed and the transformation was applied to R2* map. For normalization to the MNI152 space, an additional step of non-linear deformation of the 3D-T1 to MNI152 space was performed and then applied to the R2* and DWI/ADC previously coregistered to native 3D-T1. The quality of registration was checked by visual inspection.

Baseline and follow-up measurements with SN: R2* maps were visually inspected blinded from DWI and clinical information. Asymmetry between right and left SN was first quoted as "+", "++" or "+++" if minor, moderate or marked asymmetry was observed. Quotation was "0" if the signal was symmetric. Then, based on infarct side the asymmetry quotation was redefined as positive (higher R2* signal ipsilateral to the infarct) or negative (higher R2* signal contralateral to the infarct) to obtain a 7-rank symmetric scale (+++, ++, +, 0, -, --, ---).

Average R2 maps and voxel-based analysis:* To create average R2* maps, we first flipped individual R2* maps normalized to MNI152 space, if needed, so that all infarct lesions were on the left hemisphere. Average color-coded R2* map were built for the striatum and the control groups, both at baseline and at follow-up (4 average maps in total). A probabilistic atlas from SN coregistered to MNI152 and freely available was overlaid to focus the analyses on SN (14). This atlas is based on manual delineation, by two experts, of SN from 30 participants scanned

with high resolution and high contrast MRI thanks to T2* weighted FLASH 0.5mm isotropic slab collected at 7T. We used the thresholded version of the atlas which only includes the overlapping voxels for at least 10 out of the 30 participants. Then, R2* values falling within the masks of SN from the atlas were compared between striatum and control groups at baseline and at follow-up using voxel-based analysis and unpaired *t*-test based on permutation inference with threshold-free cluster enhancement approach (15). The resulting *t*-map was controlled for multiple comparisons using familywise error rate correction to ensure a false positive rate of $p<0.05$.

Voxel-based lesion-symptom mapping (VLSM): VLSM was first developed to establish a relationship between the presence or lack of a lesion, on a voxel-by-voxel basis, and a behavioral score (16). Here, we used iron accumulation within SN measured by SN-AI_{95} as the outcome variable instead of a behavioral score. Therefore we could map the infarct voxels significantly associated with high AI_{95} within the homolateral SN. For that purpose, we first built a prevalence map of the infarcts using the segmented DWI maps normalized to the MNI152 space and flipped so that all the infarcts projected onto the left hemisphere (**Appendix, Figure 2**). Then, we used the VLSM method implemented in the non-parametric mapping toolbox included in the MRIcron software package (MRIcron, Version 15.6.2015)(17). For each voxel, patients were divided into two groups according to whether they did or did not have an infarct affecting that voxel. SN-AI_{95} at follow-up were thus compared for each voxel, between the lesioned and the non-lesioned group using a Brunner–Munzel rank order test. Only voxels affected in ≥10 subjects have been tested to avoid potential artificial inflation of Brunner-Munzel scores. The resulting Z-score maps were controlled for multiple comparisons using the false discovery rate correction to ensure a false positive rate of $p<0.05$. Maps with a more stringent p-value <0.01 were also presented to ensure robustness of the results.

Supplemental information on statistical analyses

To ensure that SN-AI_{95} of R2* at follow-up was independently related to infract location (striatum involvement or not), we conducted linear multiple regression with covariables expected to influence iron content based on the literature and results from simple regression analyses: infarct location, volume, SN-AI_{95} at baseline, microbleeds (18), age (19), gender (20).

To test the clinical impact of SN-AI_{95} of R2*, linear multiple regressions were performed for motor outcomes (box-and-block test and 10-MWT). For cognitive and emotional outcomes, logistic regression analyses with fixed dichotomy were necessary. Thresholds were chosen based on previous validation in stroke patients. The dependent variables were therefore poor cognitive outcome defined as MoCA $\leqslant$25 (21) or as Isaacs set test $\leqslant$28 (22); or poor emotional outcome defined as post-stroke depression if HADS-D $\geqslant$8 or post-stroke anxiety if HADS-A $\geqslant$8 (12, 23). On top of SN-AI_{95} of R2*, the other explicative variables included in the models because of their possible influence on clinical outcomes were age, gender, infarct volume, infarct side, infarct location and education level for cognitive outcome. No imputation of the missing data was realized due to the small number of missing data.

SUPPLEMENTAL TABLES

Supplemental Table 1. Simple and multiple regression analyses: predictors of poor cognitive outcome at 1 year follow-up in the total population.

	Isaacs set test (⩽28)		MoCA test (⩽25)	
SIMPLE REGRESSION	OR [95%CI]	p-value	OR [95%CI]	p-value
SN-AI$_{95}$ of R2* at follow-up	1.05[1.00 ; 1.10]	**0.03**	1.02[0.98 ; 1.06]	0.36
Striatum location	2.30[1.19 ; 4.45]	**0.01**	0.99[0.54 ; 1.83]	0.97
Infarct volume (cm^3)	1.01[1.00 ; 1.02]	**0.04**	1.01[1.00 ; 1.02]	0.06
Right-side infarct	0.54[0.28 ; 1.04]	0.07	0.69[0.38 ; 1.27]	0.23
Education level (global association)		**0.03**		**0.009**
None	1		1	
Primary	0.58[0.08 ; 4.01]	0.58	0.53[0.05 ; 5.43]	0.60
Junior high school	0.31[0.05 ; 2.00]	0.22	0.19[0.02 ; 1.80]	0.15
Baccalaureate	0.25[0.03 ; 1.89]	0.18	0.09[0.01 ; 1.02]	**0.05**
Superior	0.10[0.01 ; 0.74]	**0.02**	0.11[0.01 ; 1.06]	**0.06**
Age (years)	1.07[1.04 ; 1.10]	**<0.0001**§	4.64[2.43 ; 8.87]§	**<0.0001**
Female gender	2.20[1.11 ; 4.38]	**0.02**	1.63[0.84 ; 3.15]	0.15
MULTIPLE REGRESSION				
SN-AI$_{95}$ of R2* at follow-up	1.05[0.99 ; 1.11]	0.12	1.03[0.97 ; 1.08]	0.34
Striatum location	2.20[0.94 ; 5.15]	0.07	0.77[0.36 ; 1.65]	0.50
Infarct volume (cm^3)	1.01[1.00 ; 1.02]	0.07	1.01[1.00 ; 1.02]	0.07
Right-side infarct	0.37[0.16 ; 0.85]	**0.02**	0.61[0.30 ; 1.26]	0.18
Education level (global association)		0.29		0.14
None	1		1	
Primary	0.63[0.08 ; 5.11]	0.66	0.79[0.07 ; 8.74]	0.85
Junior high school	0.74[0.10 ; 5.48]	0.77	0.42[0.04 ; 4.28]	0.46
Baccalaureate	0.52[0.06 ; 4.50]	0.55	0.23[0.02 ; 2.70]	0.24
Superior	0.2[0.02 ; 1.77]	0.15	0.21[0.02 ; 2.26]	0.20
Age (years)	1.07[1.04 ; 1.11]	**<0.0001**§	4.41[2.11 ; 9.24]	**<0.0001**
Female gender	1.55[0.64 ; 3.78]	0.33	0.97[0.43 ; 2.19]	0.95

Note.
SN-AI$_{95}$, asymmetry index of the 95th percentile of R2* within substantia nigra;
§ age was dichotomized (<65 years vs. ≥65 years) for model adequacy;
Out of the 181 patients, analyses were conducted on n=163-to-172 available data for Isaacs set test and n=162-to-171 available data for MoCA test;
p-values<0.05 are in bold.

Supplemental Table 2. Simple and multiple regression analyses: predictors of poor emotional outcome at 1 year follow-up in the total population.

	HADS-A (⩾8)		HADS-D (⩾8)	
SIMPLE REGRESSION	OR IC95%	P-value	OR IC95%	P-value
SN-AI$_{95}$ of R2* at follow-up	1.02[0.98 ; 1.07]	0.30	1.06[1.00 ;1.12]	**0.03**
Striatum location	1.27[0.65 ; 2.45]	0.48	2.46[1.15 ;5.30]	**0.02**
Infarct volume (cm^3)	1.00[0.99 ; 1.01]	0.57	1.00[0.99 ;1.01]	0.78
Right-side Infarct	1.23[0.64 ; 2.36]	0.54	0.63[0.29 ;1.35]	0.23
Age (years)	0.99[0.97 ; 1.01]	0.41	1.02[0.99 ;1.05]	0.24
Female gender	2.63[1.32 ; 5.26]	**0.006**	1.59[0.72 ;3.48]	0.25
MULTIPLE REGRESSION				
SN-AI$_{95}$ of R2* at follow-up	1.02[0.97 ; 1.07]	0.42	1.05[0.99 ; 1.11]	0.10
Striatum location	1.03[0.49 ; 2.14]	0.94	2.01[0.88 ; 4.60]	0.10
Infarct volume (cm^3)	1.00[0.99 ; 1.01]	0.60	1.00[0.99 ; 1.01]	0.79
Right-side Infarct	1.27[0.64 ; 2.51]	0.50	0.58[0.26 ; 1.29]	0.18
Age (years)	0.98[0.96 ; 1.01]	0.18	1.02[0.98 ; 1.05]	0.33
Female gender	2.97[1.44 ; 6.12]	**0.003**	1.35[0.59 ; 3.12]	0.48

Note.
SN-AI$_{95}$, asymmetry index of the 95th percentile of R2* within substantia nigra;
HADS-A, hospital anxiety and depression scale - anxiety score;
HADS-D, hospital anxiety and depression scale - depression score;
Out of the 181 patients, analyses were conducted on n=173 available data for HADS-A and HADS-D scores;
p-values<0.05 are in bold.

Supplemental Table 3. Substantia nigra asymmetry index (SN-AI) of the parameters of ADC histogram within the total population and in both groups at baseline (24-to-72h).

