

Université de Lille
Ecole Doctorale Biologie Santé

THESE

En vue de l'obtention du grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LILLE

Imagerie quantitative de l'accumulation du fer dans la maladie d'Alzheimer

Présentée et soutenue le 22 janvier 2021

Par Grégory KUCHCINSKI

Jury

Mme le Pr Marie SARAZIN	Rapporteur
Mme le Pr Maria ARGYROPOULOU	Rapporteur
Mme le Pr Florence PASQUIER	Examineur
Mr le Pr Jean-François MEDER	Examineur
Mme le Pr Catherine ADAMSBAUM	Examineur
Mr le Pr Thomas TOURDIAS	Examineur
Mr le Pr Jean-Pierre PRUVO	Directeur
Mr le Pr Sébastien VERCLYTTE	Co-directeur

A Elina, Gaspard et Raphaëlle

Remerciements

Aux membres du jury

Madame le Pr Marie SARAZIN

Vous me faites l'honneur d'être rapporteur de ce travail. Votre expertise dans le domaine de la maladie d'Alzheimer et votre rigueur scientifique apporteront un éclairage riche d'enseignements. Je serai ravi que nos échanges puissent se poursuivre à l'avenir.

Madame le Pr Maria ARGYROPOULOU

Je suis très honoré que vous ayez accepté d'être rapporteur de ce travail. Vos encouragements lors du congrès européen de neuroradiologie m'ont beaucoup touché. J'admire votre curiosité pour les techniques avancées et votre engagement européen. Puisse ce travail conduire à de nombreuses collaborations entre nos deux pays.

Madame le Pr Florence PASQUIER

Votre présence dans le jury m'honore. Sans vous ce travail n'aurait pas été possible. Nos discussions régulières lors des réunions pluridisciplinaires et des enseignements ont pour moi une grande valeur. Votre connaissance aigüe de la thématique et votre sens clinique ont grandement contribué à enrichir ce travail.

Monsieur le Pr Jean-François MEDER

Je te remercie d'avoir accepté de juger mon travail. L'année-recherche passée dans ton service a été le point de départ de mon parcours de chercheur. Pour ton accueil chaleureux et ta confiance, je te suis reconnaissant.

Madame le Pr Catherine ADAMSBAUM

C'est un honneur de vous compter parmi les membres de ce jury. J'ai été très sensible à vos commentaires bienveillants lors de mon audition par le CNU. Je serais ravi que nous puissions collaborer à travers des applications pédiatriques de ce travail.

Monsieur le Pr Thomas TOURDIAS

Tu me fais l'immense plaisir de juger cette thèse. Mon passage à Bordeaux a été un moment important de ma vie professionnelle et personnelle. Je te remercie pour tes nombreux conseils lors des comités de suivi individuel. Ta sincérité, ta simplicité et ta vision de l'imagerie et de la recherche sont pour moi une source d'inspiration quotidienne.

A mon directeur et mon co-directeur

Monsieur le Pr Jean-Pierre PRUVO

Je ne vous remercierai jamais assez pour tout ce que vous m'avez apporté dans le cadre de ce travail et au-delà. Votre engagement sincère et sans faille aux services des patients, des étudiants et de la recherche, dans notre région, en France et en Europe, sont un exemple pour moi. Je vous serai éternellement reconnaissant de la confiance que vous m'accordez et de votre accompagnement bienveillant.

Monsieur le Pr Sébastien VERCLYTTE

Tu as su me soutenir tout en respectant mon autonomie. Ton écoute et tes conseils ont été importants dans les moments les plus difficiles. Je te remercie sincèrement de m'avoir accompagné dans cette aventure.

Dans le cadre de ce travail

Je remercie les Prs Luc Buée et Régis Bordet, Sophie Crespin, pour leur action de coordination des différentes équipes de l'U1172 et de l'UMS2014-US41.

Je remercie plus particulièrement :

L'équipe de la plateforme d'imagerie du vivant et fonction

Renaud, pour son soutien méthodologique et amical, celui qui rend possible toutes mes idées farfelues et dont les travaux de recherche sont une grande source d'inspiration.

Romain, le pionnier du QSM, pour son aide lors de la mise en place initiale laborieuse de la technique.

Julien, pour sa gentillesse et son aide dans la gestion des données.

Maxime et Chloé, dont la compétence a grandement contribué à la qualité des acquisitions indispensables à ce travail.

Jean-Baptiste, pour son aide dans l'analyse des données préliminaires sur sujets sains.

Florent, pour son aide précieuse lors de la mise en place de la technique sur la micro-IRM.

Nicolas, pour sa bonne humeur et sa rigueur dans l'acquisition des données et la prise en charge des animaux.

Clémence, pour sa disponibilité et sa contribution au post-traitement des données précliniques.

Charlotte, pour m'avoir formé à l'évaluation du comportement animal.

Les équipes de l'U1172

David Devos pour son enthousiasme, pour avoir établi une collaboration avec le Pr Yi Wang de l'université de Cornell et permis l'implémentation de la technique QSM à Lille, pour son aide dans la construction de mon projet de mobilité.

Kelly, Julie, Maud, pour m'avoir initié aux différentes facettes de la recherche préclinique.

David Blum qui m'a permis de travailler sur la lignée APP/PS1 à une période charnière de ce travail.

Vincent Prévot et Paolo Giacobini, pour m'avoir fait découvrir le monde de l'hypothalamus, ouvrant des perspectives intéressantes à ce travail

L'équipe du service de Neuroradiologie

Le Pr Xavier Leclerc, pour son expertise scientifique et médicale de haut niveau.

Gustavo, Bruno, Mohammed, Sabine, pour leurs avis et leur disponibilité.

Mes co-chefs et collègues, Céline, François, Juliette, Quentin, Julien, Bénédicte, Nassima, Jessica, Montserrat, Olivier dont l'implication clinique m'a permis de consacrer du temps à mon travail de recherche.

Lotfi Hacein-Bey, pour sa relecture du manuscrit et ses conseils toujours avisés.

L'équipe de neurologie C et du CMRR

Thibaud Lebouvier, Adeline Rollin-Sillaire, Xavier Delbeuck, Mélanie Leroy, Yao Chen, pour leur implication dans la prise en charge des malades d'Alzheimer jeunes et nos discussions toujours enrichissantes et constructives en recherche et dans le soin.

Mes compagnons de thèse

Romain, pour les déjeuners-sandwichs devant des IRM de souris et l'initiation au flexitarisme.

Sammy, Barbara, pour leur oreille attentive et réconfortante dans les moments de doute.

Mes « étudiants » et internes

Martin, Caroline, Guillaume, Raphaël, Marjorie, Nicolas, Victor, Lucas, Sevak, Maxime, parce que partager c'est continuer de grandir.

RESUME

Objectif : Evaluer le lien entre les variations de la charge cérébrale en fer mesurée par quantification de susceptibilité magnétique (QSM), les modifications de trophicité corticale, les lésions histologiques associées à la maladie d'Alzheimer (MA) et les performances cognitives. **Matériels et méthodes :** Dans un premier volet clinique, 68 patients présentant une MA à début précoce (EOAD) ont bénéficié de manière prospective d'une IRM cérébrale à 3Tesla avec cartographie de la charge en fer par QSM, ainsi que d'une évaluation neuropsychologique concomitante. Dans un second volet préclinique, 14 souris transgéniques APP/PS1 et 24 souris wild-type littermate ont bénéficié d'une IRM cérébrale 7Tesla avec QSM selon une méthodologie similaire, et d'une évaluation comportementale à 3, 6 et 9 mois de vie. A 12 mois, les souris étaient sacrifiées et une acquisition IRM ex vivo était réalisée. **Résultats :** Chez les patients EOAD, des valeurs de QSM plus élevées dans l'hippocampe et l'amygdale apparaissent corrélées à une atrophie à prédominance limbique ; au contraire, des valeurs de QSM plus élevées au sein du striatum et du thalamus étaient associées à une atrophie épargnant l'hippocampe. Des valeurs de QSM plus élevées dans le thalamus et le putamen étaient associées à de moins bonnes performances dans les fonctions linguistiques et visuo-spatiales. Au sein du modèle murin APP/PS1, une élévation significative des valeurs de QSM de topographie hippocampique était observée à 9 et 12 mois, localisée essentiellement au sein du gyrus denté et du subiculum. Un déficit en mémoire de référence spatiale était également constaté à M9 mais sans corrélation statistique avec les valeurs de QSM hippocampiques. **Conclusion :** Nous avons révélé un lien significatif entre la distribution du fer dans les noyaux gris centraux et l'expression phénotypique des lésions de MA reflétée par le pattern d'atrophie cérébrale. L'impact de la charge amyloïde seule sur la susceptibilité magnétique cérébrale étant toutefois limité, nos résultats issus de l'étude préclinique suggèrent l'existence d'une accumulation de fer indépendante de la charge amyloïde et dont l'effet pourrait être délétère sur le pronostic cognitif.

ABSTRACT

Objective: To evaluate relationships between changes in brain iron load as measured by Quantitative Susceptibility Mapping (QSM), histopathological lesions associated with Alzheimer's disease (AD) and cognitive performance. **Materials and methods:** Initially, 68 patients with early-onset AD (EOAD) were prospectively evaluated with brain iron load mapping using QSM at 3T MRI and received a concomitant neuropsychological evaluation. Then, 14 APP/PS1 transgenic and 24 wild-type littermate mice underwent 7T MRI with similar QSM methodology, and behavioral evaluations at 3, 6 and 9 months of life. At 12 months, the mice were sacrificed and ex vivo MRI acquisitions were performed. **Results:** In EOAD patients, higher QSM values in the hippocampus and amygdala appeared to correlate with limbic-dominant atrophy involving the hippocampus and amygdala, while higher QSM values in striatum and thalamus were associated with hippocampal-sparing atrophy. Higher QSM values in the thalamus and putamen were associated with poorer performance in language and visuo-spatial functions. In APP/PS1 model, a significant increase in QSM values was observed from 9 months on, mainly within the dentate gyrus and subiculum. Although a concomitant deficit in spatial reference memory was noted, no correlation was observed with hippocampal QSM values. **Conclusion:** Our study demonstrated a significant association between the distribution of deep gray nuclei iron content and AD lesions as reflected by brain atrophy pattern. However, since the impact of amyloid load alone on QSM was limited, our preclinical results suggest that iron accumulation may have a potential adverse effect on cognition independently from amyloid load.

Table des matières

I. Introduction générale.....	1
I.1. Le fer et son métabolisme.....	3
I.1.1. Propriétés physico-chimiques du fer.....	3
I.1.2. Réactions d'oxydo-réduction du fer dans l'organisme.....	3
I.1.3. Régulation systémique.....	4
I.1.4. Régulation cérébrale.....	5
I.2. « De l'ombre jaillit la lumière » : Techniques de quantification du fer en IRM.....	8
I.2.1. Concepts de magnitude et de phase du signal IRM.....	9
I.2.2. Relaxométrie R2*.....	11
I.2.3. Quantification de susceptibilité magnétique (QSM).....	15
I.2.3.1. Principe physique du QSM.....	15
I.2.3.2. Combinaison de l'information provenant des différents éléments d'antenne.....	15
I.2.3.3. Dépliage de la phase.....	16
I.2.3.4. Elimination du champ magnétique de fond.....	18
I.2.3.5. Calcul de la susceptibilité magnétique à partir des variations locales de champ magnétique.....	19
I.2.3.6. Contraste des cartes de susceptibilité magnétique.....	22
I.2.3.7. Principaux paramètres influençant la qualité des cartes de susceptibilité magnétique.....	24
I.2.4. Synthèse.....	24
I.3. De l'hétérogénéité de la maladie d'Alzheimer.....	25
I.3.1. Description classique de la maladie.....	25
I.3.1.1. Lésions histologiques associées à la maladie d'Alzheimer.....	25
I.3.1.2. Biomarqueurs du processus pathologique.....	25
I.3.1.3. Expression clinique typique.....	26
I.3.2. Sources d'hétérogénéité phénotypique.....	26
I.3.2.1. Formes génétiques.....	26
I.3.2.2. Stades de sévérité.....	27
I.3.2.3. Variants de la maladie et concept de typicité.....	28
II. Etude clinique : Pattern d'atrophie cérébrale, charge en fer au sein des noyaux gris centraux et performances cognitives dans la maladie d'Alzheimer à début précoce.....	29
II.1. Introduction.....	30
II.2. Matériel et méthodes.....	32
II.3. Résultats.....	37
II.4. Discussion.....	47
II.5. Conclusion.....	50

III. Etude préclinique : Modifications longitudinales de susceptibilité magnétique cérébrale au sein d'un modèle murin de la maladie d'Alzheimer.....	51
III.1. Introduction.....	52
III.2. Matériel et méthodes.....	53
III.3. Résultats.....	57
III.4. Discussion.....	66
III.5. Conclusion.....	68
IV. Perspectives.....	69
IV.1. De la difficulté d'évaluer la charge corticale en fer : limites actuelles et perspectives.....	70
IV.1.1. Comparaison de la charge corticale en fer en fonction du profil cognitif chez les patients EOAD.....	70
IV.1.2. Facteurs limitant la mesure de la charge en fer corticale par QSM dans notre travail.....	70
IV.1.3. Comparaison aux données de la littérature.....	75
IV.1.4. Utilisation de la covariance du QSM cortical ou connectivité basée sur le QSM.....	75
IV.2. Accumulation de fer, hypothalamus et trouble de la régulation pondérale : vers un biomarqueur pronostique ?.....	79
IV.2.1. Lien entre surpoids à un âge moyen et maladie d'Alzheimer.....	79
IV.2.2. Paradoxe du surpoids à un âge avancé.....	79
IV.2.3. Effet du poids sur la charge cérébrale en fer chez les patients EOAD.....	80
V. Conclusion générale.....	83
VI. Bibliographie.....	85
Annexe.....	101
Article "Deep gray nuclei MRI-assessed iron load is associated with pattern of brain atrophy and cognitive performance in sporadic early-onset Alzheimer's disease".....	102

Liste des figures

I.1. Introduction - Représentation schématique de l'effet d'une concentration croissante de fer sur le champ magnétique.....	8
I.2. Introduction - Courbe de l'évolution du signal de précession libre au cours du temps.....	10
I.3. Introduction - Représentation schématique du vecteur d'aimantation transversale, caractérisé par sa magnitude A et sa phase ϕ	10
I.4. Introduction - Décroissance de la magnitude du signal avec le temps d'écho lors d'une acquisition mGRE.....	12
I.5. Introduction - Représentation de l'effet de l'augmentation de la concentration en fer sur la décroissance de la magnitude du signal.....	13
I.6. Introduction - Cartes paramétriques de $R2^*$ et de susceptibilité magnétique du cerveau humain...	14
I.7. Introduction - Etape de dépliage des cartes de phase.....	17
I.8. Introduction - Découpage des cartes de phase en sous-régions homogènes utilisé par les méthodes de type « graph-cut ».....	18
I.9. Introduction - Etape d'élimination du champ magnétique de fond.....	20
I.10. Introduction - Comparaison de différents algorithmes d'élimination du champ magnétique.....	20
I.11. Introduction - Etape de conversion des cartes de champ magnétique tissulaire en carte de susceptibilité magnétique.....	22
I.12. Introduction - Influence de la régularisation sur les cartes de susceptibilité magnétique.....	23
I.13. Introduction - Contraste des cartes cérébrales de susceptibilité magnétique et $R2^*$ obtenues <i>ex vivo</i> chez la souris.....	23
II.1. Etude clinique - Représentation schématique du post-traitement des images.....	35
II.2. Etude clinique - Diagramme de flux.....	37
II.3. Etude clinique - Association à l'échelle du voxel entre le pattern d'atrophie cérébrale évalué par le rapport HV:CTV et les valeurs de QSM dans les noyaux gris centraux et les structures limbiques.....	42
II.4. Etude clinique - Association à l'échelle du voxel entre les valeurs de QSM dans les noyaux gris centraux et les performances cognitives.....	45
III.1. Etude préclinique - Représentation du protocole d'évaluation comportementale.....	55
III.2. Etude préclinique - Activité locomotrice spontanée à M3, M6 et M9.....	57
III.3. Etude préclinique - Mesure du taux d'entrées en bras ouverts à M3, M6 et M9.....	58
III.4. Etude préclinique - Mesure du taux d'alternance spontanée à M3, M6 et M9.....	59
III.5. Etude préclinique - Mesure du temps passé dans le secteur cible et de la latence primaire lors de la session de test à M3, M6 et M9.....	60

III.6. Etude préclinique - Mesure du temps passé dans les zones adjacentes au trou cible lors de la session test à M9.....	61
III.7. Etude préclinique - Mesure des latences lors des phases d'acquisition et de rétention.....	62
III.8. Etude préclinique - Comparaison à l'échelle du voxel de la susceptibilité magnétique cérébrale en fonction du génotype APP/PS1 à M9.....	63
III.9. Etude préclinique - Comparaison à l'échelle du voxel de la susceptibilité magnétique cérébrale obtenue <i>ex vivo</i> à M12.....	64
III.10. Etude préclinique - Confrontation QSM / atlas histologique.....	65
IV.1. Perspectives - Comparaison de l'épaisseur corticale et des valeurs de QSM corticales en fonction du profil cognitif de 68 patients EOAD.....	71
IV.2. Perspectives - Illustration d'artéfacts limitant l'étude du cortex en QSM.....	72
IV.3. Perspectives - Evaluation de la reproductibilité test-retest de la susceptibilité magnétique corticale.....	74
IV.4. Perspectives - Communautés déterminées chez les patients EOAD.....	78
IV.5. Perspectives - Association à l'échelle du voxel entre QSM et IMC.....	81

Liste des tableaux

II.1. Etude clinique - Caractéristiques démographiques, cliniques et d'imagerie de la population d'étude, au moment de l'IRM (n=68).....	38
II.2. Etude clinique - Association entre les valeurs de QSM dans les noyaux gris centraux / structures limbiques et le pattern d'atrophie cérébral mesuré par le ratio HV:CTV (n=68).....	40
II.3. Etude clinique – Association entre les valeurs de QSM dans les noyaux gris centraux / structures limbiques et les performances cognitives (n=57).....	43
II.4. Etude clinique – Association entre les valeurs de QSM dans les noyaux gris centraux / structures limbiques et les performances cognitives, indépendamment du pattern d'atrophie cérébrale (n=57).....	44
II.5. Etude clinique – Association entre les valeurs de QSM dans les noyaux gris centraux / structures limbiques et le génotype APOEε4.....	46
IV.1. Perspectives – Association à l'échelle de la région d'intérêt entre QSM et IMC.....	82

Abréviations

3D	Tridimensionnel
AIBL	Australian Imaging, Biomarker & Lifestyle Flagship Study of Ageing
APP	Protéine précurseur de l'amyloïde
ARIANES	Association pour la recherche en imagerie avancée en neurosciences et santé mentale
CDR	Clinical dementia rating
COMAJ	Cohorte malades d'Alzheimer jeunes
COSMOS	Calculation of susceptibility with multiple orientation sampling
DMT1	Divalent metal transporter 1
DO80	Test de dénomination orale de 80 images
EOAD	Maladie d'Alzheimer à début précoce / Early-Onset Alzheimer's disease
FDG	Fluorodésoxyglucose
FDR	False-discovery rate
Fe/Fe²⁺/Fe³⁺	Atome de fer /Ion ferreux /Ion ferrique
FWE	Family wise error
GRE	Echo de gradient
HEIDI	Homogeneity-enabled incremental dipole inversion
H⁺	Noyau de l'atome d'hydrogène
HV:CTV	Ratio (volume hippocampique / volume cortical total)
ICC	Coefficient de corrélation intra-classe
IMC	Indice de masse corporelle
IRM	Imagerie par résonance magnétique
IWG	International Working Group
LBV	Laplacian boundary value
LCS	Liquide cérébro-spinal
MEDI	Morphological-enabled dipole inversion
mGRE	Echo de gradient multi-écho
MMSE	Mini-mental status examination
MNI	Montreal Neurological Institute
NBIA	Neurodegeneration with brain iron accumulation
NIA-AA	National Institute on Aging - Alzheimer's Association
PALM	Permutation analysis of linear models
PDF	Projection onto dipole field
PiB	Pittsburgh compound b

ppm	parties par million
PS1	Préséniline 1
QSM	Quantification de susceptibilité magnétique / Quantitative susceptibility mapping
SHARP	Sophisticated harmonic artifact reduction for phase data
R2*	Relaxivité ou vitesse de relaxation transversale
T2*	Temps de relaxation transversale
TE	Temps d'écho
TEP	Tomographie par émission de positons
TFCE	Threshold-free cluster enhancement
TKD	Threshold k-space division
VAT	Visual association test
VMI	Test d'intégration visuelle – motrice
WT	Wild-type

I. INTRODUCTION GENERALE

La maladie d'Alzheimer, décrite en 1901 par Aloïs Alzheimer, est toujours aujourd'hui la première cause de démence. Largement étudiée à travers différentes modalités d'exploration (biologie, histopathologie, imagerie), sa physiopathologie reste imparfaitement comprise comme l'illustre la difficulté à développer un traitement permettant de changer le cours de la maladie (« disease-modifying »). Les connaissances ont néanmoins largement évolué comme le reflète la mise à jour des critères diagnostiques en 2011 et 2014 [McKhann 2011 ; Dubois 2014] et qui traduisent désormais le caractère hétérogène de la maladie. Les preuves scientifiques s'accroissent également en faveur d'une altération de l'homéostasie du fer participant activement au mécanisme neurodégénératif [Ayton ; 2020].

A travers ce manuscrit, notre objectif général était d'étudier de manière translationnelle les liens physiopathologiques entre l'accumulation de fer, les biomarqueurs pathologiques classiques de la maladie et la cognition, en nous appuyant sur la quantification de susceptibilité magnétique (QSM) en IRM, technique innovante de cartographie non-invasive des réserves cérébrales en fer.

Dans ce premier chapitre introductif, nous présenterons les éléments de contexte indispensables pour aborder cette thématique. Nous rappellerons les propriétés physico-chimiques du fer pour mettre en lumière tout d'abord sa participation à de nombreuses réactions biologiques indispensables au cerveau. Nous expliquerons ensuite comment ses propriétés paramagnétiques sont exploitées par les méthodes de quantification en IRM. Enfin, nous décrirons brièvement la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer afin de mieux cerner les liens potentiels entre le fer et les lésions histologiques classiques, en insistant sur le concept d'hétérogénéité phénotypique.

Dans le deuxième chapitre, correspondant au volet clinique de notre travail scientifique, nous utiliserons le pattern d'atrophie cérébrale, reflet de la distribution des lésions histologiques, pour étudier le lien entre atrophie et charge en fer dans les noyaux gris centraux au sein d'une cohorte de patients présentant une maladie d'Alzheimer à début précoce (EOAD).

Dans le troisième chapitre, correspondant au volet préclinique, nous tenterons d'isoler plus spécifiquement l'effet de la charge amyloïde en appliquant la même approche au suivi longitudinal d'un modèle murin d'amyloïdogénèse associée à la maladie d'Alzheimer.

Enfin, nous présenterons les perspectives scientifiques de notre travail, à travers des projets régionaux et internationaux, concernant notamment l'évaluation de la charge corticale en fer et l'implication d'une atteinte hypothalamique dans les anomalies de la régulation pondérale observées chez les malades d'Alzheimer.

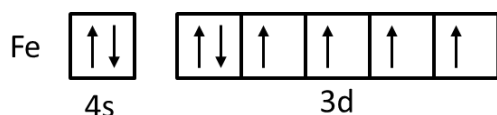
I.1. Le fer et son métabolisme

I.1.1. Propriétés physico-chimiques du fer

Le fer est un métal de transition, c'est à dire qu'il possède une sous-couche électronique périphérique d incomplète. Cette configuration électronique particulière lui confère des propriétés chimiques et physiques, introduites dans ce paragraphe, expliquant à la fois son rôle biologique et sa détection en IRM.

L'atome de fer porte le numéro atomique 26 dans la classification périodique des éléments. Son noyau est constitué de 26 protons et 30 neutrons. Son cortège électronique comprend 26 électrons répartis de la manière suivante sur différentes orbitales : $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 4s^2 3d^6$.

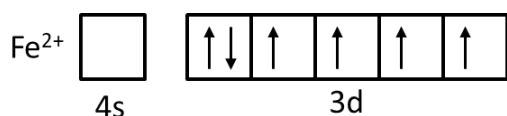
Sa couche électronique d la plus périphérique pouvant accueillir 10 électrons est donc incomplètement saturée et présente 4 électrons non-appariés :



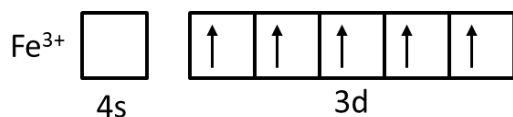
Or c'est la présence d'électrons non appariés sur ses couches externes qui explique les propriétés paramagnétiques du fer (et des ions qui en dérivent, décrits ci-dessous). Les électrons sont des particules chargées de spin $\frac{1}{2}$ se comportant comme des dipôles. Placés dans un champ magnétique externe, ils s'alignent dans le même axe et confèrent à l'atome de fer un moment magnétique net parallèle au champ magnétique principal.

Dans l'organisme, le fer est présent sous la forme d'ions ferreux (Fe^{2+}) ou ferrique (Fe^{3+}).

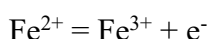
La structure électronique de la forme réduite Fe^{2+} est de type $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^6$:



La structure électronique $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^5$ de la forme oxydée Fe^{3+} est plus stable car elle présente une couche périphérique 3d demi-saturée correspondant à un niveau d'énergie plus bas :



Ceci explique le potentiel d'oxydo-réduction élevé ($E=0,77$ volts) du couple Fe^{2+}/Fe^{3+} . L'ion Fe^{2+} aura une tendance naturelle à libérer un électron pour s'oxyder en ion Fe^{3+}



I.1.2. Réactions d'oxydo-réduction du fer dans l'organisme

La forme Fe^{2+} est donc la forme biologiquement « active ». Soluble, elle peut être présente de manière libre dans le cytosol au sein de ce que l'on appelle le « labile iron pool » et qui ne

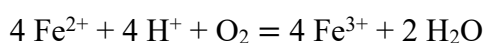
représente que 1% du contenu cérébral en fer. Sous cette forme le fer Fe^{2+} est alors disponible pour catalyser de nombreuses réactions d'oxydo-réduction indispensables au métabolisme cérébral : synthèse de neurotransmetteurs, synthèse de myéline, production d'ATP [Belaidi, 2016]. En excès, le fer Fe^{2+} est responsable d'un stress oxydatif lié à la production de radicaux libres hydroxyles via la réaction de Fenton :



Les radicaux libres ainsi générés ont un pouvoir oxydant important, nocif pour l'intégrité cellulaire. Ils sont notamment impliqués dans l'altération des membranes cellulaires par la peroxydation lipidique et engendrent des lésions de la molécule d'ADN. En faible quantité, les radicaux libres peuvent être neutralisés par le glutathion. Ces mécanismes sont au cœur de la ferroptose, une forme de mort cellulaire régulée par la concentration en fer et récemment conceptualisée [Masaldan, 2019].

Quatre-vingt-dix-neuf pourcents du fer cérébral est donc maintenu sous forme « inactive » Fe^{3+} . Insoluble, le fer Fe^{3+} doit alors être encapsulé au sein d'un complexe protéique pour être transporté (transferrine) ou stocké (ferritine) [De Barros, 2019]. La transferrine possède deux sites de fixation du fer. La ferritine, quant à elle, est une protéine de plus grande taille constituée de 24 sous-unités de type L (« Light ») ou H (« Heavy ») encapsulant un cristal de ferrihydrite pouvant contenir jusqu'à 4500 atomes de fer.

Les réactions d'oxydo-réduction du couple $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ jouent un rôle central dans les mécanismes gouvernant le stockage, le transport et de l'utilisation du fer. Dans l'organisme, l'oxydation du fer peut être assurée par différentes enzymes, regroupées sous le terme de ferroxidase (céruléoplasmine, héphaestine), catalysant la réaction suivante :



A l'inverse, les enzymes assurant la réduction du fer sont dénommées ferriréductases.

I.1.3. Régulation systémique

La quantité de fer totale dans l'organisme est de l'ordre de 4000 mg [Andrews, 1999]. La majeure partie est intégrée à l'hémoglobine au sein des globules rouges et des précurseurs érythroïdes (2000 mg) et permet la distribution de l'oxygène. Le reste est en grande partie stocké dans le foie (1000 mg) et le système réticulo-endothélial (600 mg) qui assure le recyclage du fer contenu dans les globules rouges. Le fer est également présent en quantité significative dans le muscle strié (300 mg) où, intégré à la myoglobine, il assure la fixation de l'oxygène et permet la contraction musculaire.

Les pertes physiologiques liées à la desquamation cutanée et des muqueuses, aux menstruations et aux pertes sanguines sont de l'ordre 1 à 2 mg /jour. En l'absence de voie d'élimination contrôlée, c'est la régulation de l'absorption digestive du fer qui assure l'homéostasie du système [Brissot,

2018]. Les apports alimentaires quotidiens doivent venir compenser parfaitement les pertes. L'absorption du fer Fe^{3+} est réalisée au niveau duodéal. La protéine DMT1 (Divalent Metal Transporter 1), présente à la membrane apicale des entérocytes, assure son transport transmembranaire vers le cytoplasme après réduction en fer Fe^{2+} par une ferriréductase (dudodenal cytochrome b reductase 1). Le fer est ensuite exporté vers le plasma à la membrane basale par la ferroportine, couplée à l'héphaestine qui assure l'oxydation en fer Fe^{3+} et permet sa fixation à la transferrine. Le taux normal de saturation plasmatique de la transferrine est compris entre 20 et 45%. Il est régulé par l'hépatocyte via le récepteur à la transferrine de type 1. Lorsque le taux de saturation de la transferrine augmente, la fixation de transferrine liée au fer Fe^{3+} sur son récepteur stimule la synthèse d'hepcidine par l'hépatocyte. L'hepcidine, en se fixant à la ferroportine, conduit à son internalisation et à sa destruction, diminuant l'importation plasmatique de fer.

L'hémochromatose, maladie de surcharge en fer systémique d'origine génétique, est ainsi liée à une perte du mécanisme de rétrocontrôle lié à l'hepcidine [Brissot, 2018]. La mutation C282Y du gène HFE est l'anomalie génétique la plus fréquemment rencontrée. Celle-ci conduit à une inactivation de la protéine HFE interagissant avec le récepteur à la transferrine de type 1 au niveau de la membrane hépatocytaire.

I.1.4. Régulation cérébrale

La barrière hémato-encéphalique rend le compartiment cérébral relativement indépendant du métabolisme systémique [Belaidi, 2016]. L'absence de retentissement cérébral de l'hémochromatose [Dusek, 2012] ou de la beta thalassémie [Manara, 2019] confirme à la fois le rôle protecteur de la barrière hémato-encéphalique vis-à-vis de surcharges d'origine systémique et l'existence d'un système de régulation cérébral indépendant. Bartzokis et al ont ainsi évalué l'effet de variants génétiques, fréquents en population générale et associés à l'hémochromatose, sur la charge en fer cérébrale [Bartzokis, 2010]. De manière intéressante, ces variants avaient un effet uniquement chez les hommes âgés, suggérant qu'une dysfonction de la barrière hémato-encéphalique était nécessaire pour entraîner une accumulation cérébrale.

Au niveau des cellules endothéliales, la transferrine liée au fer Fe^{3+} se fixe sur le récepteur de la transferrine 1 [Belaidi, 2016]. Le fer peut alors être libéré directement sur le versant encéphalique par transcytose ou être importé au sein du cytosol sous la forme Fe^{2+} via la protéine DMT1. Le fer libre peut ensuite être stocké sous forme de ferritine ou exporté de la cellule endothéliale vers le milieu interstitiel via la ferroportine. La céruléoplasmine, présente au niveau des pieds astrocytaires, assure l'oxydation en Fe^{3+} pour lui permettre de se fixer de nouveau à la transferrine. Au niveau de la membrane neuronale, le fer Fe^{3+} lié à la transferrine est importé, par endocytose, après fixation au récepteur de transferrine 1 puis transféré vers le cytosol sous forme Fe^{2+} via DMT1. Il est alors

stocké sous forme de Ferritine-Fe³⁺ ou exporté par la ferroportine. Dans les neurones, la présence à la membrane de la ferroportine serait stabilisée par une interaction avec la protéine membranaire APP (protéine précurseur de l'amyloïde). Le transport membranaire de la protéine APP étant lui-même sous la dépendance de la protéine tau [Belaidi, 2016].

L'import et le stockage neuronal du fer sont régulés par la protéine IRP2 (iron responsive protein 2). Lorsque la quantité de fer cytosolique diminue la protéine IRP2 interagit avec les « iron responsive elements » à l'extrémité 3' de l'ARNm codant pour le récepteur de la transferrine de type 1 et à l'extrémité 5' de ceux codant pour la ferritine et la protéine APP [Rogers, 2002]. Il en résulte une augmentation de la synthèse du récepteur de la transferrine de type 1 et donc une importation accrue de fer. A l'inverse, la translation de la ferritine et de la protéine APP sont inhibées réduisant les capacités de stockage et d'exportation cellulaire.

Les capacités d'élimination du compartiment encéphalique vers le compartiment plasmatique sont par contre limitées, ce qui expliquerait une accumulation progressive liée à l'âge au sein des principaux noyaux gris (à l'exception du thalamus) [Hallgren, 1958 ; Zhang, 2018].

Les stocks de fer sont distribués de manière hétérogène à travers le parenchyme cérébral. Ils sont plus importants au sein de la matière grise que de la substance blanche. Les concentrations les plus élevées sont observées dans le pallidum, le noyau rouge, la substance noire et le putamen. Dans ces structures la concentration en fer est comparable ou supérieure à la concentration hépatique. Suivent dans l'ordre le noyau dentelé, le noyau caudé, le thalamus et le cortex cérébral [Hallgren, 1958].

Au niveau cellulaire, le fer est particulièrement abondant dans les oligodendrocytes où il intervient dans la synthèse de la myéline. Pendant la phase de myélinisation (avant 24 mois), le cerveau en développement est ainsi particulièrement sensible aux carences en fer, à l'origine d'une hypomyélinisation et de séquelles neurologiques [Todorich, 2011]. On notera également que les cellules microgliales participent à l'homéostasie cérébrale du fer. Les cytokines pro-inflammatoires stimulent l'importation cytosolique de fer via DMT1 et augmentent ainsi la concentration intracellulaire dans les cellules microgliales activées (M1) [Nnah, 2018]. Le fer est présent en quantité importante dans les neurones dopaminergiques et catécholaminergiques, où il intervient comme cofacteur de la tyrosine hydroxylase permettant la synthèse de L-DOPA à partir de la L-tyrosine. De manière plus générale, il est nécessaire à la production énergétique neuronale via la synthèse mitochondriale d'ATP [Hare, 2013]. Enfin, le fer est présent dans les globules rouges du secteur vasculaire, au sein de l'hémoglobine, assurant le transport et la distribution de l'oxygène.

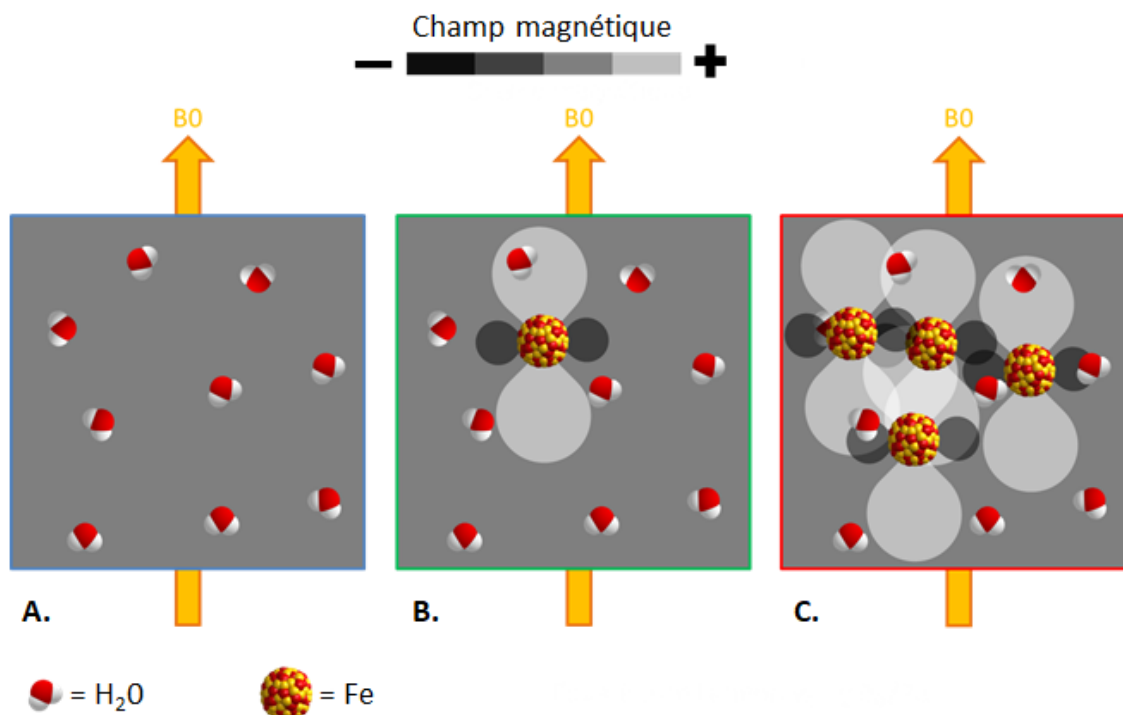
La spécificité cérébrale du métabolisme du fer et sa toxicité potentielle sont illustrées par le spectre pathologique des NBIA (Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation), ensemble de maladies

caractérisées par une surcharge cérébrale d'origine génétique de survenue précoce et conduisant secondairement à un processus neurodégénératif [Dusek, 2012]. Certaines impliquent des protéines participant directement au métabolisme du fer. Les neuroferritinopathies, à transmission autosomique dominante, sont liées à des mutations du gène FTL codant pour la ferritine et réduisent ses capacités de stockage. Le fer est alors présent en plus grande quantité sous forme libre, stimulant la synthèse de ferritine et conduisant à l'accumulation de ferritine non fonctionnelle et de fer au sein du cytoplasme neuronal. L'acéruéléoplasminémie, à transmission autosomique récessive, est causée par la mutation du gène de la céruléoplasmine. L'absence de céruléoplasmine fonctionnelle empêche l'export neuronal du fer via la ferroportine et conduit in fine à une accumulation intraneuronale. De manière intéressante, la surcharge en fer observée dans les NBIA affecte plus spécifiquement les noyaux présentant une concentration physiologique élevée : globus pallidus, substance noire, noyau dentelé et putamen. L'atteinte de ces structures explique la présentation clinique associant fréquemment mouvements anormaux choréiques et/ou dystoniques.

I.2. « De l'ombre jaillit la lumière » : Techniques de quantification du fer en IRM

Le fer est détectable en IRM en raison de ses propriétés paramagnétiques. Une particule de fer soumise à un champ magnétique extérieur (ici B_0) va acquérir une aimantation et générer son propre champ magnétique. La présence de fer dans le volume étudié introduira une hétérogénéité du champ magnétique B_0 , d'autant plus importante que la concentration en fer est élevée (**Figure I.1**). Le fer n'émet donc pas de signal IRM propre, il est quantifié de manière indirecte à travers ses effets sur le champ magnétique. Les méthodes de quantification du fer peuvent ainsi être classées en 2 grandes familles : les méthodes mesurant les effets du fer sur la magnitude du signal, représentées par la relaxométrie $R2^*$, et les méthodes mesurant les perturbations de la phase du signal représentées par le QSM. Ces méthodes reposent sur des séquences de type T2 écho de gradient (GRE) qui ne comprennent pas de correction des hétérogénéités locales de champ magnétique, contrairement aux séquences de type spin écho.

Figure I.1: Représentation schématique de l'effet d'une concentration croissante de fer sur le champ magnétique



(A) En l'absence de particules de fer, le champ magnétique est en première approximation homogène au sein du volume étudié. (B) Une particule de fer induit une modification du champ magnétique prenant la forme d'une harmonique sphérique. L'intensité du champ magnétique est renforcée dans l'axe de B_0 et diminuée dans le plan perpendiculaire ; (C) L'hétérogénéité du champ magnétique dans le volume étudié croît proportionnellement à la quantité de fer présente.

I.2.1. Concepts de magnitude et de phase du signal IRM

Lorsqu'ils sont placés dans le champ magnétique constant de l'IRM B_0 , les noyaux des atomes d'hydrogène H^+ situés dans le volume d'intérêt acquièrent une aimantation globale M_0 présentant une composante longitudinale M_z dans l'axe de B_0 et une composante transversale M_{xy} . A l'état initial, le vecteur d'aimantation est parallèle à B_0 , sa composante longitudinale $M_z(0)$ est donc maximale et sa composante M_{xy} nulle.

Les protons ont par ailleurs un mouvement de rotation sur eux même autour de l'axe z appelé mouvement de précession et donc la fréquence ν_0 est proportionnelle à B_0 selon l'équation de Larmor :

$\nu_0 = \gamma \cdot B_0 / 2\pi$, où γ correspond au rapport gyromagnétique, constante égale à $267,5 \text{ rad} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{T}^{-1}$ pour l'hydrogène.

L'impulsion de radiofréquence entraîne une bascule du vecteur d'aimantation faisant diminuer la composante longitudinale M_z et augmenter la composante transversale M_{xy} . Lorsque la bascule atteint 90° , la composante longitudinale M_z est nulle et la composante transversale M_{xy} est maximale. A l'arrêt de l'impulsion de radiofréquence, le retour à l'équilibre des protons H^+ est à l'origine d'une décroissance sinusoïdale progressive de l'aimantation transversale M_{xy} nommée « free induction decay » par les anglo-saxons et décrite par l'équation suivante (**Figure I.2**):

$$M_{xy}(t) = M_{xy}(0) e^{(-t/T2^*)} \cos(\phi_0 + \gamma \cdot B_0 \cdot t)$$

A tout moment, le vecteur d'aimantation transversale peut ainsi être caractérisé par sa magnitude et par sa phase (**Figure I.3**). La magnitude est la norme du vecteur d'aimantation, son évolution au cours du temps est décrite par l'équation suivante et correspond à l'enveloppe de la courbe sinusoïdale précédente (**Figure I.2**):

$$A_{xy}(t) = A_{xy}(0) e^{(-t/T2^*)}$$

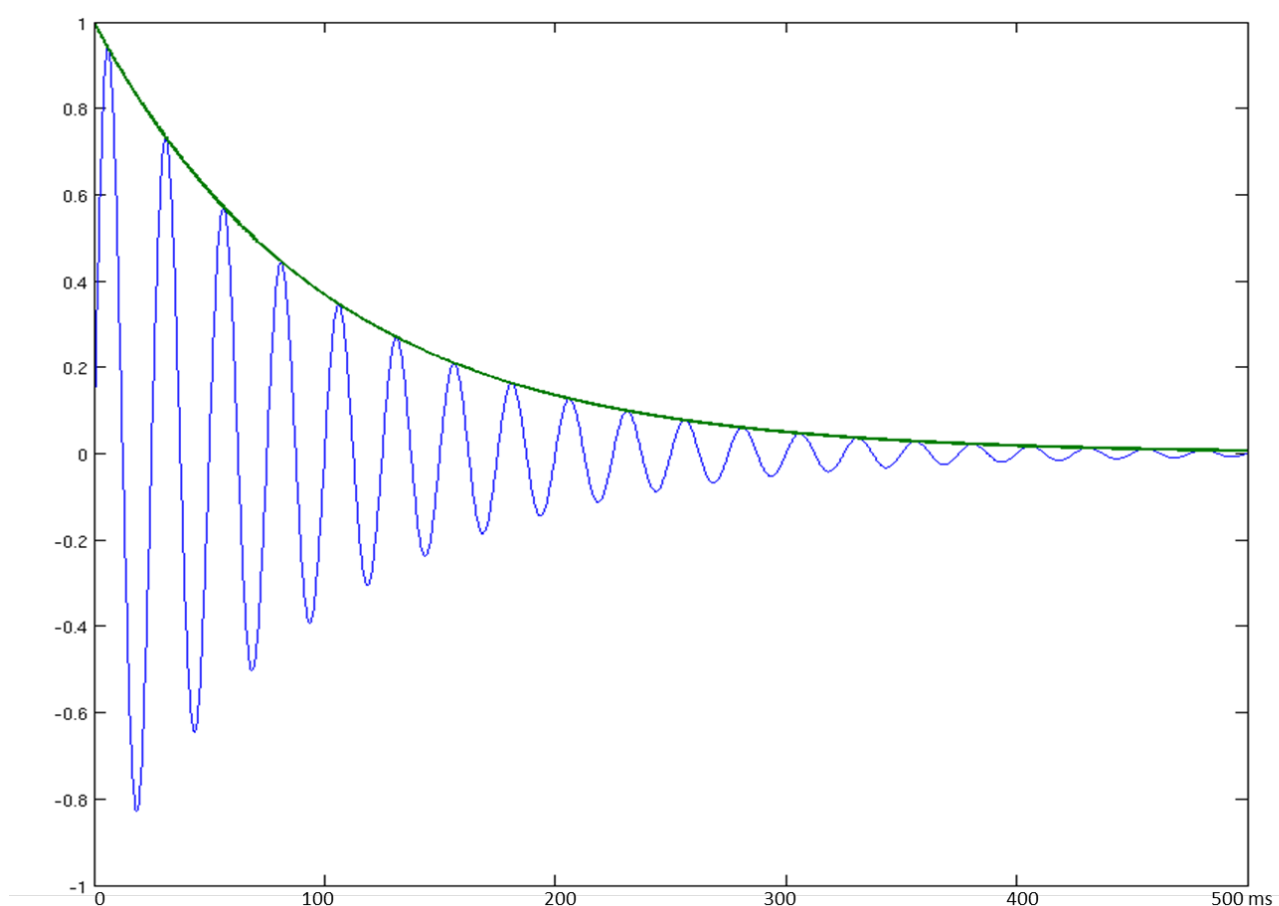
Lorsque le signal est recueilli à $t=TE$, la magnitude est alors :

$$A_{xy}(TE) = A_{xy}(0) e^{(-TE/T2^*)}$$

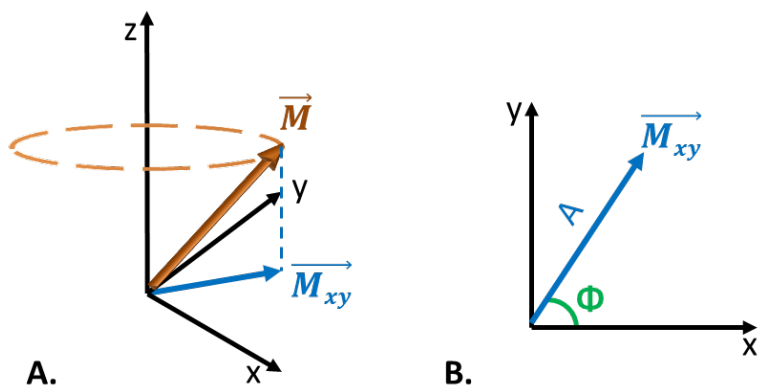
La phase correspond à l'angle du vecteur d'aimantation par rapport à un axe de référence dans le plan transversal. Sa valeur à $t = TE$ est déterminée par l'équation suivante :

$$\phi(TE) = \phi_0 + \gamma \cdot B_0 \cdot TE$$

où ϕ_0 correspond au décalage de phase initiale dépendant de la sensibilité de l'antenne.

Figure I.2: Courbe de l'évolution du signal de précession libre au cours du temps

Le temps est représenté en abscisse et le signal IRM en ordonnée, selon une échelle arbitraire. L'évolution du signal dans le plan transversal (trait bleu) suit une courbe sinusoïdale dont la magnitude A (trait vert) décroît de manière exponentielle avec le temps ($A(t)=A_0e^{-t/T2^*}$) et la phase ϕ augmente de manière linéaire avec le temps ($\phi(t)=\phi_0 + \gamma \cdot B_0 \cdot t$)

Figure I.3: Représentation schématique du vecteur d'aimantation transversale, caractérisé par sa magnitude A et sa phase ϕ 

Représentation 3D (A) et 2D (B) du vecteur d'aimantation transversale \vec{M}_{xy} correspondant à la projection dans le plan transversal du vecteur d'aimantation \vec{M} . La magnitude A correspond à la norme du vecteur \vec{M}_{xy} et la phase ϕ à l'angle formé par rapport l'axe de référence x . Il s'agit d'un système de coordonnées polaires permettant de décrire la position du vecteur d'aimantation dans le plan transversal.

