

**VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2019 - Thèse n°059

***COMPARAISON DES LESIONS D'ISCHEMIE-REPERFUSION
DANS L'ACCIDENT VASCULAIRE CEREBRAL ET
L'INFARCTUS DU MYOCARDE ET SUIVI DE LEUR
EVOLUTION PAR DES TECHNIQUES D'IMAGERIE
COMPLEMENTAIRE DANS LES MODELES MURINS***

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 18 octobre 2019
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

REMMEL Paul



**VETAGRO SUP
CAMPUS VETERINAIRE DE LYON**

Année 2019 - Thèse n°059

***COMPARAISON DES LESIONS D'ISCHEMIE-REPERFUSION
DANS L'ACCIDENT VASCULAIRE CEREBRAL ET
L'INFARCTUS DU MYOCARDE ET SUIVI DE LEUR
EVOLUTION PAR DES TECHNIQUES D'IMAGERIE
COMPLEMENTAIRE DANS LES MODELES MURINS***

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 18 octobre 2019
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

REMMEL Paul



Liste des Enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon (01-09-2019)

ABITBOL	Marie	DEPT - BASIC - SCIENCES	Professeur
ALVES - DE - OLIVEIRA	Laurent	DEPT - BASIC - SCIENCES	Maître de conférences
ARCANGIOLI	Marie-Anne	DEPT - ELEVAGE - SPV	Professeur
AYRAL	Florence	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
BECKER	Claire	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
BELLUCO	Sara	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Maître de conférences
BENAMOU - SMITH	Agnès	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Maître de conférences
BENOIT	Etienne	DEPT - BASIC - SCIENCES	Professeur
BERNY	Philippe	DEPT - BASIC - SCIENCES	Professeur
BONNET - GARIN	Jeanne-Marie	DEPT - BASIC - SCIENCES	Professeur
BOULOCHER	Caroline	DEPT - BASIC - SCIENCES	Maître de conférences
BOURDOISEAU	Gilles	DEPT - ELEVAGE - SPV	Professeur
BOURGOIN	Gilles	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
BRUYERE	Pierre	DEPT - BASIC - SCIENCES	Maître de conférences
BUFF	Samuel	DEPT - BASIC - SCIENCES	Maître de conférences
BURONFOSSE	Thierry	DEPT - BASIC - SCIENCES	Professeur
CACHON	Thibaut	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Maître de conférences
CADORÉ	Jean-Luc	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
CALLAIT - CARDINAL	Marie-Pierre	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
CAROZZO	Claude	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Maître de conférences
CHABANNE	Luc	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
CHALVET - MONFRAY	Karine	DEPT - BASIC - SCIENCES	Professeur
DE BOYER DES ROCHES	Alice	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
DELIQUETTE - MULLER	Marie-Laure	DEPT - BASIC - SCIENCES	Professeur
DJELOUADJI	Zorée	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
ESCRIOU	Catherine	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Maître de conférences
FRIKHA	Mohamed-Ridha	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
GALIA	Wessam	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
GILOT - FROMONT	Emmanuelle	DEPT - ELEVAGE - SPV	Professeur
GONTHIER	Alain	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
GRANCHER	Denis	DEPT - BASIC - SCIENCES	Maître de conférences
GREZEL	Delphine	DEPT - BASIC - SCIENCES	Maître de conférences
HUGONNARD	Marine	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Maître de conférences
JANKOWIAK	Bernard	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
JOSSON - SCHRAMME	Anne	DEPT - BASIC - SCIENCES	Maître de conférences
JUNOT	Stéphane	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Maître de conférences
KODJO	Angeli	DEPT - ELEVAGE - SPV	Professeur
KRAFFT	Emilie	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Maître de conférences
LAABERKI	Maria-Halima	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
LAMBERT	Véronique	DEPT - BASIC - SCIENCES	Maître de conférences
LE GRAND	Dominique	DEPT - ELEVAGE - SPV	Professeur
LEBLOND	Agnès	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
LEDOUX	Dorothee	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
LEFEBVRE	Sébastien	DEPT - BASIC - SCIENCES	Maître de conférences
LEFRANC - POHL	Anne-Cécile	DEPT - BASIC - SCIENCES	Maître de conférences
LEGROS	Vincent	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
LEPAGE	Olivier	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
LOUZIER	Vanessa	DEPT - BASIC - SCIENCES	Professeur
MARCHAL	Thierry	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
MOISSONNIER	Pierre	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
MOUNIER	Luc	DEPT - ELEVAGE - SPV	Professeur
PEPIN	Michel	DEPT - BASIC - SCIENCES	Professeur
PIN	Didier	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
PONCE	Frédérique	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
PORTIER	Karine	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
POUZOT - NEVORET	Céline	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Maître de conférences
PROUILLAC	Caroline	DEPT - BASIC - SCIENCES	Maître de conférences
REMY	Denise	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
RENE MARTELLET	Magalie	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
ROGER	Thierry	DEPT - BASIC - SCIENCES	Professeur
SABATIER	Philippe	DEPT - ELEVAGE - SPV	Professeur
SAWAYA	Serge	DEPT - BASIC - SCIENCES	Maître de conférences
SCHRAMME	Michael	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
SERGENTET	Delphine	DEPT - ELEVAGE - SPV	Professeur
THIEBAULT	Jean-Jacques	DEPT - BASIC - SCIENCES	Maître de conférences
THOMAS - CANCIAN	Aurélien	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Maître de conférences
TORTEREAU	Antonin	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Maître de conférences
VIGUIER	Eric	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
VIRIEUX - WATRELOT	Dorothee	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Maître de conférences
ZENNER	Lionel	DEPT - ELEVAGE - SPV	Professeur

REMERCIEMENTS DU JURY

A Monsieur le Professeur Jean-Christophe LEGA

De l'Université Claude Bernard Lyon 1, Faculté de médecine de Lyon,

Pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse. Pour votre disponibilité et votre amabilité.

Mes hommages respectueux.

A Madame le Professeur Vanessa LOUZIER

De VetAgro Sup, campus vétérinaire de Lyon,

Pour avoir accepté d'encadrer ce projet. Pour vos corrections, votre soutien et vos conseils avisés. Avec ma plus grande reconnaissance.

A Madame le Docteur Caroline BOULOCHER

De VetAgro Sup, campus vétérinaire de Lyon,

Pour nous avoir fait le plaisir et l'honneur d'accepter de participer au jury de cette thèse. Pour votre gentillesse et votre flexibilité. Avec ma plus grande gratitude.

A Madame le Professeur Emmanuelle CANET-SOULAS

Du laboratoire CARMEN, Université de Lyon,

Pour m'avoir proposé ce sujet de thèse, suivi et encadré tout au long de ce travail. Pour votre disponibilité et votre aide à chaque instant.

Trouvez ici l'expression de mes remerciements les plus sincères et de tout mon respect.

TABLE DES MATIERES

Table des figures	15
Table des tableaux	19
Liste des abréviations.....	21
Introduction	25
I. La sensibilité et les mécanismes de défense face à l'ischémie varie entre le cœur et le cerveau	27
A. La vascularisation terminale du myocarde.....	27
1. Origine aortique des artères coronaires	28
2. Artère coronaire droite (11).....	29
3. Artère coronaire gauche (11)	30
a) Branche interventriculaire antérieure.....	31
b) Branche circonflexe (11).....	31
4. Principe de dominance.....	31
5. Anastomoses	32
6. Variations interindividuelles.....	32
7. Implication des artères coronaires et de leurs branches dans les occlusions thrombotiques (20)	32
8. Ramification artériolaire et drainage veineux (21,22).....	33
B. La vascularisation connectée du cerveau.....	34
1. Anastomoses primaires : le polygone de Willis (24–27).....	34
2. Anastomoses secondaires	37
3. Anastomoses et occlusion vasculaire	41
a) Au niveau de la vascularisation piaie	41
b) Occlusion d'un vaisseau de la micro circulation subsuperficielle.....	42
c) Occlusion d'une artériole pénétrante	42
C. Sensibilité à l'oxygène et vitesse d'évolution.....	44
II. Angioanatomie comparée homme-souris et ses conséquences.....	47
A. Organisation coronaire murine	47
1. Artère coronaire gauche	47
2. Artère coronaire droite	49
3. Variations murines interindividuelles.....	50
4. Différences majeures avec l'homme	50
5. Les veines cardiaques.....	51

B.	Vascularisation cérébrale murine.....	54
1.	Partie postérieure (63,64)	56
2.	Apport antérieur (64,65)	57
3.	Un réseau pial murin développé permettant une comparaison avec l'homme.....	58
4.	Le tissu cérébral murin	60
C.	Les territoires irrigués par les artères cérébrales.....	61
1.	Chez l'homme.....	61
a)	Découpe majeure (76–78).....	61
(1)	Le télencéphale	61
(a)	Le cortex cérébral	62
(b)	Les structures subcorticales.....	63
(c)	La substance blanche cérébrale.....	64
(2)	Le diencephale	65
(a)	Le thalamus.....	65
(b)	L'hypothalamus.....	66
(c)	L'épithalamus.....	66
(3)	Le tronc cérébral	66
(4)	Le cervelet	66
(5)	Le liquide céphalo-rachidien et les ventricules	67
(6)	Méninges.....	67
b)	Cartographie des territoires d'irrigation (24,27)	67
2.	Chez la souris.....	72
a)	Découpe	72
(1)	Le cortex cérébral.....	73
(2)	Les structures internes	74
(3)	Le diencephale	74
b)	Cartographie des territoires d'irrigation cérébrale murine.....	75
III.	Les modèles d'ischémie reperfusion étudiés au laboratoire CARMEN, Lyon.....	79
A.	Modèle d'occlusion intra luminale transitoire de l'artère cérébrale moyenne	79
1.	Matériel et méthodes.....	80
a)	Préparation de l'animal	80
b)	Mise en évidence des vaisseaux d'intérêt.....	81
c)	Pose des ligatures et introduction de l'implant	82

d)	Coloration au 2,3,5-triphényltétrazolium chloride.....	84
2.	Résultats et discussion :	85
B.	Modèle d'occlusion coronaire transitoire	87
1.	Matériel et méthode	88
a)	Préparation de l'animal	88
b)	Mise en évidence du cœur	88
c)	Mise en place de l'occlusion.....	89
d)	Reperfusion et fermeture de la cavité thoracique	89
e)	Evaluation de la zone à risque.....	89
2.	Résultats et discussion	90
IV.	Les lésions d'ischémie-reperfusion	95
A.	Une zone centrale semblable	95
1.	Dans le cœur	95
2.	Dans le cerveau	96
B.	La zone à risque et la pénombre	98
1.	Au niveau du cœur	98
2.	Au niveau du cerveau.....	101
a)	Anastomoses cérébrales et compensation insuffisante lors d'occlusion de l'artère cérébrale moyenne	101
b)	Débit sanguin résiduel et zone de pénombre	103
c)	Evolution de la zone de pénombre	106
C.	Les lésions de reperfusion.....	108
V.	Mécanismes sous jacents.....	111
A.	Mécanismes à l'origine des lésions d'ischémie	111
1.	Inhibition du métabolisme mitochondrial.....	112
2.	Œdème cytotoxique et surcharge calcique	112
3.	Augmentation du taux de Potassium interstitiel.....	112
4.	Mécanismes moléculaires de la zone à risque	112
a)	Autophagie et survie	112
b)	Interruption de la fonction et économie d'énergie.....	113
c)	Mort cellulaire par apoptose.....	113
5.	La mise en place d'événements biochimiques exacerbés au cours de la reperfusion	114
6.	Neurotransmetteurs et ischémie	114

a)	Glutamate et excitotoxicité.....	114
b)	Les dépolarisations péri infarctus.....	115
B.	Mécanismes sous jacents aux lésions de reperfusion.....	115
1.	Modifications biochimiques de la reperfusion.....	117
a)	Exacerbation de la surcharge de calcium et de l'œdème cytotoxique :.....	117
b)	Stress oxydatif et nitrosatif	118
2.	Conséquences cellulaires	118
a)	Ouverture du pore de transition de perméabilité mitochondrial	118
b)	Fission/fusion mitochondriale.....	119
c)	Le stress du réticulum endoplasmique.....	119
d)	Apoptose	119
3.	Le rôle double de l'inflammation	120
4.	Dysfonctionnement endothélial et œdème interstitiel.....	121
a)	Dysfonctionnement endothélial.....	121
b)	Développement d'un œdème interstitiel.....	121
5.	Etat pro thrombogénique.....	121
6.	Evolution chronique	122
a)	Cicatrisation myocardique.....	122
b)	Activation des astrocytes et gliose réactive cérébrale	122
VI.	Importance de l'imagerie dans la prise en charge thérapeutique	125
A.	Evaluation de l'infarctus aigu du myocarde chez les modèles murins par imagerie.....	126
1.	L'examen de référence : l'IRM	126
a)	Obtention d'une image de qualité	126
(1)	Amélioration de la résolution spatiale	126
(2)	Résolution temporelle.....	127
b)	Détermination de l'anatomie et des paramètres fonctionnels cardiaques.....	127
c)	Renforcement en produit de contraste et évaluation de la viabilité du myocarde	127
d)	Évaluation de la zone à risque.....	128
e)	Évaluation de la contractilité du cœur	129
2.	L'Échocardiographie.....	130
a)	Difficultés inhérentes aux modèles murins et solutions échographiques.....	130
b)	Évaluation de la structure et de la fonction globale du myocarde.....	131
(1)	Le suivi bidimensionnel classique.....	131

(2) De nouvelles techniques d'évaluation tridimensionnelle	132
c) Évaluation de la fonction contractile.....	132
(1) Estimation des mouvements anormaux de la paroi du myocarde.....	132
(2) Le suivi des Strain du myocarde lors d'ischémie-reperfusion	133
(a) Échocardiographie Doppler Tissulaire	134
(b) Échocardiographie de suivi des marqueurs acoustiques (Speckle Tracking)	135
d) Évaluation de la zone à risque par échographie de contraste	136
3. Comparaison de l'IRM et de l'échocardiographie chez les modèles rongeurs.....	137
4. Le Micro scanner	137
B. Evaluation de l'AVC ischémique aigu par imagerie chez les modèles murins.....	138
1. Estimation de l'étendue de l'infarctus	139
a) Augmentation tardive de l'intensité du signal en séquence T2 d'IRM.....	139
b) Une variation précoce des paramètres de diffusion	140
c) Imagerie séquencée T1	142
d) Évolution hémorragique.....	143
e) Dépolarisations anoxiques et IRM renforcée en Manganèse	143
2. Mesure de la perfusion	144
a) Confirmation de l'occlusion vasculaire.....	144
(1) Angiographie par résonance magnétique	144
(2) Échographie Doppler Trans crâniale	146
b) Mesure de la perfusion cérébrale	146
(1) L'IRM de perfusion (PWI)	146
(a) Le scanner avec produit de contraste.....	148
c) Imagerie par Laser Speckle.....	149
3. Estimation de la zone de pénombre	150
(1) L'examen de référence pour l'évaluation de la pénombre : la tomographie par émission de positon (TEP)	150
(2) Le décalage entre les données de perfusion et de diffusion (PWI/DWI mismatch).....	151
(b) Limite de la zone de décalage PWI/DWI	152
(3) Détermination de la zone de pénombre par coefficient de diffusion apparent	154
(4) Évaluation du métabolisme.....	154
(a) Séquence T2* et suivi de la consommation d'oxygène	154
(b) Évaluation du taux de lactate et métabolisme anaérobie	155

(i) Suivi des changements métaboliques par spectroscopie.....	155
(a) IRM séquencée en pH	156
Conclusion	159
Bibliographie	161

Table des figures

Figure 1 : Schéma de la perfusion coronaire au cours du cycle cardiaque, réalisé par l'auteur.	27
Figure 2 : Schéma d'une vue transversale de la base du cœur montrant l'origine des artères coronaires par rapport aux sinus Valsalva et aux artères majeures (à droite), réalisé par l'auteur. Photo des sinus de Valsalva et des artères coronaires (à gauche), source : Loukas et coll. (8).	28
Figure 3 : Schéma des ramifications de l'artère coronaire droite, réalisé par l'auteur et photo d'une vue antérieure d'un cœur humain, source : (12).....	29
Figure 4 : Schéma des ramifications de l'artère coronaire gauche, réalisé par l'auteur et photo d'une vue antérieure d'un cœur humain, source : (12).	30
Figure 5 : Tableau des relations artères-veines dans le drainage du myocarde humain, réalisé par l'auteur.	33
Figure 6 : Troncs supra aortiques humains, réalisé par l'auteur.	35
Figure 7 : Schéma du polygone de Willis de l'homme, réalisé par l'auteur	36
Figure 8 : Représentation des vaisseaux pials et d'anastomoses leptomeningées, d'après Duvernoy et coll. (38).	38
Figure 9 : Schéma de la vascularisation artérielle corticale, réalisé par l'auteur	39
Figure 10 : Exemple des ramifications d'une artère pénétrante dans les couches corticales, d'après Duvernoy et coll. (38).	40
Figure 11 : Schématisation de l'expérience de Shih et coll. (40), réalisée par l'auteur.	42
Figure 12 : Schéma de l'occlusion d'une artère pénétrante et de ses conséquences, réalisé par l'auteur.	43
Figure 13 : Schéma des ramifications de l'artère coronaire gauche des souris, réalisé par l'auteur.	47
Figure 14 : Schéma des ramifications de l'artère coronaire droite des souris, réalisé par l'auteur.	49
Figure 15 : Schéma d'un thorax de souris sans thymus, réalisé par l'auteur.	51
Figure 16 : Schéma du drainage veineux murin, réalisé par l'auteur.	52
Figure 17 : Artères de la tête et du cou de la souris, réalisé par l'auteur.	54
Figure 18 : Schéma du polygone de Willis de la souris, réalisé par l'auteur.	55
Figure 19 : Schéma des ramifications de la circulation cérébrale postérieure de la souris, réalisé par l'auteur.	56
Figure 20 : Schéma des ramifications de la circulation cérébrale antérieure de la souris, réalisé par l'auteur.	57
Figure 21 : Mise en évidence des connections anastomotiques piales chez un rat, d'après Coyle et coll. (66).	59
Figure 22 : Lobes du cortex cérébral de l'homme, vue latérale, réalisé par l'auteur.	62
Figure 23 : Schéma d'une coupe transversale de cerveau humain, réalisé par l'auteur.	63
Figure 24 : Structures cérébrales de substance blanche, réalisé par l'auteur.	64
Figure 25 : Schéma des structures internes du cerveau humain, réalisé par l'auteur.	65
Figure 26 : Schéma de l'irrigation du cerveau humain à travers une coupe transversale, réalisé par l'auteur.	69
Figure 27 : Schéma de l'irrigation du cerveau humain à travers une vue latérale, réalisé par l'auteur.	70
Figure 28 : Découpe schématique d'une vue latérale d'un cerveau de souris, réalisé par l'auteur.	72
Figure 29 : Schéma d'un coupe sagittale de cerveau de souris, réalisé par l'auteur.	73

Figure 30 : Schéma d'une coupe transversale de cerveau de souris, réalisé par l'auteur	74
Figure 31 : Schéma des artères cérébrales et de leur territoire d'irrigation, réalisé par l'auteur	75
Figure 32 : Schéma de dissection de la région du cou et découverte des glandes salivaires, réalisé par l'auteur	81
Figure 33 : Mise en évidence des artères carotides, réalisé par l'auteur	82
Figure 34 : Schéma de la pose des ligatures et incision vasculaire, réalisé par l'auteur.	83
Figure 35 : Schéma du trajet intraluminal du filament lors d'occlusion de l'artère cérébrale moyenne, réalisé par l'auteur	84
Figure 36 : Régions anatomiques d'une coupe transversale de cerveau de souris après l'expérience décrite, réalisée par l'auteur.	86
Figure 37 : Schéma des modifications structurelles au cours du temps lors d'occlusion coronarienne permanente, réalisé par l'auteur	95
Figure 38 : Schéma des modifications histologiques au cours du temps lors d'ischémie cérébrale focale permanente, réalisé par l'auteur.	97
Figure 39 : Schéma du phénomène de Wavefront, réalisé par l'auteur	99
Figure 40 : Les différentes zones lors d'un épisode ischémique dans le cœur, d'après Hatfield et coll. (100)	100
Figure 41 : Les zones lors d'un AVC ischémique, réalisé par l'auteur	103
Figure 42 : Modifications associées aux variations du débit sanguin cérébral, réalisée par l'auteur	104
Figure 43 : Evolution au cours du temps de la pénombre ischémique, Source : Delplanque et coll. (151)	106
Figure 44 : Schéma des modifications biochimiques de l'ischémie, réalisé par l'auteur	111
Figure 45 : Modifications moléculaires et cellulaires au cours de la reperfusion d'un cardiomyocyte, réalisée par l'auteur	116
Figure 46 : Détail des échanges ioniques transmembranaires au cours de la reperfusion, réalisée par l'auteur	117
Figure 47 : Image IRM T1 après injection de Gadolinium et occlusion coronaire permanente de 2 jours chez une souris, source : Price et coll. (222).	128
Figure 48 : Image de Tagging du myocarde par IRM chez un modèle murin, Source : Epstein et coll.(214).	129
Figure 49 : Méthode d'évaluation de score de mouvement de la paroi, réalisée par l'auteur.	133
Figure 50 : Coupe transversale en IRM T2 d'un cerveau de souris après ischémie, d'après Doman et coll. (254)	139
Figure 51 : Carte du coefficient de diffusion apparent avant (à gauche) et après (à droite) occlusion de l'artère cérébrale moyenne chez un rat, Source : Ramos-Cabrer et coll.(262)	141
Figure 52 : Angiogramme coronal tridimensionnel par résonance magnétique d'un cerveau de souris, Source : Beckmann et coll. (276)	145
Figure 53 : Schéma de l'évolution de l'intensité du signal en imagerie de perfusion, réalisé par l'auteur	147
Figure 54 : Schéma de l'évolution du débit sanguin cérébral, de la lésion d'ADC diminué et du signal T2 lors d'ischémie-reperfusion, réalisé par l'auteur	148
Figure 55 : Correspondance zones neurologiques-changements en TEP, réalisée par l'auteur	150
Figure 56 : Schéma de l'évolution des zones de déficit de perfusion, d'ADC diminué et de décalage PWI/DWI au cours de l'occlusion, réalisé par l'auteur	151

Figure 57 : Schéma des relations entre les données par imagerie de perfusion et de diffusion et les zones ischémiques, réalisé par l'auteur 153

Figure 58 : Comparaison de la pénombre d'acidose, du décalage PWI-DWI et de la pénombre classique, réalisée par l'auteur. 156

Table des tableaux

Tableau I : Artères cérébrales et territoires irrigués chez l'homme, réalisé par l'auteur.	71
Tableau II : Artères cérébrales et territoires irrigués chez la souris, réalisé par l'auteur.....	76

Liste des abréviations

A : Artère

ACA : Artère Cérébrale Antérieure

AchA : Artère Choroïdienne Antérieure

ACM : Artère Cérébrale Moyenne

ACP : Artère Cérébrale Postérieure

AD : Atrium Droit

ADC : Coefficient de Diffusion Apparent

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

AG : Atrium Gauche

AICA : Artère Cérébelleuse Antérieure et Inférieure

AL : Artère Leptoméningée

Ao : Aorte

AP : Artère Pénétrante

ASL : Arterial Spin Labelling

ATP : Adénosine Tri Phosphate

AVC : Accident Vasculaire cérébral

Ca⁺⁺ : Calcium

CARMEN : Cardiovasculaire, Métabolisme, Diabétologie et Nutrition

CMRO₂ : Cerebral Metabolic Rate of Oxygen

DA : Dépolarisations Anoxiques

DAMPs : Motifs moléculaires associés aux dégâts

DSC : Débit Sanguin Cérébral

DWI : IRM de Diffusion

ECG : ElectroCardioGramme

EEG : ÉlectroEncéphaloGramme

g : gramme
H+ : Hydrogène
Hz : Hertz
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique
IV : Intra Veineux
K+ : Potassium
IL : InterLeukine
Min : Minute
mL : Millilitre
MHz : Mégahertz
Mn : Manganèse
MRA : Angiographie par Résonance Magnétique
MTP : Transition de Perméabilité Mitochondriale
Na+ : Sodium
NO : Oxyde Nitrique
OEF : Fraction d'Extraction de l'Oxygène
PICA : Artère Cérébelleuse Postérieure et Inférieure
pHWI : IRM séquencée en pH
PWI : IRM de Perfusion
RE : Réticulum Endoplasmique
ROS : Espèce réactive de l'oxygène
T : Tesla
TEP : Tomographie par Émission de Positons
TLR : Toll Like Receptor
TM : Temps-Mouvement
TNF : Tumor Necrosis Factor
TP : Tronc Pulmonaire

TTC : 2,3,5-TriphenylTetrazolium Chloride

TTP : Time To Peak

VG : Ventricule Gauche

VD : Ventricule Droit

VH : Volume de l'Hémisphère

XO : Xanthine Oxydase

2D : deux dimensions

3D : trois dimensions

Introduction

L'ischémie se définit comme une diminution de l'apport sanguin dans un territoire vasculaire spécifique par obstruction du flux artériel. L'apport de substrats énergétiques et d'oxygène, nécessaires au fonctionnement de l'organe, ainsi que l'évacuation des déchets du métabolisme sont altérés et à l'origine de lésions. Les lésions de reperfusion correspondent, quant à elles, à des troubles associés au rétablissement du flux sanguin. Elles peuvent être atténuées par des interventions réalisées pendant le temps de reperfusion (1). L'atteinte dépend de l'importance et de la durée de l'interruption du flux sanguin mais aussi de la période de revascularisation. Les accidents vasculaires cérébraux (AVC) et l'infarctus du myocarde sont deux exemples de maladie ischémique où la reperfusion est possible.

Les AVC sont caractérisés par la survenue brutale d'un déficit neurologique (2). Ils sont la première cause de handicap moteur de l'adulte, la deuxième de démence et la troisième cause de mortalité avec environ 150 000 personnes atteintes par an (3). L'origine est ischémique dans 80% des cas (2) et compromet la perfusion cérébrale du territoire irrigué par l'artère occluse (1). L'athérosclérose, le développement d'un hématome dans la paroi artérielle, les microangiopathies et les cardiopathies emboliques sont les causes les plus fréquentes d'AVC (2). La revascularisation par thrombolyse, en administrant un activateur du plasminogène tissulaire recombinant (r-tPA), n'est bénéfique que lorsqu'elle intervient dans les 4h30 après les premiers signes. Une prise en charge par thrombectomie peut avoir lieu jusqu'à la sixième heure, éventuellement en complément (2). Le pronostic est réservé avec 20% de mortalité à 1 mois, des séquelles dans 75% des cas et 30% de récurrences à 5 ans. Il dépend de la rapidité de la prise en charge diagnostique et thérapeutique à la phase aiguë (2).

L'infarctus aigu du myocarde est caractérisé par une douleur intense dans la poitrine d'une durée de plus de 20 minutes. Il est la seconde cause de mortalité en France avec environ 100 000 personnes touchées chaque année (4). Il est principalement dû à la présence d'athérosclérose où le dépôt de graisse dans la paroi des artères coronaires forme une plaque d'athérome dont la rupture, souvent associée à l'agrégation de plaquettes et à un spasme vasculaire, conduit à l'obstruction coronaire. Bien que des formes transitoires d'angine de poitrine puissent précéder l'infarctus, celui-ci se produit souvent de manière brutale. L'administration d'un thrombolytique ou l'angioplastie interventionnelle permettent de revasculariser l'artère occluse. La rapidité de prise en charge est décisive : la mortalité est en effet réduite de 50% lors d'une prise en charge dans la première heure et de 30% si elle est réalisée dans les deux heures.

L'AVC et l'infarctus du myocarde présentent donc des similitudes quant à leur présentation brutale, leur cause obstructive et l'importance du traitement précoce. Les formes chroniques d'infarctus du myocarde et les formes hémorragiques d'AVC seront exclues de notre étude pour nous concentrer sur les formes ischémiques aiguës.

La complexité de leur pathogénie, la grande diversité des causes possibles, les nombreux facteurs de risque et de comorbidité ainsi que la variabilité de la localisation, sévérité et réversibilité rendent difficile l'interprétation des données cliniques. Les modèles animaux standardisés

présentent l'avantage d'éliminer un certain nombre de ces variables. Il est en effet possible de contrôler, grâce à ces modèles, la durée, la sévérité de l'ischémie, de gérer de manière optimale les analyses et éventuellement de réaliser des procédures invasives (5). La transposition des découvertes expérimentales à l'homme nécessite des modèles pertinents proches de ce qui est observé en clinique (6). Les modèles *in vitro* présentent l'intérêt de pouvoir étudier les mécanismes moléculaires et cellulaires en condition d'hypoxie-réoxygénation mais l'absence de vaisseau est rapidement un facteur limitant. Parmi les différents modèles *in vivo*, les modèles murins sont facilement accessibles, ce qui autorise des effectifs statistiquement significatifs et l'existence de souris transgéniques permet l'évaluation plus précise d'une hypothèse donnée.

L'objectif de notre travail de thèse est de décrire deux modèles d'ischémie-reperfusion utilisés par le laboratoire CARMEN afin d'illustrer les lésions de l'AVC et de l'infarctus du myocarde puis d'étudier des techniques d'imagerie complémentaire disponibles pour leur suivi.

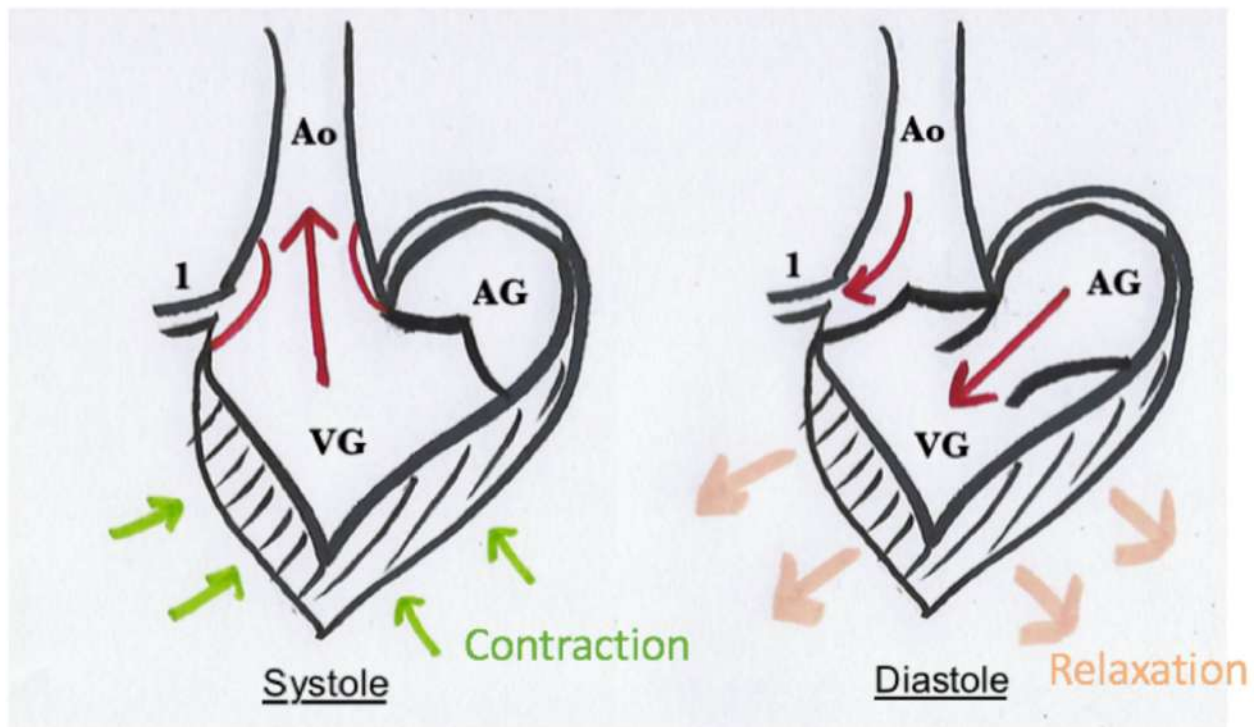
Nous rappellerons dans un premier temps les éléments d'angioanatomie comparée entre le cœur et le cerveau, et entre l'homme et la souris. Dans un second temps, nous décrirons les modèles mis au point dans le laboratoire CARMEN afin de déterminer les mécanismes responsables des lésions d'ischémie-reperfusion. Enfin, nous montrerons l'intérêt de l'imagerie en recherche afin de déterminer l'étendue des lésions d'ischémie et l'éventuel bénéfice de la reperfusion.

I. La sensibilité et les mécanismes de défense face à l'ischémie varie entre le cœur et le cerveau

L'accident vasculaire cérébral ischémique correspond à l'occlusion d'une artère cérébrale et l'infarctus du myocarde à celui d'une artère coronaire ou de ses collatérales. Comparer l'organisation des artères du myocarde à celle des artères cérébrales permet d'illustrer la protection relative apportée par la circulation cérébrale. Cette protection s'inscrit dans le cadre d'une sensibilité cérébrale accrue à l'ischémie.

A. La vascularisation terminale du myocarde

La circulation coronaire permet l'apport en sang oxygéné au myocarde. Son anatomie détermine le territoire d'infarction lors d'occlusion artérielle. C'est une circulation de type terminale.



→ : Flux sanguin, 1 = artère coronaire, AG = Atrium Gauche, VG = Ventricule Gauche

Figure 1 : Schéma de la perfusion coronaire au cours du cycle cardiaque, réalisé par l'auteur.

Lorsque le ventricule gauche se contracte, le sang est envoyé à travers les valves aortiques dans l'aorte ascendante. Juste derrière ces valves, se trouvent les artères coronaires. Lors de la diastole, les valves aortiques se ferment et le sang passe dans la circulation coronaire (FIGURE 1). En effet, les vaisseaux coronaires écrasés par la contraction des myocytes ne sont ouverts que

pendant la phase de relaxation cardiaque. La diastole correspond donc à la phase d'irrigation et d'oxygénation du myocarde (7).

La vascularisation est classiquement composée de deux artères coronaires : une à droite et une à gauche.

1. Origine aortique des artères coronaires

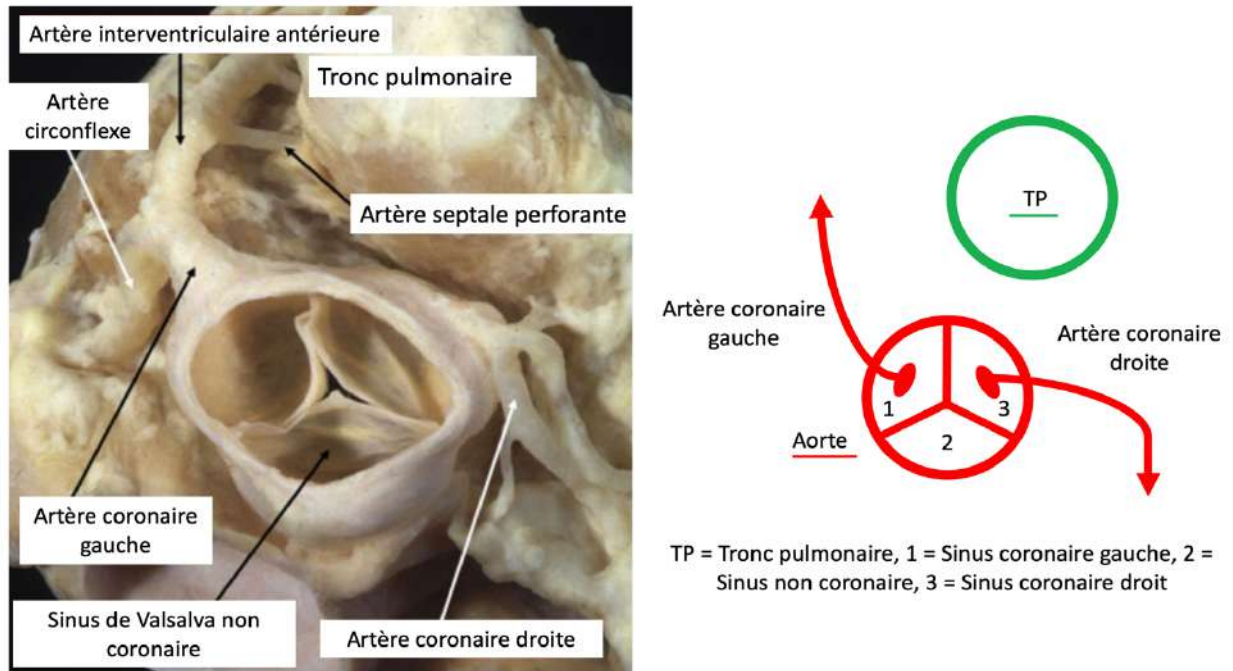


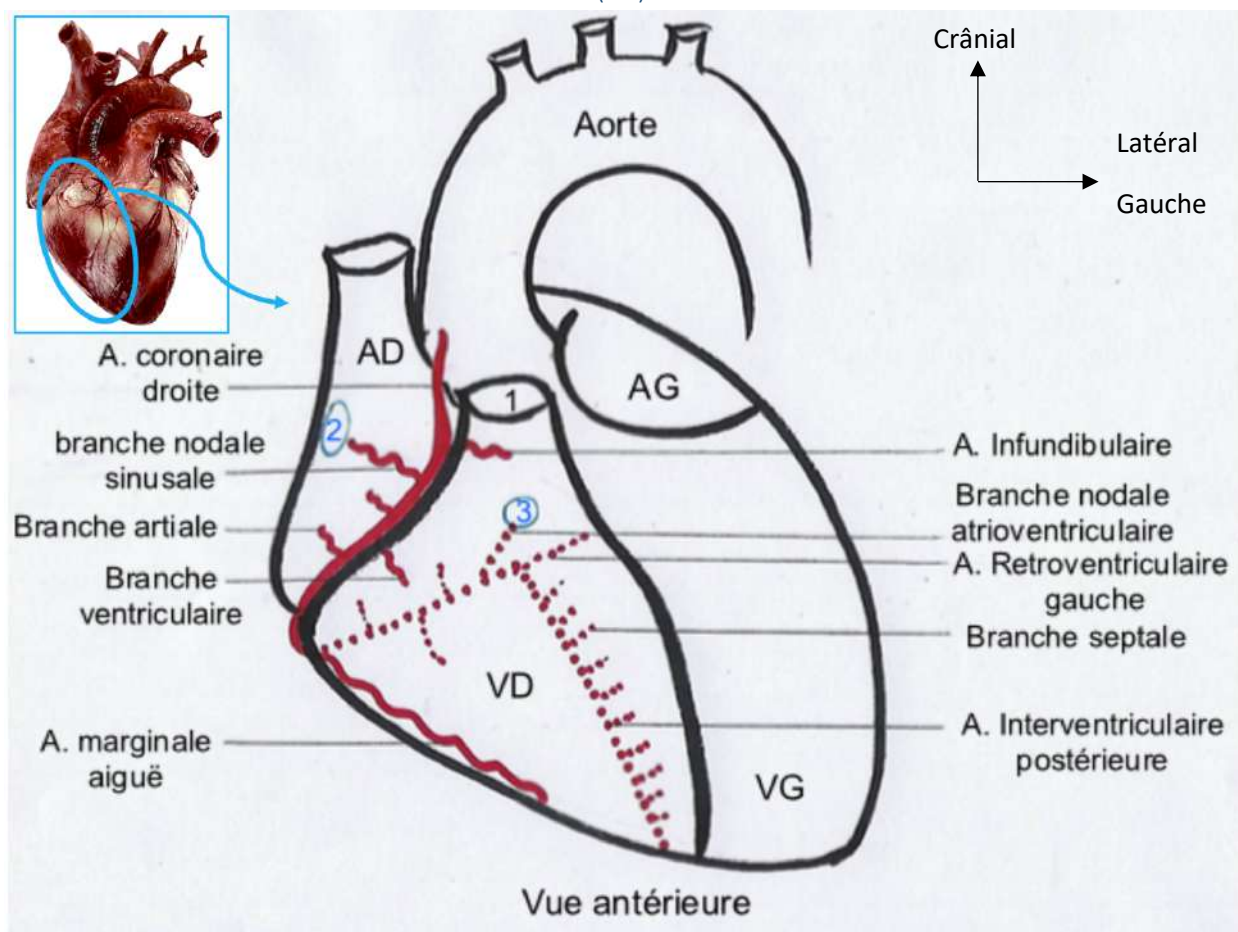
Figure 2 : Schéma d'une vue transversale de la base du cœur montrant l'origine des artères coronaires par rapport aux sinus Valsalva et aux artères majeures (à droite), réalisé par l'auteur. Photo des sinus de Valsalva et des artères coronaires (à gauche), source : Loukas et coll. (8).

Les trois cuspidés de la valve aortique séparent le cœur de l'aorte. La base de celle-ci est dilatée et forme trois sinus aortiques de Valsalva. Deux, à proximité du tronc pulmonaire, sont à l'origine des artères coronaires (FIGURE 2). La partie distale de l'aorte est, quant à elle, l'aorte tubulaire ascendante. La limite entre ces deux segments est constituée par la jonction sino-tubulaire (9).

Le point de départ de ces artères coronaires, appelé ostium, peut cependant varier au sein de la jonction sino-tubulaire dans leur distance avec les cuspidés aortiques (10). Des variations jusqu'à 1 cm sont considérées comme normales (8).

Le sinus coronaire droit est à l'origine de l'artère coronaire droite et le sinus coronaire gauche, à l'origine de l'artère coronaire gauche.

2. Artère coronaire droite (11)



1 = Tronc pulmonaire (coupé), 2 = Nœud sinusal, 3 = Nœud Atrioventriculaire, AD = Atrium Droit, VD = Ventricule Droit, AG = Atrium Gauche, VG = Ventricule gauche

Figure 3 : Schéma des ramifications de l'artère coronaire droite, réalisé par l'auteur et photo d'une vue antérieure d'un cœur humain, source : (12)

L'artère coronaire droite débute au niveau du sinus aortique antérieur de l'aorte au niveau de la cuspide droite de la valve aortique. Elle se dirige le long du sillon coronaire droit vers la jonction atrio-ventriculaire postérieure (croix des sillons) puis se poursuit, chez 80% des individus, lors de dominance coronaire droite, par l'**artère interventriculaire postérieure** dans le sillon interventriculaire postérieur jusqu'à l'apex du cœur.

Sa première ramification est l'**artère Infundibulaire droite**. Elle irrigue la chambre de chasse du ventricule droit et peut, chez certains individus, émerger directement de l'aorte par un ostium adjacent à celui de l'artère coronaire droite. Elle est souvent anastomosée à la branche Infundibulaire de l'artère interventriculaire antérieure et forme ainsi le cercle de Vieussens (8).

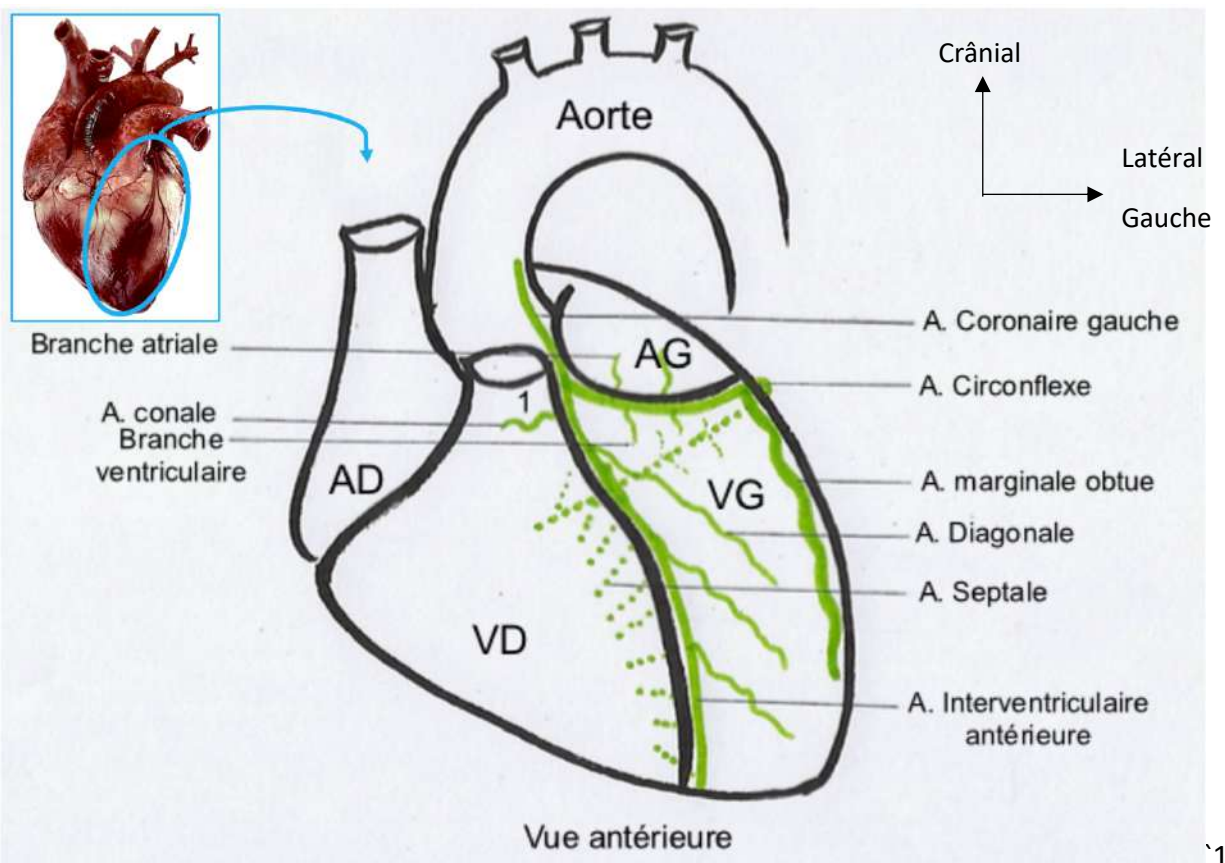
L'artère coronaire droite émet ensuite des **branches septales** qui irriguent le tiers postérieur du septum interventriculaire et des **branches atriales**. Parmi elles, nous pouvons citer **l'artère atriale droite ou branche nodale sinusale** qui permet chez 60% des individus d'irriguer le nœud sinusal.

Des **branches ventriculaires** émergent aussi dont une plus importante est **l'artère marginale droite ou aiguë** vers l'apex. Elle irrigue les parois latérales du ventricule droit.

Au niveau de la jonction atrio-ventriculaire, **une branche nodale atrioventriculaire** permet la vascularisation du nœud atrioventriculaire (13). Son développement est fonction de celui de l'artère circonflexe puisque chez 20% des individus, elle provient de celle-ci.

Un groupe **d'artères rétro ventriculaires** est aussi décrit et permet la vascularisation d'une partie de la paroi inférieure du ventricule gauche.

3. Artère coronaire gauche (11)



= Tronc pulmonaire (coupé), AD = Atrium Droit, VD = Ventricule Droit, AG = Atrium Gauche, VG = Ventricule gauche

Figure 4 : Schéma des ramifications de l'artère coronaire gauche, réalisé par l'auteur et photo d'une vue antérieure d'un cœur humain, source : (12).

L'artère coronaire gauche prend naissance au niveau de la cuspidé gauche de la valve aortique et irrigue le côté gauche du cœur. Après 10 à 25 mm, elle se ramifie en une branche circonflexe et une branche interventriculaire antérieure. Il existe parfois une branche intermédiaire irriguant la zone normalement approvisionnée par l'artère diagonale et/ou marginale obtuse gauche (14).

a) Branche interventriculaire antérieure

La branche interventriculaire antérieure se dirige au sein du sillon interventriculaire vers l'apex du cœur (15). Elle émet une **branche conale ou infundibulaire** qui irrigue l'artère pulmonaire/infundibulum, une à trois **branches diagonales** qui irriguent la surface antérieure du ventricule gauche, une à seize **branches septales** qui irriguent les deux tiers antérieur du septum interventriculaire et la branche du faisceau de His (13). Elle permet par ailleurs l'approvisionnement en sang de l'apex du cœur, du muscle papillaire du ventricule droit et du muscle antérieur du ventricule gauche (15). Le muscle papillaire postérieur étant, quant à lui, irrigué par l'artère dominante (16).

b) Branche circonflexe (11)

La branche circonflexe suit la partie gauche du sillon coronaire, de la gauche vers la droite, presque jusqu'au sillon longitudinal postérieur. Elle émet **des branches atriales et ventriculaires** dont une plus importante lors de dominance droite : **l'artère marginale gauche ou obtuse** depuis la marge gauche du cœur vers l'apex. Elle approvisionne les parois latérales du ventricule gauche et aussi le muscle papillaire antérieur.

Chez certains individus, elle peut atteindre la jonction atrio-ventriculaire où elle donne naissance à l'artère irriguant le nœud atrioventriculaire. Elle peut s'étendre au delà de la jonction, et approvisionner la surface diaphragmatique du ventricule droit lors de dominance coronaire gauche.

4. Principe de dominance

La dominance correspond à l'artère coronaire qui vascularise la face postérieure du cœur et la partie inférieure du septum interventriculaire. Cela correspond donc à l'artère coronaire à partir de laquelle émergent l'artère interventriculaire postérieure et les branches diaphragmatiques (13) :

- Lorsque la branche interventriculaire postérieure émerge de l'artère coronaire droite, nous parlons de dominance coronaire **droite**. C'est la disposition la plus fréquente (85%) (17).
- Lorsque l'artère interventriculaire postérieure émerge de la branche circonflexe de l'artère coronaire gauche, nous parlons de dominance coronaire **gauche** (8%).
- Lorsque l'artère circonflexe et l'artère coronaire droite s'abouchent toutes deux dans l'artère interventriculaire postérieure, nous parlons de **codominance** coronaire (7%)

5. Anastomoses

Trois anastomoses importantes peuvent être citées :

- La communication entre les branches infundibulaires des artères coronaires droite et gauche forme **le cercle de Vieussens**. Il permet une connexion proximale des artères coronaires (8).
- **L'artère de Kugel** émerge depuis la partie proximale d'une des artères coronaires dans le septum inter atrial vers la jonction atrio-ventriculaire et permet le lien entre les arbres coronaires ventriculaires postérieur et antérieur (15).
- **L'artère du nœud sinusal** s'anastomose souvent avec des branches atriales et permet un lien entre les deux côtés du cœur au travers des atria (15).

D'autres anastomoses peuvent être présentes dans la circulation coronaire : comme la rencontre entre les artères interventriculaires antérieure et postérieure à l'apex du cœur, la liaison entre l'artère interventriculaire antérieure et l'artère circonflexe ou l'artère marginale droite ou encore entre l'artère circonflexe et l'artère coronaire droite (11).

Les anastomoses du cœur sont cependant de petite taille et une occlusion soudaine entraîne généralement une ischémie du territoire irrigué. Pour cette raison, la circulation coronaire est alors considérée comme terminale (7). Des occlusions chroniques et incomplètes induisent le développement de collatérales et peuvent être asymptomatiques (18).

6. Variations interindividuelles

En plus des variations concernant la dominance coronaire, d'autres dissimilitudes existent dans la population : par exemple l'existence d'une à deux branches intermédiaires issues de la racine de l'artère coronaire gauche (8) ou une origine aortique de l'artère Infundibulaire voire de l'artère du nœud sinusal (15).

L'irrigation du nœud sinusal et du nœud atrioventriculaire varie avec une origine coronaire droite dans 60 et 80% des cas respectivement et coronaire gauche dans les cas restants (8).

La prévalence des autres variations est de l'ordre de 1% (11). Elles peuvent être bénignes ou avoir des répercussions plus importantes. Il s'agit des origines ectopiques, des duplications, des cas d'artère coronaire unique, des ponts myocardiques, des fistules ou encore du développement de collatérales lorsque le myocarde est insuffisamment perfusé (19).

7. Implication des artères coronaires et de leurs branches dans les occlusions thrombotiques (20)

L'artère la plus fréquemment atteinte au cours de l'infarctus du myocarde est l'artère interventriculaire antérieure. Cette atteinte touche la paroi antérieure du ventricule gauche, une

partie de la paroi antérieure du ventricule droit, les deux tiers antérieurs du septum interventriculaire et l'apex. La deuxième est l'artère coronaire droite ou l'artère interventriculaire postérieure. Elle entraîne des lésions de la paroi postérieure du ventricule droit et du tiers postérieur du septum interventriculaire.

La troisième est l'artère circonflexe. Son occlusion affecte la paroi latérale du ventricule gauche et légèrement, la paroi musculaire atriale alors que l'apex est épargné.

Les autres artères sont beaucoup plus rarement touchées par l'infarctus du myocarde.

8. Ramification artériolaire et drainage veineux (21,22)

La circulation veineuse étant moins importante dans la compréhension des phénomènes d'ischémie, elle sera abordée plus succinctement.

Les artères se ramifient en artérioles puis en capillaires et permettent d'oxygéner le myocarde. Les artères intra myocardiques se divisent en deux groupes : celles de **classe A** correspondent aux trois quarts de la paroi externe du myocarde et se ramifient plus rapidement que celles de **classe B**. Celles-ci, moins nombreuses, vont jusqu'à l'endocarde et réalisent de multiples anastomoses (21). De nombreux shunt artério-veineux sont aussi décrits (15).

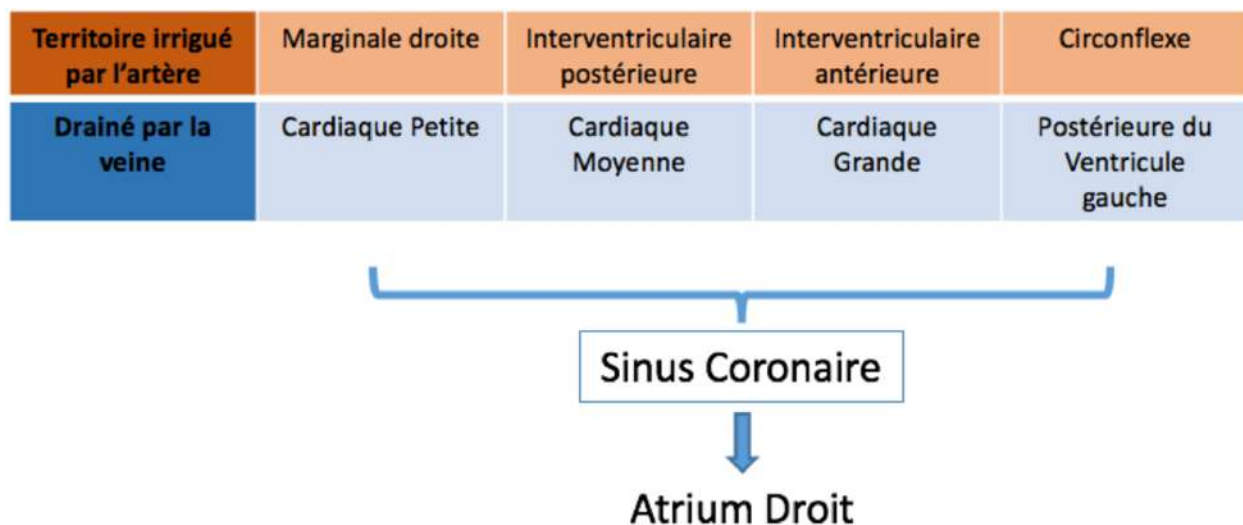


Figure 5 : Tableau des relations artères-veines dans le drainage du myocarde humain, réalisé par l'auteur.

Le sang désoxygéné est ensuite drainé par des veinules qui se regroupent en veines. La **petite veine cardiaque** draine le territoire approvisionné par l'artère marginale droite, la **veine cardiaque moyenne**, celui par l'artère interventriculaire postérieure, la **grande veine cardiaque**, celui par l'artère interventriculaire antérieure et **la veine postérieure du ventricule gauche**, celui irrigué par l'artère circonflexe. Elles s'abouchent dans une veine plus large appelée **sinus coronaire** située dans le sillon coronaire droit, avant d'acheminer le sang désoxygéné dans **l'atrium droit**. D'autres veines sont aussi décrites : la **veine antérieure du cœur**, issue du

ventricule droit, qui se jette directement dans l'atrium droit, **la veine de Marshall** et le système veineux plus petit que forment les **veines de Thébésius** (7,23).

Bilan partiel 1 : Anatomie de l'irrigation cardiaque humaine. VD = Ventricule droit, SIV = Septum interventriculaire, AV = Atrioventriculaire, VG = Ventricule gauche, AD = atrium droit, AG = Atrium gauche.

- Origine des artères coronaires : 2 sinus de Valsalva
- Artère coronaire droite : Chambre de chasse du VD, 1/3 postérieur du SIV, Nœud sinusal et AV, parois latérales du VD, paroi inférieure du VG, AD.
- Artère coronaire gauche :
 - Artère interventriculaire antérieure : surface antérieure du VG, 2/3 antérieurs du SIV, apex, muscle papillaire du VD, muscle papillaire antérieur, branche Infundibulaire
 - Artère circonflexe : paroi latérale du VG et muscle papillaire antérieur, AG
- Variation : dominance coronaire, irrigation nœuds sinusal et AV, autres de faible prévalence
- Anastomoses non fonctionnelles lors d'occlusion aiguë
- Occlusion : Artère interventriculaire antérieure > Artère coronaire droite > Artère circonflexe > autres artères

Ainsi, les artères coronaires permettent l'irrigation du myocarde au travers de leurs ramifications, et les anastomoses ne constituent pas une protection face à l'occlusion brutale d'un vaisseau. La circulation cérébrale est, à l'inverse, constituée d'un réseau de connexion qui permet une suppléance lors d'une chute de la perfusion cérébrale.

B. La vascularisation connectée du cerveau

Au niveau cérébral, des anastomoses sont à l'origine d'une circulation collatérale, c'est-à-dire de voies sanguines existantes et alternatives permettant au flux sanguin d'atteindre un territoire lorsque le conduit primaire est bloqué. Ces anastomoses protègent partiellement le cerveau en cas d'obstruction vasculaire. Quelles sont les connexions artérielles présentes dans le cerveau et quelle est leur implication dans la protection du parenchyme cérébral lors de l'occlusion d'une artère ?

1. Anastomoses primaires : le polygone de Willis (24–27)

Le sang oxygéné est acheminé au cerveau via les artères carotides internes et subclavières. La FIGURE 6 décrit leurs origines ainsi que certaines de leurs ramifications (25).

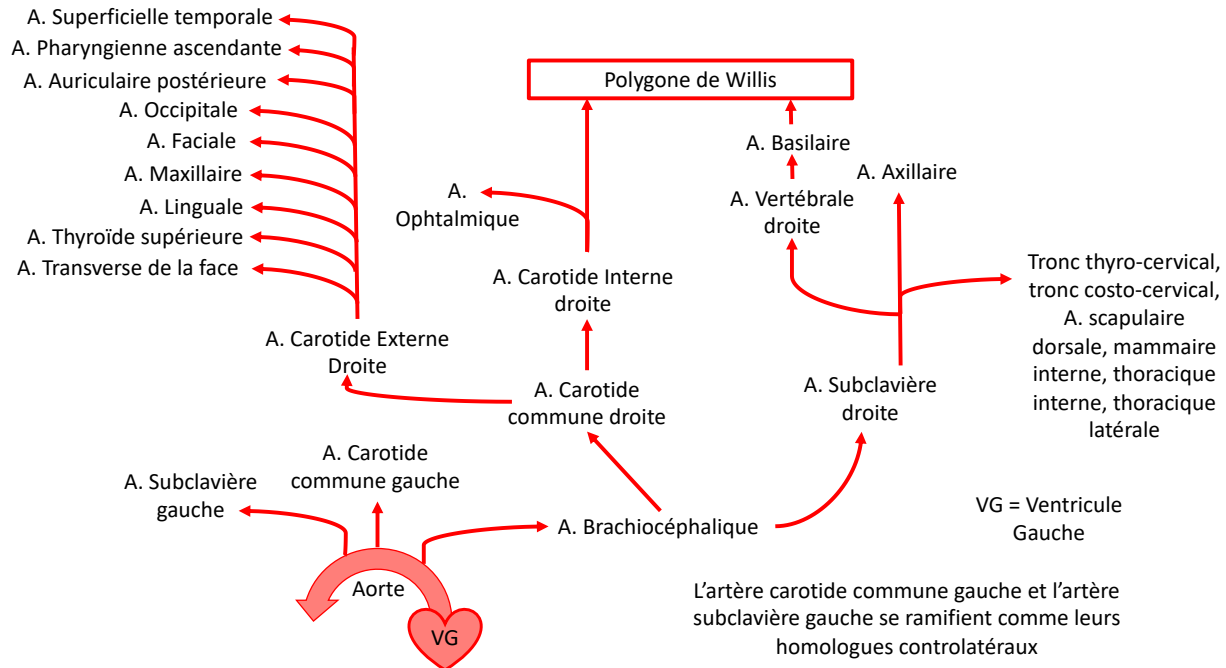


Figure 6 : Troncs supra aortiques humains, réalisé par l'auteur.