	Total population (n=181)	p-value§	Striatum group (n=75)	Control group (n=106)	p-value†
BASELINE	Mean [95%CI]		Mean [95%CI]	Mean [95%CI]	
SN-AI$_5$ of ADC	-0.01[-0.03 ; 0.01]	0.37	-0.04[-0.07 ; -0.01]	0.02[-0.00 ; 0.04]	**0.002**
SN-AI$_{med}$ of ADC	0.00[-0.00 ; 0.01]	0.40	-0.00[-0.01 ; 0.01]	0.01[-0.00 ; 0.02]	0.10
SN-AI$_{95}$ of ADC	-0.00[-0.01 ; 0.01]	0.88	-0.01[-0.02 ; 0.01]	0.00[-0.01 ; 0.01]	0.36
SN-AI$_{FWHM}$ of ADC	0.02 [-0.01 ; 0.05]	0.16	0.02[-0.02 ; 0.07]	0.02[-0.02 ; 0.05]	0.91

Notes.
ADC, apparent diffusion coefficient;
SN-AI$_5$, asymmetry index of the 5th percentile of ADC within substantia nigra;
SN-AI$_{med}$, asymmetry index of the median of ADC within substantia nigra;
SN-AI$_{95}$, asymmetry index of the 95th percentile of ADC within substantia nigra;
SN-AI$_{FWHM}$, asymmetry index of full-width at half-maximum of ADC within substantia nigra;
§ p values test whether SN-AI of each parameter is statistically different from 0 (one-sample *t*-test);
† p values test whether SN-AI of each parameter is statistically different between striatum and control groups (unpaired *t*-test);
p-values<0.05 are in bold.

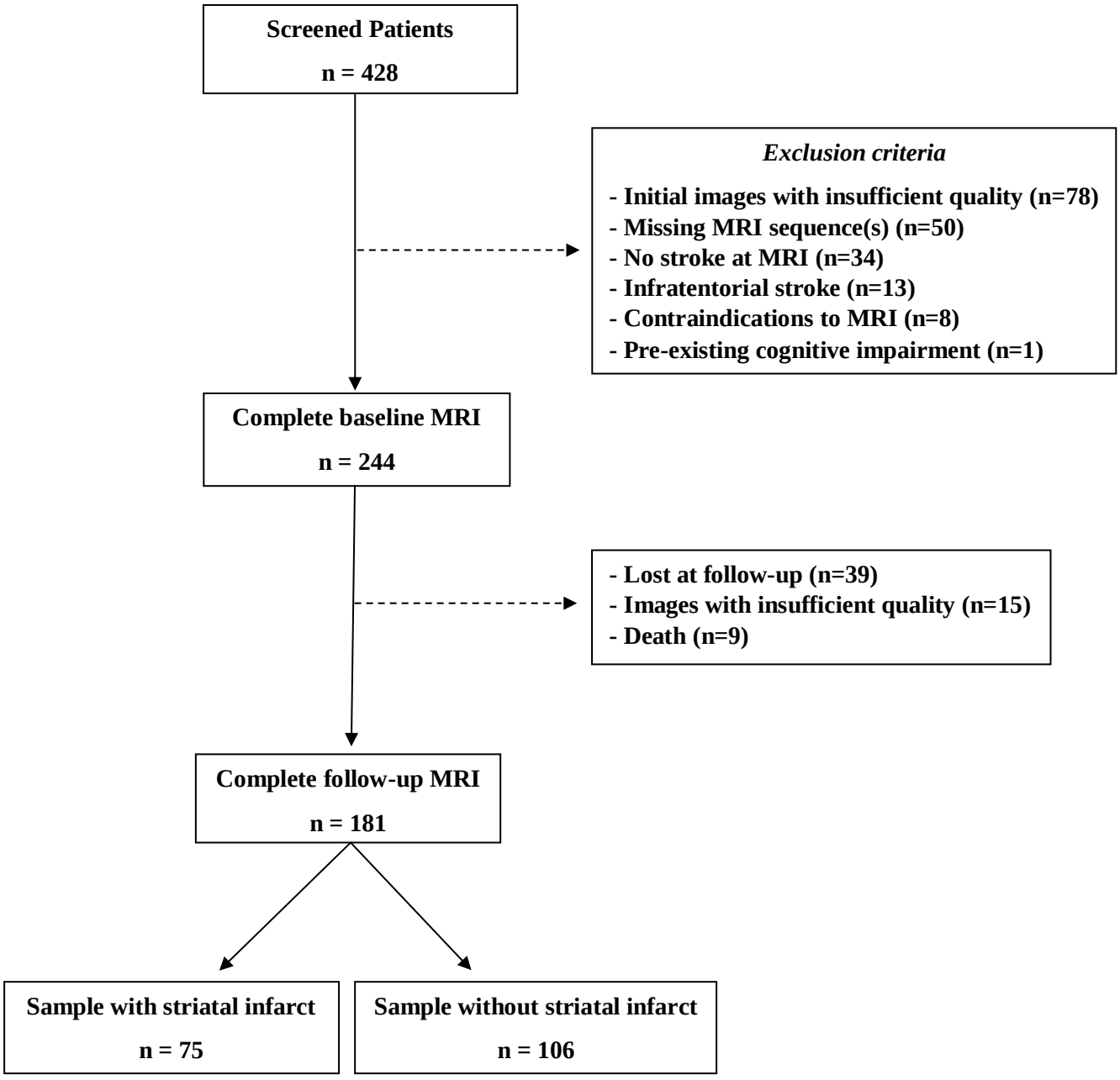
Supplemental Table 4. Simple and multiple regression analyses: predictors of poor motor outcome at 1-year follow-up (low score at box-and-block test and high score at 10-meter walk test) in the total population.

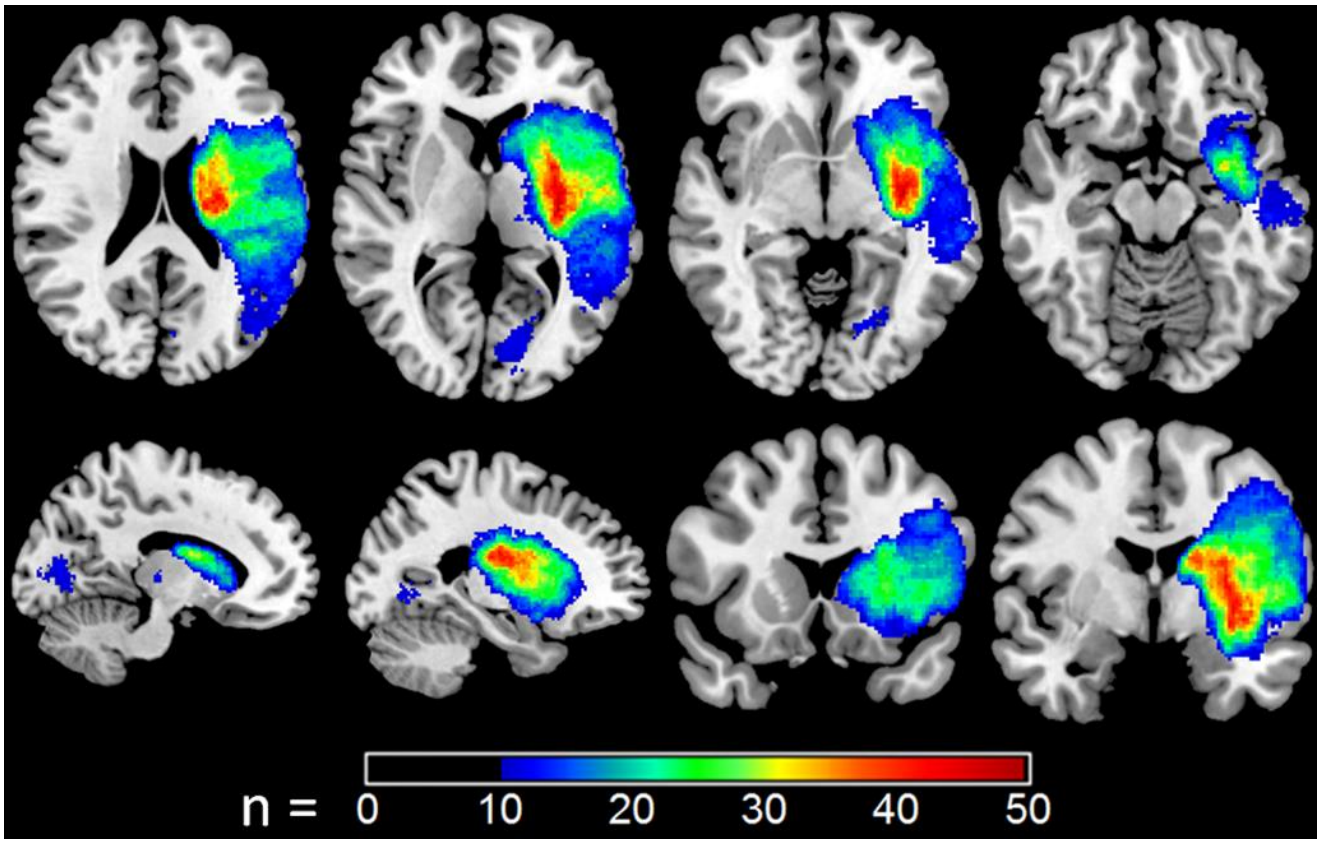
	Box and block test: Non-dominant arm		**Box and block test: Dominant arm**		**10-meter walk test§**	
SIMPLE REGRESSION	β [95%CI]	p-value	β [95%CI]	p-value	β [95%CI]	p-value
SN-AI$_5$ of ADC at baseline	19.64 [-0.17 ; 39.46]	0.05	14.15 [-8.96 ; 37.27]	0.23	-11.10[-26.27 ; 4.07]	0.15
Striatum location	-9.97[-14.73 ; -5.21]	**<0.0001**	-14.00[-19.38 ; -8.61]	**<0.0001**	5.01[1.16 ; 8.87]	**0.01**
Infarct volume (cm^3)	-0.05[-0.11 ; 0.01]	0.14	-0.12[-0.19 ; -0.05]	**0.001**	0.08[0.03 ; 0.13]	**0.001**
Right-side infarct	-5.59[-10.44 ; -0.75]	**0.02**	7.71[2.13 ; 13.29]	**0.007**	1.92[-1.92 ; 5.75]	0.32
Age (years)	-0.33[-0.51 ; -0.15]	**0.0003**	-0.39[-0.60 ; -0.19]	**0.0002**	0.20[0.05 ; 0.34]	**0.008**
Female gender	-2.84[-8.16 ; 2.48]	0.29	-2.35[-8.53 ; 3.82]	0.45	5.12[1.00 ; 9.23]	**0.02**
MULTIPLE REGRESSION						
Striatum location (Yes): SN-AI$_5$ of ADC at baseline	-2.40[-30.10; 25.30]	0.86	-3.75[-33.81 ; 26.32]	0.81	1.22[-11.84 ; 14.28]	0.85
Striatum location (No): SN-AI$_5$ of ADC at baseline	0.25[-29.08 ; 29.59]	0.99	21.26[-10.58 ; 53.10]	0.19	2.02[-11.88 ; 15.92]	0.77
Striatum location	-9.50[-14.25 ; -4.75]	**0.0001**	-13.39[-18.55 ; -8.23]	**<0.0001**	4.32[1.97 ; 6.66]	**0.0004**
Infarct volume (cm^3)	-0.03[-0.09 ; 0.03]	0.35	-0.08[-0.15 ; -0.02]	**0.01**	0.09[0.06 ; 0.12]	**<0.0001**
Right-side infarct	-5.67 [-10.60 ; -0.74]	**0.02**	8.80[3.45 ; 14.15]	**0.001**	-0.65[-3.05 ; 1.75]	0.59
Age (years)	-0.33[-0.50 ; -0.16]	**0.0002**	-0.38[-0.56 ; -0.19]	**0.0001**	0.08[-0.00 ; 0.17]	0.06
Female gender	-0.87[-5.88 ; 4.13]	0.73	1.85[-3.58 ; 7.28]	0.50	3.90[1.44 ; 6.35]	**0.002**