I.2.2. Relaxométrie R2*

Cette méthode mesure l'effet de la concentration en fer sur la décroissance de la magnitude de l'aimantation transversale [Langkammer, 2010]. Dans un tissu donné, les perturbations locales du champ magnétique induites par la présence de fer vont se traduire par des variations de la fréquence de précession des spins d'après l'équation de Larmor :

$$\nu(\text{fer}) = \gamma(B_0 + \delta B) / 2\pi$$

Ces différences seront d'autant plus importantes que la quantité de fer dans le voxel est grande. Les différences de fréquence de précession lors de la phase de relaxation seront à l'origine d'un déphasage des spins plus rapides, réduisant le temps de relaxation T2*. Ceci implique une chute de signal en pondération T2*. Le fer agit ainsi comme un agent de contraste négatif endogène. Il s'agit d'un phénomène bien connu en imagerie clinique qui peut être utile lorsqu'il s'agit de la détection de saignements intra-crâniens ou de la mesure de la perfusion cérébrale lors de l'injection de gadolinium (« dynamic susceptibility contrast MRI »), mais est le plus souvent nuisible, puisqu'il est à l'origine d'artéfacts dit de susceptibilité, par exemple, en périphérie de matériel chirurgical.

La relaxométrie repose sur l'acquisition d'une séquence T2 GRE comprenant plusieurs temps d'écho (mGRE), afin d'échantillonner la décroissance de la magnitude de l'aimantation transversale au cours du temps. Un ajustement de la courbe de décroissance mono-exponentielle de l'intensité S du signal mesuré au cours du temps est ensuite réalisé dans chaque voxel, généralement par la méthode des moindres carrés, en utilisant l'équation suivante (**Figure I.4**) [Péran, 2007]:

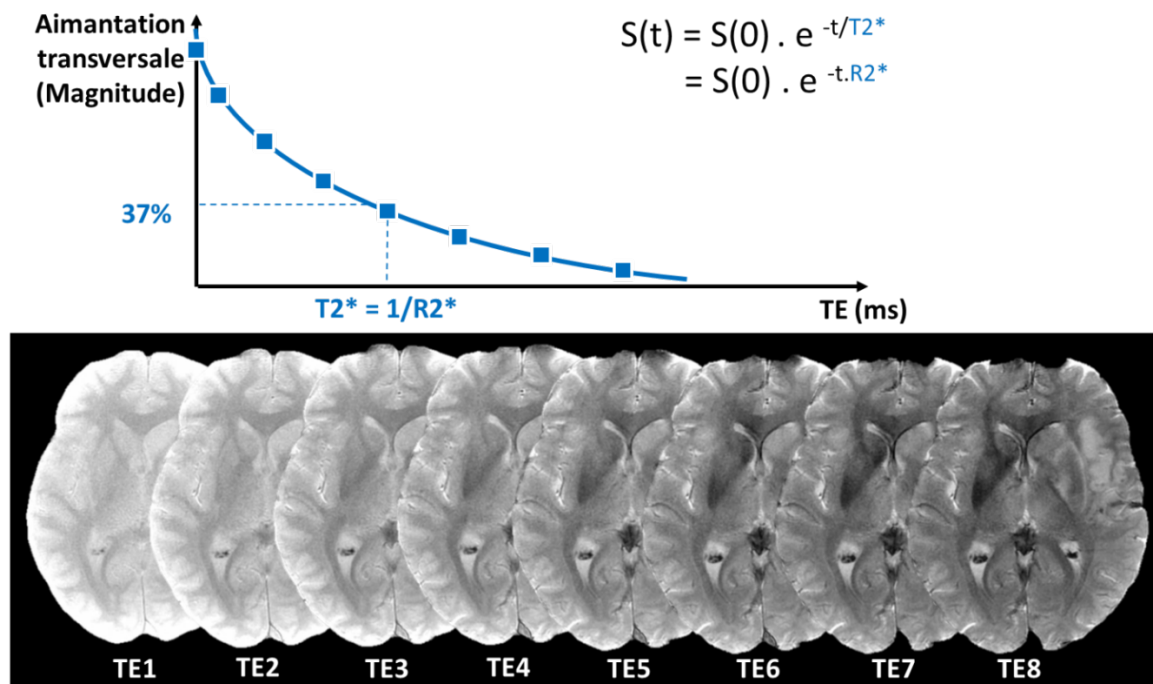
$$S(t) = S(0).e^{(-t/T2^*)}$$

$$\text{Au temps } t = T2^*, S(T2^*) = S(0).e^{-1} = 0,37 S(0)$$

La constante de temps T2* correspond donc au temps au bout duquel l'aimantation transversale a atteint 37% de l'aimantation transversale initiale. La relaxivité transverse R2* correspondant à la vitesse de décroissance de l'aimantation transversale et est calculée par la formule suivante:

$$R2^* = 1/T2^*$$

Figure I.4: Décroissance de la magnitude du signal avec le temps d'écho lors d'une acquisition mGRE



Rangée haute : Courbe schématique représentant la décroissance mono-exponentielle de la magnitude du signal avec le temps d'écho TE. Chaque point correspond à l'acquisition d'un volume T2 GRE à un temps d'écho différent. La constante de temps $T2^*$ ($=1/R2^*$) caractérise la décroissance et correspond au temps au bout duquel le signal chute à 37% de sa valeur initiale. Rangée basse : Evolution correspondante de l'image de magnitude $T2^*$ au cours du temps. On observe une chute globale du signal avec le TE, cette chute étant plus marquée dans les structures riches en fer comme le putamen droit.

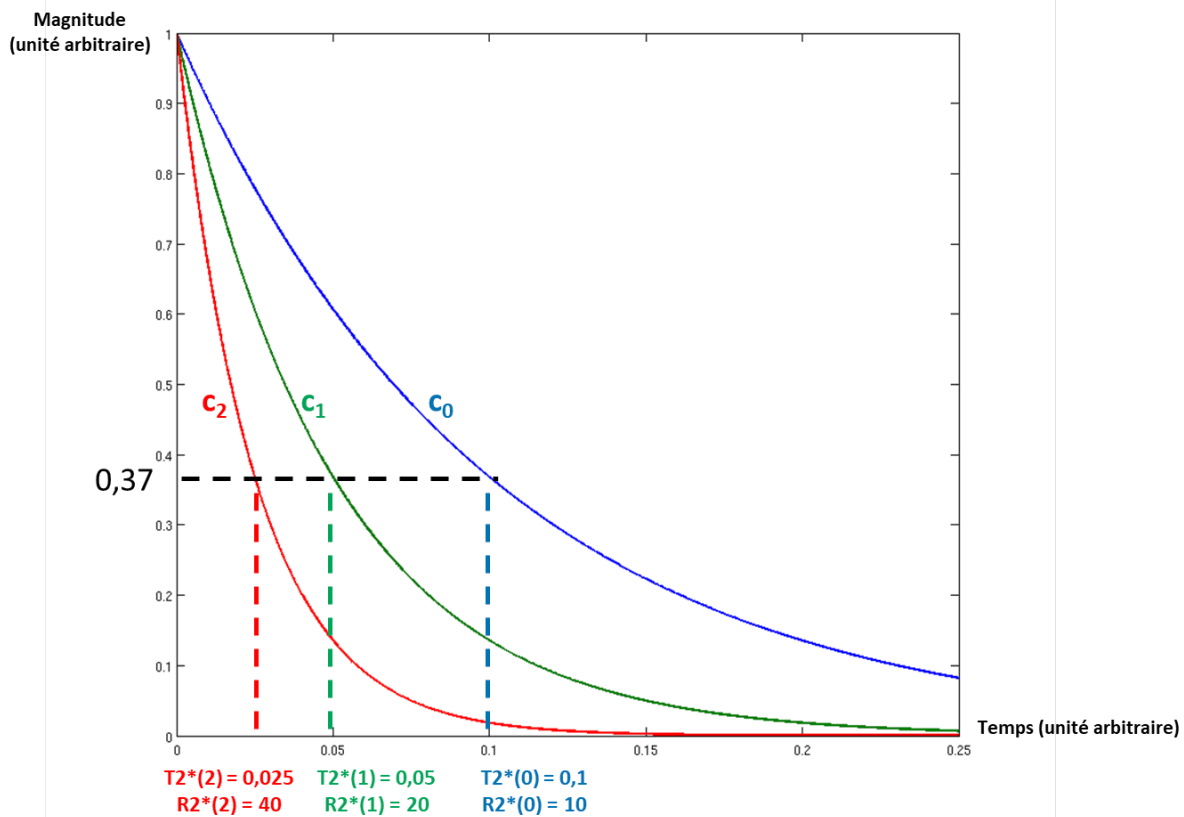
Des études in vitro [Kuchcinski, 2017] et post-mortem [Langkammer, 2010] ont ainsi confirmé que la relaxivité $R2^*$ augmentait de manière linéaire avec la concentration en fer aux concentrations observées dans l'organisme (**Figure I.5**).

Les résultats peuvent être présentés sous forme de carte paramétrique (**Figure I.6**). Le contraste physiologique des cartes cérébrales de $R2^*$ est déterminé principalement par la concentration en fer pour la substance grise et la densité de myéline pour la substance blanche. On notera que les substances diamagnétiques comme les substances paramagnétiques sont responsables d'une augmentation de $R2^*$. La relaxométrie $R2^*$ ne permet donc pas de distinguer, par exemple, une surcharge ferrique (paramagnétique) ou calcique (diamagnétique). Pour une même concentration, la relaxivité $R2^*$ des solutions de Fe^{3+} est expérimentalement nettement supérieure à celle de Fe^{2+} [Dietrich, 2017]. Néanmoins, ces 2 formes étant présentes dans un même voxel, il reste impossible de distinguer leur contribution respective.

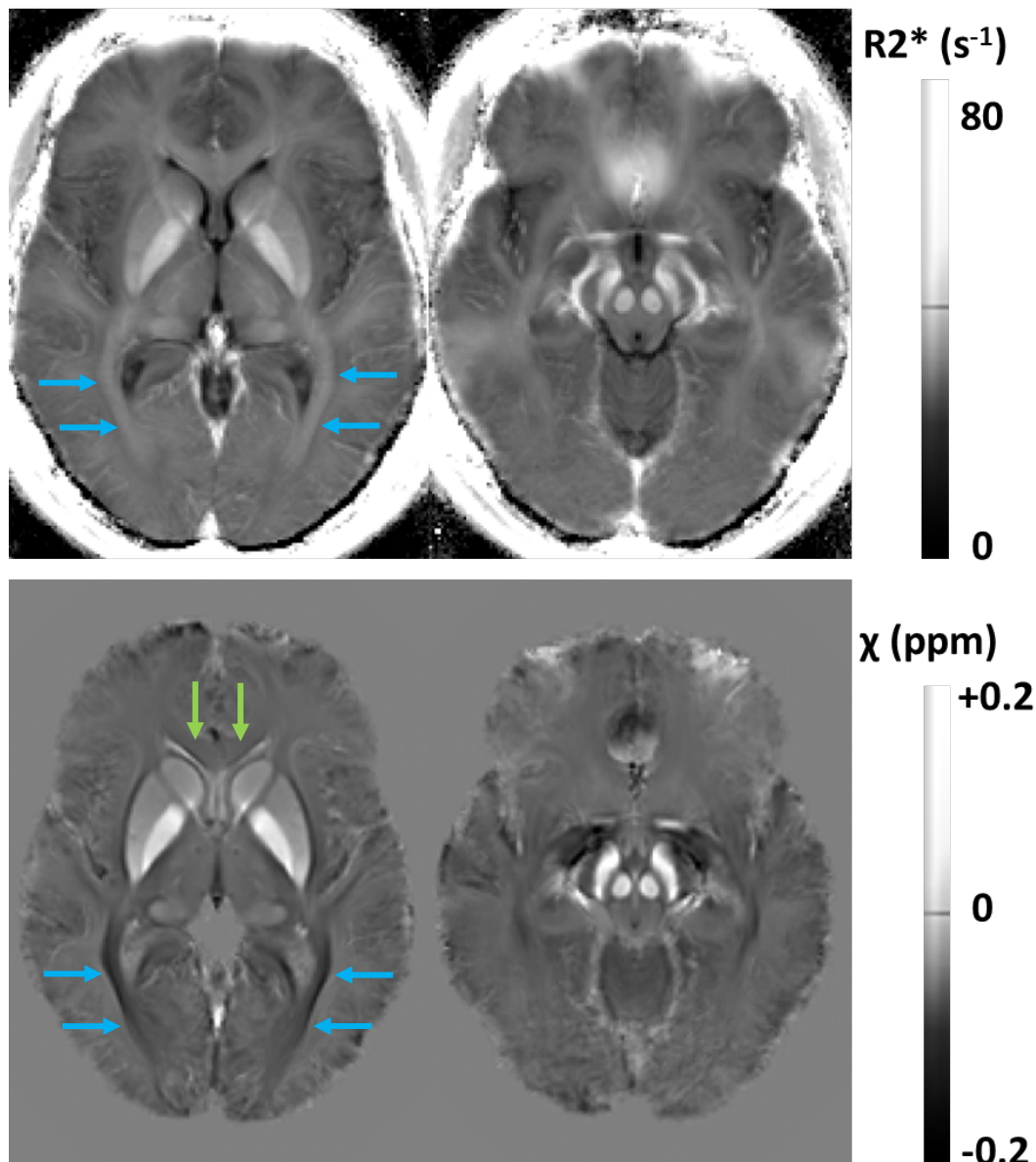
Le choix du temps d'écho moyen influence la quantification et le contraste obtenu. Il est recommandé d'utiliser un temps d'écho moyen proche du $T2^*$ de la structure étudiée. Le nombre

d'échos va également grandement influencer la qualité de l'ajustement mono-exponentiel. Un nombre d'échos inférieur à 4 est déconseillé.

Figure I.5: Représentation de l'effet de l'augmentation de la concentration en fer sur la décroissance de la magnitude du signal



Courbes théoriques de décroissance de la magnitude du signal au sein de solutions de concentrations croissantes en fer c_0 , $c_1=2c_0$ et $c_2=4c_0$. La relaxivité $R2^*$ des solutions croît proportionnellement à la concentration en fer. Nous avons également vérifié cette relation expérimentalement [Kuchcinski, 2017].

Figure I.6: Cartes paramétriques de $R2^*$ et de susceptibilité magnétique du cerveau humain

Cartes de $R2^*$ (rangée haute) et de susceptibilité magnétique χ (rangée basse) à hauteur des noyaux gris centraux (gauche) et du mésencéphale (droite). Les cartes présentées sont des cartes moyennes obtenues à partir de 10 sujets sains entre 30 et 40 ans. Le contraste observé avec les 2 techniques est en accord avec la concentration en fer attendue dans la matière grise selon Hallgren et al. (pallidum, substance noire, noyau rouge > striatum > thalamus) [Hallgren, 1958]. On note un meilleur contraste des cartes de susceptibilité magnétique. La matière grise présente une relaxivité $R2^*$ et une susceptibilité magnétique élevées. Les faisceaux de substance blanche (myéline diamagnétique) telles que les radiations optiques (flèches bleues) présentent une relaxivité $R2^*$ élevée mais une susceptibilité magnétique faible. L'effet de l'orientation des fibres sur la susceptibilité magnétique est bien visible si l'on compare le contraste des radiations optiques (flèches bleues) à celui du genou du corps calleux (flèches vertes).

I.2.3. Quantification de susceptibilité magnétique (QSM)

I.2.3.1. Principe physique du QSM

La susceptibilité magnétique d'une substance correspond à sa capacité à acquérir une aimantation lorsqu'elle est soumise à un champ magnétique externe [Haacke, 2015 ; Deistung, 2016]. Une substance possédant une susceptibilité magnétique positive, c'est-à-dire que son aimantation est orientée dans le sens du champ magnétique externe, est dite paramagnétique. Au contraire, une substance possédant une susceptibilité négative, c'est-à-dire une aimantation opposée au champ magnétique externe, est dite diamagnétique.

La susceptibilité magnétique d'un tissu est donc directement liée à la quantité de substances paramagnétiques et/ou diamagnétiques qu'il renferme. Il est possible de déterminer les modifications du champ magnétique selon z (ΔB_z) au point de coordonnées (\vec{a}) par un élément de susceptibilité magnétique χ connue, placé dans un champ magnétique B_0 selon la formule suivante :

$$\Delta B_z(\vec{a}) = B_0 \cdot \int \chi(\vec{a}') \cdot dz(\vec{a} - \vec{a}') \cdot d^3(\vec{a}')$$

A partir des variations du champ magnétique ΔB_z , il est ensuite facile de calculer les conséquences sur la phase du signal selon l'équation suivante :

$$\phi(\vec{a}) = \phi_0(\vec{a}) + \gamma \cdot \Delta B_z(\vec{a}) \cdot TE$$

où ϕ_0 correspond au décalage de phase lié à la sensibilité de l'antenne.

L'objectif de la méthodologie QSM est donc de faire le cheminement inverse et de retrouver la susceptibilité magnétique en chaque point de l'image à partir des variations de phase observées à l'aide d'une séquence 3D mGRE. Deux obstacles s'y opposent. Tout d'abord, l'information de phase brute ne peut être utilisée pour cartographier la susceptibilité magnétique tissulaire car elle n'est pas localisée dans l'espace. Ceci signifie que des variations de phase au sein d'une région d'intérêt peuvent être l'effet d'une source magnétique située à distance. D'autre part, le calcul de la susceptibilité magnétique à partir des variations de champ magnétique est un problème inverse « mal posé ». C'est-à-dire qu'à une cartographie de phase mesurée peuvent correspondre plusieurs cartographies de susceptibilité. Ces obstacles peuvent être contournés au prix d'un post-traitement complexe comprenant plusieurs étapes-clés.

I.2.3.2. Combinaison de l'information provenant des différents éléments d'antenne

Les antennes modernes sont constituées de différents éléments recueillant chacun une partie du signal IRM, ce qui permet notamment de réduire les temps d'acquisition et d'améliorer le rapport signal sur bruit. L'information provenant des différents éléments d'antenne est ensuite combinée pour obtenir une image unique. Les méthodes de combinaison appliquées par défaut par les

constructeurs sont généralement adaptées à l'imagerie de magnitude mais pas à l'imagerie de phase. Il existe en effet un décalage de phase lié à des variations de sensibilité propre à chaque élément d'antenne. L'absence de prise en compte de ce décalage engendrera des artéfacts lors de la création d'une carte de phase commune [Robinson, 2017]. La méthode de référence consiste à calculer le décalage de phase propre à chaque élément d'antenne par rapport à une antenne de référence (généralement l'antenne corps entier), avant de l'éliminer. Ceci nécessite toutefois la réalisation d'une carte de sensibilité avec l'antenne de référence préalable à la séquence 3D mGRE. L'alternative consiste à calculer le décalage de phase de chaque élément d'antenne à partir de l'évolution de la phase avec le TE. Calculer les différences de phase entre plusieurs paires d'écho pour un élément d'antenne donné permet d'éliminer le décalage de phase propre à cet élément, la phase liée à la susceptibilité magnétique tissulaire variant avec le TE au contraire du décalage de phase lié à la sensibilité de l'élément d'antenne.

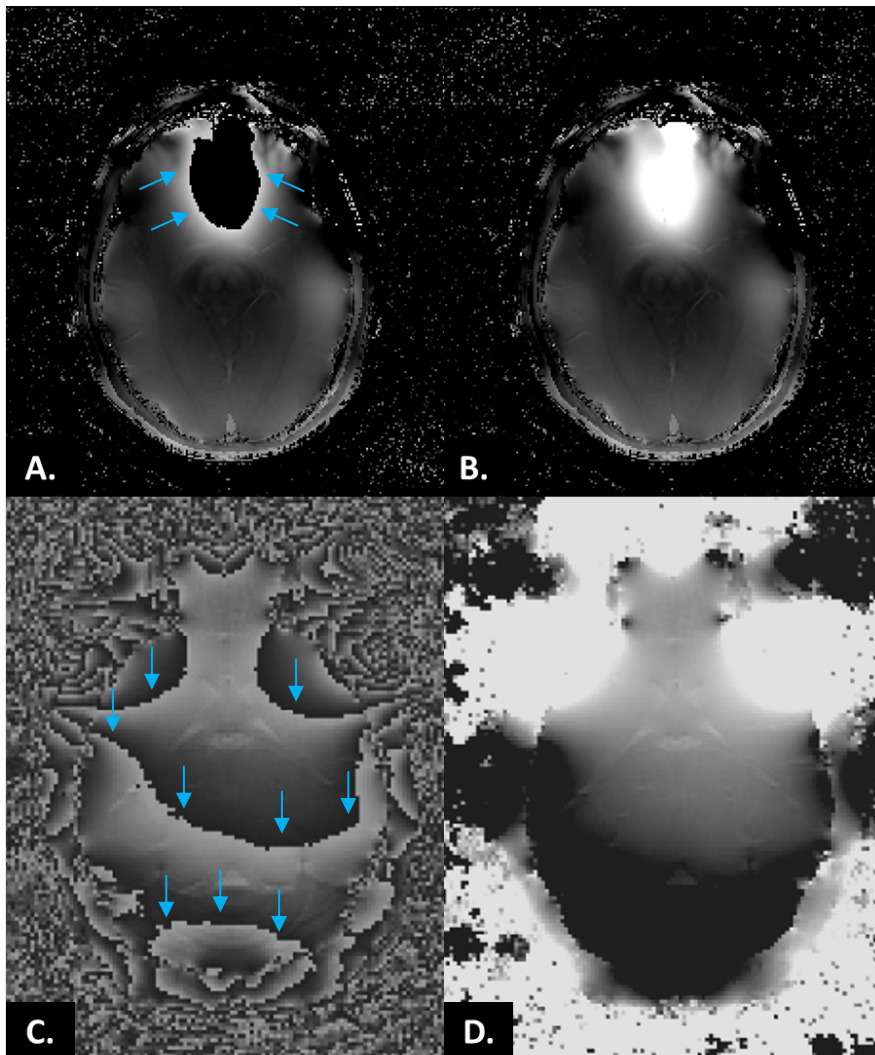
I.2.3.3. Déplieement de la phase

Les modifications de phase au pourtour d'une source paramagnétique donnée prennent la forme d'un gradient spatial, c'est-à-dire qu'elles sont maximales à proximité de la source et vont décroître à mesure que l'on s'en éloigne. Néanmoins, les valeurs de phase que le système est capable de recueillir sont bornées entre $-\pi$ et π , les différences de phase α excédant ces valeurs seront exprimées sous la forme $\alpha = \beta [2\pi]$, où $-\pi < \beta < \pi$. Ceci signifie par exemple que des décalages de phase de valeur π , 3π , 5π , etc... se verront tous attribuer la même valeur π au sein de la carte de phase brute. Les images de phase brutes sont donc caractérisées par un phénomène d'aliasing, se traduisant par des transitions brutales lors du passage de π à $-\pi$ (**Figure I.7**).

L'opération consistant à éliminer les artéfacts d'aliasing est appelée déplieement de la phase. Trois familles de méthodes peuvent être utilisées lors de cette étape [Bechler, 2019].

Méthodes locales basées sur la poursuite de chemin (« path-following methods »)

Ces méthodes supposent que la variation de phase entre 2 voxels voisins est progressive et qu'une variation brutale (supérieure à π) correspond à un « pli ». Le « pli » est alors corrigé en additionnant ou retranchant π à tous les voxels situés en aval sur le chemin et ce jusqu'au prochain « pli ». Ces méthodes sont simples et efficaces mais dépassées en cas de variation brutale physiologique de la phase (interface avec une structure vasculaire, interface air-tissu, hémorragies) ou lorsque les données sont bruitées.

Figure I.7: Etape de dépliement des cartes de phase

Cartes de phase générées à partir d'acquisitions cérébrales 3D mGRE chez l'homme (A, B) et la souris (C, D). Les cartes de phase brutes (A, C), dites repliées, présentent des « plis » traduisant une transition brutale des valeurs de phase de $-\pi$ à π ou de π à $-\pi$ (flèches bleues). Les plis sont corrigés sur les cartes de phase dépliées (B, D) après application d'un algorithme de type « path-following ». On note la persistance de variations importantes de la phase en périphérie du cerveau liées à l'effet de sources externes (interfaces air-tissu).

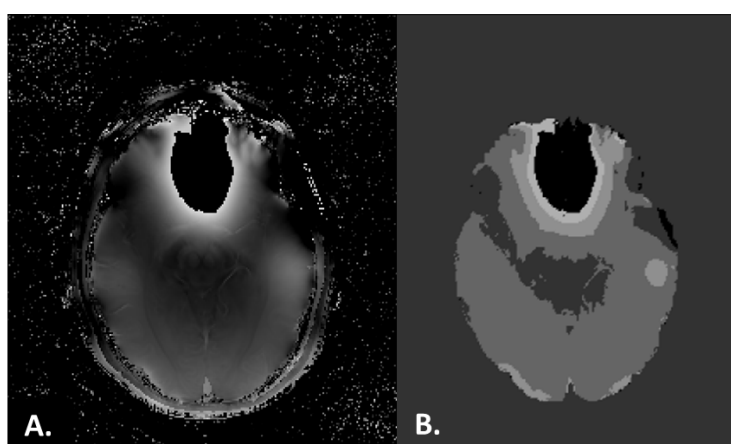
Méthodes globales basées sur l'utilisation d'opérateurs laplaciens (« laplacian-based methods »)

Ces méthodes reposent sur le postulat que le laplacien (dérivée seconde) de la phase dépliée est proche de celui de la phase repliée. Les cartes de phase dépliées ainsi générées correspondent à la combinaison de valeurs permettant de minimiser les écarts avec les cartes de phase repliées. Ces méthodes sont peu sensibles au bruit au prix d'approximations tendant à lisser les variations brutales de phase.

Méthodes Bayésiennes basées sur un modèle de distribution de la phase à priori et sur le découpage graphique de la carte de phase (« graph-cut methods »)

La carte de phase repliée est ici découpée en sous-régions homogènes (**Figure I.8**). La distribution globale de la phase dépliée est ensuite modélisée selon la théorie des champs aléatoires de Markov, l'information de chaque sous-région homogène étant considérée comme une variable aléatoire indépendante [Dong, 2017]. Ces méthodes sont particulièrement utiles lorsque les variations de susceptibilité magnétique sont de grande amplitude (hémorragie intracrânienne par exemple).

Figure I.8: Découpage des cartes de phase en sous-régions homogènes utilisé par les méthodes de type « graph-cut »



(A) Carte de phase repliée. (B) Carte de phase découpée. A chaque valeur de gris correspond une sous-région homogène, traitée comme une variable aléatoire dans un modèle markovien.

I.2.3.4. Elimination du champ magnétique de fond

La carte de phase dépliée permet de calculer les variations de champ magnétique à partir de l'équation :

$$\phi(\vec{a}) = \phi_0(\vec{a}) + \gamma \cdot \Delta B_z(\vec{a}) \cdot TE$$

A ce stade, les variations du champ magnétique observées au sein du cerveau sont liées à la susceptibilité magnétique des structures qui le constituent mais également à l'influence de sources externes (géométrie globale, hétérogénéité du champ B_0 , interfaces air-tissu). L'opération suivante va consister à éliminer les inhomogénéités du champ magnétique sans rapport avec les structures étudiées ou « champ magnétique de fond » pour une obtenir une cartographie des variations locales ou « tissulaires » de champ magnétique. Un masque du cerveau est tout d'abord généré par segmentation des images de magnitude et permet de distinguer, à l'intérieur du masque, les voxels d'intérêt renfermant une information de phase pertinente, et à l'extérieur du masque, les voxels au sein desquels l'information est au contraire aberrante, liée au bruit ou à des artefacts. Cette étape

souvent automatisée requiert une vérification visuelle et une correction manuelle attentive, la précision du masque influençant grandement la qualité des cartes de susceptibilité magnétique générées ensuite. La persistance au sein du masque de voxels aberrants sera à l'origine d'importants artefacts à type de stries (« streaking artefacts »).

Plusieurs types de méthodes permettent ensuite de supprimer le champ magnétique de fond [Haacke, 2015 ; Deistung, 2016]. La méthode PDF (projection onto dipole field) consiste, par exemple, à déduire l'effet du champ magnétique de fond au sein de la région d'intérêt à partir de la distribution de la susceptibilité magnétique calculée en dehors de la région d'intérêt (**Figure I.9**) [Liu, 2011]. La méthode SHARP (sophisticated harmonic artifact reduction for phase data) modélise le champ magnétique de fond comme une fonction harmonique sphérique et le calcule en appliquant la propriété de la moyenne des fonctions harmoniques [Schweser, 2011]. La méthode LBV (laplacian boundary value) assimile le problème de l'élimination du champ magnétique de fond à une équation aux dérivées partielles [Zhou, 2014]. Ce type d'équation peut être résolu en se plaçant dans les conditions limites. Ici, les variations de champ externes étant nettement supérieures aux variations de champ internes, l'équation est résolue en approximant la valeur limite des variations de champ interne à 0 et la valeur limite des variations de champ externe à celle des variations totales de champ magnétique (**Figure I.10**).

I.2.3.5. Calcul de la susceptibilité magnétique à partir des variations locales de champ magnétique

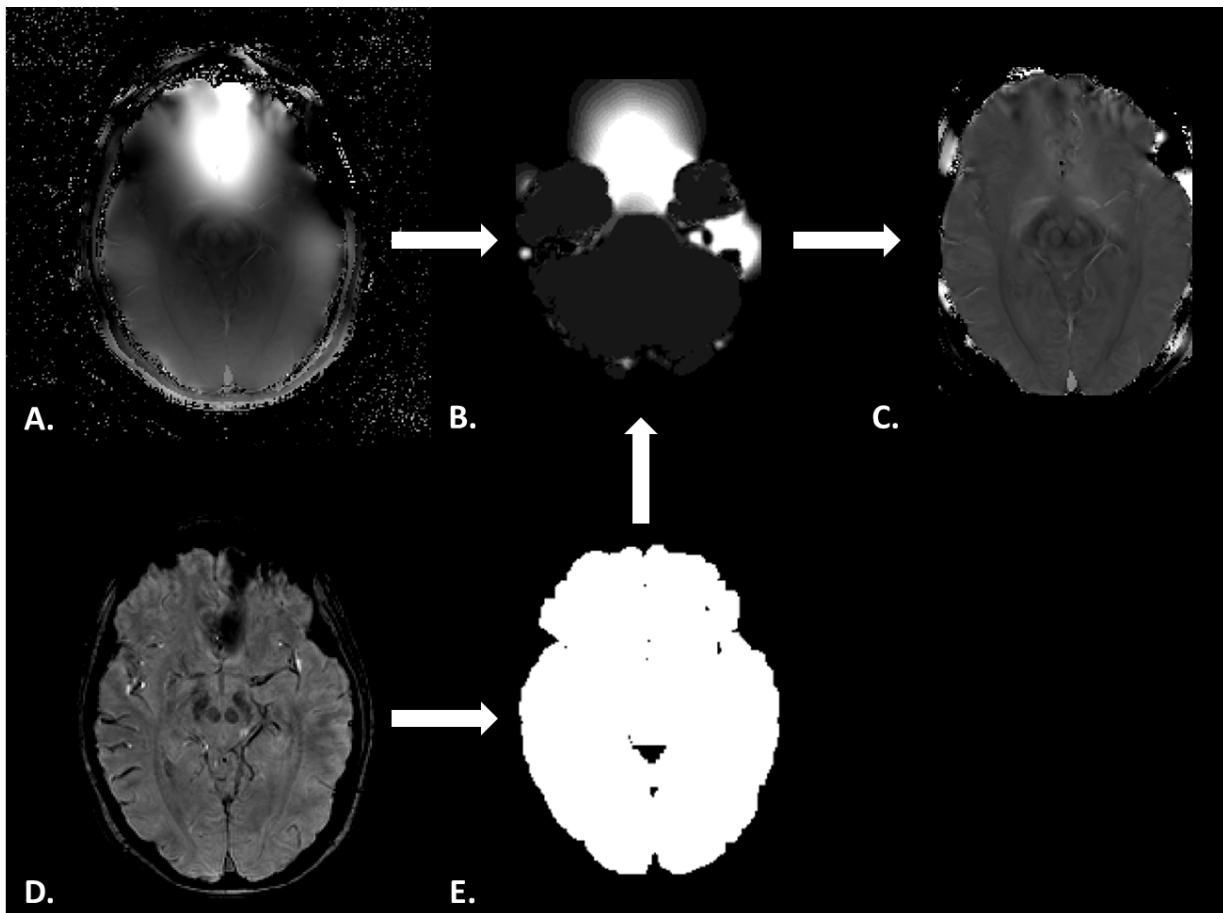
Les variations locales de champ magnétique sont liées à la susceptibilité magnétique tissulaire par l'équation :

$$\Delta B_z(\vec{a}) = B_0 \cdot \int \chi(\vec{a}') \cdot dz(\vec{a} - \vec{a}') \cdot d^3(\vec{a}')$$

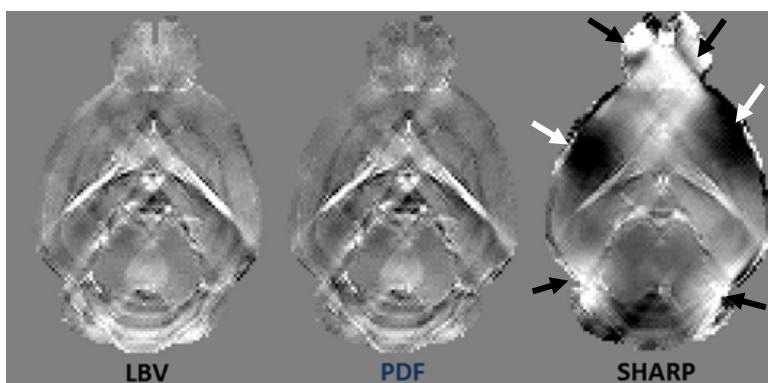
Cette équation peut être résolue par une transformée de Fourier inverse. On obtient alors :

$$\Delta B_z(\vec{a}) = B_0^{-1} \text{TF}^{-1} \{ \chi(\vec{k}) \cdot G(\vec{k}) \}, \text{ avec } G(\vec{k}) = \frac{1}{3} - \frac{k^2 z}{k^2} \text{ pour } k \neq 0 \text{ et } G(\vec{k}) = 0 \text{ pour } k = 0$$

Où $\chi(\vec{k})$ correspond à la transformée de Fourier de $\chi(\vec{a})$ et $G(\vec{k})$ à la fonction de Green (ou solution élémentaire).

Figure I.9: Etape d'élimination du champ magnétique de fond

Afin d'éliminer l'effet de sources externes de la carte cérébrale de champ magnétique (A), un masque binaire du cerveau (E) est généré à partir de l'image de magnitude (D) permettant de séparer les voxels pertinents des voxels non-informatifs. La méthode PDF utilisée ici utilise cette information spatiale pour calculer l'effet des sources externes (B), avant de les supprimer pour obtenir la carte des variations locales de champ magnétique, d'origine tissulaire.

Figure I.10: Comparaison de différents algorithmes d'élimination du champ magnétique

Cartes de susceptibilité magnétique cérébrale obtenues chez la souris en utilisant les algorithmes LBV, PDF et SHARP pour la suppression du champ magnétique de fond. Dans ce cas précis, l'algorithme SHARP semblait moins performant et ne permettait pas d'éliminer complètement les variations négatives (flèches blanches) et positives (flèches noires) de susceptibilité. Les algorithmes LBV et PDF présentaient des performances similaires.

On comprend alors que les valeurs de susceptibilité magnétique ne peuvent être calculées le long des angles magiques ($\Theta = 54,7^\circ$ par rapport à l'axe du champ magnétique B_0) de l'espace k où $G(\vec{k})$ prend une valeur nulle. Dans ces régions, le bruit est amplifié et se traduit par d'importants cônes d'artéfacts à type de strie sur les cartes de susceptibilité magnétique.

Pour résoudre ce problème, la méthode de référence COSMOS (calculation of susceptibility with multiple orientation sampling) consiste à répéter les acquisitions, au moins 3 fois, en faisant varier uniquement l'orientation de l'organe étudié par rapport à l'axe de B_0 [Liu, 2009]. Ainsi, les cônes d'artéfacts dans la zone des angles magiques se projettent différemment sur chaque acquisition et la combinaison des différentes acquisitions permet d'étudier l'ensemble de l'espace k . Cette méthode augmentant drastiquement le temps d'acquisition est difficilement exploitable en pratique clinique. Des algorithmes basés sur la régularisation et introduisant un a priori dans le domaine fréquentiel ou dans le domaine spatial ont été proposés pour contourner ce problème [Haacke, 2015 ; Deistung, 2016], certains sont présentés ci-après et illustrés par la **Figure I.11**.

Dans le domaine fréquentiel, la méthode TKD (threshold k-space division) propose de remplacer les valeurs inférieures à un certain seuil par une valeur constante [Wharton, 2010]. Cette approche a pour avantage sa simplicité mais conduit à une sous-estimation systématique des valeurs de susceptibilité.

La méthode HEIDI (homogeneity-enabled incremental dipole inversion) propose de subdiviser l'espace k en 3 parties [Schweser, 2012]. La partie de l'espace k pour laquelle le problème inverse est mal posé est traitée en utilisant un a priori sur l'homogénéité de la distribution de la susceptibilité magnétique dans cette zone. La partie de l'espace k pour laquelle le problème inverse est bien posé est traitée par une résolution simple de l'équation. Enfin, la zone intermédiaire est traitée en appliquant un débruitage supplémentaire dans le domaine image.

Dans le domaine image, la méthode MEDI (morphological-enabled dipole inversion) introduit un a priori spatial en supposant que les contours sur les cartes de susceptibilité doivent correspondre aux contours des images de magnitudes correspondantes [Liu, 2012]. Une régularisation L1 est appliquée aux cartes de susceptibilité générées pour tendre vers cette correspondance (**Figure I.12**). Enfin, on notera que la susceptibilité magnétique ainsi obtenue est une information relative. La plupart des auteurs proposent donc une normalisation des résultats par rapport à une région de référence. Les méthodes pour définir la région de référence varient. Elles consistent généralement à choisir une région a priori indemne de pathologie (substance blanche frontale, ventricules) ou de déterminer la région présentant la plus faible variabilité au sein de la population étudiée [Haacke, 2015 ; Deistung, 2016]. Certains auteurs ont choisi également de normaliser en utilisant la valeur moyenne de la susceptibilité de l'ensemble du cerveau.

I.2.3.6. Contraste des cartes de susceptibilité magnétique

Dans le cerveau humain, les principales substances déterminant la susceptibilité magnétique tissulaire sont le fer et la myéline. Le fer est la substance paramagnétique la plus abondante. La susceptibilité magnétique des structures de matière grise est principalement corrélée à sa concentration (**Figure I.6**). Les cartes de susceptibilité magnétique reflètent essentiellement la distribution du fer Fe^{3+} lié à la ferritine [Zheng, 2013 ; Bulk, 2018a]. En comparaison, d'autres substances paramagnétiques telles que le cuivre ou le manganèse sont présentes en trop faible quantité pour être détectées, en dehors de conditions pathologiques.

La myéline possède au contraire des propriétés diamagnétiques faisant chuter la susceptibilité magnétique de la matière blanche proportionnellement à sa concentration. La susceptibilité magnétique des faisceaux de substance blanche est également largement modulée par leur orientation par rapport à l'axe du champ magnétique principal B_0 (**Figure I.6**).

On notera que chez le rongeur sain, le contraste des cartes de susceptibilité du parenchyme cérébral (**Figure I.13**) est majoritairement lié à la concentration en myéline, le fer étant présent en plus faible quantité [O'Callaghan, 2017].

Figure I.11: Etape de conversion des cartes de champ magnétique tissulaire en carte de susceptibilité magnétique

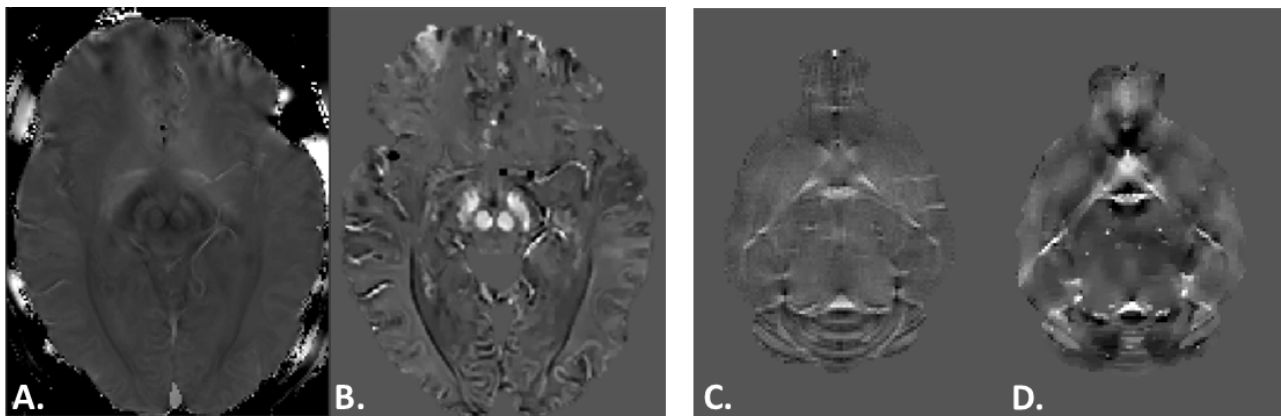
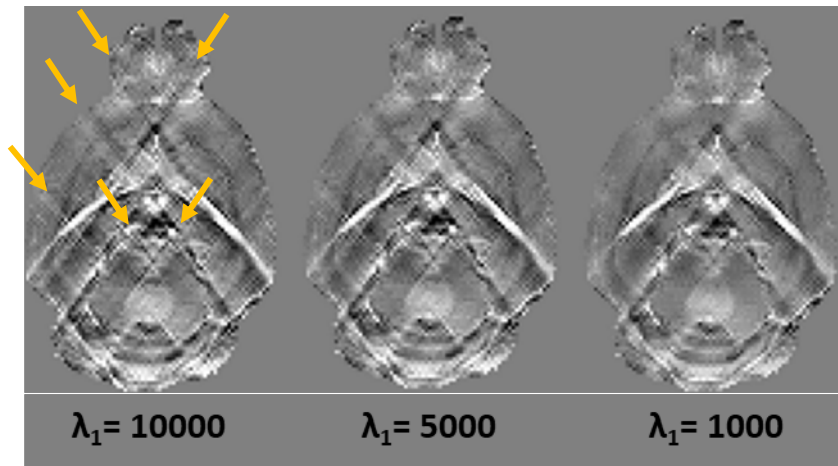
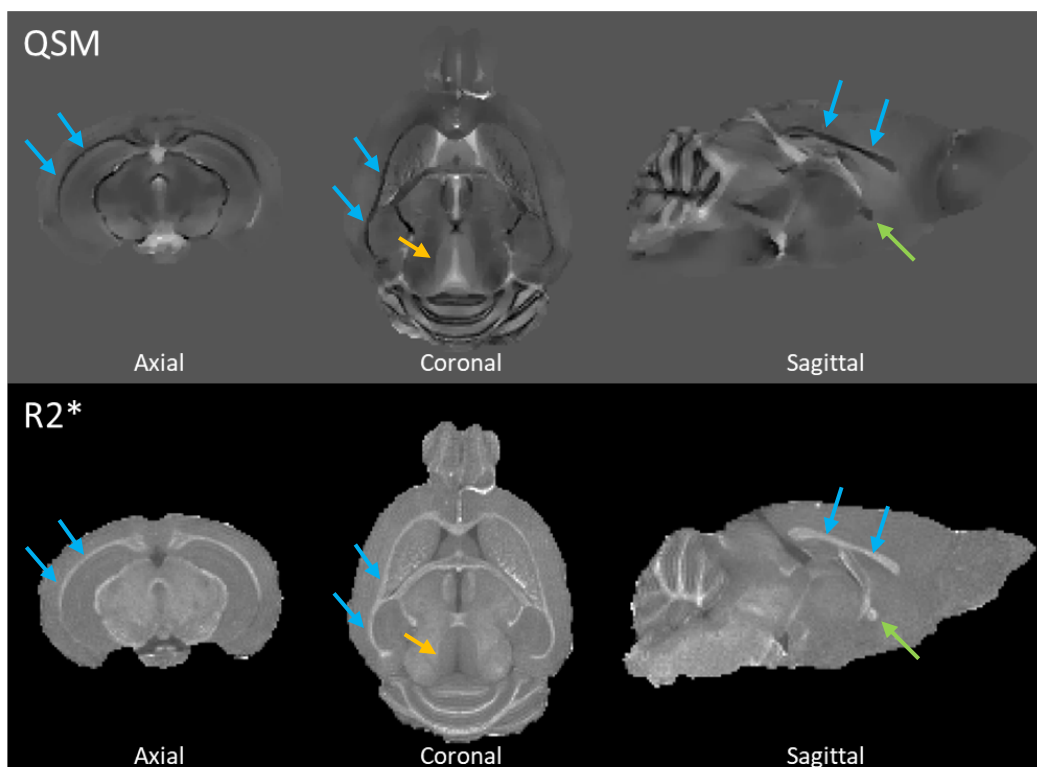


Illustration de la conversion des cartes de champ magnétique tissulaire (A, C) en cartes de susceptibilité magnétique (B, D) par la méthode MEDI, chez l'homme (A, B) et la souris (C, D).

Figure I.12: Influence de la régularisation sur les cartes de susceptibilité magnétique

Cartes de susceptibilité magnétique d'un cerveau de souris générées à l'aide de l'algorithme MEDI. L'importance de la régularisation est inversement proportionnelle à la valeur du paramètre λ_1 . L'image de gauche avec régularisation faible laisse apparaître les artefacts à type de stries orientés selon l'angle magique (flèches oranges) et liés au caractère mal posé du problème inverse. L'augmentation de la régularisation (de la gauche vers la droite) permet de gommer ces artefacts, au prix d'un certain degré de lissage de l'image pouvant entraîner une perte d'information pour les structures de petites tailles.

Figure I.13 : Contraste des cartes cérébrales de susceptibilité magnétique et R2* obtenues *ex vivo* chez la souris

A l'état physiologique, le contraste des cartes de QSM et R2* est principalement lié à la densité de myéline chez le rongeur. Le corps calleux (flèches bleues) et la commissure blanche antérieure (flèches vertes) sont par exemple facilement identifiables avec une susceptibilité magnétique faible et une relaxivité R2* élevée. La structure de matière grise présentant la susceptibilité magnétique la plus élevée est ici la substance grise périaqueducule (flèches oranges).

I.2.3.7. Principaux paramètres influençant la qualité des cartes de susceptibilité magnétique

Compensation de flux

L'imagerie en contraste de phase est utilisée en pratique clinique pour quantifier les flux sanguins (angiographie veineuse sans injection, pathologie valvulaire cardiaque) et de liquide cérébro-spinal (LCS) (volume oscillatoire aqueducal dans l'hydrocéphalie chronique de l'adulte). Les flux sont à l'origine d'un décalage de phase proportionnel à leur vitesse qui empêche localement une estimation fiable de la susceptibilité magnétique et est source d'artéfacts à distance. Il est donc fortement recommandé d'activer la compensation de flux lors de l'acquisition des séquences 3D mGRE [O'Callaghan, 2017].

Résolution spatiale

Une résolution spatiale plus élevée en réduisant l'effet de volume partiel, améliorera la fiabilité de l'estimation de la susceptibilité magnétique. Néanmoins, l'imagerie de phase est plus sensible à la réduction du rapport signal/bruit liée à l'augmentation de la résolution spatiale [Haacke, 2015]. L'incertitude de l'estimation s'en trouvera également majorée. A 3Tesla, il est difficile d'aller en deçà d'une taille de voxel de 1mm^3 isotropique.

Temps d'écho

Le temps d'écho doit être ajusté en fonction du temps de relaxation $T2^*$ de la structure étudiée. Le temps d'écho optimal se situe entre $T2^*/2$ et $T2^*$. La réduction du rapport signal/bruit avec le temps d'écho devra également être prise en compte.

I.2.4. Synthèse

En conclusion, les techniques de relaxométrie $R2^*$ permettent d'estimer le contenu en fer de la matière grise, de manière relativement simple et robuste, facilitant notamment son utilisation multicentrique et multi-constructeurs. Les techniques de QSM offrent une alternative théoriquement plus sensible aux faibles concentrations [Haacke, 2015] et permettent de distinguer les structures majoritairement diamagnétiques (myéline, calcifications) des structures majoritairement paramagnétiques (fer). Elles nécessitent toutefois un post-traitement complexe, non standardisé, et faisant l'objet de développements mathématiques et méthodologiques actifs comme en témoigne l'organisation de « QSM challenges » internationaux (<http://qsm.snu.ac.kr/>). La reproductibilité inter-centres et inter-constructeurs des résultats est plus incertaine. Dans le cadre de cette thèse, nous avons choisi d'utiliser le QSM, en raison de sa sensibilité accrue et du caractère monocentrique de nos travaux, afin d'évaluer l'effet de la maladie d'Alzheimer sur la distribution de la charge cérébrale en fer.

I.3. De l'hétérogénéité de la maladie d'Alzheimer

Après avoir rappelé la description classique de la maladie, nous développerons dans ce paragraphe les différentes dimensions qui sous-tendent cette hétérogénéité : génétique, sévérité et typicité.