Une expérience visant à occlure une carotide interne et à injecter un colorant dans l'autre, colore les deux hémisphères cérébraux (28), mettant en évidence l'existence d'un **réseau vasculaire anastomotique** développé au sein du cerveau. Ce réseau vasculaire est appelé **polygone de Willis**. Il constitue une circulation collatérale organisée en une boucle et connecte les circulations antérieures et postérieures et les hémisphères cérébraux droit et gauche (26). Il agit ainsi comme système de sécurité assurant la perfusion cérébrale malgré l'occlusion d'une de ses sources artérielles (29).

Le polygone de Willis résulte de la fusion de 4 vaisseaux :

- Les **artères vertébrales**, qui constituent la partie postérieure du polygone.
- Les **artères carotides internes**, à l'origine de sa circulation antérieure.

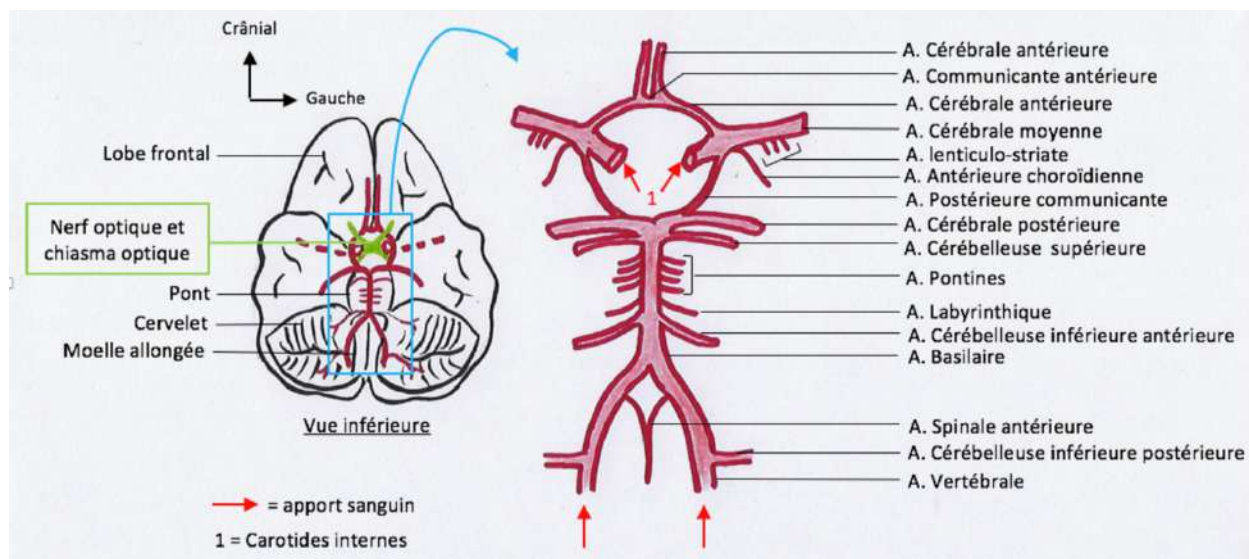


Figure 7 : Schéma du polygone de Willis de l'homme, réalisé par l'auteur

Les artères vertébrales émergent des artères subclavières (25) (FIGURE 6). Leurs trajets, au sein des foramen transverses des vertèbres cervicales, s'abouchent dans le foramen magnum de l'os occipital. L'artère vertébrale gauche est plus large et dite dominante dans 60% des cas (27). Les artères vertébrales fusionnent en une **artère ou tronc basilaire** à la base du du Pont qui remonte médialement jusqu'au Mésencéphale avant de se diviser en deux **artères postérieures cérébrales**, à partir desquelles émergent **les artères postérieures communicantes**. Les artères vertébrales irriguent ainsi la partie postérieure du polygone de Willis.

20% du sang irriguant le cerveau provient de l'artère basilaire. Les 80% restant proviennent des artères carotides internes.

Les artères carotides internes pénètrent le polygone de Willis par le canal carotidien dans l'os temporal (7), elles donnent :

- L'artère ophtalmique. Elle émerge juste après le passage de l'artère carotide interne dans la cavité crâniale et n'irrigue pas le polygone de Willis.
- Les artères choroïdiennes antérieures.
- **Les artères cérébrales moyennes**, les plus longues et volumineuses des artères de l'encéphale.
- **Les artères cérébrales antérieures**, à partir desquelles émerge **l'artère antérieure communicante** qui les relie.
- **Les artères communicantes postérieures**, les reliant au système basilaire.

Les artères communicantes antérieure et postérieure permettent ainsi de connecter les circulations antérieures et postérieures et les hémisphères droit et gauche, ce qui forme le polygone de Willis. Il permet une **redistribution du flux sanguin**, notamment lors d'occlusion proximale ou de sténose des **artères nourricières**. Dans ce cas, ces occlusions sont

asymptomatiques (30,31). Une étude par tomographie par émission de positons (TEP) montre en effet l'existence de cas d'occlusion unilatérale de la carotide interne sans répercussion sur la circulation distale (32). Des anastomoses secondaires sont aussi décrites comme la connexion entre l'artère carotide externe et l'artère ophtalmique, dont le flux sanguin peut s'inverser lors d'occlusion carotidienne chronique (27,29,31)

Ce réseau d'anastomoses a ses **limites**. De nombreuses variations inter individuelles de sa conformation existent. Des études évaluent à 42% le taux d'individus sains présentant un polygone de Willis fonctionnel complet (33). Des hypoplasies ou l'absence d'artère cérébrale antérieure ou communicante sont décrites (34) ainsi que la présence dans 20 à 30% des cas d'une artère cérébrale postérieure fœtale reliant la carotide interne à l'artère cérébrale postérieure, hypoplasie (26). Toutes ces variations semblent plus fréquentes lorsque les études sont restreintes aux populations présentant des symptômes neurologiques (35). De plus, le polygone de Willis ne permet pas de protection face à un AVC dans les vaisseaux distaux (26).

2. Anastomoses secondaires

Le réseau artériel cérébral est organisé en un polygone à partir duquel des artères principales émergent. Comment ces artères vascularisent-elles les couches du cortex ? Présentent-elles des particularités dans leur organisation comparable à la vascularisation cardiaque ?

En injectant une des artères cérébrales en l'absence des anastomoses du polygone de Willis, Heubner remplit l'intégralité de l'arbre artériel du cerveau et démontre la présence d'anastomoses secondaires (36). Plus récemment, des angiogrammes avec une perfusion transcardiaque de gel lié à de la fluorescéine illustre la présence de vaisseaux interconnectés sur toute la surface cérébrale (37). Ces connexions entre les segments distaux des artères cérébrales sont appelées **anastomoses leptomeningées ou piales** (30).

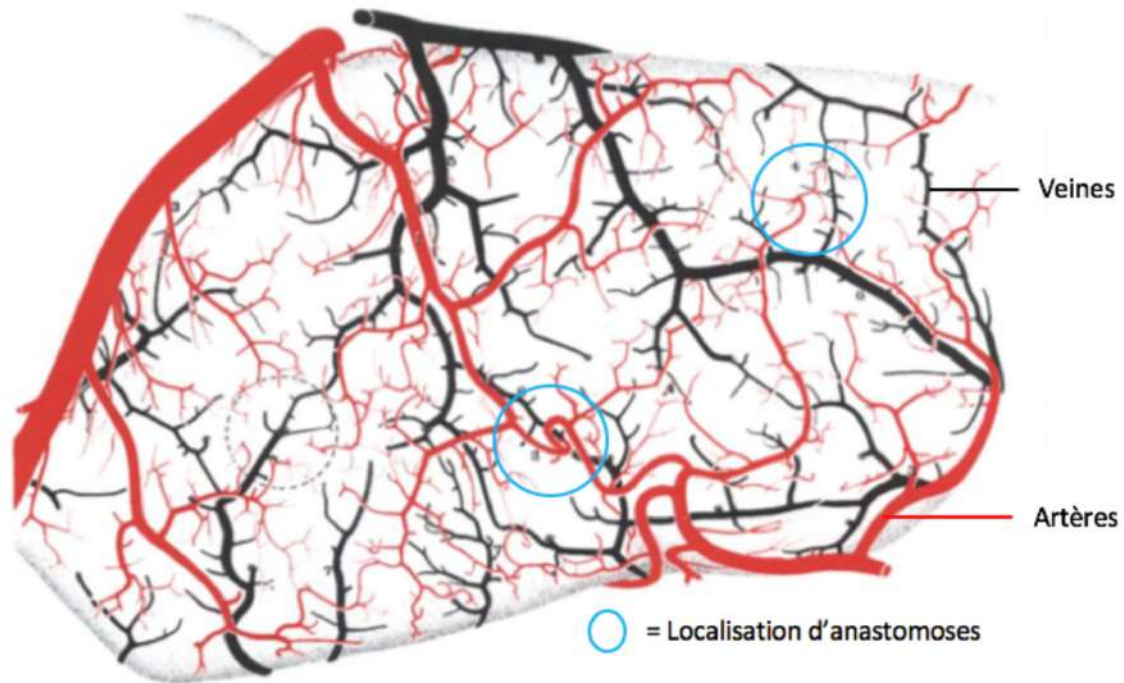


Figure 8 : Représentation des vaisseaux pials et d'anastomoses leptomeningées, d'après Duvernoy et coll. (38).

Pour les étudier, des injections intravasculaires d'encre indienne, de gélatine ou de résine de faible viscosité mettent en évidence un réseau artériel dont **le diamètre est inférieur** à celui des artères majeures trouvées dans les sillons. Ces expériences décrivent **deux types** d'anastomoses piales : les larges, reliant les extrémités de deux vaisseaux et les plus petites, correspondant à des jonctions le long de leur trajet (38).

Le nombre d'anastomose est maximal entre les artères cérébrales antérieures et moyennes, plus faible entre les artères cérébrales moyennes et postérieures et encore plus faible entre les artères cérébrales antérieures et postérieures (34).

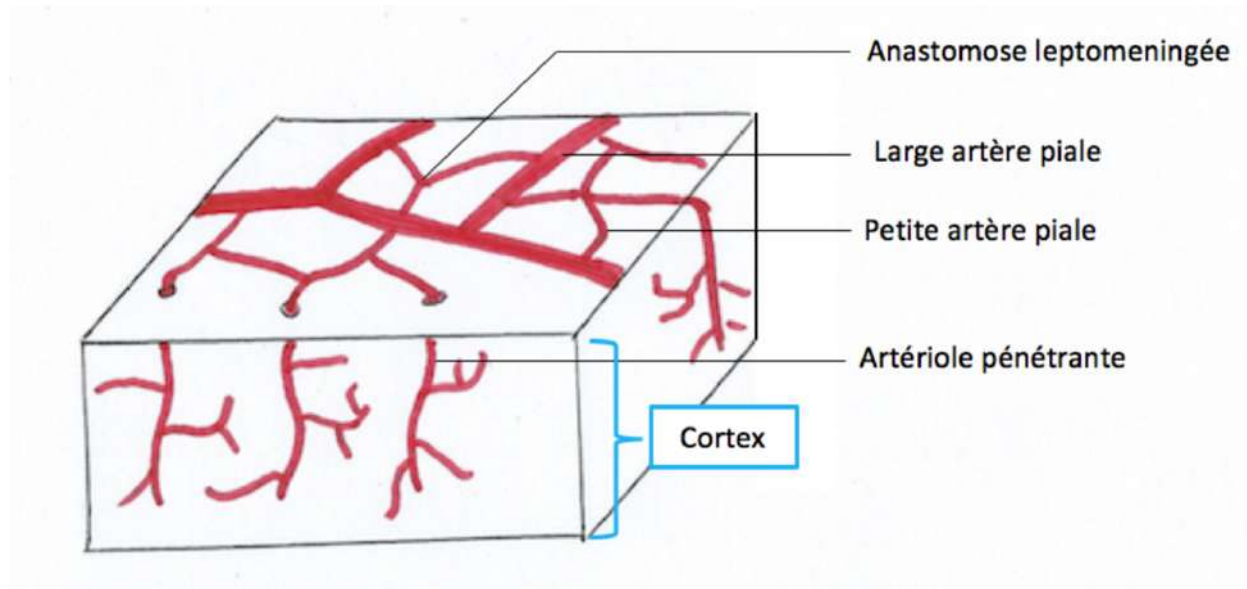


Figure 9 : Schéma de la vascularisation artérielle corticale, réalisé par l'auteur

Les artères leptomeningées sont donc des vaisseaux de surface au niveau cortical. Elles connectent les branches de deux artères cérébrales majeures différentes (36).

Le marquage des globules rouges à l'isocyanate de fluorescéine a permis de mettre en évidence l'existence **d'artères pénétrantes** attachées aux artères leptomeningées (39). Ces artères émergent à angle droit et pénètrent le cortex perpendiculairement à sa surface. Elles forment des jonctions en T avec les artérioles leptomeningées dont elles sont issues.

Après son passage dans les artères carotides et vertébrales, le sang se distribue dans le polygone de Willis puis dans les artères piales. Lorsque deux artères piales sont anastomosées, la direction du flux sanguin est déterminé par l'artère piale dont la pression hydrostatique est la plus importante. Le sang afflue ensuite dans les couches plus profondes du cortex via les artères pénétrantes.

L'absence d'anastomoses artério-veineuse et de capillaires superficiels conduit le sang à passer à travers le réseau vasculaire intra cortical avant d'être drainé par les veines superficielles (38).

La variabilité anatomique de ces vaisseaux pénétrants est décrite par Duvernoy et coll. (38). Leur degré de pénétration dans les couches corticales ou subcorticales est en effet fluctuant. Elles peuvent rester en superficie mais elles atteignent le plus souvent les couches granulaires internes et multiformes du cortex où elles donnent des branches orientées vers la surface ou vers les couches profondes, comme l'illustre la FIGURE 10. Certaines artères atteignent la substance blanche subcorticale directement ou en émettant des ramifications.

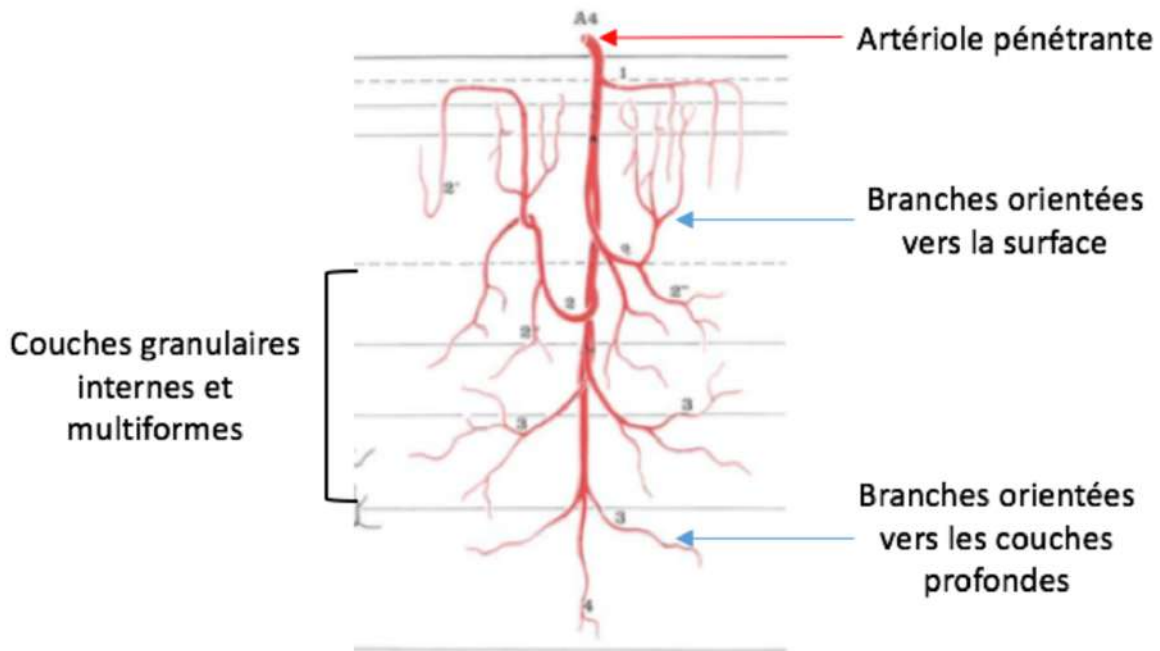


Figure 10 : Exemple des ramifications d'une artère pénétrante dans les couches corticales, d'après Duvernoy et coll. (38).

Les artères pénétrantes se ramifient ensuite en **artérioles pré capillaires** avant d'irriguer un réseau de capillaires qui forme une **microcirculation subsuperficielle** (40).

L'injection de phosphatase alcaline couplée à l'étude au microscope optique et à la microradiographie permettent à Moody et coll. de mettre en évidence l'arbre artériel distal et l'existence d'un réseau de **capillaires interconnectés** à l'origine d'un flux collatéral (41). L'étude décrit également, dans certaines zones comme le Claustrum et les capsules externes et extrêmes, un apport sanguin artériel multiple et des ramifications artérielles chevauchantes pénétrant le territoire artériolaire adjacent.

L'utilisation de microscopie électronique et de méthacrylate de méthyl permettent à Anderson et coll. de mettre en évidence des anastomoses inter-artériolaires pré-capillaires, le long des artérioles et entre les artères piales de faible diamètre (42). Ces anastomoses artériolo-

artériolaires au sein du parenchyme sont aussi décrites par Duvernoy et coll. mais ne sont pas observées dans la plupart des études (40).

En ce qui concerne **les structures cérébrales profondes**, Feeks et coll. étudient, par injection de colorants fluorescents et radio-opaques dans des cerveaux humains, l'organisation micro vasculaire des noyaux gris profonds (43). Ils montrent que les artères lenticulostrées, l'artère récurrente de Heubner et l'artère choroïdienne antérieure irriguent des territoires distincts au sein des noyaux gris profonds. Ils soulignent le **manque d'anastomoses** entre des branches de ces différents vaisseaux. Des connexions au niveau pré capillaire existent entre les branches d'un même vaisseau mais sont trop fines et ne permettent pas de compenser une baisse de débit lors d'une occlusion.

Ainsi, les territoires irrigués par les artères cérébrales majeures sont interconnectés par les anastomoses piales superficielles à partir desquelles des artères pénétrantes plongent perpendiculairement dans le cortex et irriguent les micro vaisseaux subcorticaux. Les artérols des noyaux gris profonds sont au contraire, considérées comme terminales. D'autres anastomoses existent mais sont rarement rencontrées lors d'accident vasculaire aigu (34). Nous pouvons alors nous demander si cette circulation interconnectée protège le cerveau lors d'une occlusion vasculaire.

3. Anastomoses et occlusion vasculaire

La surface des cortex est constituée d'anastomoses piales ou leptomeningées. Nous pouvons alors nous demander si ces connexions permettent de compenser l'occlusion d'un vaisseau. La discussion du rôle de la circulation collatérale lors d'ischémie est sujet à controverse. Certains auteurs considèrent que le diamètre des artères piales est trop faible pour permettre une suppléance significative lors d'obstruction (36). Cependant, des études cliniques s'associent aux expériences animales et illustrent un certain degré de compensation.

a) Au niveau de la vascularisation piale

Les artères pénétrantes émergent des artères piales et irriguent le cortex. Pour étudier le rôle spécifique des artères piales lors d'ischémie, Shih et coll. (40) créent un caillot dans une artère leptomeningée à distance des points d'émergence des artères pénétrantes et suivent le flux sanguin. Chez les contrôles, le sang afflue dans les artères pénétrantes selon l'artère piale dont la pression hydrostatique est la plus importante. Lors d'occlusion d'une artère piale, le sang afflue de la même manière dans les artères pénétrantes jusqu'au caillot. Les artères pénétrantes en aval de l'obstruction montrent un flux sanguin originaire d'une artère piale saine anastomosée. La FIGURE 11 décrit l'expérience.

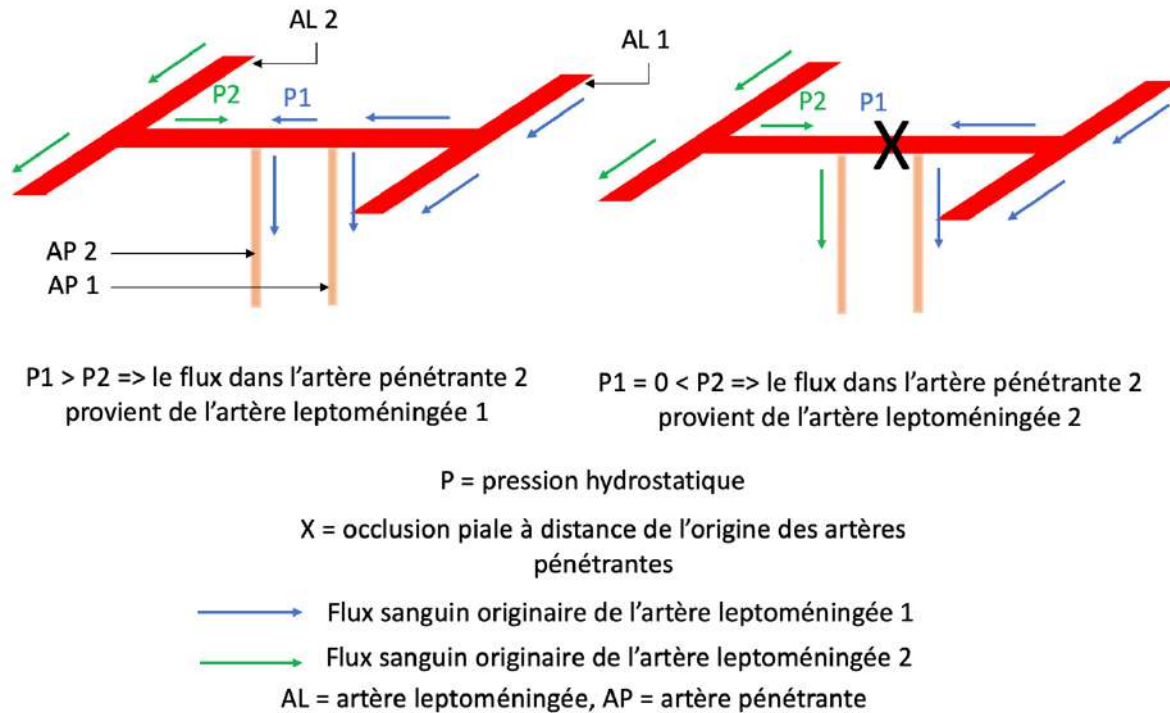


Figure 11 : Schématisation de l'expérience de Shih et coll. (40), réalisée par l'auteur.

Le **réseau artériolaire de surface** a donc la capacité de **fournir du sang au néocortex lors d'occlusion d'un unique vaisseau pial** et pourrait être protecteur face à l'ischémie (44).

b) Occlusion d'un vaisseau de la micro circulation subsuperficielle

L'occlusion d'une artériole de la micro circulation par un caillot, formé par lésions endothéliales, entraîne une diminution importante du débit sanguin en aval. L'analyse histologique ne met cependant pas en évidence de lésion neuronale. Les **voies collatérales capillaires** permettent donc ici **aussi une protection face à l'ischémie lors de l'occlusion d'un unique vaisseau de la micro circulation** (45,46).

c) Occlusion d'une artériole pénétrante

Les artérioles pénétrantes sont interconnectées par la microcirculation subsuperficielle mais ne présentent pas d'anastomose les unes aux autres. On peut penser que ce réseau de capillaire joue le rôle de circulation collatérale. Cependant, des expériences d'occlusion d'artérioles piales à l'endroit où une artériole pénétrante émerge conduisent à un arrêt du flux sanguin dans le vaisseau pénétrant distal à l'occlusion, comme l'illustre la FIGURE 12. Le suivi à 6 jours post occlusion montre l'infiltration de cellules inflammatoires dans une zone de 300 micromètres autour de l'obstruction et définit un infarctus (47,48).

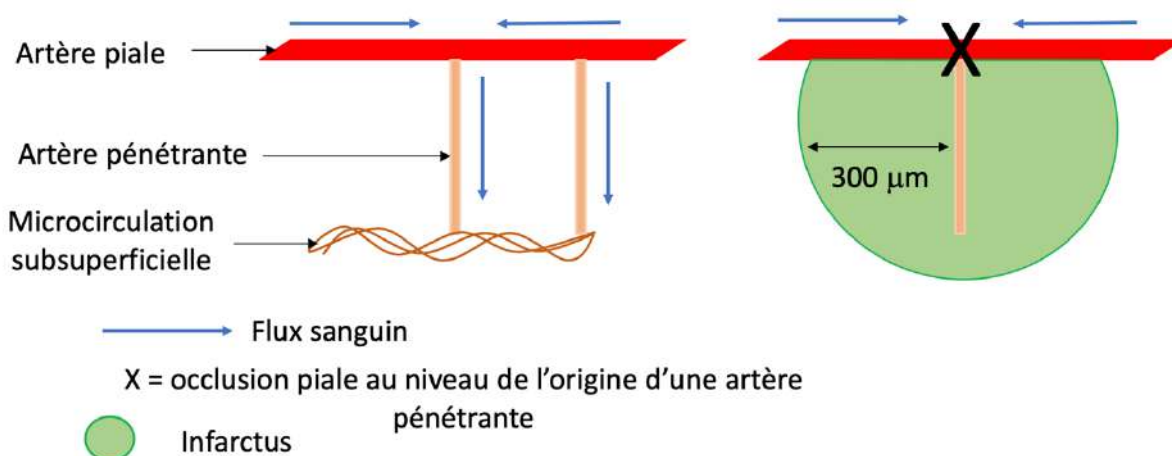


Figure 12 : Schéma de l'occlusion d'une artère piale et de ses conséquences, réalisé par l'auteur.

Aucune inversion du flux sanguin n'est mise en évidence **dans les artéριοles pénétrantes** (49,50). Le réseau de capillaires ne permet donc pas une suppléance lors d'occlusion d'une artère pénétrante. Une explication réside dans le shunt du sang au travers de la micro circulation vers les veinules pénétrantes (40).

Ainsi, l'occlusion artérielle cérébrale entraîne des réponses variables selon le type de vaisseau impliqué : l'occlusion d'une artère piale unique ou d'un capillaire subsuperficiel est compensée par les anastomoses et n'entraîne pas d'infarctus à l'inverse de l'occlusion d'une artère pénétrante. Le cas d'occlusion d'un vaisseau majeur comme l'artère cérébrale moyenne sera abordé plus loin.

Bilan partiel 2 : la vascularisation cérébrale humaine

- Le cerveau présente un circuit de collatérales à deux niveaux :
 - Le polygone de Willis est l'anastomose des artères nourricières du cerveau et protège contre l'occlusion ou la sténose d'une d'entre elles
 - Les anastomoses piales à partir desquelles des artères pénétrantes émergent et irriguent la microcirculation du cortex. Ces anastomoses protègent contre une occlusion artérielle piale
- Les limites de cette protection sont :
 - Les artéριοles pénétrantes et les artéριοles des territoires profonds, dont l'occlusion crée un infarctus
 - Les variations inter et intra-individuelles

La vascularisation artérielle du cerveau possède plusieurs niveaux d'anastomoses protectrices. Le polygone de Willis permet de compenser l'occlusion d'une des artères nourricières principales et les anastomoses piales permettent de compenser l'obstruction d'une d'entre elles. Le cerveau reste malgré tout un organe vulnérable à l'ischémie : l'organisation anastomosée présente de nombreuses variations, l'occlusion d'artères pénétrantes crée un infarctus et le cerveau est l'organe le plus sensible à l'ischémie.

C. Sensibilité à l'oxygène et vitesse d'évolution

Expérimentalement, on observe que lors d'ischémie, des lésions de nécrose neuronale peuvent s'observer dès quelques minutes d'occlusion en fonction de la perfusion résiduelle (51). Par comparaison, les lésions d'infarctus du myocarde peuvent n'apparaître qu'après 30 à 40 minutes d'occlusion (52). Ces différences de sensibilité face à l'ischémie s'expliquent par plusieurs points.

Tout d'abord, le cerveau présente une **forte demande énergétique**. En effet, il correspond à 2% du poids corporel et consomme environ 20% du métabolisme énergétique (53).

Ensuite, les neurones présentent un **métabolisme essentiellement oxydatif** à l'inverse des astrocytes, où le taux d'oxydation mitochondrial est très faible et le métabolisme surtout basé sur la glycolyse. Des expériences de stimulation vestibulaire l'illustrent en montrant une augmentation de l'activité des enzymes respiratoires dans les neurones alors que les cellules gliales autour montrent une augmentation de leur métabolisme anaérobie (54).

Enfin, même si dans certaines circonstances, divers métabolites comme les lactates et corps cétoniques peuvent être utilisés, les neurones **consomment essentiellement du glucose**. Il permet non seulement la production d'APT mais intervient aussi dans la formation de métabolites intermédiaires pour la synthèse de lipides nécessaires à la constitution de la

membrane et de la myéline, la production d'acides aminés, de nucléotides, de neurotransmetteurs et de glycogène dans les astrocytes (53). Ce fort besoin contraste avec ses réserves très faibles. En effet, la glycogène-synthétase est constamment inactivée dans les neurones et le stockage de glycogène est donc exclusivement dans les astrocytes. Bien qu'elle constitue la forme **d'accumulation** énergétique principale du cerveau, elle reste **négligeable** par rapport à l'apport périphérique de glucose (53).

Ainsi, la forte demande énergétique du cerveau, son fonctionnement essentiellement oxydatif et ses réserves énergétiques intrinsèques faibles sont les raisons de sa forte dépendance en un flux continu de substrat par le sang et de sa sensibilité élevée à l'ischémie.

Bilan partiel 3 : Facteurs de la sensibilité accrue du cerveau face à l'ischémie.

Forte demande énergétique

+

Fonctionnement essentiellement oxydatif

+

Faibles réserves énergétiques intrinsèques



Sensibilité accrue du cerveau face à l'ischémie

Bilan global 1 : la vascularisation et la sensibilité à l'ischémie du cœur et du cerveau.

- Les artères coronaires vascularisent le cœur. Leurs anastomoses sont limitées et ne permettent pas de protection lors d'occlusion.
- Les artères piales font le relai entre les artères cérébrales majeures et la microcirculation corticale au travers des artérioles pénétrantes. Leurs nombreuses anastomoses permettent une protection relative.
- De par la forte demande énergétique des influx nerveux, le métabolisme essentiellement oxydatif et les faibles réserves en glucose, le cerveau est très sensible à l'ischémie

Les faits que nous venons d'étudier nous montrent que le cerveau est très sensible à un arrêt de l'apport en oxygène. A l'inverse du cœur où les anastomoses sont limitées et terminales, il possède un réseau anastomotique cortical développé qui lui permet une relative protection face à l'occlusion des artères nourricières et piales. Les études des répercussions d'une occlusion artérielle sont généralement réalisées sur des modèles murins afin d'en étudier les mécanismes et l'effet des éventuels traitements. En quoi ces modèles sont-ils pertinents lorsqu'on les comparent à l'homme ?

II. Angioanatomie comparée homme-souris et ses conséquences

La souris appartient au groupe des mammifères. Elle est ainsi proche de l'homme phylogénétiquement. Etudions l'organisation vasculaire murine pour souligner ses ressemblances et différences avec l'homme, au niveau cardiaque ou cérébral.

A. Organisation coronaire murine

La souris est un modèle fréquemment utilisé pour l'étude du cœur. La comparaison entre la vascularisation humaine et murine permet de comprendre son utilité et ses limites en tant que modèle d'étude des maladies d'ischémie myocardique.

Chez la souris, la vascularisation cardiaque est permise par deux artères coronaires droite et gauche. La gauche est dominante (55). Elles prennent naissance chacune d'un **sinus de Valsalva** par un orifice coronaire situé en face du tronc pulmonaire (56).

1. Artère coronaire gauche

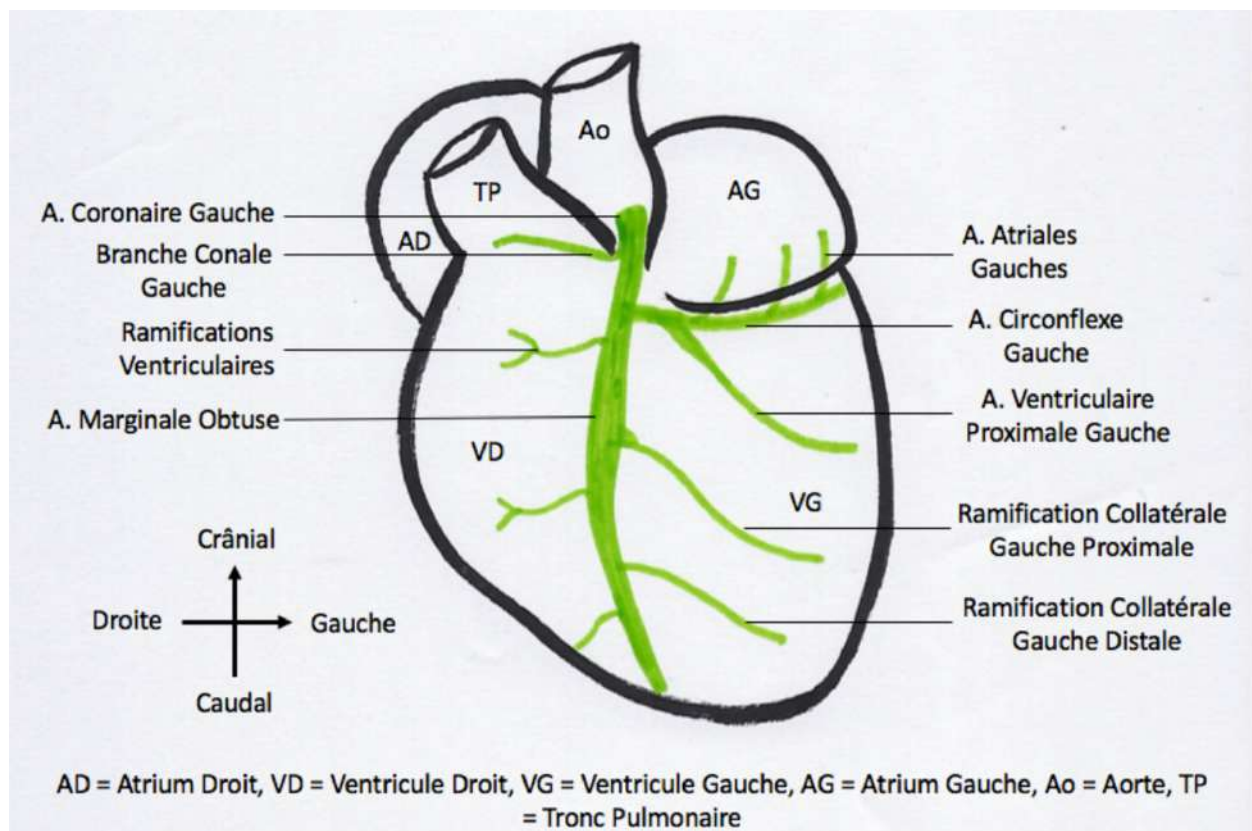


Figure 13 : Schéma des ramifications de l'artère coronaire gauche des souris, réalisé par l'auteur.

L'artère coronaire gauche émerge du sinus aortique gauche de Valsalva. Le long de sa trajectoire entre le tronc pulmonaire et l'auricule gauche, elle donne naissance à une à deux **branches irriguant l'atrium gauche** avant de se diviser en :

- **Artère marginale obtuse, branche paraconale interventriculaire** ou **branche descendante antérieure** : le long du bord gauche jusqu' à l'apex du cœur. Elle peut être considérée comme l'équivalente de l'artère interventriculaire antérieure des humains (57). Elle est à l'origine de plusieurs branches (55) :
 - **Une branche conale** dirigée vers le tronc pulmonaire qui peut s'anastomoser avec son équivalente droite.
 - **Une ramification collatérale gauche proximale** sur la paroi du ventricule gauche jusqu'au bord caudal du septum interventriculaire. Elle irrigue la paroi du ventricule gauche et la région caudale du septum interventriculaire. Ses branches terminales atteignent le ventricule droit et s'anastomosent avec la branche septale de l'artère coronaire droite.
 - **Une ramification collatérale gauche distale** sur le ventricule gauche, atteignant presque l'apex. Elle fournit le tiers distal du ventricule gauche, la région caudale du septum interventriculaire et l'apex.
 - **Des ramifications septales** irriguent la région crâniale du septum interventriculaire et le muscle papillaire antérieur.

- **Artère circonflexe gauche**. Elle émerge au niveau de l'auricule gauche et se dirige parallèlement au sillon atrioventriculaire jusqu'à proximité de la jonction atrio-ventriculaire. Elle se ramifie ensuite en :
 - **Plusieurs artères atriales gauches** : elles permettent l'approvisionnement de l'atrium gauche mais aussi d'une partie de l'atrium droit et du ventricule gauche.
 - **Artère ventriculaire proximale gauche** : elle irrigue le ventricule gauche y compris ses muscles papillaires.

L'artère coronaire gauche irrigue l'apex dans deux tiers des cas et dans le tiers restant, celui-ci est approvisionné par les deux coronaires (56).

2. Artère coronaire droite

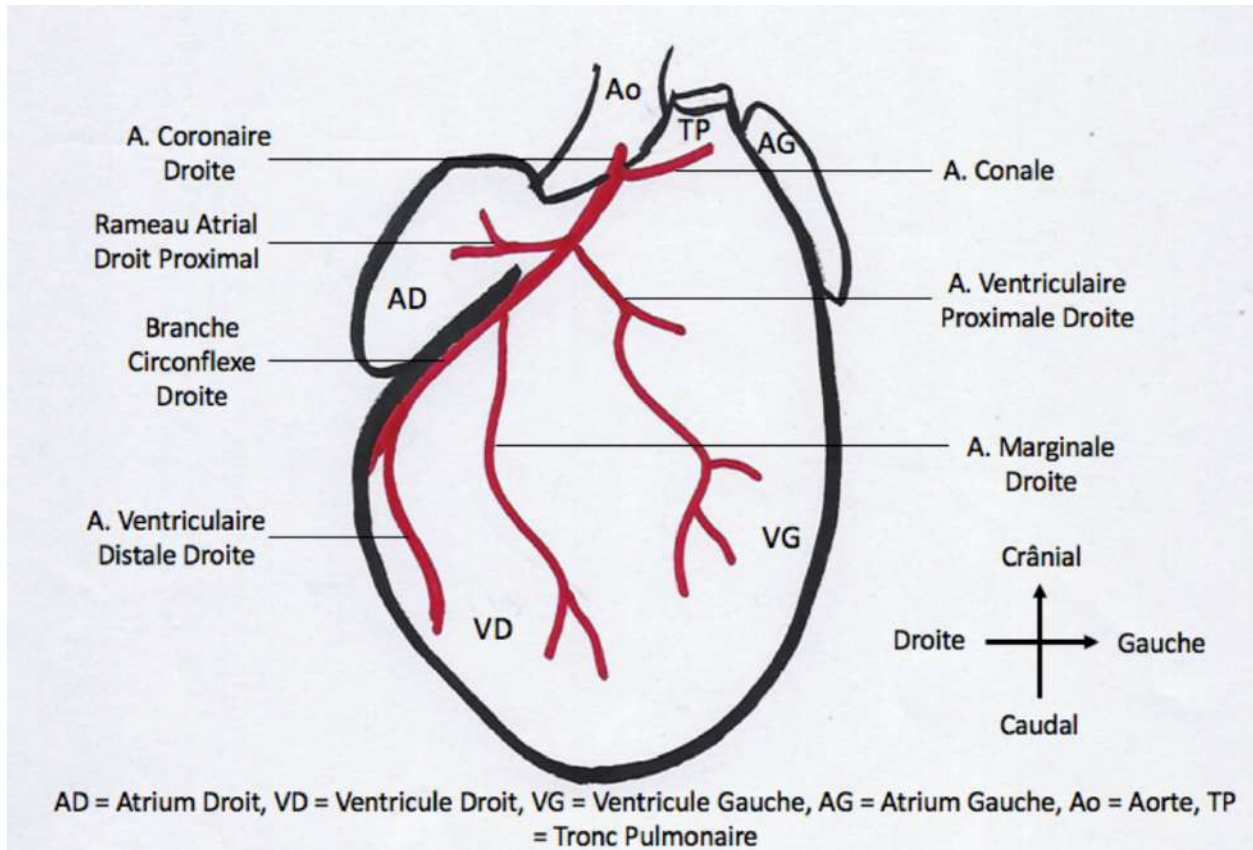


Figure 14 : Schéma des ramifications de l'artère coronaire droite des souris, réalisé par l'auteur.

L'artère coronaire droite provient du sinus aortique droit. Elle se divise rapidement en deux branches (56) :

- **L'artère septale**, entre le tronc pulmonaire et l'auricule droit, atteint le septum interventriculaire qu'elle irrigue. Des anastomoses sont présentes avec les branches ventriculaires de l'artère coronaire gauche (55). Son territoire d'irrigation diffère de celui de l'artère interventriculaire descendante de l'homme (57).
- Sa partie superficielle se dirige vers l'apex et se divise en :
 - o **Une artère conale**, dont le trajet est subendocardique, vers l'infundibulum pulmonaire. Elle peut aussi provenir de l'artère septale, du sinus coronaire, ou de l'artère coronaire gauche (56).
 - o Une branche parallèle au sillon atrioventriculaire, jusqu'à la limite interventriculaire dorsale, qui prend le nom de **branche circonflexe droite**. Avant que ses branches terminales ne s'anastomosent avec les branches terminales du rameau ventriculaire gauche proximal, plusieurs artères émergent de la branche circonflexe droite :

- Le **rameau atrial proximal droit** approvisionne l'auricule droit
- **L'artère ventriculaire proximale droite** donne 2-3 ramifications vers le sillon interventriculaire avant de se diriger vers l'apex et de se ramifier vers la région distale du ventricule gauche
- **L'artère marginale ventriculaire droite** irrigue le ventricule droit. Elle se dirige le long de la paroi ventriculaire et se ramifie en région de l'apex qu'elle irrigue.
- **L'artère ventriculaire droite distale ou interventriculaire dorsale** traverse la paroi dorsale du ventricule droit vers l'apex du cœur. Elle correspond à une branche interventriculaire dorsale et peut ainsi être considérée comme l'équivalente de l'artère interventriculaire postérieure des humains (57).

3. Variations murines interindividuelles

Des **variations du schéma coronaire** classique existent souvent et peuvent être considérées comme des variations normales. Nous pouvons citer l'origine sinusale de l'artère conale, des variations du nombre de branches émergeant du tronc coronaire principal, l'existence d'une dominance droite, gauche ou équilibrée à l'apex (56) ainsi que l'artère septale, qui peut, également provenir de l'aorte, de l'artère coronaire gauche ou être au nombre de deux. Ces variations peuvent notamment être liées à la souche de souris étudiée (55,57).

D'autres variations anatomiques inhabituelles telles que l'ostium unique ou ectopique, ou encore une trajectoire intra murale de l'aorte, sont présentes avec une incidence spécifique de la souche étudiée (58).

4. Différences majeures avec l'homme

La première différence avec l'homme est la **disposition intra myocardique** des branches des artères coronaires chez la souris alors qu'elles sont sub-épicaudales chez l'homme. En effet, les artères coronaires émergent de l'aorte et se dirigent sub-épicaudalement avant d'entrer dans le myocarde. Les branches primaires et secondaires de l'artère coronaire gauche sont ainsi intra myocardiales dans les parois du ventricule gauche et les branches secondaires de l'artère coronaire droite sont sub-endocardiales. Les branches atriales sont, quant à elles, sub épicaudales (55)

Une autre différence majeure est l'existence chez les modèles murins **d'une artère septale** irriguant le septum. Ce dernier étant, chez l'homme, irrigué par des branches perforantes d'artères sub-épicaudales. Cette irrigation est particulièrement importante puisque celui-ci permet la dynamique ventriculaire et contient le système de conduction central (56).

Enfin, le cœur des rongeurs ne présente **pas de sillon interventriculaire** (57).

5. Les veines cardiaques

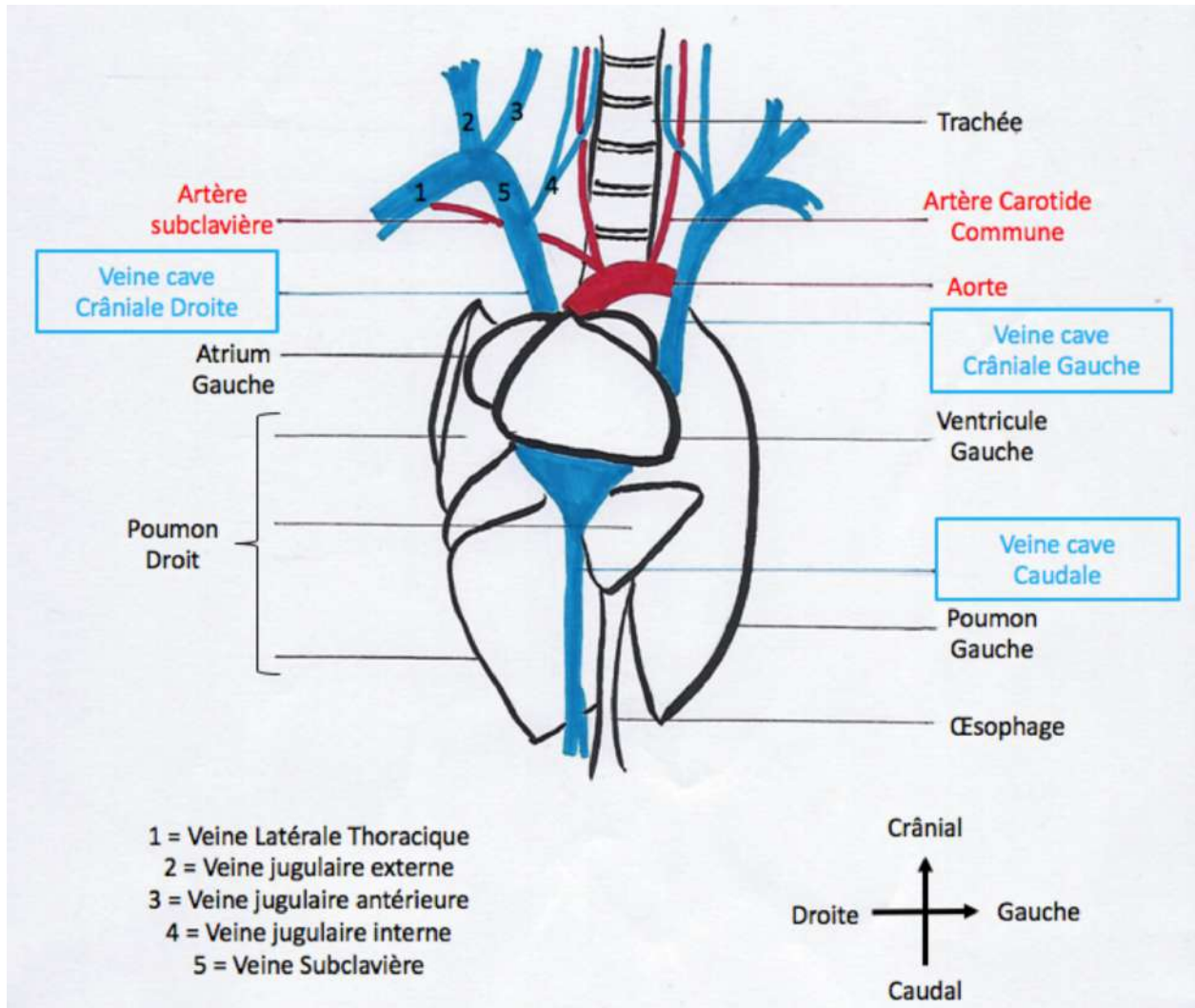


Figure 15 : Schéma d'un thorax de souris sans thymus, réalisé par l'auteur.

Contrairement à l'homme, les rongeurs possèdent une deuxième veine cave crâniale : **la veine cave crâniale gauche**. La branche commune prend alors le nom de veine cave crâniale droite et le sinus coronaire correspond à la partie terminale de la veine cave crâniale gauche entre son ouverture dans l'atrium droit et la veine azygos, au niveau du sillon coronaire (59).

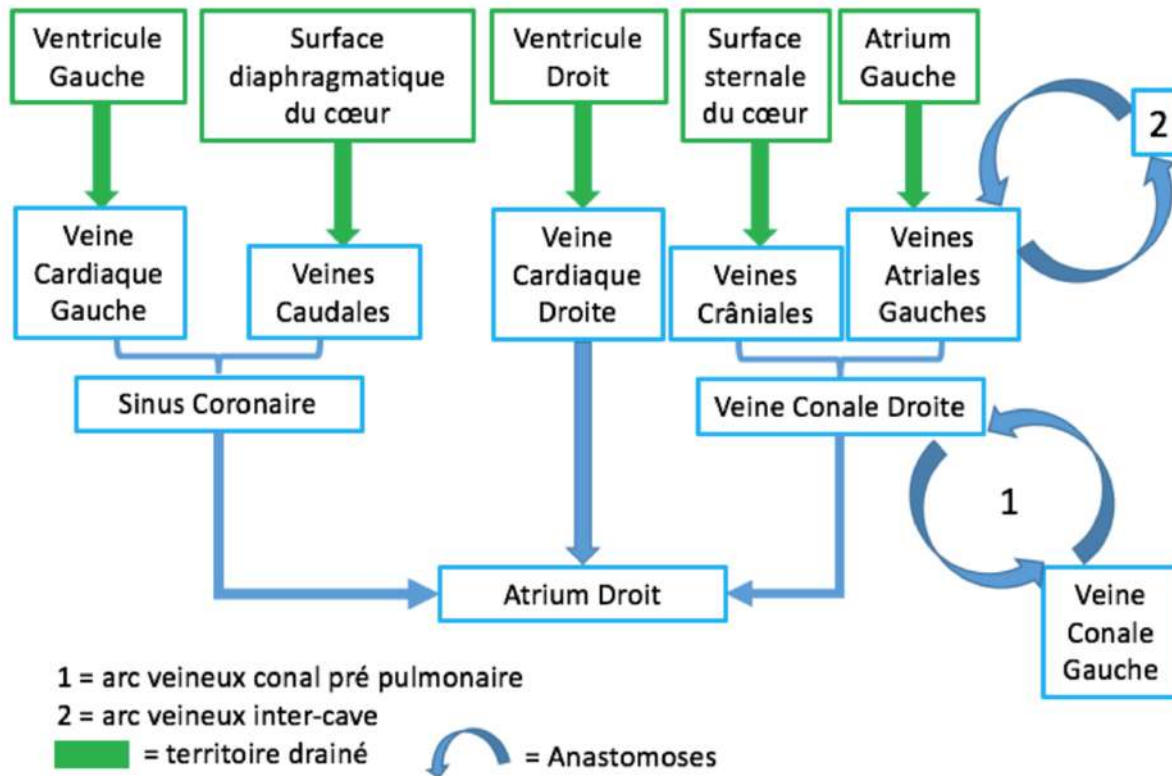


Figure 16 : Schéma du drainage veineux murin, réalisé par l'auteur.

Ciszek et coll. (60) décrivent ces veines. Elles sont sub-épicaudiques et ne sont donc pas parallèles aux artères dont la trajectoire est intra myocardique. Elles s'abouchent ensuite vers le sinus coronaire, l'atrium droit ou la veine cave crâniale droite. Ce système se compose :

- **Des veines atriales gauches** : elles drainent l'atrium gauche et fusionnent avec les veines conales avant d'affluer dans le sinus coronaire. Des anastomoses sont décrites notamment avec l'atrium droit ou la veine conale gauche et forment l'arc veineux inter cave.
- **D'une veine cardiaque gauche** : elle draine partiellement les surfaces sternales et diaphragmatiques du ventricule gauche.
- **D'une veine caudale** majeure et parfois de veines caudales mineures drainant la surface diaphragmatique du cœur avant d'aboucher dans le sinus coronaire.
- **D'une veine cardiaque droite** : elle draine le ventricule droit par une branche depuis l'apex et une depuis la face sternale du ventricule droit qui fusionnent avant de s'ouvrir dans l'atrium droit.
- **Des veines cardiaques crânielles** : elles drainent les faces sternales avant d'être collectées par la veine conale droite.
- **Des veines conales** : assez spécifiques de la souris et très variables selon les individus, il existe généralement une veine conale droite et une veine conale gauche.

- La droite se dirige sur la circonférence droite de la racine pulmonaire, traverse l'aorte ascendante, entre dans le sillon coronaire et s'ouvre dans l'atrium droit après avoir collecté les veines cardiaques crânielles.
- La gauche se dirige sur la circonférence gauche de la racine pulmonaire, puis sur la surface conale des atria et s'ouvre dans la veine cave crâniale droite ou l'atrium droit. Elle peut être absente dans certains cas.

Souvent, une anastomose entre ces deux veines est présente et forme **l'arc veineux conal pré pulmonaire**. Parfois une autre anastomose, située entre l'aorte et le tronc pulmonaire, est présentée et forme le **cercle veineux conal**.

Le drainage veineux de l'atrium droit n'est pas visible chez la souris.

Bilan partiel 4 : vascularisation myocardique murine

- Origine aortique des coronaires par les sinus de Valsalva, comme l'homme
- Ramifications coronaires similaires à l'homme :
 - Artère Coronaire Gauche : A. Marginale obtuse + A. Circonflexe Gauche
 - Artère Coronaire Droite : A. Septale + A. Conale + A. Circonflexe
- Différences majeures avec l'homme :
 - Disposition et trajectoire intra myocardique
 - Présence d'une Artère Septale
 - Absence de sillon interventriculaire
- Variations interindividuelles, éventuellement liées à la souche
- 2 veines caves crânielles, comparaison veineuse avec l'homme limitée

B. Vascularisation cérébrale murine

Des atlas décrivent la vascularisation de la tête et du cou des souris (61,62). La FIGURE 17 résume l'apport de sang au polygone de Willis et les collatérales des vaisseaux l'approvisionnant.

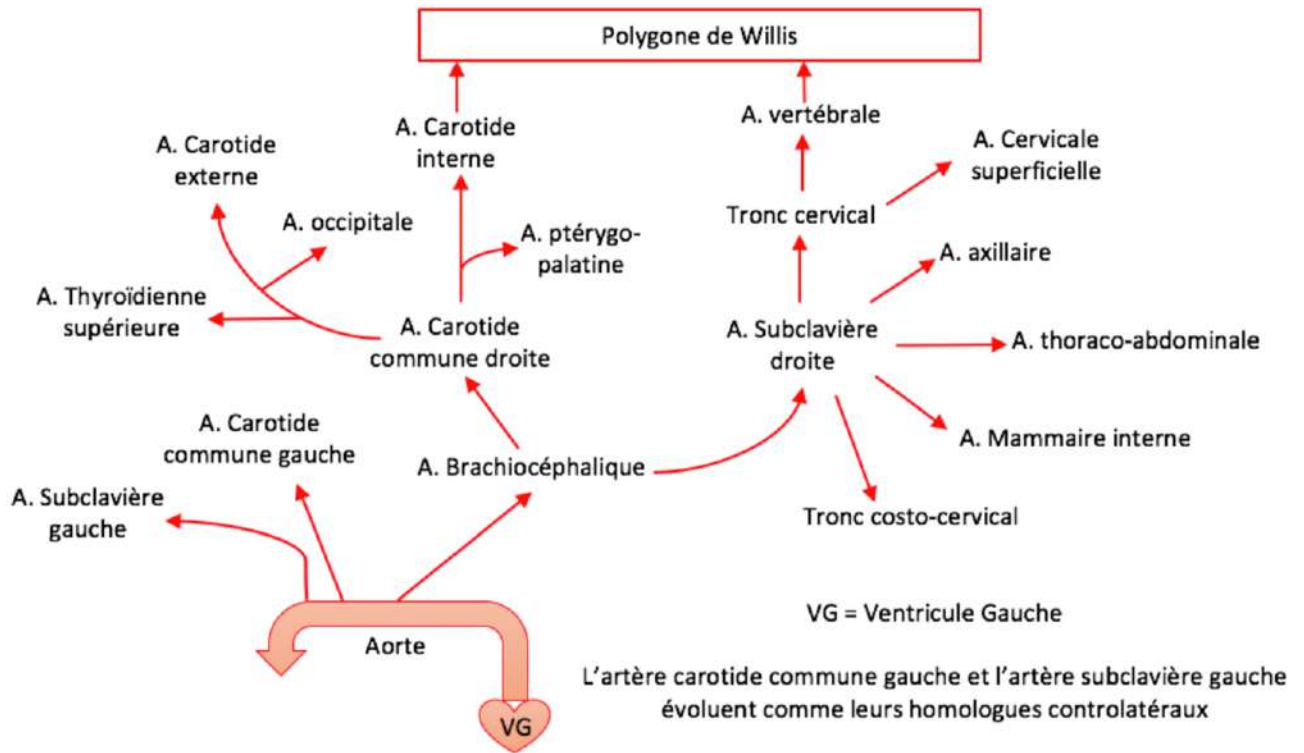


Figure 17 : Artères de la tête et du cou de la souris, réalisé par l'auteur.

L'apport majeur de sang du cerveau de souris provient ainsi de **deux sources** : les artères carotides, issues des artères carotides communes et les artères vertébrales, issues des artères subclavières. Comme chez l'homme, la réunion des circulations antérieure-postérieure et gauche-droite conduit à la formation d'un polygone de Willis. Il présente des similarités mais aussi des différences avec celui de l'homme. La FIGURE 18 le représente et les FIGURES 19 et 20 représentent en détail les parties postérieures et antérieures, respectivement.

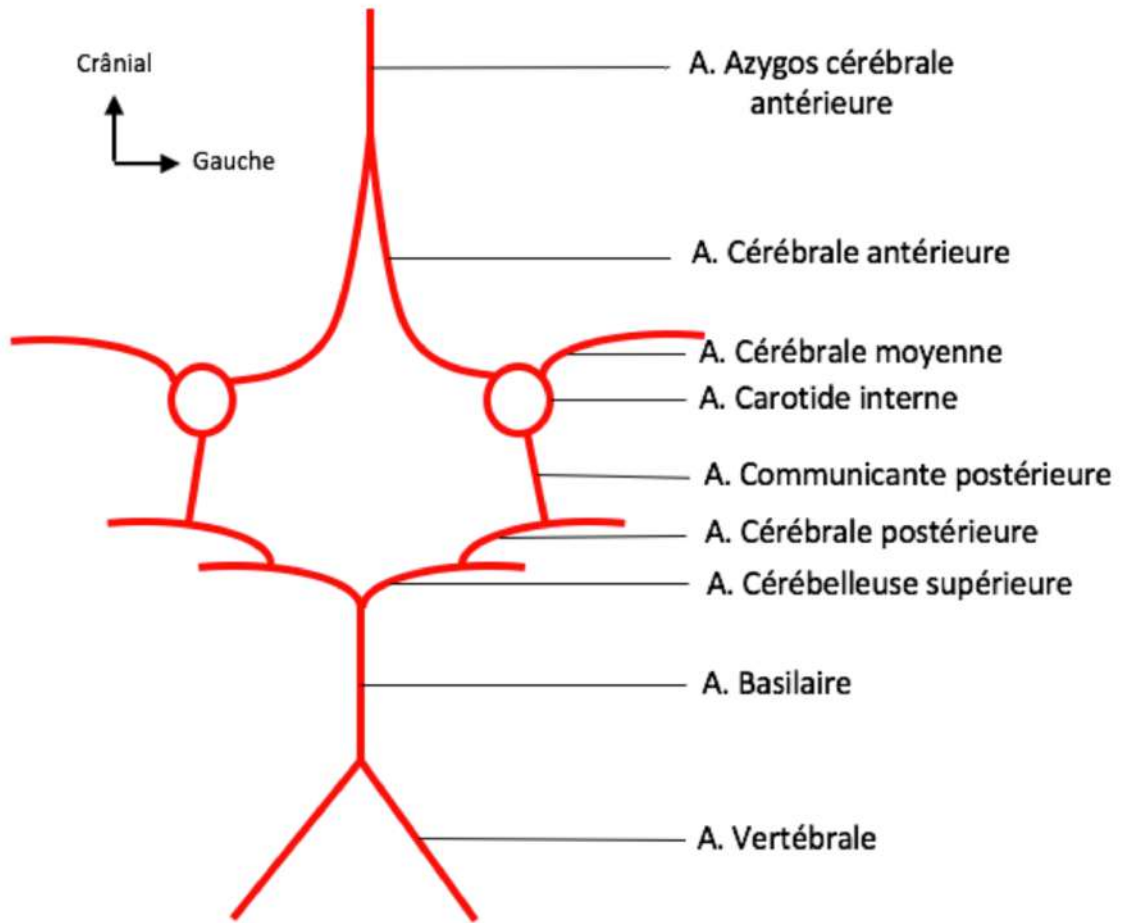


Figure 18 : Schéma du polygone de Willis de la souris, réalisé par l'auteur.

