



Thèse

Présentée par

Frédéric Blanc

Pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université de Strasbourg

Spécialité : Neurosciences

NEUROMYELITE OPTIQUE DE DEVIC, TROUBLES COGNITIFS ET IMAGERIE CERVEALE PAR RESONANCE MAGNETIQUE

Soutenue le 28 octobre 2010 devant la commission d'examen

Pr. Jérôme de Seze

Directeur de Thèse

Pr. Bruno Brochet

Rapporteur externe

Pr. Jean Pelletier

Rapporteur externe

Dr. Jean-Paul Armspach

Examineur interne

Pr. Kathy Dujardin

Examineur

Dr. Stéphane Kremer

Examineur

Résumé

Etat de la question :

La neuromyéélite optique de Devic (NMO) est une pathologie inflammatoire du système nerveux central (SNC) se caractérisant par l'association d'épisodes de myélites extensives et de névrites optiques. Elle fut décrite pour la première fois par Eugène Devic au XIX^{ème} siècle et considérée comme une pathologie à part entière. Puis elle fut classée comme un sous-type de sclérose en plaques (SEP). Plus récemment, la découverte d'auto-anticorps (immunoglobuline G ou IgG) spécifiques de la NMO, appelés anticorps anti-NMO, a permis d'avoir accès à un marqueur biologique d'intérêt pour le diagnostic. Ces anticorps NMO sont dirigés contre l'aquaporine 4 (AQP4), un canal hydrique membranaire prépondérant dans le SNC, surtout exprimé au niveau des terminaisons des astrocytes de la barrière hémato-encéphalique et de la barrière encéphale-liquide céphalo-rachidien.

L'analyse des lésions du SNC est en faveur d'un mécanisme physiopathologique immunitaire à médiation humorale, du fait de l'activation du complément, de l'infiltration de polynucléaires éosinophiles et de la fibrose vasculaire. Chez les patients atteints de NMO on observe une diminution importante de l'expression de l'AQP4 et une perte d'astrocytes dans les lésions au niveau de la moelle épinière et des nerfs optiques. Il existe très peu de données concernant l'atteinte du cerveau à l'examen anatomopathologique : des quelques cas analysés on peut retenir une infiltration macrophagique et une infiltration de polynucléaires éosinophiles au niveau des lésions, comme dans la moelle épinière. L'IRM cérébrale est quant à elle le plus souvent normale en début de maladie; à un stade plus avancé, seuls 10 % des patients présentent des lésions comparables à la SEP . Il est à noter qu'aucune recherche sur une possible atteinte cognitive chez les patients atteints de NMO n'a été réalisée jusqu'à présent.

Question posée :

Nous nous sommes interrogés dans un premier temps sur l'existence ou non de troubles cognitifs chez les patients atteints de NMO. Puis dans un second temps, nous avons souhaité mieux comprendre l'origine de ces troubles cognitifs via l'analyse détaillée de l'IRM cérébrale.

Approches expérimentales :

Dans un premier temps, nous avons comparé de façon multicentrique le statut cognitif de 30 patients NMO à 30 patients SEP et 30 sujets sains, appariés en âge, sexe et niveau socio-éducatif. Nous avons utilisé la batterie courte cognitive pour les patients souffrant de sclérose en plaques (BCcogSEP), batterie issue de la BRB-N de Rao (Battery of Neuropsychological Tests for Multiple Sclerosis), à laquelle 3 tests ont été ajoutés. Cette batterie comprend 14 subtests permettant d'évaluer la mémoire verbale (Serial Reminding Test, SRT), la mémoire visuo-spatiale (10/36), la mémoire immédiate (empan de chiffres endroit), la mémoire de travail (empan de chiffres envers), les fonctions exécutives (Go-no-Go, fluences verbales sémantiques et phonémiques, PASAT, ordres contraires), l'attention (PASAT) et la vitesse de traitement de l'information (code de la Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised – WAIS-R, PASAT). Chacun des 30 patients NMO a aussi bénéficié d'une IRM cérébrale de routine.