I.3.1. Description classique de la maladie

I.3.1.1 Lésions histologiques associées à la maladie d'Alzheimer

Sur le plan histopathologique, la maladie se caractérise par la coexistence de plaques amyloïdes extracellulaires et de lésions intraneuronales de dégénérescence neurofibrillaire, responsables d'une mort neuronale et de pertes synaptiques [Hyman, 2012]. La chronologie et la distribution spatiale des lésions ont été décrites de manière détaillée par Braak et al [Braak, 1991a ; Braak, 1997 ; Thal, 2002]. Dans la forme typique de la maladie, les plaques amyloïdes apparaissent plus tôt, jusqu'à 25 ans avant le début des symptômes [Bateman, 2012], au sein du neocortex et de l'allocortex (stade 1-2 de Thal). Les plaques ont alors une structure lâche. Avec le temps, les plaques deviennent plus denses et s'étendent largement au diencéphale, au striatum et aux noyaux cholinergiques (stade 3 de Thal). A un stade avancé, elles intéressent le tronc cérébral et le cervelet (stade 4-5 de Thal) [Thal, 2002]. Les lésions de dégénérescence neurofibrillaire surviennent secondairement, jusqu'à 15 ans avant le début des symptômes [Bateman, 2012], et débutent au sein du cortex entorhinal (stades I/II de Braak). Elles s'étendent ensuite de manière progressive et stéréotypée au complexe amygdalo-hippocampique et aux aires corticales connectées, d'abord temporales internes, cingulaires antérieures et postérieures (stade III/IV) puis à l'ensemble des cortex associatifs (stade V/VI) épargnant relativement les aires motrices et visuelles primaires [Braak, 1997]. La perte neuronale et synaptique qui détermine l'expression clinique de la maladie est plus difficile à apprécier avec les techniques histopathologiques classiques mais serait davantage liée à la distribution des lésions de dégénérescence neurofibrillaire [Iaccarino, 2018].

I.3.1.2. Biomarqueurs du processus pathologique

Les plaques amyloïdes sont constituées de dépôts fibrillaires de peptide β amyloïde provenant de la dégradation de la protéine APP [Masters, 2015]. La protéine APP est une protéine transmembranaire codée par le chromosome 21 et présente dans le cerveau sous 3 isoformes comprenant respectivement 695 (forme majoritaire), 751 et 770 acides aminés. La portion N terminale est en position extracellulaire, la portion C terminale intracellulaire. Elle est dégradée par l'intervention successive de différentes protéases (dénommées α , β et γ sécrétases en fonction de leur site de clivage). La protéine APP peut tout d'abord être clivée par une α -sécrétase dans son domaine transmembranaire conduisant à la libération d'un fragment APP α soluble dans le milieu extracellulaire. La portion extracellulaire de la protéine APP peut également être clivée sur un site

plus proche de l'extrémité N terminale par une β -sécrétase conduisant à la libération d'un fragment APP β soluble. Dans ce cas, la portion protéique C terminale restante peut ensuite être clivée de manière alternative en 2 sites du domaine transmembranaire par une γ -sécrétase conduisant à la libération d'un peptide A β présentant 40 ou 42 acides aminés, la forme A β 42 étant moins soluble et donc plus susceptible de s'agréger au sein de plaques amyloïdes. Le processus conduisant à la production de peptide A β 42 est ainsi appelée voie amyloïde.

Les lésions de dégénérescence neurofibrillaire sont, quant à elles, la conséquence d'une hyperphosphorylation de la protéine tau conduisant à la formation d'agrégats intra-neuronaux [Buée, 2010].

Le processus neuropathologique peut être appréhendé in vivo par l'imagerie et l'étude du LCS [Jack, 2016]. L'amyloïdogénèse (A) se traduit par une diminution de la concentration en peptide A β 42 dans le LCS (et/ou une diminution du ratio A β 42/ A β 40) [Blennow, 2010] et peut être cartographiée en TEP à l'aide de différents traceurs (C^{11} - PiB, florbetapir AV-45,...) [Clark, 2011]. La tauopathie (T) est authentifiée par une élévation de la forme hyperphosphorylée de la protéine tau dans le LCS (Fagan Archiv Neurol 2007) ou en TEP à l'aide de traceurs tau récemment développés [Jack, 2018]. La dysfonction synaptique et la neurodégénérescence (N) sont appréciées par la diminution du métabolisme du glucose en TEP-FDG, le dosage de la protéine tau totale dans le LCS et l'atrophie en IRM.

I.3.1.3. Expression clinique typique

Les biomarqueurs permettent de détecter le processus pathologique plusieurs années avant le début des symptômes. Au stade symptomatique, la nature et la sévérité des signes cliniques sont corrélées à la distribution et à la sévérité des lésions histologiques [Sperling, 2011]. Dans la forme typique de la maladie, la prédominance limbique des lésions se traduit par un syndrome amnésique d'aggravation progressive. L'altération de la mémoire épisodique peut être objectivée par une diminution des performances lors de tests impliquant le rappel de listes de mots ou d'objets mémorisés, non améliorées par l'indiciage [Grober, 1988 ; Lindeboom, 2002].

I.3.2. Sources d'hétérogénéité phénotypique

I.3.2.1. Formes génétiques de la maladie d'Alzheimer

Les formes génétiques autosomiques dominantes représentent 1 à 2% des cas, elles se révèlent à un âge précoce et sont liées à des mutations du gène de la protéine APP ou des gènes PSEN1 ou PSEN2 codant respectivement pour les présénilines 1 et 2 (sous-unités de la γ sécrétase) [Radde, 2008 ; Hall, 2012]. Ces mutations sont à l'origine d'une augmentation globale de la production de peptide A β et/ou favorise la voie de dégradation dite « amyloïde » qui, en augmentant le ratio

A β 42/ A β 40, conduit à la formation de plaques. Les mutations du gène APP peuvent, par exemple, modifier le site de clivage de la β sécrétase et favoriser son action (mutation suédoise K670/M671L), modifier le site de clivage de la γ sécrétase et favoriser la production de peptide A β 42 par rapport à A β 40 (mutation de Londres V717I) ou diminuer la solubilité du peptide A β (mutation hollandaise E693Q). Une duplication du gène APP augmente également la production du peptide A β . Enfin, les mutations des gènes PSEN1 ou 2 modifient l'activité de la γ sécrétase en favorisant la production de peptide A β 42.

Le gène APOE codant pour l'apolipoprotéine E est par ailleurs responsable d'une prédisposition génétique à la maladie. L'apolipoprotéine E est une protéine de transport des lipides, exprimée dans le cerveau essentiellement dans les cellules astrocytaires et microgliales, et participant au renouvellement membranaire et à la clairance amyloïde. Trois allèles sont observés pour ce gène (APOE ϵ 2, 3 et 4). Le risque de développer la maladie augmente avec le nombre d'allèle APOE ϵ 4 ($\times 4$ à l'état hétérozygote, $\times 10$ à l'état homozygote)[Duff, 2000], présent chez 50% des patients contre 15% en population générale [Saunders, 1993]. Les mécanismes ne sont pas complètement élucidés mais l'allèle APOE ϵ 4 favoriserait la cascade amyloïde et l'hyperphosphorylation de tau. L'allèle APOE ϵ 2 a au contraire un effet protecteur.

I.3.2.2. Stades de sévérité de la maladie

La révision des critères diagnostiques a permis de préciser différents stades de sévérité de la maladie [McKhann, 2011]. Le stade asymptomatique ou préclinique correspond aux sujets indemnes de toute symptomatologie mais dont les biomarqueurs traduisent la présence du processus physiopathologiques (ou porteur d'une mutation identifiée des gènes APP, PSEN1 ou PSEN2) [Sperling, 2011]. Le stade de trouble cognitif léger (mild cognitive impairment, MCI) concerne les patients rapportant un trouble cognitif, objectivé par les tests neuropsychologiques, mais sans retentissement sur l'autonomie dans la vie quotidienne [Albert, 2011]. Enfin, le stade de démence se traduit par une atteinte d'au moins 2 fonctions cognitives, objectivée par les tests neuropsychologiques et responsable d'une perte d'autonomie [McKhann, 2011]. En pratique clinique, la sévérité de la maladie est donc évaluée essentiellement par l'importance de son retentissement fonctionnel. Elle peut être quantifiée par des échelles globales telles que l'échelle CDR (clinical dementia rating).

Dans une méta-analyse récente, Ferreira et al. présentaient la sévérité comme une dimension de la maladie correspondant à l'importance de la neurodégénérescence (N dans le modèle A/T/N) et qui serait modulée par la réserve cognitive [Ferreira, 2020]. Ainsi, pour une même sévérité clinique, un patient avec une réserve cognitive plus importante présentera une atrophie cérébrale plus marquée. En imagerie, cela se traduit par un continuum allant des formes avec « atrophie minimale »

(absence d'atrophie corticale ou hippocampique significative) aux formes « typiques » avec atrophie hippocampique et néocorticale importante.

I.3.2.3. Variants de la maladie et concept de typicité

Outre la forme typique amnésique de la maladie d'Alzheimer, différents variants phénotypiques sont désormais reconnus. Ces variants sont caractérisés sur le plan cognitif par une épargne relative de la mémoire épisodique avec une atteinte d'une autre fonction au premier plan et un pattern d'atrophie corticale focale correspondant [Galton, 2000 ; Ridgway, 2012 ; Ossenkoppele, 2015a]. Les variants postérieurs se manifestent par une altération des fonctions visuo-spatiales et une atrophie pariétale marquée. Le variant logopénique se traduit par un tableau d'aphasie primaire progressive avec atrophie péri-sylvienne gauche. Enfin, le variant comportemental/dysexécutif présente des troubles comportementaux et/ou dysexécutifs prévalents et une atrophie discrètement plus marquée des régions frontales par rapport aux formes amnésiques [Ossenkoppele, 2015b].

Le terme « sous-type épargnant l'hippocampe » (« hippocampal sparing) est introduit dans plusieurs publications s'appuyant sur la distribution des lésions histologiques associées à la tauopathie [Whitwell, 2012]. En imagerie, cela se traduit une atteinte préférentielle des aires associatives néocorticales et par un ratio (volume hippocampique / volume cortical total) élevé [Risacher, 2017]. Par opposition, le sous-type « limbique prédominant » correspond à une atteinte préférentielle de l'hippocampe avec un respect des aires associatives se traduisant par un ratio (volume hippocampique / volume cortical total) faible [Risacher, 2017].

Ferreira et al. décrivaient la typicité comme la seconde dimension de la maladie [Ferreira, 2020]. La distribution des lésions était liée à d'autres sources d'hétérogénéité d'origine épidémiologique, biologique et à la présence de comorbidités. Le sous-type « limbique prédominant » était ainsi associé à un âge de début tardif, au sexe féminin, au portage de l'allèle APOE ϵ 4, à une moindre réserve cognitive, à des concentrations en protéine tau totale et phosphorylée plus basses, à la coexistence d'une microangiopathie hypertensive ou de lésions de type TDP-43 (TAR DNA-binding protein 43). Au contraire, le sous-type « épargnant l'hippocampe » était associé à un âge de début précoce, au sexe masculin, à une moindre prévalence de l'allèle APOE ϵ 4, à une réserve cognitive élevée, à des concentrations importantes en protéine tau, à la co-existence de lésions d'angiopathie amyloïde et de corps de Lewy.

C'est ce concept de typicité que nous tenterons d'exploiter dans le deuxième chapitre pour révéler le lien entre la distribution des lésions histologiques corticales et la charge ferrique au sein des noyaux gris centraux.

II. ETUDE CLINIQUE

Pattern d'atrophie cérébrale,
Charge en fer au sein des noyaux gris centraux
Et Performances cognitives
Dans la maladie d'Alzheimer à début précoce

II.1. Introduction

Un faisceau de preuves existe en faveur d'un trouble de l'homéostasie cérébrale du fer dans la maladie d'Alzheimer. Des études autopsiques ont depuis longtemps démontré une quantité plus importante de particules d'oxyde de fer et/ou de ferritine au sein du gyrus temporal supérieur ou du lobe frontal de patients atteints de maladie d'Alzheimer [Connor, 1992 ; Collingwood, 2005; Pankhurst, 2008]. D'un point de vue topographique, l'accumulation de fer pourrait être située au sein des dépôts amyloïdes [Meadowcroft, 2009] ou des agrégats neurofibrillaires [Smith, 1997], marqueurs histopathologiques clés de la maladie d'Alzheimer. Le caractère causal ou collatéral de cette accumulation de fer n'est pas clairement établi, mais un certain nombre de données in vitro plaident pour une participation active au développement de la maladie. Ainsi, une concentration élevée en fer stimule fortement (facteur 100 à 1000) l'agrégation β -amyloïde [Mantyh, 1993 ; Becerril-Ortega, 2014]. La neurotoxicité des agrégats amyloïdes est également accrue en présence de fer [Schubert, 1995]. La translation de l'ARNm de l'APP (protéine précurseur de la β -amyloïde) est en outre régulée par la concentration cellulaire en fer, via un élément de réponse au fer situé au niveau de l'extrémité 5' : la chélation du fer par la desferrioxamine inhibe la translation de l'ARNm APP alors que l'afflux de fer intracellulaire la stimule [Rogers, 2002]. Récemment, le rôle de l'APP dans le maintien de l'homéostasie neuronale du fer a été mis en lumière. L'APP interagit avec la ferroportine dont elle stabilise la présence à la membrane pour permettre l'efflux de fer [Duce, 2010 ; Tsatsanis 2020]. La protéine tau permettrait cette interaction en assurant le transport intracellulaire de l'APP jusqu'à la membrane [Duce, 2010]. Ainsi chez les souris transgéniques KO APP ou KO tau, on observe une accumulation intra-neuronale de fer [Duce, 2010 ; Lei, 2012]. Par ailleurs, chez l'homme, le taux de ferritine dans le LCS est un facteur de risque indépendant de déclin cognitif et d'atrophie hippocampique [Ayton, 2015]. L'allèle APOE ϵ 4, principal facteur de prédisposition génétique à la maladie d'Alzheimer, est également associé à un taux de ferritine dans le LCS plus élevé [Ayton, 2015] et pourrait jouer un rôle central dans l'homéostasie cérébrale du fer.

L'IRM est la seule méthode permettant d'estimer et de cartographier de manière non-invasive la charge cérébrale en fer. Parmi les méthodes sensibles à l'effet paramagnétique de l'atome de fer, la méthode QSM semble être la plus performante [Deistung, 2016]. Les études ayant utilisé cette méthode dans la maladie d'Alzheimer ont systématiquement rapporté une surcharge ferrique au sein des noyaux gris centraux [Acosta-Cabronero, 2013; Moon, 2016; Tiepolt, 2018], mais les résultats concernant des structures impliquées plus précocement et plus sévèrement par la maladie, tel que l'hippocampe, sont étonnamment contradictoires. La spécificité des modifications observées en IRM et leur lien avec le processus physiopathologique restent incertains. Moon et al. avaient par exemple rapporté un pattern similaire de surcharge ferrique chez les patients présentant une

démence d'origine vasculaire. Dans ce contexte, nous avons supposé que l'étude de la charge en fer en fonction du phénotype de la maladie pourrait éclairer ces liens. La maladie d'Alzheimer est en effet une maladie dont l'hétérogénéité phénotypique est désormais reconnue. Cette hétérogénéité se traduit notamment par d'importantes variations dans la distribution des lésions histologiques. Braak et al ont bien décrit la progression chronologique stéréotypée des lésions associée à la tauopathie dans la forme classique, avec une atteinte initiale siégeant dans le cortex entorhinal et l'hippocampe, une extension aux aires limbiques puis à l'ensemble des cortex associatifs [Braak, 1991a]. La distribution de ces lésions se traduit en IRM par un pattern d'atrophie intéressant préférentiellement les aires limbiques et est responsable d'une présentation clinique où l'atteinte de la mémoire épisodique est au premier plan [Ferreira, 2020]. La prévalence des porteurs de l'allèle APOEε4 est très élevée dans cette population [Ferreira, 2020]. Outre la forme classique, des variants atypiques ont été décrits, se caractérisant en histologie et en imagerie par une épargne relative des aires limbiques contrastant avec une atteinte plus sévère des aires associatives néocorticales en début d'évolution [Whitwell, 2012; Cho et al., 2013; Risacher et al., 2017]. Ceci se traduit cliniquement par un respect relatif de la mémoire épisodique et une atteinte au premier plan des fonctions exécutives, attentionnelles, instrumentales et/ou du langage [Ridgway et al., 2012; Ossenkoppele et al., 2015a; Ossenkoppele et al., 2015b; Palasi, 2015]. Les formes atypiques sont relativement rares mais leur proportion atteint 30% chez les patients présentant une maladie d'Alzheimer à début précoce, c'est-à-dire lorsque les premiers symptômes surviennent avant l'âge de 65 ans [Balasa, 2011; Palasi, 2015].

Les variations de distribution de la charge en fer, n'ont, à notre connaissance, jamais été étudiées chez les patients EOAD. Nous émettons l'hypothèse que la charge en fer est associée au pattern d'atrophie cérébrale, marqueur indirect de la distribution des lésions histologiques, et au génotype APOEε4 et que son importance influence négativement le pronostic cognitif.

L'objectif principal de cette première partie était donc d'évaluer le lien entre la typicité du pattern d'atrophie cérébrale et la charge en fer dans les noyaux gris centraux. Notre objectif secondaire était de mesurer l'impact de la charge en fer sur les performances cognitives.

II.2. Matériel et méthodes

Considérations éthiques

Cette étude a été approuvée par un comité de protection des personnes (CPP Nord-Ouest I; reference: 110-05) et le consentement éclairé de l'ensemble des participants ou d'un membre de leur famille a été recueilli.

Population d'étude

Il s'agit d'une étude d'imagerie ancillaire monocentrique menée depuis 2016 au sein de la cohorte COMAJ (cohorte malades d'Alzheimer Jeunes). La cohorte COMAJ est une cohorte de patients EOAD initiée en 2009 dans 3 centres mémoire français (Lille, Paris et Rouen) [Chen, 2017]. A partir de 2016, dans le centre lillois, une séquence dédiée à l'estimation de la charge en fer a été ajoutée au protocole d'IRM.

Tous les patients ont été recrutés et explorés au Centre Mémoire de Ressources et de Recherche du CHU de Lille, centre national de référence pour les malades Alzheimer jeunes. L'évaluation initiale comportait un examen neurologique et neuropsychologique, un dosage des biomarqueurs du LCS, un génotypage APOE et une imagerie cérébrale par IRM 3 Tesla et TEP au ^{18}F -FDG.

Les patients de notre étude ont été sélectionnés dans la cohorte COMAJ selon les critères d'inclusion suivant: (a) participants répondant aux critères de la National Institute on Aging - Alzheimer's Association (NIA-AA) pour "une démence probable avec preuve intermédiaire du processus patho-physiologique de la maladie d'Alzheimer" [McKhann, 2011] et aux critères du groupe de travail international (IWG) 2 [Dubois, 2014]; (b) âge ≤ 65 ans au début des symptômes; (c) taux de biomarqueurs anormaux au sein du liquide cébrospinal: $\text{A}\beta 42$ inférieur à 700 pg/mL et tau total ou tau phosphorylé supérieur à 400 et 60 pg/mL, respectivement [Lehmann, 2014]. Le diagnostic final d'EOAD sporadique était basé sur un examen approfondi des antécédents cliniques, des biomarqueurs du LCS, des données neuropsychologiques et d'imagerie par un groupe multidisciplinaire associant neurologues, radiologues, médecins nucléaires et neuropsychologues. Les antécédents familiaux de chaque patient EOAD ont été examinés afin d'exclure les personnes aux antécédents de démence précoce chez des parents au premier degré ou celles présentant une mutation confirmée dans les gènes PSEN1, PSEN2 ou APP.

Évaluation neuropsychologique

Tous les patients ont subi des tests neuropsychologiques approfondis et ont été évalués selon l'échelle d'évaluation de la démence clinique (CDR) [Morris, 1993] et le MMSE (mini-mental status examination) [Folstein, 1975]. Si le score du MMSE était supérieur à 10, une évaluation neuropsychologique plus approfondie était effectuée. Une série de tests neuropsychologiques

spécifiques était alors administrée pour couvrir 4 domaines cognitifs majeurs. Pour les besoins de cette étude, nous avons retenu le test d'association visuelle (visual association test, VAT) pour la mémoire épisodique [Lindeboom, 2002], la DO80, test de dénomination orale de 80 images pour le langage, le test de développement de l'intégration visuelle-motrice de Beery-Buktenica (test VMI de Beery) pour la fonction visuo-spatiale [Lim, 2015] et la fluence littérale (la lettre P) pour les fonctions exécutives.

Acquisitions IRM

Toutes les acquisitions ont été effectuées sur une IRM 3T (Philips Achieva, Philips Healthcare, Best, The Netherlands), utilisant une antenne « tête » 8 canaux. Le protocole d'imagerie comprenait une séquence anatomique 3D T1 et une séquence 3D mGRE pour l'analyse QSM. Les séquences 3D T1 Turbo Field Echo ont été acquises sous la forme d'une série de 160 coupes sagittales, avec les paramètres suivants : champ de vue = $256 \times 256 \times 160$ mm, matrice = $256 \times 256 \times 160$, taille du voxel: $1 \times 1 \times 1$ mm, TR = 9.9 ms, TE = 4.6 ms et angle de bascule = 8° . Les séquences 3D mGRE ont été acquises sous forme d'une série de 80 coupes axiales, avec les paramètres suivants : champ de vue = $256 \times 256 \times 160$ mm, matrice = $256 \times 256 \times 80$, taille du voxel : $1 \times 1 \times 2$ mm, TR = 54 ms, TE = 4.2, 9.5, 14.8, 20.1, 25.4, 30.8, 36.1 et 41.4 ms, et angle de bascule = 15° .

Analyse de l'imagerie

Segmentation des images 3DT1

Le logiciel volBrain [Manjon, 2016] a été appliqué aux images 3DT1 pour effectuer une segmentation et une volumétrie automatiques du volume intracrânien total, du cerveau, de la matière grise corticale et des régions d'intérêt suivantes : caudate, putamen, globus pallidus, thalamus, hippocampe, amygdale et noyau accumbens. Les segmentations ont été vérifiées visuellement par un neuroradiologue, en aveugle des données cliniques, et ont été corrigées manuellement si nécessaire. Les volumes mesurés ont été exprimés en pourcentage du volume intracrânien total.

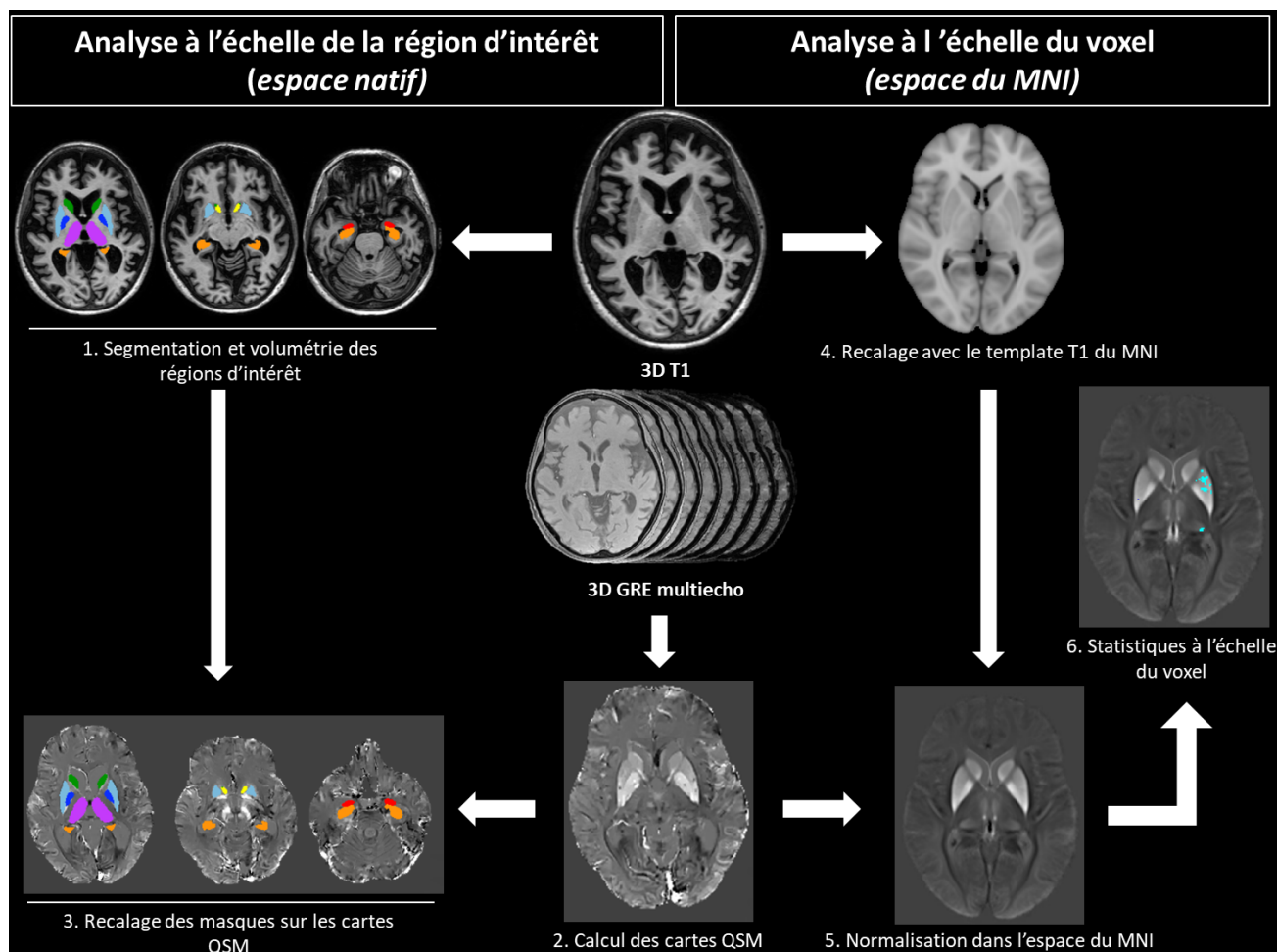
Pour refléter le pattern de l'atrophie cérébrale, nous avons calculé le rapport entre le volume hippocampique et le volume cortical total (rapport HV:CTV). Ce paramètre, qui est corrélé à la distribution histopathologique des lésions associées à la tauopathie [Whitwell, 2012], est également associé à la performance cognitive et à la pente du déclin cognitif [Risacher, 2017]. Un rapport HV:CTV plus faible indique un pattern limbique prédominant avec une atrophie préférentielle de l'hippocampe par rapport au cortex. En revanche, un rapport HV:CTV plus élevé indique une épargne relative de l'hippocampe avec une atrophie préférentielle du néocortex [Risacher, 2017].

Analyse QSM

Les cartes de QSM ont été générées automatiquement à partir des données 3D mGRE en utilisant l'algorithme MEDI [Liu, 2012]. Des masques binaires du cerveau ont été créés à partir des images 3DT1 en utilisant des segmentations volBrain et ont été recalés avec les images de magnitude 3D mGRE en utilisant la fonction de *flirt* de FSL (v6.0.1 fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl). Les images de phase ont ensuite été dépliées à l'aide d'un algorithme de croissance de région guidée par la qualité de l'image (algorithme de type « path-following »). La contribution du champ magnétique de fond, provenant de sources extérieures au cerveau, a été éliminée en utilisant la méthode PDF. Les cartes de QSM ont ensuite été calculées à partir des images de phase corrigées à l'aide de l'algorithme MEDI avec un paramètre de régularisation λ_1 fixé à 1000. Enfin, les cartes de QSM étaient normalisées en utilisant une région d'intérêt de référence dans la substance blanche frontale profonde [Ayton, 2017].

Les cartes de QSM ont été analysées selon 2 stratégies complémentaires (**Figure II.1**). Tout d'abord, nous avons effectué des analyses par régions d'intérêt dans l'espace d'origine des patients. Pour cela, les images 3DT1 et les images de magnitude 3D GRE de chaque patient étaient recalées en utilisant la fonction de *flirt* de FSL et la transformation était appliquée aux masques binaires des régions d'intérêt. Les valeurs moyennes de QSM ont été collectées dans chaque région d'intérêt (noyau caudé, putamen, globus pallidus, thalamus, hippocampe, amygdale et noyau accumbens). Ensuite, nous avons effectué des analyses à l'échelle du voxel dans l'espace du MNI (Montreal Neurological Institute) afin d'explorer l'hétérogénéité spatiale de la distribution du fer au sein des régions d'intérêt. Dans ce but, la boîte crânienne était éliminée de chaque image 3DT1 à l'aide de la fonction *bet* de FSL puis l'image du cerveau était recalée au template de référence du MNI par un recalage non linéaire avec l'outil *antsRegistration* du logiciel ANTS (<http://stnava.github.io/ANTs/>). Les matrices de transformation ont ensuite été appliquées aux images de magnitude 3D GRE et aux cartes de QSM. Afin d'analyser si la topographie de l'accumulation de fer dans certains noyaux profonds pouvait être liée à l'atteinte de certaines zones corticales (par la connectivité entre le cortex et les noyaux gris), nous avons utilisé les atlas de connectivité du thalamus [Behrens, 2003] et du striatum [Tziortzi, 2013] disponibles sur fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/Atlas.

Figure II.1: Représentation schématique du post-traitement des images



(1) Pour les analyses basées sur les régions d'intérêt, une segmentation automatisée des noyaux gris centraux (noyau caudé, vert ; putamen, bleu clair ; pallidum, bleu foncé ; thalamus, violet) et des structures limbiques (hippocampe, orange ; amygdale, rouge ; noyau accumbens, jaune) a d'abord été réalisée avec le logiciel volBrain dans l'espace d'origine. (2) Les cartes QSM ont été générées à l'aide de la toolbox MEDI. (3) Ensuite, les images 3DT1 et les images de magnitude 3D mGRE ont été recalées en utilisant la fonction de *flirt* de FSL et la transformation a été appliquée aux masques des régions d'intérêt. Les valeurs moyennes de QSM ont été collectées pour chaque région d'intérêt.

(4) Pour l'analyse à l'échelle du voxel, les images 3DT1, après extraction de la boîte crânienne par la fonction FSL *bet*, ont été recalées de manière non linéaire avec le template T1 du MNI par l'outil *antsRegistration* du logiciel ANTS. (5) Les matrices de transformation ont ensuite été appliquées aux cartes QSM. (6) Les statistiques ont finalement été réalisées au niveau du voxel en utilisant le package PALM.

Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SPSS version 26 (IBM corp., Armonk, NY, USA) et de MATLAB (MATLAB 2014a, The MathWorks, Natick, MA, USA). Les analyses statistiques ont, tout d'abord, été effectuées à l'échelle de la région d'intérêt en utilisant des modèles linéaires généralisés. Nous avons évalué l'association entre le pattern d'atrophie cérébrale et le QSM. Le QSM a été défini comme variable dépendante et le rapport HV:CTV comme variable indépendante. Les facteurs confondants potentiels (âge, sexe et sévérité de la maladie mesurée par le score MMSE) ont été inclus en tant que covariables. Nous avons ensuite testé l'association entre le QSM et les résultats de chaque test neuropsychologique, avec l'âge, le sexe et le score MMSE comme covariables. Nous avons également vérifié si l'association était indépendante du pattern d'atrophie cérébrale en ajoutant le rapport HV:CTV comme covariable.

Enfin, nous avons évalué l'association entre le génotype APOE ϵ 4, qui a été proposé comme un facteur génétique impliqué dans l'homéostasie cérébrale du fer [Ayton, 2015], et le QSM, avec l'âge, le sexe, le score MMSE comme covariables. Pour toutes les analyses, une correction de type FDR (false discovery rate) a été utilisée pour prendre en compte la multiplicité des tests. Les résultats étaient considérés significatifs pour une valeur de p corrigée inférieure à 0,05.

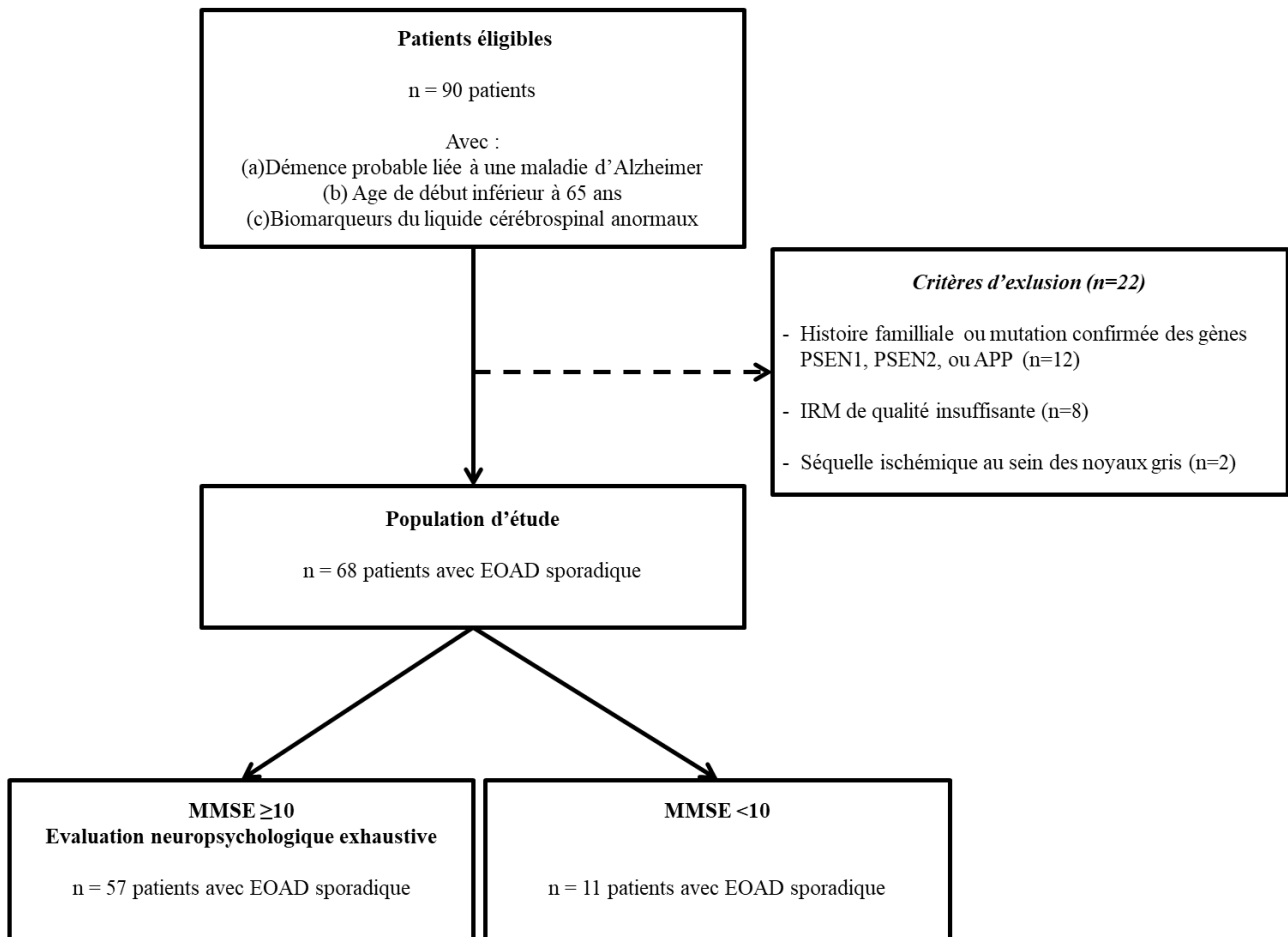
Dans un second temps, afin d'explorer l'hétérogénéité spatiale de la charge en fer au sein des régions d'intérêt, des analyses similaires ont été effectuées à l'échelle du voxel, sur les cartes QSM normalisées dans l'espace du MNI et masquées pour les noyaux gris centraux et les structures limbiques en utilisant le package PALM (Permutation Analysis of Linear Models) [Winkler, 2014]. Des statistiques de type TFCE (Threshold-free cluster enhancement) ont été calculées [Smith, 2009]. Cette approche non-paramétrique, basée sur la permutation pour le seuillage statistique, permet une inférence basée sur les clusters sans qu'il soit nécessaire de spécifier un seuil arbitraire de taille de cluster (comme requis lors de l'application de la théorie des champs aléatoires gaussiens). Tout d'abord, nous avons calculé l'association entre le QSM et le rapport HV:CTV avec l'âge, le sexe et le score MMSE comme covariables. Ensuite, nous avons testé l'association avec les résultats des tests neuropsychologiques en incluant l'âge, le sexe et le score MMSE comme covariables. Enfin, nous avons testé l'association avec le génotype APOE ϵ 4, avec l'âge, le sexe et le MMSE comme covariables. Une correction pour les comparaisons multiples de type FWE (family-wise error correction) était appliquée, et les clusters significatifs ont été retenus pour des valeurs de p corrigées inférieures à 0,05.

II.3. Résultats

Données démographiques, cliniques et IRM

Soixante-huit patients EOAD avec estimation de la charge cérébrale en fer et évaluation neuropsychologique concomitante ont été inclus (**Diagramme de flux, Figure II.2**).

Figure II.2 : Diagramme de flux



Les caractéristiques de la population étudiée sont présentées dans le **Tableau II.1**.

Tableau II.1: Caractéristiques démographiques, cliniques et d'imagerie de la population d'étude, au moment de l'IRM (n=68)

Caractéristiques	
Age au moment de l'IRM (années)	61,4 (+/- 4,1)
Age au début des symptômes (années)	54,3 (+/-4,6)
Genre (femmes/homme)	43/25 (63,2 / 36,8%)
Niveau d'éducation (années d'étude)	9,8 (+/- 3,6)
APOE ϵ 4 (0/1/2 allèles)	28/29/9 (41,2 / 42,6 / 13,2%)
Evaluation neuropsychologique	
Score MMSE (/30)	15,3 (+/- 6,5)
Score CDR (/3)	1,4 (+/-0,7)
Mémoire épisodique* (Score VAT /12)	2,7 (+/-3,4)
Fonction visuo-spatiale* (Score Beery VMI/30)	17,7 (+/- 3,9)
Language* (Score DO80/80)	68,4 (+/- 12,7)
Fonction exécutive* (Score de fluence littéraire)	8,7 (+/- 6,8)
IRM	
Volume hippocampique (rapporté au volume intracrânien total)	0,004 (+/- 0,001)
Volume cortical total (rapporté au volume intracrânien total)	0,330 (+/- 0,026)
HV:CTV ratio	0,013 (+/- 0,002)

Tableau II.1 (suite): Caractéristiques démographiques, cliniques et d'imagerie de la population d'étude, au moment de l'IRM (n=68)

Analyse QSM (valeurs moyennes en ppb)	Gauche	Droite
Noyau caudé	55,6 (+/- 23,5)	52,6 (+/- 19,7)
Putamen	60,2 (+/- 27,9)	60,3 (+/- 25,7)
Pallidum	109,0 (+/- 41,8)	107,7 (+/- 39,3)
Thalamus	8,6 (+/- 8,3)	9,5 (+/- 8,5)
Hippocampe	3,5 (+/- 10,8)	4,6 (+/- 12,3)
Amygdale	1,0 (+/- 12,1)	-1,1 (+/- 10,8)
Noyau Accumbens	19,4 (+/- 16,0)	16,4 (+/- 15,5)

Les variables quantitatives sont présentées sous la forme moyenne (+/- déviation standard).

*Données manquantes pour n=11 patients avec un MMSE inférieur à 10

ppb = parties par billion

Association entre le pattern d'atrophie cérébrale et la distribution du fer dans les noyaux gris centraux et les structures limbiques

Les analyses par région d'intérêt ont démontré que le pattern d'atrophie cérébrale était significativement associé aux valeurs de QSM, indépendamment de l'âge, du sexe et du score MMSE (**Tableau II.2**). Un rapport HV:CTV plus faible, indiquant une atrophie à prédominance limbique, était associé à des valeurs de QSM plus élevées (coefficient β négatif) dans les structures limbiques (à savoir l'hippocampe gauche et droit, l'amygdale gauche). Inversement, un rapport HV:CTV plus élevé, indiquant un pattern épargnant l'hippocampe, était associé à des valeurs QSM plus élevées dans le noyau caudé gauche et le putamen droit (coefficient β positif).

Tableau II.2: Association entre les valeurs de QSM dans les noyaux gris centraux / structures limbiques et le pattern d'atrophie cérébral mesuré par le ratio HV:CTV (n=68)

Région d'intérêt	Coefficient β	IC 95%	Valeur de p ajustée
Noyau caudé			
Gauche	0,024	0,004 ; 0,044	0,0496
Droit	0,019	-0,004 ; 0,042	0,140
Putamen			
Gauche	0,022	0,000 ; 0,044	0,084
Droit	0,027	0,006 ; 0,048	0,039
Pallidum			
Gauche	0,008	-0,004 ; 0,021	0,195
Droit	0,009	-0,004 ; 0,021	0,195
Thalamus			
Gauche	0,048	-0,022 ; 0,118	0,195
Droit	0,056	0,005 ; 0,107	0,075
Hippocampe			
Gauche	-0,044	-0,077 ; -0,010	0,039
Droit	-0,043	-0,074 ; -0,013	0,039
Amygdale			
Gauche	-0,049	-0,081 ; -0,017	0,039
Droit	-0,047	-0,103 ; 0,008	0,140
Noyau Accumbens			
Gauche	-0,002	-0,024 ; 0,020	0,851
Droit	-0,028	-0,056 ; 0,000	0,084

Modèles statistiques incluant les valeurs de QSM comme variables dépendantes, les valeurs de ratio HV:CTV comme variables indépendantes ; l'âge, le sexe, le score MMSE comme covariables. Valeurs de P ajustées pour les comparaisons multiples en utilisant une correction de type FDR. Les valeurs de P inférieures à 0,05 sont en gras.

Des analyses à l'échelle du voxel ont été effectuées pour explorer plus précisément la distribution du fer dans les noyaux gris centraux et les structures limbiques (**Figure II.3**). Les résultats ont confirmé les associations précédemment décrites et ont montré une hétérogénéité spatiale au sein des régions d'intérêt. Un rapport HV:CTV plus élevé (pattern épargnant l'hippocampe) était associé de manière significative à des valeurs de QSM plus élevées dans des clusters distribués dans le striatum et le thalamus. Il est intéressant de noter que, sur la base d'atlas de connectivité, nous avons constaté que les clusters significatifs étaient situés dans des subdivisions des noyaux gris reliées au cortex préfrontal (parties antérieures du caudé et du putamen) et au cortex pariétal postérieur (partie supérieure du pulvinar).

Association entre la charge en fer et les performances cognitives

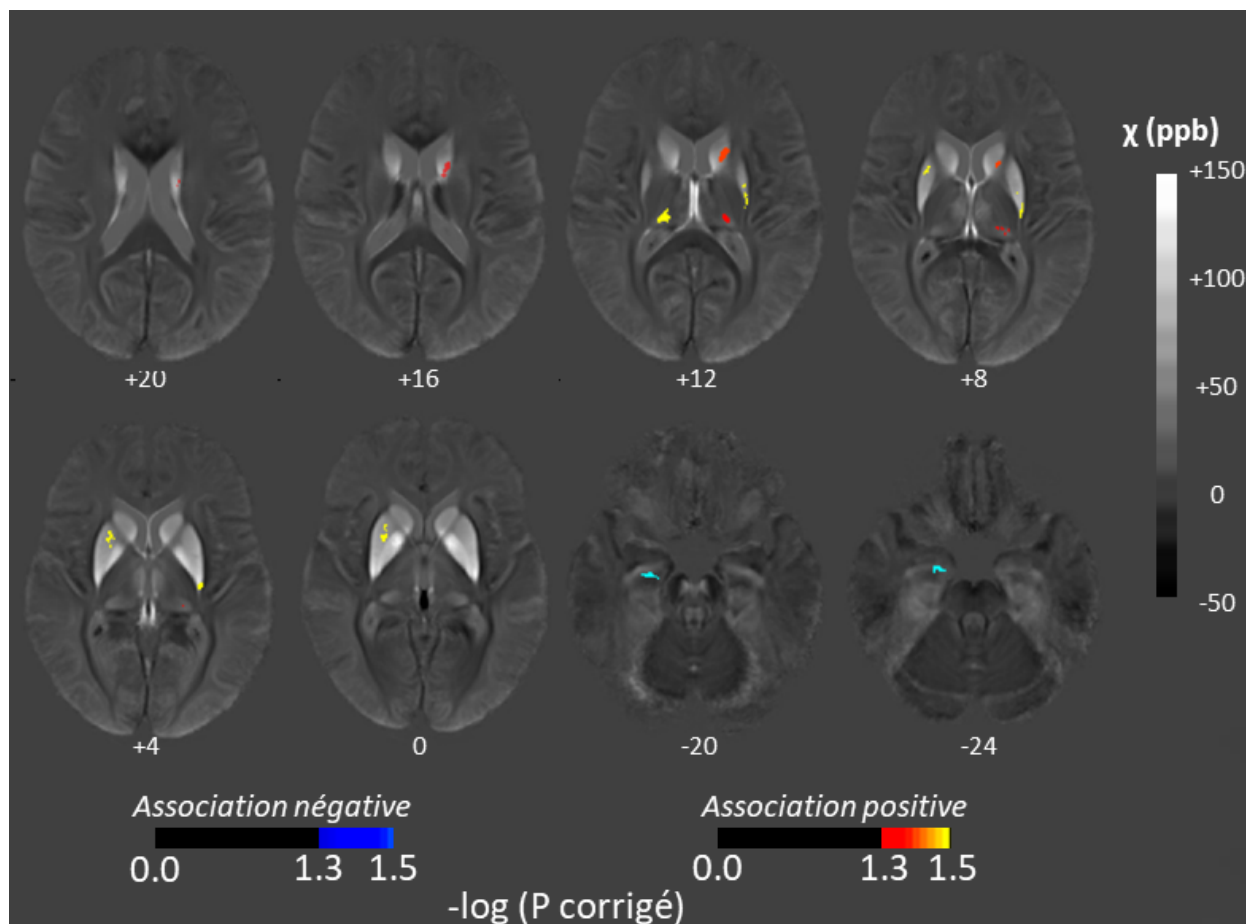
Les valeurs de QSM dans les noyaux gris centraux étaient associées de manière significative avec les performances cognitives (**Tableau II.3**). En particulier, les patients ayant des valeurs de QSM plus élevées dans le thalamus et le pallidum ont obtenu des résultats significativement plus faibles lors de tests visuo-spatiaux. Les patients ayant des valeurs de QSM plus élevées dans le thalamus gauche ont obtenu des résultats significativement plus faibles pour le langage. Après correction des comparaisons multiples, nous n'avons pas trouvé d'association significative avec les performances en fonction exécutive ou mémoire épisodique. Après avoir ajouté le rapport HV:CTV aux modèles précédents (**Tableau II.4**), les performances visuo-spatiales sont restées significativement associées aux valeurs de QSM dans le pallidum et le thalamus droit, tandis que les performances linguistiques sont restées associées aux valeurs de QSM dans le thalamus gauche uniquement.

Les analyses à l'échelle du voxel ont en outre montré la localisation des clusters qui présentaient une corrélation significative avec le langage et la performance visuo-spatiale (**Figure II.4**). Les clusters associés à la performance visuo-spatiale étaient situés dans le thalamus et le putamen droit et étaient reliés au cortex pariétal postérieur. Les clusters associés au langage étaient principalement situés dans le thalamus et le putamen gauches et étaient connectés respectivement aux cortex pariétal postérieur et préfrontal.

Association entre le génotype APOE4 et la charge en fer dans les noyaux gris centraux et les structures limbiques

Enfin, nous n'avons pas trouvé d'association significative entre le génotype APOE ϵ 4 et les valeurs de QSM dans les noyaux gris centraux ou les structures limbiques (**Tableau II.5**).

Figure II.3 : Association à l'échelle du voxel entre le pattern d'atrophie cérébrale évalué par le rapport HV:CTV et les valeurs de QSM dans les noyaux gris centraux et les structures limbiques



Clusters	Taille (voxels)	Coordonnées MNI (mm)			Localisation anatomique	Connectivité corticale (probabilité maximale)
		X	Y	Z		
Association négative						
1	145	22.0	-9.6	-22.0	Hippocampe droit	NA
Association positive						
1	253	-15.9	4.6	14.2	Noyau caudé gauche	Cortex préfrontal
2	179	23.4	7.0	3.1	Putamen droit (antérieur)	Cortex préfrontal
3	140	16.9	-24.5	11.8	Thalamus droit	Cortex pariétal postérieur
4	111	-17.9	-26.9	10.6	Thalamus gauche	Cortex pariétal postérieur
5	110	-29.1	-17.3	8.3	Putamen gauche	Cortex pariétal postérieur
6	86	28.2	-14.2	9.1	Putamen droit (postérieur)	Cortex pariétal postérieur

Clusters significativement associés au rapport HV:CTV, avec âge, sexe et score MMSE comme covariables, superposés sur un template moyen des cartes de QSM de la population d'étude, dans l'espace MNI. Correction pour les comparaisons multiples de type FWE. Clusters considérés comme significatifs pour des valeurs de p corrigées inférieures à 0,05. À des fins de visualisation, les résultats sont présentés sous la forme $-\log(P \text{ corrigé})$. Les associations positives sont affichées en rouge-jaune, les associations négatives sont affichées en bleu. Le pattern de connectivité est défini en fonction des atlas de connectivité du thalamus [Behrens, 2003] et du striatum [Tziortzi, 2013].