Des études combinant l'IRM et le scanner micro CT sur des souris après craniectomie permettent d'identifier les artères cérébrales murines (63).

1. Partie postérieure (63,64)

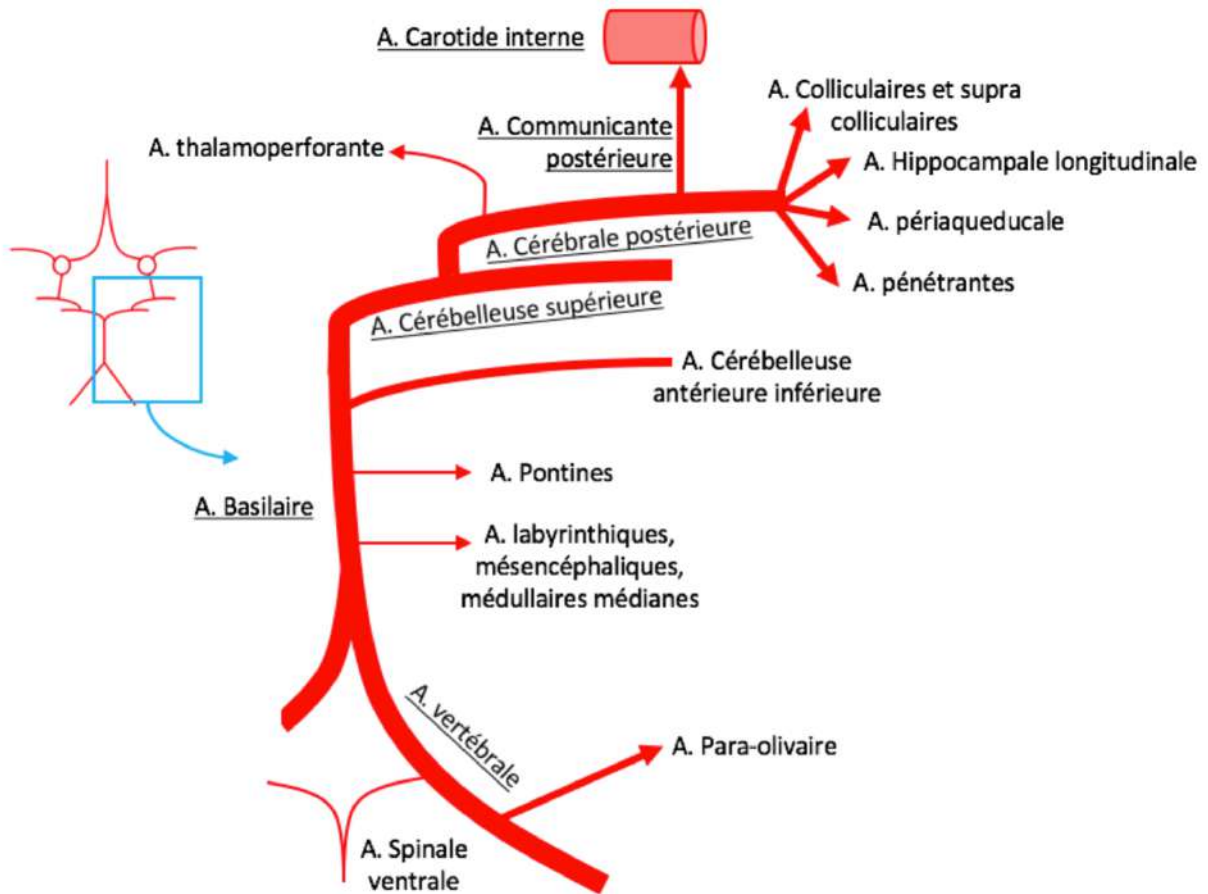


Figure 19 : Schéma des ramifications de la circulation cérébrale postérieure de la souris, réalisé par l'auteur.

Chez la souris, les artères vertébrales sont à l'origine de deux larges artères para olivaires et d'une artère spinale ventrale, avant de fusionner en une artère basilaire au niveau de la jonction pont-moelle allongée. Celle-ci longe le pont jusqu'à sa partie antérieure où elle est à l'origine d'artères pontines irriguant le Pont, d'artères cérébelleuses inférieures antérieures approvisionnant le cervelet et d'artères labyrinthiques mais aussi d'artères mésencéphaliques et médullaires médianes. Elle se termine en deux artères cérébelleuses supérieures fournissant le cervelet et à partir desquelles émergent les artères cérébrales postérieures (64)(65).

Les artères cérébrales postérieures sont connectées aux carotides internes via les artères communicantes postérieures et s'anastomosent aussi entre elles via leurs branches thalamoperforantes. Elles irriguent une grande partie de la partie postérieure des hémisphères cérébraux, du thalamus et une partie du tronc cérébral via leurs ramifications. Le long de leur trajet, elles donnent notamment des artères colliculaires transverses et des rameaux supracolliculaires irriguant les colliculi du mésencéphale, des artères hippocampales longitudinales fournissant l'hippocampe, des artères périaqueducales alimentant l'aqueduc du mésencéphale et des artères pénétrantes approvisionnant le lobe occipital (64)(65).

2. Apport antérieur (64,65)

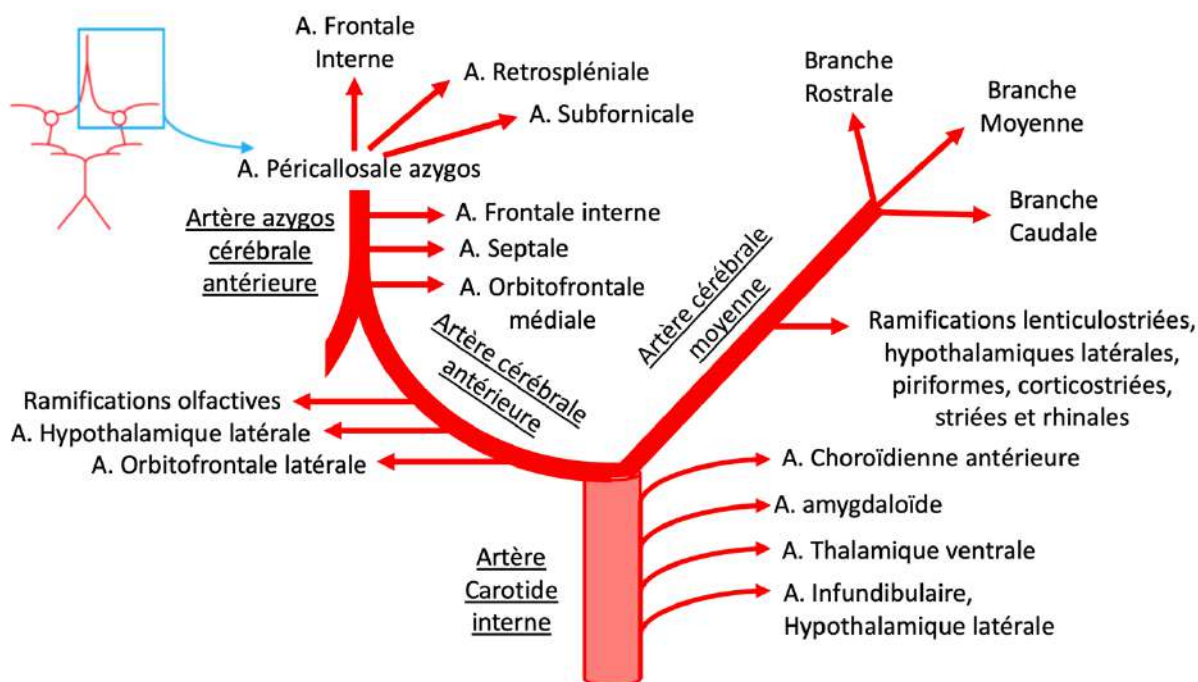


Figure 20 : Schéma des ramifications de la circulation cérébrale antérieure de la souris, réalisé par l'auteur.

Les artères carotides internes sont, comme chez l'homme, à l'origine d'une artère communicante postérieure, cérébrale antérieure, cérébrale moyenne et choroïdienne antérieure. Des artères plus petites sont aussi décrites chez la souris, telles que les artères Infundibulaires, hypothalamiques latérales irriguant l'hypothalamus, thalamique ventrale fournissant le thalamus et amygdaloïdes antérieures et postérieures approvisionnant les amygdales.

L'artère choroïdienne antérieure est à l'origine de l'artère thalamique dorsale irriguant le thalamus avant de se ramifier en branches fournissant le tractus optique, l'hippocampe antérieur, le pallidus, les ventricules latéraux et le troisième ventricule.

Les artères cérébrales antérieures irriguent comme chez l'homme, la partie médiale des cortex par des ramifications olfactives, hypothalamique latérale et orbitofrontale latérale, cependant, elles ne sont pas connectées par une artère communicante mais fusionnent en une artère azygos cérébrale antérieure.

De l'artère azygos cérébrale antérieure émergent : l'artère orbitofrontale médiale irriguant le bulbe olfactif et une partie des cortex frontal et cingulaire ; les artères septales rostrales et ascendantes irriguant les noyaux septaux ; et l'artère frontale interne irriguant la partie antéro-médiale des lobes frontaux. Elle se termine en une artère pericallosale azygos qui donne naissance aux artères frontales internes moyennes et postérieures approvisionnant la

partie postéro-médiale des lobes frontaux et la partie médiale des lobes pariéto-temporaux, puis se termine en artères retrosplénales et subfornicales.

L'artère cérébrale moyenne irrigue une grande partie de la surface latérale du cortex. Elle approvisionne une partie du striatum, de l'hypothalamus, des amygdales et des lobes frontaux à travers ses ramifications lenticulostrées, hypothalamiques latérales, piriformes, corticostrées, striées et rhinales. Elle se divise ensuite en trois branches :

- rostrale, irriguant le cortex frontal non approvisionné par l'artère cérébrale antérieure
- moyenne, fournissant la partie postérieure du cortex frontal et une partie des cortex pariéto-temporaux
- caudale, irriguant la partie dorso-latérale des lobes pariéto-temporaux.

La vascularisation du cerveau des rongeurs présente de nombreuses similarités avec celle de l'homme au niveau de ses artères majeures : notamment par la réunion des circulations cérébrales antérieures et postérieures, droites et gauches grâce à la présence d'un polygone de Willis. Quelle est l'organisation de leurs ramifications corticales ?

3. Un réseau pial murin développé permettant une comparaison avec l'homme

Des études comparant l'organisation vasculaire piale avec le degré d'évolution phylogénique montrent que son réseau en anastomoses de surface à l'origine de ramifications plongeant dans le cortex est très conservé chez les mammifères (65).

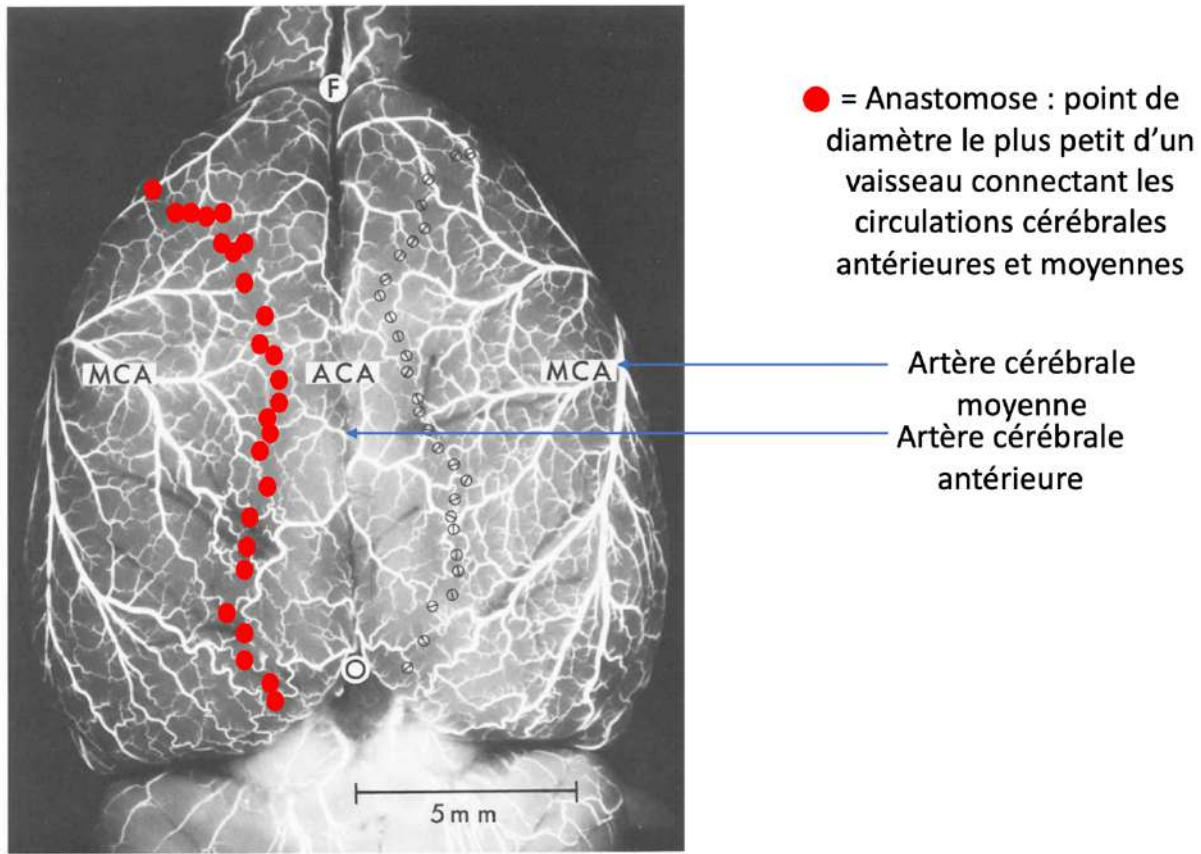


Figure 21 : Mise en évidence des connections anastomotiques piales chez un rat, d'après Coyle et coll. (66).

Coyle et coll. mettent en effet en évidence par injection de particules de Vutex dans l'aorte de rats l'existence d'anastomoses de surface entre les artères cérébrales antérieures et moyennes (66). Des angiogrammes réalisés sur des souris et rats confirment la présence d'un **réseau artériel pial interconnecté** couvrant la quasi totalité de la surface du cortex et à partir duquel émergent des **artérioles pénétrantes** dans le cortex (37). Plus précisément, Shih et coll. distinguent des artères piales de faible ou grand diamètre intervenant dans l'hémodynamique sanguine (50). Toriumi et coll. soulignent l'existence de jonctions en T entre les artérioles piales et les vaisseaux pénétrants ce qui permet de transmettre le flux sanguin des artérioles piales vers le cortex cérébral (39).

Enfin, des études comparant le réseau vasculaire au cortex montrent l'existence chez les souris C57BL6 d'un **réseau micro vasculaire plus profond**, connecté au réseau de surface pial par les artères pénétrantes. Le nombre de ramification des artères pénétrantes est maximal au niveau de la quatrième couche du cortex (67).

L'organisation vasculaire corticale est assez similaire à celle de l'homme. Tsai et coll. suggèrent même que les variations laminaires de densités vasculaires lui sont semblables (68).

Pour la vascularisation des **structures profondes**, des expériences d'occlusion de l'artère cérébrale moyenne de rats montrent une sensibilité accrue des noyaux profonds à l'ischémie dont l'explication peut se trouver dans le **manque apparent d'un système d'anastomose** similaire à la vascularisation de surface (69). De plus, en comparant la dispositions des vaisseaux dans les zones les plus touchées par des AVC spontanés chez l'homme et le rat de souche hypertensive (SHR), une étude montre que la disposition artérielle influe sur le développement de l'AVC et que celle-ci est similaire entre ces deux espèces pour les artères lenticulostrées et de Heubner (70).

L'organisation vasculaire interne et superficielle des rongeurs ressemble donc à celle de l'homme. Qu'en est-il lors d'ischémie ?

4. Le tissu cérébral murin

Le **degré et la distribution de l'ischémie varie selon les espèces**. Weinstein et coll. montrent qu'une ischémie de moins de 4 heures ne crée que de petites zones de nécrose et qu'un infarctus franc n'apparaît qu'après 4 heures d'occlusion chez les chats (71). A l'inverse, Jones et coll. observent des infarctus de taille modérée à large chez des singes dont l'artère cérébrale moyenne est occluse pendant 2-3 heures (72).

Ces variations sont dues à des **différences de résistance à l'ischémie** influencées par différents paramètres. Une étude de variation de la température du cerveau avec maintien de la température corporelle à 37°C montre qu'une légère élévation de 2°C au niveau cérébral conduit à une accentuation marquée de l'infarctus, la température corporelle ne reflétant pas précisément la température du cerveau (73). Kaplan et coll. (74) soulignent également la variabilité de la **différence de température corps/cerveau selon les espèces** et donc de leur vulnérabilité à l'ischémie.

Tsai et coll. montrent que la **densité neuronale** de la souris est environ 4 fois égale à celle des hommes et que leur ratio neurone/cellule non neuronale est de 3/1 alors qu'il avoisine le 1/1 chez les autres espèces (68). En comparant l'ATP utilisé par unité de volume et de temps entre l'homme et le rat, Hyder et coll. suggèrent, quant à eux, que les besoins énergétiques pour le fonctionnement cortical sont conservés au sein des mammifères et soulignent la pertinence des modèles murins (75).

La réponse à l'ischémie peut donc être différente en fonction des modèles animaux parce que leur résistance à l'ischémie varie. Cela permet à Kaplan et coll. d'illustrer l'importance du modèle utilisé dans la détermination des fenêtres thérapeutiques (74).

Bilan partiel 5 : la vascularisation cérébrale murine

- Les rongeurs présentent de nombreuses ressemblances avec l'homme :
 - La réunion des circulations antérieures et postérieures ainsi que droite et gauche par le polygone de Willis
 - L'organisation vasculaire interne et corticale
- Certaines différences sont à noter :
 - L'absence d'artère communicante antérieure mais la fusion des artères cérébrales antérieures en une artère azygos cérébrale antérieure que l'on peut rapprocher de l'artère péricallosale humaine
 - Les différences de ramification de l'artère vertébrale
 - La collatérale de l'artère carotide interne, avant son entrée dans le polygone de Willis, correspond à l'artère ophtalmique chez l'homme et à l'artère ptérygopalatine chez la souris
- La sensibilité ou la résistance à l'ischémie peut varier selon les espèces

Ainsi, la circulation cérébrale murine présente de nombreux points communs avec celle de l'homme notamment au niveau de ses anastomoses. Cette circulation irrigue des territoires précis dont la connaissance permet la compréhension et la description des expériences d'occlusion vasculaire. Il est donc intéressant d'étudier la structure cérébrale et les zones perfusées par les artères décrites.

C. Les territoires irrigués par les artères cérébrales

Pour mieux comprendre la perfusion du cerveau, il est nécessaire d'étudier son anatomie avant de s'intéresser aux territoires d'irrigation, d'abord chez l'homme puis de voir en quoi elle se rapproche ou diffère de celle de la souris.

1. Chez l'homme
 - a) *Découpe majeure (76–78)*
 - (1) Le télencéphale

Le télencéphale permet l'intégration des données ascendantes. Une fissure longitudinale le divise en deux hémisphères. Elle contient un repli de dure mère appelé la faux du cerveau. Il comprend, de plus, un cortex externe constitué de substance grise, c'est-à-dire des corps cellulaires des neurones, une substance blanche interne, participant à la transmission de l'influx nerveux et des noyaux gris profonds.

(a) Le cortex cérébral

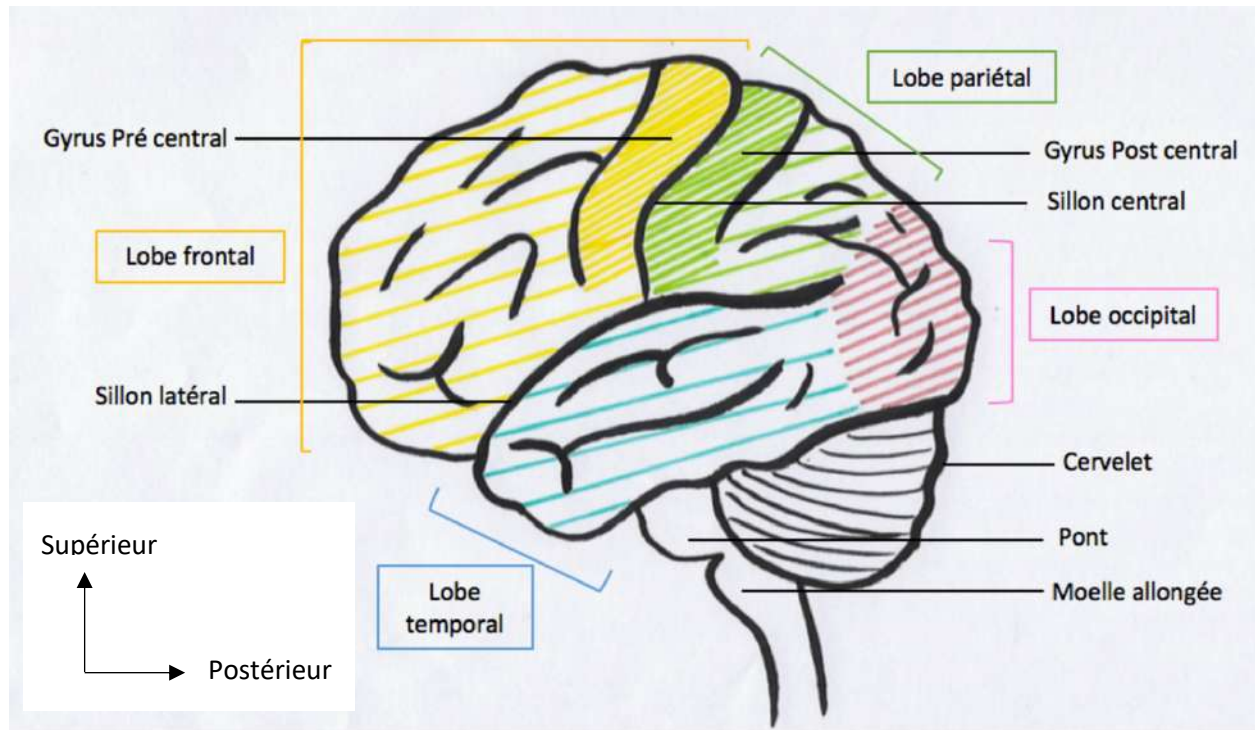


Figure 22 : Lobes du cortex cérébral de l'homme, vue latérale, réalisé par l'auteur.

Le cortex cérébral a un aspect extérieur plissé en raison des nombreuses circonvolutions qu'il présente. Certaines plus importantes prennent le nom de sillon et les plus profondes celui de fissures. Nous distinguons notamment :

- Le **sillon central** qui sépare le lobe frontal du lobe pariétal.
- Le **sillon pariéto-occipital**, qui en profondeur, sépare le lobe pariétal et le lobe occipital.
- La **fissure latérale** qui sépare le lobe pariétal, le lobe frontal et le lobe temporal.

D'autres sillons sont aussi décrits : la fissure calcarine, au sein du lobe occipital et le sillon délimitant le corps calleux.

La cytoarchitectonie de Brodmann permet ensuite de définir 4 lobes majeurs ainsi que leurs zones, associées à leurs fonctions.

- **Le lobe occipital** est ainsi associé à la **vision**. Les informations visuelles sont relayées depuis la rétine par le corps géniculé latéral avant d'établir de nombreuses connexions avec le thalamus puis d'être transmises vers le cortex du lobe occipital.
- **Le lobe frontal** est associé aux **fonctions motrices**. Les informations sont relayées vers ses aires motrices où le cortex moteur peut à son tour émettre des informations vers le thalamus avant d'aboutir à des régulations vers le cervelet. Il contient le gyrus précentral,

un cortex moteur primaire participant au contrôle des muscles du corps et à l'initiation du mouvement et **l'aire de Broca** impliquée dans le contrôle de la motricité du langage. Il est aussi associé aux fonctions cognitives de décision et planification.

- **Le lobe pariétal** est associé à l'intégration de l'information sensitive en corrélant une sensation à sa localisation dans l'organisme. Il contient le gyrus post central ou cortex somato sensoriel primaire et participe aux sensations du **toucher, à la proprioception et à la kinesthésie**. **L'aire de Wernicke** y est aussi comprise et participe à la compréhension des phrases.
- **Le lobe temporal** est impliqué dans **l'audition** et est en lien avec la zone de Wernicke. Un **cortex olfactif** est aussi présent où les informations olfactives, perçues au niveau des bulbes olfactifs au devant du cerveau puis, transmises par le nerf I, stimulent certaines régions du lobe temporal avant de se disperser vers la région cingulaire. Il est à proximité de l'hippocampe et est associé à une fonction de mémorisation.

Au niveau interne, **le lobe cingulaire** est décrit : il est impliqué dans les fonctions **émotionnelles et l'intégration des odeurs**.

Ces informations sont aussi distribuées à l'hypothalamus et à des noyaux automatiques du tronc cérébral. La substance grise superficielle interagit aussi avec les noyaux gris profonds.

(b) Les structures subcorticales

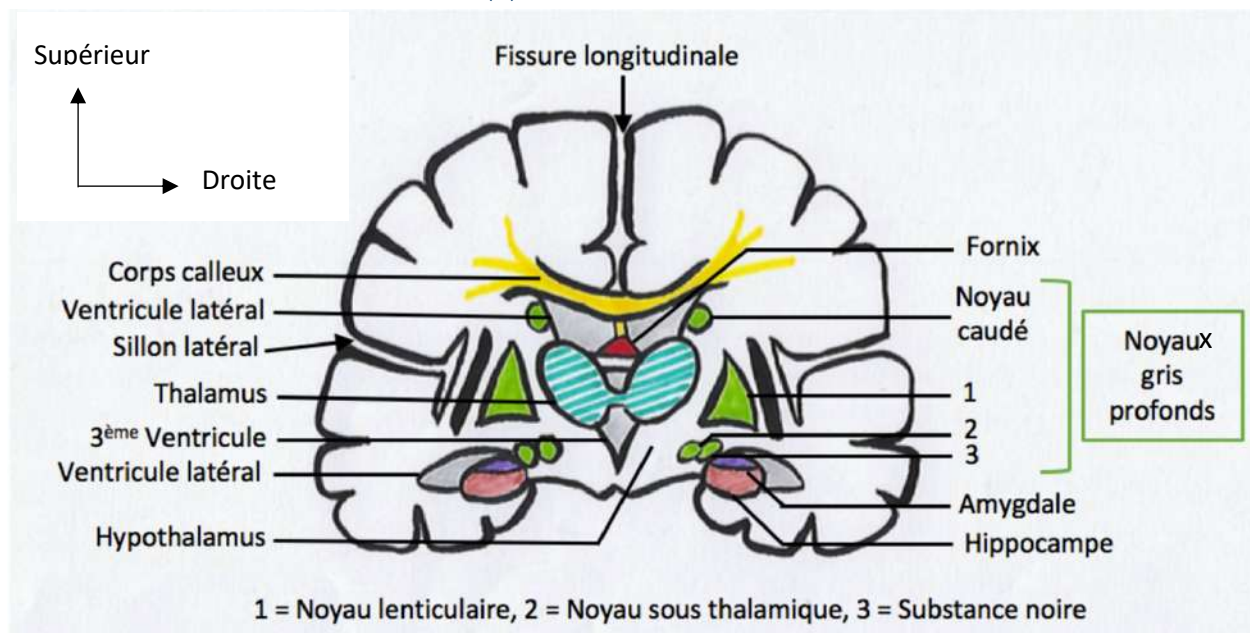


Figure 23 : Schéma d'une coupe transversale de cerveau humain, réalisé par l'auteur.

Les noyaux gris profonds ou noyaux basaux sont constitués du noyau caudé, du noyau lenticulaire, divisé en putamen et pallidum, de la substance noire et des noyaux sub thalamiques. Le putamen et le noyau caudé forment le striatum. Ils réalisent des interactions avec le cortex télencéphalique et interviennent dans la stimulation ou l'inhibition du mouvement.

Le système limbique participe aux émotions et à la mémoire. Il contient les amygdales, qui participent à la connexion émotion-réponse, le cortex cingulaire qui contribue à la distinction des émotions et l'hippocampe, dans le lobe temporal qui permet la consolidation de la mémoire à long terme. Les hippocampes sont reliés aux corps mamillaires de l'hypothalamus par un faisceau d'axone appelé Fornix.

Les différentes parties communiquent grâce à leurs axones qui constituent des fibres ou faisceaux de substance blanche.

(c) La substance blanche cérébrale

La substance blanche correspond à la partie axonale des neurones. Elle permet de transmettre l'influx nerveux sur de grandes distances et ainsi de connecter différentes zones du système nerveux. Selon les régions reliées, la substance blanche peut former :

- **Des commissures** : elles relient deux régions de cortex situées dans **deux hémisphères différents** et traversent la ligne médiane du cerveau.
- **Des fibres d'association** : elles relient différentes régions corticales d'un **même hémisphère**.
- **Des faisceaux de projection** : émises depuis le cortex vers les noyaux gris profonds, le tronc cérébral ou la moelle épinière.

Anatomiquement, nous distinguons :

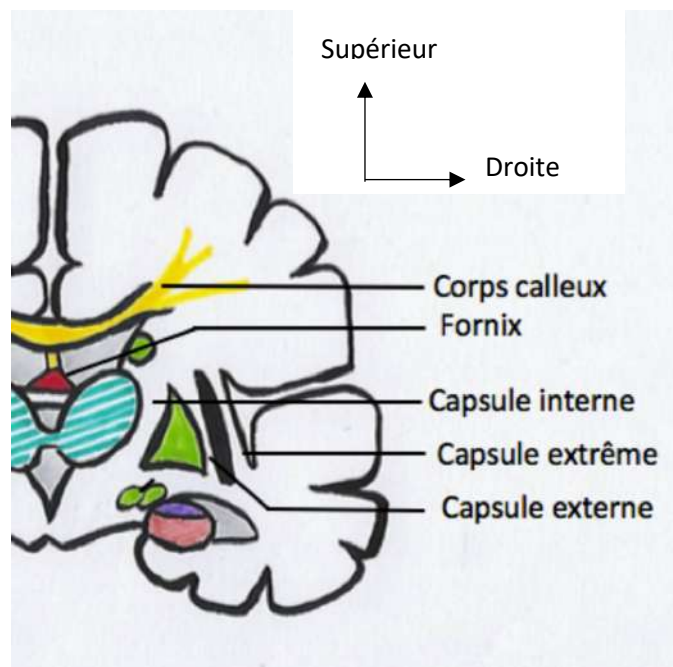


Figure 24 : Structures cérébrales de substance blanche, réalisé par l'auteur.

- **Le corps calleux** : il correspond à la commissure la plus volumineuse. La **commissure antérieure** permet le lien entre les lobes temporaux et une **commissure postérieure** passe dans la paroi du troisième ventricule, sous l'épiphyse et connecte les thalami.
- **Les capsules**:
 - o Interne : elle correspond à des axones ascendants et descendants dans et depuis le cortex au delà des noyaux basaux. Elle sépare les noyaux caudés et le thalamus du putamen et pallidum.
 - o Externe : ces fibres d'association cortico-corticales séparent les noyaux lenticulaires d'une fine couche de substance grise détachée appelée **Clastrum**
 - o Extrême : elle permet une communication entre le **Clastrum** et les lobes.
- **Le Fornix** est un arc de substance blanche sous le corps calleux formé de deux parties réunies au centre par une commissure hippocampale.

(2) Le diencephale

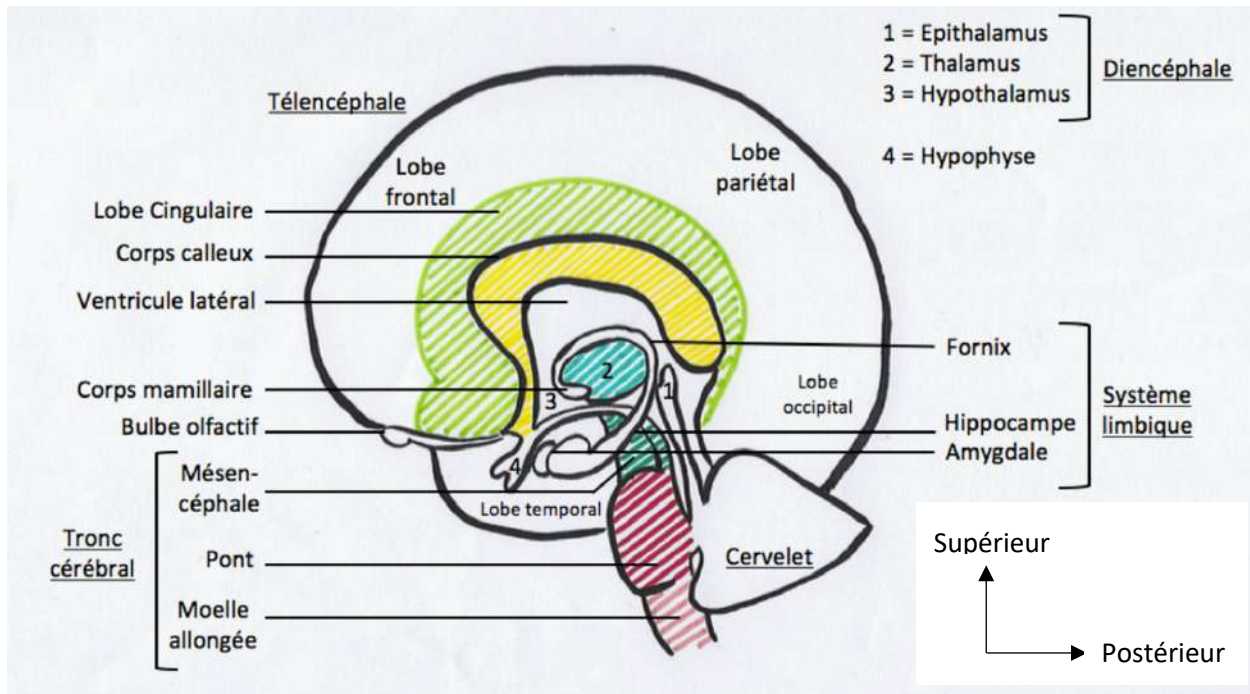


Figure 25 : Schéma des structures internes du cerveau humain, réalisé par l'auteur.

(a) Le thalamus

Chaque hémisphère contient un thalamus. Il est constitué d'un **noyau gris profond divisé en noyaux thalamiques** à partir desquelles les axones, appelés radiations thalamiques, se ramifient dans le cortex. Les informations sensibles à l'exception de l'olfaction, passent par lui, elles sont intégrées à son niveau et relayées vers le cortex. De même, les informations issues du cortex sont aussi à leur tour transmises au thalamus. Il constitue donc un relai implorant entre

les informations sensibles externes et le cortex cérébral. Les deux thalami communiquent par une commissure grise.

(b) L'hypothalamus

Chaque hémisphère contient un hypothalamus. Il intervient dans le contrôle de l'hypophyse, la mémorisation, la régulation de nombreux paramètres comme la température, la fréquence cardiaque, la pression artérielle, la faim ou encore le rythme circadien. L'équilibre variable de ces fonctions permet le maintien de l'homéostasie et en fait le premier acteur du système nerveux autonome.

(c) L'épithalamus

L'épithalamus contient la **glande pinéale** et intervient dans la production de mélatonine et donc le sommeil. Les noyaux subthalamiques appartiennent aussi au diencephale.

(3) Le tronc cérébral

Le tronc cérébral est constitué du Mésencéphale, du Pont et de la Moelle allongée.

Le mésencéphale se situe en partie inférieure au diencephale. Il participe à la gestion des données visuelles et auditives, à la formation des réponses motrices somatiques réflexes et au maintien de la conscience.

Le Pont constitue un lien entre le cervelet et les autres parties du cerveau et de la moelle épinière.

La moelle allongée correspond à la partie inférieure du tronc cérébral. Elle est le lieu de passage des grands faisceaux sensitifs ascendants vers le thalamus et moteurs descendants à distribution aux différents niveaux de la moelle épinière. Elle contient les formations réticulaires, impliquées dans la régulation de l'attention, de l'éveil et de l'activité cérébrale globale. L'information sensitive, qui entre depuis la périphérie à travers les nerfs crâniens ou la moelle épinière, est copiée dans un noyau de la moelle appelé l'olive inférieure. La face médiale de la moelle allongée est composée de pyramides, aux fibres axonales du tractus cortico-spinal moteur. Latéralement, elle présente le sillon pré-olivaire, les olives, les cordons latéraux dorsaux et les sillons latéraux dorsaux.

Avec le Pont, elle participe à la régulation des systèmes respiratoires, vasomoteurs et cardiovasculaires. La majeure partie des nerfs crâniens émergent du tronc cérébral. Elle se continue ensuite avec la moelle épinière via le foramen magnum.

(4) Le cervelet

Le cervelet est séparé du cerveau par une fissure transverse contenant aussi un septum de dure mère appelé la tente du cervelet. Le lien avec le tronc cérébral est permis par 3

pédoncules cérébelleux faits de substance blanche. Il est constitué d'un arbor vitae constitué de sa substance blanche ; la substance grise est externe et forme des plis appelés folia. Le cervelet comporte deux hémisphères cérébelleux. En son centre, le cortex devient le vermis et la faux du cervelet sépare ses deux moitiés. Il assure l'équilibre et intervient dans la régulation du tonus musculaire statique et dynamique.

(5) Le liquide céphalo-rachidien et les ventricules

Des cavités sont présentes au sein du cerveau : les ventricules. Elles contiennent le liquide cérébro-spinal (LCS), sécrété par les plexus choroïdes à partir du liquide lymphatique. Chaque hémisphère contient un ventricule latéral, séparé par une cloison médiale : le septum pelucidum. Ils communiquent tous deux avec un ventricule médian unique : le troisième ventricule. Celui-ci se draine vers l'aqueduc du mésencéphale avant de communiquer avec le quatrième ventricule, situé entre le tronc cérébral et le cervelet. Le LCS circule ensuite dans l'espace de l'arachnoïde et permet ainsi de baigner l'extérieur du cerveau et de la moelle épinière. Il assure une fonction de protection et participe à la régulation du métabolisme.

(6) Méninges

Les méninges enveloppent le cerveau et la moelle épinière. Elles régulent le débit sanguin et isolent le système nerveux central. 3 couches la composent : la dure mère, l'arachnoïde et la pie-mère. L'espace sub arachnoïdien contenant le LCS se situe entre l'arachnoïde et la pie-mère.

b) Cartographie des territoires d'irrigation (24,27)

Des vaisseaux majeurs émergent des ramifications permettant l'irrigation des structures corticales et centrales du cerveau.

Le long de leur trajet intra crânial, les artères vertébrales donnent :

- L'artère cérébelleuse postérieure inférieure, fournissant le cervelet et à l'origine de l'artère spinale postérieure irriguant la moelle allongée, du rameau choroïdien du quatrième ventricule et du rameau de la tonsille cérébelleuse.
- Deux branches qui fusionnent et se dirigent postérieurement vers la moelle épinière : les artères spinales antérieures irriguant aussi la moelle allongée.
- Des rameaux médullaires latéraux et médiaux.
- De rameaux méningés.

L'artère basilaire est à l'origine de plusieurs branches :

- L'artère cérébelleuse antérieure inférieure fournissant aussi le cervelet et à l'origine de l'artère labyrinthique irriguant la cochlée et le vestibule de l'oreille interne.
- Les branches pontines approvisionnant le Pont et les noyaux des nerfs crâniens V, VI, VII et VIII.

- Les artères cérébelleuses supérieures, irriguant la partie supérieure du cervelet et du Pont et le mésencéphale inférieur.
- Les artères cérébrales postérieures. Leurs ramifications irriguent la partie postérieure des hémisphères cérébraux dont les noyaux caudés, une partie du mésencéphale, du diencephale dont les corps géniculés et le thalamus ainsi que les plexus choroïdes des ventricules latéraux et 3^{ème}. Elles se divisent en quatre segments à l'origine de plusieurs ramifications :
 - P1, à l'origine d'artères paramédianes, circonférentielles courtes, thalamoperforantes et colliculaires.
 - P2, à l'origine d'artères centrales postéro-latérales, thalamo-géniculées, pédonculaires et choroïdiennes postérieures, dont les dernières s'anastomosent avec les artères choroïdiennes antérieures
 - P3, à l'origine de rameaux temporaux qui s'anastomosent avec les branches temporales antérieures de l'artère cérébrale moyenne.
 - P4, à l'origine de rameaux pariétal, occipital, occipito-temporal et du rameau dorsal du corps calleux qui s'anastomose avec l'artère pericallosale.

Elles se terminent en un rameau Calcarin.

Le système vertébro-basilaire irrigue ainsi le lobe temporal médial et postérieur, le lobe occipital, le thalamus, le cervelet et le tronc cérébral (26).

L'artère choroïdienne antérieure irrigue les plexus choroïdiens du 3^{ème} ventricule au ventricule latéral, d'une partie du thalamus, du tractus optique, d'une partie du mésencéphale, de la capsule interne, du globus pallidus et des corps géniculés latéraux du diencephale. Elle s'anastomose avec des rameaux issus de l'artère cérébrale postérieure.

L'artère cérébrale moyenne se divise aussi en plusieurs segments :

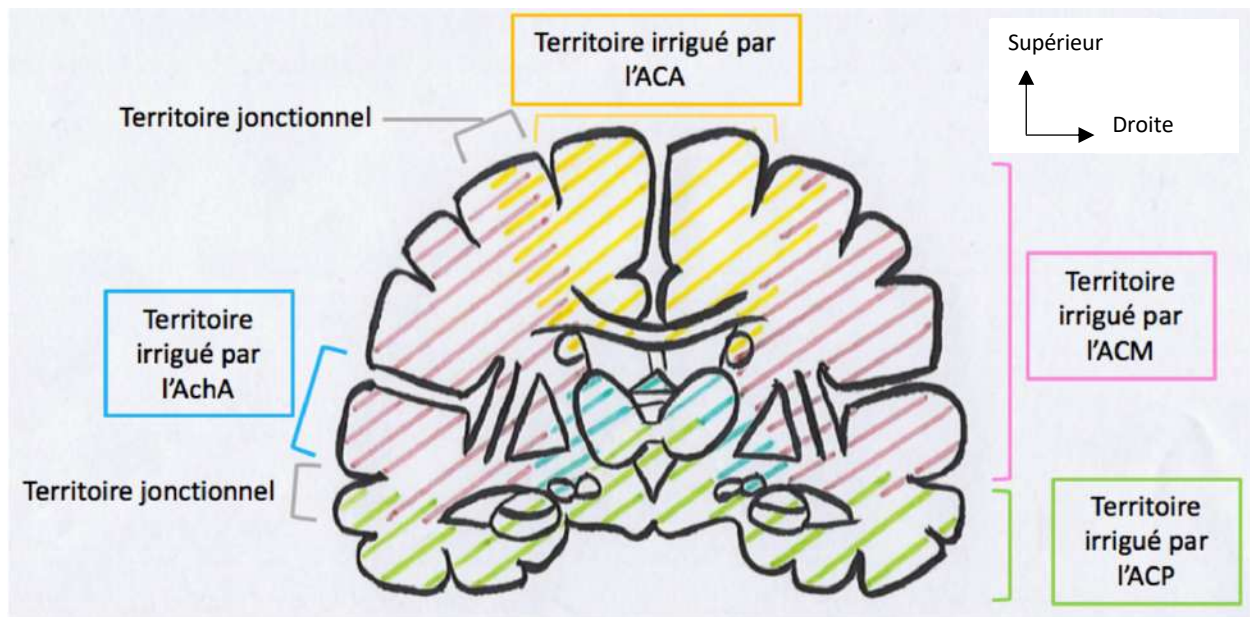
- Un segment M1, à l'origine des artères lenticulostrées, uncale, temporale antérieure et polaire temporale et se termine avec un angle quasi droit
- Un segment M2, à l'origine :
 - De branches corticales inférieures, irriguant le cortex du lobe temporal
 - De branches corticales supérieures, irriguant les cortex des lobes frontaux et pariétaux. Les artères orbitofrontales latérales, préfrontales, prérolandiques, rolandiques et post-centrales en sont des rameaux.

L'artère cérébrale moyenne se termine en artère du pli courbe. A travers ses ramifications, elle irrigue une partie du lobe frontal, des faces latérales des lobes pariétaux, temporaux et de la partie antérieure du lobe occipital. Ses ramifications profondes desservent les noyaux lenticulaires : putamen et globus pallidus, les noyaux caudés, une partie de la capsule interne et du tractus optique.

L'artère cérébrale antérieure se divise en une artère pericallosale et une artère callosomarginale. Le long de son trajet, elle donne l'artère de Heubner, les artères orbitofrontales médiales, frontopolaires et centrales. Elle irrigue ainsi par ses rameaux superficiels, la face médiale des hémisphères cérébraux et la face orbitaire du lobe frontal, et par ses rameaux profonds, la partie antérieure des noyaux caudés et du corps calleux.

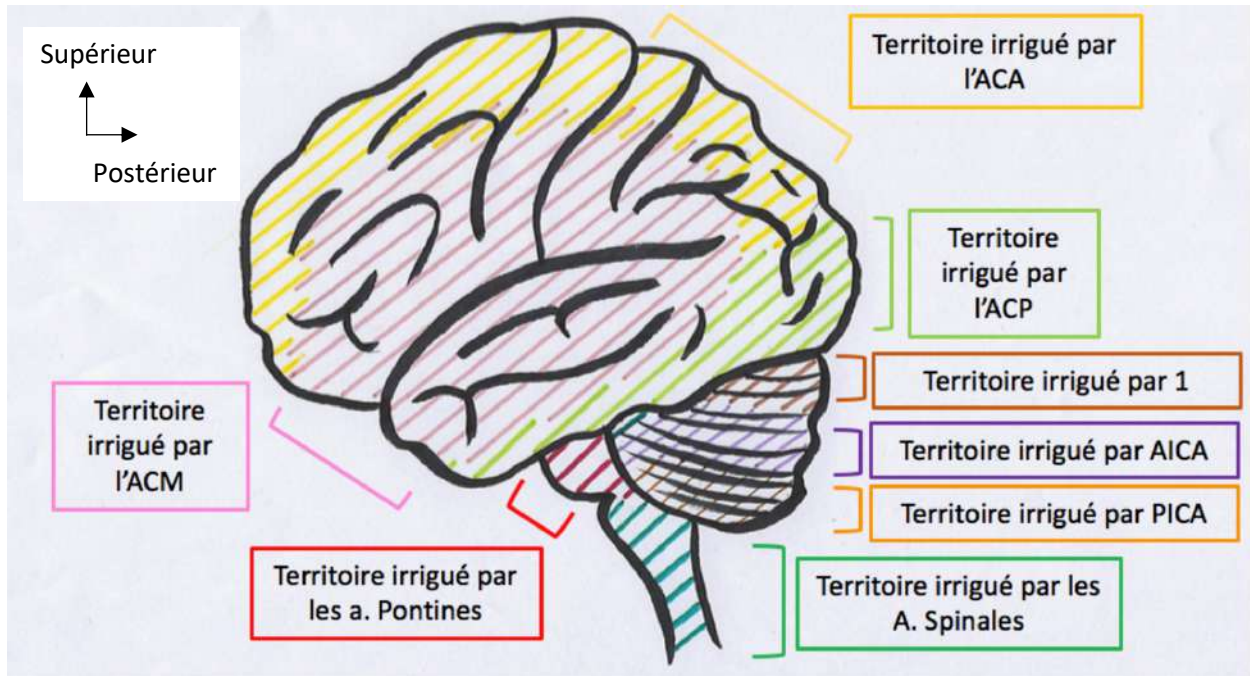
Des artères perforantes sont aussi issues des artères communicantes et permettent l'irrigation des structures centrales.

Le TABLEAU I résume les territoires irrigués par les artères (78) et les FIGURES 26 et 27 les illustrent.



AchA = artère choroïdienne antérieure, ACA = artère cérébrale antérieure, ACM = artère cérébrale moyenne, ACP = artère cérébrale postérieure

Figure 26 : Schéma de l'irrigation du cerveau humain à travers une coupe transversale, réalisé par l'auteur.



ACA = artère cérébrale antérieure, ACM = artère cérébrale moyenne, ACP = artère cérébrale postérieure, 1 = Artère cérébelleuse supérieure, AICA = artère cérébelleuse antérieure et inférieure, PICA = artère cérébelleuse postérieure et inférieure

Figure 27 : Schéma de l'irrigation du cerveau humain à travers une vue latérale, réalisé par l'auteur.

Tableau I : Artères cérébrales et territoires irrigués chez l'homme, réalisé par l'auteur.

Artère	Territoire irrigué
Cérébrale antérieure	<ul style="list-style-type: none"> - Parties médiales des hémisphères + face orbitaire lobe frontal - Noyaux caudés, corps calleux
Cérébrale moyenne	<ul style="list-style-type: none"> - Parties latérales des lobes pariétal et temporal + une partie des lobes frontal et occipital - Putamen + noyaux caudé + une partie de la capsule interne, des globus pallidus et du tractus optique.
Choroïdienne antérieure	plexus choroïdes + thalamus + tractus optique + une partie du mésencéphale, de la capsule interne et des globus pallidus
Cérébrale postérieure	<ul style="list-style-type: none"> - Une grande partie des lobes occipital et temporal - Une partie du thalamus + les plexus choroïdes + noyaux caudés + Mésencéphale
Pontines	Pont
Cérébelleuse supérieure	Partie supérieure du cervelet + Pont + mésencéphale inférieur
Cérébelleuse inférieure antérieure	cervelet
Vertébrale	Cervelet + Moelle allongée + une partie des plexus choroïdes

2. Chez la souris
a) Découpe

Comme chez l'homme, le cerveau de souris se compose de deux hémisphères cérébraux, d'un diencephale, d'un cervelet et d'un tronc cérébral constitué du Pont, du mésencéphale et de la moelle allongée (FIGURE 28).

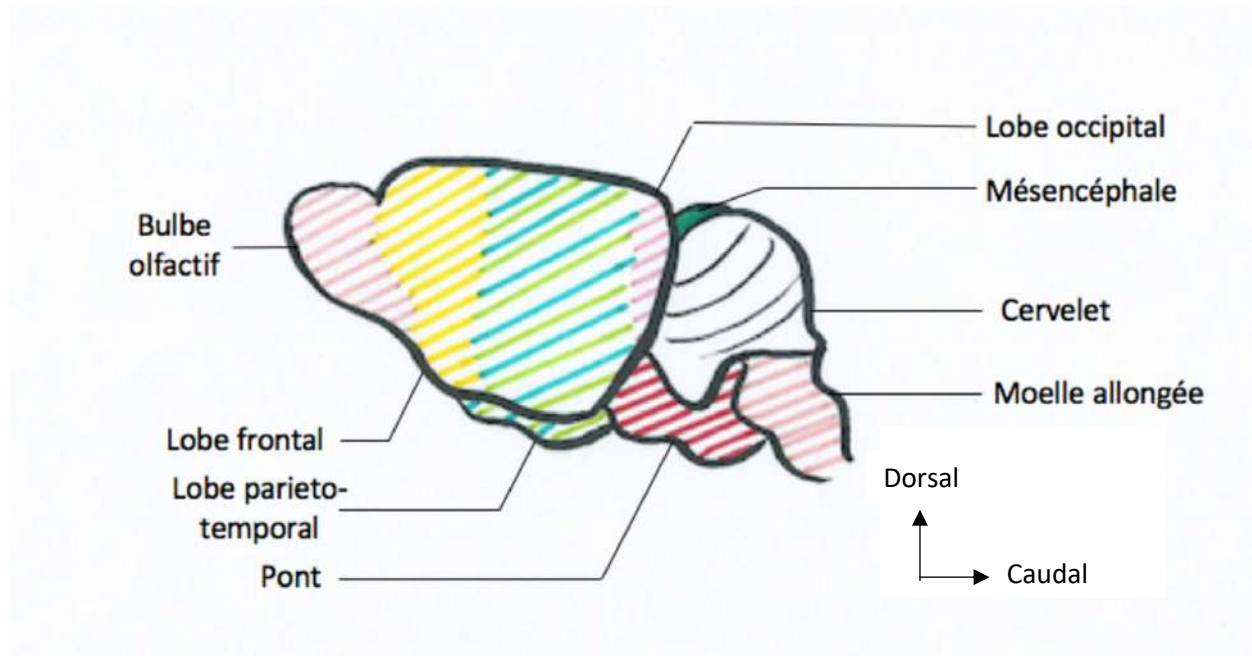


Figure 28 : Découpe schématique d'une vue latérale d'un cerveau de souris, réalisé par l'auteur

(1) Le cortex cérébral

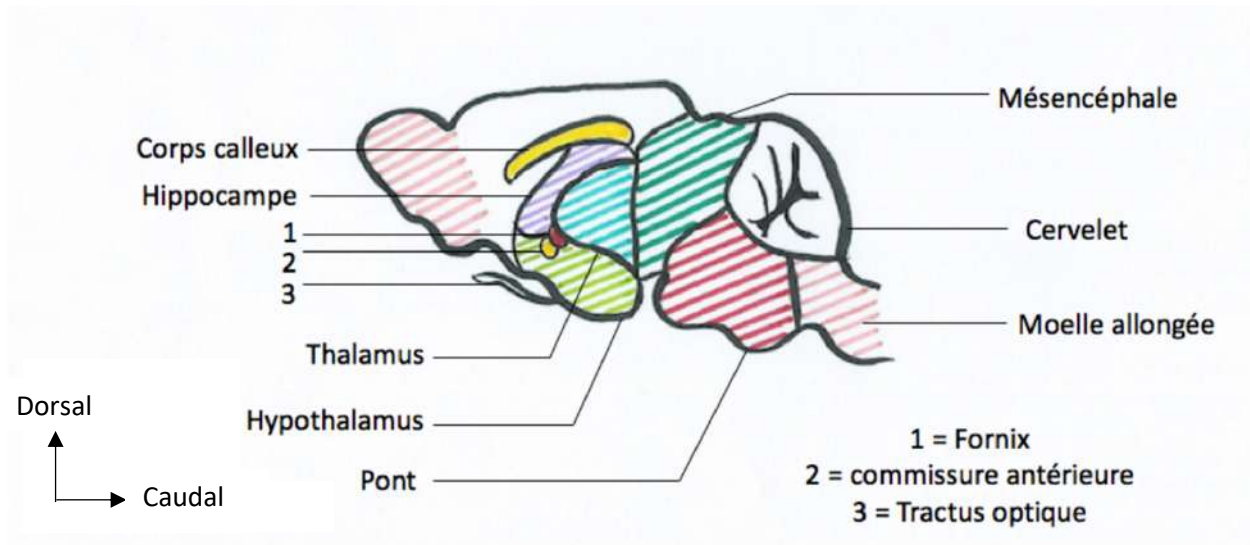


Figure 29 : Schéma d'un coupe sagittale de cerveau de souris, réalisé par l'auteur

A l'inverse de l'homme, le cortex cérébral de la souris ne montre pas de sillon. Les limites des différentes régions sont ainsi basées sur les structures internes. Le cerveau de la souris est composé de régions corticales comprenant le bulbe olfactif, le cortex frontal, le cortex parieto-temporal et le cortex occipital.

La région la plus crâniale est **le bulbe olfactif**. Cette région, bien développée chez la souris, se termine par la disparition des noyaux olfactifs et coïncide avec l'apparition du corps calleux dans les deux hémisphères (79). **Le lobe frontal** se termine ainsi par l'apparition de la commissure antérieure et le **le lobe occipital** s'étend de l'extrémité postérieure du corps calleux jusqu'à l'extrémité postérieure du télencéphale. La présence de structures internes appartenant à la fois au lobe pariétal et au lobe temporal sur les mêmes coupes d'IRM conduit à les combiner en un **lobe parieto-temporal** (63).

(2) Les structures internes

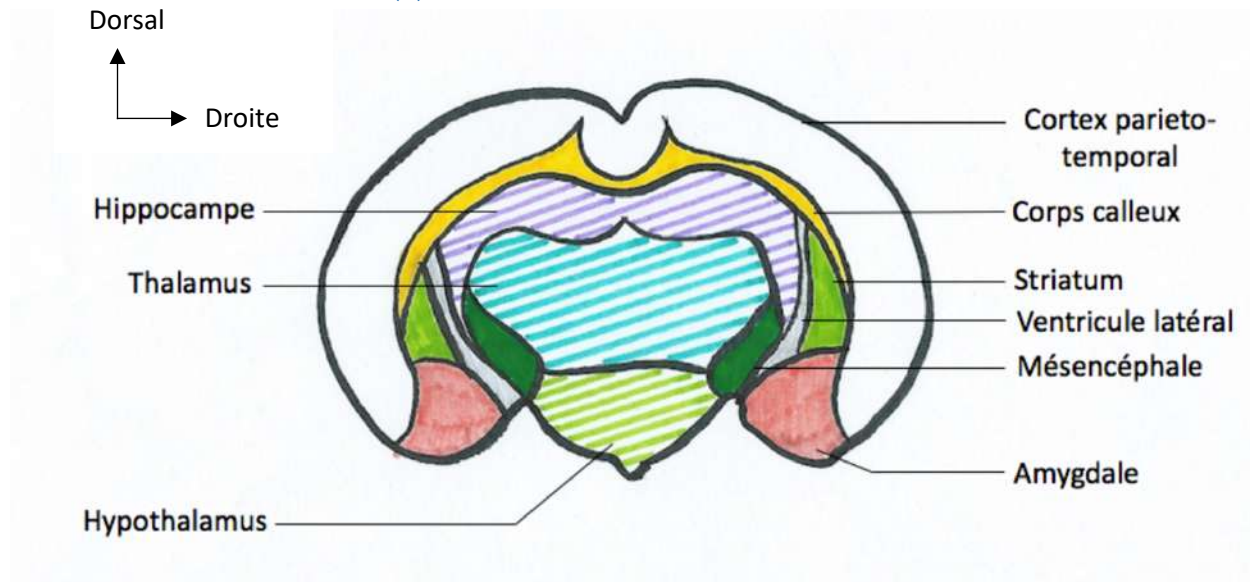


Figure 30 : Schéma d'une coupe transversale de cerveau de souris, réalisé par l'auteur

Les coupes transversales mettent en évidence des **ventricules latéraux** et **un troisième ventricule**, des structures blanches et subcorticales.

La **substance blanche** est aussi segmentée en une **commissure antérieure**, un **corps calleux**, des **faisceaux optiques** (composé du nerf, du chiasma et du tractus optique), des **fornix** et des **capsules internes** (63,80).

Les **structures subcorticales** comprennent l'**hippocampe**, sous le corps calleux, les **amygdales**, des **noyaux mamillaires** et des **structures grises profondes** dont le **striatum** (caudé et putamen), le pallidum, la substance noire et les **noyaux subthalamiques**. Des **noyaux septaux** et **accumbens**, aussi présents chez l'homme, sont plus développés et localisés sous la portion antérieure du corps calleux, en face médiale des lobes frontaux (63,80).

(3) Le diencephale

L'**hypothalamus** commence depuis le tiers postérieur du lobe frontal, ventralement au thalamus, jusqu'aux lobes parieto-temporaux. Celui-ci et le **thalamus** appartiennent au diencephale (63).

Des études des volumes et des surfaces des différentes structures cérébrales mesurées par microscopie par résonance magnétique décrivent l'hippocampe, le striatum, les amygdales et l'hypothalamus comme appartenant aux structures les plus larges (80).

La comparaison de ces mesures entre individus montre une faible variabilité des structures internes par comparaison aux structures comme les bulbes olfactifs et l'extrémité caudale du tronc cérébral, aux tailles interindividuelles plus variables (81).

b) Cartographie des territoires d'irrigation cérébrale murine

Nous venons de voir comment est organisé le cerveau d'une souris. Son étude, à la lumière de la vascularisation artérielle décrite, nous permet de dépeindre les territoires vasculaires. Le TABLEAU II résume les territoires irrigués par les artères cérébrales et la FIGURE 31 les illustre.