Note.
ADC, apparent coefficient diffusion;
SN-AI$_5$, asymmetry index of the 5th percentile of ADC within substantia nigra;
Out of the 181 patients, analyses were conducted on n=174 available data for box and block test and n=163 available data for 10-meter walk test.
§ 3 patients were excluded from the multiple regression model (n=160) because of model adequacy;
p-values<0.05 are in bold.

SUPPLEMENTAL FIGURES

Supplemental Figure 1. Flow Chart of the study population





Supplemental Figure 2. Prevalence maps of the infarcts.

All lesions were flipped on the left hemisphere. The threshold was set at n≥ 10 for voxel-based lesion-symptom mapping. Infarcts within the middle cerebral artery territory were overrepresented compare to posterior and anterior cerebral artery territories.

SUPPLEMETAL REFERENCES

1. Munsch F, Sagnier S, Asselineau J, et al. Stroke Location Is an Independent Predictor of Cognitive Outcome. Stroke. 2016;47(1):66-73.
2. Kuchcinski G, Munsch F, Lopes R, et al. Thalamic alterations remote to infarct appear as focal iron accumulation and impact clinical outcome. Brain. 2017;140(7):1932-46.
3. Bigourdan A, Munsch F, Coupe P, et al. Early Fiber Number Ratio Is a Surrogate of Corticospinal Tract Integrity and Predicts Motor Recovery After Stroke. Stroke. 2016;47(4):1053-9.
4. Sagnier S, Catheline G, Dilharreguy B, et al. Admission Brain Cortical Volume: An Independent Determinant of Poststroke Cognitive Vulnerability. Stroke. 2017;48(8):2113-20.
5. Mathiowetz V, Volland G, Kashman N, Weber K. Adult norms for the Box and Block Test of manual dexterity. Am J Occup Ther. 1985;39(6):386-91.
6. Graham JE, Ostir GV, Kuo YF, Fisher SR, Ottenbacher KJ. Relationship between test methodology and mean velocity in timed walk tests: a review. Arch Phys Med Rehabil. 2008;89(5):865-72.
7. Desrosiers J, Hebert R, Bravo G, Dutil E. Upper-extremity motor co-ordination of healthy elderly people. Age Ageing. 1995;24(2):108-12.
8. Hwang S, Song CS. Relationship between manual dexterity and the unified parkinson's disease rating scale-motor exam. J Phys Ther Sci. 2016;28(12):3403-6.
9. Bloem BR, Marinus J, Almeida Q, et al. Measurement instruments to assess posture, gait, and balance in Parkinson's disease: Critique and recommendations. Mov Disord. 2016;31(9):1342-55.
10. Nasreddine ZS, Phillips NA, Bedirian V, et al. The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment. J Am Geriatr Soc. 2005;53(4):695-9.
11. Isaacs B, Kennie AT. The Set test as an aid to the detection of dementia in old people. Br J Psychiatry. 1973;123(575):467-70.
12. Zigmond AS, Snaith RP. The hospital anxiety and depression scale. Acta Psychiatr Scand. 1983;67(6):361-70.
13. Peran P, Hagberg G, Luccichenti G, et al. Voxel-based analysis of R2* maps in the healthy human brain. J Magn Reson Imaging. 2007;26(6):1413-20.
14. Keuken MC, Forstmann BU. A probabilistic atlas of the basal ganglia using 7 T MRI. Data Brief. 2015;4:577-82.
15. Smith SM, Nichols TE. Threshold-free cluster enhancement: addressing problems of smoothing, threshold dependence and localisation in cluster inference. Neuroimage. 2009;44(1):83-98.
16. Bates E, Wilson SM, Saygin AP, et al. Voxel-based lesion-symptom mapping. Nat Neurosci. 2003;6(5):448-50.
17. Rorden C, Karnath HO, Bonilha L. Improving lesion-symptom mapping. J Cogn Neurosci. 2007;19(7):1081-8.
18. Wu G, Xi G, Hua Y, Sagher O. T2* magnetic resonance imaging sequences reflect brain tissue iron deposition following intracerebral hemorrhage. Transl Stroke Res. 2010;1(1):31-4.

19. Aquino D, Bizzi A, Grisoli M, et al. Age-related iron deposition in the basal ganglia: quantitative analysis in healthy subjects. Radiology. 2009;252(1):165-72.
20. Bartzokis G, Tishler TA, Lu PH, et al. Brain ferritin iron may influence age- and gender-related risks of neurodegeneration. Neurobiol Aging. 2007;28(3):414-23.
21. Lees R, Selvarajah J, Fenton C, et al. Test accuracy of cognitive screening tests for diagnosis of dementia and multidomain cognitive impairment in stroke. Stroke. 2014;45(10):3008-18.
22. Mehrabian S, Raycheva M, Petrova N, Janyan A, Petrova M, Traykov L. Neuropsychological and neuroimaging markers in prediction of cognitive impairment after ischemic stroke: a prospective follow-up study. Neuropsychiatr Dis Treat. 2015;11:2711-9.
23. Prisnie JC, Fiest KM, Coutts SB, et al. Validating screening tools for depression in stroke and transient ischemic attack patients. Int J Psychiatry Med. 2016;51(3):262-77.

C. Discussion supplémentaire

Ce travail a donc montré que les cartes de R2* en IRM permettent de mesurer des anomalies à long terme au sein de la SN homolatérale à un infarctus localisé sur les connexions anatomiques connues de la SN. Nous proposons ainsi que **les mesures de R2* reflètent** l'excès de fer traduisant **des phénomènes de neurodégénérescence secondaire irréversible de la SN** liés à sa déconnection par l'infarctus. Grâce à ce nouveau biomarqueur nous avons démontré que **la neurodégénérescence secondaire de la SN participe**, de façon indépendante de l'infarctus lui-même, **à une moins bonne récupération clinique** notamment sur les tâches motrices. Nous discutons ici certains éléments supplémentaires qui n'ont pas été abordés en profondeur dans le manuscrit de l'article scientifique.

I. Cartographies VLSM

En utilisant la méthode VLSM (Voxel-based Lesion-Symptom Mapping), nous avons voulu identifier les zones à l'échelle du voxel responsables de l'augmentation du 95ème percentile de l'index d'asymétrie de la SN à 1 an (SN-AI$_{95}$), au-delà de la simple distinction striatum touché ou épargné par l'infarctus. Seuls les voxels pour lesquels l'infarctus était observé chez au moins 10 sujets pouvaient être testés par cette méthode. Les cartographies VSLM ont confirmé l'association entre élévation de SN-AI$_{95}$ et voxels du striatum. Une association était également retrouvée avec des voxels de l'insula, de la capsule externe et interne. Du fait de l'existence de projections corticales directes venant de la SN (95,157,158), l'interruption de ces dernières pourrait donc participer au phénomène de neurodégénérescence secondaire. Une autre possibilité est que ces voxels soient souvent infarcis en même temps que le striatum (même territoire vasculaire) et qu'ils ne soient donc pas pourvoyeurs directement d'accumulation en fer au niveau de la substance noire mais par l'intermédiaire d'une atteinte associée du striatum.

II. Contribution de SN-AI$_{95}$ à l'évolution clinique

D'après la récente division tripartie de la SN basée sur ses connections avec les régions impliquées dans la motricité (partie latérale), la cognition (partie ventrale) et le système limbique (partie médiale) (95), différentes conséquences cliniques pouvaient être attendues en fonction de la localisation de la neurodégénérescence secondaire. Dans le groupe striatum de

notre travail, la neurodégénérescence secondaire prédomine majoritairement en regard de la portion latérale de la SN, comme le confirme la superposition de nos données dans l'atlas disponible sur https://www.neurovault.org/collections/2860 (Figure 12).