Tableau II.3: Association entre les valeurs de QSM dans les noyaux gris centraux / structures limbiques et les performances cognitives (n=57)

	Mémoire épisodique Score VAT β (IC95%); P ajusté	Fonction visuo-spatiale VMI Beery β (IC95%); P ajusté	Langage DO80 β (IC95%); P ajusté	Fonction exécutive Fluence β (IC95%); P ajusté
Noyau caudé				
Gauche	0,03 (0,00;0,06) ; 0,364	-0,01 (-0,03;0,02) ; 0,686	-0,01 (-0,10;0,07) ; 0,841	-0,02 (-0,08;0,04) ; 0,849
Droit	0,02 (-0,02;0,06) ; 0,791	-0,01 (-0,05;0,02) ; 0,566	-0,03 (-0,12;0,06) ; 0,745	-0,04 (-0,10;0,02) ; 0,511
Putamen				
Gauche	0,02 (-0,01;0,05) ; 0,593	-0,02 (-0,03;0,00) ; 0,222	0,13 (-0,23;-0,02) ; 0,119	-0,02 (-0,06;0,02) ; 0,656
Droit	0,02 (-0,01;0,05) ; 0,593	-0,02 (-0,04;0,00) ; 0,193	-0,09 (-0,21;0,03) ; 0,344	-0,03 (-0,08;0,02) ; 0,511
Pallidum				
Gauche	0,00 (-0,03;0,03) ; 0,992	-0,02 (-0,03;-0,01) ; 0,011	-0,06 (-0,12;0,02) ; 0,154	0,00 (-0,03;0,03) ; 0,992
Droit	0,01 (-0,03;0,03) ; 0,992	-0,02 (-0,03 ;-0,01) ; 0,009	-0,06 (-0,12 ; -0,01) ; 0,154	0,00 (-0,03;0,03) ; 0,992
Thalamus				
Gauche	0,02 (-0,06;0,09) ; 0,939	-0,09 (-0,15 ; -0,04) ; 0,007	-0,44 (-0,70;-0,17) ; 0,014	-0,18 (-0,32 ; -0,04) ; 0,196
Droit	0,01 (-0,05;0,08) ; 0,939	-0,08 (-0,14 ; -0,03) ; 0,007	-0,17 (-0,41;0,07) ; 0,374	-0,14 (-0,29;0,02) ; 0,368
Hippocampe				
Gauche	-0,02 (-0,14;0,10) ; 0,939	-0,01 (-0,07;0,05) ; 0,854	0,00 (-0,25;0,24) ; 0,971	-0,02 (-0,14;0,10) ; 0,965
Droit	-0,05 (-0,15;0,05) ; 0,791	-0,02 (-0,06;0,01) ; 0,269	-0,17 (-0,44;0,10) ; 0,374	-0,05 (-0,15;0,05) ; 0,656
Amygdale				
Gauche	0,00 (-0,04;0,04) ; 0,992	0,01 (-0,03;0,06) ; 0,686	-0,15 (-0,38;0,08) ; 0,374	-0,08 (-0,16;-0,01) ; 0,196
Droit	-0,03 (-0,08;0,02) ; 0,791	0,00 (-0,06;0,06) ; 0,937	-0,18 (-0,49;0,13) ; 0,411	-0,08 (-0,17;0,02) ; 0,368
Noyau Accumbens				
Gauche	-0,01 (-0,05;0,03) ; 0,939	0,04 (-0,01;0,08) ; 0,222	-0,04 (-0,18;0,11) ; 0,788	0,01 (-0,05;0,07) ; 0,965
Droit	-0,01 (-0,05;0,03) ; 0,939	0,03 (-0,01;0,07) ; 0,222	-0,03 (-0,20;0,13) ; 0,798	0,00 (-0,06;0,06) ; 0,992

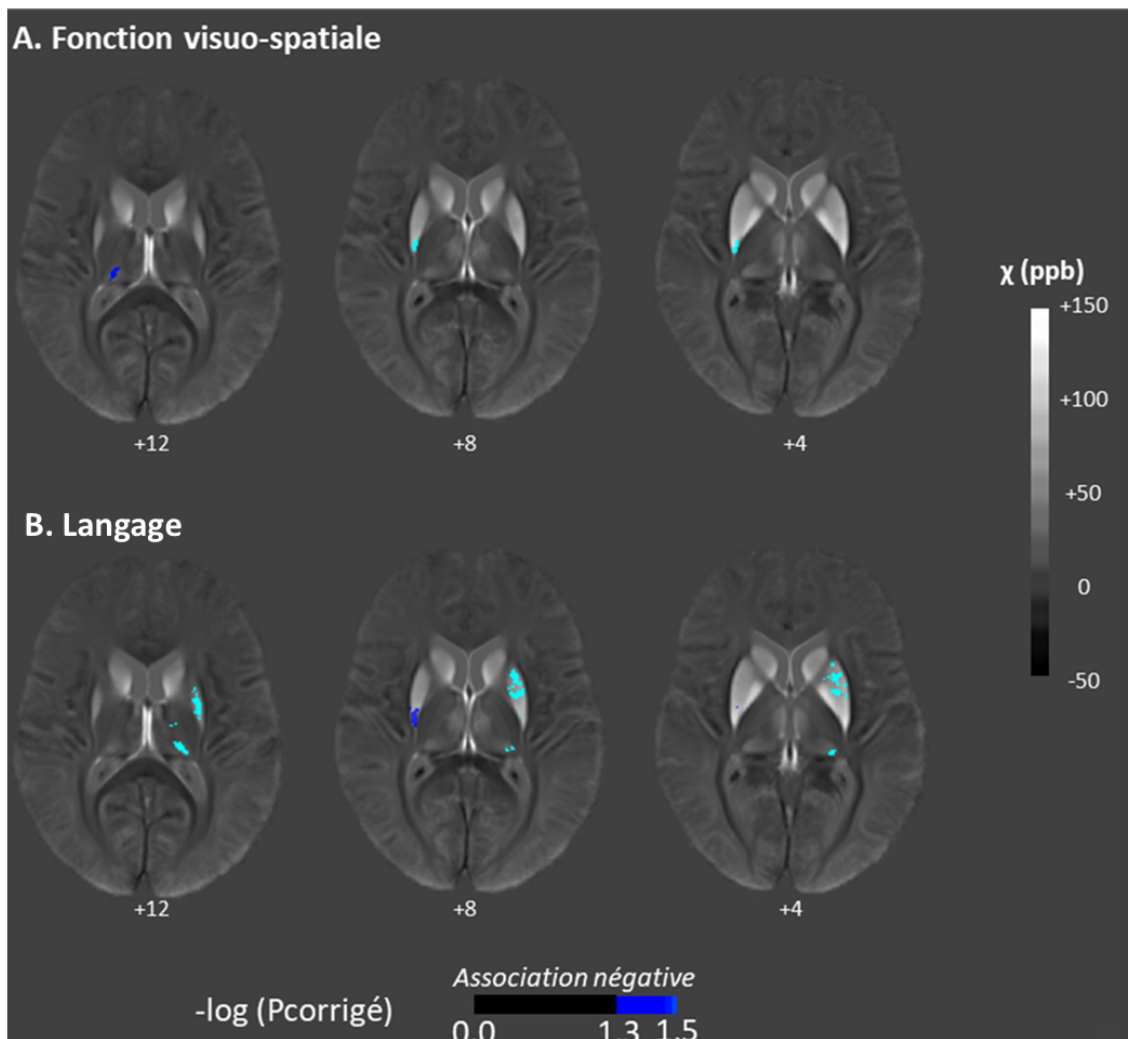
Modèles statistiques incluant les résultats des tests neuropsychologiques comme variables dépendantes, les valeurs de QSM comme variables indépendantes ; l'âge, le sexe, le score MMSE comme covariables. Valeurs de p ajustées pour les comparaisons multiples en utilisant une correction de type FDR. Les valeurs de P inférieures à 0,05 sont en gras.

Tableau II.4: Association entre les valeurs de QSM dans les noyaux gris centraux / structures limbiques et les performances cognitives, indépendamment du pattern d'atrophie cérébrale (n=57)

	Mémoire épisodique Score VAT β (IC95%); P ajusté	Fonction visuo-spatiale VMI Beery score β (IC95%); P ajusté	Langage DO80 β (IC95%); P ajusté	Fonction exécutive Fluence β (IC95%); P ajusté
Noyau caudé				
Gauche	0,02 (0,00;0,04) ; 0,518	0,002 (-0,02;0,03) ; 0,886	0,01 (-0,07;0,10) ; 0,776	-0,02 (-0,07;0,04) ; 0,909
Droit	0,01 (-0,02;0,04) ; 0,827	-0,01 (-0,04;0,02) ; 0,645	0,04 (-0,07;0,15) ; 0,567	-0,04 (-0,10;0,02) ; 0,540
Putamen				
Gauche	0,01 (-0,01;0,04) ; 0,827	-0,01 (-0,03;0,01) ; 0,625	-0,11 (-0,20;-0,01) ; 0,140	-0,02 (-0,06;0,03) ; 0,800
Droit	0,01 (-0,21;0,04) ; 0,827	-0,01 (-0,04;0,02) ; 0,625	-0,06 (-0,17;0,05) ; 0,462	-0,03 (-0,08;0,02) ; 0,540
Pallidum				
Gauche	0,01 (-0,01;0,02) ; 0,827	-0,01 (-0,03;-0,004) ; 0,035	-0,05 (-0,11;0,002) ; 0,140	0,001 (-0,03;0,03) ; 0,949
Droit	0,01 (-0,02;0,02) ; 0,827	-0,02 (-0,03 ;-0,004) ; 0,035	-0,06 (-0,11 ; 0,0003) ; 0,140	0,002 (-0,03;0,04) ; 0,949
Thalamus				
Gauche	0,01 (-0,06;0,08) ; 0,827	-0,07 (-0,13 ;-0,01) ; 0,072	-0,40 (-0,65;-0,14) ; 0,034	-0,18 (-0,32 ;-0,03) ; 0,196
Droit	-0,01 (-0,08;0,06) ; 0,827	-0,08 (-0,12 ;-0,03) ; 0,017	-0,13 (-0,39;0,13) ; 0,518	-0,13 (-0,29;0,03) ; 0,354
Hippocampe				
Gauche	0,02 (-0,03;0,07) ; 0,827	-0,03 (-0,08;0,02) ; 0,394	-0,06 (-0,32;0,21) ; 0,718	-0,03 (-0,15;0,09) ; 0,909
Droit	0,01 (-0,04;0,06) ; 0,827	-0,06 (-0,10;-0,02) ; 0,017	-0,25 (-0,49;-0,14) ; 0,140	-0,06 (-0,17;0,05) ; 0,540
Amygdale				
Gauche	0,03 (-0,01;0,06) ; 0,827	-0,02 (-0,06;0,03) ; 0,625	-0,22 (-0,46;0,02) ; 0,140	-0,10 (-0,19;-0,02) ; 0,196
Droit	-0,01 (-0,05;0,03) ; 0,827	-0,03 (-0,08;0,02) ; 0,394	-0,23 (-0,47;0,19) ; 0,140	-0,09 (-0,19;0,01) ; 0,354
Noyau Accumbens				
Gauche	0,001 (-0,04;0,04) ; 0,965	0,03 (-0,02;0,07) ; 0,397	-0,05 (-0,19;0,09) ; 0,566	0,01 (-0,06;0,08) ; 0,942
Droit	0,02 (-0,01;0,06) ; 0,827	0,01 (-0,03;0,05) ; 0,662	-0,08 (-0,25;0,09) ; 0,518	-0,01 (-0,08;0,06) ; 0,942

Modèles statistiques incluant les résultats des tests neuropsychologiques comme variables dépendantes, les valeurs de QSM comme variables indépendantes ; le ratio HV:CTV, l'âge, le sexe, le score MMSE comme covariables. Valeurs de P ajustées pour les comparaisons multiples en utilisant une correction de type FDR. Les valeurs de P inférieures à 0,05 sont en gras.

Figure II.4 : Association à l'échelle du voxel entre les valeurs de QSM dans les noyaux gris centraux et les performances cognitives



Clusters	Taille (voxels)	Coordonnées MNI (mm)			Localisation anatomique	Connectivité corticale (probabilité maximale)
		X	Y	Z		
Fonction visuo-spatiale						
1	96	28.3	-15.3	7.0	Putamen droit (postérieur)	Cortex pariétal postérieur
2	74	-17.6	-25.9	12.5	Thalamus droit (pulvinar dorsal)	Cortex pariétal postérieur
Langage						
1	347	-25.5	0.9	7.6	Putamen gauche (antérieur)	Cortex préfrontal
2	192	-18.5	-27.2	10.7	Thalamus gauche (pulvinar dorsal)	Cortex pariétal postérieur
3	125	28.9	-13.4	8.8	Putamen droit (postérieur)	Cortex pariétal postérieur

Clusters significativement associés aux résultats des tests cognitifs (VMI Beery pour la fonction visuo-spatiale, DO80 pour le langage), avec âge, sexe et score MMSE comme covariables, superposés sur un template moyen des cartes de QSM de la population d'étude, dans l'espace MNI. Correction pour les comparaisons multiples de type FWE. Clusters considérés comme significatifs pour des valeurs de p corrigées inférieures à 0,05. À des fins de visualisation, les résultats sont présentés sous la forme $-\log(P \text{ corrigé})$. Les associations négatives sont affichées en bleu. Nous n'avons trouvé aucune association positive significative. Le pattern de connectivité est défini en fonction des atlas de connectivité du thalamus [Behrens, 2003] et du striatum [Tziortzi, 2013].

Tableau II.5: Association entre les valeurs de QSM dans les noyaux gris centraux / structures limbiques et le génotype APOE ϵ 4

	APOEϵ4 β (95%CI); P ajusté
Noyau caudé	
Gauche	7,56 (-2,75;17,88) ; 0,933
Droit	6,05 (-1,95;14,05) ; 0,933
Putamen	
Gauche	2,67 (-9,73;15,07) ; 0,968
Droit	4,25 (-7,45;15,95) ; 0,968
Pallidum	
Gauche	4,37 (-14,71;23,44) ; 0,968
Droit	7,15 (-11,30;25,61) ; 0,968
Thalamus	
Gauche	0,39 (-3,13;3,91) ; 0,968
Droit	0,80 (-2,62;4,21) ; 0,968
Hippocampe	
Gauche	0,21 (-3,51;3,93) ; 0,968
Droit	-0,11 (-5,61;5,39) ; 0,968
Amygdale	
Gauche	-1,50 (-6,66;3,66) ; 0,968
Droit	0,42 (-4,01;4,86) ; 0,968
Noyau Accumbens	
Gauche	0,88 (-4,96;6,71) ; 0,968
Droit	-3,51 (-8,88;1,86) ; 0,933

Modèles statistiques incluant le QSM en tant que variables dépendante ; le statut APOE4 en tant que variable indépendante ; l'âge, le sexe, le score MMSE en tant que covariables. Les valeurs P sont ajustées pour les comparaisons multiples en utilisant une correction de type FDR.

II.4. Discussion

Sur une cohorte de 68 patients EOAD explorés par QSM, nous avons constaté que : (a) la distribution du fer dans les noyaux gris centraux et les structures limbiques était liée au pattern d'atrophie cérébrale ; (b) la charge en fer était associée à la performance cognitive, indépendamment de l'atrophie ; (c) la charge en fer n'était pas associée au génotype APOEε4.

Relation entre le pattern d'atrophie cérébrale et la distribution du fer

Dans cette population spécifique de patients EOAD, nous avons confirmé l'hypothèse selon laquelle le pattern d'atrophie cérébrale, marqueur de neurodégénérescence, est significativement associé à la distribution du fer dans les noyaux gris centraux et les structures limbiques. En effet, chez les patients présentant un pattern d'atrophie à prédominance limbique, la charge en fer était plus prononcée dans les structures limbiques (hippocampe, amygdale). À l'inverse, chez les patients présentant un pattern épargnant l'hippocampe, la charge en fer était plus grande dans le striatum et le thalamus. Il est à noter que chez ces derniers, l'accumulation de fer n'impliquait pas tous les noyaux gris mais se limitait aux subdivisions de ces noyaux reliées aux zones corticales pariétales postérieures et préfrontales, également les plus touchées par l'atrophie dans la littérature [Harper, 2016]. Plusieurs hypothèses peuvent être envisagées pour expliquer le lien entre le pattern d'atrophie et la distribution du fer.

Premièrement, la charge en fer mesurée en QSM pourrait refléter directement la distribution des lésions histologiques de la maladie d'Alzheimer [van Bergen, 2016 ; Spotorno, 2020]. Cette hypothèse, souvent avancée, est basée sur des observations histopathologiques faisant état d'une forte concentration en fer dans les plaques amyloïdes [Meadowcroft, 2009] et les lésions de dégénérescence neurofibrillaire [Smith, 1997]. Dans notre étude, la distribution du fer pourrait donc traduire une charge lésionnelle plus marquée au niveau du striatum et du thalamus dans les sous-types atypiques de la maladie d'Alzheimer conformément aux données histopathologiques [Janocko, 2012] et d'imagerie structurale [Cho, 2013]. Au contraire, dans les formes typiques, ces structures sont touchées plus modérément et plus tardivement par les plaques amyloïdes [Thal, 2002] et les enchevêtrements neurofibrillaires [Braak, 1991a]. Nos données corroborent également les travaux de Murray et al. qui ont rapporté une charge lésionnelle plus élevée dans l'amygdale des sous-types à prédominance limbique [Murray, 2011]. En outre, des travaux antérieurs portant sur le thalamus ont montré que la tauopathie associée à la maladie d'Alzheimer n'était pas répartie de manière homogène, mais avait plutôt une prédilection pour les sous-noyaux impliqués dans le réseau limbique [Braak, 1991b ; Rüb, 2016]. En utilisant le QSM, nous avons peut-être capturé pour la première fois in vivo la nature focale de ces altérations. L'hypothèse d'une correspondance parfaite entre la charge en fer et les lésions histologiques est néanmoins atténuée

par plusieurs études post-mortem faisant état d'une faible corrélation entre la charge en fer et la protéinopathie associée à la maladie d'Alzheimer [Bulk, 2018b ; Ayton, 2020]. Cela suggère que la distribution du fer ne reflète pas uniquement la charge amyloïde, et que la microglie activée, riche en fer, [Zeineh, 2015] ou l'altération de la myéline [O'Callaghan, 2017] pourraient contribuer indépendamment aux modifications du contraste en QSM.

Deuxièmement, l'accumulation de fer dans les noyaux gris centraux pourrait être liée à la déconnexion des zones corticales atrophiques. Une accumulation similaire a été signalée dans les noyaux gris centraux de patients présentant des lésions susceptibles d'induire un diaschisis avec le cortex cérébral, comme les infarctus cérébraux [Kuchcinski, 2017] ou des lésions de sclérose en plaques [Khalil, 2011]. Dans la maladie d'Alzheimer, l'hypothèse d'une progression de la maladie liée à des phénomènes de déconnexion [Bozzali, 2016] est basée sur des études d'imagerie montrant des altérations précoces des trajets de la substance blanche, tels que le cingulum, le faisceau unciné et le fornix, et prédisant l'extension spatiale de l'hypométabolisme cortical [Villain, 2010]. Des études neuropsychologiques explorant les effets de la déconnexion entre les zones cérébrales sur la fonction cognitive soutiennent également cette théorie [Delbeuck, 2003].

Troisièmement, la surcharge en fer pourrait précéder et favoriser le processus neurodégénératif, en lien avec des facteurs de risque génétiques ou environnementaux. Des études *in vitro* et *in vivo* ont en effet montré l'effet catalytique d'une forte concentration en fer sur la protéinopathie [Mantyh, 1993 ; Schubert, 1995 ; Ayton, 2018]. Le fer pourrait également contribuer directement à la neurodégénérescence par la ferroptose, une voie de mort cellulaire régulée, récemment décrite, impliquant la peroxydation lipidique [Masaldan, 2019]. En ce qui concerne les facteurs de risque génétiques de surcharge en fer, nous n'avons trouvé aucune preuve de l'effet de l'allèle APOE ϵ 4 en accord avec d'autres travaux [Bulk, 2018 ; Ayton, 2020]. Ceci est toutefois en contradiction avec des études antérieures qui avaient suggéré un lien entre le statut APOE ϵ 4 et l'homéostasie cérébrale du fer [Ayton, 2015 ; van Bergen, 2016]. Ayton et al. ont ainsi rapporté que les niveaux de ferritine dans le liquide cébrospinal étaient fortement associés aux niveaux d'apolipoprotéine E dans le liquide cébrospinal et augmentés par l'allèle APOE ϵ 4. Ils ont émis l'hypothèse que l'allèle APOE ϵ 4 réduit la clairance du fer de manière indirecte, par le biais d'une diminution du transport des HDL (high density lipoprotéine) pour lesquels l'isoforme ϵ 4 de l'apolipoprotéine E a une faible affinité [Ayton, 2015]. Il a en effet été rapporté que les HDL pourraient diminuer les réserves de ferritine de cellules macrophagiques [Yuan, 2004]. Même si le statut APOE4 n'expliquait pas les variations de la charge en fer observées dans notre cohorte, nous ne pouvons exclure que d'autres polymorphismes génétiques soient spécifiquement impliqués chez les patients EOAD. Pour finir, les facteurs environnementaux n'ont pas été étudiés ici, mais une étude récente rapporte la présence de microparticules riches en fer générées par combustion et friction dans le cerveau de patients et

souris exposés à un air pollué, et établissent un lien direct avec les lésions histopathologiques de la maladie d'Alzheimer [Calderón-Garcidueñas, 2020].

Charge en fer et performances cognitives

Nos données confirment également les nombreuses preuves d'un effet négatif de la charge en fer sur le phénotype clinique, indépendamment de l'atrophie cérébrale. Une étude d'imagerie sur le vieillissement cérébral normal avait déjà signalé une corrélation entre la charge en fer du pallidum et la diminution des performances cognitives [Ghadery, 2015]. De même, chez les patients atteints de maladie d'Alzheimer, la charge en fer mesurée *in vivo* par IRM [Zhu, 2009] ou dans des échantillons de tissus post-mortem [Ayton, 2020] a été associée à des performances cognitives moindres et à un déclin cognitif plus rapide. La relation entre la charge en fer dans les noyaux gris centraux et les fonctions cognitives, qui sont plutôt associées à l'intégrité de réseaux corticaux, peut sembler étonnante à première vue. Dans cette étude, nous avons constaté qu'une performance inférieure dans les fonctions visuo-spatiales et langagières était associée à une charge en fer plus élevée dans les parties des noyaux gris centraux connectées aux zones corticales associatives spécifiquement impliquées dans ces fonctions (cortex pariétal postérieur droit pour la fonction visuo-spatiale, cortex préfrontal et pariétal gauche pour le langage). L'asymétrie gauche/droite de nos résultats reflétait par ailleurs la latéralisation hémisphérique du langage et des fonctions visuo-spatiales. La surcharge en fer dans les noyaux gris profonds pourrait donc refléter indirectement ou jouer un rôle causal dans la dysfonction de boucles cortico-thalamiques et cortico-striatales impliquées dans les fonctions cognitives [Barbas, 2013 ; Chersi, 2015]. Les études de stimulation cérébrale rapportant une anomie induite par la stimulation du pulvinar supérieur gauche et de la substance blanche pariétale sous-corticale gauche [Ojemann, 1968 ; Hebb, 2013] semblent appuyer cette thèse.

Limites de notre travail

Notre étude présente certaines limites. Premièrement, la taille de l'échantillon pourrait être considérée comme relativement petite mais s'explique par la faible prévalence de l'EOAD. Nous reconnaissons que l'absence de sujets témoins n'a pas permis de rechercher un pattern commun d'accumulation de fer à travers différents sous-types de maladie d'Alzheimer. Nous reconnaissons également n'avoir pas effectué de corrélation directe entre l'atrophie corticale dans une région donnée et l'accumulation de fer dans la partie des noyaux gris qui lui est connectée. Nous avons plutôt utilisé une association indirecte par le biais du rapport HV:CTV dont les valeurs inférieures ont été interprétées comme une atrophie corticale "épargnant l'hippocampe" et donc "globale". Néanmoins, les résultats ont été interprétés sur la base des atlas de connectivité [Behrens, 2003 ;

Tziortzi, 2013] et étaient en accord avec le pattern d'atrophie corticale précédemment rapporté chez les patients EOAD [Harper, 2016]. Enfin, afin de maintenir des temps d'acquisition raisonnables adaptés aux patients déments, la résolution spatiale de notre protocole était limitée ($1 \times 1 \times 2$ mm) et ne permettait pas une évaluation précise et reproductible de la charge corticale en fer.

II.5. Conclusion

En conclusion, notre étude est la première démontrant les variations de la distribution du fer dans les noyaux gris centraux en relation avec le pattern d'atrophie cérébrale et l'altération des performances cognitives, chez les patients EOAD. Nos résultats suggèrent que le pattern d'atrophie devrait être pris en compte lors de la stratification des patients dans les essais thérapeutiques ciblant, notamment, le métabolisme du fer. Des études prospectives et longitudinales de plus grande envergure sont nécessaires pour valider nos hypothèses.

III. ETUDE PRECLINIQUE

Modifications longitudinales de susceptibilité magnétique cérébrale
au sein d'un modèle murin de la maladie d'Alzheimer

III.1. Introduction

Nous avons vu dans l'étude clinique que des modifications de susceptibilité magnétique cérébrale témoignant d'une surcharge ferrique étaient observées chez les patients présentant une maladie d'Alzheimer. Nous avons démontré dans une population de patients EOAD que ces modifications étaient en partie liées au pattern d'atrophie corticale, biomarqueur IRM tardif du processus neurodégénératif. Ces modifications sont souvent imputées à une accumulation de fer au sein des plaques amyloïdes [Meadowcroft, 2009] et conduisent certains auteurs à conclure qu'il s'agit d'un marqueur indirect de la charge amyloïde [van Rooden, 2014]. Néanmoins, les preuves histopathologiques du lien entre charge amyloïde, accumulation de fer et susceptibilité magnétique sont rares et contradictoires [Ayton, 2020]. L'utilisation de la susceptibilité magnétique en routine clinique comme marqueur de la maladie ou pour monitorer l'effet de nouveaux traitements nécessiterait une compréhension plus fine des mécanismes physiopathologiques sous-jacents.

En effet, d'autres modifications histologiques associées à la maladie d'Alzheimer pourraient concourir à ce phénomène. Les enchevêtrements neurofibrillaires sont également riches en fer [Smith 1997], tout comme les cellules microgliales activées [Zeineh, 2015]. Indépendamment de la charge en fer, une altération des fibres de myéline aux propriétés diamagnétiques, se traduirait également par une élévation de la susceptibilité magnétique [O'Callaghan, 2017]. Chez les patients, ces mécanismes sont intriqués et il est difficile d'isoler les contributions respectives de chacun aux modifications de signal observées. Les modèles animaux permettent au contraire de déconstruire le processus neurodégénératif [Radde, 2008]. Des modèles murins transgéniques, reproduisant les mutations génétiques de la protéine APP et de la préséniline 1, impliquées chez l'homme dans les formes autosomiques de maladie d'Alzheimer, permettent ainsi de mesurer l'impact propre de la charge amyloïde [Hall, 2012]. Le modèle double transgénique APP/PS1 est l'un des mieux caractérisés. Ce modèle associe l'expression d'une protéine APP chimérique homme/souris présentant la mutation suédoise K595N/M596L sur le site de clivage de la β -sécrétase à une mutation deltaE9 du gène de la préséniline 1 [Jankowski, 2004]. Ces 2 mutations sont synergiques et favorisent la voie amyloïde. Les souris transgéniques développent des dépôts β amyloïdes corticaux et hippocampiques auxquels s'associe une infiltration microgliale [Malm, 2007]. Des troubles comportementaux sont décrits à partir de l'âge de 6 mois et s'aggravent avec l'âge [Minkeviciene, 2008]. Nous faisons l'hypothèse que l'étude de ce modèle en QSM permettrait d'évaluer le lien entre la charge amyloïde et les modifications de susceptibilité magnétique, indépendamment d'autres phénomènes.

L'objectif de ce travail était d'évaluer les modifications de susceptibilité magnétique cérébrale liées aux dépôts amyloïdes, ainsi que leur corrélation aux troubles cognitifs, sur un modèle murin d'amyloïdogenèse associée à la maladie d'Alzheimer.

III.2. Matériel et méthodes

Considérations éthiques

Le protocole a reçu l'avis favorable du comité d'éthique en expérimentation animale n°075 et a reçu l'autorisation ministérielle.

Animaux

Le modèle murin choisi pour évaluer l'impact de la charge amyloïde était le modèle transgénique APP^{swe}/PSEN1^{deltaE9} (APP/PS1), modèle double transgénique exprimant les gènes mutés d'une protéine APP chimérique homme/souris et de la préséniline 1, sur fond génétique C57BL/6 [Jankowsky, 2004]. Il s'agit d'un modèle largement utilisé et validé dans la littérature caractérisé par la production préférentielle de peptide humain A β 42 par rapport au peptide A β 40, l'accumulation de plaques amyloïdes, l'absence de dégénérescence neurofibrillaire ou de perte neuronale globale. Il existe un dimorphisme sexuel important, la charge amyloïde étant 5 fois plus élevée chez les souris femelles.

Schéma expérimental

Une cohorte de 40 souris (7 mâles + 8 femelles transgéniques APP/PS1 et 12 mâles + 13 femelles wild-type littermate [WT]) a été suivie pendant 12 mois. Les souris ont bénéficié d'une évaluation comportementale et IRM à 3 points temporels : 3 mois de vie (avant l'apparition de dépôts amyloïdes dans l'hippocampe), 6 mois de vie (au début de l'accumulation de dépôts amyloïdes) et 9 mois de vie (au stade d'état de la maladie). Les souris étaient sacrifiées à 12 mois de vie. Des acquisitions IRM *ex vivo* étaient réalisées au décours.

Evaluation comportementale

L'évaluation comportementale a été réalisée par le même opérateur au sein de la plateforme d'évaluation comportementale de l'Université de Lille (responsable : Charlotte Laloux) et comprenait les tests suivants (**Figure III.1**).

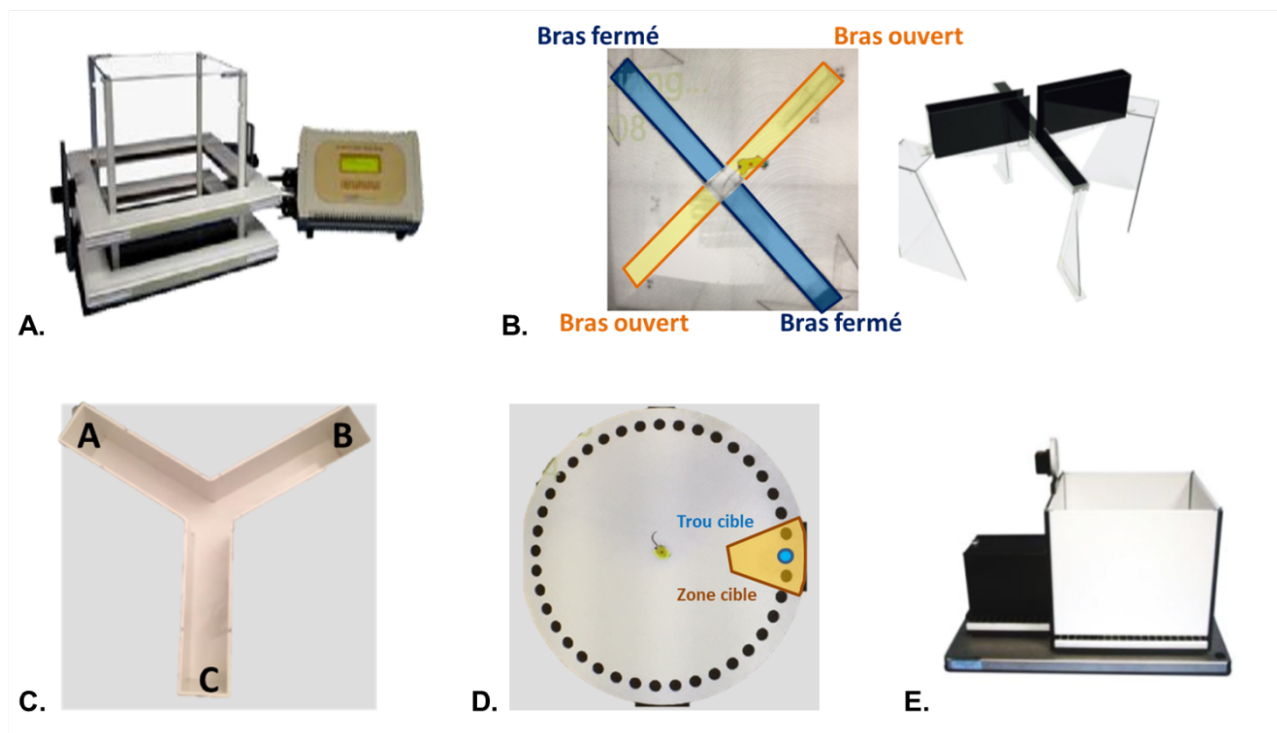
L'activité locomotrice spontanée était mesurée par un test d'actimétrie au sein d'une arène en champ ouvert par détection infrarouge (Modèle LE8816, Cadre infra-rouge, 250 x 250 mm, 16 x 16 faisceaux infra-rouge, BIOSEB, Vitrolles, France) (**Figure III.1.A**). La distance parcourue pendant une durée de 10 minutes était mesurée automatiquement à l'aide d'un logiciel de tracking (Logiciel Actitrack, Panlab Harvard Apparatus, Barcelona, Spain). Les tests comportementaux impliquant outre les fonctions cognitives l'activité locomotrice, ce test permet de vérifier l'absence de déficit locomoteur pouvant induire un biais.

L'anxiété était évaluée par le test du labyrinthe en croix surélevé [Pellow, 1985] (**Figure III.1.B**). L'animal était placé au milieu d'un dispositif à quatre bras surélevés dont deux sont ouverts et deux sont fermés. L'animal se déplace librement sur la structure pendant 5 minutes, ses déplacements étant suivis et analysés automatiquement par un logiciel de tracking (Ethovision XT12, Noldus, Wageningen, the Netherlands). Le nombre d'entrées dans les bras ouverts rapporté au nombre d'entrées dans les bras fermés était enregistré. Le test repose sur la préférence naturelle de l'animal pour les endroits sombres et fermés par rapport aux endroits éclairés et ouverts. Un comportement anxieux se traduirait par une diminution du nombre d'entrées dans les bras ouverts.

La mémoire de travail à court terme était évaluée par le test d'alternance spontanée dans le labyrinthe en Y [Kraeuter, 2018] (**Figure III.1.C**). L'animal était placé pendant 8 minutes dans un labyrinthe composé de 3 branches distinctes (A, B et C). Ce test est basé sur la tendance naturelle de l'animal à explorer de nouveaux bras. Une alternance était définie comme la visite consécutive de chacun des trois bras, sans retour dans un bras déjà visité (enchaînement ABC, ACB, BAC, BCA, CAB ou CBA). Le taux d'alternance était calculé selon la formule suivante : nombre d'alternances / (nombre total d'entrée dans un bras - 2). Le taux d'alternance spontanée normal est de 60% environ.

La mémoire de référence spatiale était évaluée par le labyrinthe de Barnes [Pitts, 2018] (**Figure III.1.D**). Ce test utilise une plateforme circulaire blanche percée de 40 trous le long de sa circonférence et placée dans un environnement lumineux aversif. L'un des trous possède une boîte d'échappement où peut se réfugier l'animal. Pour trouver ce trou, l'animal, placé au centre de la plateforme, utilise des repères spatiaux situés dans la pièce. Le test requiert un apprentissage pendant 4 jours précédant la session d'évaluation. Les paramètres mesurés sont le temps écoulé avant de trouver le trou cible (latence primaire) et le temps passé dans la zone cible lors de la session d'évaluation (temps limite : 90 secondes) déterminés par un logiciel de tracking (Ethovision XT12, Noldus, Wageningen, the Netherlands). Pour des raisons pratiques, ce test a été effectué chez les 14 souris transgéniques et 14 souris WT littermate appariées.

La mémoire à long terme conditionnée par la peur était évaluée par un test d'évitement passif (**Figure III.1.E**). Ce test utilise un système à 2 compartiments, un compartiment sombre et un compartiment lumineux, séparés par une porte à ouverture automatique. Au cours de la phase d'acquisition, l'animal était placé dans le compartiment éclairé. Après un délai de 10 secondes, la porte le séparant du compartiment sombre s'ouvrait. Une fois entré spontanément dans le compartiment sombre, l'animal recevait un léger choc électrique au niveau des pattes (latence = 2 sec, durée = 2 sec, intensité = 0,2 mA). L'entrée dans le compartiment sombre était alors associée au choc ressenti (mémoire émotionnelle). Lors de la phase de rétention 24h plus tard, l'animal était de nouveau placé dans le compartiment éclairé. La latence avant entrée dans le compartiment sombre était enregistrée (durée limite : 5 minutes).

Figure III.1 : Représentation du protocole d'évaluation comportementale

(A) Arène d'actimétrie ; (B) Labyrinthe en croix surélevé ; (C) Labyrinthe en Y ; (D) Labyrinthe de Barnes ; (E) Test d'évitement passif

Protocole IRM

Les acquisitions ont été réalisées au sein de la plateforme pré-clinique d'imagerie du vivant de l'université de Lille sur une micro-IRM 7 Tesla (BioSpec, Bruker, Billerica, Massachusetts, USA) avec une antenne surfacique mono-élément.

Les acquisitions IRM *in vivo* étaient réalisées sous anesthésie générale (inhalation d'isoflurane, contrôle scopique des paramètres vitaux). La séquence utilisée est une séquence 3D T2 mGRE présentant les caractéristiques suivantes : plan d'acquisition coronal ; voxel isotropique de 125 microns ; champ de vue de 20×15×12 mm ; TE = 4, 10, 16 et 22 ms ; TR = 50 ms ; angle de bascule = 15° ; temps d'acquisition = 1.5 heures.

Au décours du suivi, les souris étaient sacrifiées et perfusées à l'aide d'une solution de sérum physiologique hépariné puis de paraformaldéhyde à 4%. Les boîtes crâniennes étaient prélevées, post-fixées par immersion dans une solution de paraformaldéhyde à 4% pendant 24 heures, puis immergées dans tampon phosphate salin pendant 3 semaines. En vue des acquisitions IRM *ex vivo*, les boîtes crâniennes étaient ensuite positionnées dans un tube Falcon 15mL rempli de fluorocarbure liquide (Fomblin, Sigma-Aldrich, Merck KGaA, Darmstadt, Germany), milieu utilisé en raison de sa nature amagnétique [O Callaghan, 2017]. La séquence utilisée pour les acquisitions

ex vivo était une séquence 3D mGRE présentant les caractéristiques suivantes : plan d'acquisition coronal ; voxel isotropique de 100 microns ; champ de vue de 20×20×12 mm ; TE = 4, 10, 16, 22, 28 et 34 ms ; TR = 50 ms ; angle de bascule = 15° ; temps d'acquisition = 4 heures.

Analyse des données IRM

Les cartes de QSM étaient générées sous MATLAB (MATLAB 2014a, The MathWorks, Natick, MA, USA) à partir des données 3D mGRE en utilisant l'algorithme de post-traitement MEDI [Liu, 2012]. En bref, des masques binaires du cerveau et des hippocampes étaient créés par segmentation semi-automatique des images de magnitude 3D mGRE à l'aide de l'atlas de Dorr [Dorr, 2008]. Les images de phase ont ensuite été dépliées à l'aide d'un algorithme de croissance de région guidée par la qualité de l'image. La contribution du champ magnétique de fond, provenant de sources extérieures au cerveau, a été éliminée en utilisant la méthode PDF (Projection onto Dipole Field). Les cartes de QSM ont ensuite été calculées à partir des images de phase corrigées à l'aide de l'algorithme MEDI (Morphological-Enabled Dipole Inversion) avec un paramètre de régularisation fixé à 5000 pour les acquisitions *in vivo* et 10000 pour les acquisitions *ex vivo*. Les cartes de QSM étaient ensuite recalées dans un espace commun par recalage non linéaire avec l'outil antsRegistration du logiciel ANTS (<http://stnava.github.io/ANTs/>).

Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SPSS version 26 (IBM corp., Armonk, NY, USA). L'effet du génotype APP/PS1 et du temps sur les résultats des tests comportementaux était évalué à l'aide d'un modèle linéaire généralisé pour mesures répétées. Des comparaisons post-hoc étaient effectuées à l'aide du test U de Mann-Whitney.

Dans un second temps, l'effet du génotype sur la susceptibilité magnétique était testé à l'échelle du voxel, à chaque point temporel, en utilisant le package PALM [Winkler, 2014]. Des statistiques de type TFCE ont été calculées [Smith, 2009]. Cette approche non-paramétrique, basée sur la permutation pour le seuillage statistique, permet une inférence basée sur les clusters sans qu'il soit nécessaire de spécifier un seuil arbitraire de taille de cluster (comme requis lors de l'application de la théorie des champs aléatoires gaussiens).

Enfin, la corrélation entre la susceptibilité moyenne dans la région d'intérêt hippocampique et les performances en mémoire de référence spatiale était mesurée par le coefficient rho de Spearman.

Les résultats étaient considérés significatifs pour une valeur de p inférieure à 0,05.

III.3. Résultats

Au total, 38 souris ont pu bénéficier d'un suivi complet (2 décès au cours du suivi, 1 mâle WT et 1 femelle APP/PS1).

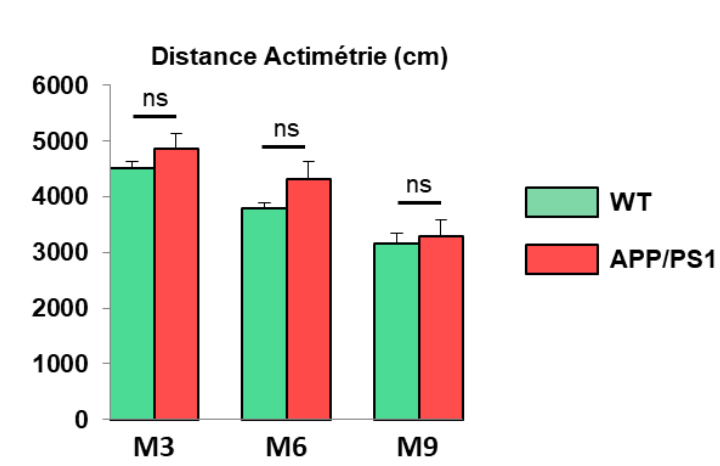
Evaluation comportementale

Evaluation de l'activité locomotrice spontanée

Il n'y avait pas d'effet significatif du génotype APP/PS1 sur l'activité locomotrice spontanée aux différents points du suivi ($F(1,36)=2.261$; $p=0.14$) (**Figure III.2**).

Il existait par contre une diminution significative de l'activité locomotrice avec le temps, indépendamment du statut APP ($F(2,35)=32.192$; $p<0.001$), attribuée à la répétition des tests.

Figure III.2 : Activité locomotrice spontanée à M3, M6 et M9



Distance (cm)	M3		M6		M9	
	moyenne	(esm)	moyenne	(esm)	moyenne	(esm)
WT (n=24)	4509	(123)	3784	(115)	3169	(166)
APP/PS1 (n=14)	4857	(282)	4323	(310)	3280	(314)

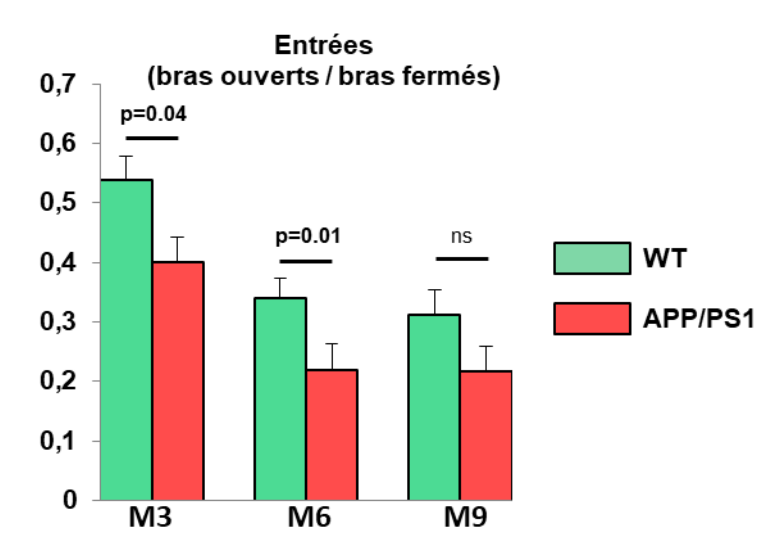
Evaluation de l'anxiété

Sur l'ensemble du suivi, le taux d'entrées en bras ouverts était significativement plus faible dans le groupe APP/PS1 ($F(1,36)=7.198$; $p=0.011$), traduisant une anxiété plus importante (**Figure III.3**).

Une diminution significative du taux d'entrées en bras ouverts, indépendamment du génotype, était observée avec le temps ($F(2,35)=16.225$; $p<0.001$) et attribuée à la répétition des tests.

Nous n'avons pas observé d'interaction significative entre l'effet du temps et celui du génotype ($F(2,35)=0.160$; $p=0.853$)

Figure III.3 : Mesure du taux d'entrées en bras ouverts à M3, M6 et M9



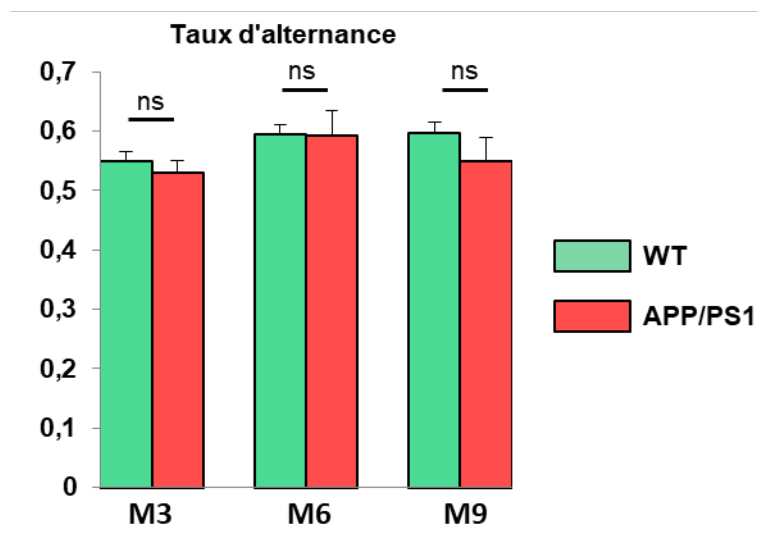
Taux d'entrées (bras ouverts/fermés)	M3		M6		M9	
	moyenne	(esm)	moyenne	(esm)	moyenne	(esm)
WT (n=24)	0.544	(0.041)	0.340	(0.033)	0.313	(0.042)
APP/PS1 (n=14)	0.400	(0.043)	0.219	(0.044)	0.217	(0.042)

Evaluation de la mémoire de travail à court terme

Le taux d'alternance spontanée ne différait pas significativement en fonction du génotype, au cours du suivi ($F(1,35)=0.605$; $p=0.442$) (**Figure III.4**).

Il existait un effet session significatif, indépendamment du génotype ($F(2,34)=3.368$; $p=0.046$).