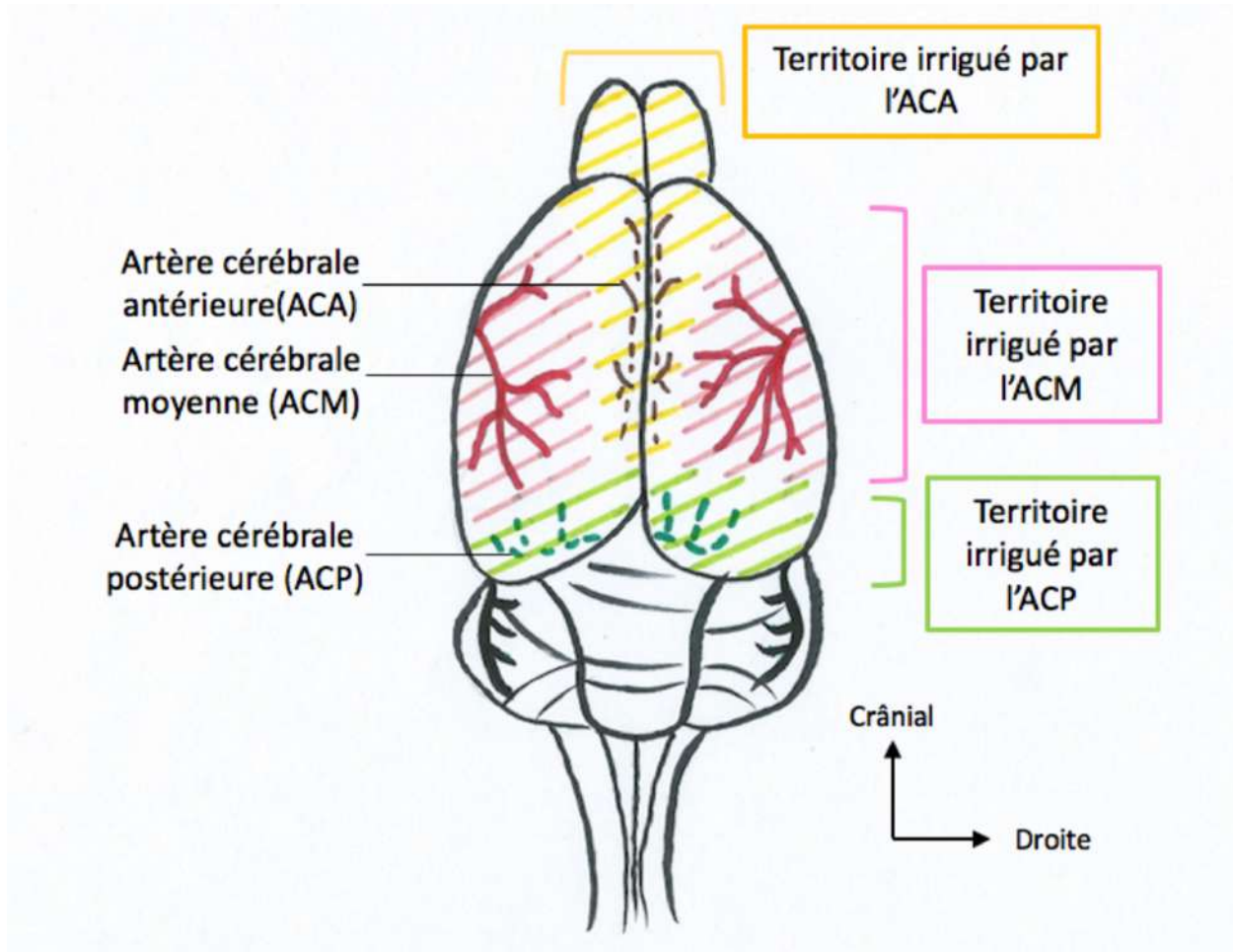


Figure 31 : Schéma des artères cérébrales et de leur territoire d'irrigation, réalisé par l'auteur

Tableau II : Artères cérébrales et territoires irrigués chez la souris, réalisé par l'auteur.

Artère	Territoire irrigué
Azygos cérébrale antérieure	Bulbe olfactif + la partie médiale des lobes frontaux et parieto-temporaux + une partie des cortex cingulaires + les noyaux septaux
Cérébrale antérieure	La partie médiale des cortex + Striatum
Cérébrale moyenne	Une partie du striatum + hypothalamus + amygdales Surface latérale des cortex frontaux et parieto-temporaux
Choroïdienne antérieure	Thalamus + tractus optique + hippocampe antérieur + le pallidus + ventricules latéraux et le troisième ventricule
Collatérales Infundibulaires, hypothalamiques latérales, thalamiques ventrales et amygdaloïdes de l'artère carotide interne	Hypothalamus + thalamus + amygdales
Vertébrale	Olives inférieures + moelle allongée
Basilaire	Pont + cervelet + mésencéphale
Cérébelleuse supérieure	Cervelet
Cérébrale postérieure	La partie postérieure des hémisphères cérébraux (lobe occipital) + une partie du tronc cérébral et du mésencéphale, Thalamus + hippocampe

Bilan partiel 6 : comparaison des structures cérébrales et de leur perfusion chez l'homme et la souris.

- Développement plus important de certains centres chez la souris : les bulbes olfactifs, les hippocampes, les noyaux profonds
- Absence de circonvolution corticale et de sillon
- Les territoires irrigués sont semblables, celui de l'artère choroïdienne antérieure de l'homme est cependant plus étendue que chez la souris

Bilan global 2 : pertinence du modèle murin pour l'étude des maladies vasculaires.

- La vascularisation artérielle myocardique est semblable à l'homme ; elle diffère cependant par la disposition intra myocardique des artères, la présence d'une artère septale et l'absence de sillon interventriculaire.
- De nombreuses ressemblances existent entre les vascularisations artérielles cérébrales de l'homme et de la souris, tant au niveau des anastomoses primaires et secondaires que des territoires de perfusion.
- Des différences d'anatomie cérébrale et de sensibilité/résistance à l'ischémie existent

Les faits que nous venons d'étudier nous montrent que l'angioanatomie artérielle murine est comparable à celle de l'homme, notamment en ce qui concerne l'absence d'anastomose pour la circulation coronaire et de leur présence aux mêmes niveaux pour la circulation cérébrale. La principale limitation des modèles est la variabilité inter individuelle dans cette espèce. Malgré ces différences, les souris constituent de bons modèles pour l'étude des occlusions artérielles aiguës cérébrales et myocardiques.

III. Les modèles d'ischémie reperfusion étudiés au laboratoire CARMEN, Lyon

La pathogénie et le traitement de l'AVC et de l'infarctus myocardique sont complexes. En plus des avantages que représentent la petite taille, le faible coût et l'existence de modèles transgéniques de souris, celles-ci présentent des nombreuses similarités artérielles avec l'homme. Cela leur permet d'être des modèles pertinents pour l'étude de ces occlusions vasculaires brutales. Nous pouvons alors nous demander comment, chez ces spécimens, l'AVC et l'infarctus aigu du myocarde sont-ils modélisés et suivis. Nous décrirons ainsi les expériences suivies au laboratoire CARMEN de Lyon et illustrerons l'existence de lésions d'ischémie-reperfusion.

A. Modèle d'occlusion intra luminale transitoire de l'artère cérébrale moyenne

Les modèles *in vitro* tels que la mise en hypoxie de neurones ou de tranche de cerveau permettent de préciser les mécanismes cellulaires et moléculaires (82) mais sont éloignés de sa condition clinique. Les modèles *in vivo* miment mieux ce qui se produit lors de l'AVC chez l'homme. Ils permettent d'étudier les modifications vasculaires, de tester plusieurs hypothèses quant à la pathogénie de l'AVC et d'évaluer l'efficacité de molécules thérapeutiques. Le modèle le plus pertinent consiste à occlure l'artère cérébrale moyenne, la plus fréquemment atteinte chez l'homme (2). Il consiste à réaliser une ischémie focale transitoire suivie de reperfusion, ce qui mime le processus physiopathologique décrit chez l'homme (83).

De nombreux **paramètres influencent** le modèle :

- La glycémie : une augmentation même légère aggrave les lésions d'ischémie (84,85).
- La température : une diminution est associée à un effet neuroprotecteur (73).
- L'anesthésique utilisé : les effets sont très variables et dépendent beaucoup du modèle, de la dose et de l'animal utilisé (86). L'isoflurane permettrait par exemple une amélioration transitoire des lésions par inhibition de la nécrose, sans effet sur l'apoptose et la kétamine est neuroprotectrice *in vitro* mais les résultats sont variables *in vivo*.
- La pression artérielle : une hypotension systémique induit une majoration de l'ischémie focale (87) et une hypertension augmente le volume nécrotique lors d'ischémie (84).
- La pression artérielle en CO₂ (PaCO₂) : le CO₂ est un vasodilatateur cérébral dans les conditions physiologiques. Une augmentation de la PaCO₂ entraîne donc la vasodilatation des artéioles dans les zones saines. A l'inverse, les artéioles de la zone ischémisée ne répondent plus à des variations du taux de CO₂. Une augmentation de la PaCO₂ dilate les artéioles en périphérie de la lésion et crée un appel de sang vers la zone saine, ce qui aggrave l'ischémie dans la zone hypo perfusée (88).
- L'hypoxie : une hypoxie potentialise les lésions d'ischémie-reperfusion dans des expériences d'occlusion d'une artère carotide chez des rats (89).

Ces paramètres qui peuvent être modifiés par l'anesthésie doivent donc être mesurés lors de la réalisation du modèle.

Afin d'occlure l'artère cérébrale moyenne, il est parfois nécessaire de passer par la voie transcraniène (90). Afin d'éviter de pratiquer une craniectomie, l'équipe de CARMEN a travaillé, au cours de mon stage, sur un modèle d'occlusion intraluminal. Ce modèle s'inspire des travaux sur le rat de Koizumi et coll. et Longa et coll. (91).

1. Matériel et méthodes

- a) *Préparation de l'animal*

L'opération consiste à mettre, chez une souris anesthésiée, un implant dans l'artère carotide moyenne. Celui-ci est laissé en place 45 minutes et bloque transitoirement le flux de sang dans le territoire irrigué par cette artère afin de mimer un phénomène d'ischémie-reperfusion. En permettant de s'affranchir de la craniectomie, ce modèle limite les lésions cérébrales liées à la dessiccation ou à la diminution de température cérébrale.

Des souris C57 Black 6J mâles de 20 à 25 g sont anesthésiées grâce à l'injection intra péritonéale de 100 mg/kg Xylazine et de 5 mg/kg de Kétamine. Le suivi est assuré par un électrocardiogramme et la température est contrôlée par un thermomètre intra rectal, les souris étant réchauffées à l'aide d'un tapis chauffant afin de maintenir leur température autour de 37°C.

b) Mise en évidence des vaisseaux d'intérêt

A l'aide d'une loupe, une incision est réalisée sur la peau du cou, ventralement, au niveau des glandes salivaires gauches. La trachée et les trois vaisseaux d'intérêt : la carotide commune, l'interne et l'externe, sont découverts après la dissection des glandes salivaires, des muscles sternoïdiens et sternocéphaliques (92). La FIGURE 32 illustre la dissection obtenue et la FIGURE 33 détaille la disposition des vaisseaux et du nerf vague.

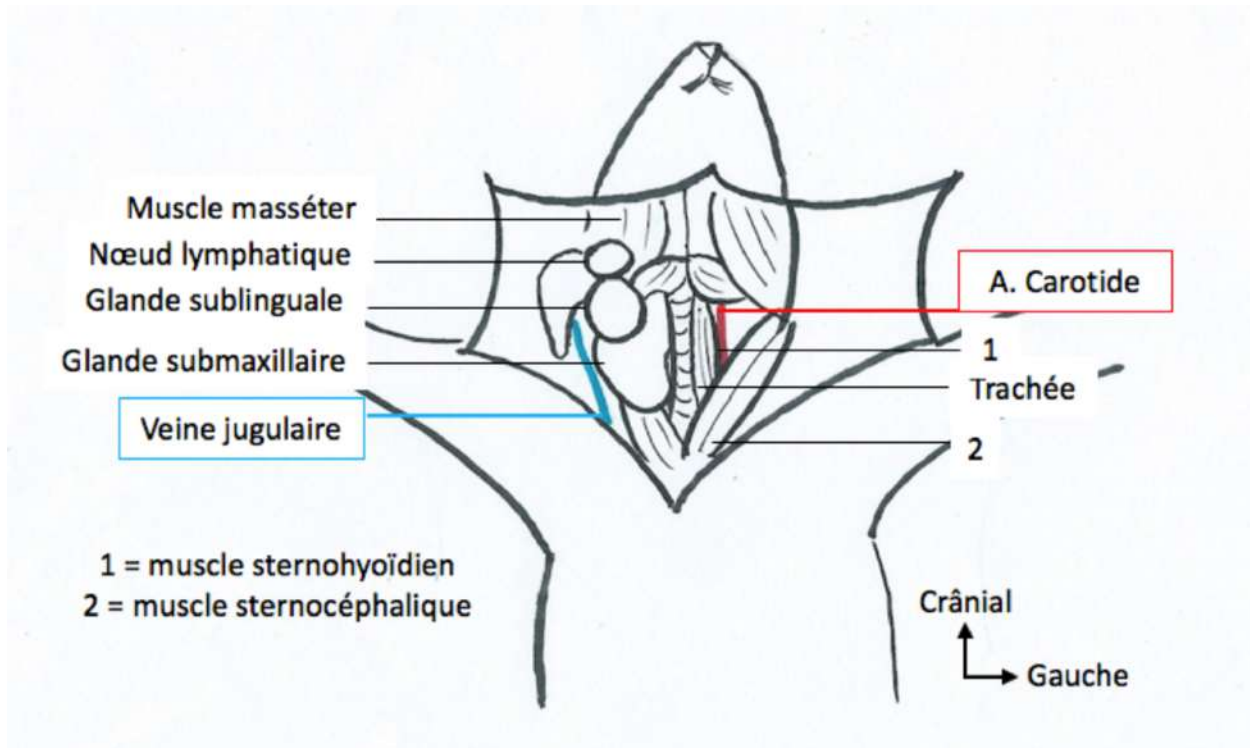


Figure 32 : Schéma de dissection de la région du cou et découverte des glandes salivaires, réalisé par l'auteur

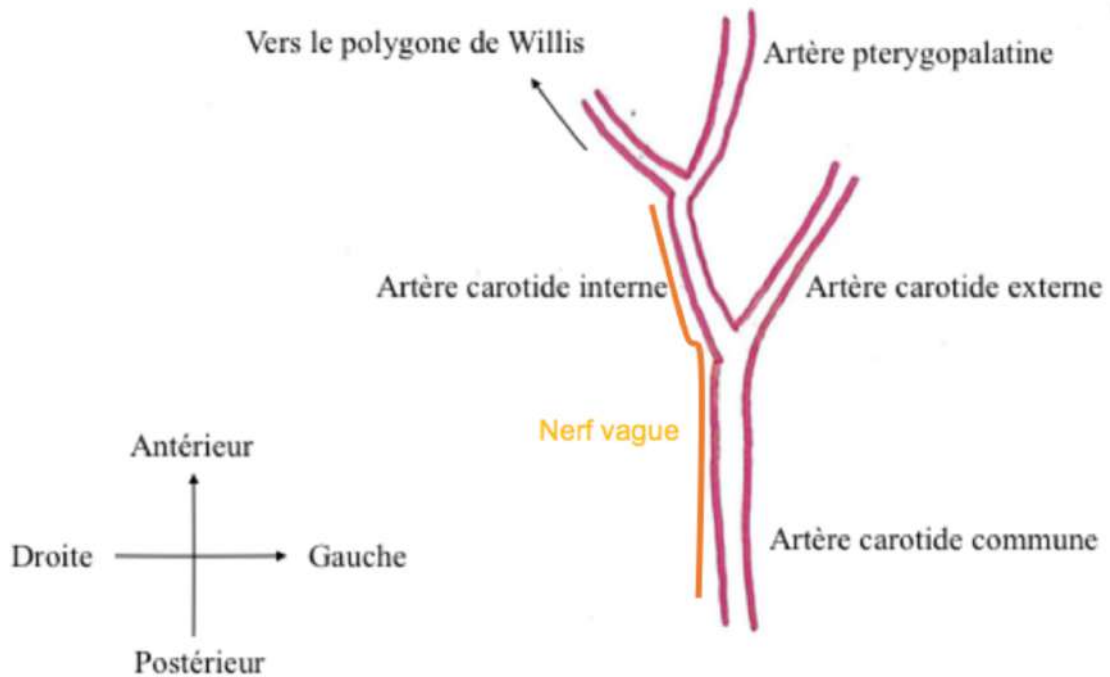


Figure 33 : Mise en évidence des artères carotides, réalisé par l'auteur

c) Pose des ligatures et introduction de l'implant

Deux ligatures sont ensuite réalisées en amont et en aval de l'incision vasculaire comme illustré sur la FIGURE 34. La première ligature se situe à la base de la carotide externe et permet de faire passer l'implant directement de la carotide commune à la carotide interne. La seconde se trouve à la base de la carotide commune. Il est nécessaire de prendre en considération la présence du nerf vague qui suit le trajet carotidien.

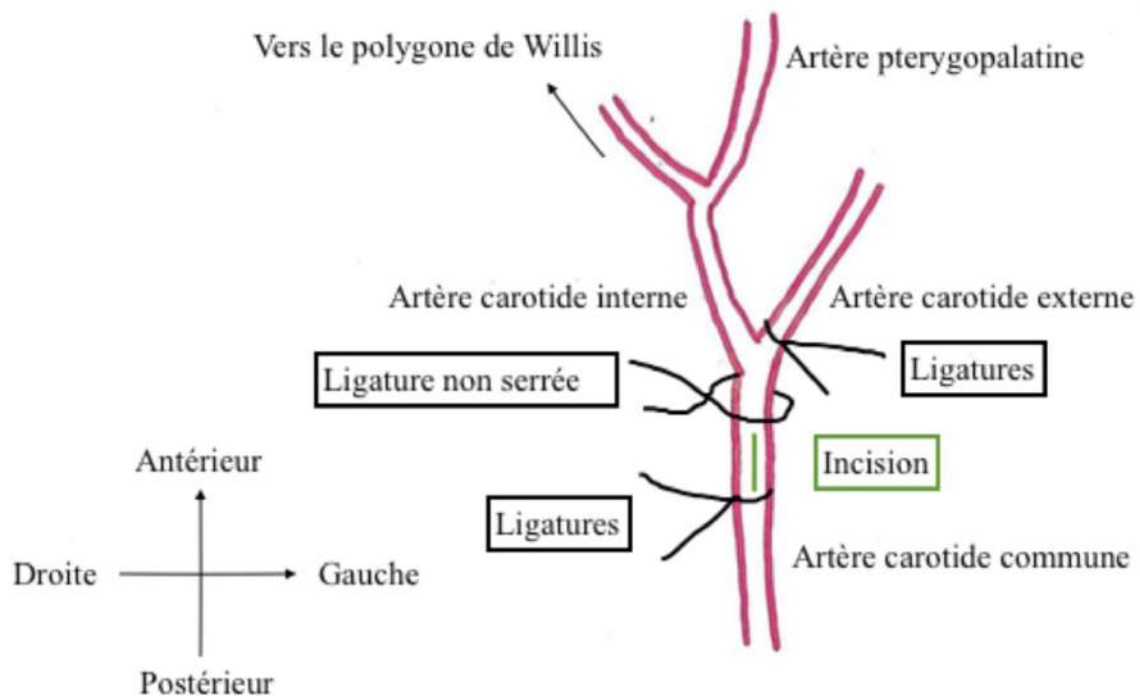


Figure 34 : Schéma de la pose des ligatures et incision vasculaire, réalisé par l'auteur.

La ligature au niveau de la carotide commune proche de la bifurcation n'est pas serrée, ce qui permet d'interrompre le flux sanguin le temps de réaliser l'incision qui permettra d'introduire l'implant. Les ligatures induisent une hypoperfusion de la partie antérieure gauche du corps et potentialisent donc les effets de nécrose (93). Cependant, la présence du polygone de Willis permet, comme nous l'avons vu, d'irriguer l'ensemble malgré l'occlusion d'une des deux carotides.

Un implant, un mono filament à embout en silicone de chez Doccol de 2 cm de long, est introduit dans l'incision par la carotide commune, le nœud supérieur non serré est relâché et l'implant est doucement avancé sur 1,1 à 1,2 cm dans la carotide interne en direction du cerveau. La progression est arrêtée lorsque l'opérateur ressent une résistance, signe que l'implant a atteint le début de l'artère cérébrale moyenne (FIGURE 35). Le choix de la taille de l'implant est déterminé par rapport au poids de la souris. Il permet d'optimiser la reproductibilité de l'expérience (94).

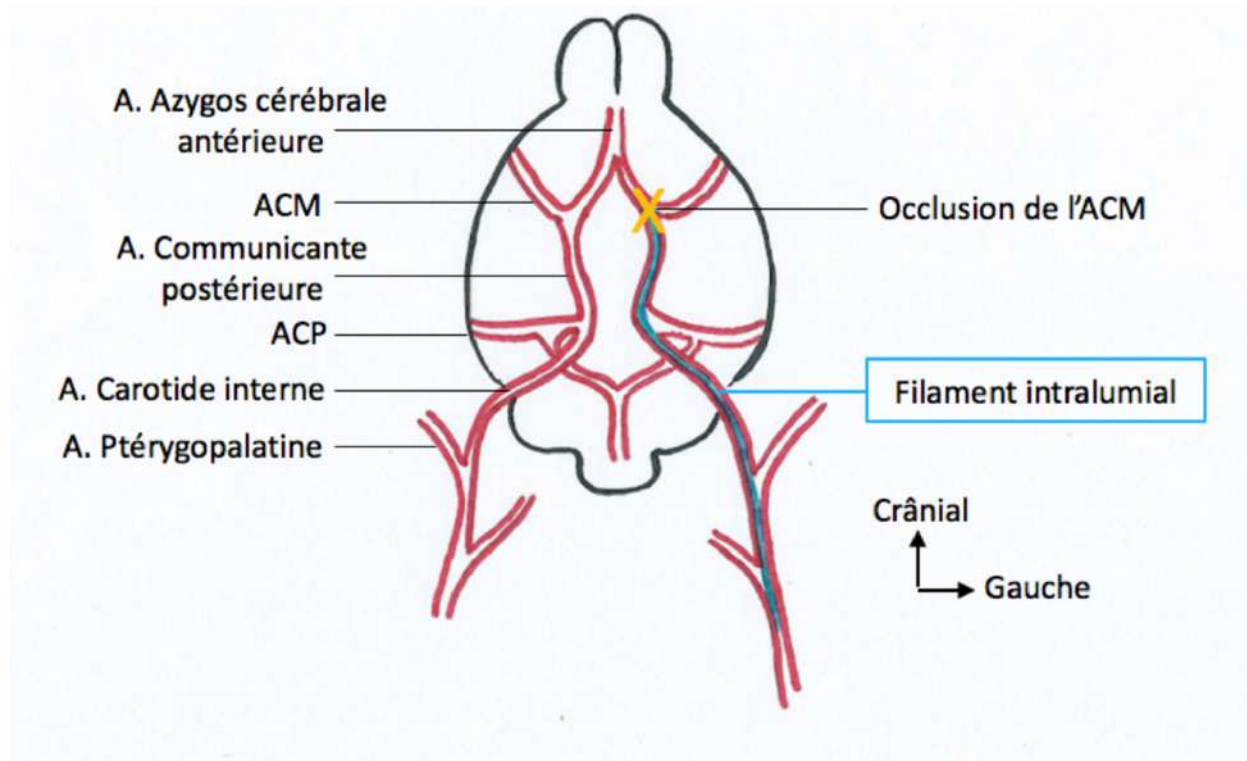


Figure 35 : Schéma du trajet intraluminal du filament lors d'occlusion de l'artère cérébrale moyenne, réalisé par l'auteur

L'implant est laissé en place pendant 45 minutes. La zone ischémique correspond donc aux zones irriguées par l'artère cérébrale moyenne gauche (en rose sur la FIGURE 31).

Après 45 minutes, l'implant est retiré délicatement. Les ligatures restent en place. Les vaisseaux sont recouverts par les muscles et les glandes salivaires puis la peau est suturée. La durée totale de chirurgie est de 75 minutes. Les paramètres cardio-respiratoires restent stables durant l'expérience.

d) Coloration au 2,3,5-triphényltétrazolium chlorure

Après 24 heures, les souris sont euthanasiées. Le cerveau est congelé puis coupé en tranches transversales de 2 mm depuis le bulbe olfactif jusqu'au mésencéphale. Afin d'évaluer la sévérité des lésions, les tranches sont incubées dans du 2,3,5-triphényltétrazolium chlorure (TTC). Les zones sans coloration permettent de mesurer la taille de l'infarctus.

2. Résultats et discussion :

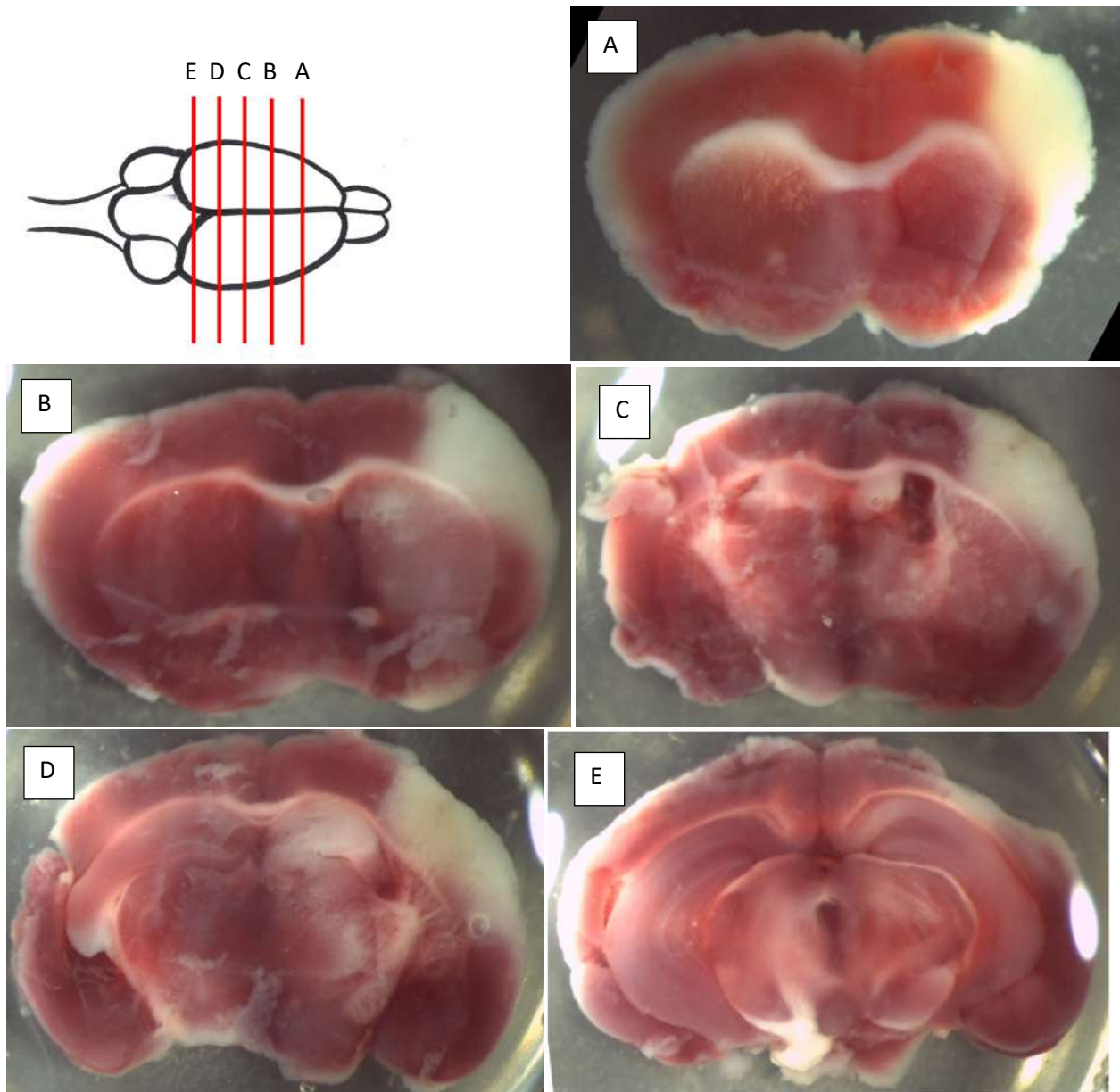
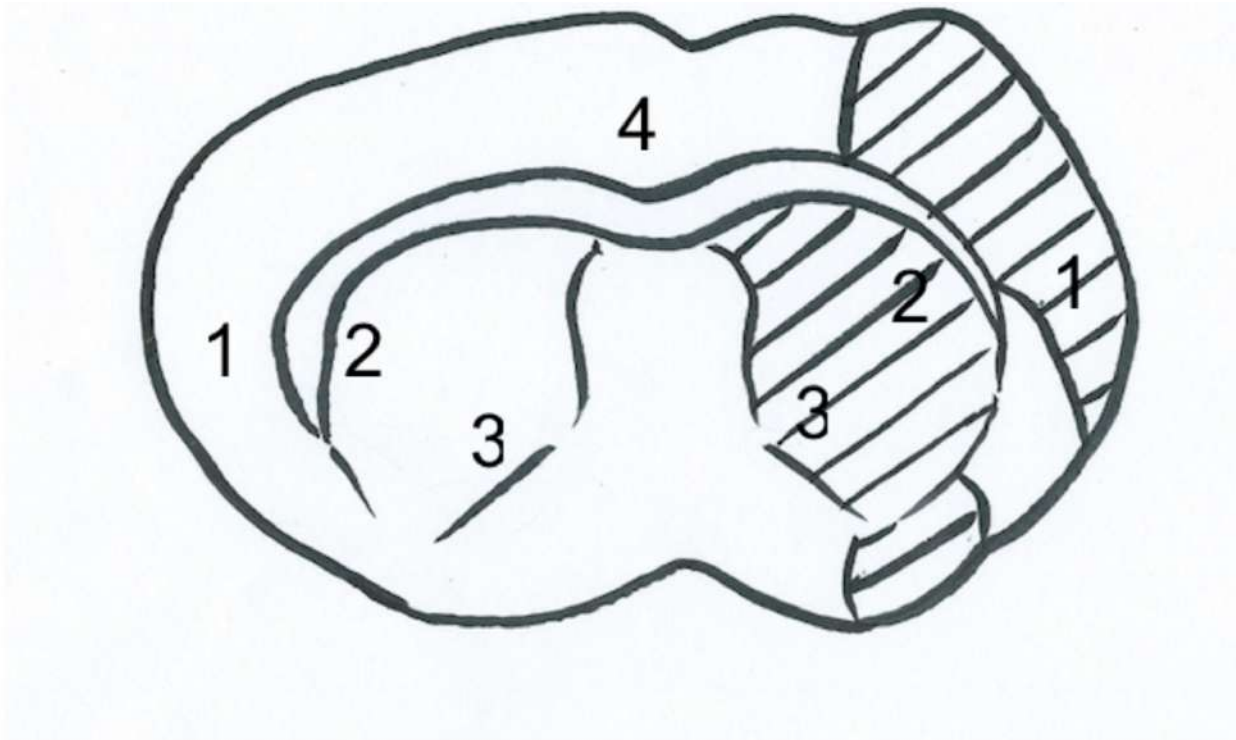


Photo 1 : Coupes de cerveau de souris colorées par TTC après occlusion de l'artère cérébrale moyenne pendant 45 minutes puis 24 heures de reperfusion, photos prises au laboratoire CARMEN, Lyon.

Le **TTC** permet d'évaluer la viabilité cellulaire. Il agit comme un accepteur d'hydrogène et est **réduit par les enzymes déshydrogénases** telles que la succinate déshydrogénase ou la NAD/NADP. Ces enzymes sont essentiellement **mitochondriales**. Lorsque le TTC est perfusé ou incubé avec des tranches d'organe aux déshydrogénases intactes, il se forme un précipité rouge de formazan. Le tissu reste **décoloré** et apparaît **blanc** lorsqu'elles sont **inactives et évacuées**

(95,96). La coloration par le TTC est restreinte à la substance grise, la substance blanche ne contenant que peu de cellules (97).

L'utilisation de TTC permet de délimiter deux zones de couleurs différentes selon l'activité mitochondriale. La zone blanche se trouve dans le territoire occlus.



- 1 : cortex frontopariétal, zone somatosensorielle, approvisionnée par l'artère cérébrale moyenne
- 2 : segments latéraux du caudate putamen
- 3 : segments médiaux du caudate putamen
- 4 : cortex frontopariétal, zone motrice, approvisionnée par l'artère cérébrale antérieure

La zone hachurée correspond à la zone décolorée.

Figure 36 : Régions anatomiques d'une coupe transversale de cerveau de souris après l'expérience décrite, réalisée par l'auteur.

L'utilisation de Hématoxyline-Eosine est décrite par Osborne et coll. comme une technique faisable, reproductible et sensible permettant de mettre en évidence le développement d'une nécrose au sein de la zone cœur de l'ischémie cérébrale (87).

Lundy et coll. compare cette technique à celle de coloration par TTC et montrent une correspondance précise des **zones délimitées en blanc par TTC avec une nécrose neuronale**

observée microscopiquement et une réactivité sélective du TTC avec les zones non infarctées, colorées en rouge (98).

Ainsi, l'expérience décrite illustre le développement d'une **nécrose lors d'ischémie-reperfusion** au sein du territoire d'irrigation de l'artère cérébrale moyenne occluse et localisée au cortex dorso-latéral et à la partie latérale du striatum.

Cette correspondance, attestée par d'autres études (99,100), possède cependant certaines limites. Liszczak et coll. montrent que le TTC permet de mettre en évidence l'infarctus cérébral uniquement lorsque l'ischémie est suivie de reperfusion ou de rinçage avant la coloration (97). Une étude comparant la mise en évidence de nécrose par coloration TTC et Hématoxyline-éosine montre que les deux méthodes ne sont comparables qu'au delà de 5-6 heures d'ischémie, lors d'occlusion permanente sans rinçage (95).

Les principaux inconvénients de cette technique d'occlusion sont les lésions inévitables de l'endothélium du vaisseau manipulé. Ces lésions sont aggravées par la reperfusion et peuvent altérer la réactivité de la paroi vasculaire ou la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique, ce qui peut induire la formation d'embolies capables d'obstruer des vaisseaux plus lointains (5).

B. Modèle d'occlusion coronaire transitoire

Les modèles *in vitro* et *ex vivo* tels que la mise en culture de cardiomyocytes isolés ou des expériences sur cœur isolé perfusé permettent d'étudier les mécanismes moléculaires et cellulaires mais sont souvent réducteurs (6). Les modèles *in vivo* sont plus proches de la réalité clinique. A l'inverse des études de sténose coronaire qui doivent être réalisées sur des animaux assez gros pour la mise en place de dispositifs de modélisation, les expériences d'occlusion coronaire totale peuvent être réalisées sur de nombreuses espèces.

Maxwell et coll. quantifient le flux collatéral résiduel par injection de microsphères radioactives lors d'occlusion coronaire aiguë. Ils montrent que le cochon d'inde présente une circulation collatérale développée et que la ligature d'une artère isolée n'entraîne pas d'infarctus (101). De même, le chien longtemps utilisé pour l'étude de l'ischémie-reperfusion myocardique, présente une circulation collatérale variable susceptible de faire varier la réponse du myocarde à l'ischémie (52).

Les souris et rats, à l'inverse, possèdent un flux collatéral peu développé, la sévérité de l'ischémie et du dysfonctionnement contractile sont donc plus uniformes (6). La souris offre de plus l'avantage d'être un modèle dont l'organisation vasculaire est proche de l'homme. Il est peu onéreux et l'existence de variants transgéniques présente des avantages pour étudier les différents mécanismes.

Certains **paramètres** doivent être **contrôlés et suivis** en raison de leur influence sur les lésions d'ischémie-reperfusion :

- La fréquence cardiaque : une diminution de la fréquence cardiaque par des Beta bloquants réduit le métabolisme du myocarde et la taille de l'infarctus (102).
- L'anesthésie : les vaisseaux de l'endocarde sont capables de maintenir une pression de perfusion stable malgré des variations de pression artérielle par un phénomène appelé autorégulation. Chez des chiens conscients, l'endocarde ne parvient plus à réguler sa pression lorsque la pression artérielle est inférieure à 40 mmHg. Lors d'anesthésie, l'auto régulation est perturbée dès 70 mm Hg. Cela illustre l'influence de l'anesthésie sur l'hémodynamique du flux sanguin (103).
- La température et le pH artériel : Une étude sur 1074 souris montre qu'une légère hypothermie (1°C) ou une légère acidose diminuent significativement la taille de l'infarctus (104).

Cette dernière étude souligne aussi l'importance d'utiliser des souris de même souche voire de même genre pour comparer la taille de l'infarctus (104).

Les artères coronaires apportent le sang au cœur. Chez l'homme, les plus touchées dans les cas d'occlusion sont, dans 40%-50% des cas l'artère coronaire interventriculaire antérieure, dans 30%-40% des cas la droite et dans 15%-20% l'artère circonflexe (105). L'expérience consiste donc à occlure temporairement de l'artère topographiquement apparentée à l'artère interventriculaire antérieure de l'homme : la branche descendante antérieure de l'artère coronaire gauche de la souris. Elle permet, dans un second temps, d'évaluer la zone à risque et la taille de l'infarctus issus de ce protocole.

1. Matériel et méthode

a) Préparation de l'animal

Des souris C57 BL 6J, mâles de 20 à 25 g sont anesthésiées avec le même protocole que celui utilisé dans le modèle d'ischémie-reperfusion cérébrale. Elles sont ensuite placées en décubitus dorsal. Trois électrodes placées sur les membres permettent le suivi électrocardiographique et un thermomètre intra rectal permet de suivre la température corporelle. Un tapis chauffant la maintient autour de 37°C.

A l'aide d'une loupe, une incision cutanée est réalisée au niveau du cou en regard des glandes salivaires. Leur dissection permet une visualisation directe de la trachée et l'intubation endo-trachéale. Une ventilation contrôlée est mise en place avec 100% d'oxygène.

b) Mise en évidence du cœur

Une incision cutanée d'environ 2 cm est ensuite réalisée depuis la pointe de l'épaule gauche vers le processus xiphoïde et met en évidence 3 muscles : le grand pectoral, le muscle droit du thorax et muscle dentelé antérieur. Leur individualisation découvre les côtes. La section de la quatrième côte et des muscles intercostaux de part et d'autre permet une thoracotomie latérale. Ce passage par les muscles inter costaux diminue le saignement (6). Cette étape rompt le vide pleural et expose le cœur.

c) Mise en place de l'occlusion

Le péricarde est ouvert et un fil de suture monté sur aiguille est introduit dans le ventricule gauche à proximité de sa base. Un tube de 1 cm de long et 0,5 mm de diamètre de polyéthylène est placé sur la branche antérieure descendante de l'artère coronaire gauche, 1 à 2 mm caudalement aux atria. Une ligature est réalisée sur le tube et un ressort relie ensuite les extrémités du fil, ce qui comprime le tube de polyéthylène sur l'artère. La pression exercée l'occlut de manière réversible. Une élévation du segment S-T au suivi électrocardiographique confirme l'ischémie. Des compresses sont posées sur le thorax au niveau de l'ouverture et le dispositif est laissé en place pendant 45 minutes. Cette durée permet d'induire des lésions significatives d'un infarctus du myocarde. Elle ne doit pas être trop longue pour éviter une lésion irréversible de toute la zone à risque (6).

d) Reperfusion et fermeture de la cavité thoracique

La reperfusion intervient ensuite en dénouant la ligature et en retirant le tube. Les extrémités restantes sont nouées de manière lâche et placées dans la cavité thoracique. Un cathéter est introduit dans la cavité thoracique au travers du premier espace intercostal non sectionné caudal à l'ouverture. Un surjet simple est ensuite réalisé et englobe la côte sectionnée et la première côte distale non lésée. Les muscles sont repositionnés et une aspiration dans le cathéter préalablement introduit rétablit le vide pleural. Un surjet simple suture la peau.

e) Evaluation de la zone à risque

Au bout de 24 heures de reperfusion, le cœur est à nouveau exposé et les sutures sont serrées. L'euthanasie est réalisée par dislocation cervicale. Une perfusion de bleu uni perse dans le ventricule gauche diffuse dans le myocarde par les artères coronaires. Cela colore ainsi en bleu les zones irriguées et permet de mettre en évidence la zone hypo perfusée. Quatre incisions équidistantes, parallèles au sillon atrioventriculaire, sont ensuite colorées par une solution à base de TTC.

2. Résultats et discussion

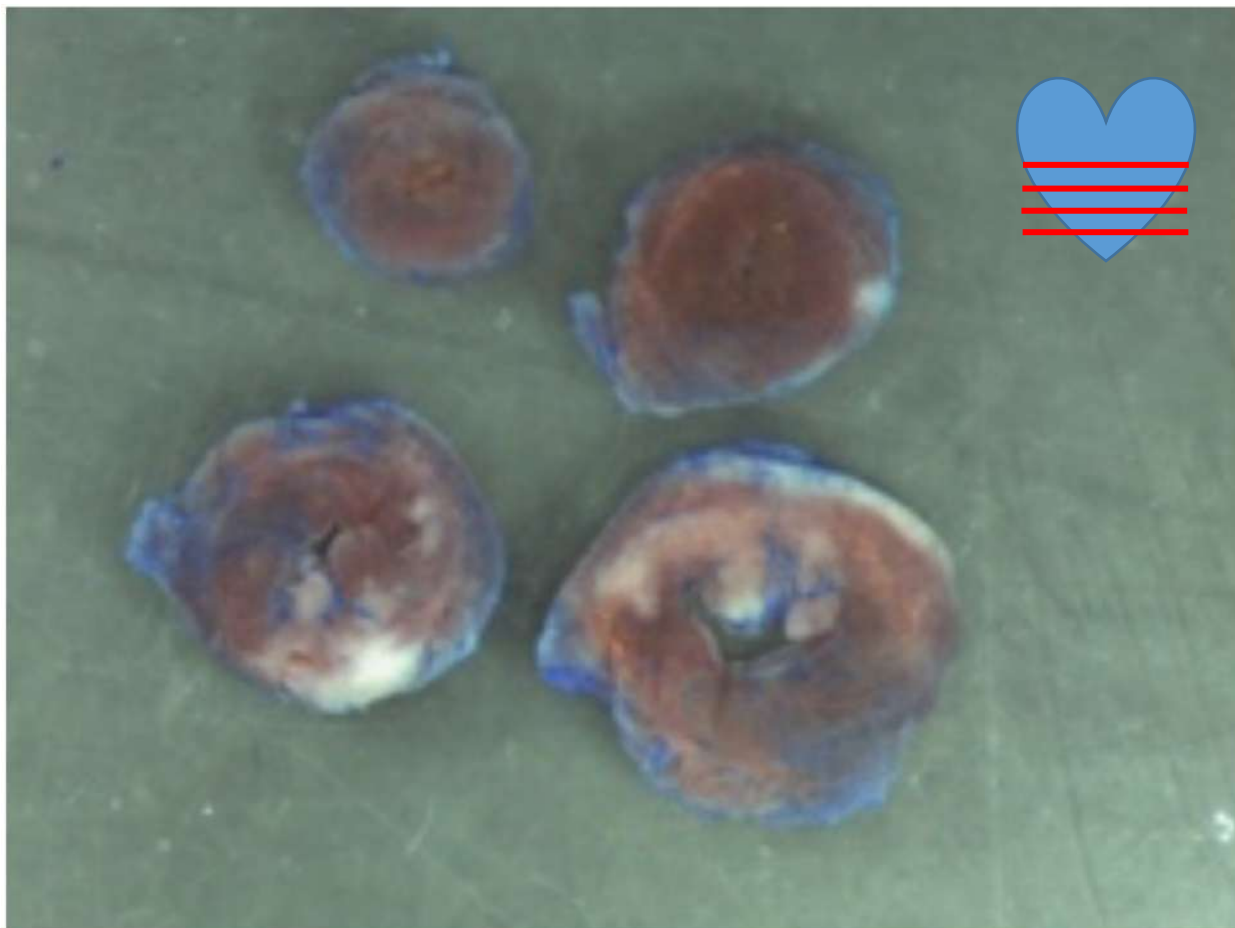


Photo 2 : Coupes de cœur de souris colorées au TTC après occlusion de l'artère antérieure descendante gauche pendant 45 minutes puis 24 heures de reperfusion, photos prises au laboratoire CARMEN, Lyon.

Les coupes issues de l'expérience nous permettent d'observer des zones décolorées en blanc, des plages colorées en bleu et du myocarde rouge (PHOTO 2).

L'utilisation de TTC permet, comme nous l'avons évoqué précédemment, de mettre en évidence par un précipité rouge les enzymes mitochondriales actives. Les tissus où ces dernières sont inactives et évacuées apparaissent décolorés et blancs. Fishbein et coll. ont comparé ces tissus blancs après TTC aux signes histochimiques de nécrose lors d'occlusion coronaire permanente de 6 heures chez des chiens. Ils montrent une **corrélation** entre les **zones décolorées et la nécrose histologique** et insistent sur le caractère **précoce** de la méthode colorimétrique par TTC par rapport aux changements histologiques (106). Ils remarquent aussi que la démarcation par le TTC est faible avant 2 heures d'occlusion permanente mais devient marquée si une reperfusion suit l'ischémie.

La coloration de coupe de myocarde par TTC est donc une méthode d'évaluation *ex vivo* de la taille de l'infarctus. Elle présente néanmoins quelques limites :

- Le myocarde coloré par TTC peut apparaître **hétérogène**. En effet, des protéines contenant un hème peuvent colorer la zone infarctée (107) et la baisse d'activité des déshydrogénases peut être transitoire et conduire à une fausse détection d'infarctus. Un minimum de temps d'incubation semble indispensable afin de mettre en évidence de manière fiable la nécrose par TTC (108).
- Un temps de reperfusion minimal est nécessaire afin de rincer le tissu nécrosé des enzymes qui réagissent avec le colorant. Plusieurs études visent à définir le **temps de reperfusion optimal** pour l'utilisation de TTC.
 - La comparaison de la taille de l'infarctus après différentes périodes de revascularisation a permis à Ferrera et coll. de fixer à 60 minutes le temps de reperfusion nécessaire et suffisant afin de mettre en évidence une nécrose dans un modèle *in vitro* de cœur isolé (109).
 - Pour les modèles *in vivo*, les études divergent. Schwarz et coll. affirment qu'il n'y a pas de différence significative dans la taille de l'infarctus selon le temps de reperfusion après une période minimale de 60 minutes (110). A l'inverse, dans des modèles *in vivo* de souris et d'occlusion coronaire de 60 minutes, Redel et coll. montrent que la taille de l'infarctus dépend du temps de reperfusion jusqu'à une limite de 120 minutes de reperfusion où la taille de l'infarctus est similaire à celui après une reperfusion de 240 minutes (111). Ainsi une reperfusion de 2 à 3 heures semble nécessaire à la mise en évidence de l'infarctus chez les modèles de souris *in vivo*.

Le TTC permet donc de mettre en évidence la zone infarctée en blanc lors d'ischémie-reperfusion du myocarde chez la souris. Le **bleu unipense** diffuse dans les vaisseaux perfusés et **délimite la zone irriguée**. La **différence** entre ces zones bleues et blanches correspond **à la zone à risque** (PHOTO 3).

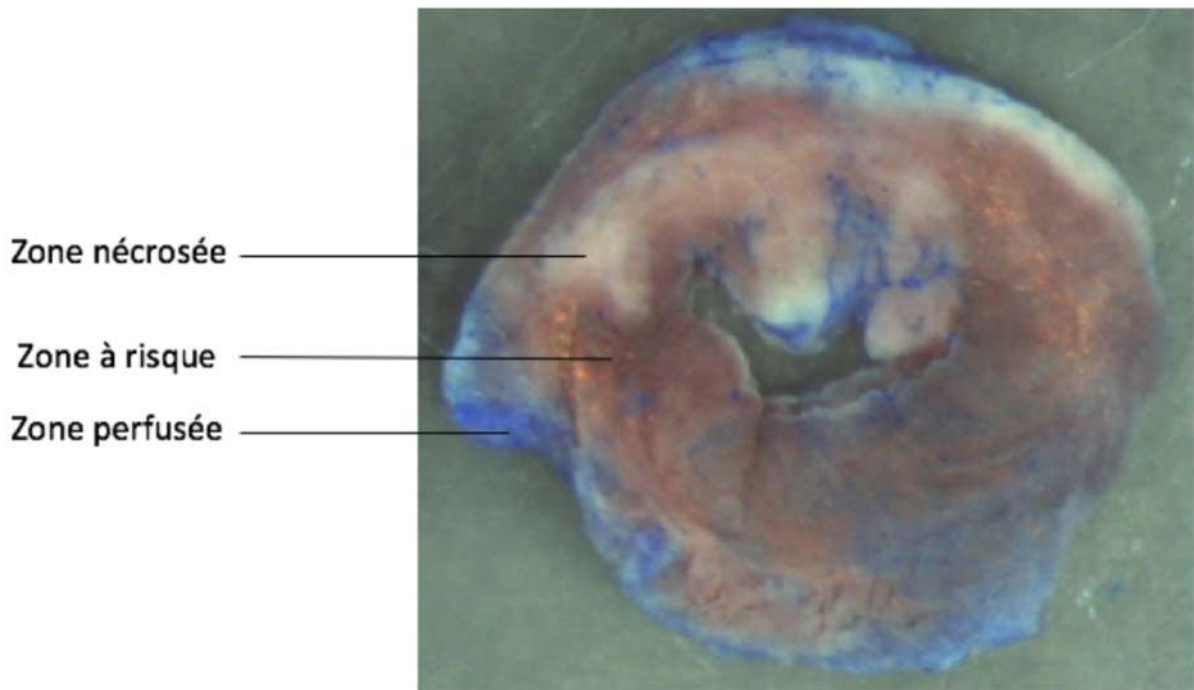


Photo 3 : Détail des colorations et de leur signification histologique à partir une coupe de cœur de souris après l'expérience d'ischémie-reperfusion réalisée au laboratoire CARMEN.

L'expérience décrite plus haut met donc en évidence le développement d'une **nécrose d'ischémie-reperfusion** au sein **d'un territoire hypo perfusé** après 45 minutes d'occlusion et 24 heures de revascularisation. Ce protocole existe chez la souris et le rat (112–114) mais présente certaines **limites** dans sa comparaison avec l'infarctus du myocarde aigu de l'homme.

Tout d'abord, la fréquence cardiaque élevée des modèles murins conduit au **développement bien plus rapide d'infarctus** que chez les grands mammifères (6).

L'inflammation et la réparation sont aussi **accélérées**. En effet, Dewald et coll. comparent l'inflammation par analyses immunohistochimiques lors d'ischémie-reperfusion de modèles murins et canins. Ils montrent que les souris présentent une durée d'inflammation et de réparation plus courte et une densité de macrophages et de mastocytes inférieure (115).

Ensuite, la souris développe **des infarctus transmuraux différents de l'homme**. Comme nous le verrons plus loin, les infarctus de l'homme se développent initialement dans les régions sub endocardiques et s'étendent vers l'épicarde. Chez la souris, l'oxygène diffuse depuis la chambre ventriculaire vers le myocarde et protège la région subendocardique de l'infarction. De même, les régions sub épicardiques sont généralement épargnées et les infarctus lors d'ischémie-reperfusion sont alors au centre de l'épaisseur du myocarde (116).

Au niveau vasculaire, la **variabilité importante** de leur angioanatomie nécessite un grand nombre d'échantillon pour obtenir des résultats significatifs.

De surcroît, la branche antérieure descendante gauche de l'artère coronaire murine n'est pas équivalente à l'artère interventriculaire antérieure des humains puisque cette dernière irrigue à la fois la partie antérieure de la paroi libre du ventricule gauche mais aussi les deux tiers antérieurs du septum, approvisionnés par l'artère septale chez la souris. Sa ligature chez la souris cause ainsi une infarction constante de la paroi libre du ventricule gauche jusqu'à l'apex et épargne le septum (114).

Enfin, la cause la plus fréquente d'occlusion coronaire aiguë chez l'homme est l'athérosclérose. Un modèle d'occlusion par ligature chez des animaux jeunes et sains s'éloigne de la physiopathologie du développement de la plaque d'athérome. Des modèles de micro embolisation coronaire existent avec injection de vasoconstricteurs, de substances inflammatoires ou thrombogéniques dans la circulation coronaire mais sont plus coûteux, longs et complexes (6).

L'animal dont le potentiel pour les études pré cliniques est le plus important est le cochon car la taille de son cœur, sa fréquence cardiaque, sa pression artérielle et les infarctus du myocarde qu'il développe sont similaires à ceux de l'homme (117). La souris, plus économique, reste cependant le modèle le plus souvent utilisé pour modéliser une ischémie-reperfusion myocardique en raison des nombreuses similitudes avec l'homme. La possibilité d'utiliser des souches génétiquement modifiées pour l'étude des mécanismes moléculaires sous jacents est de plus un avantage indéniable.

Le modèle d'ischémie-reperfusion cardiaque et le modèle d'ischémie-reperfusion cérébrale illustrent la possibilité d'induire une nécrose cérébrale et myocardique suite à une ischémie de 45 minutes suivie d'une reperfusion de 24 heures. Quelles sont les lésions accompagnant la nécrose, leur évolution et le rôle de chacune des phases (occlusion, revascularisation) dans le développement de ces lésions ?

IV. Les lésions d'ischémie-reperfusion

Malgré des différences liées à la nature même des cardiomyocytes et des neurones, les lésions d'ischémie-reperfusion myocardique et cérébrale présentent une zone centrale comparable. L'organisation vasculaire préalablement décrite influence l'évolution de ces lésions et la reperfusion ne s'accompagne pas toujours d'une amélioration.

A. Une zone centrale semblable

Les expériences suivies au cours du stage mettent en évidence le développement d'une zone de nécrose centrée sur le territoire ischémié. Celle-ci peut se développer sans reperfusion lors d'ischémie assez sévère et longue. Elle est de plus précédée et suivie d'autres signes lésionnels.

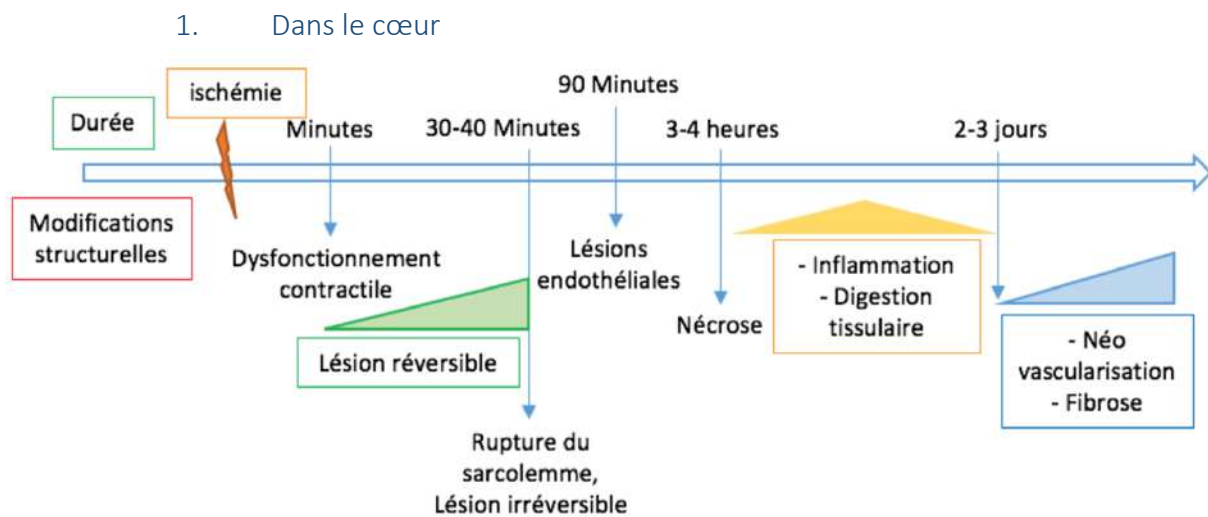


Figure 37 : Schéma des modifications structurelles au cours du temps lors d'occlusion coronarienne permanente, réalisé par l'auteur

Dans le myocarde, l'occlusion d'une artère coronaire entraîne tout d'abord le développement presque immédiat d'un **dysfonctionnement contractile** (118).

Malgré ce dysfonctionnement, l'ischémie myocardique possède un **caractère réversible**, c'est-à-dire qu'il existe une période durant laquelle la restauration du flux sanguin permet au myocarde de recouvrer complètement. Elle est évaluée à 30-40 minutes lors d'ischémie sévère et peut durer jusqu'à plusieurs heures lors d'ischémie modérée (119).

Des études par microscopie électronique ont permis de décrire les changements cellulaires lors de ces phases. Les lésions ischémiques initialement réversibles sont caractérisées par des changements mitochondriaux tels que la perte des granules et la fragmentation des crêtes mitochondriales. Elles s'accompagnent d'un gonflement mitochondrial et de la relaxation des

sarcomères (120,121). Des expériences d'inhibition métabolique sur des cardiomyocytes mettent de plus en évidence le développement d'une fragilité osmotique et d'un œdème intracellulaire lors d'ischémie (122).

Tous ces changements **augmentent de manière progressive** jusqu'à la rupture du sarcolemme, considérée comme **le point de non retour** entre une lésion réversible et irréversible (119). Cela s'accompagne d'agrégations périphériques de la chromatine nucléaire, d'accumulation de matériel amorphe dans le cytoplasme et dans l'espace matriciel des mitochondries (120).

Au centre de la zone ischémisée, une **mort cellulaire par nécrose** se développe 3 à 4 heures après l'occlusion. Elle se caractérise par le gonflement de la cellule et des organites qu'elle contient, la rupture de sa membrane plasmique et la fuite de ses composants intracellulaires (1).

La revascularisation de l'artère coronaire occlue devrait permettre la reperfusion complète du territoire ischémié. Néanmoins, des zones d'ischémie peuvent persister après levée d'obstruction. Ce défaut de reperfusion est observé dès 90 minutes d'occlusion coronaire et traduit les **lésions de l'endothélium des capillaires** observés dans la zone ischémisée par microscopie électronique. Leur développement, plus tardif, est à l'origine de ce défaut de reperfusion appelé « no reflow » (123).

Enfin, les cellules nécrotiques libèrent des signaux de danger qui activent des mécanismes de l'immunité innée à l'origine d'une **réponse inflammatoire** et favorisent les interactions adhésives entre leucocytes et cellules endothéliales (124). Cela entraîne à l'extravasation des neutrophiles et des monocytes depuis la périphérie vers la zone infarctée. Alors que ces derniers nettoient dans un premier temps la zone infarctée des cellules mortes, des médiateurs anti inflammatoires sont libérés dans un second temps. Cette diminution de l'inflammation s'associe à la **prolifération de fibroblastes** et au dépôt de collagène et permet de maintenir la structure du cœur dans la zone infarctée par le développement d'un **tissu cicatriciel** (125). Finalement, ces changements conduisent à un affinement de la paroi du myocarde, à une augmentation de la taille du ventricule atteint et à une diminution de sa fraction de raccourcissement (6).

Ainsi, l'ischémie du myocarde est initialement un phénomène réversible de dysfonctionnement contractile. Elle évolue vers une nécrose et la formation d'un tissu cicatriciel. Dans le cerveau, la nature du tissu nerveux avec des neurones, des cellules gliales et la présence d'une barrière hémato encéphalique conduit à des différences d'évolution.

2. Dans le cerveau

Le cerveau est un organe plus sensible que le cœur à l'ischémie et des expériences d'ischémie globale montrent que des lésions irréversibles peuvent apparaître **en moins de 5 minutes** pour les zones les plus vulnérables du cerveau (126).