Dans un second temps, nous avons fait pratiquer une IRM cérébrale sur un appareil SIEMENS de 1,5 Tesla avec séquence T1 tridimensionnelle de haute résolution 1x1x1 mm (T1 3D, MPRAGE), T2-FLAIR et T2 densité de proton à un groupe de 32 patients NMO issus de la cohorte strasbourgeoise et à 32 témoins appariés en âge, sexe et niveau socio-éducatif. Le volume cérébral global a été estimé pour chaque sujet en substance blanche, substance grise et pour l'ensemble du cerveau par la méthode SIENAx. La perte de volume cérébral focal a été analysée et comparée aux sujets témoins grâce aux séquences T1 3D, en utilisant la méthode VBM (Voxel Based Morphometry) du logiciel SPM5 (Statistical Parametric Mapping, Wellcome Department of Cognitive Neurology, London, UK) dans Matlab 7.7 (The Mathworks, MA, USA). Nous avons comparé voxel par voxel la concentration de substance blanche et de substance grise entre les sujets et les contrôles. Les cartes statistiques avaient pour seuil $p < 0,05$, une taille minimale de 125 voxels, et une correction de type FDR (False Discovery Rate). Puis des corrélations ont été recherchées entre les résultats des tests cognitifs et les volumes cérébraux globaux. Nous avons aussi fait des corrélations focales entre les concentrations de substance grise, de substance blanche et les performances cognitives en utilisant SPM5. Les cartes statistiques avaient pour seuil $p < 0,001$, une taille minimale de 125 voxels et étaient sans correction. Nous avons aussi analysé 24 patients NMO et 12 témoins en spectroscopie par résonance magnétique.

Résultats :

Dans un premier temps, nous avons montré l'existence de troubles cognitifs chez les patients NMO comparables aux sujets atteints de SEP. Dix-sept patients NMO (56,7 %) et 11 patients SEP (36,7 %) avaient au moins un résultat qui différait de plus de deux déviations standards par rapport aux sujets témoins. Nous n'avons pas trouvé de corrélations entre les troubles cognitifs et différents paramètres cliniques (échelle de dépression de Beck, durée de la maladie, acuité visuelle) et paracliniques (lésions en IRM cérébrale, anticorps anti-NMO). La seule corrélation trouvée fut entre l'échelle de cotation du handicap ou EDSS (Expanded Disability Status Score) et le code de la WAIS-R ($p=0,02$).

Dans un second temps, nous avons trouvé une diminution de volume cérébral en substance blanche à la fois globale et focale (au niveau frontal, pariétal, du chiasma optique, des nerfs optiques, du tronc cérébral et du corps calleux). Nous avons trouvé des corrélations entre le volume cérébral global et le déficit cognitif global, l'empan de chiffres envers et le PASAT. Nous avons aussi trouvé une corrélation entre le volume de substance blanche et le PASAT, et le volume de substance grise et l'empan de chiffres envers de même que la SRT.

Par ailleurs, il existait des corrélations en VBM entre les résultats aux tests et la concentration de substance blanche localement : entre les résultats au 10/36 et le chiasma, les nerfs optiques, et le pont ; entre les résultats au code et le pont ; entre les résultats au PASAT et le corps calleux, le pont et le chiasma. De même des corrélations ont été retrouvés entre les résultats aux tests et la concentration de substance grise localement : entre la SRT et le lobe pariétal gauche dans sa partie inférieure ; entre l'empan de chiffres indirect et les thalami ; entre les fluences phonémiques et les thalami ; entre le PASAT et de nombreuses zones corticales et les noyaux gris centraux ; entre les ordres contraires et le tronc cérébral.