Figure III.4 : Mesure du taux d'alternance spontanée à M3, M6 et M9



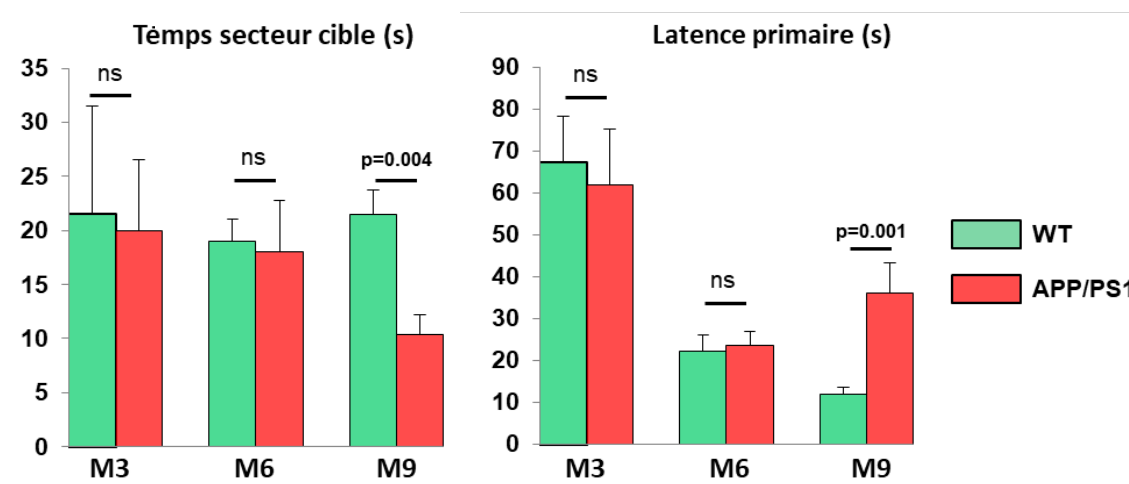
Taux d'alternance	M3		M6		M9	
	moyenne	(esm)	moyenne	(esm)	moyenne	(esm)
WT (n=24)	0.545	(0.017)	0.595	(0.016)	0.598	(0.019)
APP/PS1 (n=14)	0.529	(0.021)	0.593	(0.041)	0.550	(0.040)

Evaluation de la mémoire de référence spatiale par le labyrinthe de Barnes

Lors de la session de test, le temps passé dans le secteur cible était significativement plus faible dans le groupe APP/PS1 sur l'ensemble du suivi ($F(1,26)=5.034$; $p=0.034$) (**Figure III.5**). Les comparaisons post-hoc confirment une diminution significative à M9 pour le groupe APP/PS1 par rapport au groupe WT ($p=0.004$).

D'autre part, la latence primaire était significativement augmentée dans le groupe APP/PS1 ($F(1,26)=7.838$; $p=0.010$), les comparaisons post-hoc confirmant une latence significativement augmentée à M9 ($p=0.001$). Il existait par ailleurs une interaction significative entre l'effet du génotype et celui du temps ($F(1,26)=7.608$; $p=0.010$). En effet, une diminution de la latence primaire avec le temps était observée dans le groupe WT, attribuée à la répétition du test. Au contraire, dans le groupe APP/PS1, une augmentation de la latence était observée entre M6 et M9 traduisant l'effet du génotype transgénique.

Figure III.5 : Mesure du temps passé dans le secteur cible et de la latence primaire lors de la session de test à M3, M6 et M9

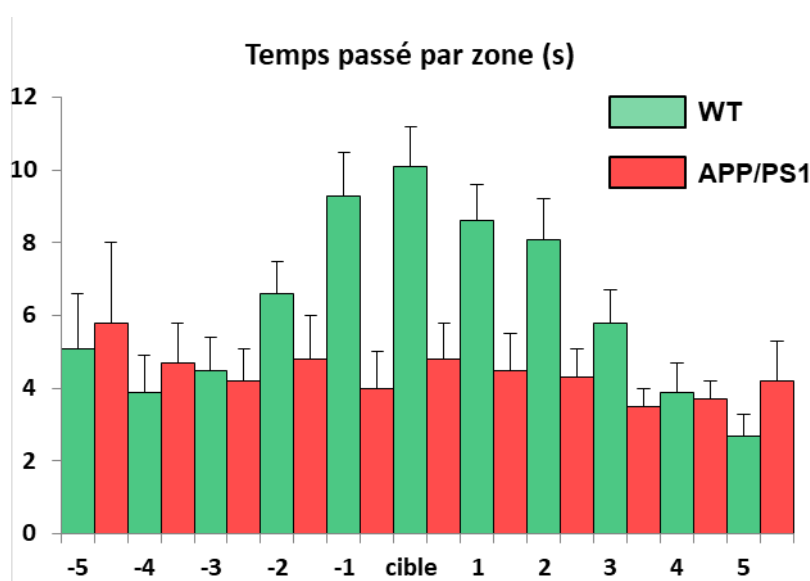


	M3		M6		M9	
	moyenne	(esm)	moyenne	(esm)	moyenne	(esm)
Temps passé en secteur cible (s)						
WT (n=14)	21.5	(10.0)	19.0	(2.0)	21.5	(2.2)
APP/PS1 (n=14)	20.0	(6.5)	18.0	(4.8)	10.4	(1.8)
Latence primaire (s)						
WT (n=14)	67.3	(11.0)	22.2	(3.9)	11.9	(1.6)
APP/PS1 (n=14)	61.9	(13.3)	23.6	(3.2)	36.2	(7.0)

Une analyse détaillée par un diagramme en éventail (**Figure III.6**) illustre des différences significatives dans la stratégie d'exploration.

Le temps passé dans les zones adjacentes au trou cible était significativement plus faible pour le groupe APP/PS1 ($F(1,26)=7.528$; $p=0.011$). Il existait par ailleurs une interaction significative entre l'effet « zone » et celui du génotype ($F(10,17)=2.593$; $p=0.04$). En effet, dans le groupe WT, le temps dans la zone diminuait avec la distance au trou cible, traduisant une stratégie « spatiale ». Au contraire, dans le groupe APP/PS1, le temps dans la zone était similaire quelle que soit la distance au trou cible, traduisant une stratégie « sérielle » ou « aléatoire ».

Figure III.6: Mesure du temps passé dans les zones adjacentes au trou cible lors de la session test à M9



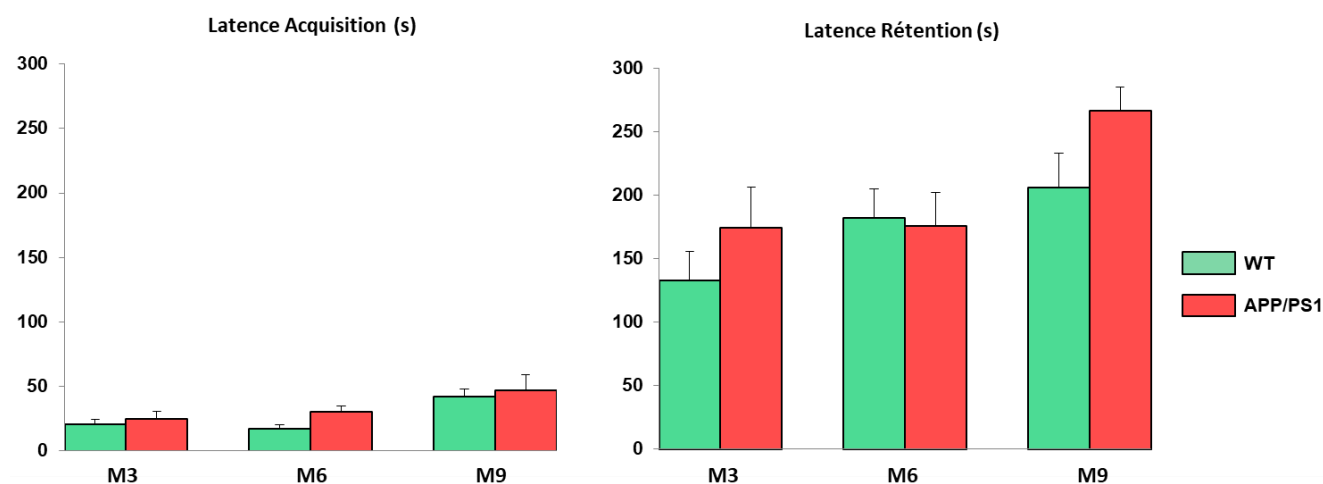
Zone	-5	-4	-3	-2	-1	Cible	+1	+2	+3	+4	+5
Temps (s)											
WT	5.1 (1.5)	3.9 (1.0)	4.5 (0.9)	6.6 (0.9)	9.3 (1.2)	10.1 (1.1)	8.6 (1.0)	8.1 (1.1)	5.8 (0.9)	3.9 (0.8)	2.7 (0.6)
APP/PS1	5.8 (2.2)	4.7 (1.1)	4.2 (0.9)	4.8 (1.2)	4.0 (1.0)	4.8 (1.0)	4.5 (1.0)	4.3 (0.8)	3.5 (0.5)	3.7 (0.5)	4.2 (1.1)

Evaluation de la mémoire à long terme conditionnée par la peur par le test d'évitement passif

Les latences lors de la phase de rétention n'étaient pas significativement différentes entre le groupe APP/PS1 et le groupe WT sur l'ensemble du suivi ($F(1,25)=1.250$; $p=0.274$).

Il existait un allongement significatif des latences au cours du suivi, indépendamment du génotype, attribué à la répétition des tests ($F(2,24)=4.480$; $p=0.022$).

Figure III.7 : Mesure des latences lors des phases d'acquisition et de rétention



Latence (s)	M3		M6		M9	
	moyenne	(esm)	moyenne	(esm)	moyenne	(esm)
Phase d'acquisition						
WT	20.5	(4.1)	17.3	(2.6)	41.9	(6.3)
APP/PS1	24.4	(6.4)	30.4	(4.1)	46.7	(12.2)
Phase de rétention						
WT	133.1	(22.6)	182.4	(22.7)	206.3	(27.4)
APP/PS1	174.3	(32.3)	175.7	(26.8)	266.5	(18.7)

Synthèse

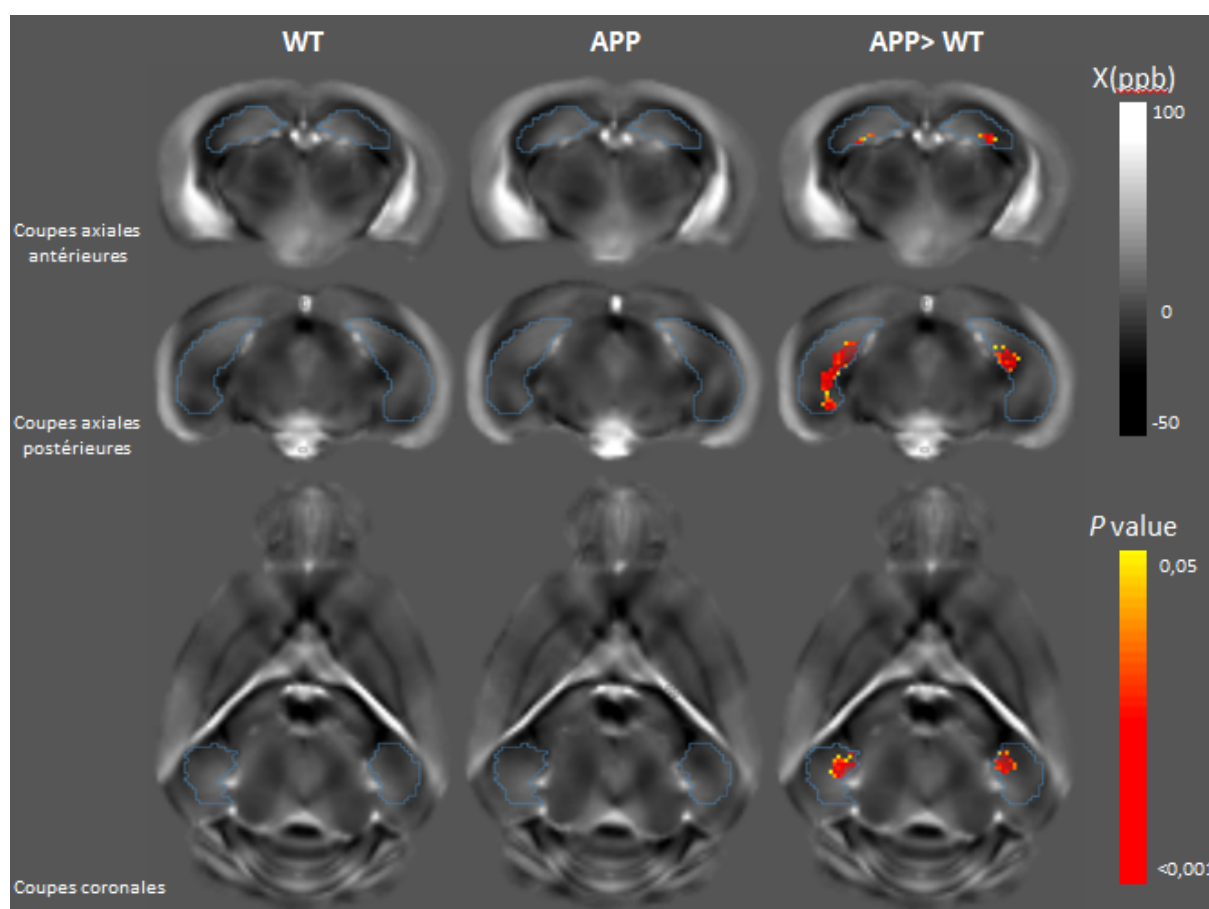
Le suivi longitudinal met en évidence une anxiété significativement plus importante dans le groupe APP/PS1 tout au long du suivi. Une altération de la mémoire de référence spatiale est également mise en évidence à partir de M9. L'activité locomotrice, la mémoire de travail à court terme et la mémoire conditionnée par la peur ne semblent pas différentes du groupe WT. Ces résultats suggèrent une atteinte préférentiellement hippocampique.

Evaluation IRM

Aucune différence de susceptibilité magnétique cérébrale n'était observée à M3 et M6 entre les groupes APP et WT.

À M9, les comparaisons à l'échelle du voxel montraient une susceptibilité magnétique plus élevée au sein de certaines sous-régions hippocampiques dans le groupe APP/PS1 (**Figure III.8**). Après correction pour les comparaisons multiples, ces différences n'étaient cependant plus significatives. Aucune différence significative n'était par ailleurs observée en dehors des hippocampes.

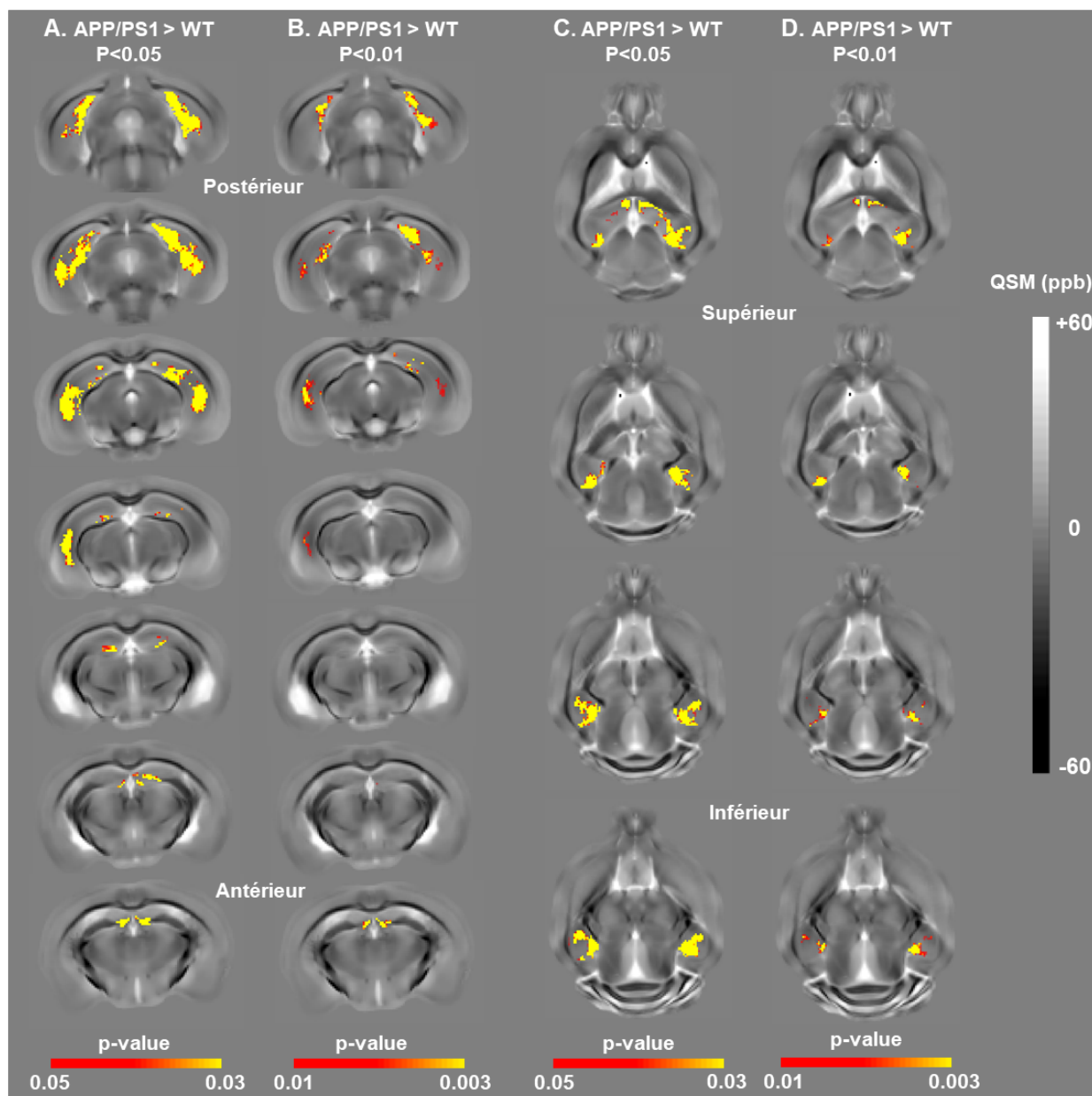
Figure III.8 : Comparaison à l'échelle du voxel de la susceptibilité magnétique cérébrale en fonction du génotype APP/PS1 à M9



Template moyen des cartographies de susceptibilité magnétique pour les groupes WT (gauche) et APP/PS1 (milieu). Clusters statistiquement significatifs pour le contraste APP/PS1 > WT (échelle jaune-rouge) superposés au template moyen de l'ensemble de la population (droite). Les contours de la région d'intérêt hippocampique apparaissent en bleu.

A M12, la comparaison des cartes de susceptibilité obtenues *ex vivo* confirmait les différences observées à M9 au sein des hippocampes (**Figure III.9**). La confrontation à un atlas histologique montre que les clusters principaux intéressent principalement le gyrus denté et le subiculum (**Figure III.10**). Ces différences ne résistaient pas à la correction pour les comparaisons multiples.

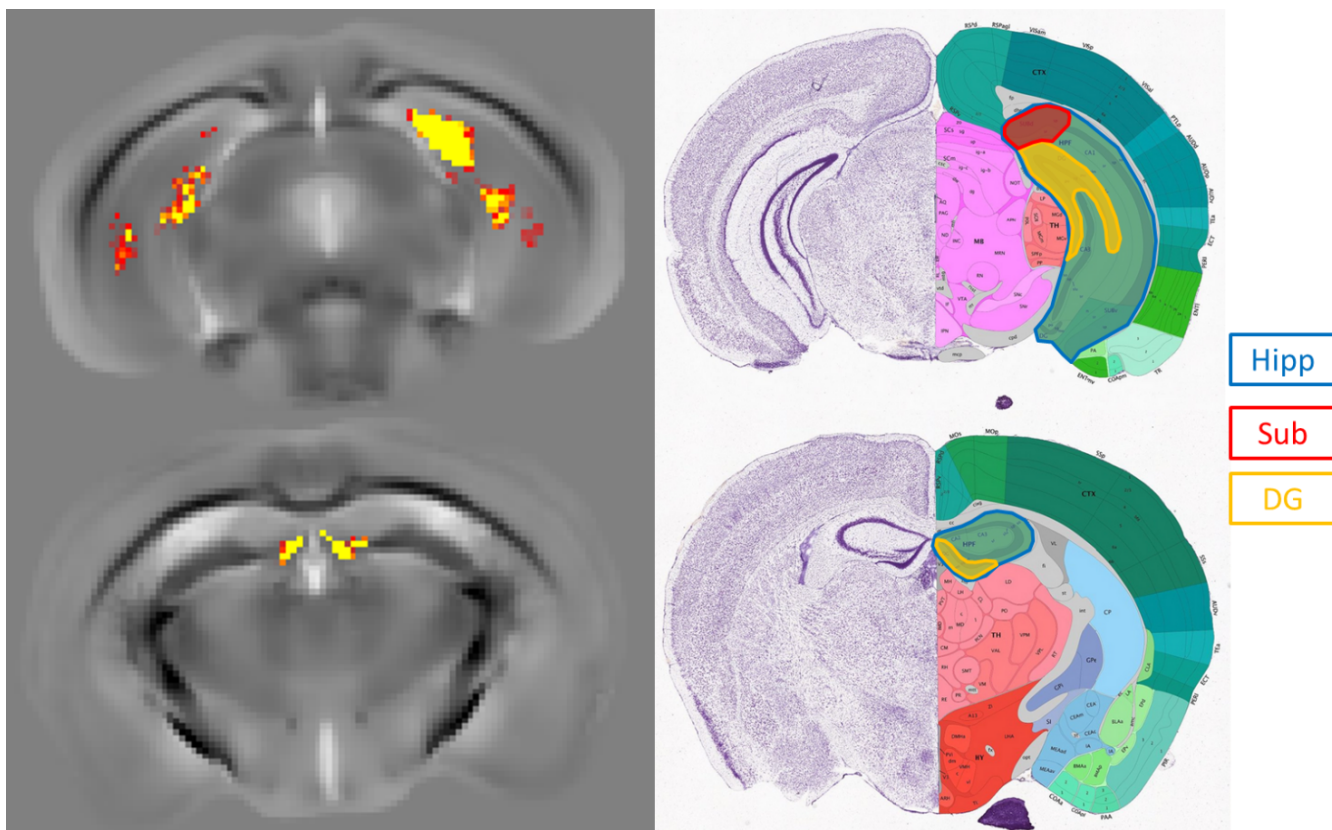
Figure III.9 : Comparaison à l'échelle du voxel de la susceptibilité magnétique cérébrale obtenue *ex vivo* à M12



Voxels significatifs superposés à la carte QSM moyenne de la population étudiée en coupes axiales (A, $p < 0.05$; B, $p < 0.01$) et coupes coronales (C, $p < 0.05$; D, $p < 0.01$)

Enfin, dans le groupe APP/PS1, la susceptibilité magnétique moyenne mesurée au sein des hippocampes à M9 ou M12 n'était pas corrélée aux performances en mémoire de référence spatiale au sein du labyrinthe de Barnes à M9, en termes de latence primaire (QSM_{M9} , $\rho=0.085$, $p=0.794$ / QSM_{M12} , $\rho=0.014$, $p=0.965$) ou de temps passé dans le secteur (QSM_{M9} , $\rho=0.308$, $p=0.331$ / QSM_{M12} , $\rho=-0.098$, $p=0.762$).

Figure III.10 : Confrontation QSM / atlas histologique



A gauche, focus sur les clusters au sein desquels la susceptibilité magnétique est significativement modifiée par le génotype APP/PS1 ($p < 0.01$). A droite, coupes correspondantes extraites de l'atlas histologique de cerveau de souris de Allen (disponible à l'adresse suivante <https://atlas.brain-map.org/>)

DG = gyrus denté ; Hipp = hippocampe ; Sub = subiculum.

III.4. Discussion

Au sein d'un modèle murin d'amyloïdogenèse associée à la maladie d'Alzheimer, nous avons constaté une élévation significative de la susceptibilité magnétique cérébrale par rapport aux souris contrôles. Cette élévation était détectable au 9^{ème} mois de vie, soit relativement tardivement dans l'évolution de la pathologie, et était limitée à certaines sous-régions hippocampiques. Les modifications de susceptibilité magnétique n'étaient pas corrélées aux performances cognitives des souris transgéniques.

La susceptibilité magnétique cérébrale est souvent présentée comme un marqueur potentiel de la charge amyloïde, cette proposition s'appuyant sur de nombreuses observations histologiques rapportant une co-localisation ferritine-plaque amyloïde au sein d'échantillons de cerveaux de patients présentant une maladie d'Alzheimer [Meadowcroft, 2009].

Or, les modifications de susceptibilité magnétique observées dans notre travail ne concordent que partiellement avec l'évolution spatiale et temporelle de la charge amyloïde, largement décrite dans la littérature pour le modèle APP/PS1 [Jankowsky, 2004]. Même si l'élévation de la susceptibilité magnétique était significative au sein du gyrus denté et du subiculum, qui sont les deux structures présentant la charge amyloïde la plus élevée [Hooijmans, 2006 ; El Tannir El Tayara, 2006], la distribution des plaques amyloïdes est théoriquement étendue à l'ensemble des hippocampes et du cortex [Jankowsky, 2004 ; Garcia-Alloza, 2006]. De la même manière, alors que les modifications de susceptibilité magnétique ne deviennent significatives qu'à l'âge de 9 mois, les dépôts amyloïdes apparaissent à l'âge de 4 mois, même s'ils sont alors peu abondants. La charge amyloïde augmente ensuite progressivement jusqu'à l'âge de 12 mois. A l'âge de 9 mois, les dépôts sont abondants et s'organisent sous forme de plaques compactes et denses. Une gliose astrocytaire et une infiltration microgliale périphériques accompagne le développement des plaques, dans leur périphérie, à partir de l'âge de 6 mois [Kamphuis, 2012 ; Meadowcroft, 2015]. Une perte synaptique au sein de l'hippocampe est rapportée dès l'âge de 4 mois [Hong, 2016], sans perte neuronale. Ce modèle est également indemne d'enchevêtrements neurofibrillaires. On notera que des lésions d'angiopathie amyloïde sont également observées dès l'âge de 4 mois et progressent lentement avec le temps.

La susceptibilité magnétique ne semble donc pas être un marqueur direct de la charge amyloïde dans le modèle APP/PS1. Pour comprendre cette discordance apparente, il faut prendre en compte les éléments suivants. Les études menées sur fantômes montrent que les peptides β amyloïdes, en solution ou en fibrille, ont des propriétés diamagnétiques (opposées à l'effet paramagnétique du fer) [Gong, 2019]. Ensuite, les études histologiques révèlent que la structure des plaques dans le modèle APP/PS1 diffère des plaques de patients présentant une maladie d'Alzheimer [Meadowcroft 2009 ;

Meadowcroft, 2015]. Les plaques « humaines » présentent un cœur fibrillaire dense et de petite taille, riche en fer, entouré d'une couronne plus lâche. Les plaques « murines » sont, elles, plus denses avec un cœur compact plus large et une couronne absente. La quantité de fer au sein des plaques murines est nettement inférieure, difficilement mise en évidence par les colorations standards (coloration de Perls). En imagerie, le faible contenu en fer était corroboré par les temps de relaxation T2 et T2* très proches des régions riches en plaques (32 et 31 ms à 9.4 Tesla, respectivement) [Chamberlain, 2009]. D'autres travaux confirment la très faible teneur en fer des plaques avant l'âge de 6 mois, mais semblent néanmoins montrer une augmentation du contenu ferrique des plaques avec l'âge [El Tayara, 2007 ; Xian-hui, 2014].

Notre étude est la première à décrire les modifications longitudinales de susceptibilité magnétique cérébrale dans le modèle APP/PS1. Une étude a récemment employé une méthodologie similaire sur un autre modèle murin d'amyloïdogénèse (modèle Tg-SwDI), exprimant le gène de la protéine APP humaine présentant 3 mutations (mutation suédoise (K670N/M671L), mutation hollandaise (E693Q), et mutation de l'Iowa (D694N)) [Gong, 2019]. Gong et al. rapportaient une susceptibilité magnétique plus élevée au sein des hippocampes à 2,7 et 7,2 mois. Les auteurs attribuaient ce résultat à une élévation de la charge en fer, bien que l'hypothèse ne soit pas confirmée directement par leurs données histologiques (coloration de Perls). O'Callaghan et al., sur un modèle de tauopathie associée à la maladie d'Alzheimer (rTg4510), observait une élévation de susceptibilité magnétique au sein de structures à faible concentration en enchevêtrements neurofibrillaires (hippocampes, thalamus, striatum) mais pas au sein du cortex, structure la plus touchée [O'Callaghan, 2017]. Ces modifications étaient corrélées à la présence de cellules microgliales activées dans les structures à faible teneur en enchevêtrements neurofibrillaires. A nouveau, le contenu en fer estimé par la coloration de Perls ne semblait pas différent des souris contrôles. Enfin, une étude du modèle CVN-AD (APP^{SwDI}/mNos2^{-/-}), modèle combinant accumulation amyloïde et dégénérescence neurofibrillaire, montrait une élévation significative de la susceptibilité magnétique au sein du gyrus denté mais également des bulbes olfactifs, du caudo-putamen et au contraire une diminution de susceptibilité magnétique au sein de CA1, du cortex entorhinal et du subiculum [Badea, 2019]. Plus qu'une surcharge, ces résultats suggèrent une redistribution des réserves en fer. Une telle hypothèse avait déjà été émise par El Tayara et al. devant l'absence de modification de la charge en fer cérébrale totale du modèle APP/PS1 [El Tayara, 2007].

En synthèse, nos résultats et ceux de la littérature suggèrent que les modifications de susceptibilité magnétique dans le modèle APP/PS1 reflètent la charge en fer et non la charge amyloïde, et que la surcharge ferrique est d'origine multifactorielle. Cette surcharge ferrique est faible dans le modèle APP/PS1 et survient plutôt tardivement en rapport avec l'accumulation liée à l'âge au sein des plaques et l'infiltration par des cellules microgliales activées, riches en fer. Cette hypothèse pourra

être validée très prochainement par l'étude histologique des cerveaux des souris que nous avons suivies (marquage du fer, de la microglie, de la myéline et des dépôts amyloïdes).

Nous n'avons par ailleurs pas mis en évidence de corrélation entre la susceptibilité magnétique hippocampique et les performances en mémoire de référence spatiale chez les souris transgéniques. L'altération des performances dans le modèle est pourtant liée à la perte synaptique observée dans les hippocampes. Plusieurs éléments peuvent éclaircir ce point. Si la mutation du gène PSEN1 favorise l'accumulation amyloïde, son effet pathogène pourrait également être expliqué par l'altération d'autres fonctions du gène sans lien direct avec la charge amyloïde (apoptose, homéostasie du calcium, ...) [Hall, 2012]. D'autre part, le déficit cognitif pourrait traduire, non pas l'atteinte de la seule structure hippocampique, mais une dysfonction plus globale de réseaux cérébraux. Dans cette perspective, il est intéressant de constater que dans le travail de Badea et al. portant sur le modèle CVN-AD, les performances en mémoire de référence spatiale (évaluée par Morris Water Maze) étaient mal prédites à partir des données de la seule région hippocampique. Les meilleures prédictions étaient obtenues en intégrant les informations de différentes régions d'intérêts et en combinant différents contrastes [Badea, 2019]. Cette hypothèse pourra être testée en mesurant les modifications de charge en fer à l'échelle de réseaux cérébraux.

Notre travail présente certaines limites. Nous n'avons pas pu effectuer de corrélation directe entre les données IRM et les lésions histologiques dans notre cohorte de souris. Ce travail est en cours et permettra de vérifier les hypothèses que nous avons formulées plus haut. Il pourra également être renforcé par la comparaison à d'autres modèles transgéniques de tauopathie et mixtes. En raison du temps d'acquisition *in vivo* important de la séquence 3D mGRE, nous n'avons pu ajouter au protocole des séquences au contraste complémentaire, telles que le transfert de magnétisation [Bigot, 2014] ou l'imagerie de diffusion (diffusion kurtosis imaging) [Vanhoutte, 2013] pour étudier notamment l'intégrité de la substance blanche et le degré de myélinisation. Enfin, la transposition des résultats à l'homme reste incertaine compte-tenu des différences observées dans la nature des plaques [Meadowcroft, 2015].

III.5. Conclusion

La susceptibilité magnétique semble peu sensible aux modifications de charge amyloïde au sein du modèle APP/PS1. L'élévation localisée et retardée de la susceptibilité magnétique hippocampique serait expliquée par une accumulation de fer modeste, liée à l'âge, et à l'infiltration microgliale dans les zones très riches en plaques.

IV. PERSPECTIVES

IV.1. De la difficulté d'évaluer la charge corticale en fer : limites actuelles et perspectives

Les lésions histologiques associées à la MA ayant une large distribution corticale au stade d'état de la maladie, la possibilité de mesurer *in vivo* la charge en fer corticale présente un grand intérêt. Aux champs magnétiques conventionnels (1.5 Tesla et 3 Tesla), nous nous heurtons néanmoins à certaines limites techniques et méthodologiques.

IV.1.1. Comparaison de la charge corticale en fer en fonction du profil cognitif chez les patients EOAD

Au sein d'un groupe de patient EOAD issu de la cohorte COMAJ (population correspondant à la première partie de notre travail), nous avons étudié les différences d'épaisseur corticale et de charge en fer estimée par QSM entre les patients présentant un profil amnésique typique et les patients présentant un profil atypique non-amnésique (dysexécutif, langagier et/ou visuo-spatial) (**Figure IV.1**). En accord avec les données de la littérature, une épaisseur corticale significativement plus faible était observée chez les patients EOAD avec présentation atypique. L'atrophie intéressait préférentiellement l'hémisphère gauche et les cortex associatifs de la jonction temporo-pariétale, le précunéus, le cortex préfrontal dorso-latéral. Concernant le QSM, des différences plus éparées étaient observées. Ces différences n'étaient par ailleurs pas significatives après correction pour les comparaisons multiples.

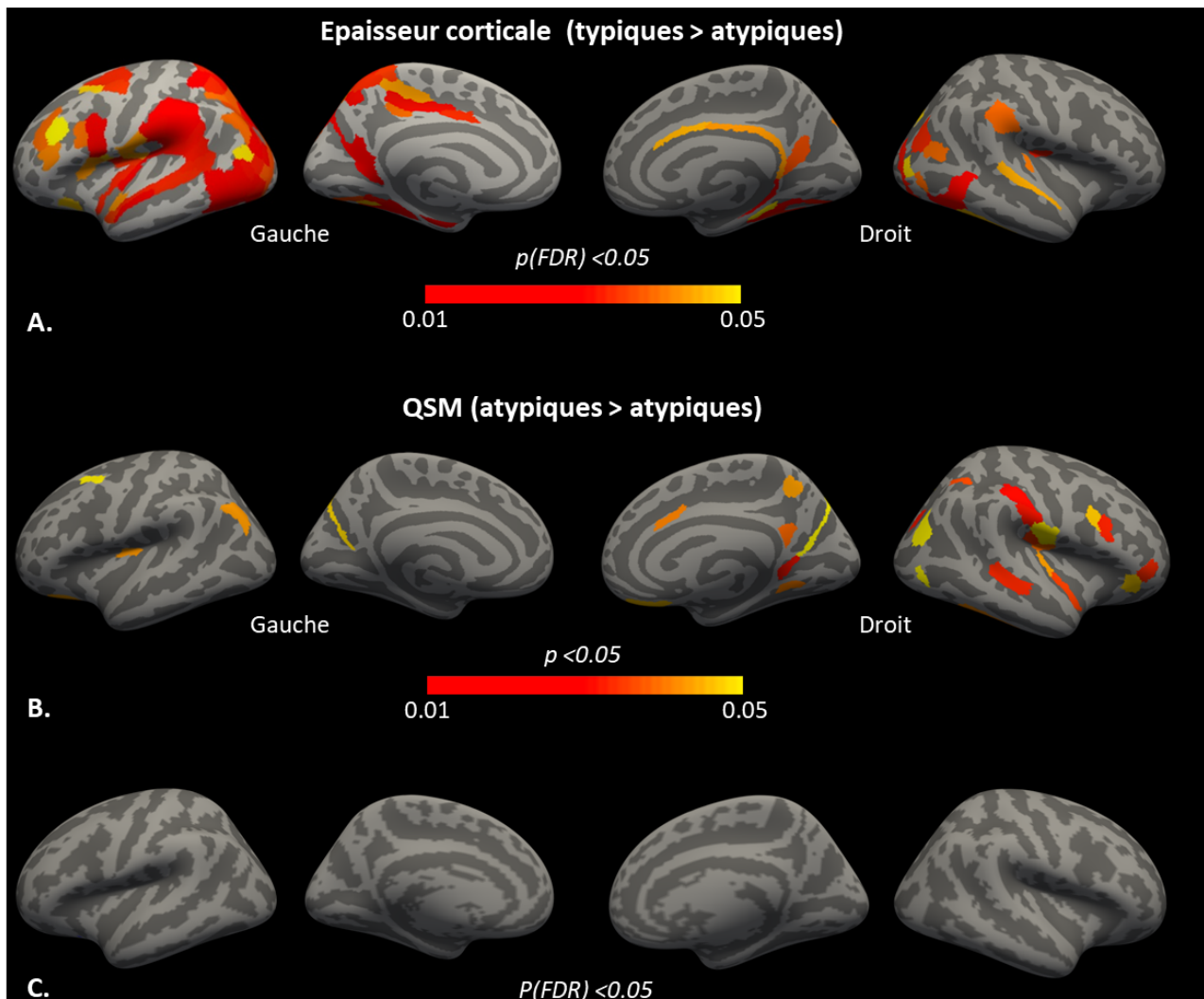
IV.1.2. Facteurs limitant la mesure de la charge en fer corticale par QSM dans notre travail

L'absence de différence significative concernant la charge corticale en fer en fonction du profil cognitif est un résultat surprenant, qui semble en contradiction avec les résultats que nous avons obtenus pour les noyaux gris centraux. Plusieurs hypothèses peuvent être formulées pour l'expliquer.

Effet de la résolution spatiale

Des limites techniques pourraient, tout d'abord, nous empêcher de quantifier la charge en fer corticale de manière fiable. La résolution spatiale de la séquence 3D mGRE était de 1×1 mm dans le plan axial pour une épaisseur de coupe de 2 mm. L'épaisseur du ruban cortical étant comprise entre 1 et 3,5 mm dans notre population, un effet de volume partiel peut affecter nos mesures corticales de QSM. Une étude a récemment démontré grâce à des simulations numériques et des acquisitions sur volontaires sains que l'augmentation de l'épaisseur de coupe était responsable d'une diminution globale du contraste des cartes de QSM [Karsa, 2019]. Les différences de contraste observées étaient néanmoins faibles lors du passage de 1 mm à 2 mm, la qualité des images se dégradant à partir de 3 mm.

Figure IV.1: Comparaison de l'épaisseur corticale et des valeurs de QSM corticales en fonction du profil cognitif de 68 patients EOAD



Comparaison de l'épaisseur corticale dans le groupe atypique ($n=45$) par rapport au groupe typique ($n=23$) après correction pour les comparaisons multiples de type FDR (A). Comparaison des valeurs de QSM corticales sans (B) et après correction pour les comparaisons multiples (C).

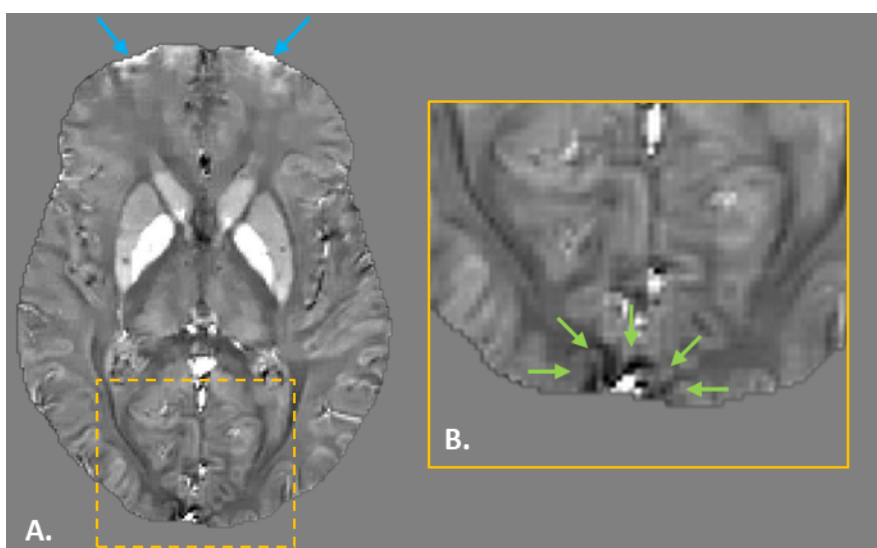
Une approche surfacique était utilisée. Pour chaque patient était définie la surface corticale externe (surface piale) et interne (interface cortex-substance blanche) à l'aide du logiciel Freesurfer. En chaque point (vertex), l'épaisseur corticale était définie comme la distance euclidienne entre la surface externe et la surface interne. Une cartographie paramétrique de l'épaisseur corticale était ainsi projetée sur la surface corticale médiane. Les cartes de QSM calculées lors de la première partie de notre travail étaient segmentées et les valeurs de QSM corticales étaient également projetées sur la surface corticale médiane. Une parcellisation de la surface corticale était effectuée selon l'atlas de Glasser (Glasser, 2017) et les valeurs d'épaisseur corticale et QSM moyennes étaient recueillies dans chaque parcelle corticale. Un test t était ensuite réalisé pour chaque parcelle corticale. Une correction pour les comparaisons multiples de type FDR était appliquée. Les cartes de p étaient finalement projetées sur la surface corticale moyenne de la population d'étude.

L'épaisseur de coupe nous était néanmoins dictée par la contrainte du temps d'acquisition de la séquence. Un temps d'acquisition de 10 min pour la seule séquence 3D mGRE a été considéré comme le temps maximal acceptable pour une population de patients souffrant de troubles cognitifs. L'allongement du temps d'acquisition aurait par ailleurs été associé à des artéfacts de mouvements auxquels la séquence 3D mGRE est particulièrement sensible. Les techniques d'accélération des acquisitions pourraient être utilisées. Nous avons utilisé ici la technique d'imagerie parallèle SENSE avec un facteur limité à 2. Lors de mises au point préalables sur volontaires sains, un facteur d'accélération plus élevé était à l'origine d'artéfacts dégradant significativement la qualité de l'image. Les nouvelles techniques d'accélération de type « compressed sensing » basées sur le caractère « sparse » des images IRM pourraient être employées à l'avenir, mais leur effet sur l'imagerie de phase et la quantification de fer reste à évaluer.

Effet de l'algorithme utilisé pour générer les cartes de QSM

Les méthodes de dépliage de phase de type « path-following » (que nous avons utilisées ici) ou « laplacian-based » sont peu efficaces dans les régions présentant des transitions brutales de phase. C'est le cas du ruban cortical qui présente un contenu en fer modéré mais situé au contact de structures veineuses riches en désoxyhémoglobine (effet paramagnétique important de la désoxyhémoglobine) ou artérielles présentant un flux rapide (majoration artificielle de la phase liée au flux circulant) et à proximité de la voûte crânienne (effet diamagnétique du calcium) ou des sinus de la face (artéfacts de susceptibilité liés aux interfaces air-tissu) (**Figure IV.2**).

Figure IV.2: Illustration d'artéfacts limitant l'étude du cortex en QSM



Carte de susceptibilité magnétique (A) et agrandissement centré sur le sinus longitudinal supérieur (B), illustrant les artéfacts de susceptibilité persistant dans les régions basi-frontales (flèches bleues) et les artéfacts pouvant entourer les structures vasculaires (ici halo noir en périphérie du sinus longitudinal supérieur, flèches vertes).

Par ailleurs, une étape de déconvolution sphérique est souvent utilisée lors de la résolution du problème inverse. Cette étape, qui consiste à appliquer sur l'image un noyau de déconvolution de rayon r , implique une érosion de même rayon r en périphérie du masque d'intérêt. L'érosion peut donc conduire à l'élimination de voxels corticaux. Pour y pallier, nous avons néanmoins procédé à une dilatation des masques en amont.

Enfin l'algorithme MEDI, utilisé ici, pourrait tendre à diminuer le contraste cortical, comparativement à l'algorithme HEIDI par exemple [Schweser, 2012].

Reproductibilité de la mesure corticale du QSM

Les biais méthodologiques décrits ci-dessus pourraient dégrader la reproductibilité de l'évaluation corticale de la charge en fer. Nous avons abordé cette question en étudiant la reproductibilité test-retest des mesures de QSM corticales chez 10 sujets sains âgés de 30 à 35 ans ayant bénéficié chacun de 3 sessions d'IRM espacées d'au moins 1 semaine (**Figure IV.3**).

La carte moyenne de susceptibilité magnétique corticale dans cette population était en accord avec les données histologiques de Hallgren et al. [Hallgren, 1958]. Les valeurs de QSM les plus élevées étaient observées dans le cortex sensori-moteur primaire et le cortex occipital. Les valeurs les plus faibles étaient observées au sein du cortex préfrontal. Des valeurs extrêmes, aberrantes, étaient observées dans les régions fronto-basales et temporo-basales, en raison des artefacts de susceptibilité liés à la proximité de la base du crâne (**Figure IV.3.A**).

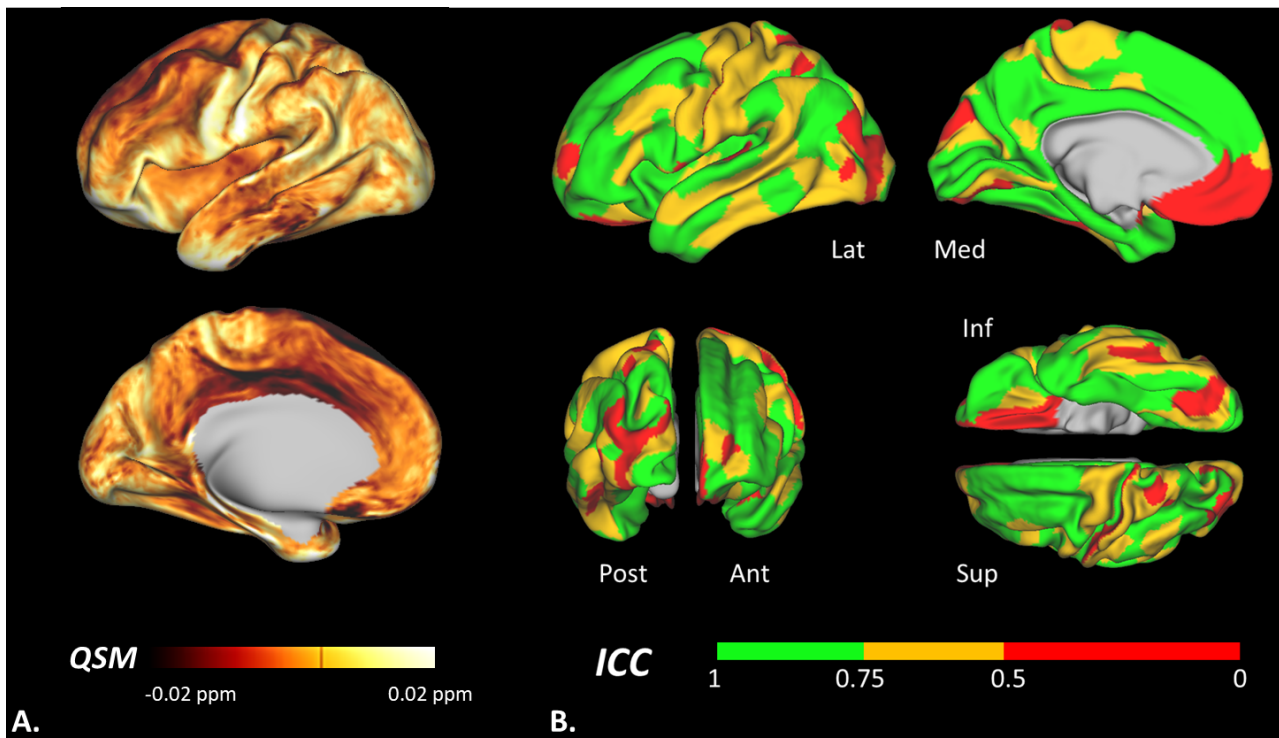
Néanmoins, la reproductibilité du QSM sur l'ensemble des régions corticales était variable avec un coefficient de corrélation intra-classe (ICC) allant de 0 à 0.97. Elle était bonne pour 204/360 (57%) régions corticales, modérée pour 118/360 (33%) et mauvaise pour 38/360 (11%). En comparaison, la reproductibilité du QSM dans les noyaux gris centraux était excellente, avec un ICC compris entre 0.85 et 0.98 (**Figure IV.3.B**).

Population étudiée

Dans notre étude clinique, nous avons inclus des patients à un stade relativement avancé (MMSE moyen =15), traduisant une atrophie cérébrale importante. L'amincissement cortical qui en résulte majore l'effet de volume partiel et pourrait biaiser l'estimation de la susceptibilité corticale. Cette hypothèse pourrait être corroborée par des différences de susceptibilité moindre dans l'hémisphère cérébral le plus atrophié (**Figure IV.1**).

Les patients présentant des troubles cognitifs importants ont également plus de difficulté à rester immobile durant l'acquisition. Les artefacts de mouvement qui en résultent dégradent la qualité des données brutes et le contraste des cartes obtenues. Dans ce travail, une inspection visuelle a permis d'éliminer les acquisitions de mauvaise qualité.