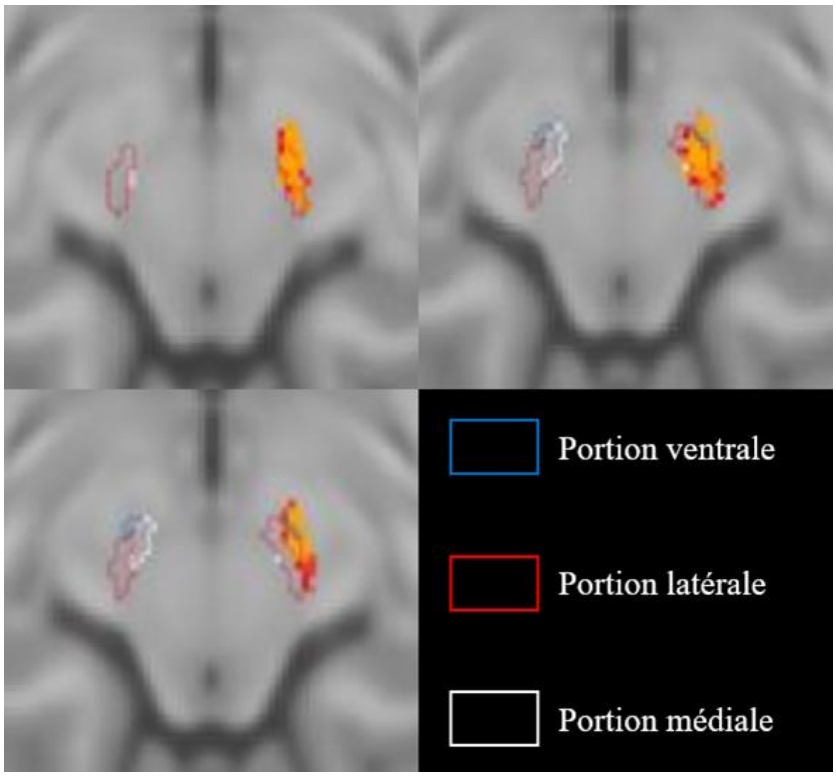


FIGURE 12. Représentation de l'accumulation en fer (jaune) à 1 an dans la substance noire d'après sa division tripartite (portion ventrale = cognition, portion latérale = motricité, portion médiale = système limbique) dans le groupe striatum.
L'ensemble des infarctus est basculé à gauche. L'infarctus du striatum s'accompagne d'une accumulation en fer prédominant dans la portion latérale de la substance noire.
(https://www.neurovault.org/collections/2860/)

En accord avec ce modèle, l'accumulation retardée de fer dans la SN (représentée par le SN-AI_{95}) était associée de manière indépendante à un mauvais score au Box and Block test (bras non-dominant) (Béta = -0.62 [-1.10 ; -0.15], p=0.01) au cours du suivi. Une association était également suggérée avec le 10-meter walk test (Béta = 0.22 [-0.01 ; 0.46], p=0.06). Ces résultats étaient obtenus après avoir préalablement pris en compte l'interaction entre la localisation « striatum » de l'infarctus et le SN-AI_{95} dans l'analyse multivariée. En effet, la localisation « striatum » de l'infarctus était fortement associée à un SN-AI_{95} élevé, mais aussi à un mauvais score pour ces deux tests moteurs. Elle est donc susceptible de masquer l'impact clinique directement causé par la charge en fer. Nos résultats confirment ainsi un impact de la

neurodégénérescence secondaire sur les paramètres moteurs testés quand l'AVC touche le striatum, vraisemblablement car c'est la condition nécessaire à cette accumulation.

III. Limites de l'étude

Notre étude présente plusieurs limites qui doivent être prises en compte pour évaluer l'intérêt scientifique de nos résultats.

1) Validité externe

Sur les 428 patients de la cohorte BBS, seuls 181 répondaient aux critères d'inclusion et présentaient les séquences et les renseignements cliniques à 24-72h et 1 an nécessaires à notre objectif. Par ailleurs les infarctus observés étaient globalement peu sévères avec un volume d'infarctus faible. Il est en effet probable que les patients présentant un infarctus plus sévère et/ou un volume d'infarctus plus élevé toléraient moins bien l'IRM avec des séquences au final non exploitables.
Ces éléments limitent en partie la généralisation de nos résultats à la population de patients présentant un infarctus modéré.

2) Segmentation manuelle de la substance noire

Les valeurs de R2*, nécessaires au calcul de SN-AI_{95}, sont issues d'une segmentation manuelle de la SN directement réalisée sur la cartographie R2* en aveugle de la localisation de l'infarctus et des paramètres cliniques. Malgré nos efforts il est possible que cette segmentation n'ait pas toujours été parfaite. Toutefois nous avons également testé une autre méthode de mesure de SN-AI_{95} (non présentée dans l'article) en recalant toutes les cartes de R2* dans un référentiel commun (MNI152) et en mesurant les valeurs sous un atlas de SN disponible dans ce référentiel. Les 2 méthodes donnaient des résultats très fortement corrélés ($r=0.80$; $p<0.0001$) indiquant une bonne robustesse de nos mesures (Figure 13).

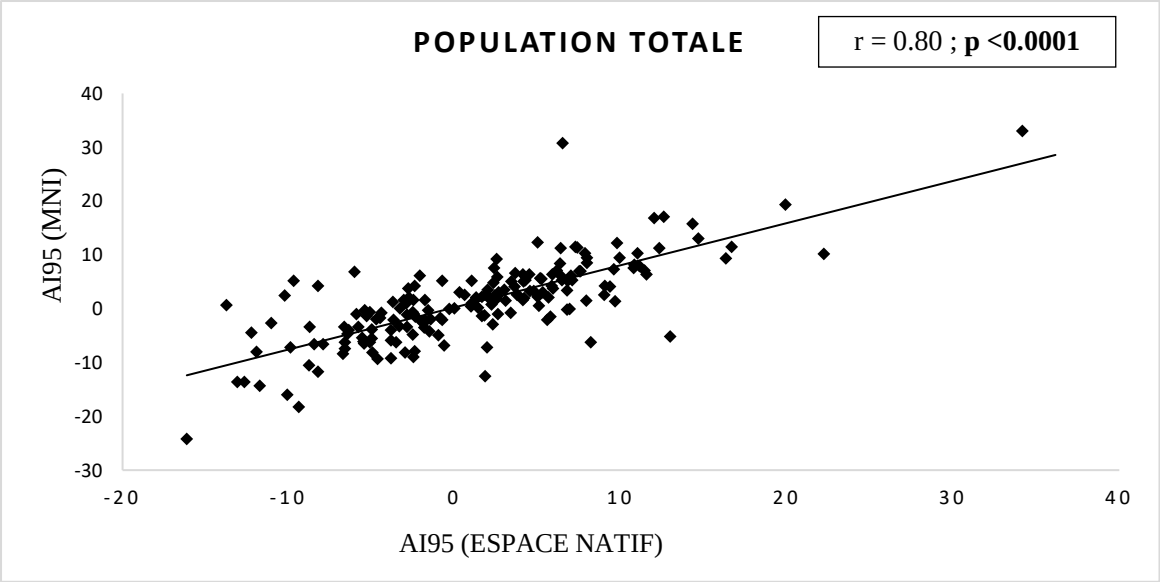


FIGURE 13. Corrélation entre le 95ème percentile de l'index d'asymétrie des valeurs de R2* (SN-AI$_{95}$) mesurées dans l'espace natif (segmentation manuelle) et le référentiel commun (MNI152).

3) Amplitude des valeurs de R2*

La différence absolue entre les valeurs de R2* au niveau de la SN entre côté ipsilatéral et controlatéral à l'infarctus est modérée. Toutefois, elle reste comparable voire supérieure à celles mesurées in vivo et rapportées dans la littérature en situation pathologique comme dans le cadre de la maladie de Parkinson (159).

4) Résultats sur les paramètres cliniques

Nous ne pouvons exclure que la perte de connexions entre d'autres structures après l'infarctus n'influence pas aussi l'évolution clinique du patient, indépendamment de la neurodégénérescence secondaire mesurée uniquement dans la SN. Une analyse globale de toutes les régions potentiellement déconnectées devra répondre à cette question.

IV. Perspectives thérapeutiques

La neurodégénérescence secondaire à long-terme au niveau de la SN après un infarctus se manifeste par une accumulation en fer et contribue à l'évolution motrice des patients.

Ces résultats sont dans la lignée de ceux que nous avons déjà démontrés au niveau du thalamus (36). En s'installant de manière progressive, la neurodégénérescence secondaire pourrait constituer une cible thérapeutique de choix en complément du traitement à la phase aigüe de l'AVC. L'administration d'un traitement neuroprotecteur prévenant l'accumulation de fer pourrait être discutée. Une étude pré-clinique a exploré cette piste et a démontré une diminution de la perte neuronale (52%) liée à la neurodégénérescence secondaire du thalamus après administration d'ebselen, un anti-oxydant, dans les 24h suivant l'occlusion de l'ACM chez l'animal (160). Elle ne s'est toutefois pas intéressée au bénéfice observé d'un point de vue clinique.

Si les mécanismes impliqués diffèrent entre la neurodégénérescence secondaire après l'infarctus et la maladie de Parkinson, dans les deux cas, l'accumulation de fer mesurée in vivo influence de manière péjorative la clinique. La déféripRone (un chélateur du fer capable de franchir la BHE), a prouvé son efficacité sur un groupe de 40 patients atteints de la maladie de Parkinson à un stade débutant (161). L'amélioration clinique (basée sur l'échelle Unified Parkinson's Disease Rating Scale) s'accompagnait d'une diminution de la charge en fer mesurée in vivo au niveau de la SN par relaxométrie R2*. Un PHRC (FAIR-PARKII) est actuellement en cours pour confirmer ces résultats à plus grand échelle.

Par analogie, un traitement similaire pourrait prévenir l'accumulation en fer après un infarctus en regard des zones touchées par la neurodégénérescence secondaire améliorant ainsi l'évolution clinique des patients. Les mesures de R2* utilisées dans ce travail pourraient servir de biomarqueur fiable pour suivre l'impact de cette stratégie.

D. Conclusion

Nous avons démontré pour la première fois grâce à l'utilisation de la relaxométrie R2* en IRM, que nous sommes capables de quantifier la neurodégénérescence à long-terme de la SN secondaire à un infarctus. Cette neurodégénérescence se manifeste par une accumulation hétérogène et retardée de fer prédominant en regard de la partie latérale de la SN et contribue de manière indépendante à l'évolution motrice péjorative du patient.

Du fait de son impact clinique et de la fenêtre thérapeutique offerte, la question d'un traitement neuroprotecteur prévenant l'accumulation de fer dans les suites de l'infarctus pourrait être considérée.