En spectroscopie par résonance magnétique, au niveau de la substance blanche et la substance grise d'apparence normale, il n'existait pas d'anomalies pour les principaux paramètres N-Acetyl-Aspartate (NAA), Choline et Myo-inositol (Mi), qui correspondent respectivement à la perte axonale, l'inflammation et la gliose.

Conclusion et perspectives :

Ainsi, nous montrons pour la première fois l'existence de troubles cognitifs chez les patients atteints de NMO, alors qu'il s'agit d'une pathologie connue pour être restreinte quasi exclusivement aux nerfs optiques et à la moelle épinière. Nous avons par ailleurs détecté une atrophie globale et focale de la substance blanche cérébrale mais pas de la substance grise. Cette atrophie est corrélée aux déficits cognitifs. En spectroscopie, nous n'avons pas trouvé d'anomalies : la substance blanche et la substance grise sont d'apparence normale. Il convient désormais de tenter de mieux comprendre l'origine de ces troubles cognitifs en analysant plus finement la substance blanche. Une première approche sera de corrélérer les tests cognitifs aux faisceaux de fibres de substance blanche afin de détecter les zones de dysconnexion. Une seconde approche consistera dans l'analyse anatomo-pathologique plus approfondie des cerveaux de patients NMO décédés, notamment de la substance blanche d'apparence normale à l'IRM.

Je dédie cette thèse à Grazia et à Flavio

Mes remerciements les plus sincères vont ici à tous ceux qui m'ont aidé, soutenu et qui ont participé d'une manière ou d'une autre à ce travail.

Je tiens tout d'abord à remercier vivement Jérôme de Seze, mon directeur de thèse, sans qui ce travail n'aurait pu voir le jour. Sa passion pour les pathologies inflammatoires du système nerveux central est communicative.

Je tiens à remercier l'ensemble des membres du jury de bien avoir voulu juger ce travail. Merci à Kathy Dujardin, Bruno Brochet, Jean Pelletier, Jean-Paul Armspach et Stéphane Kremer, de me faire l'honneur de participer à ce jury.

Mes remerciements vont aussi à Jean-Paul Fuchs qui a bien voulu relire ce travail et qui l'a ainsi enrichi.

Enfin, mes remerciements vont aux équipes du service de neuropsychologie, du département de neurologie, et du laboratoire d'imagerie et de neurosciences cognitives. Les échanges et les collaborations sont la pièce maitresse de ce travail.