Figure IV.3: Evaluation de la reproductibilité test-retest de la susceptibilité magnétique corticale



IV.1.3. Comparaison aux données de la littérature

Nos résultats semblent en contradiction avec des travaux récents rapportant des corrélations intéressantes entre la susceptibilité magnétique corticale et l'importance des lésions de tauopathie en TEP-tau [Spotorno, 2020] ou le pronostic cognitif [Ayton, 2017]. Cette contradiction pourrait être liée à une différence méthodologique majeure. Dans ces travaux, les auteurs utilisent en effet des méthodes volumiques pour mesurer la susceptibilité magnétique corticale. L'approche surfacique que nous avons utilisée est plus adaptée à la géométrie du ruban cortical [Matheson, 2017 ; Coalson, 2018] et est moins sensible à l'effet de volume partiel induit par l'atrophie. Les résultats obtenus avec les approches volumiques pourraient donc être largement expliqués par l'atrophie et non refléter une réelle surcharge ferrique. Nous testerons cette hypothèse au sein de la cohorte COMAJ.

Enfin, l'utilisation de très haut champ magnétique (IRM 7 Tesla) améliore nettement l'étude corticale en QSM par l'effet conjugué d'une meilleure résolution spatiale et d'une susceptibilité magnétique accrue [Deistung, 2013]. En contrepartie, les artéfacts de susceptibilité sont majorés au contact de la base du crâne rendant l'étude des régions temporales et basi-frontales particulièrement ardue. L'installation d'une IRM 7 Tesla à Lille dans le cadre du projet ARIANES permettra de développer localement des approches spécifiques à l'étude du cortex.

En synthèse, des améliorations d'ordre technique et méthodologique pourraient nous permettre (IRM 7 Tesla, techniques d'accélération des acquisitions, optimisation des algorithmes) d'explorer prochainement les modifications corticales de manière fiable. Une autre piste est d'analyser l'information non plus à l'échelle de la parcelle mais à l'échelle de réseaux cérébraux.

IV.1.4. Utilisation de la covariance du QSM cortical ou connectivité basée sur le QSM

Jusqu'ici l'analyse de la charge en fer a été réalisée par région d'intérêt ou à l'échelle du voxel suivant une approche spatiale localisationniste. Or un nombre croissant de travaux montrent que la survenue et l'évolution des troubles cognitifs dans les pathologies neurodégénératives ne sont pas liées à l'atteinte d'une région spécifique mais plutôt au dysfonctionnement de réseaux cérébraux ou de l'interaction entre différents réseaux [Hohenfeld, 2018]. Dans le cadre de la maladie d'Alzheimer, les lésions de tauopathie semble se propager le long de faisceaux de substance blanche [Wen, 2020] au sein de réseaux fonctionnels [Jones, 2017 ; Hoenig, 2018 ; Sintini, 2020], selon un modèle « prion-like » [Colin, 2020]. Une étude sur modèle murin a récemment démontré que ce modèle pouvait s'appliquer à la surcharge ferrique [Wang, 2019]. Wang et al. ont montré que des modifications locales de l'homéostasie du fer imposées à un groupe de neurones pouvaient

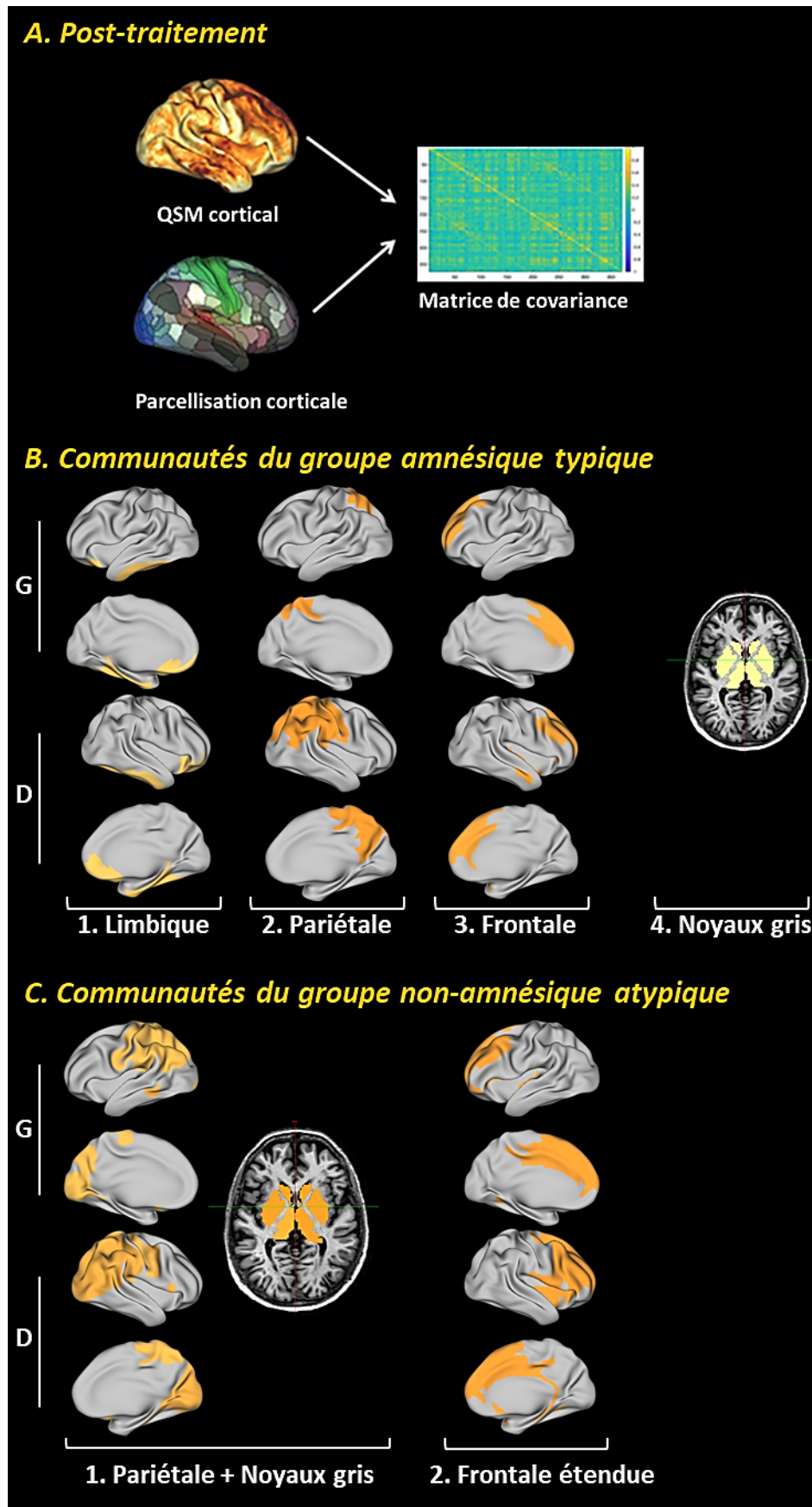
modifier à distance la charge en fer neuronale dans les régions connectées fonctionnellement [Wang, 2019].

Nous faisons donc l'hypothèse que l'accumulation de fer intéresse non pas une région d'intérêt isolée mais l'ensemble des réseaux impactés directement ou indirectement par le processus neurodégénératif et que les techniques d'IRM sensibles au fer (QSM) permettraient de visualiser les réseaux dysfonctionnels. Deux régions présentant des variations interindividuelles similaires de la charge en fer seraient affectées de la même manière par la pathologie. Nous proposons donc d'utiliser la covariance de la charge en fer comme un reflet du lien pathologique unissant des régions corticales distantes. Nous supposons par ailleurs que ce paramètre est plus robuste aux variations inter-sessions que la mesure du QSM dans une seule région d'intérêt. Cette méthode a été déjà largement appliquée à l'imagerie structurale 3D T1, offrant un cadre méthodologique [Carmon, 2020 ; Yun, 2020]. En bref, il s'agit de calculer la matrice de covariance de l'ensemble des régions corticales en QSM. Les matrices de covariances peuvent ensuite être analysées selon la théorie des graphes afin d'identifier les régions correspondant aux nœuds pathologiques et les liens entre ces différents nœuds. Il est également possible de distinguer des communautés correspondant à des groupes de nœuds très connectés entre eux. Nous avons testé cette dernière méthode en fonction du profil cognitif typique ou atypique dans le groupe de patients EOAD issus de la cohorte COMAJ (**Figure IV.4**).

Alors que la comparaison directe, parcelle par parcelle, des valeurs de QSM ne montrait pas de différence significative entre les groupes (**Figure IV.1**), l'analyse de la covariance démontre que l'organisation corticale diffère significativement selon le profil cognitif. Dans le groupe typique, 4 communautés principales sont identifiées. La première communauté regroupe les aires limbiques du cortex temporal interne et du cortex orbito-frontal. La seconde communauté regroupe des aires pariétales supérieures, pariétales inférieures et le pré-cunéus. La troisième communauté regroupe les aires associatives préfrontales dorso-latérales et fronto-mésiales. La quatrième communauté regroupe les noyaux gris centraux. Cette organisation pourrait représenter différents stades « Braak-like » de l'évolution de la maladie. Dans le groupe atypique, seules 2 communautés principales étaient identifiées. La communauté « limbique » n'était pas retrouvée. La première communauté regroupait les aires pariétales, occipitales et les noyaux gris centraux. La seconde correspondait à une communauté frontale étendue aux aires insulaires. Il s'agirait de différentes composantes non « Braak-like » de la pathologie en accord avec les patterns spatiaux de tauopathie décrits dans la littérature [Jones, 2017]. Les communautés ainsi obtenues seront confrontées aux données de connectivité fonctionnelle en lien avec les travaux de Renaud Lopes, ingénieur de recherche et co-responsable de la plateforme d'imagerie du vivant de Lille. Ces résultats prometteurs doivent être interprétés avec précaution compte-tenu de la taille relativement modeste de l'échantillon et devront

être confirmés sur de larges cohortes. A l'échelle régionale, le projet ARIANES de maillage territorial des IRM 3 Tesla sera un atout indéniable. A l'échelle internationale, une collaboration a été mise en place avec les Pr Scott Ayton et Ashley Bush de l'Institut Florey de Neurosciences de Melbourne et permettra de développer notre méthode au sein de la cohorte AIBL (Australian Imaging, Biomarker & Lifestyle Flagship Study of Ageing) regroupant plus de 1500 participants présentant une maladie d'Alzheimer au stade de démence ou de MCI et des sujets âgés.

Figure IV.4: Communautés déterminées chez les patients EOAD



IV.2. Accumulation de fer, hypothalamus et trouble de la régulation pondérale : vers un biomarqueur pronostique ?

D'autres paramètres non abordés jusqu'à présent peuvent influencer à la fois la charge lésionnelle et la charge en fer chez les patients présentant une maladie d'Alzheimer, avec une implication pronostique potentielle. Il existe notamment un lien ambivalent entre le surpoids et la maladie d'Alzheimer. D'une part, le surpoids à un âge moyen est associé à un sur-risque de développer une maladie d'Alzheimer à un âge plus avancé [Norton, 2014]. D'autre part, le surpoids à un âge avancé, au stade d'état de la maladie, semble associé à un déclin cognitif plus lent [Barnes, 2009].

IV.2.1. Lien entre surpoids à un âge moyen et maladie d'Alzheimer

Le surpoids à un âge moyen a été rapporté comme étant un facteur de risque de maladie d'Alzheimer dans de larges études épidémiologiques en population générale [Knopman, 2018]. Cette association a également été décrite avec d'autres facteurs de risques vasculaires (tabagisme, diabète, hypertension [Barnes, 2011 ; Gottesman, 2017], suggérant le mécanisme vasculaire de cette association. L'effet du surpoids pourrait être médié par les lésions cérébrales d'origine vasculaire (hypersignaux de la substance blanche) responsables d'un appauvrissement de la réserve cognitive [Park, 2020].

Un effet plus direct a également été suggéré, le nombre de facteurs de risque vasculaire étant corrélé à l'importance de la charge amyloïde en TEP [Gottesman, 2017]. L'obésité pourrait, ainsi, avoir un effet pro-inflammatoire sur le système nerveux central, favorisant l'activation microgliale [Heneka, 2015]. La microglie participe à l'élimination des dépôts amyloïdes par phagocytose. La réponse microgliale aux dépôts amyloïdes dépendrait de l'environnement cytokinique. En présence de cytokines pro-inflammatoires, les cellules microgliales activées (type M1) présenteraient une diminution de leur activité phagocytaire, participant à la progression des plaques. L'effet de l'activation microgliale pourrait donc être modulé par le stade de la maladie. Récemment, Hamelin et al. ont ainsi démontré une activation microgliale initiale plus importante chez les patients présentant un déclin cognitif lent. Au contraire, les patients progressseurs rapides présentaient une activation microgliale initiale faible mais progressant significativement au cours du temps [Hamelin, 2018].

IV.2.2. Paradoxe du surpoids à un âge avancé

A un âge avancé, le surpoids semble au contraire protecteur, associé à une charge amyloïde et un déclin cognitif moindres chez les patients APOE ϵ 4+ [Blautzik, 2018]. En réalité, une perte de poids pourrait précéder de plusieurs années le diagnostic de maladie d'Alzheimer [Johnson, 2006], prédire la conversion du stade MCI vers la démence [Cova, 2016] et être associé à un déclin cognitif plus

rapide [White, 1998 ; Soto , 2012 ; Besser, 2014]. Un indice de masse corporel (IMC) plus faible chez le sujet âgé, bien que normal, serait associé à une charge amyloïde plus importante en TEP PiB [Hsu, 2016] et dans le LCS [Vidoni, 2011].

Les mécanismes conduisant à une perte pondérale restent mal compris. Le caractère précoce de ce phénomène plaide en faveur d'une dérégulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire [Hiller, 2018] plutôt que d'un effet tardif lié à la sévérité des troubles cognitifs. Cette hypothèse est étayée par des travaux suggérant une dysfonction de l'axe corticotrope [Swanwick, 1996] et l'association des troubles du sommeil à un hypométabolisme hypothalamique en TEP-FDG chez des patients présentant une maladie d'Alzheimer [Liguori, 2017].

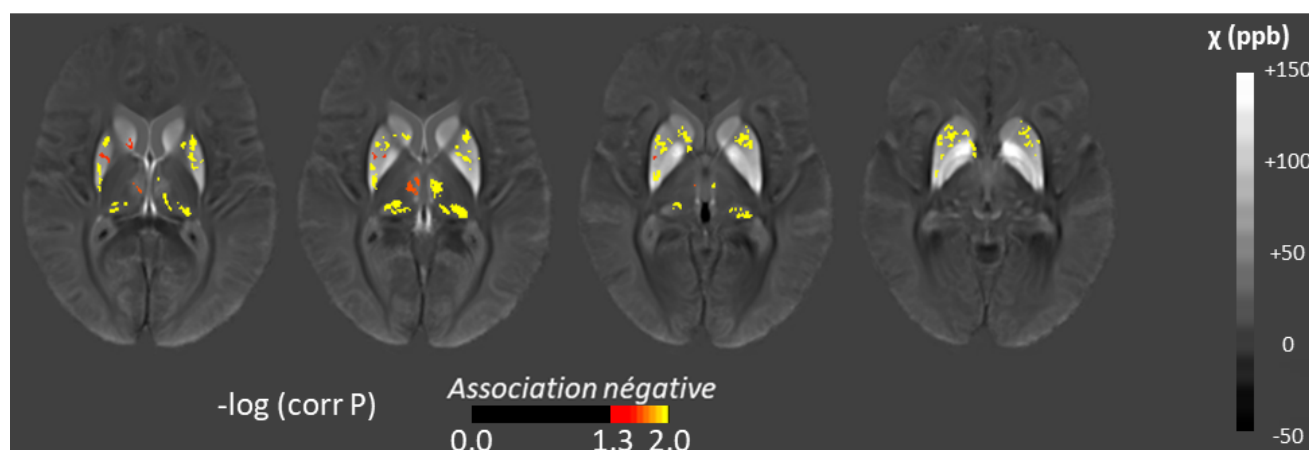
IV.2.3. Effet du poids sur la charge cérébrale en fer chez les patients EOAD

De manière intéressante, le surpoids était également corrélé à la charge en fer cérébrale mesurée en IRM dans une population de sujets sains âgés [Pirpamer, 2016].

Avec une méthodologie similaire à celle employée dans la première partie de notre travail, nous avons donc testé l'association à l'échelle de la région d'intérêt (**Tableau IV.1**) et du voxel (**Figure IV.5**) entre la charge cérébrale en fer estimée par QSM et l'IMC au moment de l'IRM au sein d'un groupe de patient issu de la cohorte COMAJ.

Ces résultats montrent une relation paradoxale entre l'IMC et la charge en fer, inverse à celle rapportée chez le sujet sain. Un IMC bas était associé à une charge en fer élevée au sein des noyaux gris centraux de manière relativement diffuse. Cette association était indépendante de l'âge, du sexe et de la sévérité des troubles cognitifs. Aucune association significative ne liait les valeurs de QSM au tabagisme, à l'hypercholestérolémie ou au diabète.

A la lumière de ces résultats préliminaires intéressants, nous avons souhaité explorer davantage la relation entre charge en fer, poids et cognition au sein de la cohorte COMAJ. Nous avons initié un travail dont le but sera de comparer la charge en fer hypothalamique en fonction de l'évolution de la charge pondérale et des troubles cognitifs. En collaboration avec l'équipe de Vincent Prévot (U1172, « Développement et Plasticité du Cerveau Neuroendocrine »), les échantillons post-mortem d'hypothalamus de cinq patients EOAD et de souris APP/PS1 seront analysés parallèlement dans le but d'éclairer les mécanismes sous-tendant l'accumulation de fer potentielle dans cette région (neuroinflammation, dysfonction tanycytaire, accumulation amyloïde, dégénérescence neurofibrillaire). Cet axe pourra faire l'objet de deux publications parallèles.

Figure IV.5: Association à l'échelle du voxel entre QSM et IMC

Clusters	Taille (voxels)	Coordonnées MNI (voxels)			Localisation
		X	Y	Z	
Corrélation négative					
1	880	-23.3	6.6	2.6	Striatum gauche (antérieur)
2	722	-14.9	-26.6	4.7	Thalamus (pulvinar/medio-dorsal)
3	585	23.1	9.3	-1.5	Putamen droit (antérieur)
4	329	16.6	-27.8	5.3	Thalamus droit (pulvinar)
5	316	10.6	9.3	-0.5	Pallidum droit
6	294	28.1	-11	3.4	Putamen droit (postérieur)
7	174	6.0	-16.8	4.0	Thalamus droit (medio-dorsal)
8	151	26.4	-0.3	7.6	Putamen droit latéral
9	148	11.2	5.7	11.4	Caudé droit

Clusters significativement associés à l'IMC indépendamment de l'âge, du sexe et du niveau de sévérité évalué par le MMSE, superposés à la carte de QSM moyenne de la population étudiée, dans l'espace du MNI. Clusters considérés comme significatifs pour des valeurs de p corrigées inférieures à 0,05. À des fins de visualisation, les résultats sont présentés sous la forme $-\log(P \text{ corrigé})$. Les associations négatives sont affichées en rouge-jaune. Nous n'avons trouvé aucune association positive significative.

Tableau IV.1: Association à l'échelle de la région d'intérêt entre QSM et IMC

	IMC β (IC95%) ; p
Noyau caudé	
Gauche	-0.43 (-0.84 ; -0.01) ; 0.043
Droit	-0.40 (-0.66 ; -0.13) ; 0.003
Putamen	
Gauche	-0.73 (-1.07 ; -0.39) ; <0.001
Droit	-0.64 (-0.95 ; -0.33) ; <0.001
Pallidum	
Gauche	-0.90 (-1.60 ; -0.19) ; 0.012
Droit	-0.90 (-1.62 ; -0.19) ; 0.013
Thalamus	
Gauche	-0.24 (-0.35 ; -0.12) ; <0.001
Droit	-0.23 (-0.33 ; -0.13) ; <0.001
Hippocampe	
Gauche	0.02 (-0.12 ; 0.15) ; 0.835
Droit	-0.25 (-0.46 ; -0.04) ; 0.020
Amygdale	
Gauche	-0.07 (-0.30 ; 0.15) ; 0.537
Droit	-0.07 (-0.22 ; 0.07) ; 0.326
Noyau accumbens	
Gauche	-0.12 (-0.39 ; 0.15) ; 0.387
Droit	-0.06 (-0.31 ; 0.19) ; 0.621

Modèle linéaire général avec QSM comme variable dépendante ; IMC comme variable indépendante ; âge, sexe et MMSE comme covariables.

V. Conclusion générale

Mes travaux de recherche menés depuis 4 ans au sein de la plateforme d'imagerie du vivant de l'université de Lille et de l'unité U1172 ont permis d'explorer la distribution de la charge cérébrale en fer dans la maladie d'Alzheimer, de manière translationnelle, en utilisant et en évaluant la technique QSM.

Dans un premier temps, nous avons utilisé la technique QSM pour cartographier les variations spatiales de la charge cérébrale en fer dans une cohorte de patients EOAD. En démontrant que la distribution du fer dans les noyaux gris centraux était modulée par le pattern d'atrophie cérébrale, marqueur IRM de la distribution des lésions histologiques, nous avons apporté des arguments en faveur d'un lien spécifique entre la surcharge ferrique et le processus physiopathologique de la maladie d'Alzheimer. Différentes hypothèses expliquant cette relation ont été discutées, le caractère transversal de cette étude ne permettant pas de déterminer le caractère causal ou secondaire de l'accumulation de fer.

Dans un deuxième temps, nous avons appliqué la même méthodologie QSM à l'étude longitudinale d'un modèle murin d'amyloïdogénèse associé à la maladie d'Alzheimer avec l'objectif de préciser le lien entre les variations de susceptibilité magnétique et la charge amyloïde. Une élévation de la susceptibilité magnétique était observée uniquement dans le subiculum et le gyrus denté, régions les plus riches en plaques amyloïdes, de manière retardée dans le temps et sans corrélation directe avec l'altération des performances en mémoire de référence spatiale. Nos résultats, intégrés aux données de la littérature, suggèrent une dissociation partielle entre la distribution de la charge en fer et celle de la charge amyloïde. Le degré de corrélation serait lié à la structure des plaques qui détermine leur affinité pour le fer, agent de contraste endogène détecté en QSM.

Enfin, nous avons illustré les perspectives offertes par la technique mise en place et les résultats obtenus au cours de la thèse. Malgré les difficultés à quantifier le fer cortical, les résultats préliminaires obtenus grâce au raffinement méthodologique offert par l'analyse en réseaux semblent prometteurs. Outre son apport dans la compréhension physiopathologie de la maladie d'Alzheimer, la charge en fer mesurée par QSM pourrait constituer un élément pronostique important comme l'illustre sa relation avec l'IMC.

A l'avenir, l'intégration de données quantitatives reflétant le contenu cérébral en fer, au sein d'une évaluation multifactorielle clinique et biologique, pourrait permettre une prédiction plus précise et plus précoce du profil évolutif des patients. Une telle approche ne pourra être validée qu'au sein de larges cohortes collaboratives multicentriques. Je souhaite poursuivre ce travail notamment dans le cadre du projet régional ARIANES au sein duquel j'ai la responsabilité de l'imagerie neurodégénérative et qui permettra de constituer de larges cohortes régionales de patients.

VI. Bibliographie

- Acosta-Cabronero J, Williams GB, Cardenas-Blanco A, Arnold RJ, Lupson V, Nestor PJ. In vivo quantitative susceptibility mapping (QSM) in Alzheimer's disease. *PLoS One*. 2013 Nov 21;8(11):e81093. doi: 10.1371/journal.pone.0081093.
- Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, Dubois B, Feldman HH, Fox NC, Gamst A, Holtzman DM, Jagust WJ, Petersen RC, Snyder PJ, Carrillo MC, Thies B, Phelps CH. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2011 May;7(3):270-9. doi: 10.1016/j.jalz.2011.03.008.
- Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med*. 1999 Dec 23;341(26):1986-95. doi: 10.1056/NEJM199912233412607
- Ayton S, Faux NG, Bush AI; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Ferritin levels in the cerebrospinal fluid predict Alzheimer's disease outcomes and are regulated by APOE. *Nat Commun*. 2015 May 19;6:6760. doi: 10.1038/ncomms7760.
- Ayton S, Fazlollahi A, Bourgeat P, Raniga P, Ng A, Lim YY, Diouf I, Farquharson S, Fripp J, Ames D, Doecke J, Desmond P, Ordidge R, Masters CL, Rowe CC, Maruff P, Villemagne VL; Australian Imaging Biomarkers and Lifestyle (AIBL) Research Group, Salvado O, Bush AI. Cerebral quantitative susceptibility mapping predicts amyloid- β -related cognitive decline. *Brain*. 2017 Aug 1;140(8):2112-2119. doi: 10.1093/brain/awx137.
- Ayton S, Diouf I, Bush AI; Alzheimer's disease Neuroimaging Initiative. Evidence that iron accelerates Alzheimer's pathology: a CSF biomarker study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2018 May;89(5):456-460. doi: 10.1136/jnnp-2017-316551.
- Ayton S, Wang Y, Diouf I, Schneider JA, Brockman J, Morris MC, Bush AI. Brain iron is associated with accelerated cognitive decline in people with Alzheimer pathology. *Mol Psychiatry*. 2020 Nov;25(11):2932-2941. doi: 10.1038/s41380-019-0375-7.
- Badea A, Delpratt NA, Anderson RJ, Dibb R, Qi Y, Wei H, Liu C, Wetsel WC, Avants BB, Colton C. Multivariate MR biomarkers better predict cognitive dysfunction in mouse models of Alzheimer's disease. *Magn Reson Imaging*. 2019 Jul;60:52-67. doi: 10.1016/j.mri.2019.03.022.
- Balasa M, Gelpi E, Antonell A, Rey MJ, Sánchez-Valle R, Molinuevo JL, Lladó A; Neurological Tissue Bank/University of Barcelona/Hospital Clínic NTB/UB/HC Collaborative Group. Clinical features and APOE genotype of pathologically proven early-onset Alzheimer disease. *Neurology*. 2011 May 17;76(20):1720-5. doi: 10.1212/WNL.0b013e31821a44dd.
- Barbas H, García-Cabezas MÁ, Zikopoulos B. Frontal-thalamic circuits associated with language. *Brain Lang*. 2013 Jul;126(1):49-61. doi: 10.1016/j.bandl.2012.10.001.
- Barnes DE, Covinsky KE, Whitmer RA, Kuller LH, Lopez OL, Yaffe K. Predicting risk of dementia in older adults: The late-life dementia risk index. *Neurology*. 2009 Jul 21;73(3):173-9. doi: 10.1212/WNL.0b013e3181a81636.
- Barnes DE, Yaffe K. The projected effect of risk factor reduction on Alzheimer's disease prevalence. *Lancet Neurol*. 2011 Sep;10(9):819-28. doi: 10.1016/S1474-4422(11)70072-2.

- Bartzokis G, Lu PH, Tishler TA, Peters DG, Kosenko A, Barrall KA, Finn JP, Villablanca P, Laub G, Altshuler LL, Geschwind DH, Mintz J, Neely E, Connor JR. Prevalent iron metabolism gene variants associated with increased brain ferritin iron in healthy older men. *J Alzheimers Dis.* 2010;20(1):333-41. doi: 10.3233/JAD-2010-1368.
- Bateman RJ, Xiong C, Benzinger TL, Fagan AM, Goate A, Fox NC, Marcus DS, Cairns NJ, Xie X, Blazey TM, Holtzman DM, Santacruz A, Buckles V, Oliver A, Moulder K, Aisen PS, Ghetti B, Klunk WE, McDade E, Martins RN, Masters CL, Mayeux R, Ringman JM, Rossor MN, Schofield PR, Sperling RA, Salloway S, Morris JC; Dominantly Inherited Alzheimer Network. Clinical and biomarker changes in dominantly inherited Alzheimer's disease. *N Engl J Med.* 2012 Aug 30;367(9):795-804. doi: 10.1056/NEJMoa1202753.
- Becerril-Ortega J, Bordji K, Fréret T, Rush T, Buisson A. Iron overload accelerates neuronal amyloid- β production and cognitive impairment in transgenic mice model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2014 Oct;35(10):2288-301. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2014.04.019.
- Bechler E, Stabinska J, Wittsack HJ. Analysis of different phase unwrapping methods to optimize quantitative susceptibility mapping in the abdomen. *Magn Reson Med.* 2019 Dec;82(6):2077-2089. doi: 10.1002/mrm.27891.
- Behrens TE, Johansen-Berg H, Woolrich MW, Smith SM, Wheeler-Kingshott CA, Boulby PA, Barker GJ, Sillery EL, Sheehan K, Ciccarelli O, Thompson AJ, Brady JM, Matthews PM. Non-invasive mapping of connections between human thalamus and cortex using diffusion imaging. *Nat Neurosci.* 2003 Jul;6(7):750-7. doi: 10.1038/nm1075.
- Belaidi AA, Bush AI. Iron neurochemistry in Alzheimer's disease and Parkinson's disease: targets for therapeutics. *J Neurochem.* 2016 Oct;139 Suppl 1:179-197. doi: 10.1111/jnc.13425
- Besser LM, Gill DP, Monsell SE, Brenowitz W, Meranus DH, Kukull W, Gustafson DR. Body mass index, weight change, and clinical progression in mild cognitive impairment and Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord.* 2014 Jan-Mar;28(1):36-43. doi: 10.1097/WAD.0000000000000005.
- Bigot C, Vanhoutte G, Verhoye M, Van der Linden A. Magnetization transfer contrast imaging reveals amyloid pathology in Alzheimer's disease transgenic mice. *Neuroimage.* 2014 Feb 15;87:111-9. doi: 10.1016/j.neuroimage.2013.10.056.
- Blautzik J, Kotz S, Brendel M, Sauerbeck J, Vettermann F, Winter Y, Bartenstein P, Ishii K, Rominger A; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Relationship Between Body Mass Index, ApoE4 Status, and PET-Based Amyloid and Neurodegeneration Markers in Amyloid-Positive Subjects with Normal Cognition or Mild Cognitive Impairment. *J Alzheimers Dis.* 2018;65(3):781-791. doi: 10.3233/JAD-170064.
- Blennow K, Hampel H, Weiner M, Zetterberg H. Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol.* 2010 Mar;6(3):131-44. doi: 10.1038/nrneurol.2010.4.
- Bozzali M, Serra L, Cercignani M. Quantitative MRI to understand Alzheimer's disease pathophysiology. *Curr Opin Neurol.* 2016 Aug;29(4):437-44. doi: 10.1097/WCO.0000000000000345.

- Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol.* 1991;82(4):239-59. doi: 10.1007/BF00308809.
- Braak H, Braak E. Alzheimer's disease affects limbic nuclei of the thalamus. *Acta Neuropathol.* 1991;81(3):261-8. doi: 10.1007/BF00305867.
- Braak H, Braak E. Frequency of stages of Alzheimer-related lesions in different age categories. *Neurobiol Aging.* 1997 Jul-Aug;18(4):351-7. doi: 10.1016/s0197-4580(97)00056-0.
- Brissot P, Pietrangelo A, Adams PC, de Graaff B, McLaren CE, Loréal O. Haemochromatosis. *Nat Rev Dis Primers.* 2018 Apr 5;4:18016. doi: 10.1038/nrdp.2018.16
- Buée L, Troquier L, Burnouf S, Belarbi K, Van der Jeugd A, Ahmed T, Fernandez-Gomez F, Caillierez R, Grosjean ME, Begard S, Barbot B, Demeyer D, Obriot H, Brion I, Buée-Scherrer V, Muraige CA, Balschun D, D'hooge R, Hamdane M, Blum D, Sergeant N. From tau phosphorylation to tau aggregation: what about neuronal death? *Biochem Soc Trans.* 2010 Aug;38(4):967-72. doi: 10.1042/BST0380967.
- Bulk M, van der Weerd L, Breimer W, Lebedev N, Webb A, Goeman JJ, Ward RJ, Huber M, Oosterkamp TH, Bossoni L. Quantitative comparison of different iron forms in the temporal cortex of Alzheimer patients and control subjects. *Sci Rep.* 2018 May 2;8(1):6898. doi: 10.1038/s41598-018-25021-7.
- Bulk M, Abdelmoula WM, Nabuurs RJA, van der Graaf LM, Mulders CWH, Mulder AA, Jost CR, Koster AJ, van Buchem MA, Natté R, Dijkstra J, van der Weerd L. Postmortem MRI and histology demonstrate differential iron accumulation and cortical myelin organization in early- and late-onset Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2018 Feb;62:231-242. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2017.10.017.
- Calderón-Garcidueñas L, Herrera-Soto A, Jury N, Maher BA, González-Maciel A, Reynoso-Robles R, Ruiz-Rudolph P, van Zundert B, Varela-Nallar L. Reduced repressive epigenetic marks, increased DNA damage and Alzheimer's disease hallmarks in the brain of humans and mice exposed to particulate urban air pollution. *Environ Res.* 2020 Apr;183:109226. doi: 10.1016/j.envres.2020.109226.
- Carmon J, Heege J, Necus JH, Owen TW, Pipa G, Kaiser M, Taylor PN, Wang Y. Reliability and comparability of human brain structural covariance networks. *Neuroimage.* 2020 Oct 15;220:117104. doi: 10.1016/j.neuroimage.2020.117104.
- Chamberlain R, Reyes D, Curran GL, Marjanska M, Wengenack TM, Poduslo JF, Garwood M, Jack CR Jr. Comparison of amyloid plaque contrast generated by T2-weighted, T2*-weighted, and susceptibility-weighted imaging methods in transgenic mouse models of Alzheimer's disease. *Magn Reson Med.* 2009 May;61(5):1158-64. doi: 10.1002/mrm.21951.
- Chen Y, Sillaire AR, Dallongeville J, Skrobala E, Wallon D, Dubois B, Hannequin D, Pasquier F; Lille YOD study group. Low Prevalence and Clinical Effect of Vascular Risk Factors in Early-Onset Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis.* 2017;60(3):1045-1054. doi: 10.3233/JAD-170367.
- Chersi F, Burgess N. The Cognitive Architecture of Spatial Navigation: Hippocampal and Striatal Contributions. *Neuron.* 2015 Oct 7;88(1):64-77. doi: 10.1016/j.neuron.2015.09.021.

- Cho H, Seo SW, Kim JH, Kim C, Ye BS, Kim GH, Noh Y, Kim HJ, Yoon CW, Seong JK, Kim CH, Kang SJ, Chin J, Kim ST, Lee KH, Na DL. Changes in subcortical structures in early- versus late-onset Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2013 Jul;34(7):1740-7. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2013.01.001.
- Clark CM, Schneider JA, Bedell BJ, Beach TG, Bilker WB, Mintun MA, Pontecorvo MJ, Hefti F, Carpenter AP, Flitter ML, Krautkramer MJ, Kung HF, Coleman RE, Doraiswamy PM, Fleisher AS, Sabbagh MN, Sadowsky CH, Reiman EP, Zehntner SP, Skovronsky DM; AV45-A07 Study Group. Use of florbetapir-PET for imaging beta-amyloid pathology. *JAMA*. 2011 Jan 19;305(3):275-83. doi: 10.1001/jama.2010.2008.
- Coalson TS, Van Essen DC, Glasser MF. The impact of traditional neuroimaging methods on the spatial localization of cortical areas. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018 Jul 3;115(27):E6356-E6365. doi: 10.1073/pnas.1801582115.
- Colin M, Dujardin S, Schraen-Maschke S, Meno-Tetang G, Duyckaerts C, Courade JP, Buée L. From the prion-like propagation hypothesis to therapeutic strategies of anti-tau immunotherapy. *Acta Neuropathol*. 2020 Jan;139(1):3-25. doi: 10.1007/s00401-019-02087-9.
- Collingwood JF, Mikhaylova A, Davidson M, Batich C, Streit WJ, Terry J, Dobson J. In situ characterization and mapping of iron compounds in Alzheimer's disease tissue. *J Alzheimers Dis*. 2005 Aug;7(4):267-72. doi: 10.3233/jad-2005-7401.
- Connor JR, Menzies SL, St Martin SM, Mufson EJ. A histochemical study of iron, transferrin, and ferritin in Alzheimer's diseased brains. *J Neurosci Res*. 1992 Jan;31(1):75-83. doi: 10.1002/jnr.490310111.
- Cova I, Clerici F, Rossi A, Cucumo V, Ghiretti R, Maggiore L, Pomati S, Galimberti D, Scarpini E, Mariani C, Caracciolo B. Weight Loss Predicts Progression of Mild Cognitive Impairment to Alzheimer's Disease. *PLoS One*. 2016 Mar 18;11(3):e0151710. doi: 10.1371/journal.pone.0151710.
- De Barros A, Arribarat G, Combis J, Chaynes P, Péran P. Matching ex vivo MRI With Iron Histology: Pearls and Pitfalls. *Front Neuroanat*. 2019 Jul 3;13:68. doi: 10.3389/fnana.2019.00068.
- 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 15;65:299-314. doi: 10.1016/j.neuroimage.2012.09.055.
- Deistung A, Schweser F, Reichenbach JR. Overview of quantitative susceptibility mapping. *NMR Biomed*. 2017 Apr;30(4). doi: 10.1002/nbm.3569.
- Dietrich O, Levin J, Ahmadi SA, Plate A, Reiser MF, Bötzel K, Giese A, Ertl-Wagner B. MR imaging differentiation of Fe²⁺ and Fe³⁺ based on relaxation and magnetic susceptibility properties. *Neuroradiology*. 2017 Apr;59(4):403-409. doi: 10.1007/s00234-017-1813-3.
- Delbeuck X, Van der Linden M, Collette F. Alzheimer's disease as a disconnection syndrome? *Neuropsychol Rev*. 2003 Jun;13(2):79-92. doi: 10.1023/a:1023832305702.

- Dong J, Chen F, Zhou D, Liu T, Yu Z, Wang Y. Phase unwrapping with graph cuts optimization and dual decomposition acceleration for 3D high-resolution MRI data. *Magn Reson Med*. 2017 Mar;77(3):1353-1358. doi: 10.1002/mrm.26174.
- Dorr AE, Lerch JP, Spring S, Kabani N, Henkelman RM. High resolution three-dimensional brain atlas using an average magnetic resonance image of 40 adult C57Bl/6J mice. *Neuroimage*. 2008 Aug 1;42(1):60-9. doi: 10.1016/j.neuroimage.2008.03.037.
- Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Hampel H, Molinuevo JL, Blennow K, DeKosky ST, Gauthier S, Selkoe D, Bateman R, Cappa S, Crutch S, Engelborghs S, Frisoni GB, Fox NC, Galasko D, Habert MO, Jicha GA, Nordberg A, Pasquier F, Rabinovici G, Robert P, Rowe C, Salloway S, Sarazin M, Epelbaum S, de Souza LC, Vellas B, Visser PJ, Schneider L, Stern Y, Scheltens P, Cummings JL. Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria. *Lancet Neurol*. 2014 Jun;13(6):614-29. doi: 10.1016/S1474-4422(14)70090-0.
- Duce JA, Tsatsanis A, Cater MA, James SA, Robb E, Wikke K, Leong SL, Perez K, Johansen T, Greenough MA, Cho HH, Galatis D, Moir RD, Masters CL, McLean C, Tanzi RE, Cappai R, Barnham KJ, Ciccotosto GD, Rogers JT, Bush AI. Iron-export ferroxidase activity of β -amyloid precursor protein is inhibited by zinc in Alzheimer's disease. *Cell*. 2010 Sep 17;142(6):857-67. doi: 10.1016/j.cell.2010.08.014. PMID: 20817278; PMCID: PMC2943017.
- Duff K, Knight H, Refolo LM, Sanders S, Yu X, Picciano M, Malester B, Hutton M, Adamson J, Goedert M, Burki K, Davies P. Characterization of pathology in transgenic mice over-expressing human genomic and cDNA tau transgenes. *Neurobiol Dis*. 2000 Apr;7(2):87-98. doi: 10.1006/nbdi.1999.0279.
- Dusek P, Jankovic J, Le W. Iron dysregulation in movement disorders. *Neurobiol Dis*. 2012 Apr;46(1):1-18. doi: 10.1016/j.nbd.2011.12.054.
- El Tannir El Tayara N, Delatour B, Le Cudennec C, Guégan M, Volk A, Dhenain M. Age-related evolution of amyloid burden, iron load, and MR relaxation times in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis*. 2006 Apr;22(1):199-208. doi: 10.1016/j.nbd.2005.10.013.
- El Tayara Nel T, Volk A, Dhenain M, Delatour B. Transverse relaxation time reflects brain amyloidosis in young APP/PS1 transgenic mice. *Magn Reson Med*. 2007 Jul;58(1):179-84. doi: 10.1002/mrm.21266.
- Ferreira D, Nordberg A, Westman E. Biological subtypes of Alzheimer disease: A systematic review and meta-analysis. *Neurology*. 2020 Mar 10;94(10):436-448. doi: 10.1212/WNL.0000000000009058.
- Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. 1975 Nov;12(3):189-98. doi: 10.1016/0022-3956(75)90026-6.
- Galton CJ, Patterson K, Xuereb JH, Hodges JR. Atypical and typical presentations of Alzheimer's disease: a clinical, neuropsychological, neuroimaging and pathological study of 13 cases. *Brain*. 2000 Mar;123 Pt 3:484-98. doi: 10.1093/brain/123.3.484.

- Garcia-Alloza M, Robbins EM, Zhang-Nunes SX, Purcell SM, Betensky RA, Raju S, Prada C, Greenberg SM, Bacsikai BJ, Frosch MP. Characterization of amyloid deposition in the APP^{swe}/PS1^{dE9} mouse model of Alzheimer disease. *Neurobiol Dis.* 2006 Dec;24(3):516-24. doi: 10.1016/j.nbd.2006.08.017.
- Ghadery C, Pirpamer L, Hofer E, Langkammer C, Petrovic K, Loitfelder M, Schwingenschuh P, Seiler S, Duering M, Jouvent E, Schmidt H, Fazekas F, Mangin JF, Chabriat H, Dichgans M, Ropele S, Schmidt R. R2* mapping for brain iron: associations with cognition in normal aging. *Neurobiol Aging.* 2015 Feb;36(2):925-32. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2014.09.013.
- Glasser MF, Coalson TS, Robinson EC, Hacker CD, Harwell J, Yacoub E, Ugurbil K, Andersson J, Beckmann CF, Jenkinson M, Smith SM, Van Essen DC. A multi-modal parcellation of human cerebral cortex. *Nature.* 2016 Aug 11;536(7615):171-178. doi: 10.1038/nature18933.
- Gong NJ, Dibb R, Bulk M, van der Weerd L, Liu C. Imaging beta amyloid aggregation and iron accumulation in Alzheimer's disease using quantitative susceptibility mapping MRI. *Neuroimage.* 2019 May 1;191:176-185. doi: 10.1016/j.neuroimage.2019.02.019.
- Gottesman RF, Schneider AL, Zhou Y, Coresh J, Green E, Gupta N, Knopman DS, Mintz A, Rahmim A, Sharrett AR, Wagenknecht LE, Wong DF, Mosley TH. Association Between Midlife Vascular Risk Factors and Estimated Brain Amyloid Deposition. *JAMA.* 2017 Apr 11;317(14):1443-1450. doi: 10.1001/jama.2017.3090.
- Grober E, Buschke H, Crystal H, Bang S, Dresner R. Screening for dementia by memory testing. *Neurology.* 1988 Jun;38(6):900-3. doi: 10.1212/wnl.38.6.900.
- Haacke EM, Liu S, Buch S, Zheng W, Wu D, Ye Y. Quantitative susceptibility mapping: current status and future directions. *Magn Reson Imaging.* 2015 Jan;33(1):1-25. doi: 10.1016/j.mri.2014.09.004.
- Hall AM, Roberson ED. Mouse models of Alzheimer's disease. *Brain Res Bull.* 2012 May 1;88(1):3-12. doi: 10.1016/j.brainresbull.2011.11.017.
- Hallgren B, Sourander P. The effect of age on the non-haemin iron in the human brain. *J Neurochem.* 1958 Oct;3(1):41-51. doi: 10.1111/j.1471-4159.1958.tb12607.x.
- Hamelin L, Lagarde J, Dorothée G, Potier MC, Corlier F, Kuhnast B, Caillé F, Dubois B, Fillon L, Chupin M, Bottlaender M, Sarazin M. Distinct dynamic profiles of microglial activation are associated with progression of Alzheimer's disease. *Brain.* 2018 Jun 1;141(6):1855-1870. doi: 10.1093/brain/awy079.
- Hare D, Ayton S, Bush A, Lei P. A delicate balance: Iron metabolism and diseases of the brain. *Front Aging Neurosci.* 2013 Jul 18;5:34. doi: 10.3389/fnagi.2013.00034.
- Harper L, Fumagalli GG, Barkhof F, Scheltens P, O'Brien JT, Bouwman F, Burton EJ, Rohrer JD, Fox NC, Ridgway GR, Schott JM. MRI visual rating scales in the diagnosis of dementia: evaluation in 184 post-mortem confirmed cases. *Brain.* 2016 Apr;139(Pt 4):1211-25. doi: 10.1093/brain/aww005.

- Hebb AO, Ojemann GA. The thalamus and language revisited. *Brain Lang.* 2013 Jul;126(1):99-108. doi: 10.1016/j.bandl.2012.06.010.
- Heneka MT, Carson MJ, El Khoury J, Landreth GE, Brosseron F, Feinstein DL, Jacobs AH, Wyss-Coray T, Vitorica J, Ransohoff RM, Herrup K, Frautschy SA, Finsen B, Brown GC, Verkhratsky A, Yamanaka K, Koistinaho J, Latz E, Halle A, Petzold GC, Town T, Morgan D, Shinohara ML, Perry VH, Holmes C, Bazan NG, Brooks DJ, Hunot S, Joseph B, Deigendesch N, Garaschuk O, Boddeke E, Dinarello CA, Breitner JC, Cole GM, Golenbock DT, Kummer MP. Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* 2015 Apr;14(4):388-405. doi: 10.1016/S1474-4422(15)70016-5.
- Hiller AJ, Ishii M. Disorders of Body Weight, Sleep and Circadian Rhythm as Manifestations of Hypothalamic Dysfunction in Alzheimer's Disease. *Front Cell Neurosci.* 2018 Dec 5;12:471. doi: 10.3389/fncel.2018.00471.
- Hoenig MC, Bischof GN, Seemiller J, Hammes J, Kukolja J, Onur ÖA, Jessen F, Fließbach K, Neumaier B, Fink GR, van Eimeren T, Drzezga A. Networks of tau distribution in Alzheimer's disease. *Brain.* 2018 Feb 1;141(2):568-581. doi: 10.1093/brain/awx353.
- Hohenfeld C, Werner CJ, Reetz K. Resting-state connectivity in neurodegenerative disorders: Is there potential for an imaging biomarker? *Neuroimage Clin.* 2018 Mar 16;18:849-870. doi: 10.1016/j.nicl.2018.03.013.
- Hong S, Beja-Glasser VF, Nfonoyim BM, Frouin A, Li S, Ramakrishnan S, Merry KM, Shi Q, Rosenthal A, Barres BA, Lemere CA, Selkoe DJ, Stevens B. Complement and microglia mediate early synapse loss in Alzheimer mouse models. *Science.* 2016 May 6;352(6286):712-716. doi: 10.1126/science.aad8373.
- Hooijmans CR, Graven C, Dederen PJ, Tanila H, van Groen T, Kiliaan AJ. Amyloid beta deposition is related to decreased glucose transporter-1 levels and hippocampal atrophy in brains of aged APP/PS1 mice. *Brain Res.* 2007 Nov 21;1181:93-103. doi: 10.1016/j.brainres.2007.08.063.
- Hsu DC, Mormino EC, Schultz AP, Amariglio RE, Donovan NJ, Rentz DM, Johnson KA, Sperling RA, Marshall GA; Harvard Aging Brain Study. Lower Late-Life Body-Mass Index is Associated with Higher Cortical Amyloid Burden in Clinically Normal Elderly. *J Alzheimers Dis.* 2016 Jun 18;53(3):1097-105. doi: 10.3233/JAD-150987.
- Hyman BT, Phelps CH, Beach TG, Bigio EH, Cairns NJ, Carrillo MC, Dickson DW, Duyckaerts C, Frosch MP, Masliah E, Mirra SS, Nelson PT, Schneider JA, Thal DR, Thies B, Trojanowski JQ, Vinters HV, Montine TJ. National Institute on Aging-Alzheimer's Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 2012 Jan;8(1):1-13. doi: 10.1016/j.jalz.2011.10.007.
- Iaccarino L, Tammewar G, Ayakta N, Baker SL, Bejanin A, Boxer AL, Gorno-Tempini ML, Janabi M, Kramer JH, Lazaris A, Lockhart SN, Miller BL, Miller ZA, O'Neil JP, Ossenkoppele R, Rosen HJ, Schonhaut DR, Jagust WJ, Rabinovici GD. Local and distant relationships between amyloid, tau and neurodegeneration in Alzheimer's Disease. *Neuroimage Clin.* 2017 Sep 25;17:452-464. doi: 10.1016/j.nicl.2017.09.016.