BIBLIOGRAPHIE

1. Sagnier S, Catheline G, Dilharreguy B, Munsch F, Bigourdan A, Poli M, et al. Admission Brain Cortical Volume: An Independent Determinant of Poststroke Cognitive Vulnerability. Stroke. 2017 Aug;48(8):2113–20.
2. Munsch F, Sagnier S, Asselineau J, Bigourdan A, Guttmann CR, Debruxelles S, et al. Stroke Location Is an Independent Predictor of Cognitive Outcome. Stroke. 2016 Jan;47(1):66–73.
3. Duering M, Schmidt R. Remote changes after ischaemic infarcts: a distant target for therapy? Brain. 2017 Jul 1;140(7):1818–20.
4. Zhang J, Zhang Y, Xing S, Liang Z, Zeng J. Secondary Neurodegeneration in Remote Regions After Focal Cerebral Infarction: A New Target for Stroke Management? Stroke. 2012 Jun 1;43(6):1700–5.
5. Stieltjes B, Kaufmann WE, van Zijl PCM, Fredericksen K, Pearlson GD, Solaiyappan M, et al. Diffusion Tensor Imaging and Axonal Tracking in the Human Brainstem. NeuroImage. 2001 Sep;14(3):723–35.
6. Matsusue E, Sugihara S, Fujii S, Kinoshita T, Ohama E, Ogawa T. Wallerian degeneration of the corticospinal tracts: postmortem MR–pathologic correlations. Acta Radiologica. 2007 Jul;48(6):690–4.
7. Ruiman Xie, Min Fang, Linjiang Zhou et al. Diffusion tensor imaging detects Wallerian degeneration of the corticospinal tract early after cerebral infarction. 2012 Apr 25;Neural Regen Res:7(12): 900–905.
8. Chen YJ, Nabavizadeh SA, Vossough A, Kumar S, Loevner LA, Mohan S. Wallerian Degeneration Beyond the Corticospinal Tracts: Conventional and Advanced MRI Findings: Wallerian Degeneration: Conventional & Advanced MRI Findings. Journal of Neuroimaging. 2017 May;27(3):272–80.
9. Walberer M, Jantzen SU, Backes H, Rueger MA, Keuters MH, Neumaier B, et al. In-vivo detection of inflammation and neurodegeneration in the chronic phase after permanent embolic stroke in rats. Brain Research. 2014 Sep;1581:80–8.
10. 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 Jul;204(1):255–262.
11. Pappata S, Levasseur M, Gunn RN, Myers R, Crouzel C, Syrota A, et al. Thalamic microglial activation in ischemic stroke detected in vivo by PET and [11C]PK11195. Neurology. 2000 Oct 10;55(7):1052–4.
12. Li C, Ling X, Liu S, Xu A, Zhang Y, Xing S, et al. Early detection of secondary damage in ipsilateral thalamus after acute infarction at unilateral corona radiata by diffusion tensor imaging and magnetic resonance spectroscopy. BMC Neurol 2011; 11 :49. 2011 Dec;11(1).
13. Gerhard A, Schwarz J, Myers R, Wise R, Banati RB. Evolution of microglial activation in patients after ischemic stroke: a [11C](R)-PK11195 PET study. NeuroImage. 2005 Jan;24(2):591–5.
14. Nakane M, Tamura A, Miyasaka N, Nagaoka T, Kuroiwa T. Astrocytic Swelling in the Ipsilateral Substantia Nigra after Occlusion of the Middle Cerebral Artery in Rats. AJNR Am J Neuroradiol 2001 Apr;22(4):660-3.
15. Zhao F, Kuroiwa T, Miyasaka N, Nagaoka T, Nakane M, Tamura A, et al. Characteristic changes in T 2 -value, apparent diffusion coefficient, and ultrastructure of substantia nigra evolving exofocal postischemic neuronal death in rats. Brain Research. 2001 Mar;895(1–2):238–44.
16. Nakane M, Tamura A, Nagaoka T, Hirakawa K. MR Detection of Secondary Changes Remote from Ischemia: Preliminary Observations after Occlusion of the Middle Cerebral Artery in Rats. AJNR Am J Neuroradiol 1997 May;18(5):945-50.
17. Nakane M, Teraoka A, Asato R. Degeneration of the Ipsilateral Substantia Nigra Following Cerebral Infarction in the Striatum. Stroke 1992 Mar;23(3):328-32.
18. Nakajima M, Inatomi Y, Okigawa T, Yonehara T, Hirano T. Secondary Signal Change and an Apparent Diffusion Coefficient Decrease of the Substantia Nigra After Striatal Infarction. Stroke. 2013 Jan 1;44(1):213–6.

19. Tsai R-J, Hsieh L-C, Cheng S-J, Chen C-Y. Secondary pallidonigral degeneration mimicking recurrent acute stroke in clinical presentation and magnetic resonance imaging: a case report. BMC Neurol 2017 Dec 11;17(1):215. 2017 Dec;17(1).
20. Kinoshita T, Moritani T, Shrier DA, Wang HZ, Hiwatashi A, Numaguchi Y, et al. Secondary Degeneration of the Substantia Nigra and Corticospinal Tract after Hemorrhagic Middle Cerebral Artery Infarction: DiŠusion-weighted MR Findings. Magn Reson Med Sci 2002 Nov 1;1(3):175-8. :4.
21. Forno LS. Reaction of the substantia nigra to massive basal ganglia infarction. Acta Neuropathologica. 1983;62(1–2):96–102.
22. DeGiorgio LA, Dibinis C, Milner TA, Saji M, Volpe BT. Histological and temporal characteristics of nigral transneuronal degeneration after striatal injury. Brain Research. 1998 Jun;795(1–2):1–9.
23. Prinz V, Hetzer A-M, Müller S, Balkaya M, Leithner C, Kronenberg G, et al. MRI Heralds Secondary Nigral Lesion after Brain Ischemia in Mice: A Secondary Time Window for Neuroprotection. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. 2015 Dec;35(12):1903–9.
24. Gold L, Lauritzen M. Neuronal deactivation explains decreased cerebellar blood flow in response to focal cerebral ischemia or suppressed neocortical function. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2002 May 28;99(11):7699–704.
25. Baron JC, Bousser MG, Comar D, Castaigne P. "Crossed cerebellar diaschisis" in human supratentorial brain infarction. Trans Am Neurol Assoc. 1981;105:459–461.
26. Sommer WH, Bollwein C, Thierfelder KM, Baumann A, Janssen H, Ertl-Wagner B, et al. Crossed cerebellar diaschisis in patients with acute middle cerebral artery infarction: Occurrence and perfusion characteristics. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. 2016 Apr;36(4):743–54.
27. Lin DDM, Kleinman JT, Wityk RJ, Gottesman RF, Hillis AE, Lee AW, et al. Crossed Cerebellar Diaschisis in Acute Stroke Detected by Dynamic Susceptibility Contrast MR Perfusion Imaging. American Journal of Neuroradiology. 2009 Apr;30(4):710–5.
28. Sobesky J, Thiel A, Ghaemi M, Hilker RH, Rudolf J, Jacobs AH, et al. Crossed Cerebellar Diaschisis in Acute Human Stroke: A PET Study of Serial Changes and Response to Supratentorial Reperfusion. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. 2005 Dec;25(12):1685–91.
29. Liu Y, Karonen JO, Nuutinen J, Vanninen E, Kuikka JT, Vanninen RL. Crossed Cerebellar Diaschisis in Acute Ischemic Stroke: A Study with Serial SPECT and MRI. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. 2007 Oct;27(10):1724–32.
30. Jiménez-Caballero P. Crossed cerebellar atrophy: Update. Journal of Neurosciences in Rural Practice. 2012;3(3):235.
31. Panahian N, Huang T, Maines MD. Enhanced neuronal expression of the oxidoreductase — biliverdin reductase — after permanent focal cerebral ischemia. Brain Research. 1999 Dec;850(1–2):1–13.
32. Sawlani V, Gupta RK, Singh MK, Kohli A. MRI demonstration of Wallerian degeneration in various intracranial lesions and its clinical implications. Journal of the Neurological Sciences. 1997 Mar;146(2):103–8.
33. Bouza H, Dubowitz LM, Rutherford M, Pennock JM. Prediction of Outcome in Children with Congenital Hemiplegia: A Magnetic Resonance Imaging Study. Neuropediatrics 1994 Apr;25(2):60-6. :7.
34. DeVetten G, Coutts SB, Hill MD, Goyal M, Eesa M, O'Brien B, et al. Acute Corticospinal Tract Wallerian Degeneration Is Associated With Stroke Outcome. Stroke. 2010 Apr 1;41(4):751–6.
35. Bigourdan A, Munsch F, Coupé P, Guttmann CRG, Sagnier S, Renou P, et al. Early Fiber Number Ratio Is a Surrogate of Corticospinal Tract Integrity and Predicts Motor Recovery After Stroke. Stroke. 2016 Apr;47(4):1053–9.
36. Kuchcinski G, Munsch F, Lopes R, Bigourdan A, Su J, Sagnier S, et al. Thalamic alterations remote to infarct appear as focal iron accumulation and impact clinical outcome. Brain. 2017 Jul;140(7):1932–46.
37. Kronenberg G, Balkaya M, Prinz V, Gertz K, Ji S, Kirste I, et al. Exofocal Dopaminergic Degeneration as Antidepressant Target in Mouse Model of Poststroke Depression. Biological Psychiatry. 2012 Aug;72(4):273–81.