Liste des abréviations

ADEM : encéphalomyélite aiguë disséminée

ADC : coefficient apparent de diffusion

AQP4 : aquaporine 4

BOC : bandes oligoclonales en IgG

Ch : choline

EAAT2 : transporteur 2 des acides amines excitateurs

EDSS : expanded disability status score

FA : fraction d'anisotropie

FLS : faisceau longitudinal supérieur

GLT-1 : transporteur 1 du glutamate

IFI : immunofluorescence indirecte

LCR : liquide céphalo-rachidien

MD : diffusivité moyenne

Mi : myo-inositol

MTR : transfert de magnétisation, appelé aussi transfert d'aimantation

NAA : N-acétylaspartate

NMO : neuromyérite optique de Devic

PASAT : Paced auditory serial addition test

SB : substance blanche

SBAN : substance blanche d'apparence normale

SDMT : symbol digit modalities test

SEP : sclérose en plaques

SG : substance grise

SGAN : substance grise d'apparence normale

SNC : système nerveux central

Spectro-IRM : Spectroscopie par résonance magnétique

SRT : selective reminding test

TNT : nanotubes tunnels

VT : transmission volumique

Table des matières

Introduction.....	11
Historique.....	11
Anatomopathologie.....	12
Description clinique.....	15
Description paraclinique.....	15
1. Anticorps anti-NMO.....	15
2. Système HLA.....	17
3. Etude du liquide céphalo-rachidien.....	17
4. IRM.....	18
a. IRM médullaire.....	18
b. IRM cérébrale.....	20
Critères diagnostiques de Neuromyérite Optique de Devic.....	23
Traitement.....	24
Evolution.....	26
Mécanismes physiopathologiques de la neuromyérite optique.....	28
Auto-anticorps anti-aquaporine 4	28
Aquaporine 4	28
Aquaporine 4 et homéostasie du glutamate.....	31
Aquaporine 4 et neuromyérite optique.....	32
1. Rôle potentiel des anticorps anti-NMO dans la rupture de la barrière hémato-encéphalique.....	33
2. Les anticorps anti-NMO favoriseraient l’inflammation périvasculaire.....	33
Limites de l’hypothèse pathogénique liée aux seuls anticorps anti-AQP4	34
Question posée.....	36
Etude des fonctions cognitives dans la neuromyérite optique de Devic.....	37
Commentaires	43
1. Limites de cette étude.....	43
2. Profil cognitif.....	44
3. Absence de corrélation avec l’IRM conventionnelle.....	45
Evaluation des patients atteints de neuromyérite optique par spectroscopie de résonance magnétique.....	47

Commentaires	51
1. Limites de cette étude.....	51
2. Spectroscopie IRM dans la NMO et dans la SEP.....	52
3. D'autres approches IRM pourraient-elles expliquer les troubles cognitifs.....	53
Volume cérébral et fonctions cognitives dans la neuromyéélite optique.....	54
Commentaires	82
1. Les troubles cognitifs.....	83
2. Volumétrie cérébrale.....	83
3. Cognition et volumétrie locale.....	85
4. Limites de cette étude.....	86
Discussion.....	88
1. Atteintes connues de la substance blanche et de la substance grise dans la NMO.....	88
Synthèse des résultats connus en IRM non conventionnelle.....	88
Corrélations avec les tests cognitifs.....	90
2. Les troubles cognitifs peuvent-ils uniquement être liés à l'atteinte optico-spinale ?.....	90
3. Comment faire le lien entre ces hypothèses ?.....	92
La voie systémique.....	93
La voie locale ou loco-régionale.....	93
a. Les connexines et pannexines.....	94
b. Les nanotubes tunnels.....	95
c. Les microvésicules.....	97
d. Concept de transmission volumique.....	97
Hypothèses physiopathologiques de l'atteinte cérébrale	97
Rôle des canaux AQP4 et des jonctions gap.....	98
Rôle des microvésicules.....	99
Rôle du transporteur du glutamate.....	100
Synthèse et conséquences locales et locorégionales.....	100
Conclusion et perspectives.....	102

Introduction

La Neuromyélie Optique de Devic (NMO) est une pathologie inflammatoire du système nerveux central (SNC) se caractérisant par l'association d'épisodes de myélites extensives et de névrites optiques. Elle fut décrite pour la première fois par Eugène Devic et son élève Fernand Gault au XIX^{ème} siècle et considérée comme une pathologie à part entière. Puis elle fut classée comme un sous-type de sclérose en plaques (SEP). La découverte récente d'auto-anticorps (classe IgG) spécifiques de la NMO, dirigés contre l'aquaporine 4 (AQP4), a finalement montré qu'il s'agit en fait d'une pathologie inflammatoire du SNC différente de la SEP.

L'existence d'une atteinte cérébrale dans la NMO est discutée. Notre introduction se focalisera donc sur les données connues d'atteinte cérébrale, et ce depuis les premières descriptions de la maladie.