- Jack CR Jr, Bennett DA, Blennow K, Carrillo MC, Feldman HH, Frisoni GB, Hampel H, Jagust WJ, Johnson KA, Knopman DS, Petersen RC, Scheltens P, Sperling RA, Dubois B. A/T/N: An unbiased descriptive classification scheme for Alzheimer disease biomarkers. *Neurology*. 2016 Aug 2;87(5):539-47. doi: 10.1212/WNL.0000000000002923.
- Jack CR Jr, Wiste HJ, Schwarz CG, Lowe VJ, Senjem ML, Vemuri P, Weigand SD, Therneau TM, Knopman DS, Gunter JL, Jones DT, Graff-Radford J, Kantarci K, Roberts RO, Mielke MM, Machulda MM, Petersen RC. Longitudinal tau PET in ageing and Alzheimer's disease. *Brain*. 2018 May 1;141(5):1517-1528. doi: 10.1093/brain/awy059.
- Janocko NJ, Brodersen KA, Soto-Ortolaza AI, Ross OA, Liesinger AM, Duara R, Graff-Radford NR, Dickson DW, Murray ME. Neuropathologically defined subtypes of Alzheimer's disease differ significantly from neurofibrillary tangle-predominant dementia. *Acta Neuropathol*. 2012 Nov;124(5):681-92. doi: 10.1007/s00401-012-1044-y.
- Jankowsky JL, Slunt HH, Gonzales V, Jenkins NA, Copeland NG, Borchelt DR. APP processing and amyloid deposition in mice haplo-insufficient for presenilin 1. *Neurobiol Aging*. 2004 Aug;25(7):885-92. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2003.09.008.
- Johnson DK, Wilkins CH, Morris JC. Accelerated weight loss may precede diagnosis in Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 2006 Sep;63(9):1312-7. doi: 10.1001/archneur.63.9.1312.
- Jones DT, Graff-Radford J, Lowe VJ, Wiste HJ, Gunter JL, Senjem ML, Botha H, Kantarci K, Boeve BF, Knopman DS, Petersen RC, Jack CR Jr. Tau, amyloid, and cascading network failure across the Alzheimer's disease spectrum. *Cortex*. 2017 Dec;97:143-159. doi: 10.1016/j.cortex.2017.09.018.
- Kamphuis W, Kooijman L, Schettters S, Orre M, Hol EM. Transcriptional profiling of CD11c-positive microglia accumulating around amyloid plaques in a mouse model for Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta*. 2016 Oct;1862(10):1847-60. doi: 10.1016/j.bbadis.2016.07.007.
- Karsa A, Punwani S, Shmueli K. The effect of low resolution and coverage on the accuracy of susceptibility mapping. *Magn Reson Med*. 2019 Mar;81(3):1833-1848. doi: 10.1002/mrm.27542.
- Khalil M, Langkammer C, Ropele S, Petrovic K, Wallner-Blazek M, Loitfelder M, Jehna M, Bachmaier G, Schmidt R, Enzinger C, Fuchs S, Fazekas F. Determinants of brain iron in multiple sclerosis: a quantitative 3T MRI study. *Neurology*. 2011 Nov 1;77(18):1691-7. doi: 10.1212/WNL.0b013e318236ef0e.
- Kraeuter AK, Guest PC, Sarnyai Z. Neuropsychiatric Sequelae of Early Nutritional Modifications: A Beginner's Guide to Behavioral Analysis. *Methods Mol Biol*. 2018;1735:403-420. doi: 10.1007/978-1-4939-7614-0_28.
- Knopman DS, Gottesman RF, Sharrett AR, Tapia AL, DavisThomas S, Windham BG, Coker L, Schneider ALC, Alonso A, Coresh J, Albert MS, Mosley TH Jr. Midlife vascular risk factors and midlife cognitive status in relation to prevalence of mild cognitive impairment and dementia in later life: The Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Alzheimers Dement*. 2018 Nov;14(11):1406-1415. doi: 10.1016/j.jalz.2018.03.011.

- Kuchcinski G, Munsch F, Lopes R, Bigourdan A, Su J, Sagnier S, Renou P, Pruvo JP, Rutt BK, Dousset V, Sibon I, Tourdias T. Thalamic alterations remote to infarct appear as focal iron accumulation and impact clinical outcome. *Brain*. 2017 Jul 1;140(7):1932-1946. doi: 10.1093/brain/awx114.
- Langkammer C, Krebs N, Goessler W, Scheurer E, Ebner F, Yen K, Fazekas F, Ropele S. Quantitative MR imaging of brain iron: a postmortem validation study. *Radiology*. 2010 Nov;257(2):455-62. doi: 10.1148/radiol.10100495.
- Lehmann S, Dumurgier J, Schraen S, Wallon D, Blanc F, Magnin E, Bombois S, Bousiges O, Champion D, Cretin B, Delaby C, Hannequin D, Jung B, Hugon J, Laplanche JL, Miguet-Alfonsi C, Peoc'h K, Philippi N, Quillard-Muraine M, Sablonnière B, Touchon J, Vercurysse O, Paquet C, Pasquier F, Gabelle A. A diagnostic scale for Alzheimer's disease based on cerebrospinal fluid biomarker profiles. *Alzheimers Res Ther*. 2014 Jun 26;6(3):38. doi: 10.1186/alzrt267.
- Lei P, Ayton S, Finkelstein DI, Spoerri L, Ciccotosto GD, Wright DK, Wong BX, Adlard PA, Cherny RA, Lam LQ, Roberts BR, Volitakis I, Egan GF, McLean CA, Cappai R, Duce JA, Bush AI. Tau deficiency induces parkinsonism with dementia by impairing APP-mediated iron export. *Nat Med*. 2012 Jan 29;18(2):291-5. doi: 10.1038/nm.2613.
- Liguori C, Chiaravalloti A, Nuccetelli M, Izzi F, Sancesario G, Cimini A, Bernardini S, Schillaci O, Mercuri NB, Fabio P. Hypothalamic dysfunction is related to sleep impairment and CSF biomarkers in Alzheimer's disease. *J Neurol*. 2017 Nov;264(11):2215-2223. doi: 10.1007/s00415-017-8613-x.
- Lim CY, Tan PC, Koh C, Koh E, Guo H, Yusoff ND, See CQ, Tan T. Beery-Buktenica Developmental Test of Visual-Motor Integration (Beery-VMI): lessons from exploration of cultural variations in visual-motor integration performance of preschoolers. *Child Care Health Dev*. 2015 Mar;41(2):213-21. doi: 10.1111/cch.12190
- Lindeboom J, Schmand B, Tulner L, Walstra G, Jonker C. Visual association test to detect early dementia of the Alzheimer type. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2002 Aug;73(2):126-33. doi: 10.1136/jnnp.73.2.126.
- Liu T, Spincemaille P, de Rochefort L, Kressler B, Wang Y. Calculation of susceptibility through multiple orientation sampling (COSMOS): a method for conditioning the inverse problem from measured magnetic field map to susceptibility source image in MRI. *Magn Reson Med*. 2009 Jan;61(1):196-204. doi: 10.1002/mrm.21828.
- Liu T, Khalidov I, de Rochefort L, Spincemaille P, Liu J, Tsiouris AJ, Wang Y. A novel background field removal method for MRI using projection onto dipole fields (PDF). *NMR Biomed*. 2011 Nov;24(9):1129-36. doi: 10.1002/nbm.1670.
- Liu J, Liu T, de Rochefort L, Ledoux J, Khalidov I, Chen W, Tsiouris AJ, Wisnieff C, Spincemaille P, Prince MR, Wang Y. Morphology enabled dipole inversion for quantitative susceptibility mapping using structural consistency between the magnitude image and the susceptibility map. *Neuroimage*. 2012 Feb 1;59(3):2560-8. doi: 10.1016/j.neuroimage.2011.08.082.
- Malm TM, Iivonen H, Goldsteins G, Keksa-Goldsteine V, Ahtoniemi T, Kanninen K, Salminen A, Auriola S, Van Groen T, Tanila H, Koistinaho J. Pyrrolidine dithiocarbamate activates Akt and

- improves spatial learning in APP/PS1 mice without affecting beta-amyloid burden. *J Neurosci*. 2007 Apr 4;27(14):3712-21. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0059-07.2007.
- Manara R, Ponticorvo S, Tartaglione I, Femina G, Elefante A, Russo C, Carafa PA, Cirillo M, Casale M, Ciancio A, Di Concilio R, De Michele E, Weiskopf N, Di Salle F, Perrotta S, Esposito F. Brain iron content in systemic iron overload: A beta-thalassemia quantitative MRI study. *Neuroimage Clin*. 2019;24:102058. doi: 10.1016/j.nicl.2019.102058.
- Manjón JV, Coupé P. volBrain: An Online MRI Brain Volumetry System. *Front Neuroinform*. 2016 Jul 27;10:30. doi: 10.3389/fninf.2016.00030.
- Mantyh PW, Ghilardi JR, Rogers S, DeMaster E, Allen CJ, Stimson ER, Maggio JE. Aluminum, iron, and zinc ions promote aggregation of physiological concentrations of beta-amyloid peptide. *J Neurochem*. 1993 Sep;61(3):1171-4. doi: 10.1111/j.1471-4159.1993.tb03639.x.
- Masaldan S, Bush AI, Devos D, Rolland AS, Moreau C. Striking while the iron is hot: Iron metabolism and ferroptosis in neurodegeneration. *Free Radic Biol Med*. 2019 Mar;133:221-233. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.09.033
- Masters CL, Bateman R, Blennow K, Rowe CC, Sperling RA, Cummings JL. Alzheimer's disease. *Nat Rev Dis Primers*. 2015 Oct 15;1:15056. doi: 10.1038/nrdp.2015.56.
- Matheson GJ, Stenkrona P, Cselényi Z, Plavén-Sigraý P, Halldin C, Farde L, Cervenka S. Reliability of volumetric and surface-based normalisation and smoothing techniques for PET analysis of the cortex: A test-retest analysis using [11C]SCH-23390. *Neuroimage*. 2017 Jul 15;155:344-353. doi: 10.1016/j.neuroimage.2017.04.031.
- McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR Jr, Kawas CH, Klunk WE, Koroshetz WJ, Manly JJ, Mayeux R, Mohs RC, Morris JC, Rossor MN, Scheltens P, Carrillo MC, Thies B, Weintraub S, Phelps CH. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2011 May;7(3):263-9. doi: 10.1016/j.jalz.2011.03.005.
- Meadowcroft MD, Connor JR, Smith MB, Yang QX. MRI and histological analysis of beta-amyloid plaques in both human Alzheimer's disease and APP/PS1 transgenic mice. *J Magn Reson Imaging*. 2009 May;29(5):997-1007. doi: 10.1002/jmri.21731.
- Meadowcroft MD, Connor JR, Yang QX. Cortical iron regulation and inflammatory response in Alzheimer's disease and APPSWE/PS1 Δ E9 mice: a histological perspective. *Front Neurosci*. 2015 Jul 23;9:255. doi: 10.3389/fnins.2015.00255.
- Minkeviciene R, Ihalainen J, Malm T, Matilainen O, Keksa-Goldsteine V, Goldsteins G, Iivonen H, Leguit N, Glennon J, Koistinaho J, Banerjee P, Tanila H. Age-related decrease in stimulated glutamate release and vesicular glutamate transporters in APP/PS1 transgenic and wild-type mice. *J Neurochem*. 2008 May;105(3):584-94. doi: 10.1111/j.1471-4159.2007.05147.x.
- Moon Y, Han SH, Moon WJ. Patterns of Brain Iron Accumulation in Vascular Dementia and Alzheimer's Dementia Using Quantitative Susceptibility Mapping Imaging. *J Alzheimers Dis*. 2016;51(3):737-45. doi: 10.3233/JAD-151037.

- Morris JC. The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules. *Neurology*. 1993 Nov;43(11):2412-4. doi: 10.1212/wnl.43.11.2412-a.
- Murray ME, Graff-Radford NR, Ross OA, Petersen RC, Duara R, Dickson DW. Neuropathologically defined subtypes of Alzheimer's disease with distinct clinical characteristics: a retrospective study. *Lancet Neurol*. 2011 Sep;10(9):785-96. doi: 10.1016/S1474-4422(11)70156-9.
- Nnah IC, Wessling-Resnick M. Brain Iron Homeostasis: A Focus on Microglial Iron. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2018 Nov 23;11(4):129. doi: 10.3390/ph11040129.
- Norton S, Matthews FE, Barnes DE, Yaffe K, Brayne C. Potential for primary prevention of Alzheimer's disease: an analysis of population-based data. *Lancet Neurol*. 2014 Aug;13(8):788-94. doi: 10.1016/S1474-4422(14)70136-X.
- O'Callaghan J, Holmes H, Powell N, Wells JA, Ismail O, Harrison IF, Siow B, Johnson R, Ahmed Z, Fisher A, Meftah S, O'Neill MJ, Murray TK, Collins EC, Shmueli K, Lythgoe MF. Tissue magnetic susceptibility mapping as a marker of tau pathology in Alzheimer's disease. *Neuroimage*. 2017 Oct 1;159:334-345. doi: 10.1016/j.neuroimage.2017.08.003.
- Ojemann GA, Fedio P, Van Buren JM. Anomia from pulvinar and subcortical parietal stimulation. *Brain*. 1968 Mar;91(1):99-116. doi: 10.1093/brain/91.1.99.
- Ossenkoppele R, Cohn-Sheehy BI, La Joie R, Vogel JW, Möller C, Lehmann M, van Berckel BN, Seeley WW, Pijnenburg YA, Gorno-Tempini ML, Kramer JH, Barkhof F, Rosen HJ, van der Flier WM, Jagust WJ, Miller BL, Scheltens P, Rabinovici GD. Atrophy patterns in early clinical stages across distinct phenotypes of Alzheimer's disease. *Hum Brain Mapp*. 2015 Nov;36(11):4421-37. doi: 10.1002/hbm.22927.
- Ossenkoppele R, Pijnenburg YA, Perry DC, Cohn-Sheehy BI, Scheltens NM, Vogel JW, Kramer JH, van der Vlies AE, La Joie R, Rosen HJ, van der Flier WM, Grinberg LT, Rozemuller AJ, Huang EJ, van Berckel BN, Miller BL, Barkhof F, Jagust WJ, Scheltens P, Seeley WW, Rabinovici GD. The behavioural/dysexecutive variant of Alzheimer's disease: clinical, neuroimaging and pathological features. *Brain*. 2015 Sep;138(Pt 9):2732-49. doi: 10.1093/brain/awv191.
- Palasí A, Gutiérrez-Iglesias B, Alegret M, Pujadas F, Olabarrieta M, Liébana D, Quintana M, Álvarez-Sabín J, Boada M. Differentiated clinical presentation of early and late-onset Alzheimer's disease: is 65 years of age providing a reliable threshold? *J Neurol*. 2015 May;262(5):1238-46. doi: 10.1007/s00415-015-7698-3.
- Pankhurst Q, Hautot D, Khan N, Dobson J. Increased levels of magnetic iron compounds in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2008 Feb;13(1):49-52. doi: 10.3233/jad-2008-13105.
- Park BY, Byeon K, Lee MJ, Kim SH, Park H. The orbitofrontal cortex functionally links obesity and white matter hyperintensities. *Sci Rep*. 2020 Feb 19;10(1):2930. doi: 10.1038/s41598-020-60054-x.
- Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods*. 1985 Aug;14(3):149-67. doi: 10.1016/0165-0270(85)90031-7.

- Péran P, Hagberg G, Luccichenti G, Cherubini A, Brainovich V, Celsis P, Caltagirone C, Sabatini U. Voxel-based analysis of R2* maps in the healthy human brain. *J Magn Reson Imaging*. 2007 Dec;26(6):1413-20. doi: 10.1002/jmri.21204.
- Pirpamer L, Hofer E, Gesierich B, De Guio F, Freudenberger P, Seiler S, Duering M, Jouvent E, Duchesnay E, Dichgans M, Ropele S, Schmidt R. Determinants of iron accumulation in the normal aging brain. *Neurobiol Aging*. 2016 Jul;43:149-55. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2016.04.002.
- Pitts MW. Barnes Maze Procedure for Spatial Learning and Memory in Mice. *Bio Protoc*. 2018 Mar 5;8(5):e2744. doi: 10.21769/bioprotoc.2744.
- Radde R, Duma C, Goedert M, Jucker M. The value of incomplete mouse models of Alzheimer's disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2008 Mar;35 Suppl 1:S70-4. doi: 10.1007/s00259-007-0704-y.
- Ridgway GR, Lehmann M, Barnes J, Rohrer JD, Warren JD, Crutch SJ, Fox NC. Early-onset Alzheimer disease clinical variants: multivariate analyses of cortical thickness. *Neurology*. 2012 Jul 3;79(1):80-4. doi: 10.1212/WNL.0b013e31825dce28.
- Risacher SL, Anderson WH, Charil A, Castelluccio PF, Shcherbinin S, Saykin AJ, Schwarz AJ; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Alzheimer disease brain atrophy subtypes are associated with cognition and rate of decline. *Neurology*. 2017 Nov 21;89(21):2176-2186. doi: 10.1212/WNL.0000000000004670.
- Robinson SD, Bredies K, Khabipova D, Dymerska B, Marques JP, Schweser F. An illustrated comparison of processing methods for MR phase imaging and QSM: combining array coil signals and phase unwrapping. *NMR Biomed*. 2017 Apr;30(4):e3601. doi: 10.1002/nbm.3601.
- Rogers JT, Randall JD, Cahill CM, Eder PS, Huang X, Gunshin H, Leiter L, McPhee J, Sarang SS, Utsuki T, Greig NH, Lahiri DK, Tanzi RE, Bush AI, Giordano T, Gullans SR. An iron-responsive element type II in the 5'-untranslated region of the Alzheimer's amyloid precursor protein transcript. *J Biol Chem*. 2002 Nov 22;277(47):45518-28. doi: 10.1074/jbc.M207435200
- Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel D, George-Hyslop PH, Pericak-Vance MA, Joo SH, Rosi BL, Gusella JF, Crapper-MacLachlan DR, Alberts MJ, et al. Association of apolipoprotein E allele epsilon 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology*. 1993 Aug;43(8):1467-72. doi: 10.1212/wnl.43.8.1467.
- Swanwick GR, Coen RF, Walsh JB, Coakley D, Lawlor BA. The predictive value of hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysfunction in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry*. 1996 Jun 1;39(11):976-8. doi: 10.1016/0006-3223(95)00590-0.
- Rüb U, Stratmann K, Heinsen H, Del Turco D, Ghebremedhin E, Seidel K, den Dunnen W, Korf HW. Hierarchical Distribution of the Tau Cytoskeletal Pathology in the Thalamus of Alzheimer's Disease Patients. *J Alzheimers Dis*. 2016;49(4):905-15. doi: 10.3233/JAD-150639.
- Schubert D, Chevion M. The role of iron in beta amyloid toxicity. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995 Nov 13;216(2):702-7. doi: 10.1006/bbrc.1995.2678.

- Schweser F, Deistung A, Lehr BW, Reichenbach JR. Quantitative imaging of intrinsic magnetic tissue properties using MRI signal phase: an approach to in vivo brain iron metabolism? *Neuroimage*. 2011 Feb 14;54(4):2789-807. doi: 10.1016/j.neuroimage.2010.10.070.
- Schweser F, Sommer K, Deistung A, Reichenbach JR. Quantitative susceptibility mapping for investigating subtle susceptibility variations in the human brain. *Neuroimage*. 2012 Sep;62(3):2083-100. doi: 10.1016/j.neuroimage.2012.05.067.
- Sintini I, Graff-Radford J, Jones DT, Botha H, Martin PR, Machulda MM, Schwarz CG, Senjem ML, Gunter JL, Jack CR, Lowe VJ, Josephs KA, Whitwell JL. Tau and Amyloid Relationships with Resting-state Functional Connectivity in Atypical Alzheimer's Disease. *Cereb Cortex*. 2020 Nov 5:bhaa319. doi: 10.1093/cercor/bhaa319.
- Smith MA, Harris PL, Sayre LM, Perry G. Iron accumulation in Alzheimer disease is a source of redox-generated free radicals. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Sep 2;94(18):9866-8. doi: 10.1073/pnas.94.18.9866.
- Smith SM, Nichols TE. Threshold-free cluster enhancement: addressing problems of smoothing, threshold dependence and localisation in cluster inference. *Neuroimage*. 2009 Jan 1;44(1):83-98. doi: 10.1016/j.neuroimage.2008.03.061.
- Soto ME, Secher M, Gillette-Guyonnet S, Abellan van Kan G, Andrieu S, Nourhashemi F, Rolland Y, Vellas B. Weight loss and rapid cognitive decline in community-dwelling patients with Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2012;28(3):647-54. doi: 10.3233/JAD-2011-110713.
- Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, Bennett DA, Craft S, Fagan AM, Iwatsubo T, Jack CR Jr, Kaye J, Montine TJ, Park DC, Reiman EM, Rowe CC, Siemers E, Stern Y, Yaffe K, Carrillo MC, Thies B, Morrison-Bogorad M, Wagster MV, Phelps CH. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2011 May;7(3):280-92. doi: 10.1016/j.jalz.2011.03.003.
- Spotorno N, Acosta-Cabronero J, Stomrud E, Lampinen B, Strandberg OT, van Westen D, Hansson O. Relationship between cortical iron and tau aggregation in Alzheimer's disease. *Brain*. 2020 May 1;143(5):1341-1349. doi: 10.1093/brain/awaa089.
- Thal DR, Rüb U, Orantes M, Braak H. Phases of A beta-deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology*. 2002 Jun 25;58(12):1791-800. doi: 10.1212/wnl.58.12.1791.
- Tiepolo S, Schäfer A, Rullmann M, Roggenhofer E; Netherlands Brain Bank, Gertz HJ, Schroeter ML, Patt M, Bazin PL, Jochimsen TH, Turner R, Sabri O, Barthel H. Quantitative Susceptibility Mapping of Amyloid- β Aggregates in Alzheimer's Disease with 7T MR. *J Alzheimers Dis*. 2018;64(2):393-404. doi: 10.3233/JAD-180118.
- Todorich B, Zhang X, Connor JR. H-ferritin is the major source of iron for oligodendrocytes. *Glia*. 2011 Jun;59(6):927-35. doi: 10.1002/glia.21164.

- Tsatsanis A, Wong BX, Gunn AP, Ayton S, Bush AI, Devos D, Duce JA. Amyloidogenic processing of Alzheimer's disease β -amyloid precursor protein induces cellular iron retention. *Mol Psychiatry*. 2020 Sep;25(9):1958-1966. doi: 10.1038/s41380-020-0762-0.
- Tziortzi AC, Haber SN, Searle GE, Tsoumpas C, Long CJ, Shotbolt P, Douaud G, Jbabdi S, Behrens TE, Rabiner EA, Jenkinson M, Gunn RN. Connectivity-based functional analysis of dopamine release in the striatum using diffusion-weighted MRI and positron emission tomography. *Cereb Cortex*. 2014 May;24(5):1165-77. doi: 10.1093/cercor/bhs397.
- van Bergen JM, Li X, Hua J, Schreiner SJ, Steininger SC, Quevenco FC, Wyss M, Gietl AF, Treyer V, Leh SE, Buck F, Nitsch RM, Pruessmann KP, van Zijl PC, Hock C, Unschuld PG. Colocalization of cerebral iron with Amyloid beta in Mild Cognitive Impairment. *Sci Rep*. 2016 Oct 17;6:35514. doi: 10.1038/srep35514.
- van Rooden S, Versluis MJ, Liem MK, Milles J, Maier AB, Oleksik AM, Webb AG, van Buchem MA, van der Grond J. Cortical phase changes in Alzheimer's disease at 7T MRI: a novel imaging marker. *Alzheimers Dement*. 2014 Jan;10(1):e19-26. doi: 10.1016/j.jalz.2013.02.002.
- Vanhoutte G, Pereson S, Delgado Y Palacios R, Guns PJ, Asselbergh B, Veraart J, Sijbers J, Verhoye M, Van Broeckhoven C, Van der Linden A. Diffusion kurtosis imaging to detect amyloidosis in an APP/PS1 mouse model for Alzheimer's disease. *Magn Reson Med*. 2013 Apr;69(4):1115-21. doi: 10.1002/mrm.24680.
- Vidoni ED, Townley RA, Honea RA, Burns JM; Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Alzheimer disease biomarkers are associated with body mass index. *Neurology*. 2011 Nov 22;77(21):1913-20. doi: 10.1212/WNL.0b013e318238eec1.
- Villain N, Fouquet M, Baron JC, Mézence F, Landeau B, de La Sayette V, Viader F, Eustache F, Desgranges B, Chételat G. Sequential relationships between grey matter and white matter atrophy and brain metabolic abnormalities in early Alzheimer's disease. *Brain*. 2010 Nov;133(11):3301-14. doi: 10.1093/brain/awq203.
- Wang Z, Zeng YN, Yang P, Jin LQ, Xiong WC, Zhu MZ, Zhang JZ, He X, Zhu XH. Axonal iron transport in the brain modulates anxiety-related behaviors. *Nat Chem Biol*. 2019 Dec;15(12):1214-1222. doi: 10.1038/s41589-019-0371-x.
- Wen Q, Risacher SL, Xie L, Li J, Harezlak J, Farlow MR, Unverzagt FW, Gao S, Apostolova LG, Saykin AJ, Wu YC. Tau-Related White-Matter Alterations Along Spatially Selective Pathways. *Neuroimage*. 2020 Nov 12:117560. doi: 10.1016/j.neuroimage.2020.117560.
- Wharton S, Schäfer A, Bowtell R. Susceptibility mapping in the human brain using threshold-based k-space division. *Magn Reson Med*. 2010 May;63(5):1292-304. doi: 10.1002/mrm.22334.
- White H, Pieper C, Schmader K. The association of weight change in Alzheimer's disease with severity of disease and mortality: a longitudinal analysis. *J Am Geriatr Soc*. 1998 Oct;46(10):1223-7. doi: 10.1111/j.1532-5415.1998.tb04537.x.
- Whitwell JL, Dickson DW, Murray ME, Weigand SD, Tosakulwong N, Senjem ML, Knopman DS, Boeve BF, Parisi JE, Petersen RC, Jack CR Jr, Josephs KA. Neuroimaging correlates of

pathologically defined subtypes of Alzheimer's disease: a case-control study. *Lancet Neurol.* 2012 Oct;11(10):868-77. doi: 10.1016/S1474-4422(12)70200-4.

Winkler AM, Ridgway GR, Webster MA, Smith SM, Nichols TE. Permutation inference for the general linear model. *Neuroimage.* 2014 May 15;92(100):381-97. doi: 10.1016/j.neuroimage.2014.01.060.

Xian-hui D, Wei-juan G, Tie-mei S, Hong-lin X, Jiang-tao B, Jing-yi Z, Xi-qing C. Age-related changes of brain iron load changes in the frontal cortex in APP^{swe}/PS1 Δ E9 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J Trace Elem Med Biol.* 2015 Apr;30:118-23. doi: 10.1016/j.jtemb.2014.11.009.

Yun JY, Boedhoe PSW, Vriend C, et al. Brain structural covariance networks in obsessive-compulsive disorder: a graph analysis from the ENIGMA Consortium. *Brain.* 2020 Feb 1;143(2):684-700. doi: 10.1093/brain/awaa001.

Zeineh MM, Chen Y, Kitzler HH, Hammond R, Vogel H, Rutt BK. Activated iron-containing microglia in the human hippocampus identified by magnetic resonance imaging in Alzheimer disease. *Neurobiol Aging.* 2015 Sep;36(9):2483-500. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2015.05.022.

Zhang Y, Wei H, Cronin MJ, He N, Yan F, Liu C. Longitudinal atlas for normative human brain development and aging over the lifespan using quantitative susceptibility mapping. *Neuroimage.* 2018 May 1;171:176-189. doi: 10.1016/j.neuroimage.2018.01.008

Zheng W, Nichol H, Liu S, Cheng YC, Haacke EM. Measuring iron in the brain using quantitative susceptibility mapping and X-ray fluorescence imaging. *Neuroimage.* 2013 Sep;78:68-74. doi: 10.1016/j.neuroimage.2013.04.022.

Zhou D, Liu T, Spincemaille P, Wang Y. Background field removal by solving the Laplacian boundary value problem. *NMR Biomed.* 2014 Mar;27(3):312-9. doi: 10.1002/nbm.3064.

Zhu WZ, Zhong WD, Wang W, Zhan CJ, Wang CY, Qi JP, Wang JZ, Lei T. Quantitative MR phase-corrected imaging to investigate increased brain iron deposition of patients with Alzheimer disease. *Radiology.* 2009 Nov;253(2):497-504. doi: 10.1148/radiol.2532082324.

VII. Annexe

Manuscrit soumis à la revue « Neurobiology of Aging » le 29 septembre 2020, en cours de révision

Regular Article

Deep gray nuclei MRI-assessed iron load is associated with pattern of brain atrophy and cognitive performance in sporadic early-onset Alzheimer's disease

Grégory Kuchcinski, MD, Msc,^{a,b,c} Lucas Patin, MD,^c Renaud Lopes, PhD,^{a,b} Mélanie Leroy, Msc,^d Xavier Delbeuck, PhD,^d Adeline Rollin-Sillaire, MD,^{d,e} Thibaud Lebouvier, MD, PhD,^{a,d,e} Yi Wang, PhD,^f Pascal Spincemaille, PhD,^f Thomas Tourdias, MD, PhD,^{g,h} Lotfi Hacein-Bey, MD,ⁱ David Devos, MD, PhD,^{a,j} Florence Pasquier, MD, PhD,^{a,d,e} Xavier Leclerc, MD, PhD,^{a,b,c} Jean-Pierre Pruvo, MD, PhD,^{a,b,c} Sébastien Verclytte, MD, PhD^k

^a Univ Lille, Inserm, U1172 – LilNCog – Lille Neuroscience & Cognition, F-59000, Lille, France

^b Univ Lille, UMS 2014 – US 41 – PLBS – Plateformes Lilloises en Biologie & Santé, F-59000, Lille, France

^c CHU Lille, Department of Neuroradiology, F-59000, Lille, France

^d Memory Center – CNR MAJ, DISTALZ-LICEND, F-59000, Lille, France

^e CHU Lille, Department of Neurology, F-59000, Lille, France

^f Department of Radiology, Weill Cornell Medical College, New York, New York, USA

^g Neuroimagerie diagnostique et thérapeutique, CHU de Bordeaux, F-33000 Bordeaux, France

^h Neurocentre Magendie, Inserm, U1215, Université de Bordeaux, F-33000 Bordeaux, France

ⁱ Radiology Department, University of California Davis School of Medicine, Sacramento, California, USA.

^j CHU Lille, Department of Pharmacology, F-59000, Lille, France

^k Lille catholic hospitals, Lille catholic university, Department of Imaging, F-59000, Lille, France.

Address correspondence to: Dr Grégory Kuchcinski

CHU Lille, Department of Neuroradiology

Rue Emile Laine

F-59000 Lille, France

Phone: +33 3 20 44 64 68

Fax: +33 3 20 44 64 88

E-mail: gregory.kuchcinski@univ-lille.fr

Number of characters in the title: 153

Number of words in abstract: 166

Number of words in main text: 3954

Number of figures: 2

Number of tables: 5

Number of supplementary figures: 2

Number of supplementary tables: 1

Color should be used for Figure 1, Figure 2 and Supplementary Figure 1

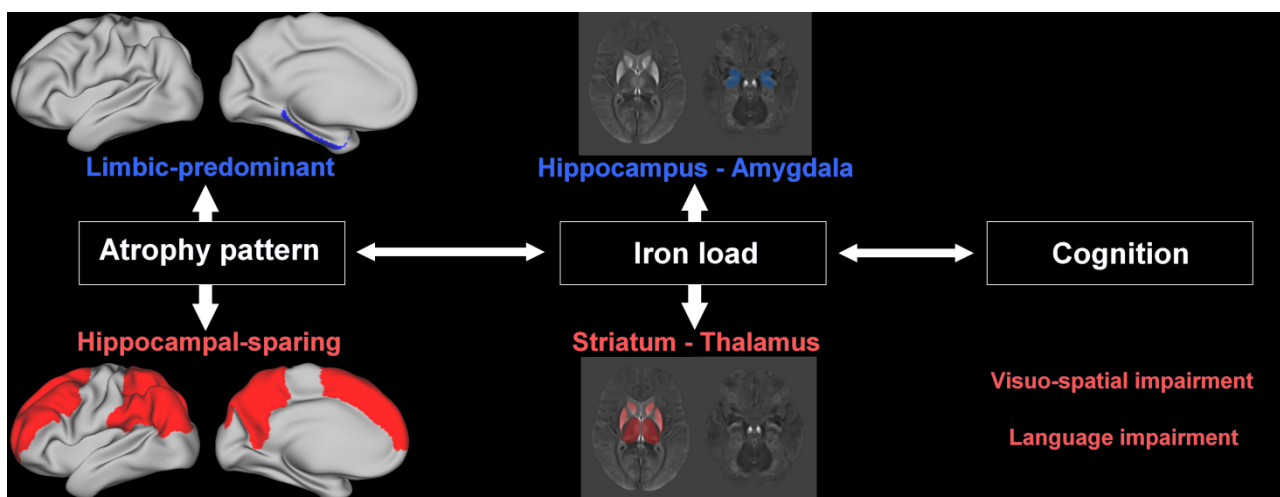
This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors

Declarations of interest: none

Highlights

1. Brain iron distribution is heterogeneous in early-onset Alzheimer's disease patients
2. Limbic-predominant pattern was associated with higher iron load in limbic structures
3. Hippocampal-sparing pattern was associated with higher iron load in deep-gray nuclei
4. Iron load in deep-gray nuclei was negatively correlated with cognitive performance
5. APOE ϵ 4 carrier status was not associated with higher iron load

Graphical abstract



Regular Article

Deep gray nuclei MRI-assessed iron load is associated with pattern of brain atrophy and cognitive performance in sporadic early-onset Alzheimer's disease

ABSTRACT

There is mounting evidence of cerebral iron metabolism disturbance in patients with Alzheimer's disease, including iron accumulation within deep gray nuclei. In a cohort of 68 consecutive patients with sporadic early-onset Alzheimer's disease (EOAD), we aimed to identify variations of iron distribution within deep gray nuclei and limbic structures in relation to brain atrophy pattern. Our secondary objective was to assess the association of iron load with cognitive performance. Iron load was estimated with MRI using quantitative susceptibility mapping (QSM) and atrophy pattern was evaluated by volumetric analyses of hippocampus and cerebral cortex. Limbic-predominant atrophy was associated with higher QSM values in the hippocampus and amygdala, whereas hippocampal-sparing pattern was associated with higher QSM values in focal areas of the striatum and thalamus. In addition, higher QSM values in the thalamus and putamen were significantly associated with poorer performances in language and visuo-spatial functions, independent from brain atrophy pattern. In EOAD patients, variations of brain iron distribution may reflect the heterogeneity of the underlying pathophysiological processes.

KEYWORDS:

Alzheimer's disease; Early-onset; MRI; Quantitative susceptibility mapping; iron

1. INTRODUCTION

Iron is present in the brain as ferric/ferrous ions. Owing to a specific electron configuration, with unpaired electrons on its peripheral orbitals, iron is a catalyst for redox reactions that are essential for brain metabolism, including adenosine triphosphate (ATP) production, neurotransmitter synthesis, myelin synthesis and oxygen transport (Belaidi and Bush, 2016). When present in excess, iron can result in cell damage from free radical overproduction. Fine regulation of iron homeostasis is therefore essential for neuronal survival. There is currently mounting evidence of iron dyshomeostasis in Alzheimer's disease (AD). Recently, there has been both in vitro and animal model demonstration that endocytic amyloidogenic processing of amyloid precursor protein (APP) and altered tau protein impairs iron export with intracellular overload (Duce et al., 2010; Lei et al., 2012; Tsatsanis et al., 2020). APOE ϵ 4 allele, the main genetic risk factor for AD, has been associated with higher cerebrospinal fluid (CSF) ferritin concentration (Ayton et al., 2015). Also, it was shown that beta-amyloid peptide aggregation (Mantyh et al., 1993; Becerril-Ortega et al., 2014) and toxicity (Schubert and Chevion, 1995) were amplified in an iron-enriched environment (Ayton et al., 2018). Neuropathological studies have further confirmed that brain iron overload was associated with accelerated cognitive decline in patients with AD pathology (Ayton et al., 2019). The combination of these findings suggests that brain iron overload may act as a catalyst for neurodegenerative processes in the human brain.

Previous studies have shown the usefulness of MRI to evaluate the iron load distribution in the brain (Langkammer et al., 2010; Langkammer et al., 2014). MRI methods are based on the paramagnetic properties of ferric/ferrous iron that are responsible for local disturbances of the magnetic field leading to local phase shift of the MR signal. Among these techniques, quantitative susceptibility mapping (QSM) is increasingly used to estimate the content in paramagnetic substance in gray matter structures by the use of the phase mapping (Wang and Liu, 2015). In patients with late-onset AD (LOAD), MRI studies using QSM have consistently reported iron overload within the deep gray nuclei (Acosta-Cabronero et al., 2013; Moon et al., 2016; Tiepolt et

al., 2018).

Early-Onset AD (EOAD) is defined by an age at onset inferior to 65 years-old and is characterized by a higher frequency of atypical variants (Balasa et al., 2011; Palasi et al., 2015). Indeed, significant phenotypical heterogeneity of AD is widely recognized, as several atypical variants have been described other than the typical limbic-predominant subtype, which is characterized by an amnesic presentation, a pattern of brain atrophy preferentially localized to the limbic areas and a high frequency of APOE ϵ 4 carriers (Ferreira et al., 2020). Atypical variants are characterized by a hippocampal-sparing pattern of neurofibrillary tangles distribution and brain atrophy that relatively spare the limbic structures but more severely affects neocortical areas (Whitwell et al., 2012; Cho et al., 2013; Risacher et al., 2017). Patient-reported symptoms and neuropsychological assessments more often reflect impairment of executive, language and/or visuospatial functions (Palasi et al., 2015), in line with the topography of neocortical atrophy (Ridgway et al., 2012; Ossenkoppele et al., 2015a; Ossenkoppele et al., 2015b).

To the best of our knowledge, iron load and its relation with AD subtypes has not yet been reported in the subgroup of EOAD patients. We therefore undertook this QSM-MRI study and hypothesized that the distribution of iron in deep gray nuclei and limbic structures was related to patterns of brain atrophy and APOE ϵ 4; we further hypothesized that the degree of iron load would negatively impact cognitive performance.

The primary aim of our study was to evaluate the relationship between brain atrophy pattern and iron load in the deep gray nuclei and limbic structures. Our secondary objective was to assess the impact of iron load on cognitive performance.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1 Ethical considerations

The present study was approved by our local institutional investigational review board (CPP Nord-Ouest I; reference: 110-05). Written informed consent was obtained from all participants and/or their relatives.

2.2 Study Population

In 2009, memory clinics from Lille, Paris and Rouen, France initiated an EOAD cohort called COMAJ (Chen et al., 2017). In 2016, an ancillary MR study was added to the core study in the Lille centre and a sequence dedicated to iron quantification (QSM) was integrated to the standardized MRI examination.

All EOAD patients included in the present study were selected from the COMAJ cohort and investigated at Lille University's Medical Memory Resources and Research Center (a reference center for early-onset dementia) in Lille, France. Inclusion criteria were as follows: (a) participants meet National Institute on Aging - Alzheimer's Association (NIA-AA) criteria for "probable AD dementia with intermediate evidence of AD patho-physiological process" (McKhann et al., 2011) and International Working Group (IWG) 2 criteria (Dubois et al., 2014); (b) participants must be ≤ 65 years of age at onset; (c) evidence of abnormal CSF biomarkers as follows : A β 42 below 700 pg/mL and total tau or phosphorylated tau above 400 and 60 pg/mL, respectively (Lehmann et al., 2014). The final diagnosis of sporadic EOAD was based upon extensive reviewing of clinical history, CSF biomarkers, neuropsychological and imaging data by a group of expert neurologists. Each EOAD patient's family history was extensively reviewed, to exclude individuals with early-onset dementia in first-degree relatives or those with a confirmed mutation in the PSEN1, PSEN2, or APP genes. Initial assessment included clinical history, neurological and neuropsychological examinations, APOE genotyping, 3T MR and ^{18}F -FDG PET imaging, and CSF biomarker assays.

2.3 Neuropsychological assessment

Patients underwent thorough neuropsychological testing. As part of the clinical evaluation, all patients were rated for the Clinical Dementia Rating Scale (CDR) (Morris, 1993) and the Mini Mental State Examination (MMSE) (Folstein et al., 1975). If the MMSE score was above 10, a more extensive neuropsychological evaluation was performed. A series of specific neuropsychological tests were administered to cover 4 major cognitive domains. For the purpose of this study, episodic memory was evaluated by the Visual Association Test (VAT) (Lindeboom et al., 2002), language by the DO80, a confrontation naming test with 80 images (Deloche and Hannequin, 1997), visuospatial function by the Beery-Buktenica developmental test of visual-motor integration (Beery VMI test) (Lim et al., 2015) and executive function by lexical verbal fluency (the letter P) (Godefroy, 2008).

2.4 MR imaging

All MR examinations were performed on a 3T MR scanner (Philips Achieva, Philips Healthcare, Best, the Netherlands), using an 8-channel phased-array head coil and whole-body coil transmission. The imaging protocol included an anatomical 3D T1 sequence and a 3D gradient-echo (GRE) multiecho sequence for QSM analysis. Three-dimensional turbo field echo T1-weighted sequences were acquired as series of 160 sagittal slices, with the following parameters: field of view=256x256x160 mm, matrix=256x256x160, isotropic voxel size: 1x1x1 mm, TR=9.9 ms, TE=4.6 ms, and flip angle=8°. Three-dimensional GRE multiecho sequences were acquired as series of 80 axial slices, with the following parameters: field of view=256x256x160 mm, matrix=256x256x80, voxel size: 1x1x2 mm, TR=54ms, TEs=4.2, 9.5, 14.8, 20.1, 25.4, 30.8, 36.1 and 41.4 ms, and flip angle=15°.

2.5 Imaging analysis

2.5.1 Segmentation of 3DT1 images

The volBrain software (Manjon and Coupé, 2016) was used on 3DT1 images to perform automatic segmentation and volumetry of the total intracranial volume, brain, cortical gray matter and the following regions of interest (ROI): caudate, putamen, globus pallidus, thalamus, hippocampus, amygdala and nucleus accumbens. Segmentation was visually checked by a board certified neuroradiologist (GK, 8 years of experience) who was blinded to the clinical data and was manually corrected if necessary. Volumes were expressed as percentage of total intracranial volume.

To reflect the pattern of brain atrophy, we calculated the ratio between hippocampal volume and cortical total volume (HV:CTV ratio). This MR metric, which has been reported to discriminate between pathologically defined subtypes (Whitwell et al., 2012), is associated with cognitive performance and rate of decline (Risacher et al., 2017). A lower HV:CTV ratio indicates a limbic predominant pattern with preferential hippocampal atrophy relative to the cortex. On the other hand, a higher HV:CTV ratio indicates a hippocampal sparing pattern with preferential atrophy of the neocortex relative to the hippocampus (Risacher et al., 2017).

2.5.2 QSM analysis

QSM maps were automatically generated from 3D GRE multiecho data using the MEDI toolbox (Liu et al., 2012). Brain binary masks were created from 3DT1 images using volBrain segmentations and co-registered with GRE magnitude images using FSL's *flirt* function (v6.0.1 fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl). Phase images were unwrapped using an image quality guided region-growing algorithm. Background field contribution was eliminated using PDF (Projection onto Dipole Fields) and a spherical mean value operation. QSM maps were then calculated from corrected phase images using MEDI algorithm (Morphological-Enabled Dipole Inversion) with a regularization parameter set to 1000. QSM maps were normalized using a reference ROI in the deep frontal white matter (Ayton et al., 2017).

QSM maps were analyzed in two ways (**Supplementary Figure 1**). First, we performed ROI-based analyses in the patients' native space. For this purpose, each 3DT1 image and GRE magnitude

image were co-registered using FSL's *flirt* function and the transformation was applied to ROI binary masks. Mean QSM values were collected within each ROI (caudate, putamen, globus pallidus, thalamus, hippocampus, amygdala and nucleus accumbens). Second, we performed voxel-based analyses in the MNI space to explore within ROI spatial heterogeneity. For this purpose, each 3DT1 image was skull-stripped using FSL's *bet* function and normalized to MNI template through nonlinear registration with the *antsRegistration* tool of ANTS software (<http://stnava.github.io/ANTs/>). Transformations matrices were then applied to GRE magnitude images and QSM maps. To analyze whether the topography of iron accumulation in some deep nuclei could be related with some particular cortical areas (through cortical to deep gray matter connectivity), we used thalamus (Behrens et al., 2003) and striatum (Tziortzi et al., 2013) connectivity atlases available at fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/Atlases.

2.6 Statistical analysis

Statistical analyses were performed using SPSS version 26 (IBM corp., Armonk, NY, USA) and MATLAB (MATLAB 2014a, The MathWorks, Natick, MA, USA). Statistical analyses were first conducted at the ROI level using generalized linear models. We evaluated the association between brain atrophy pattern and QSM. QSM was defined as the dependent variable and HV:CTV ratio as an independent variable. Potential confounding factors (age, sex and disease severity (MMSE)) were included as covariables. Then, we evaluated the association between QSM and each neuropsychological test scores, with age, sex, MMSE as covariables. We also tested whether the association was independent from brain atrophy pattern by adding HV:CTV ratio as a covariable. Finally, we evaluated the association between APOE ϵ 4 genotype, which has been proposed as a genetic factor involved in brain iron homeostasis (Ayton et al., 2015), and QSM, with age, sex, MMSE as covariables. For all analyses, false discovery rate (FDR) correction was used to correct for multiple testing. Significant results were reported for adjusted p-values below 0.05.

To explore within ROI heterogeneity, similar analyses were performed at the voxel level on QSM

maps wrapped in the MNI space and masked for deep gray nuclei and limbic structures by using the Permutation Analysis of Linear Models package (Winkler et al., 2014). Threshold-free cluster enhancement statistics (combining the spatial extent of signals) were computed (Smith and Nichols, 2009). This non-parametric, permutation-based approach for statistical thresholding provides cluster-based inference without the need to specify an arbitrary cluster-forming threshold (as required when applying Gaussian random field theory). First, we calculated the association between QSM and HV:CTV ratio with age, sex and MMSE as covariables. Then, we tested the association with neuropsychological test scores with age, sex, MMSE as covariables. Finally, we tested the association with APOE ϵ 4 genotype, with age, sex and MMSE as covariables. Familywise error rate correction was then used to correct for multiple comparisons, and significant clusters were reported for corrected p-values below 0.05.

3. RESULTS

3.1 Demographic, clinical and MRI data

Sixty-eight EOAD patients with brain iron quantification and a concomitant neuropsychological assessment were included (Flowchart, **Supplementary Figure 2**). The characteristics of the study population are presented in **Table 1**. Mean QSM values in the ROI are presented in **Table 2**.

3.2 Association between brain atrophy pattern and iron distribution in deep gray nuclei and limbic structures

ROI analyses demonstrated that pattern of brain atrophy had a significant association with QSM, independent of age, sex and MMSE score (**Table 3**). A lower HV:CTV ratio, indicating a limbic-predominant pattern, was associated with higher QSM values in limbic structures (negative β), namely the left and right hippocampus, the left amygdala. Conversely, a higher HV:CTV ratio, indicating a hippocampal sparing pattern, was associated with higher QSM values in the left caudate and the right putamen (positive β).

Voxelwise analyses were performed to explore more precisely the distribution of iron within deep gray nuclei and limbic structures (**Figure 1**). Results confirmed the former associations and showed spatial heterogeneity within regions of interest. A higher HV:CTV ratio (hippocampal-sparing pattern) was significantly associated with higher QSM values in clusters distributed in the striatum and thalamus. Interestingly, based on the connectivity atlases, we found that the significant clusters were located in subdivisions connected to prefrontal (anterior parts of the caudate and putamen) and posterior parietal cortex (superior part of the pulvinar).

3.3 Association between iron load and cognitive performance

QSM values in deep gray nuclei were significantly associated with cognitive performance (**Table 4**). Particularly, patients with higher QSM values in thalamus and globus pallidus performed significantly worse in visuo-spatial tests. Patients with left thalamus higher QSM values performed

significantly worse in language. After correcting for multiple comparisons, we did not find significant associations with executive function or episodic memory. After adding the HV:CTV ratio to the models (**Supplementary Table 1**), visuo-spatial performance remained significantly associated with QSM values in the globus pallidus and the right thalamus while language performance remained associated with QSM values in the left thalamus only .

Voxelwise analyses additionally demonstrated location of the clusters which correlated significantly with language and visuo-spatial performance in the thalamus and putamen (**Figure 2**). Clusters associated with visuo-spatial performance were located in right thalamus and putamen and were connected to the posterior parietal cortex. Clusters associated with language were mainly located in left thalamus and putamen and were connected to the prefrontal and posterior parietal cortex, respectively.