38. Winter B, Brunecker P, Fiebach JB, Jungehulsing GJ, Kronenberg G, Endres M. Striatal Infarction Elicits Secondary Extrafocal MRI Changes in Ipsilateral Substantia Nigra. Kleinschnitz C, editor. PLOS ONE. 2015 Sep 1;10(9):e0136483.
39. Viscomi MT, Molinari M. Remote Neurodegeneration: Multiple Actors for One Play. Molecular Neurobiology. 2014 Oct;50(2):368–89.
40. Koliatsos VE, Dawson TM, Kecojevic A, Zhou Y, Wang Y-F, Huang K-X. Cortical interneurons become activated by deafferentation and instruct the apoptosis of pyramidal neurons. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2004 Sep 28;101(39):14264–9.
41. Block F, Dihné M, Loos M. Inflammation in areas of remote changes following focal brain lesion. Progress in Neurobiology. 2005 Apr;75(5):342–65.
42. Galluzzi L, Kepp O, Kroemer G. Mitochondria: master regulators of danger signalling. Nature Reviews Molecular Cell Biology. 2012 Dec;13(12):780–8.
43. Xing S, Zhang Y, Li J, Zhang J, Li Y, Dang C, et al. Beclin 1 knockdown inhibits autophagic activation and prevents the secondary neurodegenerative damage in the ipsilateral thalamus following focal cerebral infarction. Autophagy. 2012 Jan;8(1):63–76.
44. He M, Xing S, Yang B, Zhao L, Hua H, Liang Z, et al. Ebselen attenuates oxidative DNA damage and enhances its repair activity in the thalamus after focal cortical infarction in hypertensive rats. Brain Research. 2007 Nov;1181:83–92.
45. Yamada K, Goto S, Yoshikawa M, Okamura A, Ushio Y. Involvement of N-methyl-d-aspartate receptor in the delayed transneuronal regression of substantia nigra neurons in rats. Brain Research. 1996 Dec;743(1–2):233–9.
46. Bolam JP, Hanley JJ, Booth PAC, Bevan MD. Synaptic organisation of the basal ganglia. Journal of Anatomy. 2000 May;196(4):527–42.
47. Prensa L, Giménez-Amaya JM, Parent A, Bernácer J, Cebrián C. The Nigrostriatal Pathway: Axonal Collateralization and Compartmental Specificity. Birth, Life and Death of Dopaminergic Neurons in the Substantia Nigra. Springer Vienna; 2009. p. 49–58.
48. Carpenter M, Sutin J. Human neuroanatomy 8th edition. Baltimore (MD): Williams & Wilkins. 1983.
49. Massey LA, Yousry TA. Anatomy of the Substantia Nigra and Subthalamic Nucleus on MR Imaging. Neuroimaging Clinics of North America. 2010 Feb;20(1):7–27.
50. Fearnley JM1, Lees AJ. Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. Brain. 1991 Oct;114:2283–2301.
51. Lanciego JL, Luquin N, Obeso JA. Functional Neuroanatomy of the Basal Ganglia. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. 2012 Dec 1;2(12):a009621–a009621.
52. DeLong MR. Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. Trends in Neurosciences. 1990 Jul;13(7):281–5.
53. Albin RL, Young AB, Penney JB. The functional anatomy of basal ganglia disorders. Trends in Neurosciences. 1989 Jan;12(10):366–75.
54. Shink E, Bevan M, Bolam JP, Smith Y. The subthalamic nucleus and the external pallidum: two tightly interconnected structures that control the output of the basal ganglia in the monkey. Neuroscience 1996 Jul;73(2):335-57.
55. Cebrián C, Parent A, Prensa L. Patterns of axonal branching of neurons of the substantia nigra pars reticulata and pars lateralis in the rat. The Journal of Comparative Neurology. 2005 Nov 21;492(3):349–69.
56. Beckstead R, Domesick V, Nauta W. Efferent connections of the substantia nigra and ventral tegmental area in the rat. Brain Res 1979 Oct 19;175(2):191-217.
57. Parent A, Hazrati L-N. Functional anatomy of the basal ganglia. II. The place of subthalamic nucleus and external pallidum in basal ganglia circuitry. Brain Res Brain Res Rev 1995 Jan;20(1):128-54.
58. Granata AR, Kitai ST. Inhibitory substantia nigra inputs to the pedunculopontine neurons. Exp Brain Res 1991;86(3):459-66.

59. Hajós M, Greenfield SA. Synaptic connections between pars compacta and pars reticulata neurones: electrophysiological evidence for functional modules within the substantia nigra. Brain Research. 1994 Oct;660(2):216–24.
60. Damlama, M, Bolam. J P and Tepper. J M. Axon collaterals of pars retlculata projection neurons synapse on pars compacta neurons. Soc Neurosct Abstr. 1993;1432P.
61. Bolam JP, Smith Y. The GABA and substance P input to dopaminergic neurones in the substantia nigra of the rat. Brain Research. 1990 Oct;529(1–2):57–78.
62. Watabe-Uchida M, Zhu L, Ogawa SK, Vamanrao A, Uchida N. Whole-Brain Mapping of Direct Inputs to Midbrain Dopamine Neurons. Neuron. 2012 Jun;74(5):858–73.
63. Jhou TC, Fields HL, Baxter MG, Saper CB, Holland PC. The Rostromedial Tegmental Nucleus (RMTg), a GABAergic Afferent to Midbrain Dopamine Neurons, Encodes Aversive Stimuli and Inhibits Motor Responses. Neuron. 2009 Mar;61(5):786–800.
64. Kaufling J, Veinante P, Pawlowski SA, Freund-Mercier M-J, Barrot M. Afferents to the GABAergic tail of the ventral tegmental area in the rat. The Journal of Comparative Neurology. 2009 Apr 20;513(6):597–621.
65. Hertel A., Weppner M., Baas H., Schreiner M., Maul F.D.et al. Quantification of IBZM dopamine receptor SPET in de novo Parkinson patients before and during therapy. Nucl Med Commun. 1997 Sep;18(9):811-22.
66. Geisler, S., Marinelli, M., Degarmo, B., Becker, M.L., Freiman, A.J. et al. Prominent Activation of Brainstem and Pallidal Afferents of the Ventral Tegmental Area by Cocaine. Neuropsychopharmacology. 2008 Oct;33(11):2688-700.;
67. Björklund A, Dunnett SB. Dopamine neuron systems in the brain: an update. Trends in Neurosciences. 2007 May;30(5):194–202.
68. Haber SN, Knutson B. The Reward Circuit: Linking Primate Anatomy and Human Imaging. Neuropsychopharmacology. 2010 Jan;35(1):4–26.
69. Cragg SJ, Baufreton J, Xue Y, Bolam JP, Bevan MD. Synaptic release of dopamine in the subthalamic nucleus. European Journal of Neuroscience. 2004 Oct;20(7):1788–802.
70. Friend DM, Kravitz AV. Working together: basal ganglia pathways in action selection. Trends in Neurosciences. 2014 Jun;37(6):301–3.
71. Simpson EH, Kellendonk C, Kandel E. A Possible Role for the Striatum in the Pathogenesis of the Cognitive Symptoms of Schizophrenia. Neuron. 2010 Mar;65(5):585–96.
72. Marchand WR, Lee JN, Suchy Y, Johnson S, Thatcher J, Gale P. Aberrant functional connectivity of cortico-basal ganglia circuits in major depression. Neuroscience Letters. 2012 Apr;514(1):86–90.
73. Dybdal D, Forcelli PA, Dubach M, Oppedisano M, Holmes A, Malkova L, et al. Topography of dyskinesias and torticollis evoked by inhibition of substantia nigra pars reticulata: Snpr-Evoked Dyskinesias and Torticollis. Movement Disorders. 2013 Apr;28(4):460–8.
74. Tan SKH, Hartung H, Schievink S, Sharp T, Temel Y. High-Frequency Stimulation of the Substantia Nigra Induces Serotonin-Dependent Depression-Like Behavior in Animal Models. Biological Psychiatry. 2013 Jan;73(2):e1–3.
75. Stahl, Stephen M. Stahl's Essential Psychopharmacology: Neuroscientific Basis and Practical Applications. Cambridge: Cambridge University Press, 2008.
76. Obeso JA, Rodriguez-Oroz MC, Rodriguez M, Lanciego JL, Artieda J, Gonzalo N, et al. Pathophysiology of the basal ganglia in Parkinson's disease. Trends in Neurosciences. 2000 Oct;23:S8–19.
77. Drui G, Carnicella S, Carcenac C, Favier M, Bertrand A, Boulet S, et al. Loss of dopaminergic nigrostriatal neurons accounts for the motivational and affective deficits in Parkinson's disease. Molecular Psychiatry. 2014 Mar;19(3):358–67.
78. Winter C, von Rumohr A, Mundt A, Petrus D, Klein J, Lee T, et al. Lesions of dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta and in the ventral tegmental area enhance depressive-like behavior in rats. Behavioural Brain Research. 2007 Dec;184(2):133–41.

79. Da Cunha C, Wietzikoski S, Wietzikoski EC, Miyoshi E, Ferro MM, Anselmo-Franci JA, et al. Evidence for the substantia nigra pars compacta as an essential component of a memory system independent of the hippocampal memory system. Neurobiology of Learning and Memory. 2003 May;79(3):236–42.
80. Solari N, Bonito-Oliva A, Fisone G, Brambilla R. Understanding cognitive deficits in Parkinson's disease: lessons from preclinical animal models. Learning & Memory. 2013 Sep 18;20(10):592–600.
81. Lima MMS, Andersen ML, Reksidler AB, Vital MABF, Tufik S. The Role of the Substantia Nigra Pars Compacta in Regulating Sleep Patterns in Rats. Brosnan S, editor. PLoS ONE. 2007 Jun 6;2(6):e513.
82. Wise RA. Roles for nigrostriatal—not just mesocorticolimbic—dopamine in reward and addiction. Trends in Neurosciences. 2009 Oct;32(10):517–24.
83. Belin D, Belin-Rauscent A, Murray JE, Everitt BJ. Addiction: failure of control over maladaptive incentive habits. Current Opinion in Neurobiology. 2013 Aug;23(4):564–72.
84. Hirsch WL, Kemp SS, Martinez AJ, Curtin H, Latchaw RE, Wolf G. Anatomy of the Brainstem: AJNR Am J Neuroradiol. 1989;10:923-928:6.
85. Drayer BP. Imaging of the Aging Brain. Radiology. 1988 Mar;166(3):10.
86. Rutledge J, Hilal S, Silver A, Defendini R, Fahn S. Study of movement disorders and brain iron by MR. American Journal of Roentgenology. 1987 Aug;149(2):365–79.
87. Morris CM, Candy JM, Oakley AE, Bloxham CA, Edwardson JA. Histochemical distribution of non-haem iron in the human brain. Acta Anat (Basel). 1992.
88. Flannigan BD, Bradley WG, Mazziotta JC, Rauschning W, Bentson JR, Lufkin RB, et al. Magnetic resonance imaging of the brainstem: normal structure and basic functional anatomy. Radiology. 1985 Feb;154(2):375–83.
89. Enochs WS, Petherick P, Bogdanova A, Mohr U, Weissleder R. Paramagnetic metal scavenging by melanin: MR imaging. Radiology. 1997;204:417-423.
90. Sasaki M, Shibata E, Tohyama K, Takahashi J, Otsuka K, Tsuchiya K, et al. Neuromelanin magnetic resonance imaging of locus ceruleus and substantia nigra in Parkinson??s disease: NeuroReport. 2006 Jul;17(11):1215–8.
91. Keren NI, Lozar CT, Harris KC, Morgan PS, Eckert MA. In vivo mapping of the human locus coeruleus. NeuroImage. 2009 Oct;47(4):1261–7.
92. Lehéricy S, Bardinet E, Poupon C, Vidailhet M, François C. 7 tesla magnetic resonance imaging: A closer look at substantia nigra anatomy in Parkinson's disease: 7T MRI in PD. Movement Disorders. 2014 Nov;29(13):1574–81.
93. Yao B, Li T, Gelderen P, Shmueli K, Dezwart J, Duyn J. Susceptibility contrast in high field MRI of human brain as a function of tissue iron content. NeuroImage. 2009 Feb 15;44(4):1259–66.
94. Mueller C, Pinter B, Reiter E, Schocke M, Scherfler C, Poewe W, et al. Visualization of nigrosome 1 and its loss in PD: Pathoanatomical correlation and in vivo 7T MRI. Neurology. 2014 May 13;82(19):1752–1752.
95. Zhang Y, Larcher KM-H, Misic B, Dagher A. Anatomical and functional organization of the human substantia nigra and its connections. Elife 2017 Aug 21;6 pii: e26653.
96. Chowdhury R, Lambert C, Dolan RJ, Düzel E. Parcellation of the human substantia nigra based on anatomical connectivity to the striatum. NeuroImage. 2013 Nov;81:191–8.
97. Margulies DS, Ghosh SS, Goulas A, Falkiewicz M, Huntenburg JM, Langs G, et al. Situating the default-mode network along a principal gradient of macroscale cortical organization. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2016 Nov 1;113(44):12574–9.
98. Mesulam M. From sensation to cognition. Brain. 1998 Jun 1;121(6):1013–52.
99. Todorich B, Pasquini JM, Garcia CI, Paez PM, Connor JR. Oligodendrocytes and myelination: The role of iron. Glia. 2009 Apr 1;57(5):467–78.
100. Crichton RR. Inorganic biochemistry of iron metabolism from molecular mechanisms to clinical consequences. John Wiley & Sons, Ltd; 2009. 461 p.
101. Daugherty AM, Raz N. Appraising the Role of Iron in Brain Aging and Cognition: Promises and Limitations of MRI Methods. Neuropsychology Review. 2015 Sep;25(3):272–87.