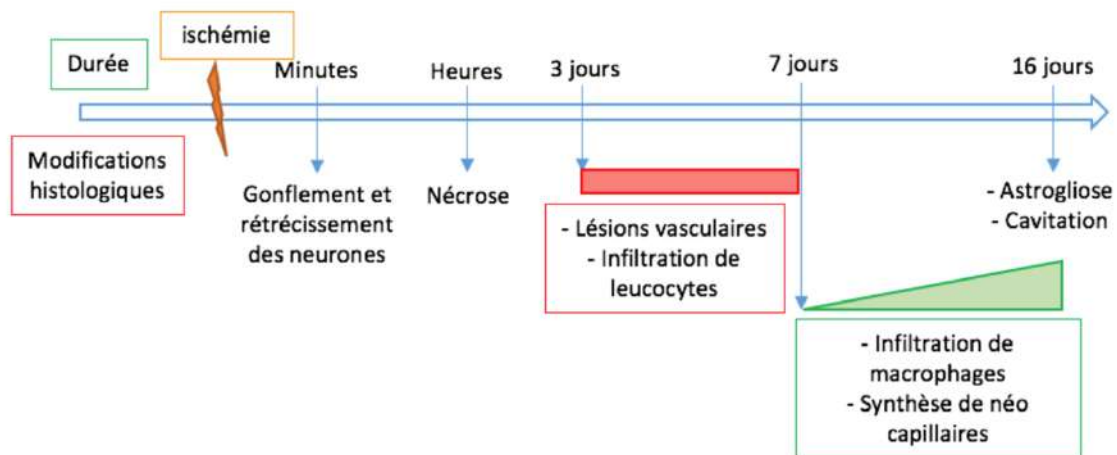


Figure 38 : Schéma des modifications histologiques au cours du temps lors d'ischémie cérébrale focale permanente, réalisé par l'auteur.

L'étude de la quantité d'eau dans le cerveau, des concentrations ioniques en sodium et potassium et du passage d'albumine depuis le sang vers le parenchyme cérébral mettent en évidence le développement d'un **œdème cytotoxique dans les premières phases** de l'ischémie (127).

Des analyses microscopiques après coloration à l'hématoxyline-éosine montrent qu'une **nécrose** se développe **par la suite** (128). Elle touche d'abord les astrocytes puis les neurones.

Une étude d'ischémie permanente intraluminaire de l'artère cérébrale moyenne chez des rats combine des analyses histologiques, histochimiques, immunohistochimiques et des observations au microscope électronique (128). Elle décrit la séquence temporelle des modifications lors d'ischémie et évoque, en plus du gonflement et de la nécrose neuronale, le rétrécissement de certains neurones. Elle fait suivre à ces changements, le **développement de lésions vasculaires et l'infiltration par des cellules inflammatoires**.

A l'inverse du cœur, les conséquences de l'ischémie cérébrale ne sont pas la fibrose mais l'activation de cellules gliales et la dégradation de la matrice extra cellulaire conduisant non seulement à leur mort mais aussi au détachement des astrocytes et cellules endothéliales de la lame basale sur laquelle ils reposent et donc à une **augmentation de la perméabilité vasculaire** (129).

A partir de 7 jours, Garcia et coll. décrivent, dans une étude d'occlusion permanente de l'artère cérébrale moyenne, la **formation de néo capillaires**, le développement d'une **astrogliose** et la **cavitation** de la zone infarctée (130).

Ainsi, une ischémie myocardique et cérébrale entraîne le développement d'un œdème cytotoxique, d'une nécrose, de lésions endothéliales et l'infiltration par cellules sanguines. Les

différences majeures sont la durée de chacun des événements, la sensibilité accrue du cerveau, l'existence d'une phase précoce de dysfonctionnement contractile pour le cœur et enfin l'évolution vers la fibrose pour le myocarde ou la cavitation pour le cerveau.

Bilan partiel 7 : comparaison des lésions d'ischémie entre l'infarctus du myocarde et l'AVC.

- Certaines lésions d'ischémie sont communes au cœur et au cerveau : l'œdème cytotoxique, la nécrose, les lésions endothéliales et l'infiltration de cellules sanguines.
- Des différences importantes existent néanmoins :
 - La séquence temporelle d'apparition des lésions
 - Pour le cœur : la réversibilité des lésions jusqu'à 40 minutes, le dysfonctionnement contractile, la cicatrisation et la fibrose
 - Pour le cerveau : la rapidité de développement des lésions, l'astrogliose et la cavitation.

Tous les tissus peuvent résister à des durées variables d'ischémie jusqu'à ce qu'une durée critique, variable selon le tissu, soit atteinte, ce qui conduit à des lésions. Cependant, une expérience de mesure de l'infarctus cérébral par TTC chez des rats après occlusion de l'artère cérébrale moyenne montre que la masse de tissu infarcté augmente de manière linéaire avec le temps d'occlusion (131). De même, au niveau du cœur, l'IRM d'un cœur souffrant d'un infarctus frais laisse voir une zone dysfonctionnelle plus étendue que ne le sera la lésion cicatricielle ultérieure (132). Ces expériences illustrent l'existence d'une zone bordante correspondant à une région hypo perfusée et au fonctionnement altérée. A l'inverse de la zone nécrosée, elle peut récupérer si le flux sanguin est rétabli rapidement et évolue sinon vers des lésions irréversibles (133). Sa progression et son fonctionnement diffèrent entre le cœur et le cerveau.

B. La zone à risque et la pénombre

1. Au niveau du cœur

L'occlusion soudaine d'une artère coronaire entraîne une réduction du flux artériel dans le myocarde irrigué par cette artère et forme une zone d'hypo perfusion. Lorsque le déficit persiste, une nécrose se développe et croît au sein de la zone hypo perfusée. La zone non infarctée mais ischémisée risque donc la nécrose si l'occlusion persiste et est pour cette raison appelée zone à risque. Comment évolue l'infarction dans cette zone tant au niveau de l'épaisseur que de la surface du myocarde ?

Si nous nous intéressons à l'évolution de la nécrose dans l'épaisseur du myocarde, nous remarquons que, lors d'occlusion coronaire, les lésions débutent habituellement dans la zone sous endocardique puis s'étendent vers l'épicarde et deviennent transmurales en 4 à 6 heures. C'est le phénomène de **Wavefront** (FIGURE 39) (134). Cela correspond à des sensibilités à

l'ischémie différentes au sein de l'épaisseur du myocarde. Des études suggèrent en effet que les régions sub endocardiques présentent une sensibilité accrue secondaire à un besoin énergétique plus important et à un apport sanguin plus faible (135,136). L'infarctus progresse donc dans l'épaisseur de la zone à risque depuis l'endocarde vers l'épicarde.

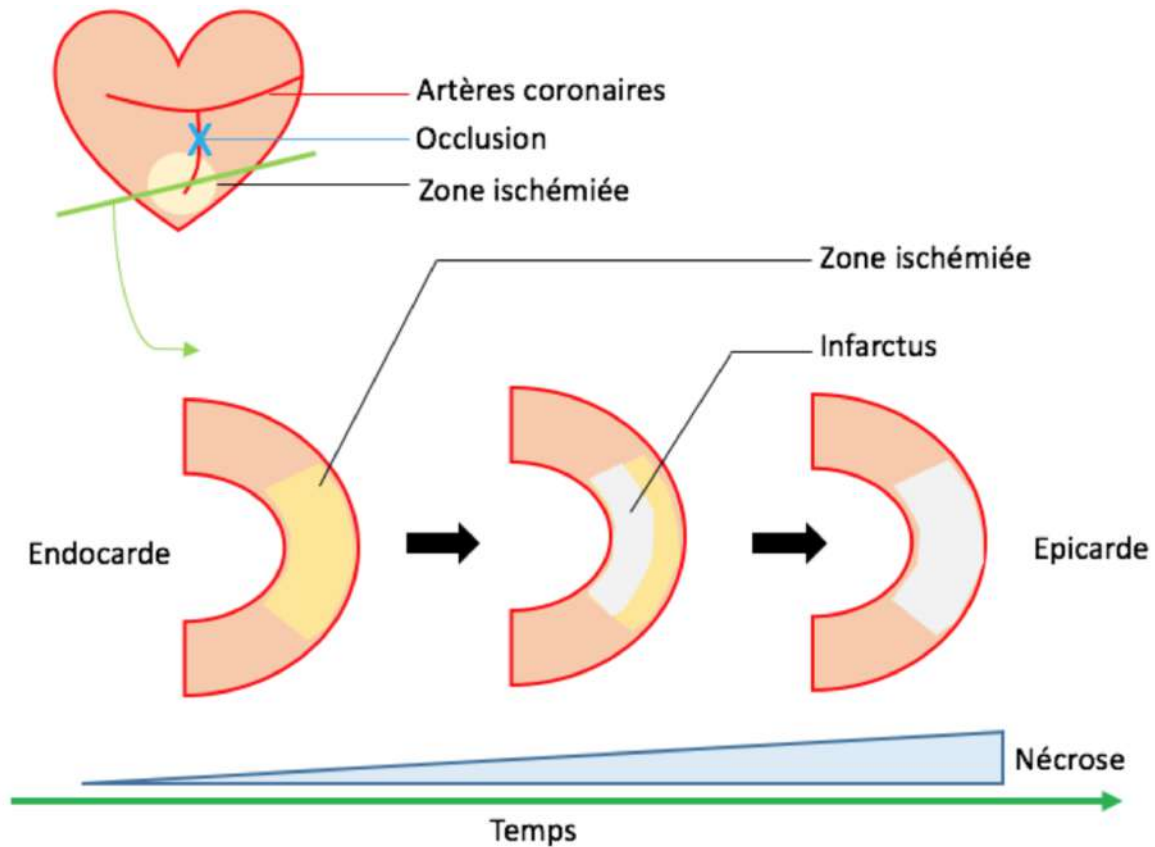


Figure 39 : Schéma du phénomène de Wavefront, réalisé par l'auteur

Si nous nous intéressons maintenant à son évolution à la surface du myocarde, la réitération des examens d'imagerie montre **une augmentation de l'infarctus dans la zone hypo perfusée** au cours du temps (137) (FIGURE 40).

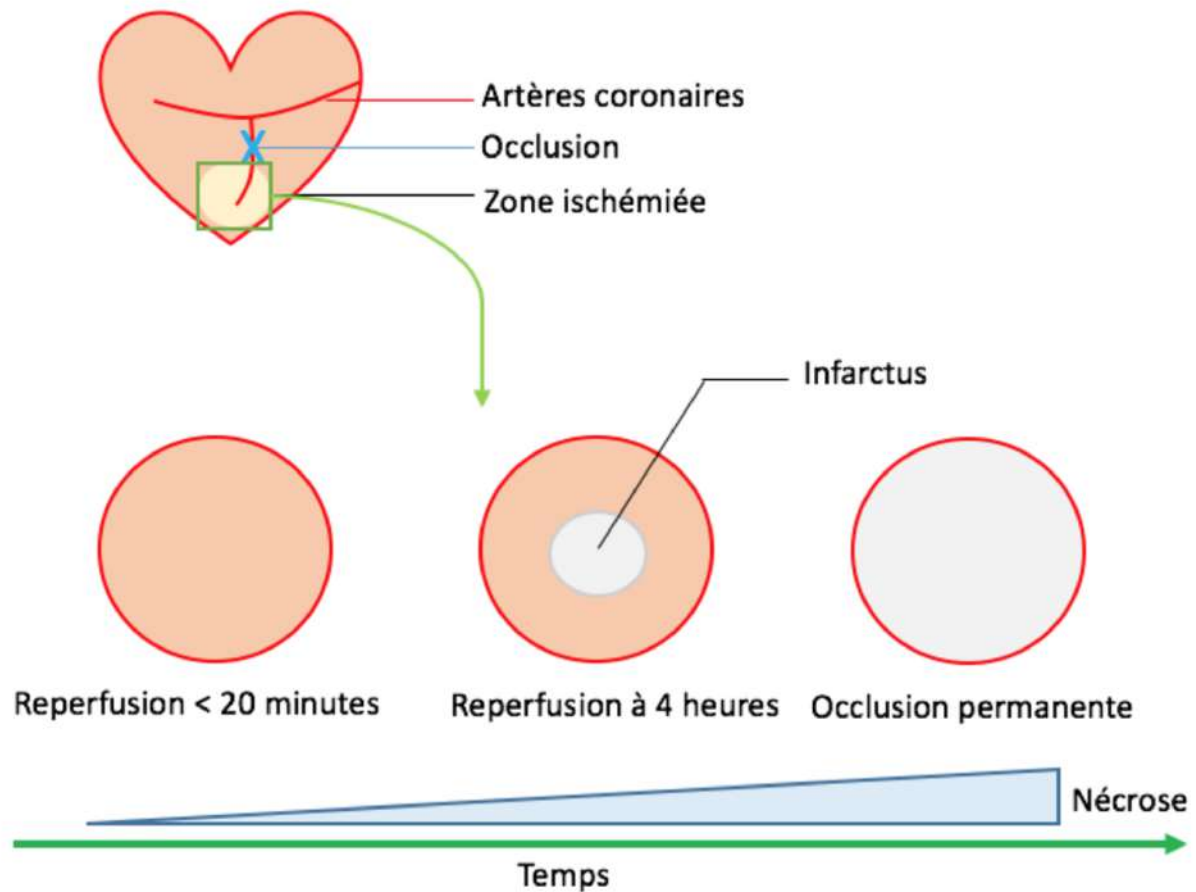


Figure 40 : Les différentes zones lors d'un épisode ischémique dans le cœur, d'après Hatfield et coll. (100)

Ce décalage temporel dans l'apparition d'une nécrose au sein de la zone à risque s'explique par différents degrés de perfusion résiduelle au sein du myocarde ischémié. En effet, une étude basée sur la tomographie par émission de positon (TEP) compare le flux sanguin au métabolisme du glucose lors de maladie coronarienne (138). Elle met en évidence une zone de décalage où le flux sanguin diminue et le métabolisme du glucose augmente et une zone de concordance où les deux paramètres diminuent. La mesure du flux sanguin suggère que la persistance d'un métabolisme glucidique dépend d'un flux résiduel au sein du tissu ischémié. La zone de décalage n'est en effet pas observée lors de flux sanguin inférieur à 20% des valeurs de contrôle et est invariablement présente lorsque le flux excède 40% du contrôle. Cette expérience traduit l'existence **d'une hétérogénéité dans la distribution du flux sanguin** lors d'occlusion à l'origine de **différents degrés d'ischémie**.

On observe ainsi une mort cellulaire en 1 heure lorsque le flux sanguin est inférieur à 10% du contrôle alors que des zones d'ischémie modérée (flux sanguin inférieur à 35% du contrôle) survivent pendant 3 à 6 heures (139).

Une perfusion myocardique peut donc persister dans la zone ischémisée après occlusion d'une artère coronaire. Elle provient des zones non ischémisées voisines qui se distribuent, principalement à travers la micro circulation de l'épicarde vers la zone à risque (140). De plus, bien que la circulation coronaire soit considérée comme terminale, Bloor et Liebow (141) décrivent quatre types de circulation collatérale dans le cœur :

- La circulation endomurale, correspondant à des vaisseaux connectés avec les chambres cardiaques comme les artères lumbales et vaisseaux de Thébésius.
- La circulation inter coronaire, correspondant à des anastomoses entre les artères coronaires allant de 40 à 300 micromètres de diamètre et essentiellement localisée aux septums interventriculaire et inter atrial, au sillon interventriculaire, à l'apex et au plan musculaire sub-épicaire.
- La circulation retro cardiaque, correspondant à des connexions entre les branches atriales des artères coronaires et les artérioles bronchiques et médiastinales (142).
- La circulation transépicaire, formée par un tissu de granulation autour du cœur.

Cette circulation est peu active dans les conditions physiologiques mais peut se développer lors de maladies chroniques (132).

Un trouble contractile est observé dans la zone hypo perfusée. Ce flux résiduel ne permet ainsi pas un fonctionnement normal des cardiomyocytes mais autorise une **survie prolongée** des cellules par rapport aux régions les plus ischémisées (120) et la perte de fonction contractile les préserve plus longtemps de la mort cellulaire (143) en diminuant leur demande énergétique.

L'organisation vasculaire du cœur est donc à l'origine d'une hétérogénéité de la réponse à l'occlusion d'une artère coronaire et d'une zone à risque dynamique. L'infarctus commence au niveau sub endocardique de la région où le flux sanguin est le plus faible puis s'étend de manière transmurale vers l'épicarde et de manière centrifuge vers la périphérie de la zone à risque.

2. Au niveau du cerveau

a) Anastomoses cérébrales et compensation insuffisante lors d'occlusion de l'artère cérébrale moyenne

L'obstruction d'une artériole piale est compensée par les nombreuses anastomoses leptomeningées et n'entraîne pas d'infarctus. A l'inverse une artériole pénétrante occluse conduit à une nécrose. L'expérience suivie au laboratoire CARMEN nous montre que l'occlusion d'une artère cérébrale majeure comme l'artère cérébrale moyenne conduit à une nécrose d'ischémie-reperfusion. Par comparaison, les anastomoses du cœur sont peu développées et la zone hypo perfusée correspond à la zone à risque. Nous pouvons alors nous demander dans quelles mesures les anastomoses cérébrales participent au développement de la lésion lors d'occlusion d'une artère cérébrale majeure.

Schaffer et coll. suivent le débit sanguin cérébral chez des rats par imagerie multi photonique après occlusion de l'artère cérébrale moyenne. Ils décrivent une **inversion et une diminution du flux sanguin dans la moitié de la surface en aval de l'artère occluse** par l'intermédiaire des artérioles leptomeningées (69). Ce phénomène n'est en revanche pas observé dans les artérioles pénétrantes (50). Une autre étude montre qu'un réseau de collatérales piales développé est associé à une expansion réduite de l'infarctus (144). L'ensemble de ces données suggèrent que les artérioles piales permettent le maintien d'un flux sanguin dans les artères pénétrantes malgré la chute de débit induite par l'ischémie et ceci, grâce au sang provenant des artères saines. Cela illustre un certain degré de **protection apporté par les anastomoses piales**.

Cette inversion du flux sanguin est permise par le gradient de pression sanguine qui existe entre les zones saines, où la pression hydrostatique exercée par le flux sanguin est positive, et le territoire occlus, où le débit sanguin diminue et la pression hydrostatique chute. Toriumi et coll. suggèrent que si ce **gradient de pression originaire des artères saines est supérieur au point d'agrégation des hématies**, arrêtées en aval de l'occlusion, un **redémarrage du flux** a lieu. Lorsque celui-ci est maintenu et que les parois des artères leptomeningées ne se collabent pas, un flux rétrograde au sein des branches de l'artère cérébrale moyenne occluse permet d'irriguer une partie du territoire ischémié (39).

En plus des connexions anastomosiques et du gradient de pression, la paroi des artérioles piales intervient dans le maintien d'une perfusion sanguine aux territoires ischémiés. Shih et coll. étudient le diamètre artériolaire et la vitesse des globules rouges en périphérie de l'infarction cérébrale par microscopie multi photonique lors d'ischémie focale transitoire chez des rats (50). Ils montrent que les artérioles piales de faible diamètre et les artérioles pénétrantes présentent une **vasodilatation** durant l'ischémie. Leur capacité à se vasoconstricter lors de reperfusion montre que ce **phénomène est vasoactif** et non secondaire à une perte de tonus myogénique. Par comparaison, les artérioles piales larges présentent à la fois des vasodilatations et vasoconstrictions qui soulignent l'importance de la régulation vasomotrice dans le maintien de la perfusion du territoire ischémié.

Ainsi, lors d'occlusion de l'artère cérébrale moyenne, la pression sanguine dans les artères piales en aval diminue. La perfusion des zones ischémiées est alors améliorée par la présence des connexions anastomotiques de la surface piale du cortex entre les branches distales des artères cérébrales moyennes, antérieures et postérieures. Le gradient de pression et les modifications du diamètre artériel permettent une redistribution du flux sanguin sur une partie du territoire ischémié (30,36).

Ces phénomènes présentent cependant des limites. Baran et coll. utilisent la micro angiographie optique pour évaluer le diamètre, le changement de flux sanguin et sa vitesse dans les artères piales et pénétrantes avant, pendant et après occlusion de l'artère cérébrale moyenne chez des souris (49). Ils montrent que les artérioles pénétrantes proches des anastomoses se dilatent et permettent une restauration du débit sanguin dans le territoire ischémié mais que **le phénomène s'atténue lorsque la distance avec l'anastomose source augmente**. Ils suggèrent alors que la dilatation nécessite un débit sanguin important. Dirnagl et coll. (93) complètent leur découvertes

et montrent, par des variations de pression artérielle systémique à l'aide de norépinephrine ou de nitroprusside lors d'ischémie focale chez des rats, que la **capacité vasomotrice de régulation de la perfusion cérébrale** diminue lorsque l'ischémie augmente et est complètement **perdue** lorsque le débit est **inférieur à 30% de sa valeur de base**.

L'efficacité de la circulation collatérale varie donc selon la distance avec les vaisseaux nourriciers et conduit à nous demander si elle est suffisante au maintien du métabolisme cérébral.

Une étude par tomographie par émission de positons permet à Derdeyn et coll. de mettre en évidence une incapacité de la circulation collatérale piale à maintenir l'hémodynamique normale du cerveau. Ils observent dans tous les cas d'occlusion de l'artère cérébrale moyenne, une diminution de la pression de perfusion distale à l'occlusion et une augmentation de la fraction d'extraction de l'oxygène, traduisant l'inaptitude des collatérales à entretenir une perfusion suffisante (32). Ce flux collatéral n'est donc pas suffisant au maintien du débit sanguin au dessus des seuils de perfusion nécessaire à la viabilité cellulaire pour une longue période (30). Différents degrés de perfusion existent alors et sont à l'origine de plusieurs zones dans le cerveau ischémié.

b) Débit sanguin résiduel et zone de pénombre

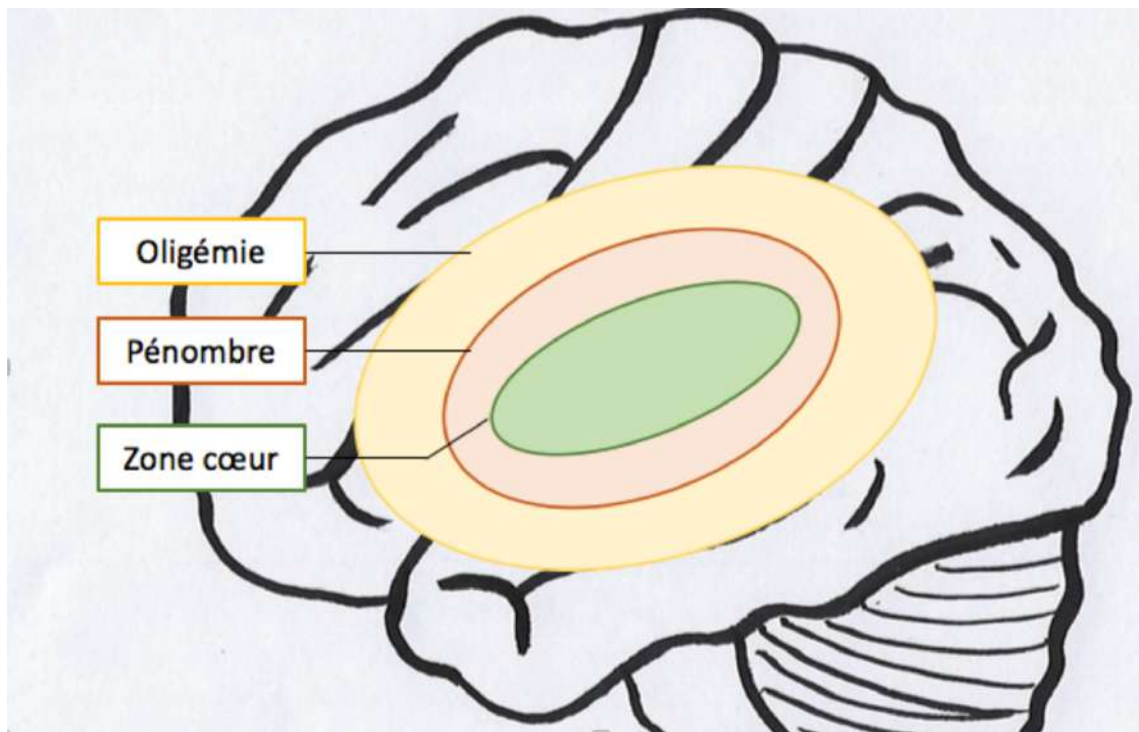


Figure 41 : Les zones lors d'un AVC ischémique, réalisé par l'auteur

L'organisation artérielle corticale permet le maintien d'un débit sanguin dans le territoire ischémié. Celui-ci diminue graduellement lorsque la distance avec les artères saines augmente et le tissu cérébral réagit différemment selon le degré de perfusion résiduel qu'il reçoit. Symond et

coll. (145) étudient l'activité électrique corticale locale et la compare à l'intensité de l'ischémie. En plus de la zone de mort cellulaire, ils décrivent une **zone de dysfonctionnement neuronal bien plus large que la zone de perte de structure**. Ils supposent que le taux de perfusion résiduelle est responsable de l'établissement de ces zones. En effet, lors d'occlusion d'une artère cérébrale majeure, la capacité du cerveau à maintenir une pression de perfusion constante, malgré des variations de pression artérielle, est perturbée. Ils font ainsi varier la perfusion cérébrale et associent un seuil de débit sanguin aux dysfonctions observées. Astrupt et coll. (146) définissent alors cette zone comme une **pénombre** avec **défaillance électrique mais maintien de l'intégrité structurelle** où la perfusion sanguine résiduelle permet un taux d'ATP normal. Son importance clinique vient du fait que cette zone **est viable et peut être réactivée** par la reperfusion.

Hossmann et coll. complètent leur définition et la décrivent comme une **zone où l'apport de sang est diminué mais où la viabilité tissulaire persiste et donc où le métabolisme énergétique est préservé**. Ils associent les changements biochimiques et fonctionnels définissant la pénombre à des seuils de perfusion cérébrale (147). Bien que des variations existent selon l'espèce étudiée, des ordres de grandeurs peuvent être établis et sont résumés dans la FIGURE 42.

Seuils de viabilité

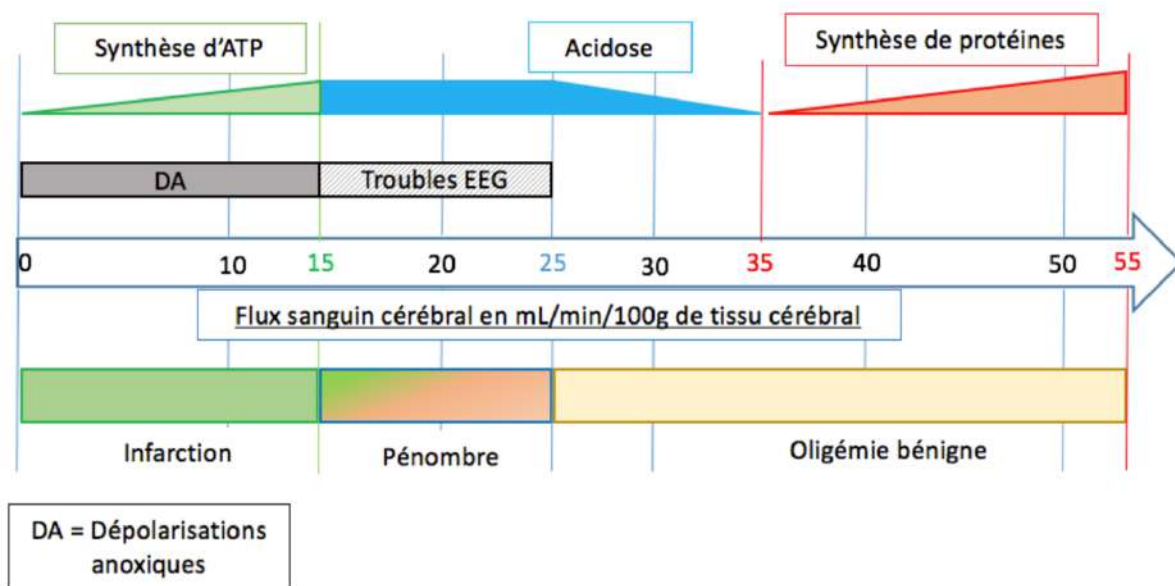


Figure 42 : Modifications associées aux variations du débit sanguin cérébral, réalisée par l'auteur

Par comparaison, la **zone cœur** est la zone où le débit sanguin est le plus faible, les lésions sont les plus précoces et les plus sévères, elle représente la zone d'infarction. Dans **la zone d'oligémie**, le débit sanguin est diminué mais reste suffisant au maintien du fonctionnement neuronal. L'incidence est quasi nulle, la zone reste viable, l'intégrité neuronale est préservée et cette zone ne développera pas d'infarctus (148).

Comme on observe différentes zones dans le territoire ischémié selon les seuils de perfusion, et que les artères collatérales interviennent, comme nous l'avons vu, dans le maintien d'une perfusion résiduel, nous pouvons nous demander si la circulation collatérale intervient dans l'établissement des seuils et des différentes zones au sein du territoire occlus.

Maeda et coll. étudient l'influence du diamètre des vaisseaux pials anastomosés, plus larges chez des souris au gène pour l'angiotensine désactivée et mettent en évidence chez ces souris un retardement dans le développement de la zone cœur au sein de la zone de pénombre lors d'occlusion de l'artère cérébrale moyenne. Cette protection apportée par un flux collatéral amélioré lors de vaisseaux plus large est cependant temporaire. Ils confirment donc le **rôle important des anastomoses piales** dans **l'évolution de la pénombre** (149).

Bang et coll. comparent les données angiographiques aux images d'IRM de perfusion (PWI) et de diffusion (DWI) lors d'AVC ischémiques aigus de l'artère cérébrale moyenne. Ils suggèrent qu'un réseau de collatérales développé est associé à une zone d'oligémie bénigne plus grande alors qu'un réseau restreint conduit à un écart PWI-DWI plus grand et une croissance d'infarctus plus importante (144).

Etant donné que les artères pénétrantes ne sont pas connectées entre elles et ne montrent pas d'inversion de flux, Baran et coll. soulignent que la source de sang est régulée par les artères piales lors d'ischémie et qu'un échec de leur approvisionnement conduit à une augmentation de la mort cellulaire dans la pénombre (49).

On voit donc que des modifications de la circulation collatérale piale conduisent à des modifications de la zone de pénombre. Elle est importante au maintien d'une perfusion minimale dans cette zone et minimise le degré d'hypoperfusion après occlusion artérielle (150). A l'inverse, les régions d'oligémie bénigne ne montrent qu'une faible réduction de la perfusion sanguine sans risque d'infarction. Les zones de pénombre et d'oligémie bénigne dépendent de la perfusion collatérale liée aux anastomoses existentes (150). La diminution des besoins métaboliques du tissu ischémié reste supérieure à l'apport, ce qui conduit progressivement à l'évolution de la pénombre vers l'infarction.

c) Evolution de la zone de pénombre

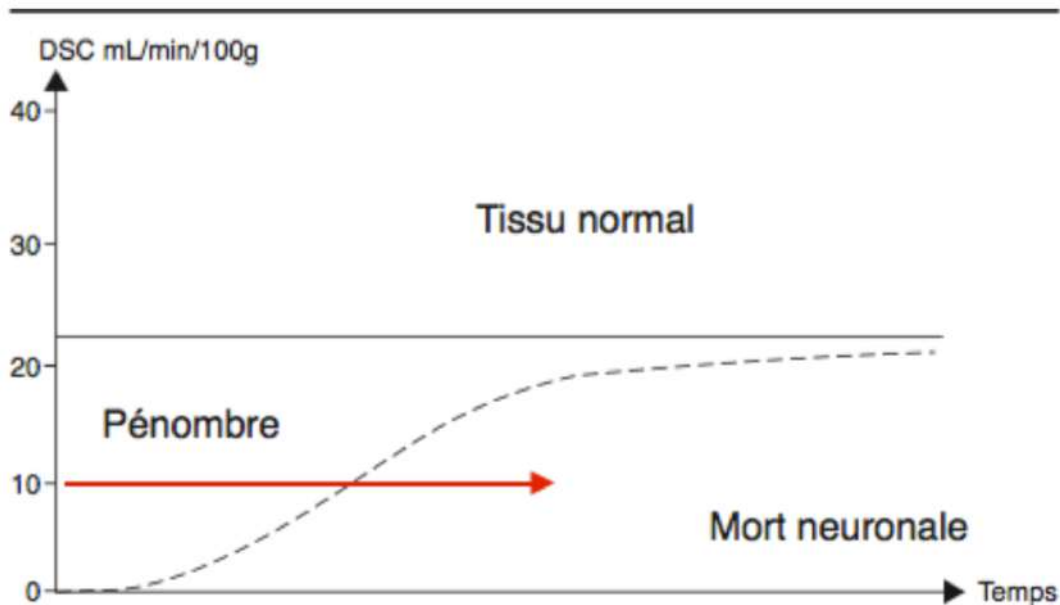


Figure 43 : Evolution au cours du temps de la pénombre ischémique, Source : Delplanque et coll. (151)

L'injection de bleu trypan après des expériences d'occlusion de l'artère cérébrale moyenne chez des singes montre que la zone infarctée est plus grande après 24 heures d'ischémie qu'après 8 heures (152). Une étude comparant la zone d'absence de synthèse d'ATP, interprétée comme la zone cœur avec celle de défaillance de la synthèse protéique au métabolisme énergétique normal montre aussi un agrandissement de la zone cœur au sein de la zone de synthèse protéique défaillante au cours du temps. Elle souligne en revanche la stabilité de la zone d'inhibition de synthèse protéique (153). La zone de **pénombre est donc de nature dynamique** avec exacerbation de l'infarctus en respect de sa localisation anatomique initiale.

Heiss et coll. comparent l'activité neuronale, le débit sanguin cérébral et l'examen histologique pour différentes durées. Ils montrent que le seuil de silence neuronal n'est pas lié à la durée du trouble sanguin mais que la récupération des cellules au sein de la pénombre diminue lorsque le temps d'ischémie augmente pour un débit sanguin résiduel constant. Ils soulignent la **co-dépendance du temps et de la sévérité de l'ischémie** dans l'évolution de la lésion (51).

Lorsque Hossmann et coll. (147) étudient les **seuils** à partir desquels les défaillances apparaissent au cours du temps, ils mettent en évidence leur **augmentation** avec le temps traduisant une **zone de plus en plus sensible**. Seul le seuil à partir duquel la synthèse protéique est inhibée reste inchangé dans le temps. Ils montrent ainsi que l'évolution vers des changements irréversibles ne dépend pas uniquement de la perfusion sanguine mais aussi de la durée d'ischémie.

Le flux collatéral n'est donc pas suffisant aux demandes métaboliques nécessaires à la survie du tissu dans le temps. Or ce dernier reste stable, la croissance de l'infarctus n'est donc pas liée à la progression de l'ischémie (147).

Une explication est dans le rétablissement du potentiel de membrane suite aux dépolarisations péri infarctus (que nous aborderons plus loin). En effet, il existe une corrélation linéaire entre les dépolarisations péri infarctus et la taille de l'infarctus chez des rats avec occlusion de l'artère cérébrale moyenne (154). Les pompes ioniques rétablissent ce potentiel en utilisant de l'énergie, elles augmentent les besoins d'une zone où l'apport sanguin est altéré et ne peut répondre aux changements (147). Une autre explication est l'existence d'une vasodilatation artériolaire induite par ces dépolarisations en périphérie de la zone de pénombre. La perfusion y est peu modifiée, ce qui entraîne le shunt du sang vers la périphérie et aggrave l'hypoperfusion à proximité de la zone cœur (155). De surcroît, un débit sanguin résiduel est aussi associé à un niveau d'énergie suffisant aux voies de l'apoptose (156).

La zone de pénombre est donc une zone où les perturbations sont réversibles si le débit sanguin est rétabli dans les premières heures et constitue ainsi la cible des traitements d'urgence (2).

Bilan partiel 8 : ischémie et développement d'une zone à risque/pénombre entourant l'infarctus et dans laquelle il progresse.

- L'hétérogénéité transmurale du Cœur est à l'origine d'un début d'infarctus au niveau de l'endocarde qui s'étend ensuite vers l'épicarde par le phénomène de Wavefront. Le territoire d'irrigation de l'artère occluse est celui de la zone à risque, il évolue vers une nécrose en l'absence de reperfusion
- Les anastomoses piales du cerveau conduisent à une redirection du flux sanguin selon le gradient de pression avec diminution progressive de la perfusion cérébrale sanguine depuis la périphérie vers le centre de l'ischémie. Cela délimite trois zones : cœur, pénombre et oligémie bénigne.
- La pénombre est une zone de dysfonctionnement électrique où l'intégrité structurelle est préservée. Elle évolue vers la nécrose si l'ischémie persiste. La variabilité du flux sanguin collatéral rend impossible sa délimitation par des repères anatomiques uniquement.

Ainsi, une ischémie prolongée conduit au développement d'une lésion, d'abord centrale puis qui s'étend au sein de la zone à risque ou de pénombre. La reperfusion semble alors être la solution idéale mais ses effets peuvent être néfastes au tissu.

C. Les lésions de reperfusion

Nous venons de voir que l'étendue de la lésion et du dysfonctionnement cellulaire dépendent de la sévérité et de la durée d'ischémie. La revascularisation apparaît alors comme le traitement de choix. La comparaison de la taille d'infarctus par marquage au TTC dans des modèles d'occlusion coronaire chez des souris montre en effet qu'une reperfusion précoce après 30 à 60 minutes d'ischémie diminue la taille de l'infarctus par rapport à une occlusion permanente (113).

Cependant, bien que l'apport en oxygène soit restauré lors de la reperfusion, de nombreuses études montrent que l'effet peut être paradoxal et exacerber la lésion.

Dans le cœur, la reperfusion peut tout d'abord s'accompagner de changements qui n'étaient pas présents lors de l'ischémie seule. Un premier événement est la persistance d'un dysfonctionnement contractile après résolution de l'ischémie malgré l'absence de mort cellulaire. Il persiste plusieurs jours et correspond au phénomène de **sidération myocardique** (157).

Ce phénomène et les arythmies de reperfusion sont gérables médicalement mais il existe aussi des lésions de reperfusion dites létales.

Une étude suggère en effet que **la reperfusion participe à la nécrose**. Lors de la revascularisation du myocarde, Jennings et coll. décrivent un gonflement marqué des cellules irréversiblement lésées par l'ischémie avec élargissement des mitochondries, accumulation de dépôts calciques mitochondriaux et l'apparition de bandes de contractures (120).

Néanmoins, associer la nécrose spécifiquement à la phase d'ischémie ou à celle de la reperfusion est difficile, c'est pourquoi la mise en évidence des lésions de reperfusion est surtout indirecte. Elle consiste à évaluer une éventuelle réduction de nécrose lorsque les conditions de reperfusion sont modifiées.

L'inhibition des myofibrilles par du 2,3-butanedionemonoxime **durant la ré oxygénation** après occlusion d'une artère coronaire chez des cochons conduit à une diminution de la taille de l'infarctus et montre donc que la reperfusion majore la lésion par une nécrose en bande de contracture (158).

L'utilisation d'héptanol, un dissociatif de jonction à trou (gap-junction), **au début de la reperfusion** conduit aussi à une diminution de la taille d'infarctus et illustre la capacité de propagation des lésions de reperfusion (159).

Un traitement par des chélateurs de radicaux libres, molécules produites au cours de la reperfusion, permet une diminution de l'infarctus (160,161).

La reperfusion participe donc à la formation des lésions jusqu'à un certain point. Ainsi, à partir de 2 heures d'occlusion coronaire murine et 24 heures de revascularisation, la reperfusion ne modifie pas la taille de l'infarctus par rapport à une occlusion permanente (113). Des études plus longues suggèrent une reprise des lésions de reperfusion puisqu'une étude montre qu'elles **peuvent se développer** jusqu'à 3 jours après la revascularisation essentiellement par l'apoptose et la mort cellulaire induites par l'inflammation (162). De plus, certains auteurs n'excluent pas un retard dans l'apparition des lésions plutôt qu'une véritable protection lors de modifications des paramètres de reperfusion (163).

Même si la taille de l'infarctus n'est pas diminuée par une reperfusion tardive, une amélioration de la fonction systolique et diastolique du cœur peut découler d'une reperfusion tardive par rapport aux modèles d'occlusion permanente (113). L'étude LATE considère ainsi la reperfusion comme bénéfique jusqu'à 12 heures après l'apparition des signes cliniques, ce qui constitue la fenêtre thérapeutique de levée d'obstruction (164).

Dans le cerveau, la reperfusion peut aussi être néfaste. Le potentiel nocif de la revascularisation dépend en partie des radicaux libres liés à la ré oxygénation. Leur chélation réduit la taille de la lésion après des expériences d'ischémie-reperfusion et montre donc **l'implication de la reperfusion dans la lésion finale** (161).

De plus, le suivi du débit sanguin cérébral lors de reperfusion de l'artère cérébrale moyenne chez des rats montre une augmentation de la perfusion de 213+/-83% par rapport aux valeurs basales et illustre **l'hyperémie de reperfusion** (74).

Enfin à partir d'un certain temps d'occlusion, les lésions tissulaires deviennent irréversibles. Weinstein et coll. montrent à travers des occlusions temporaires de l'artère cérébrale moyenne chez des chats que la reperfusion après 1 à 8 heures d'ischémie crée des infarctus plus petits qu'une occlusion permanente mais pas après 24 heures d'occlusion. Des animaux reperfusés après 24 heures d'ischémie ont un infarctus de taille équivalente à celle d'une occlusion permanente (71). De même, Kaplan et coll. (74) créent une ischémie focale transitoire chez des rats et montrent que l'infarctus croît avec le temps jusqu'à 4 heures d'occlusion où il est équivalent à celui d'une occlusion permanente. Cela montre **l'impossibilité de sauver le tissu au delà d'un certain délai**.

Comme nous le verrons, la reperfusion est néfaste par la génération d'espèces réactives de l'oxygène lors du retour d'O₂ dans le tissu ischémié et leur présence dégrade notamment les lipides. Le **cerveau** de part sa haute consommation d'oxygène et sa forte teneur en lipide en font un organe **particulièrement sensible** aux lésions de reperfusion (165). L'étude de l'issue fonctionnelle de patients thrombolysés décrit une fenêtre thérapeutique de 3 heures (166) pouvant être étendue à 4,5 heures (167).

Bilan partiel 9 : conséquences néfastes de la reperfusion et fenêtres thérapeutiques pour le cœur et le cerveau.

- Les conséquences potentielles d'une revascularisation cardiaque sont : la sidération myocardique, les arythmies de reperfusion et les lésions de reperfusion létales (bandes de contracture, inflammation exacerbée, apoptose)
 - Revascularisation bénéfique jusqu'à 12 heures
- La reperfusion cérébrale participe aussi au développement de la lésion, il existe un risque d'hyperémie cérébrale et la totalité du tissu est nécrosé au-delà d'un certain délai
 - Revascularisation bénéfique jusqu'à 4,5 heures

Bilan global 3 : Lésions d'ischémie-reperfusion dans l'AVC et l'infarctus du myocarde.

- L'occlusion vasculaire délimite plusieurs zones :
 - Une zone Cœur où les lésions sont l'œdème, la nécrose, les lésions endothéliales et l'infiltration de cellules sanguines. Elle diffère entre le Cœur et le cerveau par son déroulement dans le temps, son caractère réversible au début pour le Cœur et son évolution chronique
 - Une zone à risque/de pénombre, dans laquelle l'infarctus progresse si l'occlusion persiste. Elle correspond à la zone hypo perfusée pour le cœur et est plus difficile à délimiter pour le cerveau en raison du flux sanguin collatéral variable.
 - Une zone d'oligémie bénigne pour le cerveau
- La reperfusion participe à la lésion finale. Elle n'est bénéfique que lorsqu'elle est précoce.

L'ensemble des études présentées nous permet de définir les lésions de reperfusion comme des lésions associées à la revascularisation et ne s'étant pas produites durant l'ischémie précédente. Des altérations ischémiques sont nécessaires à leur développement (163). Même si leur implication précise dans la lésion finale et le bénéfice de la reperfusion dépendent de nombreux facteurs, elles sont particulièrement importantes parce qu'elles peuvent être atténuées par des interventions au cours de la reperfusion et sont donc la cible des traitements lors de la présentation du patient. Pour comprendre leur évolution et les observations en imagerie complémentaire, il est intéressant d'étudier la succession des événements moléculaires et cellulaires à l'origine des lésions.

V. Mécanismes sous jacents

A. Mécanismes à l'origine des lésions d'ischémie

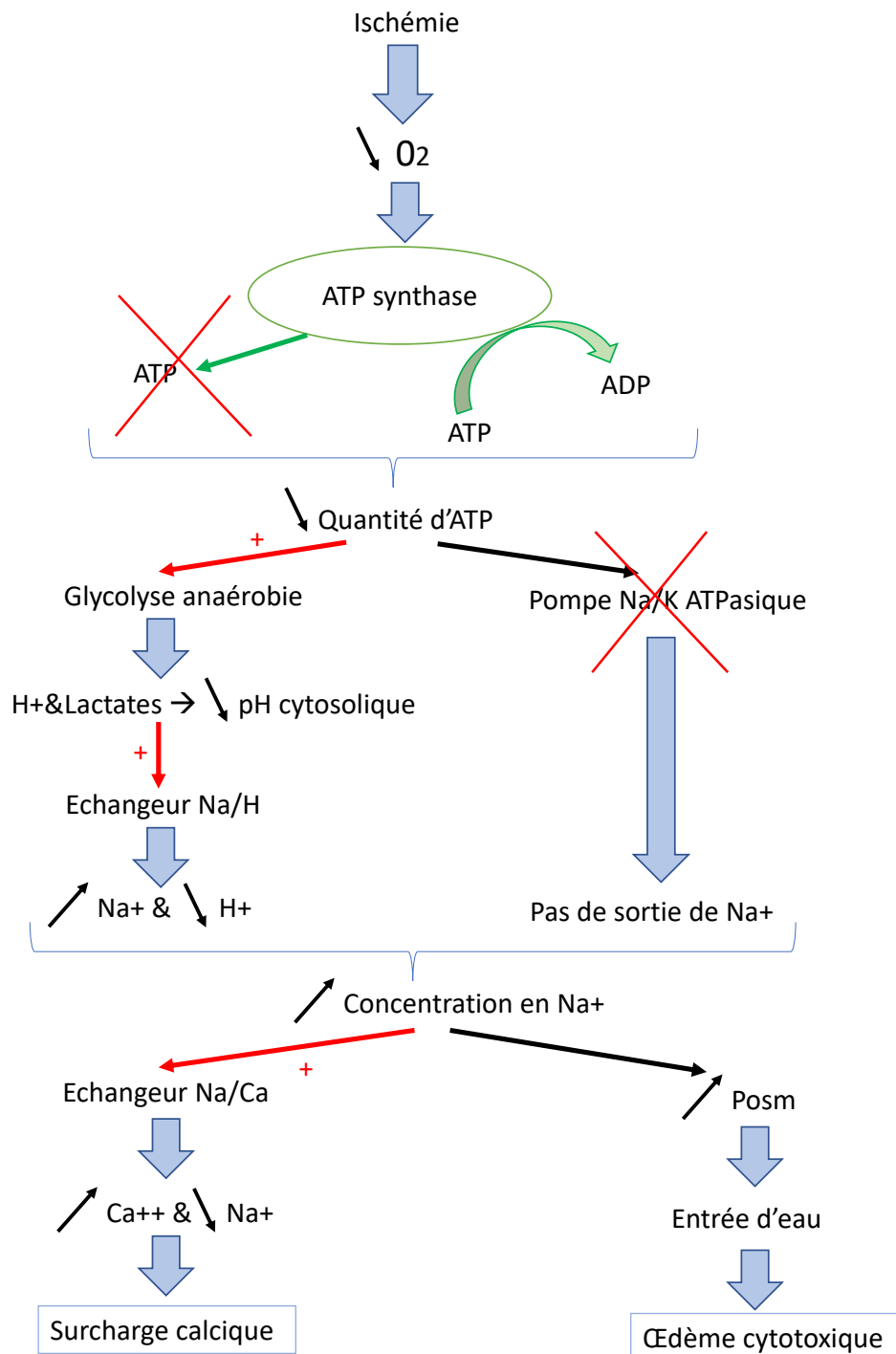


Figure 44 : Schéma des modifications biochimiques de l'ischémie, réalisé par l'auteur

1. Inhibition du métabolisme mitochondrial

L'ischémie bloque le flux sanguin et donc l'apport d'oxygène. Le flux d'électron à travers la chaîne respiratoire est donc inhibé. En conséquence, l'ATP synthase ne peut plus phosphoryler l'ADP et générer la molécule d'ATP. En essayant de maintenir le gradient électrochimique, elle fonctionne à l'envers et hydrolyse l'ATP restant. Ces deux processus provoquent une **chute rapide des niveaux d'ATP** au moment de l'induction de l'ischémie (168).

2. Œdème cytotoxique et surcharge calcique

Durant l'ischémie, la production d'ATP dépend, à cause du manque d'oxygène, de la glycolyse anaérobie. Le mécanisme de cette voie énergétique conduit à l'accumulation de lactate et de protons et le pH cytosolique chute. En conséquence, les ions H⁺ sortent de la cellule par l'échangeur membranaire Na⁺/H⁺ (NHE). Cela permet de tamponner l'accumulation intracellulaire d'ions hydrogène mais entraîne un influx de sodium. En parallèle, le manque d'ATP inactive l'efflux de sodium par la pompe NaK ATPasique. Ceci est à l'origine d'une augmentation du taux de sodium intracellulaire (169) et augmente l'osmolarité intracellulaire. Un flux d'eau se produit vers l'intérieur de la cellule, et conduit au rétrécissement du milieu extracellulaire et à un œdème intracellulaire appelé **œdème cytotoxique** (170). Ce gonflement cellulaire conduit à la rupture de la membrane plasmique et à la fuite des composants intracellulaires associés à la nécrose que l'on observe dans la zone cœur de l'ischémie.

Le Na⁺ est, à son tour, échangé avec le Ca²⁺ par l'échangeur membranaire Na⁺/Ca²⁺. Or, l'inactivation des pompes ATPasiques conduit à une diminution de sa reprise. L'influx de calcium n'est donc pas compensé et on observe une élévation de son taux appelée **surcharge calcique** (171). Ces altérations massives en Ca²⁺ activent en conséquence de nombreux systèmes : les protéines kinases Calmoduline/Calcium dépendantes (CaMKs), les Calpaines et forment des complexes Calcium-Pyrophosphate et d'acide urique.

3. Augmentation du taux de Potassium interstitiel

L'interruption du flux sanguin conduit à l'augmentation de Potassium dans l'espace extracellulaire. Dans le cœur, cette accumulation se produit en 15 secondes puis atteint un plateau en 10 minutes. La reperfusion durant ces phases permet une réversibilité du phénomène. La suite est marquée par une reprise de l'accumulation de potassium et une réversibilité partielle (172). De même, au niveau du cerveau, l'ischémie est associée à une augmentation du taux de Potassium extracellulaire.

4. Mécanismes moléculaires de la zone à risque

a) Autophagie et survie

Les tissus hypo perfusés mais non nécrosés correspondant à la zone de pénombre ou à risque et peuvent survivre à l'ischémie pendant un temps. L'autophagie intervient dans leur survie. C'est un des principaux mécanismes de nettoyage avec élimination des organites

endommagés et des agrégats de protéines. **Dans les conditions d'ischémie**, il a en plus une **fonction de survie**. En effet, les acides gras libres et acides aminés produits par la dégradation des organites et de protéines du cytosquelette peuvent être réutilisés dans la synthèse d'ATP et de protéines ribosomales (173). L'augmentation du taux d'AMP secondaire à l'obstruction active des kinases qui permettent l'autophagie. Elle conduira à l'inverse à la mort cellulaire lors de la reperfusion (174).

b) Interruption de la fonction et économie d'énergie

Dans le myocarde, la **perte de la fonction contractile** dans la zone à risque **diminue la demande énergétique** des cardiomyocytes et les préserve plus longtemps de la mort cellulaire (143). Les mécanismes à l'origine de cette perte de fonction systolique impliquent :

- La formation de phosphates inorganiques, par utilisation de la phosphocréatine, qui inhibent les protéines contractiles (175).
- La chute du pH intra cellulaire, qui inhibe la liaison du calcium aux protéines contractiles (176).
- Les gradients ioniques, qui changent rapidement après le début de l'ischémie : la libération du potassium intracellulaire dans l'interstitium conduit à une diminution du potentiel de membrane et diminue l'excitabilité des myocytes ischémiés (143).

De même, dans le cerveau, le **silence électrique diminue la demande énergétique** des neurones et les préserve pendant un temps de la mort cellulaire.

Lorsque l'ischémie perdure, la mort cellulaire progresse au sein de la zone de pénombre. C'est en revanche plutôt l'apoptose qui est à l'origine de cette progression.

c) Mort cellulaire par apoptose

Nous venons de voir que les cellules sont soumises à de nombreux signaux. La mort cellulaire par nécrose ou apoptose dépend de la nature et de l'intensité des stimuli et du type de cellule (130).

Des expériences sur des souris knockout pour la caspase 1 montrent une résistance à l'ischémie-reperfusion (177). La mort cellulaire prioritaire dans la **zone de pénombre** est en effet **l'apoptose**. L'hypoperfusion apporte l'énergie permettant la libération des signaux d'apoptose. Lorsque l'ischémie perdure, la diminution du taux d'énergie et l'inhibition de la synthèse de protéine peuvent cependant conduire à une continuité entre l'apoptose et la nécrose (156).

Parmi les mécanismes de l'apoptose, on distingue ceux intrinsèques et extrinsèques. Les extrinsèques impliquent l'activation de récepteurs tels que les Fas, TNF alfa, et TRAIL, conduit à leur trimerization et mène au recrutement de protéines contenant des domaines de mort telles que les FADD et TRADD jusqu'au complexe récepteur. Le complexe signal de mort induite active la protéase caspase 8, elle même active la caspase-3 qui protéolyse de nombreuses protéines

cellulaires et induit la mort cellulaire (1). Les intrinsèques sont surtout induits par les espèces réactives de l'oxygène et seront abordées plus loin.

5. La mise en place d'événements biochimiques exacerbés au cours de la reperfusion

D'autres événements biochimiques se produisent durant l'ischémie. Ils ne contribuent pas à la lésion d'ischémie en soi mais déclenchent, lors du rétablissement de l'apport en oxygène et des éléments figurés du sang, des événements exacerbant la lésion.

Durant l'ischémie, la xanthine déshydrogénase des cellules endothéliales est rapidement convertie en xanthine oxydase. En parallèle, la chute d'ATP conduit à l'accumulation d'hypoxanthine. En l'absence d'oxygène, l'oxydation d'hypoxanthine en xanthine ne se produit pas mais sera réalisée massivement lors de la reperfusion (178).

6. Neurotransmetteurs et ischémie

Les voies de signalements entre neurones font intervenir des neurotransmetteurs dont certains peuvent devenir néfastes lors d'ischémie et participer au développement de la lésion (179).

a) *Glutamate et excitotoxicité*

La défaillance énergétique perturbe le maintien du gradient membranaire ionique : le potentiel de membrane est perdu, les neurones et cellules gliales se dépolarisent. Cette **dépolarisation est dite anoxique** (179).

Les canaux calciques voltage-dépendants s'activent alors et **libèrent les neurotransmetteurs** dans l'espace extra cellulaire. Ceci, associé à un trouble de leur reprise, conduit à des **concentrations extracellulaires toxiques en neurotransmetteurs** (129).

Le **glutamate** est le principal neurotransmetteur de mort neuronale lors d'ischémie. L'inhibition des récepteurs activés par le glutamate permet une neuroprotection chez les modèles murins (179).

Il stimule des récepteurs en aval tels que le récepteur N-méthyl-D-aspartate (NMDA), à l'origine d'un influx massif de Sodium et de Calcium et d'un efflux de Potassium qui entretiennent l'œdème cytotoxique, la surcharge calcique et augmente la demande énergétique des neurones et donc leur défaillance (179).

D'autres neurotransmetteurs sont aussi libérés : la dopamine est également à l'origine de lésions alors que la sérotonine et le GABA sont neuroprotecteurs (179).

b) Les dépolarisations péri infarctus

Nous venons de voir que dans le cœur de la lésion ischémique, des dépolarisations anoxiques se produisent et les cellules ne se repolarisent pas. Du glutamate et du potassium sont libérés dans l'espace extra cellulaire et **dépolarisent à leur tour les cellules voisines.**

La propagation dans le parenchyme cérébral de ce phénomène correspond aux dépolarisations péri infarctus (129). Les cellules de la zone de pénombre et d'oligémie peuvent se repolariser en consommant de l'énergie. En zone d'oligémie, cette dépolarisation s'accompagne d'une augmentation du flux sanguin et donc de l'apport d'oxygène alors que dans la zone de pénombre, la régulation de la perfusion sanguine par la vasomotricité piale est altérée et l'augmentation de la demande énergétique liée à la dépolarisation n'est pas compensée par une augmentation du débit sanguin. Elles deviennent alors progressivement des dépolarisations terminales et conduisent à une augmentation de l'infarctus dans la pénombre (180).

B. Mécanismes sous jacents aux lésions de reperfusion

La reperfusion permet l'apport d'oxygène et de substrats nécessaires au métabolisme aérobie. Elle élimine aussi les protons H⁺ accumulés et normalise le pH. Cependant, elle conduit à la production de ROS et à une majoration des surcharges ioniques puis à l'infiltration de neutrophiles pro inflammatoires dans le tissu.

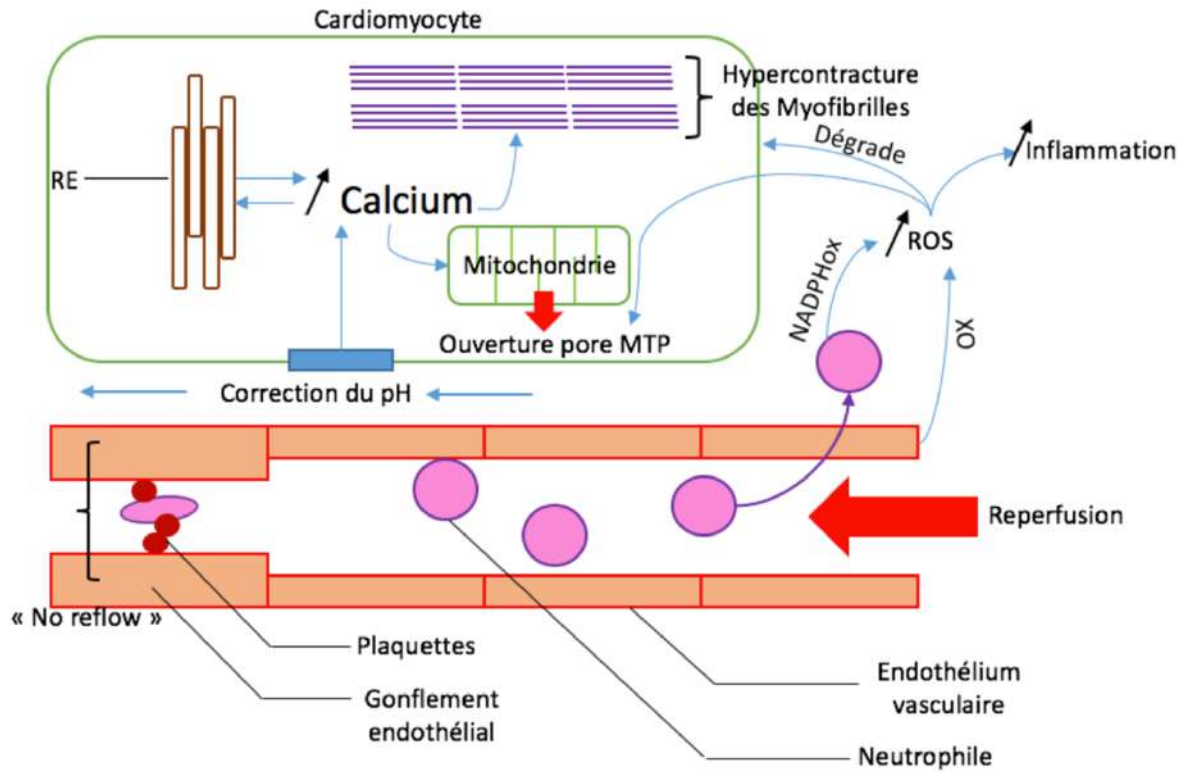


Figure 45 : Modifications moléculaires et cellulaires au cours de la reperfusion d'un cardiomyocyte, réalisée par l'auteur

1. Modifications biochimiques de la reperfusion

a) Exacerbation de la surcharge de calcium et de l'œdème cytotoxique :

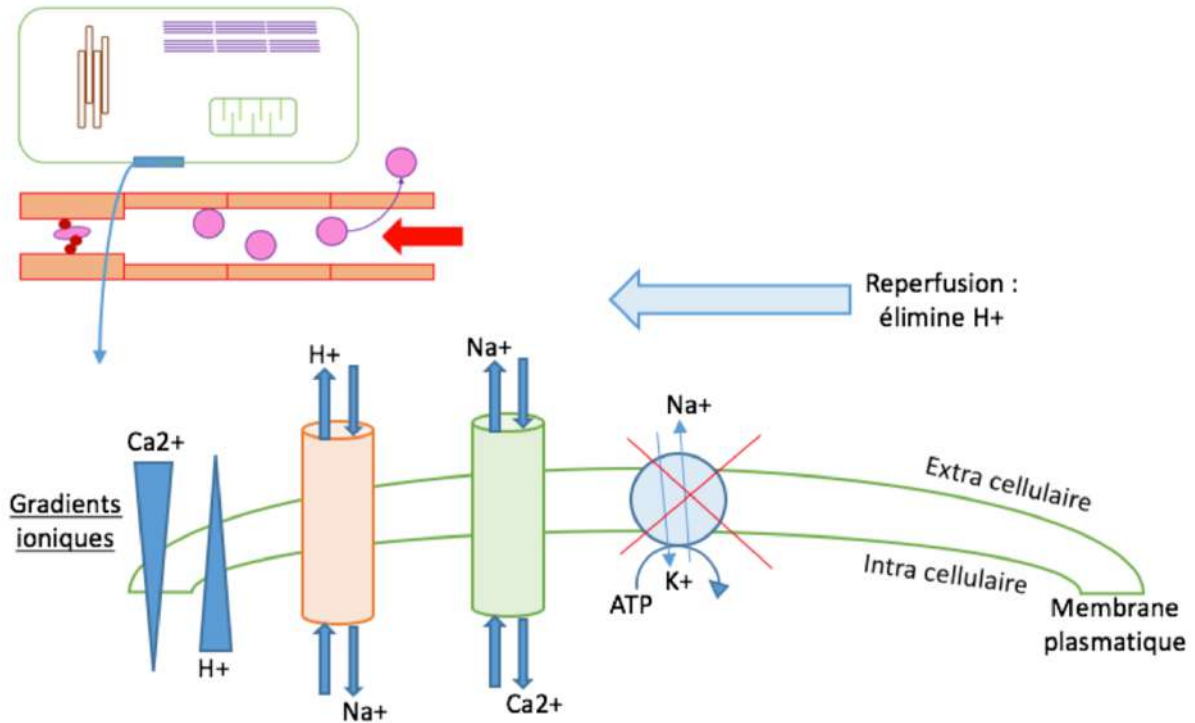


Figure 46 : Détail des échanges ioniques transmembranaires au cours de la reperfusion, réalisée par l'auteur

Lors de la reperfusion, le rétablissement du flux de sang élimine les ions hydrogènes extracellulaires et normalise le pH. Or la quantité intracellulaire était augmentée par l'ischémie. Un gradient s'établit donc et conduit à une sortie de protons et à l'exacerbation de l'activité de l'échangeur NaH. En même temps, l'échangeur Na/Ca fonctionne à l'envers. La reperfusion conduit donc à une **aggravation de la surcharge calcique et de l'œdème cytotoxique** (169,181).