Historique

Dès 1870, Thomas Clifford Allbutt s'étonnera de la fréquence d'association entre myélite aiguë et atteinte oculaire : « C'est bien là le type de la névrite optique aiguë que nous verrons dans la plupart de nos observations et qui précède ou accompagne la myélite aiguë ». ¹⁻² Mais ce n'est qu'à partir de 1894 que Eugène Devic et son élève Fernand Gault vont décrire pour la première fois la Neuromyélie Optique dite de Devic, respectivement sous la forme d'un article et d'une thèse. ²⁻³ La thèse de Fernand Gault sera surtout l'occasion de faire le point sur toutes les observations décrites associant une myélite aiguë avec névrite optique. Au total 17 observations seront détaillées : celles des médecins

Chauvel du Val-de-Grâce (1880), Erb d'Heidelberg (1880), Noyes de New-York (1881), Rumpf de Düsseldorf (1881), Schanz de Dresde (1893), Drake-Brockman de Madras en Inde (1892), – observations dites « typiques » –, puis Firth (1886), Dreschfeld de Manchester (1882), Abadie (1876), Seguin (1880), Steffan (1879), – observations dites « moins typiques » –, et enfin les observations avec autopsie, Knapp de New-York (1885), Fuchs (1893), Scharkey (1884), Drechsfield (1894), Achard et Guinon (1889), et Devic (1894). La revue de ces cas a été pour nous l'occasion de nous interroger sur l'existence d'une atteinte cérébrale dans ces cas princeps.

Le patient de Drake-Brockman décéda d'une probable atteinte du tronc cérébral.⁴ Cependant, le patient présentait aussi de la fièvre et avait eu un épisode de convulsions : s'agissait-il d'une atteinte optico-spinale d'origine infectieuse ou réellement d'origine inflammatoire ? La première patiente de Drechsfield de 1882 avait un tableau de tétraplégie avec « névrite optique marquée ».⁵ L'auteur a pu constater que malgré une « intelligence conservée » sans « troubles mentaux », la patiente âgée de 38 ans « semblait avoir quelques embarras à répondre aux questions » (réponses lentes). Elle va décéder d'une atteinte respiratoire sur « paralysie diaphragmatique ». A l'examen anatomopathologique il est décrit des « points hémorragiques » dans le cerveau avec « méninges congestionnées » et dilatation ventriculaire en plus d'une lésion ramollie et jaunâtre de la moelle cervicale étendue sur « 1 pouce ½ ». Le second patient de Dreschfeld, âgé de 41 ans a présenté sur un peu plus d'un mois d'abord un important trouble visuel puis une paraplégie et un « délire la nuit ». De plus, il « murmure souvent en s'adressant à lui-même ». L'examen du cerveau en nécropsie est normal mais les nerfs optiques sont aussi décrits comme normaux alors qu'il est aveugle... La patiente de Fuchs âgée de 33 ans, dont l'observation a été publiée dans le journal ancêtre du « Journal of Neurology », a une « faiblesse de la mémoire » (p. 40). L'autopsie du cerveau n'est pas décrite, mais il existe par contre une importante atteinte des nerfs optiques : « névrite typique qui égale au plus haut degré celle décrite par Uhtoff dans l'alcoolisme chronique », associée à une myélite dorsolombaire.⁶ La patiente de Scharkey est un cas typique de NMO avec une atteinte inflammatoire des deux nerfs optiques et de la moelle cervicale sur « 3 à 5 pouces ». Elle présente aussi une inflammation des méninges à la partie inférieure des lobes frontaux « *on the under surface of the frontal lobes* ».⁷ Enfin, l'autopsie du patient de Achard et Guinon montre une atteinte du tronc cérébral.² Ainsi, parmi les 17 cas princeps, dont Gault a résumé les cas dans sa thèse, 6 avaient une atteinte de l'encéphale clinique et/ou anatomopathologique.

Anatomopathologie

Dès les premières observations du XIXème siècle, différents auteurs vont constater l'originalité des cas de NMO. Ainsi, Dreschfeld en 1894, étudiant un troisième cas de NMO, va constater plusieurs points inhabituels à l'autopsie de son patient de 23 ans :⁸

- Les plaques inflammatoires au niveau médullaire sont de taille et distribution irrégulières. A certains endroits ces plaques occupent la moitié de la substance blanche de la moelle, à d'autres endroits les plaques sont si petites qu'elles ne peuvent être visualisées qu'avec un microscope.
- Les gaines périvasculaires sont distendues et accompagnées de leucocytes et de cellules granulaires au niveau de tous les vaisseaux de la moelle.