102. Kruszewski M. Labile iron pool: the main determinant of cellular response to oxidative stress. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. 2003 Oct 29;531(1–2):81–92.
103. Melis JPM, van Steeg H, Luijten M. Oxidative DNA Damage and Nucleotide Excision Repair. Antioxidants & Redox Signaling. 2013 Jun 20;18(18):2409–19.
104. Kwok JB. Role of epigenetics in Alzheimer's and Parkinson's disease. Epigenomics. 2010 Oct;2(5):671–82.
105. Catalá A. Lipid peroxidation of membrane phospholipids generates hydroxy-alkenals and oxidized phospholipids active in physiological and/or pathological conditions. Chemistry and Physics of Lipids. 2009 Jan;157(1):1–11.
106. Xie Y, Hou W, Song X, Yu Y, Huang J, Sun X, et al. Ferroptosis: process and function. Cell Death & Differentiation. 2016 Mar;23(3):369–79.
107. Ward RJ, Zucca FA, Duyn JH, Crichton RR, Zecca L. The role of iron in brain ageing and neurodegenerative disorders. The Lancet Neurology. 2014 Oct;13(10):1045–60.
108. Singh N, Haldar S, Tripathi AK, Horback K, Wong J, Sharma D, et al. Brain Iron Homeostasis: From Molecular Mechanisms To Clinical Significance and Therapeutic Opportunities. Antioxidants & Redox Signaling. 2014 Mar 10;20(8):1324–63.
109. Jeff eries WA, Brandon MR, Hunt SV, Williams AF, Gatter KC,, Mason DY. Transferrin receptor on endothelium of brain capillaries. Nature. 1984 312: 162–63;
110. Simpson IA, Ponnuru P, Klinger ME, Myers RL, Devraj K, Coe CL, et al. A Novel Model for Brain Iron Uptake: Introducing the Concept of Regulation. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism. 2015 Jan;35(1):48–57.
111. Moos T, Skjoerringe T, Gosk S, Morgan EH. Brain capillary endothelial cells mediate iron transport into the brain by segregating iron from transferrin without the involvement of divalent metal transporter 1: Iron transport at the blood-brain barrier. Journal of Neurochemistry. 2006 Jul 31;98(6):1946–58.
112. Boserup MW, Lichota J, Haile D, Moos T. Heterogenous distribution of ferroportin-containing neurons in mouse brain. BioMetals. 2011 Apr;24(2):357–75.
113. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM, et al. Hepcidin Regulates Cellular Iron Efflux by Binding to Ferroportin and Inducing Its Internalization. Science 2004 Dec 17;306(5704):2090-3.
114. Urrutia P, Aguirre P, Esparza A, Tapia V, Mena NP, Arredondo M, et al. Inflammation alters the expression of DMT1, FPN1 and hepcidin, and it causes iron accumulation in central nervous system cells. Journal of Neurochemistry. 2013 Aug;126(4):541–9.
115. Todorich B, Zhang X, Slagle-Webb B, Seaman WE, Connor JR. Tim-2 is the receptor for H-ferritin on oligodendrocytes. Journal of Neurochemistry. 2008 Dec;107(6):1495–505.
116. Dringen R, Bishop GM, Koeppe M, Dang TN, Robinson SR. The Pivotal Role of Astrocytes in the Metabolism of Iron in the Brain. Neurochemical Research. 2007 Sep 24;32(11):1884–90.
117. Kakhlon O, Cabantchik ZI. The labile iron pool: characterization, measurement, and participation in cellular processes. Free Radic Biol Med 2002 Oct 15;33(8):1037-46.
118. Wallander ML, Leibold EA, Eisenstein RS. Molecular control of vertebrate iron homeostasis by iron regulatory proteins. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research. 2006 Jul;1763(7):668–89.
119. Crichton RR, Dexter DT, Ward RJ. Brain iron metabolism and its perturbation in neurological diseases. Journal of Neural Transmission. 2011 Mar;118(3):301–14.
120. Connor JR, Snyder BS, Arosio P, Loeffler DA, LeWitt P. A Quantitative Analysis of Isoferritins in Select Regions of Aged, Parkinsonian, and Alzheimer's Diseased Brains. Journal of Neurochemistry. 1995;65(2):717–24.
121. Ramos P, Santos A, Pinto NR, Mendes R, Magalhães T, Almeida A. Iron levels in the human brain: A post-mortem study of anatomical region differences and age-related changes. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. 2014 Jan;28(1):13–7.
122. Farrall AJ, Wardlaw JM. Blood–brain barrier: Ageing and microvascular disease – systematic review and meta-analysis. Neurobiology of Aging. 2009 Mar;30(3):337–52.

123. Block ML, Zecca L, Hong J-S. Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms. Nature Reviews Neuroscience. 2007 Jan;8(1):57–69.
124. Killilea DW, Wong SL, Cahaya HS, Atamna H, Ames BN. Iron Accumulation during Cellular Senescence. Annals of the New York Academy of Sciences. 2004 Jun;1019(1):365–7.
125. Zecca L, Youdim MBH, Riederer P, Connor JR, Crichton RR. Iron, brain ageing and neurodegenerative disorders. Nature Reviews Neuroscience. 2004 Nov;5(11):863–73.
126. Kienzl E, Puchinger L, Jellinger K, Linert W, Stachelberger H, Jameson RF. The role of transition metals in the pathogenesis of Parkinson's disease. Journal of the Neurological Sciences. 1995 Dec;134:69–78.
127. Hirsch EC, Brandel J-P, Galle P, Javoy-Agid F, Agid Y. Iron and Aluminum Increase in the Substantia Nigra of Patients with Parkinson's Disease: An X-Ray Microanalysis. Journal of Neurochemistry. 1991 Feb;56(2):446–51.
128. Kortekaas R, Leenders KL, van Oostrom JCH, Vaalburg W, Bart J, Willemsen ATM, et al. Blood-brain barrier dysfunction in parkinsonian midbrain in vivo. Annals of Neurology. 2005 Feb;57(2):176–9.
129. Salazar J, Mena N, Hunot S, Prigent A, Alvarez-Fischer D, Arredondo M, et al. Divalent metal transporter 1 (DMT1) contributes to neurodegeneration in animal models of Parkinson's disease. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2008 Nov 25;105(47):18578–83.
130. Boll M-C, Sotelo J, Otero E, Alcaraz-Zubeldia M, Rios C. Reduced ferroxidase activity in the cerebrospinal ¯uid from patients with Parkinson's disease. Neuroscience Letters. 1999;4.
131. Mastroberardino PG, Hoffman EK, Horowitz MP, Betarbet R, Taylor G, Cheng D, et al. A novel transferrin/TfR2-mediated mitochondrial iron transport system is disrupted in Parkinson's disease. Neurobiology of Disease. 2009 Jun;34(3):417–31.
132. Zucca FA, Basso E, Cupaioli FA, Ferrari E, Sulzer D, Casella L, et al. Neuromelanin of the Human Substantia Nigra: An Update. Neurotoxicity Research. 2014 Jan;25(1):13–23.
133. Justicia C, Ramos-Cabrer P, Hoehn M. MRI Detection of Secondary Damage After Stroke: Chronic Iron Accumulation in the Thalamus of the Rat Brain. Stroke. 2008 May 1;39(5):1541–7.
134. Thomsen MS, Andersen MV, Christoffersen PR, Jensen MD, Lichota J, Moos T. Neurodegeneration with inflammation is accompanied by accumulation of iron and ferritin in microglia and neurons. Neurobiology of Disease. 2015 Sep;81:108–18.
135. Sastry S, Arendash GW. Time-dependent changes in iron levels and associated neuronal loss within the substantia nigra following lesions within the neostriatum/globus pallidus complex. Neuroscience. 1995 Aug;67(3):649–66.
136. Taylor RA, Sansing LH. Microglial Responses after Ischemic Stroke and Intracerebral Hemorrhage. Clinical and Developmental Immunology. 2013;2013:1–10.
137. Wirenfeldt M, Dissing-Olesen L, Anne Babcock A, Nielsen M, Meldgaard M, Zimmer J, et al. Population Control of Resident and Immigrant Microglia by Mitosis and Apoptosis. The American Journal of Pathology. 2007 Aug;171(2):617–31.
138. Neher JJ, Neniskyte U, Zhao J-W, Bal-Price A, Tolkovsky AM, Brown GC. Inhibition of Microglial Phagocytosis Is Sufficient To Prevent Inflammatory Neuronal Death. The Journal of Immunology. 2011 Apr 15;186(8):4973–83.
139. Bidmon H-J, Emde B, Oermann E, Kubitz R, Witte OW, Zilles K. Heme Oxygenase-1 (HSP-32) and Heme Oxygenase-2 Induction in Neurons and Glial Cells of Cerebral Regions and Its Relation to Iron Accumulation after Focal Cortical Photothrombosis. Experimental Neurology. 2001 Mar;168(1):1–22.
140. Connor JR, Menzies SL. Cellular management of iron in the brain. Journal of the Neurological Sciences. 1995 Dec;134:33–44.
141. Chavhan GB, Babyn PS, Thomas B, Shroff MM, Haacke EM. Principles, Techniques, and Applications of T2*-based MR Imaging and Its Special Applications. RadioGraphics. 2009 Sep;29(5):1433–49.
142. Péran P, Hagberg G, Luccichenti G, Cherubini A, Brainovich V, Celsis P, et al. Voxel-based analysis of R2* maps in the healthy human brain. Journal of Magnetic Resonance Imaging. 2007 Dec;26(6):1413–20.