Le dysfonctionnement des pompes NaK ATPasique du sarcolemme et Ca ATPasique du réticulum sarcoplasmique, lésées par l'ischémie, aggrave ce phénomène (163).

Une partie du calcium entre dans la mitochondrie via l'uniporteur mitochondrial du calcium (182). Mais lorsque cette élévation est excessive, cela peut **déclencher l'ouverture du pore de transition mitochondrial (MTP)** qui dissipe le potentiel membranaire mitochondrial et accentue la défaillance de production d'ATP.

Dans le myocarde, cette augmentation du taux de calcium, couplée au retour d'énergie et à la levée de l'inhibition myofibrillaire exercée par l'acidose, activent les myofibrilles et créent une hyper contracture. Associé à la fragilisation du sarcolemme par le gonflement cellulaire, cela conduit à la **nécrose en bande de contracture** décrite précédemment (163).

b) *Stress oxydatif et nitrosatif*

Lors de la reperfusion, le retour de l'oxygène permet le rétablissement du métabolisme aérobie et donc la production d'ATP mais entraîne aussi la formation **d'espèces réactives de l'oxygène (ROS)**. C'est le stress oxydatif.

Le ROS primaire initialement produit dans l'ischémie-reperfusion provient de la réduction de molécules d'oxygène qui forment le superoxide O₂⁻. Dans les conditions physiologiques, il se forme au niveau des complexes I et III de la chaîne respiratoire de la mitochondrie mais sa quantité augmente significativement lors d'ischémie-reperfusion.

La reperfusion permet en effet l'oxydation de l'hypoxanthine, accumulée au cours de l'ischémie, en xanthine. L'oxygène est réduit en parallèle et les ROS sont les sous produits de cette réaction (180). Lors de l'arrivée de neutrophiles, la NADPH oxydase intervient et exacerbe le stress oxydatif. D'autres enzymes comme l'Oxyde Nitrique synthétase (NOS) et l'enzyme cytochrome P450 contribuent aussi à cette augmentation (1).

En plus d'être eux mêmes **cytotoxiques**, ils **peuvent former du peroxyde d'hydrogène, des radicaux hydroxyles**, ou encore des **espèces réactives du nitrogène**. Le caractère dangereux de ces molécules vient du fait qu'elles sont hautement réactives et peuvent être à l'origine d'une peroxydation des lipides membranaires cellulaires et mitochondriaux et de lésions de l'ADN et des protéines endommageant la cellule. Ils modifient de surcroît l'état redox de la cellule et agissent sur les systèmes de signalisation (1).

Ces sont les ROS, la surcharge calcique et l'activation de calpains qui conduisent au phénomène de sidération dans le cœur (183).

Ainsi la reperfusion exacerbe la surcharge calcique et l'œdème cytotoxique et est à l'origine du développement d'un stress oxydatif important. Quelles sont les conséquences de ces altérations sur le fonctionnement cellulaire ?

2. Conséquences cellulaires

a) *Ouverture du pore de transition de perméabilité mitochondrial*

Le pore MTP est un pore présent dans la membrane interne de la mitochondrie dont l'ouverture dépend du calcium. Dans les conditions physiologiques, son ouverture est transitoire, ce qui lui permet d'intervenir dans l'homéostasie du calcium (184).

Lors d'ischémie, la chute du pH protone des résidus histidines du pore côté matriciel et inhibe le pore. Il est gardé quiescent tout au long de l'occlusion (185). Au moment de la reperfusion, l'énorme augmentation de Calcium, potentialisée par l'augmentation de stress oxydatif, induit **l'ouverture du pore MTP**. Sa taille de 1,5 kDa permet aux protons de passer librement, dissipe le gradient, découple les phosphorylations oxydatives et conduit à une chute d'ATP (186). Les protéines (de taille supérieure à 1500 Da) ne diffusent pas et créent un appel d'eau à l'origine

d'un gonflement des mitochondries jusqu'à la rupture de sa membrane externe (184). Elle aboutit à la mort de la cellule non seulement par nécrose mais aussi par apoptose puisque la perméabilisation de la membrane externe de la mitochondrie libère des facteurs pro apoptotiques comme le cytochrome c (187).

b) Fission/fusion mitochondriale

Les mitochondries sont des organites dynamiques soumis à des cycles de fission et de fusion leur permettant de s'adapter aux conditions changeantes de l'environnement cellulaire. Lors d'ischémie-reperfusion, la forte production de **ROS augmente le taux de fission** (188), or, son inhibition protège les cellules de la mort (189), ce phénomène contribue donc à la pathogénèse des lésions d'ischémie-reperfusion.

c) Le stress du réticulum endoplasmique

La reperfusion d'un tissu ischémié est associée à la génération de ROS et la production de cytokines pro inflammatoires qui induisent des modifications au niveau du Réticulum endoplasmique (RE).

Le RE est un organite trouvé dans toutes les cellules où il joue un rôle important dans l'homéostasie du Calcium, le repliement des protéines et la biosynthèse lipidique. Les facteurs de stress perturbent ses fonctions. Ils limitent d'abord la reprise du Ca²⁺ par manque d'ATP (Surcharge de Calcium) puis conduisent à un mauvais repliement des protéines dans l'organite. Les protéines non repliées s'accumulent dans le RE et entraînent un phénomène appelé le **stress du RE**. Il déclenche une réponse appelée réponse des protéines non repliées qui augmente l'expression des chaperonnes, la translation des protéines et la dégradation de protéines non repliées et permet de diminuer le stress du RE. Cependant, si la réponse échoue, la cellule meurt par apoptose (190).

L'ensemble des modifications engendrées par la reperfusion conduisent à l'extension de la mort cellulaire. Dans la phase aiguë de la reperfusion, la mort survient surtout par nécrose. En revanche, l'apoptose est responsable de l'extension des lésions jusqu'à plusieurs jours après la revascularisation.

d) Apoptose

Les caspases sont des protéases qui réalisent l'apoptose. L'utilisation de peptides inhibiteurs spécifiques des caspases réduit significativement la taille des lésions d'ischémie-reperfusion dans le cœur (191) et cerveau (192) et souligne leur rôle dans l'ischémie-reperfusion.

L'activation de protéines de mort Bcl2 est décrite dans les tissus lésés par l'ischémie mais il semble que l'ischémie seule ne soit pas suffisante à leur activation et que la reperfusion soit nécessaire (1).

Le stress oxydatif induit en effet la translocation et l'intégration de membres de la famille des protéines Bcl2 (par exemple : Bax, Bak) dans la membrane mitochondriale externe. Ces dernières la perméabilisent et **libèrent des protéines pro apoptotiques** depuis l'espace inter-membranaire telle que le cytochrome c, Smac/DIABLO, Omi/HtrA2 et l'endonucléase G. Leur voie d'action varie :

- le cytochrome c se lie avec la protéine du cytosquelette apaf1 et forme un complexe : l'apoptosome. Ce dernier active les systèmes de protéases caspase -9. Associé à l'activation de la caspase 8 par la voie extrinsèque, ils activent la caspase 3 qui à son tour fragmente le noyau et le cytosquelette, crée des corps apoptotiques issus de la membrane plasmique et conduit ainsi à la mort de la cellule par apoptose.
- Smac/DIABLO et Omi/HtrA2 activent quant-à-elles les caspases par séquestration ou inhibition des protéines inhibitrices de caspases
- L'endonucléase G fragmente l'ADN (156).

3. Le rôle double de l'inflammation

L'ischémie-reperfusion myocardique est à l'origine d'une inflammation. Tout d'abord, la nécrose conduit à la libération par les cellules lésées de facteurs intracellulaires, appelés **motifs moléculaires associés aux dégâts** (DAMPs), normalement cachés de la reconnaissance du système immunitaire (193) et qui activent la réponse inflammatoire. On peut par exemple citer la cardiolipin dont la sortie active le système du complément (194) ainsi que des fragments de fibronectines ou de heat shock protéines qui activent les Toll Like Receptor et permettent une réponse inflammatoire par le système du facteur nucléaire NF kB (195). De plus, l'hydrolyse d'ATP conduit à une **augmentation du taux d'adénosine** et la reperfusion conduit à la formation de **ROS**. Tous ces éléments stimulent les mastocytes présents qui libèrent l'histamine et la cytokine TNF alpha préformées, ce qui conduit à l'activation de chémokines et à la synthèse de cytokines par les cellules locales et entraîne une **cascade de cytokines pro inflammatoires** (196).

Celles-ci activent ensuite des selectines qui permettent **l'adhésion des leucocytes circulants** aux veinules post capillaires montrant ces caractéristiques de stress. Puis, des intégrines permettent une lésion ferme aux cellules endothéliales et les globules blancs migrent au travers des vaisseaux dans le tissu. Cette migration participe au dysfonctionnement de la barrière micro vasculaire (196).

Les neutrophiles activés par les cytokines puis extravasés génèrent des enzymes dégradant les cellules mortes de l'infarctus. Cependant, ils peuvent participer à l'obstruction de micro vaisseaux et produisent des ROS, des facteurs chémotactifs et des niveaux toxiques de NO qui se répercutent sur les tissus environnants et **participent à l'exacerbation de la lésion** (143).

Les monocytes sont ensuite attirés par les chémokines et se différencient en macrophages permettant d'une part la phagocytose des débris cellulaires et d'autre part la production de cytokines et facteurs de croissance favorisant la fibrose et l'angiogenèse (143).

4. Dysfonctionnement endothélial et œdème interstitiel

a) *Dysfonctionnement endothélial*

L'ischémie-reperfusion, à travers les médiateurs libérés (ROS, cytokines, chémokines, histamine, facteurs de croissance etc...) provoque la phosphorylation des jonctions serrées et adhérentes et la formation de ponts actine-myosine qui créent une contraction du cytosquelette. Tout cela conduit à la formation d'écarts entre les cellules endothéliales adjacentes et entraîne une **hyperperméabilité paracellulaire** (197).

b) *Développement d'un œdème interstitiel*

A l'inverse de l'œdème cytotoxique apparu précocement lors d'ischémie, l'œdème vasogénique semble se manifester plus tardivement. Il se développe au niveau **vasculaire** avec une sortie de l'eau intravasculaire vers le milieu interstitiel. Un certain degré de perfusion semble cependant nécessaire à l'établissement du phénomène (198). C'est aussi **la reperfusion** qui, par la suite, **aggrave** les lésions vasculaires et donc l'œdème (199).

Dans les stades précoces, on observe une fuite de Sodium. Puis, des altérations structurelles conduisent à une défaillance plus grossière de la paroi vasculaire avec la fuite des protéines sériques dans le tissu (170). L'endothélium a un rôle central dans ces événements : la pinocytose est augmentée au début et absorbe le fluide extra cellulaire puis les jonctions serrées se déstabilisent et les liquides diffusent (200).

La localisation du cerveau au sein de la **boite crânienne, incompressible**, participe à l'expansion de l'infarctus lors de l'apparition de **l'œdème**. Le gonflement cérébral secondaire à l'œdème peut **comprimer les tissus adjacents**, diminuer la pression de perfusion locale et favoriser l'expansion de l'infarctus (201).

5. Etat pro thrombogénique

Dans les conditions physiologiques, l'oxyde nitrique dérivé de l'endothélium stimule la vasodilatation. Sa réaction avec les ROS et la diminution de son expression lors d'ischémie-reperfusion diminuent sa concentration, ce qui entraîne une **vasoconstriction**. De surcroit, l'ischémie-reperfusion conduit à l'accumulation sur les cellules endothéliales de fibrinogène qui permet **l'adhésion des plaquettes** via les récepteurs ICAM- 1 et Iib/IIIa et conduit à leur **agrégation** (202). Les stimuli **pro inflammatoires et apoptotiques libèrent, de plus, des microparticules** dérivées de la membrane plasmique qui ont une activité pro-coagulante forte (203). Tous ces éléments favorisent un **état pro thrombotique** qui, associés au **gonflement endothélial**, peuvent créer un **échec de reperfusion** des tissus préalablement ischémié lors de la revascularisation : le « no reflow » (204).

6. Evolution chronique

a) Cicatrisation myocardique

L'inflammation et **l'infiltration de leucocytes** permet **l'élimination des cellules infarciées**. C'est en revanche la **diminution** de l'inflammation et l'infiltration de fibroblastes puis leur différenciation en **myofibroblastes** qui permet le remplacement du tissu de granulation inflammatoire par une **cicatrice acontractile faite de collagène** (143). Des signaux, telle que l'interleukine 10, libérés par les macrophages, les monocytes et les lymphocytes permettent cette transition (143). C'est également la phase durant laquelle l'angiogenèse se met en place et permet l'apport en oxygène et en nutriments aux cellules actives (143).

b) Activation des astrocytes et gliose réactive cérébrale

Les astrocytes sont des cellules gliales du système nerveux central. Elles participent à la formation des synapses, à leur contrôle, à l'approvisionnement des neurones en énergie et au renouvellement des neurotransmetteurs. Leurs extrémités interagissent aussi avec les cellules endothéliales des capillaires sanguins et participent ainsi au contrôle de la barrière hémato-encéphalique et à la régulation du débit sanguin au sein du système nerveux central (205). Les microglies, sont quant à elles, des cellules immunitaires intervenant dans la synthèse de molécules inflammatoires et la phagocytose.

Tout d'abord, les **astrocytes** contiennent la plus haute concentration en antioxydant du cerveau et protègent ainsi ce dernier grâce à des mécanismes glutathion-dépendants (206). Ensuite, ils interviennent dans la reprise du potassium et du glutamate essentiellement dans la pénombre (39). Ce mécanisme, **protecteur dans les stades précoces**, conduit au **gonflement** de ces cellules 4 à 6 heures après le début de l'ischémie (129), **augmente la pression** intracérébrale, diminue la perfusion vasculaire et augmente donc l'ischémie avant de **s'inverser** et de participer à l'excitotoxicité (207).

En parallèle, de nombreuses molécules, intervenant lors d'ischémie-reperfusion (TNF alpha, IL-6 entre autres) **activent les microglies** essentiellement dans la zone de pénombre, en l'espace de 24 heures (129). Elles se transforment, dans un second temps, en cellules **phagocytaires** et interviennent aussi dans la sécrétion de substances cytotoxiques (NO, ROS, ...) (208)

Ces changements ont lieu dans la périphérie de la lésion et participent à l'établissement de la **gliose réactive**. Ce processus forme une barrière entre le tissu atteint et celui sain. Elle permet une protection de la zone de pénombre en séquestrant l'environnement toxique de la lésion (209) et en contrôlant les mouvements de fluide alors que l'œdème vasogénique se forme (210). Cependant, l'activation des astrocytes et la gliose réactive ont un rôle double. En effet, dans les phases ultérieures, ils inhibent la régénération axonale et le recouvrement fonctionnel (211).

Les mécanismes que nous venons de voir nous permettent de comprendre les similarités et différences qui existent dans les lésions d'ischémie-reperfusion entre l'infarctus du myocarde et l'AVC. Ils sont aussi parfois la cible des nouveaux essais thérapeutiques. L'étude de ces derniers

nécessite notamment de pouvoir suivre la lésion chez les modèles murins. L'histologie est intéressante mais ne permet pas un suivi répété sur un même animal. L'imagerie permet, en revanche, un suivi dans le temps. Cela illustre l'importance de pouvoir identifier les lésions d'ischémie-reperfusion par imagerie complémentaire chez les modèles murins. Cette problématique s'inscrit de plus dans la prise de décision thérapeutique en clinique où déterminer l'étendue de l'infarction par rapport à la zone à risque/pénombre évalue le potentiel thérapeutique d'une reperfusion.

VI. Importance de l'imagerie dans la prise en charge thérapeutique

Les expériences suivies au laboratoire CARMEN identifient l'infarctus et la zone à risque par des colorants *ex vivo* qui nécessitent l'euthanasie du modèle. Ils ne permettent pas le suivi longitudinal d'un même animal et l'évaluation de traitements nécessite alors d'augmenter le nombre d'animaux utilisés.

L'imagerie, à l'inverse peut être réalisée sur des animaux vivants. Elle est souvent non invasive et peut être répétée à plusieurs reprises sur un même animal au cours du temps. Pour évaluer les lésions d'ischémie-reperfusion, elle doit remplir plusieurs critères :

- Elle doit permettre de confirmer la lésion d'ischémie-reperfusion. En effet, à l'inverse de l'infarctus du myocarde qui entraîne des modifications électrocardiographiques biochimiques avec élévation de la troponine ou de la créatine kinase, l'imagerie est **nécessaire au diagnostic de l'AVC** (2).
- Elle doit ensuite pouvoir **identifier l'étendu de l'infarctus** pour évaluer l'efficacité des traitements visant à le réduire (6).
- Enfin, elle doit estimer **la zone à risque ou la zone de pénombre**. L'avantage de cette mesure est double :
 - La zone à risque correspond à la zone viable qui peut être sauvée et sa délimitation intervient donc dans l'évaluation du potentiel bénéfique à la mise en place d'une reperfusion.
 - Son estimation permet de comparer les données en recherche : le rapport de la taille de la zone infarctée sur la taille de la zone à risque permet de s'affranchir des variations interindividuelles. Une étude montre que les souris C57BL6 présentent des infarctus plus grands que les souris SV129 lors d'occlusion de l'artère cérébrale moyenne. La différence s'explique par un territoire d'irrigation plus étendu chez les souris C57BL6 que chez les SV129 (212). Cet exemple illustre l'importance de d'exprimer la taille de l'infarctus par rapport à la zone à risque pour comparer les données de deux souches de souris différentes.

Dans quelle mesure l'imagerie répond-elle à ces critères chez nos modèles murins ? Nous verrons que l'évaluation des lésions cardiaques par échocardiographie et par l'imagerie par résonance magnétique (IRM) donnent des résultats satisfaisants. Puis nous étudierons le décalage entre les données apportées par la Tomographie par Emission de Positons (TEP) et l'IRM pour évaluer les lésions cérébrales.

A. Evaluation de l'infarctus aigu du myocarde chez les modèles murins par imagerie

1. L'examen de référence : l'IRM
 - a) *Obtention d'une image de qualité*

L'évaluation cardiaque requière la délimitation précise des bords du cœur par un bon contraste entre le myocarde et le sang, le suivi complet d'un cycle cardiaque par une haute résolution temporelle et le suivi de l'ensemble du muscle cardiaque par une haute résolution spatiale. La petitesse du cœur murin et la rapidité de ses battements représentent un défi pour cela.

(1) Amélioration de la résolution spatiale

La résolution spatiale est la capacité à distinguer deux éléments côte à côte. La petitesse du cœur des souris nécessite une résolution spatiale 5 à 10 fois supérieure à l'homme (213). De plus, la qualité de l'image et le détail des structures dépendent d'un parasitisme de l'image appelé bruit. L'augmentation du signal de l'image par rapport au bruit permet d'en améliorer la qualité. Plusieurs techniques permettent d'améliorer ces éléments pour évaluer le cœur des modèles murins.

De nombreuses études pré cliniques utilisent des **IRM de haut champ** (4,7 à 11,7 Tesla), ce qui permet d'augmenter la résolution spatiale et le rapport signal/bruit (214). Des détails de 100 à 200 micromètres et un ensemble de 6 à 13 coupes de 1 mm d'épaisseur couvrent le ventricule gauche (215). Cela est néanmoins limité par le manque d'homogénéité du champ et la susceptibilité aux artéfacts accrue qui accompagnent l'augmentation de la force d'un champ magnétique (216). De plus, l'amélioration de la qualité des images nécessite souvent un temps d'acquisition plus long et se fait donc au détriment de la résolution temporelle (215). Des champs compris entre 7 et 11,7 Tesla offrent le meilleur compromis pour l'imagerie cardiaque murine (214).

L'utilisation de **bobine de radiofréquence cryogénique** permet d'améliorer le rapport signal bruit et les détails anatomiques par rapport à un IRM haut champ conventionnel (215).

Enfin, comme le rapport signal bruit dépend de la distance entre l'animal et la bobine de radiofréquence (217), Gilson et coll. (213) maximisent leur signal grâce à des **bobines adaptées à la taille des rongeurs**. Ils peuvent ainsi évaluer l'infarctus, la contractilité et les paramètres fonctionnels du myocarde avec des IRM cliniques de 1,5 à 3 Tesla.

(2) Résolution temporelle

La résolution temporelle est la durée entre l'acquisition de deux images. Elle conditionne la capacité à distinguer deux événements proches dans le temps. La **fréquence cardiaque** des modèles murins (450 à 600 battements par minute) nécessite une **résolution temporelle élevée**, qui peut être obtenue en maintenant un temps d'acquisition aussi court que possible (213), réduit jusqu'à **5 à 10 millisecondes** (218).

De surcroît, les mouvements respiratoires rapides sont à l'origine **d'artéfacts de mouvement**. Il est possible de les limiter en **synchronisant** la prise d'image IRM avec le **cycle cardiaque et la respiration** grâce à un ECG (213) et à des capteurs d'apnée néonatale (219) respectivement. La synchronisation peut également être **rétrospective** : le mouvement cardiaque est reconstruit et sert à la sélection des images (220).

Les avancées technologiques offrent ainsi la possibilité d'utiliser l'IRM chez les modèles murins. Sur quels paramètres nous renseignent-elles ?

b) Détermination de l'anatomie et des paramètres fonctionnels cardiaques

Les IRM adaptés aux modèles murins permettent la visualisation dynamique du cœur. La délimitation de l'endocarde sur des coupes petit axe d'IRM permet de calculer une surface. Lorsqu'elle est multipliée par l'épaisseur de la coupe observée et que les valeurs obtenues pour chaque coupe sont additionnées, il est possible **d'estimer le volume du ventricule** à un moment donné et de calculer **la fraction d'éjection** (221,213).

Ces mesures servent à l'évaluation de la fonction ventriculaire lors d'infarctus mais sont des marqueurs tardifs et globaux. Ils ne renseignent pas sur l'hétérogénéité présente lors d'infarctus.

c) Renforcement en produit de contraste et évaluation de la viabilité du myocarde

Price et coll. (222) comparent la zone hyper intense en IRM T1 après injection de gadolinium à l'infarctus décoloré par TTC chez deux modèles murins d'occlusion coronaire permanente et temporaire. Ils montrent que la **zone hyper intense T1 après administration de gadolinium corrèle étroitement avec l'infarctus** et que cette correspondance est conservée lorsque la taille de l'infarctus varie par l'utilisation de traitement cardio protecteurs comme le pré-conditionnement ischémique ou la cyclosporine (219). La FIGURE 47 illustre la mise en évidence de l'infarctus (en rouge) lors d'utilisation de gadolinium et d'IRM T1 chez un modèle murin.

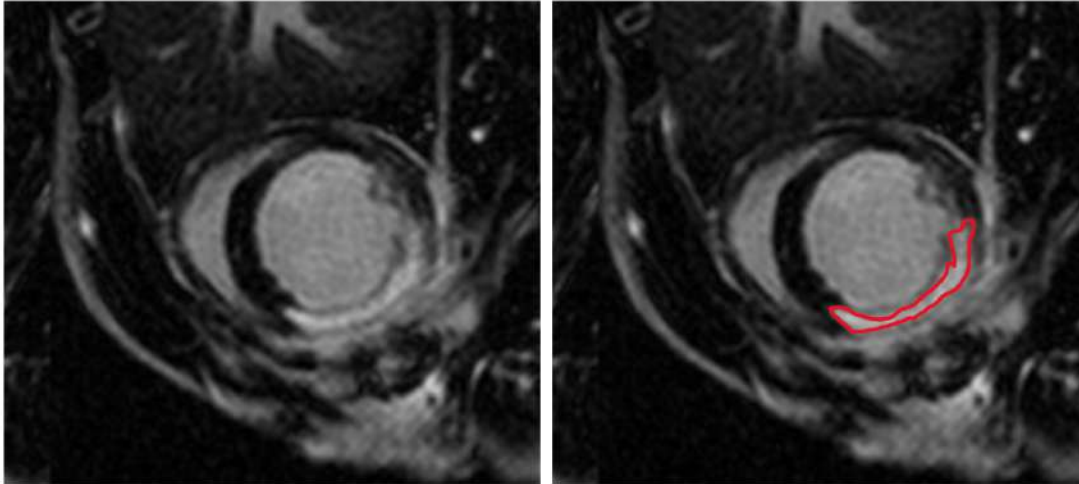


Figure 47 : Image IRM T1 après injection de Gadolinium et occlusion coronaire permanente de 2 jours chez une souris, source : Price et coll. (222).

Le gadolinium est un produit de contraste qui raccourcit le temps de relaxation T1 tissulaire. Son volume de distribution est extracellulaire et restreint à l'espace vasculaire lorsque la perméabilité des vaisseaux est intacte. Lors d'infarctus, l'endothélium vasculaire est altéré et la nécrose cellulaire conduit à une diminution du volume cellulaire au profit de l'espace extra cellulaire. Les concentrations locales en gadolinium augmentent alors et créent un signal hyper intense en IRM T1.

Ainsi l'infarctus peut être évalué par IRM de rehaussement tardif en gadolinium. Nous pouvons alors nous demander comment est évaluée la zone à risque.

d) *Évaluation de la zone à risque*

Lors d'ischémie, un œdème se développe. L'accumulation d'eau modifie le temps de relaxation T2 en IRM et le signal hyper intense T2 secondaire sert à délimiter la zone à risque en identifiant l'œdème. Beyers et coll. (223) montrent en effet que **l'augmentation de signal T2 corrèle avec la zone à risque** définie par histologie lors d'occlusion coronaire de 20 minutes chez des souris.

Cette corrélation entre la zone à risque et le signal hyper intense T2 est retrouvée par Dongworth et coll. (219) lorsqu'ils étudient des souris après ligature coronaire de 30 minutes suivie de 72 heures de reperfusion. Néanmoins, lorsqu'un pré-conditionnement ischémique est appliqué, l'œdème diminue et le signal hyper intense T2 sous-estime significativement la zone à risque. Leur expérience illustre **les limites de l'utilisation de l'IRM T2** pour évaluer la zone à risque.

L'imagerie par résonance magnétique de perfusion peut alors être utilisée chez les modèles murins. Elle est permise par l'utilisation d'un produit de contraste exogène suivi par IRM ou par marquage des spins artériels (224).

Une étude propose l'utilisation de **l'IRM de perfusion par marquage de spin artériel** pour estimer la zone à risque et montre une bonne corrélation entre la zone hypo perfusée à l'IRM et la zone décolorée après perfusion de bleu Evans. Le maintien de cette correspondance lors de pré-conditionnement leur permet de proposer l'IRM de perfusion **comme technique de délimitation de la zone à risque** (219).

Enfin, l'IRM permet d'évaluer de la contractilité du myocarde, parfois utilisée pour estimer les conséquences de l'ischémie.

e) Évaluation de la contractilité du cœur

La contractilité du myocarde peut être évaluée par IRM chez les modèles murins à l'aide du Tagging myocardique et de séquences DENSE.

Le **Tagging myocardique** est une technique non invasive de marquage tissulaire du myocarde par modulation de la magnétisation. Une série d'impulses de radiofréquence entraînent la saturation magnétique locale des protons. Cet effet temporaire crée un motif de ligne ou de grille qui se courbent lors de la contraction du myocarde et permettent de suivre sa déformation comme illustré sur la FIGURE 48 (225). Chez les modèles murins, le Tagging par ligne est deux fois moins long que l'acquisition d'image à grille, il est donc préféré (213).

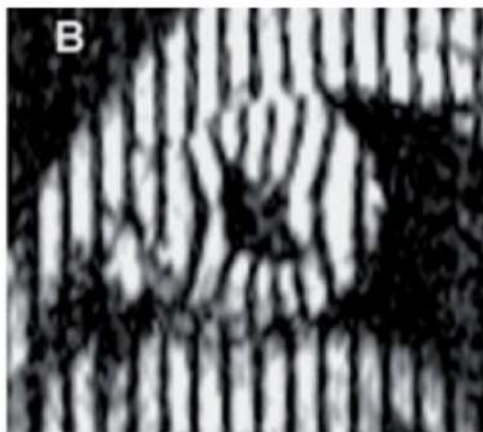


Figure 48 : Image de Tagging du myocarde par IRM chez un modèle murin, Source : Epstein et coll.(214).

Cette méthode est alors utilisée pour évaluer la fonction contractile locale lors d'infarctus. Elle montre une hétérogénéité de la capacité contractile du myocarde en lien avec l'occlusion (213). Elle est plus fiable que l'évaluation de l'épaisseur pariétal pour la mise en évidence d'un myocarde non fonctionnel (226).

De même, **la séquence IRM DENSE** (displacement encoding with stimulated echos) permet aussi l'évaluation du déplacement tissulaire. Gilson et coll. (227) l'utilisent dans un modèle en 3 dimensions chez des souris après une heure d'occlusion coronaire et 24 heures de reperfusion et

montrent la possibilité d'évaluer la mécanique du myocarde lors d'ischémie-reperfusion à l'aide de séquence DENSE.

Epstein et coll. (228) comparent la fonction myocardique étudiée par Tagging à la viabilité observée par rehaussement après administration de produit de contraste. Ils montrent qu'un **dysfonctionnement contractile est aussi présent** dans le myocarde **sain adjacent** à l'infarctus. L'inflammation, la traction, le stress et les charges mécaniques exercées par le myocarde infarcté sur le myocarde sain créent un élargissement de la dysfonction au-delà de la zone d'infarctus (228).

Ainsi, l'IRM remplit les critères énoncés : elle confirme la lésion, évalue la taille de l'infarctus et estime la zone à risque. Elle peut donc être utilisée chez les modèles murins pour évaluer des lésions d'ischémie-reperfusion du myocarde. Néanmoins, c'est une technique assez longue, chère et dont la disponibilité parfois limitée motive le développement de l'échocardiographie murine.

2. L'Échocardiographie

L'échocardiographie est également une technique d'imagerie non invasive permettant de réaliser des mesures répétées. Des fréquences d'ultrasons pénètrent la cavité thoracique et sont réfléchies vers le transducteur lorsqu'elles atteignent une interface d'impédance acoustique différente. Au niveau cardiaque, elle évalue en temps réel l'anatomie, la physiologie et les propriétés mécaniques.

a) Difficultés inhérentes aux modèles murins et solutions échographiques

La petite taille du cœur des souris et la rapidité de ses battements représentent à nouveau un défi pour l'évaluation du cœur par échographie et nécessitent des résolutions spatiales et temporelles élevées.

Des échographes conventionnels avec des **sondes allant jusqu'à 15 MHz** peuvent être utilisés et des **transducteurs de haute fréquence**, atteignant des valeurs de 30 à 60 MHz, permettent d'augmenter la qualité de l'image (229) et d'atteindre une résolution spatiale jusqu'à 100 micromètres et une résolution temporelle de 600 images par seconde (230).

De la même manière que pour l'IRM, le **suivi de la respiration et de l'ECG** (gating) permet une synchronisation des images avec les mouvements respiratoires et le cycle cardiaque afin de réduire les artéfacts et d'étudier le cœur à des moments précis du cycle. L'identification de la fin de diastole et de la fin de systole permet notamment de calculer les fractions d'éjection et de raccourcissement (230).

En plus des difficultés inhérentes à sa taille, la position du cœur des souris diffère de celle de l'homme. Il est plus vertical et l'animal est souvent positionné en décubitus dorsal pour les mesures. Les vues cliniques classiques ne sont donc pas exactement transposables à la souris. **Une vue standardisée** grand axe peut être obtenue au niveau para sternal : elle permet de visualiser l'apex et la chambre de chasse du ventricule gauche sur une même coupe. La coupe petit axe est ensuite obtenue en tournant la sonde de 90° depuis sa position grand axe (231). Classiquement, trois vues petit axe sont réalisées au travers de l'apex, des muscles papillaires et de la base du cœur (230).

L'échographie peut donc évaluer la fonction cardiaque en dépit des difficultés inhérentes à la taille, à la fréquence et à la position du cœur des souris. Plusieurs modes permettent l'étude de la fonction cardiaque lors de l'infarctus du myocarde.

b) Évaluation de la structure et de la fonction globale du myocarde
(1) Le suivi bidimensionnel classique

Quatre modes échographiques principaux peuvent être utilisés pour évaluer le myocarde : l'échographie bidimensionnelle, le mode temps-mouvement, l'imagerie Doppler et l'échographie tridimensionnelle.

L'imagerie en **2 dimensions (2D)** permet de visualiser en temps réel des coupes de myocarde et permet d'évaluer les dimensions du ventricule gauche. Elle sert de point de départ aux autres modes :

- Le **mode temps mouvements (TM)**, grâce auquel les données ultrasoniques d'une ligne unique tracée sur une coupe en 2D sont visualisées en fonction du temps. On obtient alors une courbe avec les mouvements de la paroi en ordonnée et le temps en axis. Ce mode permet une résolution temporelle supérieure à 1 000 images par seconde et donc de visualiser les mouvements rapides du myocarde des souris (230)(232).
- **L'imagerie Doppler**, qui permet de déterminer la direction et la vitesse du flux sanguin.

Ces modes permettent d'acquérir des informations quantitatives tels que les volumes ventriculaires de fin de diastole et de systole, la fraction de raccourcissement, la fraction d'éjection, le débit cardiaque et la masse ventriculaire, utilisés pour évaluer les répercussions fonctionnelles de l'ischémie-reperfusion sur le myocarde (233).

Les calculs se basent sur des modèles géométriques : par exemple, le calcul de la masse ventriculaire à partir du mode temps mouvement repose sur le diamètre ventriculaire au cube et suppose donc une forme géométrique du ventricule. Cependant, bien qu'une corrélation existe dans les conditions physiologiques, son calcul, déterminé par échographie TM, ne corrèle pas avec le poids du ventricule lors d'infarctus (234). L'ischémie-reperfusion remplace une grande partie du myocarde par un infarctus et conduit à un remodelage non uniforme qui s'éloigne des modèles géométriques (233).

D'autres formules calculent les volumes ventriculaires à partir d'images bidimensionnelles et sont plus fiables (232). Elles restent cependant limitées pour évaluer le cœur infarci et des représentations échographiques tridimensionnelles sont plus adaptées (235).

(2) De nouvelles techniques d'évaluation tridimensionnelle

L'analyse de coupes petits axes espacées de 500 micromètres à 1 mm depuis l'apex jusqu'à la base du myocarde construit une représentation tridimensionnelle du cœur des modèles murins (235).

Cette technique permet de visualiser des infarctus plus petits que par des images 2D (235), où, par exemple, de petits infarctus de la paroi antéro latérale du ventricule gauche sont souvent inaperçus sur les coupes para sternales grand axe (236).

De surcroit, la localisation de l'infarctus varie au sein du territoire hypo perfusé selon les individus. Une évaluation par plusieurs plans échographiques examine une plus grande surface de myocarde qu'une coupe bidimensionnelle unique (236).

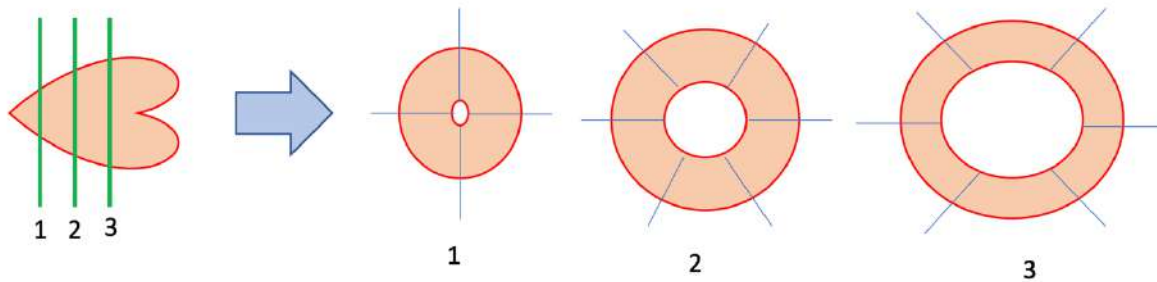
Enfin, Scherrer-Crosbie et coll. montrent, après 30 minutes d'occlusion coronaire de souris, que la mesure du diamètre du ventricule gauche par mode temps mouvement en fin de diastole n'augmente pas alors que la mesure du volume du ventricule gauche en fin de diastole par reconstruction 3D augmente. Cette différence illustre l'évaluation plus fine de l'ischémie du myocarde permise par les reconstructions tridimensionnelles (237).

Ainsi l'échocardiographie permet d'évaluer les diamètres et volumes ventriculaires et les fractions de raccourcissement et d'éjection qui en découlent. Néanmoins, ce sont des marqueurs globaux et tardifs de dysfonctionnement du myocarde. Comme nous l'avons vu précédemment, la fonction contractile du cœur est le premier élément atteint lors d'ischémie et l'échographie permet son étude.

c) *Évaluation de la fonction contractile*

(1) Estimation des mouvements anormaux de la paroi du myocarde

La fonction contractile peut être évaluée par le score de mouvement de la paroi. Trois images petit axe du cœur sont obtenues au niveaux apical, moyen et basal sur lesquels sont délimités 4, 6 et 6 segments respectivement comme illustré sur la FIGURE 49. Un score allant de 1 pour normal à 5 selon le trouble kinétique (akinétique, hypokinétique, dyskinétique et aneurisme) est associé à chacun. La somme est divisée par le nombre total de segment et correspond au score (238).



1 = région apicale, 2 = région des muscles papillaires, 3 = Région basale

Figure 49 : Méthode d'évaluation de score de mouvement de la paroi, réalisée par l'auteur.

Zhang et coll. (239) montrent que des hautes fréquences échographiques offrent une résolution suffisante à l'utilisation de ce score chez la souris et la comparaison avec la taille de l'infarctus par histologie montre une corrélation significative qui illustre son utilité pour évaluer l'infarctus sur un modèle de ligature coronaire permanente **à 1 mois**.

Les études en **post-ischémie immédiat** peuvent présenter des résultats différents. En effet, Kanno et coll. observent que la taille de déficit contractile diminue lors du suivi échocardiographique entre le premier et le huitième jour d'occlusion. Étant donné que la taille à huit jours corrèle étroitement avec l'infarctus en histologie, ils suggèrent que l'évaluation précoce des troubles contractiles le premier jour d'occlusion conduit à une sur estimation de l'infarctus (236).

De même, Scherrer-Crosbie et coll. étudient la contractilité du myocarde après 30 minutes d'occlusion par reconstruction échocardiographique 3D chez des souris et évaluent à 60% le taux de contraction troublée. La comparaison avec le déficit de perfusion évalué à 40% par coloration bleu Evans ou échocardiographie de contraste montre un écart entre le défaut de perfusion et les troubles de mobilité du myocarde dont les causes peuvent être l'attache et la traction du myocarde non ischémie adjacent vers le myocarde infarci (237), la sidération ou encore les limites de la quantification de la dyssynergie (236).

Ces méthodes évaluent de manière qualitative la contractilité du myocarde. Des techniques quantitatives mesurent la déformation locale du muscle.

(2) Le suivi des Strain du myocarde lors d'ischémie-reperfusion

Chez les mammifères, les fibres du myocarde sont organisées différemment selon leur localisation :

- Au niveau sub endocardique, elles forment une hélice orientée vers la droite
- Au milieu de la paroi, elles sont circonférentielles
- Au niveau sub épicaudique, elles forment une hélice orientée vers la gauche.

Ainsi, lors de la contraction, le ventricule gauche se raccourcit longitudinalement, ses parois s'épaississent radialement et la totalité se tord (240).

La déformation des fibres du myocarde est appelée Strain et peut être définie comme la variation de sa longueur (Δl) par rapport à sa forme originelle (L_0) :

$$Strain = \frac{\Delta l}{L_0}$$

Une courbe décrit l'évolution de ce paramètre pour l'ensemble du ventricule (suivi global) ou selon le segment considéré (suivi régional). L'amplitude est liée à la contractilité. Ainsi, au niveau longitudinal, la contraction crée un raccourcissement des fibres, le Δl et donc la courbe de Strain seront négatifs alors qu'au niveau radial, la contraction conduit à l'épaississement des parois myocardiques, Δl et la courbe de Strain seront positifs. L'absence de déformation signe un défaut de contractilité, une inversion de la direction signe une dyskinésie et un décalage temporel entre les valeurs pics de plusieurs courbes signe un asynchronisme au sein du ventricule (241). La dérivée du Strain, c'est-à-dire la vitesse à laquelle il survient, est nommée Strain Rate (241). L'échocardiographie Doppler tissulaire et l'échographie Speckle Tracking permettent l'évaluation de ces paramètres de déformation.

(a) Échocardiographie Doppler Tissulaire

Thibault et coll. étudient la mesure du Strain Rate radial au niveau mi ventriculaire par Échocardiographie Doppler Tissulaire chez des souris après différentes durées d'occlusion et 24 heures de reperfusion. Ils comparent ces valeurs à l'épaississement de la paroi au niveau antérieur et à l'étendue de la nécrose, délimitée par TTC sur une coupe mi ventriculaire. Ils montrent que le Strain rate déterminé par échographie doppler tissulaire est corrélée au taux de nécrose et qu'il est un paramètre plus fiable que l'épaississement pariétal pour identifier une nécrose transmurale (242). Dans une autre étude où un pré conditionnement ischémique est appliqué avant 60 minutes d'occlusion suivies de 24 de reperfusion, Thibault et coll. montrent que le Strain rate déterminé par Échographie Doppler Tissulaire est étroitement corrélé aux variations de tailles d'infarctus par le pré conditionnement et que cette technique échographique souligne plus précocement un dysfonctionnement que l'épaississement pariétal (243).

Cependant, l'échographie tissue Doppler dépend de l'angle entre le faisceau d'ultrasons et la structure d'intérêt, ce qui diminue sa reproductibilité et fiabilité (241).

(b) Échocardiographie de suivi des marqueurs acoustiques (Speckle Tracking)

L'échocardiographie par suivi des marqueurs acoustiques (ou Speckle Tracking) permet l'identification et le suivi d'une tavelure échographique (appelée Speckle) au cours du cycle cardiaque. Cette dernière correspond à une structure précise du myocarde d'aspect granuleux en échographie. Le suivi par Speckle Tracking représente le mouvement tissulaire local et permet l'évaluation des paramètres de déformation. A l'inverse de l'échocardiographie doppler tissulaire, l'échographie Speckle Tracking utilise comme point de référence le myocarde adjacent. Elle est donc indépendante de l'angle de prise échographique (241). Les bords de l'endocarde et de l'épicarde du ventricule gauche sont alors tracés et forment une région d'intérêt dans laquelle les tavelures sont identifiées et suivies au cours du cycle cardiaque, ce qui permet d'évaluer le déplacement et la vélocité correspondante. Dans un myocarde sain, tous les segments sont synchronisés et montrent des vélocités similaires. Lors d'infarctus, le dysfonctionnement contractile crée des vélocités différentes et une désynchronisation (233). Les vues échographiques de la souris, différentes des vues humaines, la petite taille de leur cœur nécessitant une résolution spatiale élevée et le rythme cardiaque rapide, conditionnant le nombre d'image enregistrée par seconde, ont limité la mesure de Strain en recherche expérimentale initialement (244).

Li et coll. (245) montrent cependant la faisabilité de mesure de Strain chez des souris après ischémie-reperfusion avec des appareils spécifiques de haute fréquence (30MHz) et un taux d'image supérieur à 100 images par seconde. Les mesures obtenues présentent une corrélation significative avec les mesures par IRM DENSE, considérée comme méthode de référence.

Peng et coll. (246) montrent de plus qu'un échographe conventionnel avec une sonde linéaire à 14MHz et un taux d'image supérieur à 275 images par seconde permettent de déterminer les Strains circonférentiels et radiaux chez des souris et que ceux-ci reflètent le dysfonctionnement myocardique. Cependant, ils ne corrélaient pas leurs mesures aux techniques de référence comme Li et coll. et évaluent les Strains au niveau global.

Bauer et coll. (244) complètent ensuite leurs découvertes. Ils étudient par échographie des souris contrôles, infarctées après ligature coronaire permanente et infarctées avec traitement aux inhibiteurs de l'Enzyme de Conversion de l'Angiotensine. Ils comparent la mesure de paramètres structurels (diamètres du ventricule gauche) et fonctionnels (fractions de raccourcissement et d'éjection) par échographie conventionnelle (2D et mode TM) et par échocardiographie Speckle Tracking. Ils montrent ainsi que cette dernière est une méthode rapide (25 minutes), faisable et plus précoce et sensible pour la détection d'une anomalie myocardique puis soulignent la capacité de l'échocardiographie Speckle Tracking à quantifier la fonction cardiaque au niveau régional.

Une limite de l'échocardiographie Speckle Tracking est la qualité de l'image. Elle doit être suffisamment satisfaisante pour permettre le Tracking du myocarde (241) et peut être limitée en imagerie murine. De plus, le caractère tridimensionnel des mouvements cardiaques provoque inévitablement le déplacement des éléments anatomiques repérés hors du plan de coupe bidimensionnel suivi (241). Des techniques d'échocardiographie par suivi 3D des marqueurs acoustiques solutionnent ce problème.

L'échocardiographie adaptée aux modèles murins permet de suivre le myocarde en temps réel. Des modes comme l'échographie Doppler tissulaire ou le Speckle Tracking évaluent de manière précise la contraction du myocarde et distinguent des différences contractiles régionales secondaires à l'ischémie-reperfusion. Bien qu'ils puissent servir à évaluer les effets d'une occlusion, l'échographie simple ne peut différencier le myocarde nécrosé, sidéré et sain adjacent. L'échographie de contraste devient alors un outil intéressant pour cela.

d) Évaluation de la zone à risque par échographie de contraste

L'échographie de contraste se base sur l'utilisation de micro bulles qui se mélangent au sang. Elles dispersent les ondes d'ultrason et leur présence est associée à une augmentation de l'intensité du signal (247). En raison de leur capacité à rester entièrement dans l'espace intra vasculaire, les micro bulles utilisées comme agents de contraste échographiques sont des marqueurs du flux sanguin et permettent une évaluation non invasive de l'intégralité micro vasculaire (248).

Scherrer-Crosbie et coll. comparent le déficit de perfusion évalué par échocardiographie de contraste à la zone à risque définie injection post mortem de bleu Evans chez des souris après occlusion coronaire aiguë. La comparaison décrit une corrélation étroite et met en évidence la faisabilité et fiabilité de **l'évaluation de la zone à risque par l'échographie de contraste** chez les modèles murins d'occlusion coronaire (247).

Dourado et coll. (248) complètent leurs découvertes : ils concluent également à la capacité de suivre la zone à risque par échographie de contraste lors d'occlusion et précisent de plus que les micro bulles peuvent **évaluer l'infarctus lors de reperfusion** et ainsi différencier le myocarde nécrosé de celui en sidération.

Cependant, l'échogénicité des micro bulles est inversement proportionnelle à leur diamètre et est formulée pour des appareil de faible fréquence (2-5 MHz) (249). Les appareils d'ultrasons de haute fréquence utilisé pour l'imagerie des modèles murins diminuent donc la sensibilité des agents de contraste. De surcroit, le contraste de la cavité ventriculaire gauche crée une ombre acoustique qui diminue le signal au niveau de la paroi postérieure. Comme solution à ces problèmes, Alvarez et coll. (249) proposent l'utilisation de micro bulles de diamètre restreint à 3 micromètres et d'une fréquence de 18MHz. Ils montrent que leur protocole permet d'une part

la visualisation du contraste dans tous les segments du myocarde et d'autre part la mise en évidence d'un déficit de signal lors de l'évaluation à 7 jours d'une ligature coronaire permanente chez des souris correspondant à la zone nécrosée après coloration TTC.

3. Comparaison de l'IRM et de l'échocardiographie chez les modèles rongeurs

Stuckey et coll. (250) comparent une méthode d'IRM haut champ (11,7 Tesla) à l'échocardiographie bidimensionnelle avec un transducteur de 12 MHz chez des rats après 10 semaines d'occlusion coronaire permanente. L'étude montre une forte corrélation pour la mesure de paramètres globaux (aires, volumes ventriculaires, fractions d'éjection) entre les deux méthodes. Néanmoins, l'échocardiographie sous-estime l'aire de fin de diastole, le volume d'éjection systolique et la fraction d'éjection, et cela, d'autant plus lorsque la paroi est infarctée. De surcroît, l'IRM présente un meilleur contraste pour l'évaluation des structures et est ainsi plus reproductible. Enfin, le calcul des paramètres globaux par IRM à différents niveaux du cœur montre qu'il existe des différences significatives selon la coupe petit axe de mesure choisie. Cela illustre la dépendance de l'échographie dans la position précise de la sonde où de légères variations de position modifient les mesures.

Ainsi l'échocardiographie est limitée par sa faible fenêtre acoustique, l'interprétation opérateur dépendant et ses calculs de paramètres essentiellement basés sur des modèles géométriques. Néanmoins, elle est plus accessible et plus rapide que l'IRM et peut être utilisée sans sédation. L'anesthésie influence la contractilité du cœur. Elle est souvent utilisée en imagerie pour immobiliser les rongeurs. Pourtant, en comparant l'évaluation échocardiographique de souris conscientes et anesthésiées, Yang et coll. (251) montrent que le pentobarbital ou le mélange Kétamine/Xylazine induisent une bradycardie et une diminution de la fonction cardiaque. Ils mettent ainsi en évidence la difficulté d'interprétation des résultats lors d'anesthésie. Ils montrent la faisabilité d'une évaluation échocardiographique sans sédation lorsque les souris sont préalablement habituées à l'examen. Elle offre ainsi l'avantage de pouvoir être réalisée sur des souris conscientes et de s'affranchir des modifications induites par la sédation.

Bien que l'IRM et l'échographie soient les deux techniques d'imagerie non invasive les plus utilisées pour évaluer les lésions d'ischémie-reperfusion du myocarde des modèles murins, le scanner peut également être utilisé.

4. Le Micro scanner

Sheikh et coll. (252) mesurent les volumes ventriculaires en fin de diastole et de systole chez des souris après occlusion coronaire et comparent les résultats obtenus par échocardiographie et par micro-scanner après injection de produit de contraste. Ils mettent en évidence une corrélation entre les deux méthodes et soulignent la possibilité **d'évaluer les répercussions structurelles** de l'ischémie-reperfusion du myocarde chez les modèles murins par scanner.

Nahrendorf et coll. (253) étudient des images micro-scanner de souris après occlusion coronaire et injection de **produit de contraste** (iopamidole). 20 à 30 minutes après l'injection d'iopamidole, un rehaussement du signal est observé dans le myocarde et la comparaison post mortem avec l'infarctus décoloré par TTC montre que le protocole **met en évidence l'infarctus par micro-scanner.**

Ainsi, des micro-scanners, aux résolutions temporelles et spatiales adaptées à la souris, permettent de mettre en évidence l'infarctus et d'évaluer les paramètres structurels et fonctionnels globaux.

Bilan partiel 10 : Evaluation des lésions d'ischémie-reperfusion du myocarde chez les modèles murins.

- Les techniques d'imagerie sont optimisées pour compenser la petite taille et la rapide fréquence du cœur des souris
- L'IRM évalue :
 - L'infarctus par rehaussement en gadolinium
 - La zone à risque par des séquences de perfusion (voire d'IRM T2)
 - La fonction contractile par Tagging ou séquence DENSE
- L'échocardiographie évalue :
 - La fonction contractile par visualisation en temps réel des mouvements de la paroi, par Echographie Doppler tissulaire ou encore par Speckle Tracking
 - L'utilisation de micro bulles de contraste délimite la zone à risque.

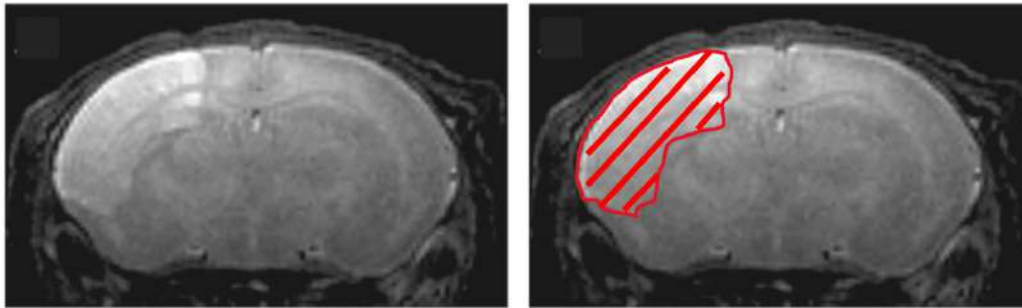
B. Evaluation de l'AVC ischémique aigu par imagerie chez les modèles murins

L'AVC ischémique conduit à une chute de la perfusion cérébrale. La lésion en conséquence est hétérogène et dépend de la sévérité et de la durée de l'ischémie. La zone de lésions irréversibles est la zone cœur. L'évaluation de sa taille permet en recherche de juger de l'efficacité des traitements testés. La zone de pénombre est une zone au métabolisme altéré mais qui peut potentiellement récupérer. Elle évolue vers l'infarctus lorsque l'ischémie persiste et représente le tissu à risque. Elle est ainsi la cible des essais thérapeutiques et conditionne la décision de thrombolyse, d'où l'importance de son estimation. De surcroît, la taille d'infarctus varie entre individus. Le rapport entre celle-ci et la taille de la pénombre permet de s'affranchir des variations interindividuelles lors la comparaison de résultats expérimentaux. Nous étudierons les différentes techniques utilisées pour estimer l'infarctus. Puis nous verrons comment la perfusion cérébrale est évaluée. Enfin nous nous intéresserons aux techniques actuelles et à leurs limites pour apprécier la pénombre.

1. Estimation de l'étendue de l'infarctus

a) *Augmentation tardive de l'intensité du signal en séquence T2 d'IRM*

L'IRM en séquence T2 repose sur le temps de relaxation transverse des spins des protons. Les différents temps tissulaires conduisent à des contrastes variables sur les images IRM.



Zone hyper intense T2 correspondant à l'infarctus

Figure 50 : Coupe transversale en IRM T2 d'un cerveau de souris après ischémie, d'après Doman et coll. (254)

Doman et coll. (254) évaluent des souris après ischémie cérébrale par IRM et histologie. Ils montrent que les zones hyper intenses en IRM T2 corrélient étroitement à la perte neuronale mise en évidence par crésyl violet. Cette corrélation est de plus conservée lorsque l'infarctus varie par application de différentes températures. Ainsi, **l'infarctus peut être évalué par IRM en séquence T2** et correspond à la zone **hyper intense**. Elle se développe dans les heures suivant l'ischémie et sa taille maximale s'observe après 7 heures d'occlusion (255).

Le temps de relaxation T2 dépend du contenu tissulaire en eau. Des auteurs ont donc associé cette augmentation au développement de l'œdème interstitiel (256,257). Cependant, dans un modèle d'occlusion permanente chez des rats, Hoehn-Berlag et coll. (255) décrivent une augmentation de signal T2 malgré l'absence d'œdème vasogénique, suivi par immunohistochimie de l'albumine sérique. Le signal hyper intense T2 est donc non seulement **associé à l'œdème vasogénique** mais aussi **au développement de l'infarctus**.

Il est de surcroît important de noter que l'évaluation de l'infarctus par IRM T2 doit **prendre en compte l'œdème interstitiel qui se développe**. En effet, lorsque l'œdème vasogénique se développe, un afflux d'eau secondaire à la défaillance de la barrière hémato-encéphalique peut conduire à un gonflement cérébral et au déplacement des structures voire à l'herniation cérébrale (258).

Gerriet et coll. (258) montrent que l'hémisphère contenant la lésion se gonfle d'eau et que ce gonflement surestime le volume lésionnel d'environ 20%. Or la détermination exacte de l'étendue de l'infarctus est essentielle pour les études. Une **correction** peut alors être appliquée :

$$\text{volume d'infarctus corrigé} = \frac{VH \text{ controlatéral} - (VH \text{ ipsilatéral} - \text{volulme lésionnel})}{VH \text{ controlatéral}}$$

Où VH correspond à volume de l'hémisphère.

Le moment d'apparition de cet œdème cérébral varie selon les études. Jacewicz et coll. (259) l'observent dès les 3 premières heures d'occlusion alors que Hoehn-Berlarge et coll. (255) ne décrivent un gonflement cérébral qu'après 7 heures d'occlusion. L'augmentation tardive de l'infarctus est associée à la progression de l'œdème cérébral (256).

La principale limite de l'IRM T2 est la mise en évidence **tardive** des anomalies. Minematsu et coll. (260) n'observent un signal hyper intense T2 qu'après 2 heures d'occlusion et 30 minutes de reperfusion chez des rats et Moseley et coll. (261) qu'après 6 à 8 heures d'occlusion permanente chez des chats. De plus, Siemonsen et coll. (257) n'observent **pas de différence** dans l'intensité du signal T2 entre la zone cœur de **l'ischémie et la pénombre**. D'autres séquences sont alors utilisées.

b) Une variation précoce des paramètres de diffusion

Le coefficient de diffusion apparent (ADC) et l'IRM de diffusion (DWI) dépendent de la possibilité des molécules d'eau à circuler librement dans un tissu. Les régions de mouvement moléculaire d'eau restreint apparaissent ainsi hyper intenses sur les séquences de diffusion DWI. Ces deux paramètres sont liés par la formule :

$$IS(b) = IS(b = 0) * e^{-b*ADC}$$

Où IS représente l'intensité du signal et b est le gradient de diffusion, variable.

Des images avec différentes atténuations de signal par application de gradients de magnitudes variables permettent la quantification de l'ADC (262).