Par la suite, il existe peu de séries ayant analysé l'histopathologie de patients atteints de NMO jusqu'à la fin du XXème siècle. La plupart des articles publiés ne concernaient que un à deux patients.⁹⁻¹⁴ A partir du début des années 1990 des séries plus larges ont permis de mieux analyser le pattern anatomopathologique de ces patients. Sur ces premières cohortes, la caractéristique principale des lésions NMO est leur localisation : la moelle épinière et le nerf optique – le cerveau semblant indemne de toute lésion. La lésion cavitaire, extensive de la moelle épinière, participe à la signature du diagnostic anatomopathologique de la NMO pour les premières descriptions.¹⁵ Ainsi, Mandler *et al.* ont décrit 5 patients qui avaient tous une myélopathie nécrosante sévère s'accompagnant d'un épaissement net des vaisseaux à tel point que la distinction entre artères et veines semblait difficile.¹⁵ Cette même équipe ne retrouvait pas d'infiltrat inflammatoire ni au niveau médullaire, ni au niveau du nerf optique. Seuls quelques lymphocytes étaient trouvés à proximité des lésions nécrotiques de la moelle.

Les aspects démyélinisants et inflammatoires de la maladie vont se préciser au cours des années 2000 grâce à l'équipe de la Mayo Clinic à Rochester (Etats Unis d'Amérique) et des équipes de Berlin et Vienne, qui vont étudier 9 cas de NMO et 82 de leurs lésions.¹⁶ L'examen anatomopathologique de la moelle épinière de ces patients montrera une démyélinisation extensive avec cavitation et nécrose, ainsi qu'une atteinte axonale à la fois de la substance blanche et de la substance grise dans la partie centrale de la moelle épinière. Ces axones sont sphéroïdes et œdémateux, reflet d'une atteinte axonale aiguë. La perte d'oligodendrocytes au sein des lésions est majeure. La remyélinisation est très rare dans la moelle alors qu'elle semble un peu plus fréquente dans le nerf optique. L'atteinte inflammatoire se fait sous la forme d'infiltrats macrophagiques/microgliaux extensifs – associés à des polynucléaires neutrophiles et éosinophiles dans les lésions précoces. De

nombreux lymphocytes B et de rares lymphocytes T CD8+ sont aussi présents. De plus, des dépôts d'immunoglobulines (Ig), essentiellement des IgM, sont associés à des dépôts de complément de type C9néo (marqueur de destruction tissulaire liée au complément) au niveau des lésions actives, au contact et autour des vaisseaux épaissis. Des dépôts de complément C1q, C3, C4, C6, C7, C8 et C9 sont aussi retrouvés en périvasculaire, mais de façon plus diffuse. Une fibrose vasculaire ainsi qu'une hyalinisation sont observées dans toutes les lésions, qu'elles soient actives ou inactives. Cependant, il n'existe pas d'aspect de vascularite avec nécrose fibrinoïde et infiltrat de polynucléaires.

Ainsi, le pattern neuropathologique trouvé chez ces patients est en faveur d'un mécanisme lié à une réaction immunitaire humorale. En effet, comme pour les atteintes inflammatoires de la SEP ou des encéphalomyélites aiguës disséminées, il est observé la présence de cellules microgliales et lymphocytaires T. Cependant, l'atteinte de type NMO se caractérise par la nette présence de lymphocytes B, de dépôts d'immunoglobulines et de C9néo dans la totalité des cas (contre la moitié des cas dans la SEP), ainsi que de polynucléaires éosinophiles et neutrophiles dans plus de la moitié des cas (contre 1 cas sur 73 dans la SEP ; ce cas est une forme particulière, aiguë, dite de Marburg). Enfin, la présence de microglie et de complément activés ainsi que d'immunoglobulines autour et au contact des vaisseaux associés à des vaisseaux hyalinisés, suggère que le système vasculaire du SNC est une cible précoce du phénomène pathogène.