3.4 Association of APOE ϵ 4 genotype with iron load in deep gray nuclei and limbic structures

Finally, we did not find a significant association of APOE ϵ 4 genotype with QSM values in deep gray nuclei or limbic structures (**Table 5**).

4. DISCUSSION

In a cohort of 68 EOAD patients explored by QSM-MRI, we found that: (a) iron distribution within deep gray nuclei and limbic structures was related to brain atrophy pattern; (b) iron burden was associated with cognitive performance, independently from atrophy; (c) iron burden was not associated with APOE4 genotype.

4.1 Iron burden in AD

To the best of our knowledge, this is the first study to explore the determinants of iron distribution and its consequences in EOAD patients. Autopsy studies have long shown increased amounts of iron oxide and/or ferritin particles in the superior temporal gyrus or frontal lobe of LOAD patients (Connor et al., 1992) using synchrotron X-ray absorption techniques (Collingwood et al., 2005) or superconducting Quantum Interference Device (SQUID) magnetometry (Pankhurst et al., 2008). In LOAD patients, iron overload has also been reported in vivo using MRI, with variations concerning the topography depending on technical issues and study populations. Using relaxometry techniques, some authors have first reported higher iron content in deep-gray matter structures such as the caudate nucleus and the globus pallidus (Bartzokis et al., 1994) but failed to identify differences in structures which are affected earlier and more severely, such as the hippocampus (Campeau et al., 1997; Damulina et al., 2020). Using high-field MRI and/or phase-based techniques such as QSM, wider differences were reported, but results regarding the hippocampus and amygdala were still inconsistent (Zhu et al., 2009) (Acosta-Cabronero et al., 2013) (Du et al., 2018; Tiepolt et al., 2018; van Rooden et al., 2014). The specificity of these modifications was questioned as Moon et al. showed similar patterns of changes in patients with vascular dementia (Moon et al., 2016). Some authors thus have considered iron accumulation to be a late epiphenomenon secondary to neurodegeneration. In this context, the study of AD subtypes, that we present here, is of interest as it can shed light on the relationship between the neurodegenerative process and iron accumulation.

4.2 Relationship between brain atrophy pattern and iron distribution

In this specific population of EOAD patients, we have confirmed the hypothesis that the pattern of brain atrophy, a surrogate marker of neurodegeneration, is significantly associated with the distribution of iron in deep gray nuclei and limbic structures. Indeed, in patients with a limbic-predominant atrophy pattern, iron load was more pronounced in limbic structures (hippocampus, amygdala). Conversely, in patients with hippocampal-sparing atrophy, iron load was higher in the striatum and thalamus. It is noteworthy that in the latter, iron accumulation did not involve all gray nuclei but instead was confined to the subdivisions of those nuclei which are connected to the posterior parietal and prefrontal cortical areas, also the most affected by atrophy in the literature (Harper et al., 2016). Several hypotheses can be considered to explain the link between pattern of atrophy and iron distribution.

First, the iron load measured by QSM-MRI could directly reflect the distribution of histological lesions of AD (Spotorno et al., 2020; van Bergen et al., 2016). This hypothesis, which is often put forward, is based on observations reporting high iron content in amyloid plaques (Meadowcroft et al., 2009) and neurofibrillary tangles (Smith et al., 1997) in brain samples from AD patients. In our study, the iron distribution could thus reveal more severe histological damage to the striatum and thalamus in atypical AD subtypes, in accordance with pathological (Janocko et al., 2012) and structural imaging data (Cho et al., 2013), whereas these structures are affected late by amyloid plaques (Thal et al., 2002) and/or neurofibrillary tangles (Braak and Braak, 1991b) in the classical description of disease progression. Our data are also in agreement with the work of Murray et al. who reported a higher pathological burden in the amygdala of limbic-predominant subtypes (Murray et al., 2011). In addition, it should be noted that previous work focusing on the thalamus has shown that AD-related tau cytoskeletal pathology was not homogeneously distributed but instead had a predilection for certain nuclei involved in the limbic network (Braak and Braak, 1991a) (Rüb et al., 2016). Using QSM-MRI technique we may have captured for the first time in vivo the focal nature of these alterations.

The hypothesis of a perfect correlation between iron burden and histological lesions is nevertheless mitigated by several studies reporting a weak correlation between iron burden and AD proteinopathy using ex vivo pathology (Ayton et al., 2019; Bulk et al., 2018). This suggests that iron distribution in AD does not solely reflect A β plaques, and that iron-rich activated microglia (Zeineh et al., 2015) or myelin alteration (O'Callaghan et al., 2017) could independently contribute to QSM contrast changes.

Second, the accumulation of iron in deep gray matter could be related to disconnection from atrophic cortical areas. Similar accumulation has been reported in the basal ganglia of patients with lesions likely to induce diaschisis with the cerebral cortex, such as brain infarcts (Kuchcinski et al., 2017) or multiple sclerosis lesions (Khalil et al., 2011). In AD, this theory (Bozzali et al., 2016) is based on imaging studies showing early alterations in white matter tracts, including the cingulum, the uncinate fasciculus and the fornix, and predicting the spatial extension of cortical hypometabolism (Villain et al., 2010). Neuropsychological studies exploring the effects of disconnection between cerebral areas on cognitive function also support this hypothesis (Delbeuck et al., 2003).

Third, iron overload could predate, and promote the disease process, in conjunction with genetic or environmental risk factors. In vitro and in vivo studies have indeed shown the catalytic effect of a high iron concentration on proteinopathy associated with AD (Mantyh et al., 1993) (Schubert and Chevion, 1995) (Ayton et al., 2018). It has been hypothesized that iron might also directly contribute to neurodegeneration via ferroptosis, a recently described regulated cell death pathway through lipid peroxidation (Masaldan et al., 2019). Regarding genetic risk factors for iron overload, we did not find any evidence of the effect of the APOE ϵ 4 allele, in line with others (Bulk et al., 2018) (Ayton et al., 2019). This is however in contradiction with previous studies which had suggested a link between APOE ϵ 4 status and brain iron homeostasis (Ayton et al., 2015; van Bergen et al., 2016). Ayton et al. reported that CSF ferritin levels were strongly associated with CSF apolipoprotein E levels and increased by APOE ϵ 4 allele. They hypothesized that the APOE ϵ 4

allele reduces iron clearance because of its low affinity to HDL and thus increases the risk of developing AD pathology (Ayton et al., 2015). Even if APOE ϵ 4 status did not explain variations in iron load observed in our cohort, we cannot exclude that other genetic polymorphism may be specifically involved in EOAD patients.

4.3 Iron load and cognitive performance

Our data support the abundant evidence for a negative effect of iron load on clinical outcome independently of brain atrophy. A previous imaging study on normal aging has previously reported a correlation between globus pallidus iron overload and decreased cognitive performance (Ghadery et al., 2015). Similarly, in AD patients, iron load measured by MRI (Zhu et al., 2009) or in post-mortem tissue samples (Ayton et al., 2019) has been associated with poor cognitive performance and faster cognitive decline. The relationship between iron load in deep gray nuclei and cognitive functions, which are rather associated with the integrity of cortical networks, is not straightforward. In this study, lower performance in visuo-spatial and language functions were found to be associated with higher iron load in parts of the deep nuclei connected to associative cortical areas specifically involved in these functions (right posterior parietal cortex for visuo-spatial function, left prefrontal and parietal cortex for language). The left/right asymmetry of our results reflects the hemispheric lateralization of language and visuo-spatial functions. Iron overload in the deep gray nuclei could thus either indirectly reflect or play a causative role in cortico-thalamic and cortico-striatal loops involved in cognitive functions (Barbas et al., 2013; Chersi and Burgess, 2015). This finding is in agreement with reports of brain stimulation studies of anomia induced by stimulation of the left superior pulvinar and left subcortical parietal white matter (Ojemann et al., 1968; Hebb and Ojemann, 2013) and anarthria induced by stimulation of the left putamen (Gil Robles et al., 2005).

4.4 Limitations

Our study has some limitations. First, the sample size could be considered as relatively small but is explained by the low prevalence of EOAD. We acknowledge that the absence of control subjects did not allow to assess possible shared findings of AD across various subtypes. Then, we did not perform a direct correlation between cortical thinning in a specific location and iron accumulation in connected deep nuclei. Instead, we used an indirect association through the HV:CTV ratio whose lower values were interpreted as “hippocampal-sparing” and therefore “global” cortical atrophy. Nevertheless, results were interpreted on the basis of connectivity atlases (Behrens et al., 2003; Tziortzi et al., 2013) and were in agreement with the pattern of cortical atrophy previously reported in EOAD patients (Harper et al., 2016). Finally, in order to preserve reasonable acquisition times adapted to demented patients, the spatial resolution of our protocol was limited (1x1x2mm) and did not allow for accurate and reproducible evaluation of cortical iron load.

5. CONCLUSION

In conclusion, ours is the first study of EOAD patients which demonstrates variations of iron distribution within deep gray nuclei in relation to patterns of brain atrophy and significance of cognitive performance alteration. This suggests that the pattern of atrophy should be taken into account when stratifying patients in therapeutic trials targeting iron metabolism. Larger prospective and longitudinal studies are expected to confirm these results.

REFERENCES

- Acosta-Cabronero, J., Williams, G.B., Cardenas-Blanco, A., Arnold, R.J., Lupson, V., Nestor, P.J., 2013. In vivo quantitative susceptibility mapping (QSM) in Alzheimer's disease. *PLoS One* 8(11), e81093. doi: 10.1371/journal.pone.0081093.
- Ayton, S., Wang, Y., Diouf, I., Schneider, J.A., Brockman, J., Morris, M.C., Bush, A.I., 2019. Brain iron is associated with accelerated cognitive decline in people with Alzheimer pathology. *Mol Psychiatry* 18(10), 019-0375. doi: 10.1038/s41380-019-0375-7.
- Ayton, S., Diouf, I., Bush, A.I., 2018. Evidence that iron accelerates Alzheimer's pathology: a CSF biomarker study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 89(5), 456-460. doi: 10.1136/jnnp-2017-316551.
- Ayton, S., Fazlollahi, A., Bourgeat, P., Raniga, P., Ng, A., Lim, Y.Y., Diouf, I., Farquharson, S., Fripp, J., Ames, D., Doecke, J., Desmond, P., Ordidge, R., Masters, C.L., Rowe, C.C., Maruff, P., Villemagne, V.L., Salvado, O., Bush, A.I., 2017. Cerebral quantitative susceptibility mapping predicts amyloid- β -related cognitive decline. *Brain* 140(8), 2112-2119. doi: 10.1093/brain/awx137.
- Ayton, S., Faux, N.G., Bush, A.I., 2015. Ferritin levels in the cerebrospinal fluid predict Alzheimer's disease outcomes and are regulated by APOE. *Nat Commun* 6(6760). doi: 10.1038/ncomms7760.
- Balasa, M., Gelpi, E., Antonell, A., Rey, M.J., Sánchez-Valle, R., Molinuevo, J.L., Lladó, A., 2011. Clinical features and APOE genotype of pathologically proven early-onset Alzheimer disease. *Neurology* 76(20), 1720-1725. doi: 10.1212/WNL.0b013e31821a44dd.
- Barbas, H., García-Cabezas, M., Zikopoulos, B., 2013. Frontal-thalamic circuits associated with language. *Brain Lang* 126(1), 49-61. doi: 10./j.bandl.2012.10.001.
- Bartzokis, G., Sultzer, D., Mintz, J., Holt, L.E., Marx, P., Phelan, C.K., Marder, S.R., 1994. In vivo evaluation of brain iron in Alzheimer's disease and normal subjects using MRI. *Biol Psychiatry* 35(7), 480-487.
- Becerril-Ortega, J., Bordji, K., Fréret, T., Rush, T., Buisson, A., 2014. Iron overload accelerates neuronal amyloid- β production and cognitive impairment in transgenic mice model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 35(10), 2288-2301. doi: 10./j.neurobiolaging.2014.04.019.
- Behrens, T.E., Johansen-Berg, H., Woolrich, M.W., Smith, S.M., Wheeler-Kingshott, C.A., Boulby, P.A., Barker, G.J., Sillery, E.L., Sheehan, K., Ciccarelli, O., Thompson, A.J., Brady, J.M., Matthews, P.M., 2003. Non-invasive mapping of connections between human thalamus and cortex using diffusion imaging. *Nat Neurosci* 6(7), 750-757. doi: 10.1038/nn1075.
- Belaidi, A.A., Bush, A.I., 2016. Iron neurochemistry in Alzheimer's disease and Parkinson's disease: targets for therapeutics. *J Neurochem* 139 Suppl 1, 179-197. doi: 10./jnc.13425.
- Bozzali, M., Serra, L., Cercignani, M., 2016. Quantitative MRI to understand Alzheimer's disease pathophysiology. *Current Opinion in Neurology* 29(4), 437-444. doi: 10.1097/wco.0000000000000345.
- Braak, H., Braak, E., 1991a. Alzheimer's disease affects limbic nuclei of the thalamus. *Acta Neuropathol* 81(3), 261-268. doi: 10.1007/BF00305867.
- Braak, H., Braak, E., 1991b. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 82(4), 239-259. doi: 10.1007/BF00308809.
- Bulk, M., Abdelmoula, W.M., Nabuurs, R.J.A., van der Graaf, L.M., Mulders, C.W.H., Mulder, A.A., Jost, C.R., Koster, A.J., van Buchem, M.A., Natté, R., Dijkstra, J., van der Weerd, L., 2018. Postmortem MRI and histology demonstrate differential iron accumulation and cortical myelin organization in early- and late-onset Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 62, 231-242. doi: 10./j.neurobiolaging.2017.10.017.
- Campeau, N.G., Petersen, R.C., Felmlee, J.P., O'Brien, P.C., Jack, C.R., Jr., 1997. Hippocampal transverse relaxation times in patients with Alzheimer disease. *Radiology* 205(1), 197-201.
- Chen, Y., Sillaire, A.R., Dallongeville, J., Skrobala, E., Wallon, D., Dubois, B., Hannequin, D.,

- Pasquier, F., 2017. Low Prevalence and Clinical Effect of Vascular Risk Factors in Early-Onset Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis* 60(3), 1045-1054. doi: 10.3233/JAD-170367.
- Chersi, F., Burgess, N., 2015. The Cognitive Architecture of Spatial Navigation: Hippocampal and Striatal Contributions. *Neuron* 88(1), 64-77. doi: 10./j.neuron.2015.09.021.
- Cho, H., Seo, S.W., Kim, J.H., Kim, C., Ye, B.S., Kim, G.H., Noh, Y., Kim, H.J., Yoon, C.W., Seong, J.K., Kim, C.H., Kang, S.J., Chin, J., Kim, S.T., Lee, K.H., Na, D.L., 2013. Changes in subcortical structures in early- versus late-onset Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 34(7), 1740-1747. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2013.01.001.
- Collingwood, J.F., Mikhaylova, A., Davidson, M., Batich, C., Streit, W.J., Terry, J., Dobson, J., 2005. In situ characterization and mapping of iron compounds in Alzheimer's disease tissue. *J Alzheimers Dis* 7(4), 267-272.
- Connor, J.R., Snyder, B.S., Beard, J.L., Fine, R.E., Mufson, E.J., 1992. Regional distribution of iron and iron-regulatory proteins in the brain in aging and Alzheimer's disease. *J Neurosci Res* 31(2), 327-335. doi: 10.1002/jnr.490310214.
- Damulina, A., Pirpamer, L., Soellradl, M., Sackl, M., Tinauer, C., Hofer, E., Enzinger, C., Gesierich, B., Duering, M., Ropele, S., Schmidt, R., Langkammer, C., 2020. Cross-sectional and Longitudinal Assessment of Brain Iron Level in Alzheimer Disease Using 3-T MRI. *Radiology* 296(3), 619-626. doi: 10./radiol.2020192541.
- Delbeuck, X., Van der Linden, M., Collette, F., 2003. Alzheimer's disease as a disconnection syndrome? *Neuropsychol Rev* 13(2), 79-92. doi: 10.1023/a:1023832305702.
- Deloche, G., Hannequin, D., 1997. DO80: Epreuve de Dénomination Orale d'Images. Editions du Centre de Psychologie Appliquée, Paris, France.
- Du, L., Zhao, Z., Cui, A., Zhu, Y., Zhang, L., Liu, J., Shi, S., Fu, C., Han, X., Gao, W., Song, T., Xie, L., Wang, L., Sun, S., Guo, R., Ma, G., 2018. Increased Iron Deposition on Brain Quantitative Susceptibility Mapping Correlates with Decreased Cognitive Function in Alzheimer's Disease. *ACS Chem Neurosci* 9(7), 1849-1857. doi: 10.1021/acscchemneuro.8b00194.
- Dubois, B., Feldman, H.H., Jacova, C., Hampel, H., Molinuevo, J.L., Blennow, K., DeKosky, S.T., Gauthier, S., Selkoe, D., Bateman, R., Cappa, S., Crutch, S., Engelborghs, S., Frisoni, G.B., Fox, N.C., Galasko, D., Habert, M.O., Jicha, G.A., Nordberg, A., Pasquier, F., Rabinovici, G., Robert, P., Rowe, C., Salloway, S., Sarazin, M., Epelbaum, S., de Souza, L.C., Vellas, B., Visser, P.J., Schneider, L., Stern, Y., Scheltens, P., Cummings, J.L., 2014. Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria. *Lancet Neurol* 13(6), 614-629. doi: 10./S1474-4422(14)70090-0.
- Duce, J.A., Tsatsanis, A., Cater, M.A., James, S.A., Robb, E., Wikke, K., Leong, S.L., Perez, K., Johanssen, T., Greenough, M.A., Cho, H.H., Galatis, D., Moir, R.D., Masters, C.L., McLean, C., Tanzi, R.E., Cappai, R., Barnham, K.J., Ciccotosto, G.D., Rogers, J.T., Bush, A.I., 2010. Iron-export ferroxidase activity of β -amyloid precursor protein is inhibited by zinc in Alzheimer's disease. *Cell* 142(6), 857-867. doi: 10./j.cell.2010.08.014.
- Ferreira, D., Nordberg, A., Westman, E., 2020. Biological subtypes of Alzheimer disease: A systematic review and meta-analysis. *Neurology* 94(10), 436-448. doi: 10./WNL.0000000000009058.
- Folstein, M.F., Folstein, S.E., McHugh, P.R., 1975. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 12(3), 189-198. doi: 10.1016/0022-3956(75)90026-6.
- Ghadery, C., Pirpamer, L., Hofer, E., Langkammer, C., Petrovic, K., Loitfelder, M., Schwingenschuh, P., Seiler, S., Duering, M., Jouvent, E., Schmidt, H., Fazekas, F., Mangin, J.F., Chabriat, H., Dichgans, M., Ropele, S., Schmidt, R., 2015. R2* mapping for brain iron: associations with cognition in normal aging. *Neurobiol Aging* 36(2), 925-932. doi: 10./j.neurobiolaging.2014.09.013.
- Gil Robles, S., Gatignol, P., Capelle, L., Mitchell, M.C., Duffau, H., 2005. The role of dominant striatum in language: a study using intraoperative electrical stimulations. *J Neurol Neurosurg*

- Psychiatry 76(7), 940-946. doi: 10.1136/jnnp.2004.045948.
- Godefroy, O., 2008. Fonctions exécutives et pathologies neurologiques et psychiatriques: évaluation en pratique clinique. Groupe de Boeck.
- Harper, L., Bouwman, F., Burton, E.J., Barkhof, F., Scheltens, P., O'Brien, J.T., Fox, N.C., Ridgway, G.R., Schott, J.M., 2016. Patterns of atrophy in pathologically confirmed dementias: a voxelwise analysis. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 88(11), 908-916. doi: 10.1136/jnnp-2016-314978.
- Hebb, A.O., Ojemann, G.A., 2013. The thalamus and language revisited. *Brain Lang* 126(1), 99-108. doi: 10./j.bandl.2012.06.010.
- Janocko, N.J., Brodersen, K.A., Soto-Ortolaza, A.I., Ross, O.A., Liesinger, A.M., Duara, R., Graff-Radford, N.R., Dickson, D.W., Murray, M.E., 2012. Neuropathologically defined subtypes of Alzheimer's disease differ significantly from neurofibrillary tangle-predominant dementia. *Acta Neuropathol* 124(5), 681-692. doi: 10./s00401-012-1044-y.
- Khalil, M., Langkammer, C., Ropele, S., Petrovic, K., Wallner-Blazek, M., Loitfelder, M., Jehna, M., Bachmaier, G., Schmidt, R., Enzinger, C., Fuchs, S., Fazekas, F., 2011. Determinants of brain iron in multiple sclerosis: a quantitative 3T MRI study. *Neurology* 77(18), 1691-1697. doi: 10.1212/WNL.0b013e318236ef0e.
- Kuchcinski, G., Munsch, F., Lopes, R., Bigourdan, A., Su, J., Sagnier, S., Renou, P., Pruvo, J.P., Rutt, B.K., Dousset, V., Sibon, I., Tourdias, T., 2017. Thalamic alterations remote to infarct appear as focal iron accumulation and impact clinical outcome. *Brain* 140(7), 1932-1946. doi: 10.1093/brain/awx114.
- Langkammer, C., Ropele, S., Pirpamer, L., Fazekas, F., Schmidt, R., 2014. MRI for iron mapping in Alzheimer's disease. *Neurodegener Dis* 13(2-3), 189-191. doi: 10./000353756.
- Langkammer, C., Krebs, N., Goessler, W., Scheurer, E., Ebner, F., Yen, K., Fazekas, F., Ropele, S., 2010. Quantitative MR imaging of brain iron: a postmortem validation study. *Radiology* 257(2), 455-462. doi: 10./radiol.10100495.
- Lehmann, S., Dumurgier, J., Schraen, S., Wallon, D., Blanc, F., Magnin, E., Bombois, S., Bousiges, O., Campion, D., Cretin, B., Delaby, C., Hannequin, D., Jung, B., Hugon, J., Laplanche, J.L., Miguët-Alfonsi, C., Peoc'h, K., Philippi, N., Quillard-Muraine, M., Sablonnière, B., Touchon, J., Vercurysse, O., Paquet, C., Pasquier, F., Gabelle, A., 2014. A diagnostic scale for Alzheimer's disease based on cerebrospinal fluid biomarker profiles. *Alzheimers Res Ther* 6(3), 38. doi: 10./alzrt267.
- Lei, P., Ayton, S., Finkelstein, D.I., Spoerri, L., Ciccotosto, G.D., Wright, D.K., Wong, B.X., Adlard, P.A., Cherny, R.A., Lam, L.Q., Roberts, B.R., Volitakis, I., Egan, G.F., McLean, C.A., Cappai, R., Duce, J.A., Bush, A.I., 2012. Tau deficiency induces parkinsonism with dementia by impairing APP-mediated iron export. *Nat Med* 18(2), 291-295. doi: 10./nm.2613.
- Lim, C.Y., Tan, P.C., Koh, C., Koh, E., Guo, H., Yusoff, N.D., See, C.Q., Tan, T., 2015. Beery-Buktenica Developmental Test of Visual-Motor Integration (Beery-VMI): lessons from exploration of cultural variations in visual-motor integration performance of preschoolers. *Child Care Health Dev* 41(2), 213-221. doi: 10./cch.12190.
- Lindeboom, J., Schmand, B., Tulner, L., Walstra, G., Jonker, C., 2002. Visual association test to detect early dementia of the Alzheimer type. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 73(2), 126-133. doi: 10.1136/jnnp.73.2.126.
- Liu, J., Liu, T., de Rochefort, L., Ledoux, J., Khalidov, I., Chen, W., Tsiouris, A.J., Wisnieff, C., Spincemaille, P., Prince, M.R., Wang, Y., 2012. Morphology enabled dipole inversion for quantitative susceptibility mapping using structural consistency between the magnitude image and the susceptibility map. *Neuroimage* 59(3), 2560-2568. doi: 10./j.neuroimage.2011.08.082.
- Manjon, J.V., Coupé, P., 2016. volBrain: An Online MRI Brain Volumetry System. *Front Neuroinform* 10(30). doi: 10.3389/fninf.2016.00030.
- Mantyh, P.W., Ghilardi, J.R., Rogers, S., DeMaster, E., Allen, C.J., Stimson, E.R., Maggio, J.E.,

1993. Aluminum, iron, and zinc ions promote aggregation of physiological concentrations of beta-amyloid peptide. *J Neurochem* 61(3), 1171-1174.
- Masaldan, S., Bush, A.I., Devos, D., Rolland, A.S., Moreau, C., 2019. Striking while the iron is hot: Iron metabolism and ferroptosis in neurodegeneration. *Free Radic Biol Med* 133, 221-233. doi: 10./j.freeradbiomed.2018.09.033.
- McKhann, G.M., Knopman, D.S., Chertkow, H., Hyman, B.T., Jack, C.R., Jr., Kawas, C.H., Klunk, W.E., Koroshetz, W.J., Manly, J.J., Mayeux, R., Mohs, R.C., Morris, J.C., Rossor, M.N., Scheltens, P., Carrillo, M.C., Thies, B., Weintraub, S., Phelps, C.H., 2011. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 7(3), 263-269. doi: 10./j.jalz.2011.03.005.
- Meadowcroft, M.D., Connor, J.R., Smith, M.B., Yang, Q.X., 2009. MRI and histological analysis of beta-amyloid plaques in both human Alzheimer's disease and APP/PS1 transgenic mice. *J Magn Reson Imaging* 29(5), 997-1007. doi: 10.1002/jmri.21731.
- Moon, Y., Han, S.H., Moon, W.J., 2016. Patterns of Brain Iron Accumulation in Vascular Dementia and Alzheimer's Dementia Using Quantitative Susceptibility Mapping Imaging. *J Alzheimers Dis* 51(3), 737-745. doi: 10.3233/JAD-151037.
- Morris, J.C., 1993. The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules. *Neurology* 43(11), 2412-2414. doi: 10.1212/wnl.43.11.2412-a.
- Murray, M.E., Graff-Radford, N.R., Ross, O.A., Petersen, R.C., Duara, R., Dickson, D.W., 2011. Neuropathologically defined subtypes of Alzheimer's disease with distinct clinical characteristics: a retrospective study. *Lancet Neurol.* 10(9), 785-796. doi: 10.1016/S1474-4422(11)70156-9.
- O'Callaghan, J., Holmes, H., Powell, N., Wells, J.A., Ismail, O., Harrison, I.F., Siow, B., Johnson, R., Ahmed, Z., Fisher, A., Meftah, S., O'Neill, M.J., Murray, T.K., Collins, E.C., Shmueli, K., Lythgoe, M.F., 2017. Tissue magnetic susceptibility mapping as a marker of tau pathology in Alzheimer's disease. *Neuroimage* 159, 334-345. doi: 10./j.neuroimage.2017.08.003.
- Ojemann, G.A., Fedio, P., Van Buren, J.M., 1968. Anomia from pulvinal and subcortical parietal stimulation. *Brain* 91(1), 99-116. doi: 10.1093/brain/91.1.99.
- Ossenkoppele, R., Cohn-Sheehy, B.I., La Joie, R., Vogel, J.W., Möller, C., Lehmann, M., van Berckel, B.N., Seeley, W.W., Pijnenburg, Y.A., Gorno-Tempini, M.L., Kramer, J.H., Barkhof, F., Rosen, H.J., van der Flier, W.M., Jagust, W.J., Miller, B.L., Scheltens, P., Rabinovici, G.D., 2015a. Atrophy patterns in early clinical stages across distinct phenotypes of Alzheimer's disease. *Hum Brain Mapp* 36(11), 4421-4437. doi: 10./hbm.22927.
- Ossenkoppele, R., Pijnenburg, Y.A., Perry, D.C., Cohn-Sheehy, B.I., Scheltens, N.M., Vogel, J.W., Kramer, J.H., van der Vlies, A.E., La Joie, R., Rosen, H.J., van der Flier, W.M., Grinberg, L.T., Rozemuller, A.J., Huang, E.J., van Berckel, B.N., Miller, B.L., Barkhof, F., Jagust, W.J., Scheltens, P., Seeley, W.W., Rabinovici, G.D., 2015b. The behavioural/dysexecutive variant of Alzheimer's disease: clinical, neuroimaging and pathological features. *Brain* 138(Pt 9), 2732-2749. doi: 10./brain/awv191.
- Palasí, A., Gutiérrez-Iglesias, B., Alegret, M., Pujadas, F., Olabarrieta, M., Liébana, D., Quintana, M., Álvarez-Sabín, J., Boada, M., 2015. Differentiated clinical presentation of early and late-onset Alzheimer's disease: is 65 years of age providing a reliable threshold? *J Neurol* 262(5), 1238-1246. doi: 10.1007/s00415-015-7698-3.
- Pankhurst, Q., Hautot, D., Khan, N., Dobson, J., 2008. Increased levels of magnetic iron compounds in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 13(1), 49-52.
- Ridgway, G.R., Lehmann, M., Barnes, J., Rohrer, J.D., Warren, J.D., Crutch, S.J., Fox, N.C., 2012. Early-onset Alzheimer disease clinical variants: multivariate analyses of cortical thickness. *Neurology* 79(1), 80-84. doi: 10./WNL.0b013e31825dce28.
- Risacher, S.L., Anderson, W.H., Charil, A., Castelluccio, P.F., Shcherbinin, S., Saykin, A.J., Schwarz, A.J., 2017. Alzheimer disease brain atrophy subtypes are associated with cognition

- and rate of decline. *Neurology* 89(21), 2176-2186. doi: 10./WNL.0000000000004670.
- Rüb, U., Stratmann, K., Heinsen, H., Del Turco, D., Ghebremedhin, E., Seidel, K., den Dunnen, W., Korf, H.W., 2016. Hierarchical Distribution of the Tau Cytoskeletal Pathology in the Thalamus of Alzheimer's Disease Patients. *J Alzheimers Dis* 49(4), 905-915. doi: 10.3233/JAD-150639.
- Schubert, D., Chevion, M., 1995. The role of iron in beta amyloid toxicity. *Biochem Biophys Res Commun* 216(2), 702-707. doi: 10.1006/bbrc.1995.2678.
- Smith, M.A., Harris, P.L., Sayre, L.M., Perry, G., 1997. Iron accumulation in Alzheimer disease is a source of redox-generated free radicals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94(18), 9866-9868.
- Smith, S.M., Nichols, T.E., 2009. Threshold-free cluster enhancement: addressing problems of smoothing, threshold dependence and localisation in cluster inference. *Neuroimage* 44(1), 83-98. doi: 10.1016/j.neuroimage.2008.03.061.
- Spotorno, N., Acosta-Cabronero, J., Stomrud, E., Lampinen, B., Strandberg, O.T., van Westen, D., Hansson, O., 2020. Relationship between cortical iron and tau aggregation in Alzheimer's disease. *Brain* 143(5), 1341-1349. doi: 10.1093/brain/awaa089.
- Thal, D.R., Rüb, U., Orantes, M., Braak, H., 2002. Phases of A beta-deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology* 58(12), 1791-1800. doi: 10.1212/wnl.58.12.1791.
- Tiepol, S., Schäfer, A., Rullmann, M., Roggenhofer, E., Gertz, H.J., Schroeter, M.L., Patt, M., Bazin, P.L., Jochimsen, T.H., Turner, R., Sabri, O., Barthel, H., 2018. Quantitative Susceptibility Mapping of Amyloid- β Aggregates in Alzheimer's Disease with 7T MR. *J Alzheimers Dis* 64(2), 393-404. doi: 10.3233/JAD-180118.
- Tsatsanis, A., Wong, B.X., Gunn, A.P., Ayton, S., Bush, A.I., Devos, D., Duce, J.A., 2020. Amyloidogenic processing of Alzheimer's disease β -amyloid precursor protein induces cellular iron retention. *Mol Psychiatry* 25(9), 1958-1966. doi: 10.1038/s41380-020-0762-0.
- Tziortzi, A.C., Haber, S.N., Searle, G.E., Tsoumpas, C., Long, C.J., Shotbolt, P., Douaud, G., Jbabdi, S., Behrens, T.E.J., Rabiner, E.A., Jenkinson, M., Gunn, R.N., 2013. Connectivity-Based Functional Analysis of Dopamine Release in the Striatum Using Diffusion-Weighted MRI and Positron Emission Tomography. *Cerebral Cortex* 24(5), 1165-1177. doi: 10.1093/cercor/bhs397.
- van Bergen, J.M., Li, X., Hua, J., Schreiner, S.J., Steininger, S.C., Quevenco, F.C., Wyss, M., Gietl, A.F., Treyer, V., Leh, S.E., Buck, F., Nitsch, R.M., Pruessmann, K.P., van Zijl, P.C., Hock, C., Unschuld, P.G., 2016. Colocalization of cerebral iron with Amyloid beta in Mild Cognitive Impairment. *Sci Rep* 6(35514). doi: 10./srep35514.
- van Rooden, S., Versluis, M.J., Liem, M.K., Milles, J., Maier, A.B., Oleksik, A.M., Webb, A.G., van Buchem, M.A., van der Grond, J., 2014. Cortical phase changes in Alzheimer's disease at 7T MRI: a novel imaging marker. *Alzheimers Dement* 10(1), e19-26. doi: 10./j.jalz.2013.02.002.
- Villain, N., Fouquet, M., Baron, J.C., Mézenge, F., Landeau, B., de La Sayette, V., Viader, F., Eustache, F., Desgranges, B., Chételat, G., 2010. Sequential relationships between grey matter and white matter atrophy and brain metabolic abnormalities in early Alzheimer's disease. *Brain* 133(11), 3301-3314. doi: 10./brain/awq203.
- Wang, Y., Liu, T., 2015. Quantitative susceptibility mapping (QSM): Decoding MRI data for a tissue magnetic biomarker. *Magn Reson Med* 73(1), 82-101. doi: 10./mrm.25358.
- Whitwell, J.L., Dickson, D.W., Murray, M.E., Weigand, S.D., Tosakulwong, N., Senjem, M.L., Knopman, D.S., Boeve, B.F., Parisi, J.E., Petersen, R.C., Jack, C.R., Jr., Josephs, K.A., 2012. Neuroimaging correlates of pathologically defined subtypes of Alzheimer's disease: a case-control study. *Lancet Neurol* 11(10), 868-877. doi: 10./S1474-4422(12)70200-4.
- Winkler, A.M., Ridgway, G.R., Webster, M.A., Smith, S.M., Nichols, T.E., 2014. Permutation inference for the general linear model. *Neuroimage* 92(100), 381-397. doi: 10./j.neuroimage.2014.01.060.
- Zeineh, M.M., Chen, Y., Kitzler, H.H., Hammond, R., Vogel, H., Rutt, B.K., 2015. Activated iron-

containing microglia in the human hippocampus identified by magnetic resonance imaging in Alzheimer disease. *Neurobiol Aging* 36(9), 2483-2500. doi: 10./j.neurobiolaging.2015.05.022.

Zhu, W.Z., Zhong, W.D., Wang, W., Zhan, C.J., Wang, C.Y., Qi, J.P., Wang, J.Z., Lei, T., 2009. Quantitative MR phase-corrected imaging to investigate increased brain iron deposition of patients with Alzheimer disease. *Radiology* 253(2), 497-504. doi: 10.1148/radiol.2532082324.

TABLES**Table 1: Characteristics of the study population at MRI (n=68)**

Characteristics	
Age at MRI (y)	61.4 (+/- 4.1)
Age at symptom onset (y)	54.3 (+/-4.6)
Gender (females/males)	43/25 (63.2/36.8%)
Educational level (y)	9.8 (+/- 3.6)
APOE ϵ 4 (0/1/2 alleles)	28/29/9 (41.2/42.6/13.2%)
Neuropsychological evaluation	
MMSE score (/30)	15.3 (+/- 6.5)
CDR score (/3)	1.4 (+/-0.7)
Episodic memory* (VAT score /12)	2.7 (+/-3.4)
Visuo-spatial function* (Beery VMI score/30)	17.7 (+/- 3.9)
Language* (DO80 score/80)	68.4 (+/- 12.7)
Executive function* (Fluency score)	8.7 (+/- 6.8)
MRI	
HV	0.004 (+/- 0.001)
CTV	0.330 (+/- 0.026)
HV:CTV ratio	0.013 (+/- 0.002)

Quantitative variables are presented as mean (+/- standard deviation).

*Missing data in n=11 patients with MMSE score <10

Abbreviations: CDR= clinical dementia rate, CTV=cortical total volume, DO80= confrontation naming test, HV = hippocampal volume, MMSE=mini-mental state examination, MRI=magnetic resonance imaging, VAT=visual association test, VMI=visual-motor integration

Table 2: Mean QSM values in deep gray nuclei and limbic structures (n=68)

Mean QSM values (ppb)	Left	Right
Caudate	55.6 (+/- 23.5)	52.6 (+/- 19.7)
Putamen	60.2 (+/- 27.9)	60.3 (+/- 25.7)
Globus pallidus	109.0 (+/- 41.8)	107.7 (+/- 39.3)
Thalamus	8.6 (+/- 8.3)	9.5 (+/- 8.5)
Hippocampus	3.5 (+/- 10.8)	4.6 (+/- 12.3)
Amygdala	1.0 (+/- 12.1)	-1.1 (+/- 10.8)
Nucleus Accumbens	19.4 (+/- 16.0)	16.4 (+/- 15.5)

Abbreviations: ppb=parts per billion; QSM=quantitative susceptibility mapping

Table 3: Association between QSM in deep gray nuclei / limbic structures and brain atrophy pattern assessed by the HV:CTV ratio (n=68)

Regions of interest	β estimate	95% CI	Adjusted P-value
Caudate			
Left	0.024	0.004 ; 0.044	0.0496
Right	0.019	-0.004 ; 0.042	0.140
Putamen			
Left	0.022	0.000 ; 0.044	0.084
Right	0.027	0.006 ; 0.048	0.039
Globus pallidus			
Left	0.008	-0.004 ; 0.021	0.195
Right	0.009	-0.004 ; 0.021	0.195
Thalamus			
Left	0.048	-0.022 ; 0.118	0.195
Right	0.056	0.005 ; 0.107	0.075
Hippocampus			
Left	-0.044	-0.077 ; -0.010	0.039
Right	-0.043	-0.074 ; -0.013	0.039
Amygdala			
Left	-0.049	-0.081 ; -0.017	0.039
Right	-0.047	-0.103 ; 0.008	0.140
Nucleus Accumbens			
Left	-0.002	-0.024 ; 0.020	0.851
Right	-0.028	-0.056 ; 0.000	0.084

Statistical model including QSM as dependent variable, HV:CTV as independent variable, age, sex, MMSE as covariables. P-values adjusted for multiple comparisons using FDR correction. Adjusted P-values inferior to 0.05 are in bold.

Abbreviations: CTV= Cortical total volume; HV = Hippocampal volume; QSM = Quantitative susceptibility mapping.

Table 4: Association between QSM in deep gray nuclei / limbic structures and cognitive performance (n=57)

	Episodic memory VAT score β (95%CI); adjusted P	Visuo-spatial function VMI Beery score β (95%CI); adjusted P	Language DO80 β (95%CI); adjusted P	Executive function Fluency β (95%CI); adjusted P
Caudate				
Left	0.03 (0.00;0.06) ; 0.364	-0.01 (-0.03;0.02) ; 0.686	-0.01 (-0.10;0.07) ; 0.841	-0.02 (-0.08;0.04) ; 0.849
Right	0.02 (-0.02;0.06) ; 0.791	-0.01 (-0.05;0.02) ; 0.566	-0.03 (-0.12;0.06) ; 0.745	-0.04 (-0.10;0.02) ; 0.511
Putamen				
Left	0.02 (-0.01;0.05) ; 0.593	-0.02 (-0.03;0.00) ; 0.222	0.13 (-0.23;-0.02) ; 0.119	-0.02 (-0.06;0.02) ; 0.656
Right	0.02 (-0.01;0.05) ; 0.593	-0.02 (-0.04;0.00) ; 0.193	-0.09 (-0.21;0.03) ; 0.344	-0.03 (-0.08;0.02) ; 0.511
Globus pallidus				
Left	0.00 (-0.03;0.03) ; 0.992	-0.02 (-0.03;-0.01) ; 0.011	-0.06 (-0.12;0.02) ; 0.154	0.00 (-0.03;0.03) ; 0.992
Right	0.01 (-0.03;0.03) ; 0.992	-0.02 (-0.03 ;-0.01) ; 0.009	-0.06 (-0.12 ;-0.01) ; 0.154	0.00 (-0.03;0.03) ; 0.992
Thalamus				
Left	0.02 (-0.06;0.09) ; 0.939	-0.09 (-0.15 ;-0.04) ; 0.007	-0.44 (-0.70;-0.17) ; 0.014	-0.18 (-0.32 ;-0.04) ; 0.196
Right	0.01 (-0.05;0.08) ; 0.939	-0.08 (-0.14 ;-0.03) ; 0.007	-0.17 (-0.41;0.07) ; 0.374	-0.14 (-0.29;0.02) ; 0.368
Hippocampus				
Left	-0.02 (-0.14;0.10) ; 0.939	-0.01 (-0.07;0.05) ; 0.854	0.00 (-0.25;0.24) ; 0.971	-0.02 (-0.14;0.10) ; 0.965
Right	-0.05 (-0.15;0.05) ; 0.791	-0.02 (-0.06;0.01) ; 0.269	-0.17 (-0.44;0.10) ; 0.374	-0.05 (-0.15;0.05) ; 0.656
Amygdala				
Left	0.00 (-0.04;0.04) ; 0.992	0.01 (-0.03;0.06) ; 0.686	-0.15 (-0.38;0.08) ; 0.374	-0.08 (-0.16;-0.01) ; 0.196
Right	-0.03 (-0.08;0.02) ; 0.791	0.00 (-0.06;0.06) ; 0.937	-0.18 (-0.49;0.13) ; 0.411	-0.08 (-0.17;0.02) ; 0.368

Nucleus Accumbens				
Left	-0.01 (-0.05;0.03) ; 0.939	0.04 (-0.01;0.08) ; 0.222	-0.04 (-0.18;0.11) ; 0.788	0.01 (-0.05;0.07) ; 0.965
Right	-0.01 (-0.05;0.03) ; 0.939	0.03 (-0.01;0.07) ; 0.222	-0.03 (-0.20;0.13) ; 0.798	0.00 (-0.06;0.06) ; 0.992

Statistical models including tests scores as dependent variables, QSM as independent variable, age, sex, MMSE as covariables. P-values adjusted for multiple comparisons using FDR correction. P-values inferior to 0.05 are in bold.

Abbreviations: DO80= confrontation naming test, QSM = Quantitative susceptibility mapping. VAT=visual association test, VMI=visual-motor integration

Table 5: Association of QSM in deep gray nuclei/limbic structures with APOE ϵ 4 genotype

	APOEϵ4 genotype β (95%CI); Adjusted-P
Caudate	
Left	7.56 (-2.75;17.88) ; 0.933
Right	6.05 (-1.95;14.05) ; 0.933
Putamen	
Left	2.67 (-9.73;15.07) ; 0.968
Right	4.25 (-7.45;15.95) ; 0.968
Globus pallidus	
Left	4.37 (-14.71;23.44) ; 0.968
Right	7.15 (-11.30;25.61) ; 0.968
Thalamus	
Left	0.39 (-3.13;3.91) ; 0.968
Right	0.80 (-2.62;4.21) ; 0.968
Hippocampus	
Left	0.21 (-3.51;3.93) ; 0.968
Right	-0.11 (-5.61;5.39) ; 0.968
Amygdala	
Left	-1.50 (-6.66;3.66) ; 0.968
Right	0.42 (-4.01;4.86) ; 0.968
Nucleus Accumbens	
Left	0.88 (-4.96;6.71) ; 0.968
Right	-3.51 (-8.88;1.86) ; 0.933

Statistical models including QSM as dependent variables; APOE ϵ 4 status as independent variable; age, sex, MMSE as covariables. P-values are adjusted for multiple comparisons using FDR correction.

Abbreviations: QSM = Quantitative susceptibility mapping.

FIGURES CAPTIONS

Figure 1: Voxelwise association of brain atrophy pattern assessed by the HV:CTV ratio and QSM in deep gray nuclei and limbic structures

Clusters significantly associated with HV:CTV ratio, age, sex and MMSE as covariables, superimposed on a population template of susceptibility maps in MNI space. Familywise error rate correction was then used to correct for multiple comparisons, and significant clusters were reported for corrected p-values < 0.05. For visualization purpose, results are presented as $-\log(\text{corr } P)$. Positive associations are displayed in red-yellow, negative associations are displayed in blue. Connectivity pattern defined according to thalamus (Behrens et al., 2003) and striatum (Tziortzi et al., 2013) connectivity atlases.

Abbreviations: CTV= Cortical total volume; HV = Hippocampal volume; MNI = Montreal Neurological Institute; ppb = parts per billion; NA = not applicable

Figure 2: Voxelwise association between QSM in deep gray nuclei and cognitive performance

Clusters significantly associated with cognitive test scores (VMI Beery for visuo-spatial function, DO80 for language), age, sex and MMSE as covariables, superimposed on a population template of QSM maps in MNI space. Familywise error rate correction was then used to correct for multiple comparisons, and significant clusters were reported for corrected p-values < 0.05. For visualization purpose, results are presented as $-\log(\text{corr } P)$. Negative associations are displayed in blue. We found no significant positive associations. Connectivity patterns defined according to thalamus (Behrens et al., 2003) and striatum (Tziortzi et al., 2013) connectivity atlases.

Abbreviations: MNI = Montreal Neurological Institute; ppb = parts per billion; NA = not applicable

RESUME

Objectif : Evaluer le lien entre les variations de la charge cérébrale en fer mesurée par quantification de susceptibilité magnétique (QSM), les modifications de trophicité corticale, les lésions histologiques associées à la maladie d'Alzheimer (MA) et les performances cognitives. **Matériels et méthodes :** Dans un premier volet clinique, 68 patients présentant une MA à début précoce (EOAD) ont bénéficié de manière prospective d'une IRM cérébrale à 3Tesla avec cartographie de la charge en fer par QSM, ainsi que d'une évaluation neuropsychologique concomitante. Dans un second volet préclinique, 14 souris transgéniques APP/PS1 et 24 souris wild-type littermate ont bénéficié d'une IRM cérébrale 7Tesla avec QSM selon une méthodologie similaire, et d'une évaluation comportementale à 3, 6 et 9 mois de vie. A 12 mois, les souris étaient sacrifiées et une acquisition IRM ex vivo était réalisée. **Résultats :** Chez les patients EOAD, des valeurs de QSM plus élevées dans l'hippocampe et l'amygdale apparaissent corrélées à une atrophie à prédominance limbique ; au contraire, des valeurs de QSM plus élevées au sein du striatum et du thalamus étaient associées à une atrophie épargnant l'hippocampe. Des valeurs de QSM plus élevées dans le thalamus et le putamen étaient associées à de moins bonnes performances dans les fonctions linguistiques et visuo-spatiales. Au sein du modèle murin APP/PS1, une élévation significative des valeurs de QSM de topographie hippocampique était observée à 9 et 12 mois, localisée essentiellement au sein du gyrus denté et du subiculum. Un déficit en mémoire de référence spatiale était également constaté à M9 mais sans corrélation statistique avec les valeurs de QSM hippocampiques. **Conclusion :** Nous avons révélé un lien significatif entre la distribution du fer dans les noyaux gris centraux et l'expression phénotypique des lésions de MA reflétée par le pattern d'atrophie cérébrale. L'impact de la charge amyloïde seule sur la susceptibilité magnétique cérébrale étant toutefois limité, nos résultats issus de l'étude préclinique suggèrent l'existence d'une accumulation de fer indépendante de la charge amyloïde et dont l'effet pourrait être délétère sur le pronostic cognitif.

ABSTRACT

Objective: To evaluate relationships between changes in brain iron load as measured by Quantitative Susceptibility Mapping (QSM), histopathological lesions associated with Alzheimer's disease (AD) and cognitive performance. **Materials and methods:** Initially, 68 patients with early-onset AD (EOAD) were prospectively evaluated with brain iron load mapping using QSM at 3T MRI and received a concomitant neuropsychological evaluation. Then, 14 APP/PS1 transgenic and 24 wild-type littermate mice underwent 7T MRI with similar QSM methodology, and behavioral evaluations at 3, 6 and 9 months of life. At 12 months, the mice were sacrificed and ex vivo MRI acquisitions were performed. **Results:** In EOAD patients, higher QSM values in the hippocampus and amygdala appeared to correlate with limbic-dominant atrophy involving the hippocampus and amygdala, while higher QSM values in striatum and thalamus were associated with hippocampal-sparing atrophy. Higher QSM values in the thalamus and putamen were associated with poorer performance in language and visuo-spatial functions. In APP/PS1 model, a significant increase in QSM values was observed from 9 months on, mainly within the dentate gyrus and subiculum. Although a concomitant deficit in spatial reference memory was noted, no correlation was observed with hippocampal QSM values. **Conclusion:** Our study demonstrated a significant association between the distribution of deep gray nuclei iron content and AD lesions as reflected by brain atrophy pattern. However, since the impact of amyloid load alone on QSM was limited, our preclinical results suggest that iron accumulation may have a potential adverse effect on cognition independently from amyloid load.