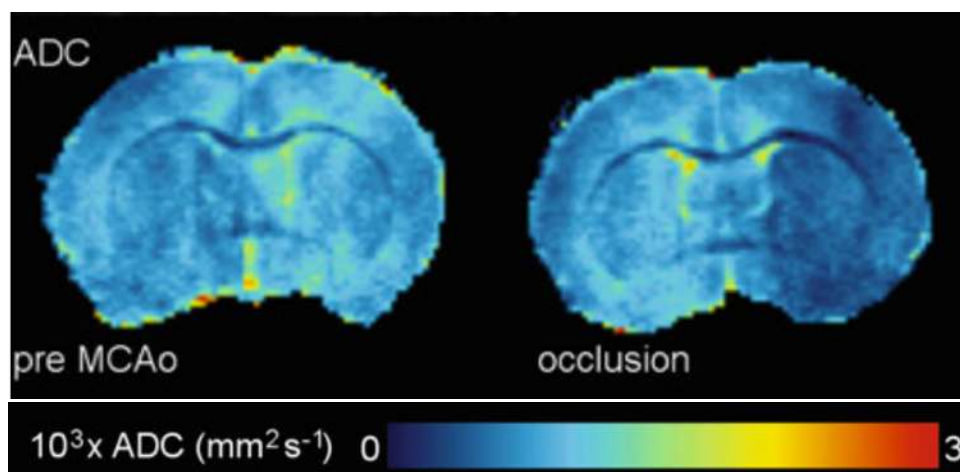


Figure 51 : Carte du coefficient de diffusion apparent avant (à gauche) et après (à droite) occlusion de l'artère cérébrale moyenne chez un rat, Source : Ramos-Cabrera et coll.(262)

A l'inverse des séquences T2, une augmentation d'intensité de signal apparaît **dès quelques minutes d'occlusion** en imagerie de diffusion (263,261).

Minematsu et coll. (260) étudient chez des rats ces images DWI après 1 à 2 heures d'ischémie et 30 minutes de reperfusion et les comparent aux coupes post mortem après 24 heures de reperfusion et coloration au TTC. Les lésions **hyper intenses en DWI** sont **presque identiques en localisation et en taille aux zones décolorées d'infarctus**. Cela montre que les lésions hyper intenses en DWI décrivent de manière fiable la zone cœur de l'ischémie après ischémie-reperfusion (260).

Pour étudier ce que reflètent les lésions en DWI, Moseley et coll. (261) les comparent à la spectroscopie par résonance magnétique et observent une corrélation significative entre l'intensité du signal en DWI et les changements de spectre. La restriction de diffusion associée à l'augmentation de signal en DWI est donc **reliée à l'œdème cytotoxique**. En effet, nous avons vu que l'ischémie conduit à une augmentation du taux intracellulaire de Sodium dont le gonflement cellulaire secondaire limite l'espace extracellulaire et la diffusion locale des molécules d'eau.

Cette association dépend néanmoins du temps d'évolution de la lésion. Nakajo et coll. (264) soulignent le recoupement des œdèmes cytotoxiques, à l'origine de modification du coefficient de diffusion apparent et vasogénique, à l'origine de modification en T2. La séquence de diffusion reste en effet pondérée en T2 et un **hyper signal en T2 peut apparaître sur l'image DWI** sans diminution de la diffusion (265). Cela souligne l'importance d'associer l'ADC pour évaluer l'œdème cytotoxique.

En plus de mettre en évidence une concordance entre les lésions hyper intenses en DWI et l'infarctus décoloré par TTC, Reith et coll. (266) observent que la lésion hyper intense en imagerie de diffusion n'évolue plus après 3 heures d'occlusion permanente chez des rats de souche Sprague Dawley. Cette fenêtre temporelle est utilisée dans plusieurs études. Bardutzky et coll.

montrent néanmoins que cette évolution temporelle n'est pas retrouvée chez des rats Wistar Kyoto et soulignent l'importance de la souche dans l'évolution de la lésion (267).

L'ADC est un paramètre quantitatif. Il diminue graduellement depuis la périphérie vers le centre de la lésion lors d'occlusion (268). Selon sa valeur, la taille de la lésion qu'il définit varie. Son utilisation pour estimer le trouble **nécessite donc de définir un seuil**. Olah et coll. (268) montrent qu'un seuil de diminution d'ADC de 77% est associé à un appauvrissement en ATP observé par bioluminescence. Hoehn-Berlag et coll. (255) comparent les zones définies par différents seuils d'ADC lors d'occlusion permanente de 7 heures à l'infarctus après coloration histologique. Ils montrent que la zone dont l'ADC diminue de 80% par rapport à sa valeur controlatérale correspond étroitement à l'infarctus. De même, Meng et coll. (269) comparent les seuils d'ADC à 3 heures d'ischémie avec l'infarctus décoloré par TTC et définissent un seuil d'environ 70% par rapport à l'hémisphère controlatéral. Ainsi la valeur d'ADC en dessous de laquelle l'infarctus devrait se développer **varie selon les études à une diminution entre 80 et 70%** par rapport aux valeurs pré-occlusives ou controlatérales.

Enfin, si l'on compare la taille des lésions avant et après reperfusion pour une durée d'occlusion d'une heure, on remarque que le signal hyper intense en DWI diminue en taille après revascularisation (260). De Même, Meng et coll. (269) observent aussi une réduction de la zone d'hypo signal ADC de 35% lors de reperfusion après 1 heure d'occlusion chez des rats. Cela suggère que lors d'occlusion courte, l'IRM de diffusion présente un **caractère réversible partiel** et met en évidence à la fois le cœur ischémique mais aussi une partie de la zone de pénombre (260). Cette diminution n'est pas rapportée pour des durées d'occlusion supérieures et la zone persistante en DWI après reperfusion est presque identique à l'infarctus (260).

L'imagerie de diffusion et le coefficient de diffusion apparent sont les techniques les plus utilisées chez les modèles murins pour évaluer le cœur ischémique dans les stades suraigus (270). La possibilité d'une réversion du signal observé et la dépendance en seuils d'ADC pour définir cette zone sont les principales limites de cette technique pour l'évaluation de l'AVC. Des changements en IRM T1 se produisent aussi, bien que cette séquence soit moins utilisée chez les modèles murins pour le suivi de la progression de l'infarctus.

c) Imagerie séquencée T1

Barber et coll. (271) observent une **augmentation précoce de l'intensité du signal T1** dès 1,5 heure d'occlusion ou 30 minutes d'occlusion et 1 heure de reperfusion chez des souris. Ils associent ce signal au développement d'un œdème cérébral, à la chute de la perfusion sanguine et aux variations du taux de saturation local de l'oxygène. Cette séquence reste peu utilisée chez les modèles murins (262)

En revanche, son association avec un produit de contraste, tel que le Gadolinium-DTPA, met en évidence l'augmentation de perméabilité de la Barrière Hémato-Encéphalique après ischémie-reperfusion chez des modèles murins (272).

d) Évolution hémorragique

L'AVC ischémique peut évoluer en hémorragie. Cette évolution lésionnelle peut être suivie par IRM T1 après injection de produit de contraste ou par des séquences T2*.

Knight et coll. (273) étudient l'intensité du signal T1 après injection de Gadolinium-DTPA chez des rats durant des durées variables d'ischémie puis à 1 et 24 heures de reperfusion. Ils décrivent un renforcement du signal après reperfusion et injection de Gadolinium-DTPA dans des régions compatibles avec les pétéchies en histologie à 24 heures. De plus, la vitesse de prise de contraste semble correspondre à la sévérité de l'hémorragie. Cela illustre la possibilité d'utiliser le Gd-DTPA pour prédire le développement d'hémorragie dans les 24 heures de reperfusion.

L'identification de la transformation hémorragique est importante pour améliorer la sélection des patients pour la thrombolyse (274).

e) Dépolarisations anoxiques et IRM renforcée en Manganèse

L'ischémie cérébrale conduit au développement de dépolarisation anoxique. L'ouverture des canaux calciques voltage-dépendant augmente l'influx de calcium neuronal dans le cœur ischémique de la lésion.

Inoue et coll. (275) utilisent la capacité du Manganèse (Mn) à entrer dans les cellules nerveuses par les canaux calciques et à s'y accumuler pour suivre les zones de dépolarisation en IRM T1. Ils comparent le signal obtenu avec la zone d'ADC inférieur à 80% et l'histologie après occlusion par des macrosphères. L'IRM avec Manganèse délimite une zone de taille inférieure à celle d'ADC bas et correspondant à la nécrose observée en histologie. Cette zone **pourrait ainsi mieux délimiter le cœur ischémique** que la zone d'ADC diminuée qui, comme nous l'avons vu, contient une partie de la zone de pénombre.

Néanmoins, cette technique présente **certains inconvénients**. Elle nécessite une rupture transitoire de la BHE par injection de mannitol, elle ne met pas en évidence la mort cellulaire par apoptose et d'autres dépolarisations que les dépolarisations anoxiques peuvent aussi créer une augmentation de signal (275).

Ainsi, l'évolution rapide de l'AVC conditionne la séquence IRM utilisée pour évaluer le cœur ischémique. Durant la première heure, l'imagerie de diffusion permet une détection plus sensible de ce dernier. 4 à 6 heures après le début de l'ischémie, la meilleure résolution des images séquencées T2 et le développement d'un signal hyper intense permettent son utilisation.

Ces paramètres d'imagerie permettent l'étude dans le temps du volume lésionnel et l'établissement de courbe de croissance du tissu affecté. Le ralentissement, arrêt ou inversion de la courbe permet ainsi d'évaluer l'effet de nouveaux traitements. Cette zone de cœur ischémique se développe au sein d'une zone de déficit de perfusion dont l'étendue peut être évaluée par d'autres techniques d'imagerie.

2. Mesure de la perfusion

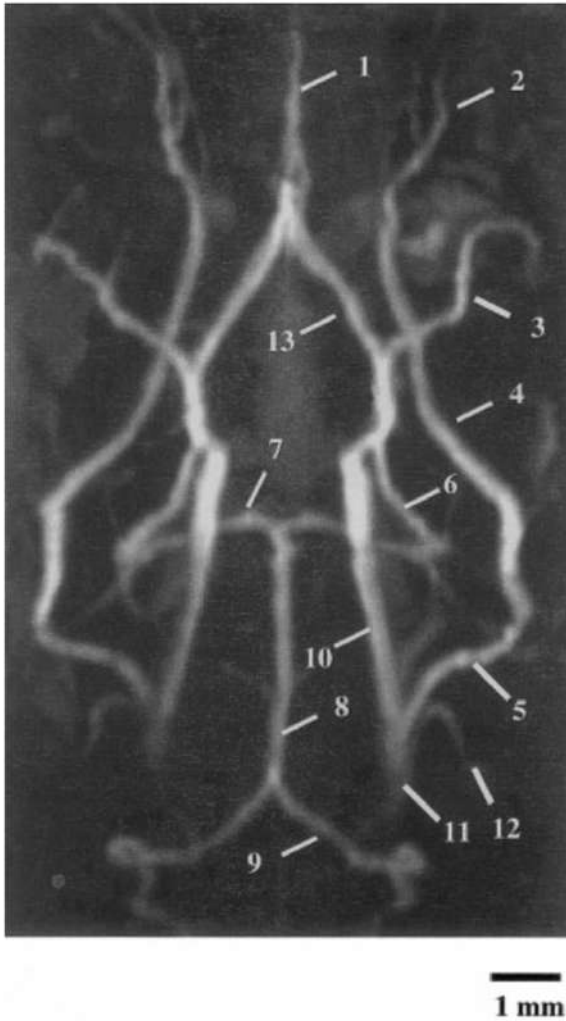
a) *Confirmation de l'occlusion vasculaire*

Le diamètre du filament intra luminal utilisé, la taille des artères cérébrales et la variabilité inter individuelle peuvent être des causes de fluctuation dans l'occlusion de l'artère cérébrale moyenne par l'expérience décrite. L'imagerie permet de vérifier de manière non invasive le succès de l'occlusion pour standardiser les conditions expérimentales et améliorer la reproductibilité de l'expérience.

(1) *Angiographie par résonance magnétique*

L'angiographie par résonance magnétique (MRA) peut être réalisée par (262) :

- Utilisation d'un produit de contraste exogène, restreint au domaine intra vasculaire
- Arterial Spin Labelling (ALS) : les protons de l'eau sont marqués par des radiofréquences et forment un moyen de contraste endogène.



- 1 = Azygos de l'artère cérébrale antérieure
- 2 = Artère ophtalmique
- 3 = Artère cérébrale moyenne
- 4 et 5 = Portions de l'artère ptérygopalatine
- 6 = Artère cérébrale postérieure
- 7 = Artère cérébelleuse supérieure
- 8 = Artère basilaire
- 9 = Artère vertébrale
- 10 = Artère carotide interne
- 11 = Artère carotide commune
- 12 = Artère carotide externe
- 13 = Polygone de Willis

Figure 52 : Angiogramme coronal tridimensionnel par résonance magnétique d'un cerveau de souris, Source : Beckmann et coll. (276).

Elle permet, chez les modèles murins, de **mettre en évidence le polygone de Willis** ainsi que des ramifications de l'artère cérébrale moyenne.

De plus, lors d'occlusion vasculaire, elle confirme l'absence de flux puis sa restauration lors de revascularisation.

Enfin, la comparaison du taux de flux sanguin résiduel par angiographie avec la présence d'un infarctus sur des images T2 d'IRM montre que l'angiographie par résonance magnétique estime de manière fiable un éventuel flux résiduel à l'origine d'une absence d'infarctus (276).

L'angiographie par résonance magnétique permet ainsi **d'évaluer le succès de l'expérience d'occlusion** vasculaire.

(2) Échographie Doppler Trans crâniale

La procédure d'occlusion intra luminale décrite peut produire des degrés d'obstruction variable selon les variations anatomiques individuelles, le type de filament ou encore l'expérience du chirurgien. L'utilisation de l'échographie Doppler Trans crâniale **mesure des changements rapides du flux** sanguin des **artères cérébrales majeures** et carotidienne dès l'obstruction (277). Pouvant ainsi évaluer l'efficacité de l'occlusion, elle est souvent utilisée pour estimer **le succès de l'expérience** chez les modèles murins.

De plus, l'occlusion par un filament intra luminal peut créer un caillot dans l'artère cérébrale moyenne et troubler la reperfusion lors du retrait du matériel (278). L'examen échographique permet d'évaluer l'efficacité de la revascularisation (277).

Enfin, la haute résolution temporelle de l'échographie permet une évaluation de l'hémodynamique cérébrale plus précisément qu'avec l'IRM ou la TEP (277).

Ces techniques informent du succès de l'expérience d'occlusion cérébrale mais ne renseignent pas sur l'étendue du déficit ou sur l'état de perfusion résiduel du territoire occlus par la circulation corticale anastomosée. Le suivi du signal produit par un contraste, exogène ou endogène, permet son appréciation.

b) Mesure de la perfusion cérébrale

(1) L'IRM de perfusion (PWI)

L'imagerie de perfusion est basée sur le suivi dans le temps d'une variation d'intensité de signal induite par un produit de contraste.

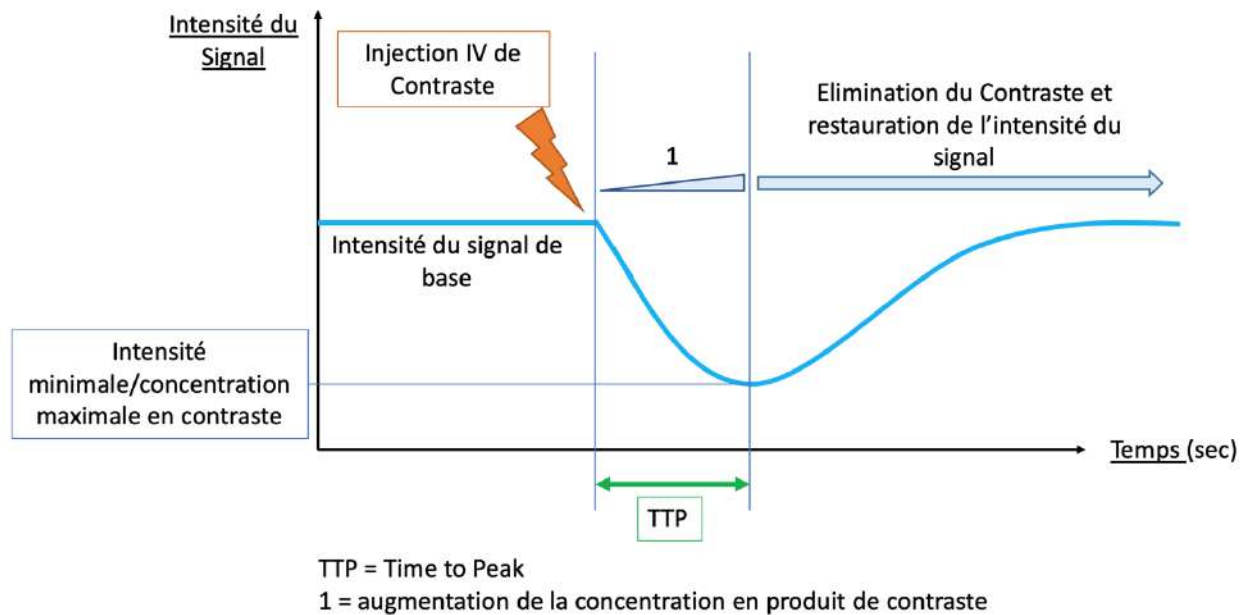


Figure 53 : Schéma de l'évolution de l'intensité du signal en imagerie de perfusion, réalisé par l'auteur

Le gadolinium est une substance paramagnétique essentiellement restreinte à l'espace intra vasculaire. Son administration conduit à une diminution de l'intensité du signal IRM proportionnelle à sa concentration puis à un retour vers le signal basal lorsque le produit de contraste est éliminé. De cette courbe sont calculés plusieurs paramètres. Le Time To Peak (TTP) est le temps nécessaire à l'obtention d'un signal minimal. Ainsi, selon la perfusion tissulaire, la courbe d'intensité de signal IRM selon le temps et les paramètres déduits varient. La représentation de ces éléments voxel par voxel sur une coupe IRM définit les zones d'hypo perfusion (279). Le contraste peut aussi être endogène : les protons sont marqués par radiofréquence, ce qui constitue le marquage des spins artériels (280).

Il existe un **gradient de perfusion** depuis le cœur de l'ischémie jusqu'à la périphérie (259). La délimitation de la zone à risque doit donc **définir un seuil** de perfusion en dessous duquel le tissu évolue vers l'infarctus.

Le déficit de perfusion est créé dès la mise en place de l'occlusion et doit donc correspondre à l'infarctus final pour qu'il représente la zone à risque. Le seuil de perfusion cérébrale est alors diminué jusqu'à ce que le volume qu'il définit corresponde au volume d'infarctus déterminé par histologie (281). Ce principe est utilisé par Meng et coll. (269). Ils comparent les zones de déficit de perfusion définies par différents seuils après 3 heures d'occlusion permanente à la taille d'infarctus définie par TTC après 24 heures d'ischémie. Un **seuil d'environ 57 +/- 11% de réduction** par rapport à l'hémisphère controlatérale ou de 0,30 mL/g/min définit une zone qui concorde avec la zone décolorée après TTC à 24 heures. Cette même méthode produit des résultats similaires (282). Cependant, les deux études sont menées sur des rats de même souche

Sprague Dawley. La comparaison d'une souche hypertensive avec des rats Wistar Kyoto (270) ou avec des rats Sprague Dawley (259) montre une différence significative des seuils de perfusion délimitant la zone à risque. Une légère différence est aussi observée entre les souches Sprague Dawley et Wistar Kyoto (267). Le diamètre plus étroit des artères piales de la souche hypertensive peut contribuer à cette différence (259) mais, outre les variations individuelles en flux collatéral, le type et la durée d'anesthésie, la température corporelle, la pression artérielle, les gaz du sang et la présence d'une sténose extra crâniale modifient aussi le seuil d'hypo perfusion (267,283). Ainsi le seuil de perfusion délimitant la zone à risque est soumis à de **nombreux risques d'inexactitude**.

Lors d'occlusion permanente, la taille de la zone d'hypo perfusion reste relativement constante alors que lors de reperfusion, elle régresse jusqu'à une limite pour laquelle elle se stabilise (269). La persistance d'une zone d'hypo perfusion, malgré la revascularisation est associée au phénomène de no-reflow décrit précédemment (269).

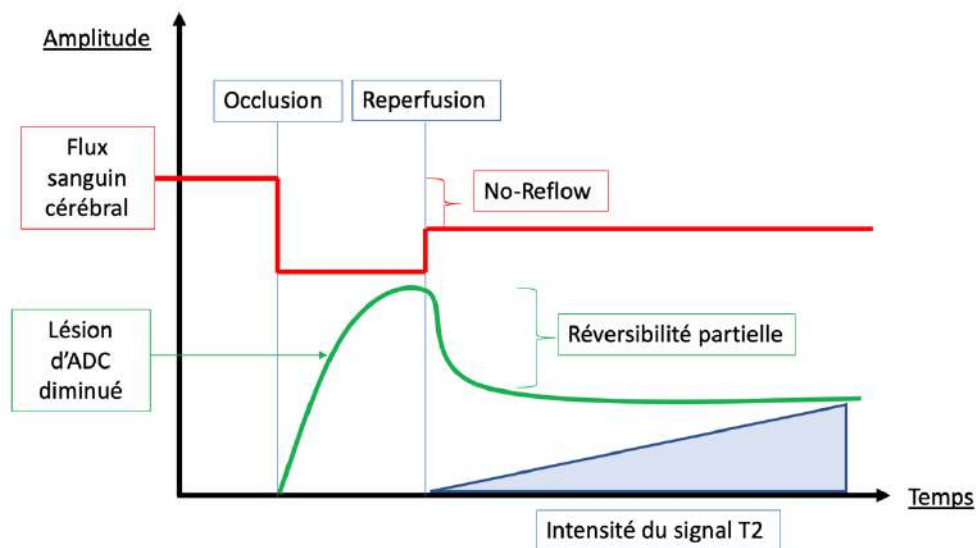


Figure 54 : Schéma de l'évolution du débit sanguin cérébral, de la lésion d'ADC diminué et du signal T2 lors d'ischémie-reperfusion, réalisé par l'auteur

(a) Le scanner avec produit de contraste

Le scanner permet de différencier les AVC ischémiques de ceux hémorragiques (284) mais n'est pas fiable pour l'étude de l'évolution des lésions ischémiques dans les 12 premières heures (285).

En revanche, McLeod et coll. (286) étudient le **scanner avec produit de contraste** après occlusion intra luminale chez des rats et montrent que cette technique d'imagerie permet de **suivre la perfusion cérébrale** sanguine lors d'ischémie murine.

Dans une étude ultérieure (287), ils comparent les seuils de perfusion après 1 à 2 heures d'occlusion à la taille d'infarctus après 24 heures d'ischémie, déterminée par histologie. Le **seuil de perfusion** concordant avec le bord de l'infarctus est considéré comme la valeur limitant la zone de pénombre. Un seuil de 75% de diminution par rapport à l'hémisphère controlatérale est ainsi déterminé chez la souche Wistar Kyoto.

La différenciation de la zone cœur et de la zone de pénombre sur la base de paramètres de perfusion est plus difficile. En effet, nous avons vu que le seuil de perfusion pour lequel un tissu évolue en infarctus dépend du temps d'occlusion.

c) Imagerie par Laser Speckle

La fluxmétrie à Laser Doppler exprime le décalage de fréquence qu'un rayon laser subit lorsqu'il est diffusé par une particule en mouvement. Elle fournit une mesure relative du débit sanguin cérébral par rapport à sa valeur basale et évalue la diminution du débit sanguin lors d'occlusion. Néanmoins, sa résolution spatiale est restreinte (288). Son utilisation est donc souvent limitée à la vérification de l'efficacité de l'ischémie induite.

L'imagerie par laser Speckle correspond à l'émission d'une lumière laser sur le crâne d'un modèle murin. Celle-ci se disperse sur la surface et produit un patron d'interférences dont l'intensité varie avec le mouvement des globules rouges. La diminution locale du contraste est proportionnelle au flux sanguin et produit ainsi des images de cartographie bidimensionnelle du débit sanguin cérébral relatif (289).

Dunn et coll. (289) comparent cette méthode à l'imagerie doppler laser pour des valeurs de flux cérébral étendues. Outre une étroite corrélation entre les deux techniques, l'imagerie Laser Speckle permet une **haute résolution spatiale** de 10 à 25 micromètres et **temporelle** d'une image par seconde. Son étude lors d'occlusion de l'artère cérébrale moyenne chez des rats montre qu'elle suit de manière fiable la diminution relative du débit sanguin cérébral et l'établissement d'un gradient depuis le cœur de la lésion vers la zone d'oligémie bénigne.

Ainsi, cette méthode permet d'évaluer l'évolution du débit sanguin cérébral avec une haute résolution spatio-temporelle. Néanmoins, elle se **limite à une profondeur de pénétration** de 500 à 1 000 micromètres dans le cortex. Pour augmenter cette pénétrabilité, la peau est parfois réclinée et le crâne affiné, ce qui la rend invasive.

L'IRM et le scanner avec produit de contraste estiment à la fois la zone infarctée et la zone hypo perfusée. L'imagerie multimodale, c'est-à-dire l'utilisation combinée de plusieurs techniques est utilisée pour apprécier la pénombre.

3. Estimation de la zone de pénombre

(1) L'examen de référence pour l'évaluation de la pénombre : la tomographie par émission de positon (TEP)

La tomographie par émission de positon (TEP), appelée aussi micro-TEP chez les rongeurs, est une technique **d'imagerie nucléaire** permettant la mesure quantitative de paramètres physiologiques *in vivo*. Elle se base sur l'utilisation d'un traceur radioactif incorporé à une molécule biologiquement active. Après son injection, elle se concentre dans les tissus d'intérêt et sa décomposition libère un positon. Ce dernier est une particule positive de masse identique à l'électron. Il parcourt une faible distance avant de rencontrer un électron et de s'annihiler, ce qui produit deux rayons gamma de direction opposée. Les rayons sont ensuite détectés par l'appareil de TEP qui forme une image reflétant l'activité de la molécule suivie. Par exemple, le 18-Fluore est incorporé au glucose (18-Fluorodeoxyglucose) et marque le métabolisme glucidique des tissus. La mauvaise résolution spatiale de cette technique d'imagerie motive son association fréquente avec des techniques de haute résolution spatiale comme le scanner ou l'IRM (290).

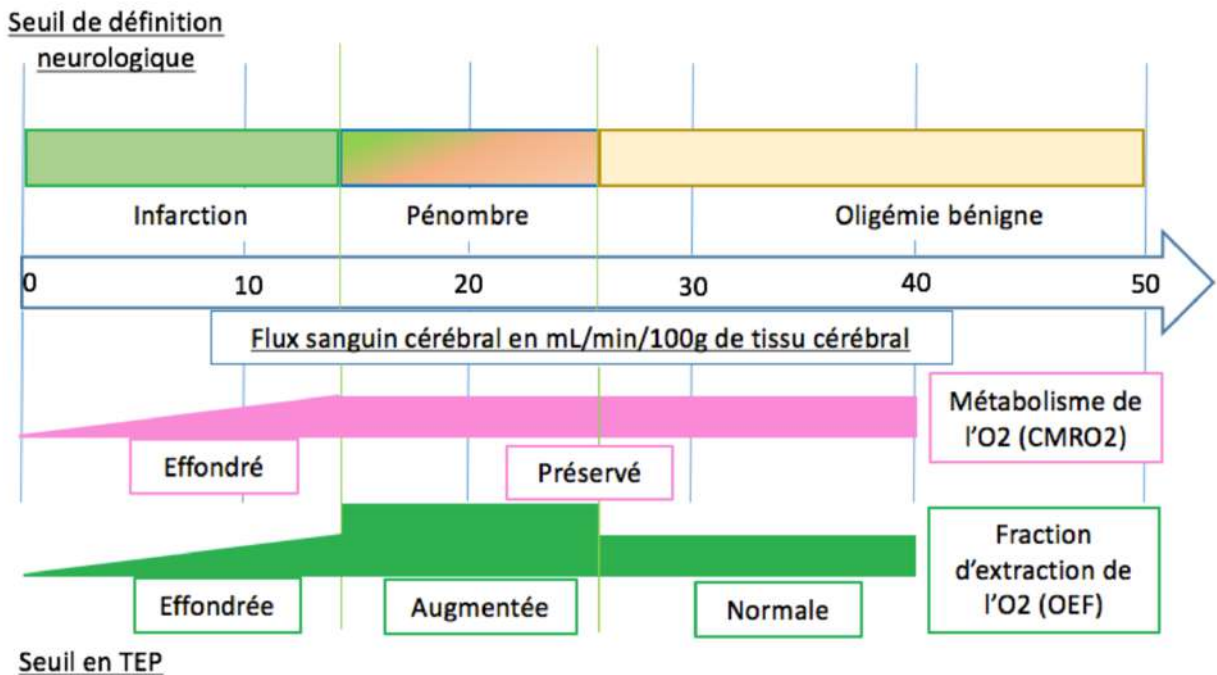


Figure 55 : Correspondance zones neurologiques-changements en TEP, réalisée par l'auteur

L'évaluation des différentes zones nécessite d'avoir accès non seulement à **l'état de perfusion** du cerveau mais aussi à son **état métabolique**. Ce dernier est évalué grâce au métabolisme de l'oxygène qui chute lors d'infarctus (291). La Tomographie par Émission de Positron (TEP) permet, entre autres, d'y accéder et de définir la zone de **pénombre** comme une zone où :

- Le **débit sanguin cérébral** est compris **entre 20% et 40%** de sa valeur normale (en dessous de 20% c'est la zone cœur et au-delà de 40 c'est la zone d'oligémie)

La mesure du débit sanguin isolée ne permet pas une estimation fiable de la zone de pénombre. En effet, il existe des zones de lésions irréversibles où une revascularisation peut avoir lieu et être à l'origine d'une « fausse pénombre » (147). Cette mesure est donc couplée à deux autres :

- Le **métabolisme de l'oxygène**, évalué grâce à la CMRO2 (capacité à utiliser l'oxygène) est **préservé**, alors qu'il est effondré dans la zone cœur
- La **fraction d'extraction de l'oxygène** (OEF) est **augmentée** (en compensation de la baisse de débit) alors qu'elle est effondrée également dans la zone cœur et normale à légèrement élevée dans la zone d'oligémie.

La tomographie par émission de positon permet ainsi l'examen de la pénombre mais c'est un examen coûteux, d'accessibilité parfois limitée, de mauvaise résolution spatiale et nécessitant l'exposition aux radiations. Ces facteurs limitent son utilisation et conditionnent le développement d'autres techniques.

(2) Le décalage entre les données de perfusion et de diffusion (PWI/DWI mismatch)

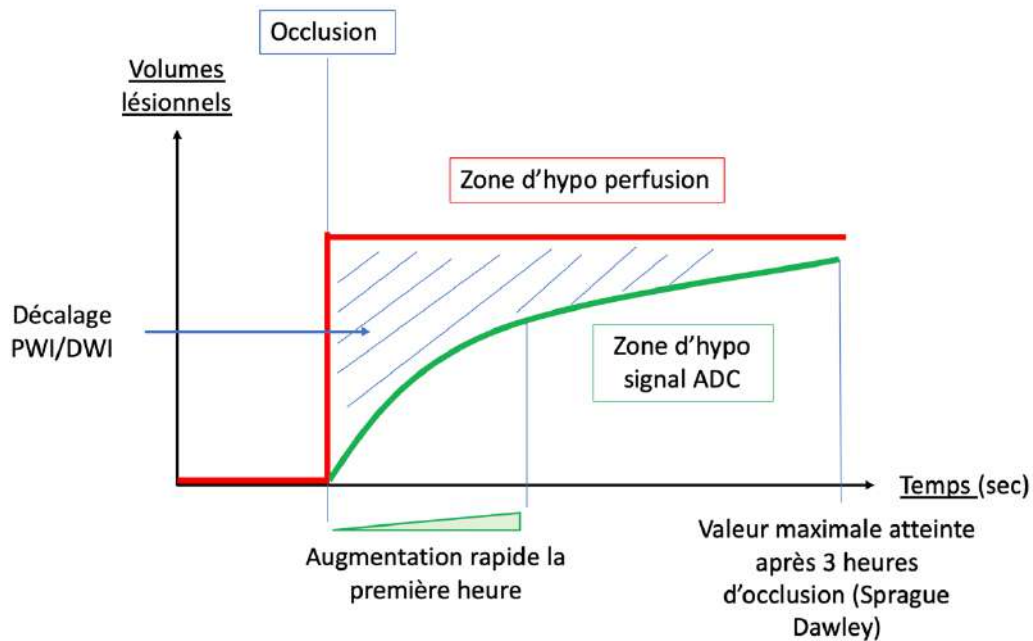


Figure 56 : Schéma de l'évolution des zones de déficit de perfusion, d'ADC diminué et de décalage PWI/DWI au cours de l'occlusion, réalisé par l'auteur

Les seuils de perfusion et d'ADC permettent de définir des zones d'hypo perfusion et d'œdème cytotoxique respectivement. Un **décalage spatial** est initialement observé entre ces deux zones : la zone d'hypo perfusion est plus grande que celle d'œdème cytotoxique. Lors

d'occlusion permanente chez des rats, la taille de la zone d'hypo perfusion reste relativement constante alors que celle d'ADC augmente. Ce décalage diminue donc avec le temps et la zone de diminution d'ADC égale celle d'hypo perfusion après 3 heures d'occlusion (267,269). Ce **décalage** est alors **considéré comme représentant la pénombre**.

Il permet d'illustrer **l'importance de la souche animale utilisée** pour les études sur la pénombre. Bardutzky et coll. (267) étudient l'évolution temporelle de la zone d'ADC anormale chez des rats Sprague Dawley et Wistar Kyoto. Alors que la zone rejoint celle d'hypo perfusion en 3 heures d'occlusion chez les rats Sprague Dawley, sa croissance est plus progressive pour les rats Wistar Kyoto et n'atteint pas la taille d'infarctus complet dans les 3 heures d'expérience. Cette étude illustre la persistance prolongée d'un décalage entre les zones de perfusion et diffusion pour les rats Wistar Kyoto et donc d'une fenêtre d'action plus longue pour l'étude de la pénombre chez ces modèles.

La petitesse des modèles murins conduit à des difficultés de résolution spatiale. L'amélioration de celle-ci nécessite des temps d'acquisition plus longs et se fait donc au dépend de la résolution temporelle. Or, lors d'ischémie cérébrale, la dynamique d'évolution est rapide. Bardutzky et coll. (292) comparent les résultats d'IRM de haute et basse résolution. Ils montrent qu'une haute résolution ne permet pas de différencier les stades précoces et n'apporte pas d'avantage au calcul des volumes lésionnels lorsque ceux-ci sont calculés à partir des seuils.

Bien que cette méthode soit utilisée en recherche, elle présente de nombreuses limites.

(b) Limite de la zone de décalage PWI/DWI

Ce décalage est utilisé en clinique pour évaluer le bénéfice potentiel d'une reperfusion (2). Cependant, l'évaluation de la pénombre par décalage PWI/DWI présente certaines limites.

Tout d'abord, la mesure des zones et donc l'étendu du décalage dépendent des seuils (293) pour lequel il n'existe pas de consensus quant à leur valeur.

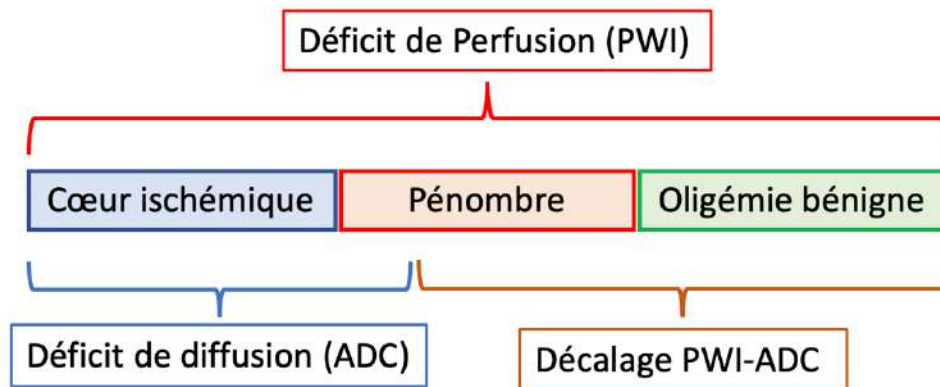


Figure 57 : Schéma des relations entre les données par imagerie de perfusion et de diffusion et les zones ischémiques, réalisé par l'auteur

Ensuite, le décalage ne correspond pas exactement à la pénombre telle que définie par la TEP. En effet, si l'on s'intéresse à l'OEF au sein de cette zone de décalage, on remarque que celui-ci varie. Or il reflète un mécanisme compensatoire dans un tissu toujours viable mais menacé. Il peut être augmenté dans la zone de décalage mais aussi diminué (294).

De plus, comme nous l'avons vu précédemment, la zone d'ADC diminué peut potentiellement recouvrir lors de reperfusion et contient non seulement le cœur ischémique mais aussi des zones de pénombre.

Enfin, lors d'ischémie aiguë chez des rats, certaines zones cérébrales présentent un décalage inversé où un défaut de diffusion est présent malgré un débit sanguin cérébral presque normal (270). Cela correspond à une expansion de la zone de déficit de diffusion en dehors des frontières du déficit de perfusion et peut être secondaire aux dépolarisations péri infarctus (270). Une analyse volumétrique de la pénombre où le volume ADC total est soustrait au volume de déficit de perfusion inclut ces zones de décalage inversé et peut sous-estimer la mesure du décalage par rapport à une analyse coupe par coupe.

Ainsi cette zone de décalage entre le déficit de perfusion et le signal ADC anormal est limitée par l'absence de consensus sur les seuils à appliquer, par l'incapacité de différencier la zone de pénombre de celle d'oligémie bénigne et par la réversibilité partielle de la zone d'ADC anormale lors de reperfusion.

(3) Détermination de la zone de pénombre par coefficient de diffusion apparent

Olah et coll. (268) observent que le seuil d'ADC de développement d'acidose est de 86% lors d'occlusion permanente. Il est supérieur à celui d'appauvrissement en ATP (77%) mais diminue et égale sa valeur lors de reperfusion. L'étude suggère alors que la zone dont l'ADC diminue entre 77 et 86% par rapport aux valeurs contrôles correspond à la zone de pénombre. Néanmoins, ils n'étudient la corrélation entre le volume défini par cette valeur d'ADC et le volume défini par l'acidose qu'après une période unique d'une heure d'occlusion. Li et coll. (295) déterminent le seuil d'ADC à différents temps d'occlusion en dessous duquel le volume calculé concorde avec le volume d'infarctus décoloré par TTC à 24 heures. Ils étudient donc le seuil d'ADC définissant la zone à risque à plusieurs moments de l'occlusion. Leur étude montre que ce seuil varie selon le temps d'occlusion. Malgré la similarité entre les zones étudiées, la régression linéaire ne met pas en évidence de correspondance un à un et illustre la difficulté d'utiliser le seuil d'ADC pour définir la pénombre.

Le suivi de l'expansion de la zone d'ADC permet de **définir rétrospectivement** la zone de pénombre sans utiliser les données de perfusion (270).

Pénombre à l'instant t = zone d'ADC finale – zone d'ADC à l'instant t

Cependant, l'évolution dynamique de la pénombre n'est pas rapportée par cette méthode (270), elle dépend encore de l'établissement de seuil et ne met pas en évidence la pénombre au sein de la zone d'ADC diminué.

Les limites inhérentes à l'imagerie de diffusion et de perfusion font que l'imagerie structurale seule ne permet pas d'identifier l'étendue de la zone de pénombre sur base individuelle. D'autres méthodes permettent une approximation plus proche

(4) Évaluation du métabolisme

La pénombre est non seulement une zone d'hypo perfusion mais aussi une zone d'activité métabolique persistante et défaillante. Des techniques d'imagerie plus récentes se basent sur ce principe pour l'estimer.

(a) Séquence T2* et suivi de la consommation d'oxygène

Les séquences T2* sont sensibles à la susceptibilité magnétique des éléments, c'est-à-dire à leur capacité à induire des variations du champ magnétique local en présence du champ magnétique externe de l'IRM (296). La déoxyhémoglobine et l'oxyhémoglobine ont des susceptibilités magnétiques différentes. La déoxyhémoglobine est substance paramagnétique à

l'origine d'une diminution du signal en T2* alors que l'oxyhémoglobine est une substance diamagnétique à l'origine d'une augmentation de signal T2* (283).

Santosh et coll. (283) et Robertson et coll. (297) basent leurs études sur la conversion de la déoxyhémoglobine en oxyhémoglobine et leur suivi en IRM T2* lorsque le taux de dioxygène inspiré augmente :

- Sous 21% d'oxygène, l'hypoxie secondaire à l'ischémie augmente les taux de déoxyhémoglobine et diminue le signal T2*.
- Sous 100% d'O2 inspiré, la concentration sanguine en oxygène augmente et permet de maintenir un taux d'oxyhémoglobine supérieur aux valeurs basales. Le signal T2* augmente alors.
- Lors du retour à des valeurs basses d'O2, l'oxyhémoglobine est convertie en déoxyhémoglobine dans les tissus métaboliquement actifs.

Leurs études se basent sur les **variations du rapport déoxyhémoglobine/oxyhémoglobine** et donc **du signal T2*** lors d'augmentation de l'oxygène délivré aux tissus, ce qui traduit des **tissus métaboliquement actifs**.

De surcroît, dans la zone de pénombre, le coefficient d'extraction d'oxygène augmente par rapport à la zone d'oligémie bénigne. Lors de variation du taux d'oxygène inspiré, une plus grande variation du rapport déoxyhémoglobine/oxyhémoglobine dans la zone de décalage perfusion-diffusion par rapport aux zones normo perfusée soutient la possibilité d'évaluer le taux d'extraction d'oxygène par T2* et de différencier ces deux zones (283).

Cela leur permet de **mettre en évidence des zones de métabolisme préservé** au sein de la zone d'ADC anormal (283) et de déterminer un volume de tissu à risque qui corrèle mieux avec le volume final d'infarctus que celui défini par le décalage entre perfusion et diffusion (297).

Cette méthode permet ainsi une évaluation plus précise de la zone de pénombre chez les modèles murins.

- (b) Évaluation du taux de lactate et métabolisme anaérobie
 - (i) *Suivi des changements métaboliques par spectroscopie*

Holmes et coll. (298) suggèrent que le métabolisme préservé de la zone de pénombre lui permet de changer depuis un métabolisme anaérobie, secondaire au débit sanguin réduit, vers un métabolisme aérobie lorsque le taux d'O2 augmente. Ils cartographient par spectroscopie le taux de lactate, produit du métabolisme anaérobie, sous 21 et 100% d'oxygène. A l'inverse de la zone cœur de l'ischémie dont le métabolisme est perturbé de manière irréversible et de la zone saine dont le métabolisme reste aérobie, la zone de pénombre montre un taux de lactate différent selon le taux d'oxygène délivré. Ce revirement de métabolisme peut être cartographié par spectroscopie. Cela permet aux auteurs d'évaluer la **pénombre par changement d'oxygène**

via l'air inspiré et par spectroscopie. Cette technique souffre cependant d'une faible résolution spatiale et d'un temps d'acquisition long (298).

(a) IRM séquencée en pH

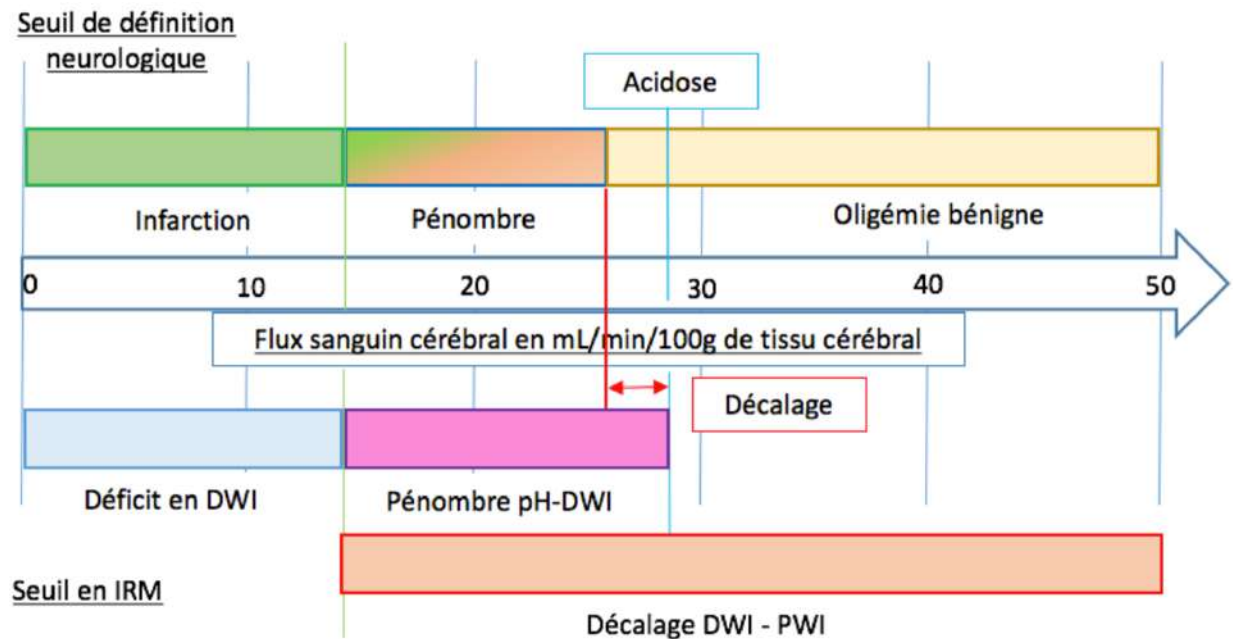


Figure 58 : Comparaison de la pénombre d'acidose, du décalage PWI-DWI et de la pénombre classique, réalisée par l'auteur.

De manière similaire à la spectroscopie, une nouvelle méthode d'IRM se base sur le développement d'un métabolisme anaérobie lors d'ischémie, l'accumulation de lactate et l'acidose tissulaire secondaire. Cette technique utilise le transfert des protons Amides (APT) et donne des **images séquencées en pH (pHWI)** qui permettent de souligner les zones au pH diminué (299). Au sein de la zone de décalage PWI-DWI habituellement utilisée, une zone au pH diminué, plus petite que la zone délimitée en PWI mais plus grande que celle délimitée en DWI, est observée et correspond à la zone appelée de **pénombre d'acidose ischémique** (300). Bien que cette zone soit plus proche de la zone de pénombre classique, des différences persistent. En effet, le métabolisme anaérobie se développe lorsque le débit sanguin cérébral (CBF) devient inférieur à 35 mL/100g/min et le pH diminue lorsque le CBF est inférieur à 28-30 mL/100g/min. Or les troubles fonctionnels tels qu'un aplatissement de l'EEG, définissant le début de la zone de pénombre, n'apparaissent qu'à partir d'un CBF inférieur à 23 mL/100/min (301). La fin de ces deux zones de pénombre est vu lorsque le CBF est inférieur à 10-15 mL/100/min et que des anomalies en DWI apparaissent. Il existe donc un décalage entre la zone de pénombre d'acidose ischémique et la zone de pénombre. Elle permet néanmoins une **approximation plus fidèle** de la zone de pénombre.

Ainsi, la comparaison du volume de déficit de perfusion et de diminution d'ADC et le volume du décalage qui en résulte représentent la technique la plus fréquente pour estimer la pénombre lors de son étude chez les modèles murins. Ses limites et inexactitudes par rapport à la TEP, référence pour l'évaluation de la pénombre, ont conduit au développement de techniques d'IRM évaluant le métabolisme local et dont l'estimation de la pénombre est plus fidèle.

Bilan partiel 11 : Evaluation des lésions d'ischémie-reperfusion cérébrales chez les modèles murins.

- La Tomographie par Émission de Positons est l'examen de référence pour évaluer la zone de pénombre mais son utilisation est limitée par le temps d'acquisition des images et la nécessité d'utiliser des isotopes radioactifs de courte demi vie.
- L'IRM est classiquement utilisé en clinique et en recherche pour évaluer les lésions d'ischémie-reperfusion cérébrale mais présente des limites à chacun de ses niveaux :
 - o Les séquences DWI évaluent l'infarctus précocement mais englobent une partie de la zone de pénombre
 - o L'IRM de perfusion estime la zone hypo perfusée mais englobe une partie de la zone d'oligémie bénigne
 - o Le décalage est souvent utilisé pour évaluer la zone de pénombre mais la comparaison avec la TEP montre qu'il existe un décalage entre l'approximation par IRM et la zone de pénombre
- De nouvelles techniques d'IRM évaluent le métabolisme cérébral lors d'ischémie-reperfusion et évaluent de manière plus fiables la pénombre.

Les faits que nous venons d'étudier nous montrent que l'appréciation *in vivo* des lésions d'ischémie cérébrale suraiguë représente un défi. L'imagerie de diffusion est précoce et corrèle avec le cœur ischémique mais contient une partie de la zone de pénombre. L'hypo perfusion peut être délimitée mais dépend des seuils établis par l'imagerie et varie selon les modèles. Des techniques plus récentes basées sur l'évaluation du métabolisme local complète l'estimation classique de la pénombre par le décalage perfusion-diffusion. Une alternative pour l'évaluation de la pénombre est le modèle décrit par Lythgoe et coll. (278) où l'occlusion de l'artère cérébrale moyenne de rats est partielle. La perfusion reste au-dessus des seuils de défaillance du métabolisme énergétique et permet de mimer une pénombre.

Bilan global 4 : Evaluation de l'ischémie-reperfusion cérébrale et cardiaque chez les modèles murins.

- Les techniques d'imagerie humaine sont optimisées afin d'être applicables à la souris.
- L'IRM et l'échocardiographie évaluent les différentes lésions d'ischémie-reperfusion du myocarde chez les modèles murins.
- La TEP est la méthode de référence d'évaluation des zones de nécrose et de pénombre lors d'ischémie-reperfusion cérébrale. L'IRM est plus souvent utilisée afin d'évaluer les lésions chez les modèles murins mais ne permet qu'une approximation.

CONCLUSION

Les infarctus, que ce soit au niveau cérébral ou au niveau cardiaque sont à l'origine de lésions irréversibles de l'organe ischémié et constituent des urgences absolues. Le traitement consiste à revasculariser l'organe grâce à l'angioplastie ou à la thrombolyse. Cette reperfusion peut elle-même être à l'origine de nouvelles lésions. La comparaison des lésions d'ischémie-reperfusion coronaires et cérébrales n'est pas évidente du fait des différences anatomiques et fonctionnelles des deux circulations ainsi que de la différence de sensibilité à la privation d'oxygène des neurones ou des cardiomyocytes. L'étude de ces lésions passe en partie par la mise au point de modèles murins : en effet, les angioanatomies murines et humaines présentent de fortes similitudes comme un degré d'anastomoses élevé pour le cerveau dans les deux espèces ou faible pour la circulation coronaire. Le travail, qui est essentiellement bibliographique, a été réalisé suite à un stage dans le laboratoire CARMEN. Il consiste à présenter deux méthodes d'occlusion artérielle (une coronaire et une cérébrale) chez la souris et à décrire les lésions d'ischémie-reperfusion qui en résultent. Contrairement à l'infarctus du myocarde, il existe dans l'ischémie cérébrale une zone de pénombre, qui dépend de l'importance de la circulation collatérale cérébrale et qui limite l'identification des lésions par imagerie. Les lésions du myocarde peuvent être facilement identifiées et délimitées grâce à différentes techniques d'imagerie cardiaque alors que pour les lésions cérébrales l'évaluation précise des lésions repose sur une méthode nucléaire, non applicable en urgence et dont l'IRM permet une approximation.

Malgré les nombreuses similitudes, certaines différences peuvent expliquer les différences entre les modèles murins et ce que l'on peut observer en clinique chez l'homme : en particulier l'échec thérapeutique chez l'homme de traitements pourtant efficaces dans les modèles animaux. Les animaux utilisés sont souvent jeunes alors que l'infarctus du myocarde et l'AVC touchent des populations âgées (75% des individus ont plus de 65 ans pour l'AVC) ; les animaux utilisés sont sains et placés dans un environnement contrôlé alors que les patients présentent de nombreuses comorbidités et facteurs de risque. La cause ischémique, qui résulte dans les modèles expérimentaux d'une occlusion vasculaire chirurgicale, diffère de la pathologie spontanée consécutive bien souvent à la formation lente de plaques d'athérome. Enfin, les animaux sont suivis sur des temps courts. De ce fait, on est en droit de se demander si les stratégies thérapeutiques testées protègent directement le cœur et le cerveau de l'ischémie-reperfusion ou si elles retardent simplement l'apparition des lésions au delà de la durée de vie des modèles expérimentaux.

Bibliographie

1. Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, Korthuis RJ. (2012) Cell biology of ischemia/reperfusion injury. *Int Rev Cell Mol Biol.* 298:229-317
2. Collège des Enseignants de Neurologie. Accidents vasculaires cérébraux. Collège des Enseignants de Neurologie. 2016 [cité le 26 août 2019]. Disponible sur: <https://www.cen-neurologie.fr/deuxieme-cycle%20/accidents-vasculaires-c%C3%A9r%C3%A9braux>
3. Inserm. Accident vasculaire cérébral (AVC). Inserm - La science pour la santé. [cité le 26 août 2019]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/accident-vasculaire-cerebral-avc>
4. Fédération française de cardiologie. L'accident coronaire : pourquoi et que faire ? [Internet] [cité le 26 août 2019]. Disponible sur: https://www.fedecardio.org/sites/default/files/image_article/2019-ACCIDENT-CORONAIRE-Web.pdf
5. Mhairi Macrae I. (1992) New models of focal cerebral ischaemia. *Br J Clin Pharmacol.* 34(4):302-308.
6. Lindsey ML, Bolli R, Canty JM, Du X-J, Frangogiannis NG, Frantz S, et al. (2018) Guidelines for experimental models of myocardial ischemia and infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 314(4):H812-H838.
7. Betts J.G., Young K. et al. Chapitre 19 : The Cardiovascular System: The Heart. In: *Anatomy and Physiology.* OpenStax. 2013. p. 823-46.
8. Loukas M, Groat C, Khangura R, Owens DG, Anderson RH. (2009) The normal and abnormal anatomy of the coronary arteries. *Clin Anat N Y N.* 22(1):114-128.
9. Unité de Cardiologie et de Chirurgie Cardiaque Jacques Cartier. Anévrismes et dissections de l'aorte ascendante [Internet] [Consulté le 28/08/2019] Disponible à l'adresse : <http://www.chirurgiecardiaquejacquescartier.com/anevrismes-et-dissections-de-laorte-ascendante/>.
10. Muriago M, Sheppard MN, Ho SY, Anderson RH. (1997) Location of the coronary arterial orifices in the normal heart. *Clin Anat N Y N.* 10(5):297-302.
11. Loukas M, Sharma A, Blaak C, Sorenson E, Mian A. (2013) The clinical anatomy of the coronary arteries. *J Cardiovasc Transl Res.* 6(2):197-207.
12. Pinterest - France [Internet]. Pinterest. [cité 17 sept 2019]. Disponible sur: <https://www.pinterest.fr/pin/360991726365917078/>

13. Garcier J-M, Trogrlic S, Boyer L, Crochet P-D. (2008) Anatomie du cœur et des artères coronaires. *J Radiol.* 85(10):1758-1763.
14. Patel S. (2008) Normal and anomalous anatomy of the coronary arteries. *Semin Roentgenol.* 43(2):100-112.
15. James TN. (1965) Anatomy of the coronary arteries in health and disease. *Circulation.* 32(6):1020-1033.
16. Chassot PG, Bettex D, Dresco P. Rupture papillaire et insuffisance mitrale aiguë [Internet]. In : Précis d'anesthésie cardiaque. 2012 [cité le 26 août 2019]. Disponible sur: <http://www.pac4.ch/chapitre17/Ruptpiliermitr.html>
17. Zimmermann E, Schnapauff D, Dewey M. (2008) Cardiac and coronary anatomy in computed tomography. *Semin Ultrasound CT MR.* 29(3):176-181.
18. Maseri A, Chierchia S, Davies G. (1986) Pathophysiology of coronary occlusion in acute infarction. *Circulation.* 73(2):233-239.
19. Loukas M, Hanna M, Chen J, Tubbs RS, Anderson RH. (2011) Extracardiac coronary arterial anastomoses. *Clin Anat N Y N.* 24(2):137-142.
20. Wartman W., Hellerstein H. (1948) The incidence of heart disease in 2,000 consecutive autopsies. *Ann Intern Med.* 28(1):41-65.
21. Estes EH, Entman ML, Dixon HB, Hackel DB. (1966) The vascular supply of the left ventricular wall. Anatomic observations, plus a hypothesis regarding acute events in coronary artery disease. *Am Heart J.* 71(1):58-67.
22. Spencer JH, Sundaram CC, laizzo PA. (2014) The relative anatomy of the coronary arterial and venous systems: implications for coronary interventions. *Clin Anat N Y N.* 27(7):1023-1029.
23. Ho SY, Sánchez-Quintana D, Becker AE. (2004) A review of the coronary venous system: a road less travelled. *Heart Rhythm.* 1(1):107-112.
24. Micheau A., Hoa D. Angiographie par Résonance Magnétique (ARM) en séquence TOF du cerveau [Internet]. In : IMAIOS. février 2019 [Consulté le 28/08/2019] Disponible sur : <https://www.imaios.com/fr/e-Anatomy/Tete-et-cou/Arteres-de-l-encephale-TOF>.
25. Netter F. section 1 : tête et cou. In: Atlas d'anatomie humaine, 6ème édition. Elsevier. Philadelphie; 2014. p. planche 138-142.
26. Krishnaswamy A, Klein JP, Kapadia SR. (2010) Clinical cerebrovascular anatomy. *Catheter Cardiovasc Interv Off J Soc Card Angiogr Interv.* 75(4):530-539.
27. Bell R, Severson MA, Armonda RA. (2009) Neurovascular anatomy: a practical. *Neurosurg Clin N Am.* 20(3):265-278.

28. Symonds C. (1955) The circle of Willis. *Br Med J.* 1(4906):119-124.
29. Miralles M, Dolz JL, Cotillas J, Aldoma J, Santiso MA, Giménez A, et al. (1995) The role of the circle of Willis in carotid occlusion: assessment with phase contrast MR angiography and transcranial duplex. *Eur J Vasc Endovasc Surg Off J Eur Soc Vasc Surg.* 10(4):424-430.
30. Winship IR. (2015) Cerebral collaterals and collateral therapeutics for acute ischemic stroke. *Microcirc N Y N* 1994. 22(3):228-236.
31. Rutgers DR, Klijn CJ, Kappelle LJ, van Huffelen AC, van der Grond J. (2000) A longitudinal study of collateral flow patterns in the circle of Willis and the ophthalmic artery in patients with a symptomatic internal carotid artery occlusion. *Stroke.* 31(8):1913-1920.
32. Derdeyn CP, Powers WJ, Grubb RL. (1998) Hemodynamic effects of middle cerebral artery stenosis and occlusion. *AJNR Am J Neuroradiol.* 19(8):1463-1469.
33. Krabbe-Hartkamp MJ, van der Grond J, de Leeuw FE, de Groot JC, Algra A, Hillen B, et al. (1998) Circle of Willis: morphologic variation on three-dimensional time-of-flight MR angiograms. *Radiology.* 207(1):103-111.
34. Toriu. (2003) Collateral Circulation. *Stroke.* 34(9):2279-2284.
35. Riggs HE, Rupp C. (1963) Variation in form of circle of Willis. The relation of the variations to collateral circulation: anatomic analysis. *Arch Neurol.* 8:8-14.
36. Brozici M, van der Zwan A, Hillen B. (2003) Anatomy and functionality of leptomeningeal anastomoses: a review. *Stroke.* 34(11):2750-2762.
37. Blinder P, Shih AY, Rafie C, Kleinfeld D. (2010) Topological basis for the robust distribution of blood to rodent neocortex. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 107(28):12670-12675.
38. Duvernoy HM, Delon S, Vannson JL. (1981) Cortical blood vessels of the human brain. *Brain Res Bull.* 7(5):519-579.
39. Toriumi H, Tatarishvii J, Tomita M, Tomita Y, Unekawa M, Suzuki N. (2009) Dually Supplied T-Junctions in Arteriolo-Arteriolar Anastomosis in Mice. *Stroke.* 40(10):3378-3383.
40. Shih AY, Rühlmann C, Blinder P, Devor A, Drew PJ, Friedman B, et al. (2015) Robust and fragile aspects of cortical blood flow in relation to the underlying angioarchitecture. *Microcirc N Y N* 1994. 22(3):204-218.
41. Moody DM, Bell MA, Challa VR. (1990) Features of the cerebral vascular pattern that predict vulnerability to perfusion or oxygenation deficiency: an anatomic study. *AJNR Am J Neuroradiol.* 11(3):431-439.
42. Anderson BG, Anderson WD. (1978) Shunting in intracranial microvasculature demonstrated by SEM of corrosion-casts. *Am J Anat.* 153(4):617-624.