Les premières descriptions anatomopathologiques faites au XX^{ème} siècle ne montraient pas d'atteinte cérébrale. L'analyse était cependant quelque peu « légère » puisque seule une coloration LFB/PAS (Luxol Fast Blue/Periodic Acid-Schiff) était pratiquée pour rechercher une éventuelle démyélinisation cérébrale. Aucun des patients n'avaient de telles lésions.¹⁵ Récemment, un jeune patient, présentant une atteinte médullaire extensive, des névrites optiques à répétition et une atteinte cérébrale clinique sous la forme d'une hémiparésie gauche, a été autopsié à son décès. L'IRM cérébrale montrait une atteinte en hypersignal T2 des ganglions de la base, du tronc cérébral, du centre semi-ovale droit et du corps calleux. Lors de l'examen anatomo-pathologique, les mêmes lésions caractéristiques de la NMO ont été retrouvées au niveau de la moelle épinière et des nerfs optiques, mais aussi dans le cerveau, avec notamment la présence fréquente de macrophages et de polynucléaires éosinophiles au niveau des lésions macroscopiques.¹⁷ Un second cas de NMO a fait l'objet

d'un examen anatomopathologique sur biopsie cérébrale des régions occipitales.¹⁸ En plus des éléments identiques décrits chez le premier patient, une perte d'astrocytes et une diminution de l'aquaporine 4 ont été observées au niveau des lésions. Concernant les astrocytes restants, leurs ramifications étaient réduites, à la fois en nombre et en longueur.

Description clinique

La NMO se caractérise par l'association d'épisodes de myélites et de névrites optiques, le début de la pathologie se situant vers l'âge de 35 ans.¹⁹⁻²² Dans la série française multicentrique, comprenant 125 patients, qui a été décrite récemment par Collongues *et al.*, l'âge de début de la maladie était de $34,5 \pm 13,2$ ans, 10 % des patients ayant débuté la maladie avant 18 ans et 16 % après 50 ans. Le ratio femme:homme se situe entre 2,5:1 et 4:1. L'existence de pathologies auto-immunes associées concerne 10 à 25 % des patients en fonction des séries.¹⁹⁻²¹ Il s'agit en général de connectivites tels que le syndrome de Gougerot-Sjögren ou le lupus érythémateux disséminé, mais aussi d'autres pathologies autoimmunes telles que les thyroïdites.

L'atteinte initiale est spinale dans 45 % des cas, optique dans 46 % des cas et une atteinte simultanée de la moelle et des nerfs optiques a lieu dans 18 % des cas.¹⁹

La majorité des patients ont une évolution rémittente de la maladie avec des épisodes de névrites optiques ou myélites. Ainsi dans la série française, 73 % des patients ont une forme rémittente, 25 % une forme monophasique (avec un seul épisode clinique) et 2 % une forme progressive.¹⁹

Description paraclinique

1. Anticorps anti-NMO

La découverte en 2004 de l'existence d'auto-anticorps chez les patients atteints de NMO a modifié la classification des pathologies inflammatoires du système nerveux central.²³ Ainsi, la présence d'auto-anticorps de type IgG, appelés anticorps anti-NMO, détectés par immunofluorescence indirecte (IFI) permet de différencier la NMO de la SEP.²³ Comme nous allons le voir, alors que la spécificité du test est excellente, sa sensibilité n'est pas aussi importante. Cependant, ces anticorps pourraient avoir un intérêt prédictif.