143. Lewis MM, Du G, Baccon J, Snyder AM, Murie B, Cooper F, et al. Susceptibility MRI captures nigral pathology in patients with parkinsonian syndromes: R2* and QSM Reflect Pathology in Parkinsonism. Movement Disorders. 2018 May;
144. Langkammer C, Krebs N, Goessler W, Scheurer E, Ebner F, Yen K, et al. Quantitative MR Imaging of Brain Iron: A Postmortem Validation Study. Radiology. 2010 Nov;257(2):455–62.
145. House MJ, St. Pierre TG, Kowdley KV, Montine T, Connor J, Beard J, et al. Correlation of proton transverse relaxation rates (R2) with iron concentrations in postmortem brain tissue from alzheimer's disease patients. Magnetic Resonance in Medicine. 2007 Jan;57(1):172–80.
146. Hardy PA, Gash D, Yokel R, Andersen A, Ai Y, Zhang Z. Correlation of R2 with total iron concentration in the brains of rhesus monkeys. Journal of Magnetic Resonance Imaging. 2005 Feb;21(2):118–27.
147. Dusek P, Dezortova M, Wuerfel J. Imaging of Iron. In: International Review of Neurobiology. Elsevier; 2013. p. 195–239.
148. Langkammer C, Schweser F, Krebs N, Deistung A, Goessler W, Scheurer E, et al. Quantitative susceptibility mapping (QSM) as a means to measure brain iron? A post mortem validation study. NeuroImage. 2012 Sep;62(3):1593–9.
149. Deistung A, Schäfer A, Schweser F, Biedermann U, Turner R, Reichenbach JR. Toward in vivo histology: A comparison of quantitative susceptibility mapping (QSM) with magnitude-, phase-, and R2∗-imaging at ultra-high magnetic field strength. NeuroImage. 2013 Jan;65:299–314.
150. Deistung A, Schweser F, Reichenbach JR. Overview of Quantitative Susceptibility Mapping. NMR in Biomedicine. 2017 Apr;30(4):e3569.
151. Schenck JF. Imaging of brain iron by magnetic resonance: T2 relaxation at different field strengths. Journal of the Neurological Sciences. 1995 Dec;134:10–8.
152. Morris CM, Candy JM, Keith AB, Oakley AE, Taylor GA, Edwardson JA, et al. Brain iron homeostasis. Journal of Inorganic Biochemistry. 1992 Aug;47(1):257–65.
153. Haacke EM, Cheng NYC, House MJ, Liu Q, Neelavalli J, Ogg RJ, et al. Imaging iron stores in the brain using magnetic resonance imaging. Magnetic Resonance Imaging. 2005 Jan;23(1):1–25.
154. Salgado JC, Olivera-Nappa A, Gerdtzen ZP, Tapia V, Theil EC, Conca C, et al. Mathematical modeling of the dynamic storage of iron in ferritin. BMC Systems Biology. 2010;4(1):147.
155. Mills E, Dong X, Wang F, Xu H. Mechanisms of brain iron transport: insight into neurodegeneration and CNS disorders. Future Medicinal Chemistry. 2010 Jan;2(1):51–64.
156. Schenck JF, Zimmerman EA. High-field magnetic resonance imaging of brain iron: birth of a biomarker? NMR in Biomedicine. 2004 Nov;17(7):433–45.
157. Kwon HG, Jang SH. Differences in neural connectivity between the substantia nigra and ventral tegmental area in the human brain. Front Hum Neurosci 2014 Feb 6;8:41. 8.
158. Cacciola A, Milardi D, Anastasi GP, Basile GA, Ciolli P, Irrera M, et al. A Direct Cortico-Nigral Pathway as Revealed by Constrained Spherical Deconvolution Tractography in Humans. Front Hum Neurosci. 2016 Jul 26;10.
159. Barbosa JHO, Santos AC, Tumas V, Liu M, Zheng W, Haacke EM, et al. Quantifying brain iron deposition in patients with Parkinson's disease using quantitative susceptibility mapping, R2 and R2*. Magnetic Resonance Imaging. 2015 Jun;33(5):559–65.
160. He M, Xing S, Yang B, Zhao L, Hua H, Liang Z, et al. Ebselen attenuates oxidative DNA damage and enhances its repair activity in the thalamus after focal cortical infarction in hypertensive rats. Brain Research. 2007 Nov;1181:83–92.
161. Devos D, Moreau C, Devedjian JC, Kluza J, Petrault M, Laloux C, et al. Targeting Chelatable Iron as a Therapeutic Modality in Parkinson's Disease. Antioxidants & Redox Signaling. 2014 Jul 10;21(2):195–210.

Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.
Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.
Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.
Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré et méprisé si j'y manque.

Version validée et mise à jour par le Conseil National de l'Ordre des Médecins (05.01.2012)

La neurodégénérescence à long-terme de la substance noire secondaire à un infarctus ipsilatéral est quantifiable par l'imagerie sensible au fer et contribue à l'évolution motrice du patient

Objectif : Démontrer que la neurodégénérescence à long terme de la substance noire (SN) secondaire à un infarctus supratentoriel peut être mesurée avec une imagerie sensible au fer et contribue de manière indépendante à l'évolution clinique du patient.
Matériels et Méthodes : 181 patients victimes d'un AVC ischémique (75 concernant le striatum, 106 concernant d'autres localisations) ont été prospectivement évalués cliniquement et par IRM, avec relaxométrie R2* pour mesurer la charge en fer, à 24-72h (initialement) et à un an (suivi). La SN a été segmentée afin d'obtenir les valeurs de R2* puis de calculer un index d'asymétrie (SN-AI). Le 95ème percentile de cet index ($SN\text{-}AI_{95}$) a été retenu comme le paramètre reflétant les fortes concentrations en fer dans la SN. Ce paramètre a été comparé selon la localisation de l'infarctus par un test de Student non apparié et analysé à l'échelle du voxel à partir de cartographies de moyennes des valeurs de R2*. Une analyse multivariée a aussi été réalisée pour prendre en compte les facteurs susceptibles d'influencer l'accumulation de fer. L'identification des voxels infarcis significativement associés à un $SN\text{-}AI_{95}$ élevé a été réalisée grâce à la méthode Voxel-based Lesion-Symptom Mapping (VLSM). Enfin l'association entre le $SN\text{-}AI_{95}$ et les scores cliniques a été testée par des modèles de régression multiple.
Résultats : L'inspection visuelle, le $SN\text{-}AI_{95}$ et les cartographies de moyennes ont démontré une augmentation significative retardée (à 1 an mais pas à 24-72h) de la charge en fer si le striatum était touché par l'infarctus par rapport à s'il ne l'était pas ($p<0.0001$). La méthode VLSM a confirmé que le striatum mais aussi l'insula, les capsules interne et externe étaient associées à un $SN\text{-}AI_{95}$ élevé. Cette association était indépendante du volume de l'infarctus, du $SN\text{-}AI_{95}$ initial, du nombre de microbleed, de l'âge et du genre ($\beta=4.99$ [2.94; 7.04], $p<0.0001$). L'augmentation du $SN\text{-}AI_{95}$ contribuait de manière indépendante à l'évolution motrice péjorative des patients (Box-and-Block, $p=0.01$) mais n'influençait pas les domaines cognitifs et émotionnels.
Conclusion : La neurodégénérescence à long-terme de la SN secondaire à un infarctus homolatéral peut être mesurée par relaxométrie R2* et contribue indépendamment à l'évolution motrice du patient durant le suivi.

Mots clés: Substance noire, fer, IRM, R2*, neurodégénérescence secondaire, infarctus du striatum.

Long-term neurodegeneration of substantia nigra secondary to ipsilateral infarct is quantified with iron-sensitive imaging and impacts motor outcome

Purpose: To demonstrate that long-term neurodegeneration of substantia nigra (SN) secondary to disconnection by a supratentorial infarct can be quantified with iron-sensitive imaging and contributes independently to patient outcome.
Materials and Methods: 181 stroke patients (75 striatum infarcts, 106 other locations) were prospectively evaluated at 24-to-72h (baseline) and at one-year (follow-up) clinically and with MRI to quantify iron through R2* map. SN was outlined to measure an asymmetry index (SN-AI) of R2*. We focussed on the 95th percentile as a metric of high iron content. $SN\text{-}AI_{95}$ was compared according to infarct location with unpaired *t*-test and with voxel-based analysis from average maps. $SN\text{-}AI_{95}$ was also regressed with variables expected to influence iron accumulation. We also identified individual voxels whose infarction was significantly associated with high $SN\text{-}AI_{95}$ through voxel-based lesion-symptom mapping (VLSM). Multiple regression models tested the association between $SN\text{-}AI_{95}$ and clinical scores.
Results: Visual inspection, $SN\text{-}AI_{95}$ and average maps consistently showed a delayed increase (at follow-up but not at baseline) that was significantly higher if ipsilateral striatum was involved than if not ($p<0.0001$). VLSM confirmed that striatum but also insula, internal and external capsules were associated with high $SN\text{-}AI_{95}$. This association was independent of infarct volume, baseline $SN\text{-}AI_{95}$, microbleed, age and gender ($\beta=4.99$ [2.94; 7.04], $p< 0.0001$). Such increase of $SN\text{-}AI_{95}$ was an independent contributor of poor motor outcome (Box-and-Block, $p=0.01$) but not of cognitive or emotional outcome.
Conclusion: Long-term neurodegeneration of SN remote from an ipsilateral infarct can be quantified with R2* and independently impacts motor outcome at follow-up.

Keywords: Substantia nigra, iron, MRI, R2*, secondary neurodegeneration, striatal infarct.

DISCIPLINE : Radiodiagnostic et imagerie médicale

UNIVERSITE DE BORDEAUX- 146 rue Léo Saignat 33076 BORDEAUX CEDEX