43. Feekes JA, Hsu S-W, Chaloupka JC, Cassell MD. (2005) Tertiary microvascular territories define lacunar infarcts in the basal ganglia. *Ann Neurol.* 58(1):18-30.
44. Luo C, Liang F, Ren H, Yao X, Liu Q, Li M, et al. (2017) Collateral blood flow in different cerebrovascular hierarchy provides endogenous protection in cerebral ischemia. *Brain Pathol Zurich Switz.* 27(6):809-821.
45. Shih AY, Blinder P, Tsai PS, Friedman B, Stanley G, Lyden PD, et al. (2013) The smallest stroke: occlusion of one penetrating vessel leads to infarction and a cognitive deficit. *Nat Neurosci.* 16(1):55-63.
46. Nishimura N, Schaffer CB, Friedman B, Tsai PS, Lyden PD, Kleinfeld D. (2006) Targeted insult to subsurface cortical blood vessels using ultrashort laser pulses: three models of stroke. *Nat Methods.* 3(2):99-108.
47. Nishimura N, Schaffer CB, Friedman B, Lyden PD, Kleinfeld D. (2007) Penetrating arterioles are a bottleneck in the perfusion of neocortex. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 104(1):365-370.
48. Nishimura N, Rosidi NL, Iadecola C, Schaffer CB. (2010) Limitations of collateral flow after occlusion of a single cortical penetrating arteriole. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab.* 30(12):1914-1927.
49. Baran U, Li Y, Wang RK. (2015) Vasodynamics of pial and penetrating arterioles in relation to arteriolo-arteriolar anastomosis after focal stroke. *Neurophotonics.* 2(2):250-256
50. Shih AY, Friedman B, Drew PJ, Tsai PS, Lyden PD, Kleinfeld D. (2009) Active dilation of penetrating arterioles restores red blood cell flux to penumbral neocortex after focal stroke. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab.* 29(4):738-751.
51. Heiss WD, Rosner G. (1983) Functional recovery of cortical neurons as related to degree and duration of ischemia. *Ann Neurol.* 14(3):294-301.
52. Jennings RB, Sommers HM, Smyth GA, Flack HA, Linn H. (1960) Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog. *Arch Pathol.* 70:68-78.
53. Camandola S, Mattson MP. (2017) Brain metabolism in health, aging, and neurodegeneration. *EMBO J.* 36(11):1474-1492.
54. Hamberger A, Hyden H. (1963) Inverse enzymatic changes in neurons and glia during increased function and hypoxia. *J Cell Biol.* 16:521-525.
55. Yoldas A, Ozmen E, Ozdemir V. (2010) Macroscopic description of the coronary arteries in Swiss albino mice (*Mus musculus*). *J S Afr Vet Assoc.* 81(4):247-252.
56. Icardo J., Colvee E. (2001) Origin and course of the coronary arteries in normal mice and in iv/iv mice. *J Anat.* 199(Pt 4):473-482.

57. Fernández B, Durán AC, Fernández MC, Fernández-Gallego T, Icardo JM, Sans-Coma V. (2008) The coronary arteries of the C57BL/6 mouse strains: implications for comparison with mutant models. *J Anat.* 212(1):12-18.
58. López-García A, Soto-Navarrete MT, Fernández MC, Moncayo-Arlandi J, Durán AC, López-Unzu MA, et al. (2016) Unusual anatomical origins of the coronary arteries in C57BL/6 mice. Are they strain-specific?. *J Anat.* 229(5):703-709.
59. Krešáková L, Purzyc H, Schusterová I, Fulton B, Maloveská M, Vdoviaková K, et al. (2015) Variability in the cardiac venous system of Wistar rats. *J Am Assoc Lab Anim Sci JAALAS.* 54(1):10-16.
60. Cizek B, Skubiszewska D, Ratajska A. (2007) The anatomy of the cardiac veins in mice. *J Anat.* 211(1):53-63.
61. Cook M.J. *The Anatomy of the Laboratory Mouse* [Internet]. [cité 27 août 2019]. Disponible sur: <http://www.informatics.jax.org/cookbook/figures/figure87.shtml>
62. Jae Kim M., Yeon Kim Y, Ren Chao J, Shan Park, Chang J, Oh D, et al. (2017) Comparing the Organs and Vasculature of the Head and Neck in Five Murine Species. *In Vivo.* 31(5):861-871.
63. Dorr A, Sled JG, Kabani N. (2007) Three-dimensional cerebral vasculature of the CBA mouse brain: a magnetic resonance imaging and micro computed tomography study. *NeuroImage.* 35(4):1409-1423.
64. Xiong B, Li A, Lou Y, Chen S, Long B, Peng J, et al. (2017) Precise Cerebral Vascular Atlas in Stereotaxic Coordinates of Whole Mouse Brain. *Front Neuroanat.* 11:128.
65. Mchedlishvili G, Kuridze N. (1984) The modular organization of the pial arterial system in phylogeny. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab.* 4(3):391-396.
66. Coyle P, Jokelainen PT. (1982) Dorsal cerebral arterial collaterals of the rat. *Anat Rec.* 203(3):397-404.
67. Blinder P, Tsai PS, Kaufhold JP, Knutsen PM, Suhl H, Kleinfeld D. (2013) The cortical angiome: an interconnected vascular network with noncolumnar patterns of blood flow. *Nat Neurosci.* 16(7):889-897.
68. Tsai PS, Kaufhold JP, Blinder P, Friedman B, Drew PJ, Karten HJ, et al. (2009) Correlations of neuronal and microvascular densities in murine cortex revealed by direct counting and colocalization of nuclei and vessels. *J Neurosci Off J Soc Neurosci.* 29(46):14553-14570.
69. Schaffer CB, Friedman B, Nishimura N, Schroeder LF, Tsai PS, Ebner FF, et al. (2006) Two-Photon Imaging of Cortical Surface Microvessels Reveals a Robust Redistribution in Blood Flow after Vascular Occlusion. *PLOS Biol.* 4(2):e22.
70. Yamori Y, Horie R, Handa H, Sato M, Fukase M. (1976) Pathogenetic similarity of strokes

in stroke-prone spontaneously hypertensive rats and humans. *Stroke*. 7(1):46-53.

71. Weinstein PR, Anderson GG, Telles DA. (1986) Neurological deficit and cerebral infarction after temporary middle cerebral artery occlusion in unanesthetized cats (Abstract). *Stroke*. 17(2):318-324.
72. Jones TH, Morawetz RB, Crowell RM, Marcoux FW, FitzGibbon SJ, DeGirolami U, et al. (1981) Thresholds of focal cerebral ischemia in awake monkeys (Abstract). *J Neurosurg*. 54(6):773-782.
73. Busto R, Dietrich WD, Globus MY, Valdés I, Scheinberg P, Ginsberg MD. (1987) Small differences in intras ischemic brain temperature critically determine the extent of ischemic neuronal injury. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. 7(6):729-738.
74. Kaplan B, Brint S, Tanabe J, Jacewicz M, Wang XJ, Pulsinelli W. (1991) Temporal thresholds for neocortical infarction in rats subjected to reversible focal cerebral ischemia. *Stroke*. 22(8):1032-1039.
75. Hyder F, Rothman DL, Bennett MR. (2013) Cortical energy demands of signaling and nonsignaling components in brain are conserved across mammalian species and activity levels. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 110(9):3549-3554.
76. Moscovici J. Anatomie du système nerveux central Tome 1 [Internet]. Laboratoire d'anatomie, Faculté de Médecine Toulouse Purplan. 2014 [cité 27 août 2019]. Disponible sur: <https://fr.slideshare.net/elsavonlicy/polycopie-snc-tome-i>
77. Micheau A., Hoa D. Schémas d'anatomie du cerveau [Internet]. IMAOS. [cité 27 août 2019]. Disponible sur: <https://www.imaios.com/fr/e-Anatomy/Tete-et-cou/Cerveau-Schemas>
78. Micheau A., Hoa D. Cerveau : atlas d'anatomie humaine en IRM [Internet]. IMAOS. [cité 27 août 2019]. Disponible sur: <https://www.imaios.com/fr/e-Anatomy/Tete-et-cou/Cerveau-IRM-3D>
79. Bai J, Trinh TLH, Chuang K-H, Qiu A. (2012) Atlas-based automatic mouse brain image segmentation revisited: model complexity vs. image registration. *Magn Reson Imaging*. 30(6):789-798.
80. Badea A, Ali-Sharief AA, Johnson GA. (2007) Morphometric analysis of the C57BL/6J mouse brain. *NeuroImage*. 37(3):683-693.
81. Kovacević N, Henderson JT, Chan E, Lifshitz N, Bishop J, Evans AC, et al. (2005) A three-dimensional MRI atlas of the mouse brain with estimates of the average and variability. *Cereb Cortex N Y N 1991*. 15(5):639-645.
82. Ryou M-G, Mallet RT. (2018) An In Vitro Oxygen-Glucose Deprivation Model for Studying Ischemia-Reperfusion Injury of Neuronal Cells. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 1717:229-235.

83. Larrue V. (2007) Accidents ischémiques cérébraux. In: Angéiologie [Internet]. Elsevier Masson SAS. Paris; [cité 27 août 2019]. p. 1-10. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/67021/accidents-ischemiques-cerebraux>
84. Duverger D, MacKenzie ET. (1988) The quantification of cerebral infarction following focal ischemia in the rat: influence of strain, arterial pressure, blood glucose concentration, and age. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab.* 8(4):449-461.
85. Kamada H, Yu F, Nito C, Chan PH. (2007) Influence of Hyperglycemia on Oxidative Stress and MMP-9 Activation After Focal Cerebral Ischemia/Reperfusion in Rats: Relationship to Blood-Brain Barrier Dysfunction. *Stroke J Cereb Circ.* 38(3):1044-1049.
86. Hoffmann U, Sheng H, Ayata C, Warner DS. (2016) Anesthesia in Experimental Stroke Research. *Transl Stroke Res.* 7(5):358-367.
87. Osborne KA, Shigeno T, Balarsky AM, Ford I, McCulloch J, Teasdale GM, et al. (1987) Quantitative assessment of early brain damage in a rat model of focal cerebral ischaemia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 50(4):402-410.
88. Waltz Arthur G. (1970) Effect of PaCO₂ on Blood Flow and Microvasculature of Ischemic and Nonischemic Cerebral Cortex. *Stroke.* 1(1):27-37.
89. Salford LG, Plum F, Brierley JB. (1973) Graded hypoxia-oligemia in rat brain. II. Neuropathological alterations and their implications. *Arch Neurol.* 29(4):234-238.
90. Tamura A, Graham DI, McCulloch J, Teasdale GM. (1981) Focal cerebral ischaemia in the rat: 1. Description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab.* 1(1):53-60.
91. Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R. (1989) Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke.* 20(1):84-91.
92. Dubray La Perle KM, Jordan CD. (2012) Chapitre 15 - Endocrine System. In: Treuting PM, Dintzis SM, éditeurs. *Comparative Anatomy and Histology a mouse and human atlas* [Internet]. San Diego: Academic Press; [cité 27 août 2019]. p. 211-27. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123813619000159>
93. Dirnagl U, Pulsinelli W. (1990) Autoregulation of cerebral blood flow in experimental focal brain ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab.* 10(3):327-336.
94. Hata R, Mies G, Wiessner C, Fritze K, Hesselbarth D, Brinker G, et al. (1998) A reproducible model of middle cerebral artery occlusion in mice: hemodynamic, biochemical, and magnetic resonance imaging. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab.* 18(4):367-375.

95. Bederson JB, Pitts LH, Germano SM, Nishimura MC, Davis RL, Bartkowski HM. (1986) Evaluation of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride as a stain for detection and quantification of experimental cerebral infarction in rats. *Stroke*. 17(6):1304-1308.
96. Zhivich AB, Koldobskii GI, Ostrovskii VA. (1990) Tetrazolium salts (review). *Chem Heterocycl Compd*. 26(12):1319-1328.
97. Liszczak TM, Hedley-Whyte ET, Adams JF, Han DH, Kolluri VS, Vacanti FX, et al. (1984) Limitations of tetrazolium salts in delineating infarcted brain. *Acta Neuropathol (Berl)*. 65(2):150-157.
98. Lundy EF, Solik BS, Frank RS, Lacy PS, Combs DJ, Zelenock GB, et al. (1986) Morphometric evaluation of brain infarcts in rats and gerbils. *J Pharmacol Methods*. 16(3):201-214.
99. Bose B, Osterholm JL, Berry R. (1984) A reproducible experimental model of focal cerebral ischemia in the cat. *Brain Res*. 311(2):385-391.
100. Hatfield RH, Mendelow AD, Perry RH, Alvarez LM, Modha P. (1991) Triphenyltetrazolium chloride (TTC) as a marker for ischaemic changes in rat brain following permanent middle cerebral artery occlusion. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 17(1):61-67.
101. Maxwell MP, Hearse DJ, Yellon DM. (1987) Species variation in the coronary collateral circulation during regional myocardial ischaemia: a critical determinant of the rate of evolution and extent of myocardial infarction. *Cardiovasc Res*. 21(10):737-746.
102. Lange R, Kloner RA, Braunwald E. (1983) First ultra-short-acting beta-adrenergic blocking agent: its effect on size and segmental wall dynamics of reperfused myocardial infarcts in dogs. *Am J Cardiol*. 51(10):1759-1767.
103. Canty JM. (1988) Coronary pressure-function and steady-state pressure-flow relations during autoregulation in the unanesthetized dog. *Circ Res*. 63(4):821-836.
104. Guo Y, Flaherty MP, Wu W-J, Tan W, Zhu X, Li Q, et al. (2012) Genetic background, gender, age, body temperature, and arterial blood pH have a major impact on myocardial infarct size in the mouse and need to be carefully measured and/or taken into account: results of a comprehensive analysis of determinants of infarct size in 1,074 mice. *Basic Res Cardiol*. 107(5):288-330.
105. De Lorenzi C., Lehmann A., Tognon M., Cominetti F. Infarctus du myocarde, prise en charge [Internet]. [cité 27 août 2019]. Disponible sur: http://www.medecine.unige.ch/enseignement/apprentissage/module4/immersion/archives/2009_2010/travaux/10_r_infarctus.pdf
106. Fishbein MC, Meerbaum S, Rit J, Lando U, Kanmatsuse K, Mercier JC, et al. (1981) Early phase acute myocardial infarct size quantification: validation of the triphenyl tetrazolium chloride tissue enzyme staining technique. *Am Heart J*. 101(5):593-600.

107. Pitts KR, Stiko A, Buetow B, Lott F, Guo P, Virca D, et al. (2007) Washout of heme-containing proteins dramatically improves tetrazolium-based infarct staining (Abstract). *J Pharmacol Toxicol Methods*. 55(2):201-208.
108. Benedek A, Móricz K, Jurányi Z, Gigler G, Lévy G, Hársing LG, et al. (2006) Use of TTC staining for the evaluation of tissue injury in the early phases of reperfusion after focal cerebral ischemia in rats (Abstract). *Brain Res*. 1116(1):159-165.
109. Ferrera R, Benhabbouche S, Bopassa JC, Li B, Ovize M. (2009) One hour reperfusion is enough to assess function and infarct size with TTC staining in Langendorff rat model. *Cardiovasc Drugs Ther*. 23(4):327-331.
110. Schwarz ER, Somoano Y, Hale SL, Kloner RA. (2000) What is the required reperfusion period for assessment of myocardial infarct size using triphenyltetrazolium chloride staining in the rat?. *J Thromb Thrombolysis*. 10(2):181-187.
111. Redel A, Jazbutyte V, Smul TM, Lange M, Eckle T, Eltzhig H, et al. (2008) Impact of ischemia and reperfusion times on myocardial infarct size in mice in vivo. *Exp Biol Med* Maywood NJ. 233(1):84-93.
112. Wu Y, Yin X, Wijaya C, Huang M-H, McConnell BK. (2011) Acute myocardial infarction in rats. *J Vis Exp JoVE*. (48):e2464.
113. Michael LH, Ballantyne CM, Zachariah JP, Gould KE, Pocius JS, Taffet GE, et al. (1999) Myocardial infarction and remodeling in mice: effect of reperfusion. *Am J Physiol*. 277(2 Pt 2):H660-668.
114. Salto-Tellez M, Yung Lim S, El-Oakley RM, Tang TPL, ALmsherqi ZAM, Lim S-K. (2004) Myocardial infarction in the C57BL/6J mouse: a quantifiable and highly reproducible experimental model. *Cardiovasc Pathol Off J Soc Cardiovasc Pathol*. 13(2):91-97.
115. Dewald O, Ren G, Duerr GD, Zoerlein M, Klemm C, Gersch C, et al. (2004) Of mice and dogs: species-specific differences in the inflammatory response following myocardial infarction. *Am J Pathol*. 164(2):665-677.
116. Yoshihara HAI, Bastiaansen JAM, Berthonneche C, Comment A, Schwitter J. (2015) An intact small animal model of myocardial ischemia-reperfusion: Characterization of metabolic changes by hyperpolarized ¹³C MR spectroscopy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 309(12):H2058-2066.
117. Heusch G, Skyschally A, Schulz R. (2011) The in-situ pig heart with regional ischemia/reperfusion - ready for translation (Abstract). *J Mol Cell Cardiol*. 50(6):951-963.
118. Prinzmetal M, Schwartz LL. (1949) Studies on the coronary circulation; loss of myocardial contractility after coronary artery occlusion. *Ann Intern Med*. 31(3):429-449.

119. Jennings RB, Murry CE, Steenbergen C, Reimer KA. (1990) Development of cell injury in sustained acute ischemia. *Circulation*. 82(3 Suppl):II2-12.
120. Jennings R. B., Ganote C. E. (1974) Structural Changes in Myocardium During Acute Ischemia. *Circ Res*. 35(3_supplement):156-172.
121. Schaper J. (1986) Ultrastructural changes of the myocardium in regional ischaemia and infarction. *Eur Heart J*. 7 Suppl B:3-9.
122. Ganote CE, Vander Heide RS. (1988) Irreversible injury of isolated adult rat myocytes. Osmotic fragility during metabolic inhibition. *Am J Pathol*. 132(2):212-222.
123. Kloner RA, Ganote CE, Jennings RB. (1974) The "No-Reflow" Phenomenon after Temporary Coronary Occlusion in the Dog. *J Clin Invest*. 54(6):1496-1508.
124. Frangogiannis NG. (2012) Regulation of the inflammatory response in cardiac repair. *Circ Res*. 110(1):159-173.
125. Prabhu SD, Frangogiannis NG. (2016) The Biological Basis for Cardiac Repair After Myocardial Infarction: From Inflammation to Fibrosis. *Circ Res*. 119(1):91-112.
126. Kirino T, Tamura A, Sano K. (1985) Selective vulnerability of the hippocampus to ischemia-reversible and irreversible types of ischemic cell damage. *Prog Brain Res*. 63:39-58.
127. Ito U, Ohno K, Nakamura R, Suganuma F, Inaba Y. (1979) Brain edema during ischemia and after restoration of blood flow. Measurement of water, sodium, potassium content and plasma protein permeability. *Stroke*. 10(5):542-547.
128. Garcia JH, Yoshida Y, Chen H, Li Y, Zhang ZG, Lian J, et al. (1993) Progression from ischemic injury to infarct following middle cerebral artery occlusion in the rat. *Am J Pathol*. 142(2):623-635.
129. Dirnagl U, Iadecola C, Moskowitz MA. (1999) Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view. *Trends Neurosci*. 22(9):391-397.
130. Garcia JH, Kamijyo Y. (1974) Cerebral infarction. Evolution of histopathological changes after occlusion of a middle cerebral artery in primates. *J Neuropathol Exp Neurol*. 33(3):408-421.
131. Schlichting CLR, Lima KCM, Cestari Junior LA, Sekiyama JY, Silva FM, Milani H. (2004) Validation of a simple and inexpensive method for the quantitation of infarct in the rat brain. *Braz J Med Biol Res*. 37(4):511-521.
132. Aletras AH, Tilak GS, Natanzon A, Hsu L-Y, Gonzalez FM, Hoyt RF, et al. (2006) Retrospective determination of the area at risk for reperfused acute myocardial infarction with T2-weighted cardiac magnetic resonance imaging: histopathological and displacement encoding with stimulated echoes (DENSE) functional validations. *Circulation*. 113(15):1865-1870.

133. Chassot PG. Ischémie myocardique et infarctus [Internet]. Précis d'anesthésie cardiaque. 2015 [cité 27 août 2019]. Disponible sur: <http://www.precisdanesthesiecardiaque.ch/Chapitre%205/ischemmyocetinf.html>
134. Reimer KA, Lowe JE, Rasmussen MM, Jennings RB. (1977) The wavefront phenomenon of ischemic cell death. 1. Myocardial infarct size vs duration of coronary occlusion in dogs. *Circulation*. 56(5):786-794.
135. Dunn RB, Griggs DM. (1975) Transmural gradients in ventricular tissue metabolites produced by stopping coronary blood flow in the dog. *Circ Res*. 37(4):438-445.
136. Hoffman JI, Baer RW, Hanley FL, Messina LM. (1985) Regulation of transmural myocardial blood flow. *J Biomech Eng*. 107(1):2-9.
137. Schwaiger M, Brunken R, Grover-McKay M, Krivokapich J, Child J, Tillisch JH, et al. (1986) Regional myocardial metabolism in patients with acute myocardial infarction assessed by positron emission tomography. *J Am Coll Cardiol*. 8(4):800-808.
138. Schelbert HR, Buxton D. (1988) Insights into coronary artery disease gained from metabolic imaging. *Circulation*. 78(3):496-505.
139. Steenbergen C, Deleeuw G, Barlow C, Chance B, Williamson JR. (1977) Heterogeneity of the hypoxic state in perfused rat heart. *Circ Res*. 41(5): 606-15.
140. Reimer KA, Jennings RB. (1979) The « wavefront phenomenon » of myocardial ischemic cell death. II. Transmural progression of necrosis within the framework of ischemic bed size (myocardium at risk) and collateral flow (Abstract). *Lab Investig J Tech Methods Pathol*. 40(6):633-644.
141. Bloor CM, Liebow AA. (1965) Coronary collaterla circulation . *Am J Cardiol*. 16:238-252.
142. Hudson CL, Moritz AR, Wearn JT. (1932) The extracardiac anastomoses of the coronary arteries. *J Exp Med*. 56(6):919-925.
143. Steenbergen C, Frangogiannis NG. Chapter 36 - Ischemic Heart Disease. In: Hill JA, Olson EN, éditeurs. *Muscle* [Internet]. Elsevier. Boston/Waltham: Academic Press; 2012 [cité 27 août 2019]. p. 495-521. Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123815101000363>
144. Bang OY, Saver JL, Buck BH, Alger JR, Starkman S, Ovbiagele B, et al. (2008) Impact of collateral flow on tissue fate in acute ischaemic stroke. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 79(6):625-629.
145. Symon L, Branston NM, Strong AJ, Hope TD. (1977) The concepts of thresholds of ischaemia in relation to brain structure and function. *J Clin Pathol Suppl (R Coll Pathol)*. 11:149-154.

146. Astrup J, Siesjö B K, Symon L. (1981) Thresholds in cerebral ischemia - the ischemic penumbra. *Stroke*. 12(6):723-725.
147. Hossmann KA. (1994) Viability thresholds and the penumbra of focal ischemia. *Ann Neurol*. 36(4):557-565.
148. Bandera Elisabetta, Botteri Marco, Minelli Cosetta, Sutton Alex, Abrams Keith R., Latronico Nicola. (2006) Cerebral Blood Flow Threshold of Ischemic Penumbra and Infarct Core in Acute Ischemic Stroke. *Stroke*. 37(5):1334-1339.
149. Maeda K, Hata R, Bader M, Walther T, Hossmann KA. (1999) Larger anastomoses in angiotensinogen-knockout mice attenuate early metabolic disturbances after middle cerebral artery occlusion. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. 19(10):1092-8.
150. Liebeskind DS. (2005) Collaterals in acute stroke: beyond the clot. *Neuroimaging Clin N Am*. 15(3):553-573.
151. D. Deplanque, R. Bordet. (2006) Physiopathologie de l'ischémie cérébrale. *Corresp En Neurol Vasc*. 2(1):14-19.
152. Meyer JS. (1958) Circulatory changes following occlusion of the middle cerebral artery and their relation to function. *J Neurosurg*. 15(6):653-673.
153. Mies G, Ishimaru S, Xie Y, Seo K, Hossmann KA. (1991) Ischemic thresholds of cerebral protein synthesis and energy state following middle cerebral artery occlusion in rat. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. 11(5):753-761.
154. Mies G, Iijima T, Hossmann KA. (1993) Correlation between peri-infarct DC shifts and ischaemic neuronal damage in rat (Abstract). *Neuroreport*. 4(6):709-711 [.
155. Pinard Elisabeth, Nallet Hélène, MacKenzie Eric T., Seylaz Jacques, Roussel Simon. (2002) Penumbra Microcirculatory Changes Associated With Peri-infarct Depolarizations in the Rat. *Stroke*. 33(2):606-612.
156. Graham SH, Chen J. (2001) Programmed cell death in cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. 21(2):99-109.
157. Braunwald E, Kloner RA. (1982) The stunned myocardium: prolonged, postischemic ventricular dysfunction. *Circulation*. 66(6):1146-1149.
158. Schlüter KD, Schwartz P, Siegmund B, Piper HM. (1991) Prevention of the oxygen paradox in hypoxic-reoxygenated hearts. *Am J Physiol*. 261(2 Pt 2):H416-423.
159. Garcia-Dorado David, Inseste Javier, Ruiz-Meana Marisol, González Miguel A., Solares Julia, Juliá Margarita, et al. (1997) Gap Junction Uncoupler Heptanol Prevents Cell-to-Cell Progression of Hypercontracture and Limits Necrosis During Myocardial Reperfusion. *Circulation*.

96(10):3579-3586.

160. Simpson PJ, Mickelson JK, Lucchesi BR. (1987) Free radical scavengers in myocardial ischemia. *Fed Proc.* 46(7):2413-2421.
161. Gardner TJ, Stewart JR, Casale AS, Downey JM, Chambers DE. (1983) Reduction of myocardial ischemic injury with oxygen-derived free radical scavengers. *Surgery.* 94(3):423-427.
162. Zhao ZQ, Nakamura M, Wang NP, Velez DA, Hewan-Lowe KO, Guyton RA, et al. (2000) Dynamic progression of contractile and endothelial dysfunction and infarct extension in the late phase of reperfusion. *J Surg Res.* 94(2):133-144.
163. Piper HM, García-Dorado D, Ovize M. (1998) A fresh look at reperfusion injury. *Cardiovasc Res.* 38(2):291-300.
164. LATE Study Group. (1993) Late Assessment of Thrombolytic Efficacy (LATE) study with alteplase 6-24 hours after onset of acute myocardial infarction. *Lancet Lond Engl.* 342(8874):759-766.
165. Adibhatla RM, Hatcher JF. (2010) Lipid oxidation and peroxidation in CNS health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal.* 12(1):125-169.
166. Hacke W, Donnan G, Fieschi C, Kaste M, von Kummer R, Broderick JP, et al. (2004) Association of outcome with early stroke treatment: pooled analysis of ATLANTIS, ECASS, and NINDS rt-PA stroke trials. *Lancet Lond Engl.* 363(9411):768-774.
167. Bluhmki E, Chamorro A, Dávalos A, Machnig T, Sauce C, Wahlgren N, et al. (2009) Stroke treatment with alteplase given 3.0-4.5 h after onset of acute ischaemic stroke (ECASS III): additional outcomes and subgroup analysis of a randomised controlled trial. *Lancet Neurol.* 8(12):1095-1102.
168. Di Lisa F, Canton M, Menabò R, Kaludercic N, Bernardi P. (2007) Mitochondria and cardioprotection. *Heart Fail Rev.* 12(3-4):249-260.
169. Murphy E, Steenbergen C. (2008) Ion transport and energetics during cell death and protection. *Physiol Bethesda Md.* 23:115-123.
170. Ayata C, Ropper AH. (2002) Ischaemic brain oedema. *J Clin Neurosci Off J Neurosurg Soc Australas.* 9(2):113-124.
171. Sanada S, Komuro I, Kitakaze M. (2011) Pathophysiology of myocardial reperfusion injury: preconditioning, postconditioning, and translational aspects of protective measures. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 301(5):H1723-1741.
172. Kléber AG. (1984) Extracellular potassium accumulation in acute myocardial ischemia. *J Mol Cell Cardiol.* 16(5):389-394.

173. Takagi H, Matsui Y, Hirotsu S, Sakoda H, Asano T, Sadoshima J. (2007) AMPK mediates autophagy during myocardial ischemia in vivo. *Autophagy*. 3(4):405-407.
174. Matsui Y, Takagi H, Qu X, Abdellatif M, Sakoda H, Asano T, et al. (2007) Distinct roles of autophagy in the heart during ischemia and reperfusion: roles of AMP-activated protein kinase and Beclin 1 in mediating autophagy. *Circ Res*. 100(6):914-922.
175. Elliott AC, Smith GL, Eisner DA, Allen DG. (1992) Metabolic changes during ischaemia and their role in contractile failure in isolated ferret hearts. *J Physiol*. 454:467-490.
176. Steenbergen C, Deleew G, Rich T, Williamson JR. (1977) Effects of acidosis and ischemia on contractility and intracellular pH of rat heart. *Circ Res*. 41(6):849-858.
177. Arai J, Katai N, Kuida K, Kikuchi T, Yoshimura N. (2006) Decreased retinal neuronal cell death in caspase-1 knockout mice (Abstract). *Jpn J Ophthalmol*. 50(5):417-425.
178. Bulkley GB. (1987) Free radical-mediated reperfusion injury: a selective review. *Br J Cancer Suppl*. 8:66-73.
179. Lee JM, Grabb MC, Zipfel GJ, Choi DW. (2000) Brain tissue responses to ischemia. *J Clin Invest*. 106(6):723-731.
180. Hossmann KA. (1996) Periinfarct depolarizations. *Cerebrovasc Brain Metab Rev*. 8(3):195-208.
181. Talukder MAH, Zweier JL, Periasamy M. (2009) Targeting calcium transport in ischaemic heart disease. *Cardiovasc Res*. 84(3):345-352.
182. Contreras L, Drago I, Zampese E, Pozzan T. (2010) Mitochondria: the calcium connection. *Biochim Biophys Acta*. 1797(6-7):607-618.
183. Bolli R. (1990) Mechanism of myocardial « stunning ». *Circulation*. 82(3):723-738.
184. Li B. (2009) Chaîne respiratoire et pore de transition de perméabilité mitochondriale dans la cardioprotection. Thèse de doctorat. Lyon : Université Claude Bernard Lyon I, 169 p.
185. Bernardi P, Vassanelli S, Veronese P, Colonna R, Szabó I, Zoratti M. (1992) Modulation of the mitochondrial permeability transition pore. Effect of protons and divalent cations. *J Biol Chem*. 267(5):2934-2939.
186. Halestrap AP, Clarke SJ, Javadov SA. (2004) Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion--a target for cardioprotection. *Cardiovasc Res*. 61(3):372-385.
187. Ong S-B, Gustafsson AB. (2012) New roles for mitochondria in cell death in the reperfused myocardium. *Cardiovasc Res*. 94(2):190-196.
188. Giedt RJ, Yang C, Zweier JL, Matzavinos A, Alevriadou BR. (2012) Mitochondrial fission in

endothelial cells after simulated ischemia/reperfusion: role of nitric oxide and reactive oxygen species. *Free Radic Biol Med.* 52(2):348-356.

189. Ong S-B, Subrayan S, Lim SY, Yellon DM, Davidson SM, Hausenloy DJ. (2010) Inhibiting mitochondrial fission protects the heart against ischemia/reperfusion injury. *Circulation.* 121(18):2012-2022.

190. Minamino T, Komuro I, Kitakaze M. (2010) Endoplasmic reticulum stress as a therapeutic target in cardiovascular disease. *Circ Res.* 107(9):1071-1082.

191. Yaoita H, Ogawa K, Maehara K, Maruyama Y. (1998) Attenuation of ischemia/reperfusion injury in rats by a caspase inhibitor. *Circulation.* 97(3):276-281.

192. Yang W, Guastella J, Huang J-C, Wang Y, Zhang L, Xue D, et al. (2003) MX1013, a dipeptide caspase inhibitor with potent in vivo antiapoptotic activity. *Br J Pharmacol.* 140(2):402-412.

193. Matzinger P. (2002) The danger model: a renewed sense of self. *Science.* 296(5566):301-305.

194. Rossen RD, Michael LH, Hawkins HK, Youker K, Dreyer WJ, Baughn RE, et al. (1994) Cardioprotein-protein complexes and initiation of complement activation after coronary artery occlusion. *Circ Res.* 75(3):546-555.

195. Beg AA. (2002) Endogenous ligands of Toll-like receptors: implications for regulating inflammatory and immune responses. *Trends Immunol.* 23(11):509-512.

196. Frangogiannis NG, Smith CW, Entman ML. (2002) The inflammatory response in myocardial infarction. *Cardiovasc Res.* 53(1):31-41.

197. Kumar P, Shen Q, Pivetti CD, Lee ES, Wu MH, Yuan SY. (2009) Molecular mechanisms of endothelial hyperpermeability: implications in inflammation. *Expert Rev Mol Med.* 11:e19.

198. Crockard A, Iannotti F, Hunstock AT, Smith RD, Harris RJ, Symon L. (1980) Cerebral blood flow and edema following carotid occlusion in the gerbil. *Stroke.* 11(5):494-498.

199. Kuroiwa T, Shibutani M, Okeda R. (1988) Blood-brain barrier disruption and exacerbation of ischemic brain edema after restoration of blood flow in experimental focal cerebral ischemia. *Acta Neuropathol (Berl).* 76(1):62-70.

200. Westergaard E. (1977) The blood-brain barrier to horseradish peroxidase under normal and experimental conditions. *Acta Neuropathol (Berl).* 39(3):181-187.

201. Hatashita S, Hoff JT. (1986) Role of a hydrostatic pressure gradient in the formation of early ischemic brain edema. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab.* 6(5):546-552.

202. Massberg S, Enders G, Matos FC, Tomic LI, Leiderer R, Eisenmenger S, et al. (1999)

Fibrinogen deposition at the postischemic vessel wall promotes platelet adhesion during ischemia-reperfusion in vivo. *Blood*. 94(11):3829-3838.

203. Chironi GN, Boulanger CM, Simon A, Dignat-George F, Freyssinet J-M, Tedgui A. (2009) Endothelial microparticles in diseases. *Cell Tissue Res*. 335(1):143-151.

204. Kloner RA, Dai W, Hale SL. (2018) No-Reflow Phenomenon. A New Target for Therapy of Acute Myocardial Infarction Independent of Myocardial Infarct Size. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 23(3):273-276.

205. Barres BA. (2008) The mystery and magic of glia: a perspective on their roles in health and disease. *Neuron*. 60(3):430-440.

206. Chen Y, Vartiainen NE, Ying W, Chan PH, Koistinaho J, Swanson RA. (2001) Astrocytes protect neurons from nitric oxide toxicity by a glutathione-dependent mechanism. *J Neurochem*. 77(6):1601-1610.

207. Anderson MF, Blomstrand F, Blomstrand C, Eriksson PS, Nilsson M. (2003) Astrocytes and stroke: networking for survival?. *Neurochem Res*. 28(2):293-305.

208. Leon A, Lepouse C. Inflammation et cerveau [Internet]. ANARLF. 2004 [cité 27 août 2019]. Disponible sur: <http://www.anarlf.eu/publications/lire/document/23>

209. Renault-Mihara F, Okada S, Shibata S, Nakamura M, Toyama Y, Okano H. (2008) Spinal cord injury: emerging beneficial role of reactive astrocytes' migration. *Int J Biochem Cell Biol*. 40(9):1649-1653.

210. Ding M, Eliasson C, Betsholtz C, Hamberger A, Pekny M. (1998) Altered taurine release following hypotonic stress in astrocytes from mice deficient for GFAP and vimentin. *Brain Res Mol Brain Res*. 62(1):77-81.

211. Goldshmit Y, Galea MP, Wise G, Bartlett PF, Turnley AM. (2004) Axonal regeneration and lack of astrocytic gliosis in EphA4-deficient mice. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 24(45):10064-10073.

212. Maeda K, Hata R, Hossmann KA. (1998) Differences in the cerebrovascular anatomy of C57black/6 and SV129 mice. *Neuroreport*. 9(7):1317-1319.

213. Gilson WD, Kraitchman DL. (2007) Cardiac Magnetic Resonance Imaging in Small Rodents using Clinical 1.5T and 3.0T Scanners. *Methods San Diego Calif*. 43(1):35-45.

214. Epstein FH. (2007) MR in mouse models of cardiac disease. *NMR Biomed*. 20(3):238-255.

215. Wagenhaus B, Pohlmann A, Dieringer MA, Els A, Waiczies H, Waiczies S, et al. (2012) Functional and morphological cardiac magnetic resonance imaging of mice using a cryogenic quadrature radiofrequency coil. *PloS One*. 7(8):e42383.

216. IRM à très haut champ (3 teslas et plus) - Introduction [Internet]. IMAIOS. [cité 7 sept 2019]. Disponible sur: <https://www.imaios.com/fr/e-Cours/e-MRI/irm-3-teslas/introduction>
217. Facteurs de qualité de l'image en IRM [Internet]. [cité 7 sept 2019]. Disponible sur: <https://www.imaios.com/fr/e-Cours/e-MRI/qualite-image-artefacts/qualite-image>
218. Vanhoutte L, Gerber BL, Gallez B, Po C, Magat J, Balligand J-L, et al. (2016) High field magnetic resonance imaging of rodents in cardiovascular research. *Basic Res Cardiol.* 111(4):46.
219. Dongworth RK, Campbell-Washburn AE, Cabrera-Fuentes HA, Bulluck H, Roberts T, Price AN, et al. Quantifying the area-at-risk of myocardial infarction in-vivo using arterial spin labeling cardiac magnetic resonance. *Sci Rep* [Internet]. 23 mai 2017 [cité 20 août 2019];7. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5442118/>
220. Heijman E, de Graaf W, Niessen P, Nauerth A, van Eys G, de Graaf L, et al. (2007) Comparison between prospective and retrospective triggering for mouse cardiac MRI (Abstract). *NMR Biomed.* 20(4):439-447.
221. Nahrendorf M, Hiller K-H, Hu K, Ertl G, Haase A, Bauer WR. (2003) Cardiac magnetic resonance imaging in small animal models of human heart failure. *Med Image Anal.* 7(3):369-375.
222. Price AN, Cheung KK, Lim SY, Yellon DM, Hausenloy DJ, Lythgoe MF. (2011) Rapid assessment of myocardial infarct size in rodents using multi-slice inversion recovery late gadolinium enhancement CMR at 9.4T. *J Cardiovasc Magn Reson Off J Soc Cardiovasc Magn Reson.* 13:44.
223. Beyers RJ, Smith RS, Xu Y, Piras BA, Salerno M, Berr SS, et al. (2012) T2-weighted MRI of post-infarct myocardial edema in mice. *Magn Reson Med Off J Soc Magn Reson Med Soc Magn Reson Med.* 67(1): 201-209
224. Naresh NK, Chen X, Moran E, Tian Y, French BA, Epstein FH. (2016) Repeatability and variability of myocardial perfusion imaging techniques in mice: Comparison of arterial spin labeling and first-pass contrast-enhanced MRI. *Magn Reson Med.* 75(6): 2394-405
225. Jiang K, Yu X. (2014) Quantification of regional myocardial wall motion by cardiovascular magnetic resonance. *Quant Imaging Med Surg.* 4(5):345-357.
226. Götte MJ, van Rossum AC, Twisk JWR null, Kuijper JPA null, Marcus JT, Visser CA. (2001) Quantification of regional contractile function after infarction: strain analysis superior to wall thickening analysis in discriminating infarct from remote myocardium (Abstract). *J Am Coll Cardiol.* 37(3):808-817.
227. Gilson WD, Yang Z, French BA, Epstein FH. (2005) Measurement of myocardial mechanics in mice before and after infarction using multislice displacement-encoded MRI with 3D motion encoding. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 288(3):H1491-1497.

228. Epstein FH, Yang Z, Gilson WD, Berr SS, Kramer CM, French BA. (2002) MR tagging early after myocardial infarction in mice demonstrates contractile dysfunction in adjacent and remote regions. *Magn Reson Med.* 48(2):399-403.
229. Amundsen BH, Ericsson M, Seland JG, Pavlin T, Ellingsen Ø, Brekken C. (2011) A comparison of retrospectively self-gated magnetic resonance imaging and high-frequency echocardiography for characterization of left ventricular function in mice. *Lab Anim.* 45(1):31-37.
230. Moran CM, Thomson AJW, Rog-Zielinska E, Gray GA. (2013) High-resolution echocardiography in the assessment of cardiac physiology and disease in preclinical models. *Exp Physiol.* 98(3):629-644.
231. Gao S, Ho D, Vatner DE, Vatner SF. (2011) Echocardiography in Mice. *Curr Protoc Mouse Biol.* 1:71-83.
232. Scherrer-Crosbie M, Kurtz B. (2010) Ventricular remodeling and function: insights using murine echocardiography. *J Mol Cell Cardiol.* 48(3):512-517.
233. Lindsey ML, Kassiri Z, Virag JAI, de Castro Brás LE, Scherrer-Crosbie M. (2018) Guidelines for measuring cardiac physiology in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 314(4):H733-H752.
234. Gao X-M, Dart AM, Dewar E, Jennings G, Du X-J. (2000) Serial echocardiographic assessment of left ventricular dimensions and function after myocardial infarction in mice. *Cardiovasc Res.* 45(2):330-338.
235. Dawson D, Lygate CA, Saunders J, Schneider JE, Ye X, Hulbert K, et al. (2004) Quantitative 3-dimensional echocardiography for accurate and rapid cardiac phenotype characterization in mice. *Circulation.* 110(12):1632-1637.
236. Kanno S, Lerner DL, Schuessler RB, Betsuyaku T, Yamada KA, Saffitz JE, et al. (2002) Echocardiographic evaluation of ventricular remodeling in a mouse model of myocardial infarction. *J Am Soc Echocardiogr Off Publ Am Soc Echocardiogr.* 15(6):601-609.
237. Scherrer-Crosbie M, Steudel W, Hunziker PR, Liel-Cohen N, Ullrich R, Zapol WM, et al. (1999) Three-dimensional echocardiographic assessment of left ventricular wall motion abnormalities in mouse myocardial infarction. *J Am Soc Echocardiogr Off Publ Am Soc Echocardiogr.* 12(10):834-840.
238. Schiller NB, Shah PM, Crawford M, DeMaria A, Devereux R, Feigenbaum H, et al. (1989) Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. American Society of Echocardiography Committee on Standards, Subcommittee on Quantitation of Two-Dimensional Echocardiograms. *J Am Soc Echocardiogr Off Publ Am Soc Echocardiogr.* 2(5):358-367.
239. Zhang Y, Takagawa J, Sievers RE, Khan MF, Viswanathan MN, Springer ML, et al. (2007) Validation of the wall motion score and myocardial performance indexes as novel techniques to

assess cardiac function in mice after myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 292(2):H1187-1192.

240. Sengupta PP, Korinek J, Belohlavek M, Narula J, Vannan MA, Jahangir A, et al. (2006) Left ventricular structure and function: basic science for cardiac imaging. *J Am Coll Cardiol.* 48(10):1988-2001.

241. Haddour N, Meuleman C, Dufaitre G, Janower S, Berthelot-garcias E, Douna F, Ederhy S,, Boccara F, Cohen A. (2011) Qu'est-ce que l'échocardiographie 2D strain ?. *Rev Générales Echocardiographie*, p. 1-7.

242. Thibault H, Gomez L, Donal E, Pontier G, Scherrer-Crosbie M, Ovize M, et al. (2007) Acute myocardial infarction in mice: assessment of transmural by strain rate imaging. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 293(1):H496-502.

243. Thibault H, Gomez L, Bergerot C, Augeul L, Scherrer-Crosbie M, Ovize M, et al. (2011) Strain-rate imaging predicts the attenuation of left ventricular remodeling induced by ischemic postconditioning after myocardial infarction in mice. *Circ Cardiovasc Imaging.* 4(5):550-557.

244. Bauer M, Cheng S, Jain M, Ngoy S, Theodoropoulos C, Trujillo A, et al. (2011) Echocardiographic speckle-tracking based strain imaging for rapid cardiovascular phenotyping in mice. *Circ Res.* 108(8):908-916.

245. Li Y, Garson CD, Xu Y, Beyers RJ, Epstein FH, French BA, et al. (2007) Quantification and MRI validation of regional contractile dysfunction in mice post myocardial infarction using high resolution ultrasound. *Ultrasound Med Biol.* 33(6):894-904.

246. Peng Y, Popovic ZB, Sopko N, Drinko J, Zhang Z, Thomas JD, et al. (2009) Speckle tracking echocardiography in the assessment of mouse models of cardiac dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 297(2):H811-820.

247. Scherrer-Crosbie M, Steudel W, Ullrich R, Hunziker PR, Liel-Cohen N, Newell J, et al. (1999) Echocardiographic determination of risk area size in a murine model of myocardial ischemia. *Am J Physiol.* 277(3):H986-992.

248. Dourado PMM, Tsutsui JM, Mathias Jr. W, Andrade JL, da Luz PL, Chagas ACP. (2003) Evaluation of stunned and infarcted canine myocardium by real time myocardial contrast echocardiography. *Braz J Med Biol Res.* 36(11):1501-1509.

249. Alvarez E, Dalton ND, Gu Y, Smith D, Luong A, Hoshijima M, et al. (2018) A novel method for quantitative myocardial contrast echocardiography in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 314(2):H370-H379.

250. Stuckey DJ, Carr CA, Tyler DJ, Clarke K. (2008) Cine-MRI versus two-dimensional echocardiography to measure in vivo left ventricular function in rat heart. *NMR Biomed.* 21(7):765-772.

251. Yang XP, Liu YH, Rhaleb NE, Kurihara N, Kim HE, Carretero OA. (1999) Echocardiographic assessment of cardiac function in conscious and anesthetized mice. *Am J Physiol.* 277(5):H1967-1974.
252. Sheikh AY, van der Bogt KEA, Doyle TC, Sheikh MK, Ransohoff KJ, Ali ZA, et al. (2010) Micro-CT for characterization of murine CV disease models. *JACC Cardiovasc Imaging.* 3(7):783-785.
253. Nahrendorf M, Badea C, Hedlund LW, Figueiredo J-L, Sosnovik DE, Johnson GA, et al. (2007) High Resolution Imaging of Murine Myocardial Infarction With Delayed Enhancement and Cine Micro-CT. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 292(6):H3172-H3178.
254. Doman SE, Girish A, Nemeth CL, Drummond GT, Carr P, Garcia MS, et al. (2018) Early Detection of Hypothermic Neuroprotection Using T2-Weighted Magnetic Resonance Imaging in a Mouse Model of Hypoxic Ischemic Encephalopathy. *Front Neurol* [Internet]. [cité 20 août 2019];9. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5951924/>
255. Hoehn-Berlage M, Eis M, Back T, Kohno K, Yamashita K. (1995) Changes of relaxation times (T1, T2) and apparent diffusion coefficient after permanent middle cerebral artery occlusion in the rat: temporal evolution, regional extent, and comparison with histology. *Magn Reson Med.* 34(6):824-834.
256. Loubinoux I, Volk A, Borredon J, Guirimand S, Tiffon B, Seylaz J, et al. (1997) Spreading of vasogenic edema and cytotoxic edema assessed by quantitative diffusion and T2 magnetic resonance imaging. *Stroke.* 28(2):419-427.
257. Siemonsen S, Löbel U, Sedlacik J, Forkert ND, Mouridsen K, Østergaard L, et al. (2012) Elevated T2-values in MRI of stroke patients shortly after symptom onset do not predict irreversible tissue infarction. *Brain.* 135(6):1981-1989.
258. Gerriets T, Stolz E, Walberer M, Müller C, Kluge A, Bachmann A, et al. (2004) Noninvasive quantification of brain edema and the space-occupying effect in rat stroke models using magnetic resonance imaging. *Stroke.* 35(2):566-571.
259. Jacewicz M, Tanabe J, Pulsinelli WA. (1992) The CBF threshold and dynamics for focal cerebral infarction in spontaneously hypertensive rats. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab.* 12(3):359-370.
260. Minematsu K, Li L, Sotak CH, Davis MA, Fisher M. (1992) Reversible focal ischemic injury demonstrated by diffusion-weighted magnetic resonance imaging in rats. *Stroke.* 23(9):1304-1311.
261. Moseley ME, Cohen Y, Mintorovitch J, Chileuitt L, Shimizu H, Kucharczyk J, et al. (1990) Early detection of regional cerebral ischemia in cats: comparison of diffusion- and T2-weighted MRI and spectroscopy. *Magn Reson Med.* 14(2):330-346.

262. Ramos-Cabrer P, Padro D. (2018) MRI in the Study of Animal Models of Stroke. *Methods Mol Biol Clifton NJ.* 1718:377-392.
263. Mintorovitch J, Moseley ME, Chileuitt L, Shimizu H, Cohen Y, Weinstein PR. (1991) Comparison of diffusion- and T2-weighted MRI for the early detection of cerebral ischemia and reperfusion in rats (Abstract). *Magn Reson Med*;18(1):39-50.
264. Nakajo Y, Zhao Q, Enmi J-I, Iida H, Takahashi JC, Kataoka H, et al. (2019) Early Detection of Cerebral Infarction After Focal Ischemia Using a New MRI Indicator. *Mol Neurobiol.* 56(1):658-670.
265. Kremer S, Oppenheim C, Schmitt E, Dietemann J-L. (2008) le point sur... - Imagerie de diffusion : principes et applications cliniques. 88(3):428-443 [Consulté le 29/08/19] Disponible sur : <https://www.em-consulte.com/en/article/122156>.
266. Reith W, Hasegawa Y, Latour LL, Dardzinski BJ, Sotak CH, Fisher M. (1995) Multislice diffusion mapping for 3-D evolution of cerebral ischemia in a rat stroke model. *Neurology.* 45(1):172-177.
267. Bardutzky J, Shen Q, Henninger N, Bouley J, Duong TQ, Fisher M. (2005) Differences in ischemic lesion evolution in different rat strains using diffusion and perfusion imaging. *Stroke.* 36(9):2000-2005.
268. Olah L, Wecker S, Hoehn M. (2001) Relation of apparent diffusion coefficient changes and metabolic disturbances after 1 hour of focal cerebral ischemia and at different reperfusion phases in rats. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab.* 21(4):430-439.
269. Meng X, Fisher M, Shen Q, Sotak CH, Duong TQ. (2004) Characterizing the Diffusion/Perfusion Mismatch in Experimental Focal Cerebral Ischemia. *Ann Neurol.* 55(2):207-212.
270. Reid E, Graham D, Lopez-Gonzalez MR, Holmes WM, Macrae IM, McCabe C. (2012) Penumbra detection using PWI/DWI mismatch MRI in a rat stroke model with and without comorbidity: comparison of methods. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab.* 32(9):1765-1777.
271. Barber PA, Hoyte L, Kirk D, Foniok T, Buchan A, Tuor U. (2005) Early T1- and T2-weighted MRI signatures of transient and permanent middle cerebral artery occlusion in a murine stroke model studied at 9.4T. *Neurosci Lett.* 388(1):54-59.
272. Nagel S, Wagner S, Koziol J, Kluge B, Heiland S. (2004) Volumetric evaluation of the ischemic lesion size with serial MRI in a transient MCAO model of the rat: comparison of DWI and T1WI. *Brain Res Brain Res Protoc.* 12(3):172-179.
273. Knight RA, Barker PB, Fagan SC, Li Y, Jacobs MA, Welch KM. (1998) Prediction of impending hemorrhagic transformation in ischemic stroke using magnetic resonance imaging in

rats. *Stroke*. 29(1):144-151.

274. Weber R, Ramos-Cabrer P, Hoehn M. (2006) Present status of magnetic resonance imaging and spectroscopy in animal stroke models. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. 26(5):591-604.

275. Inoue Y, Aoki I, Mori Y, Kawai Y, Ebisu T, Osaka Y, et al. (2010) Detection of necrotic neural response in super-acute cerebral ischemia using activity-induced manganese-enhanced (AIM) MRI. *NMR Biomed*. 23(3):304-312.

276. Beckmann N, Stirnimann R, Bochen D. (1999) High-resolution magnetic resonance angiography of the mouse brain: application to murine focal cerebral ischemia models [en ligne]. *J Magn Reson San Diego Calif* 1997. 140(2):442-450.

277. Li L, Ke Z, Tong KY, Ying M. (2010) Evaluation of cerebral blood flow changes in focal cerebral ischemia rats by using transcranial Doppler ultrasonography. *Ultrasound Med Biol*. 36(4):595-603.

278. Lythgoe MF, Thomas DL, Calamante F, Pell GS, King MD, Busza AL, et al. (2000) Acute changes in MRI diffusion, perfusion, T1, and T2 in a rat model of oligemia produced by partial occlusion of the middle cerebral artery. *Magn Reson Med*. 44(5):706-712.

279. Østergaard L. (2005) Principles of cerebral perfusion imaging by bolus tracking. *J Magn Reson Imaging JMRI*. 22(6):710-717.

280. Barbier EL, Lamalle L, Décorps M. (2001) Methodology of brain perfusion imaging. *J Magn Reson Imaging JMRI*. 13(4):496-520.

281. Duong TQ. (2011) Chapter 24: Magnetic resonance imaging in experimental stroke. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 711:473-485.

282. Shen Q, Meng X, Fisher M, Sotak CH, Duong TQ. (2003) Pixel-by-pixel spatiotemporal progression of focal ischemia derived using quantitative perfusion and diffusion imaging (Abstract). *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. 23(12):1479-1488.

283. Santosh C, Brennan D, McCabe C, Macrae IM, Holmes WM, Graham DI, et al. (2008) Potential use of oxygen as a metabolic biosensor in combination with T2*-weighted MRI to define the ischemic penumbra. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. 28(10):1742-1753.

284. Adams HP, del Zoppo G, Alberts MJ, Bhatt DL, Brass L, Furlan A, et al. (2007) Guidelines for the early management of adults with ischemic stroke: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council, Clinical Cardiology Council, Cardiovascular Radiology and Intervention Council, and the Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease and Quality of Care Outcomes in Research Interdisciplinary Working Groups: The American Academy of Neurology affirms the value of this guideline as an educational tool for

neurologists. *Circulation*. 115(20):478-534.

285. Bryan RN, Levy LM, Whitlow WD, Killian JM, Preziosi TJ, Rosario JA. (1991) Diagnosis of acute cerebral infarction: comparison of CT and MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol*. 12(4):611-620.

286. McLeod DD, Parsons MW, Levi CR, Beutement S, Buxton D, Roworth B, et al. (2011) Establishing a rodent stroke perfusion computed tomography model. *Int J Stroke Off J Int Stroke Soc*. 6(4):284-289.

287. McLeod DD, Parsons MW, Hood R, Hiles B, Allen J, McCann SK, et al. (2015) Perfusion computed tomography thresholds defining ischemic penumbra and infarct core: studies in a rat stroke model. *Int J Stroke Off J Int Stroke Soc*. 10(4):553-559.

288. Rajan V, Varghese B, van Leeuwen TG, Steenbergen W. (2009) Review of methodological developments in laser Doppler flowmetry. *Lasers Med Sci*. 24(2):269-283.

289. Dunn AK, Bolay H, Moskowitz MA, Boas DA. (2001) Dynamic imaging of cerebral blood flow using laser speckle. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. 21(3):195-201.

290. Ziegler SI. (2005) Positron Emission Tomography: Principles, Technology, and Recent Developments. *Nucl Phys A*. 752:679-87.

291. Baron JC, Rougemont D, Soussaline F, Bustany P, Cruzel C, Bousser MG, et al. (1984) Local interrelationships of cerebral oxygen consumption and glucose utilization in normal subjects and in ischemic stroke patients: a positron tomography study. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab*. 4(2):140-149.

292. Bardutzky J, Shen Q, Bouley J, Sotak CH, Duong TQ, Fisher M. (2005) Perfusion and diffusion imaging in acute focal cerebral ischemia: temporal vs. spatial resolution. *Brain Res*. 1043(1-2):155-162.

293. Sobesky J, Zaro Weber O, Lehnhardt F-G, Hesselmann V, Thiel A, Dohmen C, et al. (2004) Which time-to-peak threshold best identifies penumbral flow? A comparison of perfusion-weighted magnetic resonance imaging and positron emission tomography in acute ischemic stroke. *Stroke*. 35(12):2843-2847.

294. Sobesky J, Zaro Weber O, Lehnhardt F-G, Hesselmann V, Neveling M, Jacobs A, et al. (2005) Does the mismatch match the penumbra? Magnetic resonance imaging and positron emission tomography in early ischemic stroke. *Stroke*. 36(5):980-985.

295. Li F, Carano RAD, Irie K, Sotak CH, Fisher M. (2000) Temporal evolution of average apparent diffusion coefficient threshold to define ischemic abnormalities in a rat permanent occlusion model. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 9(1):1-7.

296. Hodel J, Rodallec M, Gerber S, Blanc R, Maraval A, Caron S, et al. (2012) Séquences IRM « SWAN, SWI et VenobOLD » exploitant le phénomène de susceptibilité magnétique : principes techniques et applications cliniques. *J Neuroradiol.* 39(2):71-86.
297. Robertson CA, McCabe C, Lopez-Gonzalez MR, Deuchar GA, Dani K, Holmes WM, et al. (2015) Detection of ischemic penumbra using combined perfusion and T2* oxygen challenge imaging. *Int J Stroke.* 10(1):42-50.
298. Holmes WM, Lopez-Gonzalez MR, Gallagher L, Deuchar GA, Macrae IM, Santosh C. (2012) Novel MRI detection of the ischemic penumbra: direct assessment of metabolic integrity. *NMR Biomed.* 25(2):295-304.
299. Zhou J, Payen J-F, Wilson DA, Traystman RJ, van Zijl PCM. (2003) Using the amide proton signals of intracellular proteins and peptides to detect pH effects in MRI. *Nat Med.* 9(8):1085-1090.
300. Sun PZ, Zhou J, Sun W, Huang J, van Zijl PCM. (2007) Detection of the ischemic penumbra using pH-weighted MRI. *J Cereb Blood Flow Metab Off J Int Soc Cereb Blood Flow Metab.* 27(6):1129-1136.
301. Zhou J, van Zijl PCM. (2011) Defining an Acidosis-Based Ischemic Penumbra from pH-Weighted MRI. *Transl Stroke Res.* 3(1):76-83.

REMMEL Paul

COMPARAISON DES LESIONS D'ISCHEMIE-REPERFUSION DANS L'ACCIDENT VASCULAIRE CEREBRAL ET L'INFARCTUS DU MYOCARDE ET SUIVI DE LEUR EVOLUTION PAR DES TECHNIQUES D'IMAGERIE COMPLEMENTAIRE DANS LES MODELES MURINS

Thèse d'État de Doctorat Vétérinaire : Lyon, le 18 octobre 2019

RESUME :

Les maladies vasculaires occlusives représentent une des premières causes de mortalité et de handicap en France. La thérapie principale est la revascularisation. Elle présente un avantage certain mais limité, notamment dans les phases tardives, ce qui en fait l'un des sujets les plus étudiés.

Ce travail de thèse propose de comparer les lésions cérébrales et cardiaques lors d'ischémie-reperfusion. La circulation artérielle et la sensibilité, propres à ces organes, conduisent à une zone à risque et des durées d'évolution différentes, bien que le développement de nécrose et les risques liés à la reperfusion soient communs.

La diversité des présentations rend les études cliniques difficiles et justifie le développement de modèles animaux standardisés. Cette étude s'intéresse ainsi aux similitudes entre l'angioanatomie murine et humaine et souligne la pertinence de cette espèce dans la modélisation des maladies occlusives.

Afin d'étudier cette similitude, nous décrivons deux modèles réalisés dans le laboratoire CARMEN : un modèle d'ischémie-reperfusion cardiaque et un modèle d'ischémie-reperfusion cérébrale. La technique de suivi *post mortem* est également documentée.

Compte-tenu de l'importance de diminuer le nombre d'animaux utilisés expérimentalement et de se rapprocher des conditions cliniques humaines, les techniques d'imagerie disponibles et employées dans les modèles murins sont ensuite décrites. Les avantages et les limites de chacune d'elles sont évoquées à la lumière des techniques *post mortem* de référence.

MOTS CLES :

- Ischémie-reperfusion
- Imagerie par Résonance Magnétique
- Infarctus
- Échographie
- Accident vasculaire cérébral

JURY :

Président :	Monsieur le Professeur LEGA
1er Assesseur :	Madame le Professeur LOUZIER
2ème Assesseur :	Madame le Docteur BOULOCHER
Membre invité :	Madame le Professeur CANET-SOULAS

DATE DE SOUTENANCE : 18 octobre 2019