Le protocole de référence pour l'analyse des sérums de patients NMO par IFI a été développé par le laboratoire d'immunologie de la Mayo Clinic de Rochester : des coupes de cervelet et de rein de souris sauvage saine sont incubées en présence d'un sérum pré-absorbé, puis la présence d'auto-anticorps NMO (IgG) est révélée à l'aide d'un anticorps de chèvre anti-IgG humain, conjugué à la fluorescéine. Le test est considéré comme positif quand un signal est détecté dans des zones riches en AQP4 : dans le cerveau, on observe un signal de forme linéaire au niveau de la pie-mère, des espaces de Virchow-Robin, et en continuité de ces derniers, un marquage des micro-vaisseaux et capillaires. Dans la région sub-piale, le signal est distribué en forme de maillage. Les reins sont marqués au niveau des tubules distaux.²³⁻²⁴ La sensibilité et la spécificité de ces anticorps anti-NMO ont d'abord été décrit comme étant respectivement de 73 et 91 %, ces déterminations étant réalisées sur des sérums de patients NMO versus des sérums de patients SEP.²³ Une étude plus récente de la même équipe a trouvé une sensibilité moindre de 58 % et une spécificité renforcée de 99,6 %. Cependant pour cette dernière valeur, le groupe témoin comportait d'autres pathologies neurologiques que la SEP.²⁴ Dans l'étude multicentrique française, on retrouve cette différence de spécificité selon que la spécificité est calculée uniquement à partir du groupe témoin SEP – elle est ici de 90 % –, ou bien à partir de ce groupe plus des patients infectés par le HTLV-1, ou atteints de diverses pathologies neurologiques (neuropathie optique d'origine alcoolique, encéphalite de Bickerstaff, compression épidurale...) – elle est ici de 94 %.²⁵ Quant à la sensibilité réelle du test, elle semble plutôt être aux alentours de 50 % plutôt que 73 %. Une valeur proche de 50 % a également été trouvée par des équipes françaises à partir de 111 patients (54 %),¹⁹ italiennes à partir de 33 patients (39 %),²⁶ germano-italo-britanniques à partir de 37 patients (56,8 %).²⁷ Chez les patients d'origine antillaise, la sensibilité des anticorps anti-NMO est encore plus faible : chez 48 patients des Antilles françaises et de Cuba, seuls 33 % d'entre eux avaient des anticorps anti-NMO.²⁸ Enfin, dans la cohorte française de 111 patients, l'utilisation du test biologique pour le diagnostic de NMO à partir des critères de diagnostic de NMO récents (cf. infra) n'était nécessaire que chez 10 % des patients NMO.¹⁹

La présence d'anticorps NMO semble être de mauvais pronostic. Ainsi, les patients antillais séropositifs font plus de poussées, surtout médullaires, et ont un score EDSS plus élevé que les patients séronégatifs. Par ailleurs, lors des phases de rémission chez ces patients

séropositifs, on observe plus souvent l'apparition de lésions médullaires et cérébrales asymptomatiques.²⁸ L'existence de poussées plus fréquentes chez les patients avec anticorps a aussi été montrée chez les patients japonais.²⁹ Chez les patients caucasiens, une étude européenne, à partir de 9 patients, a révélé un taux d'anticorps anti-NMO multiplié par trois chez les patients en poussée.³⁰

Enfin, l'existence d'anticorps anti-NMO chez des patients présentant soit des névrites optiques à répétition, soit des myélites transverses à répétition est prédictif de l'évolution vers une NMO.³¹⁻³³

2. Système HLA

La première étude du système HLA de patients NMO a été faite au Japon. Elle a comparé 70 patients NMO, dont 38 avec anticorps anti-NMO, à 125 sujets sains et 52 patients SEP.³⁴ La fréquence du HLA-DPB1*0501 était significativement augmentée chez les patients avec anticorps anti-NMO par rapport aux sujets sains, mais pas par rapport aux patients NMO séronégatifs et aux patients SEP. Nous avons aussi participé à une étude du système HLA en France rassemblant les centres de Lille, Lyon et Strasbourg.³⁵ Notre étude a comparé 45 patients NMO, dont 24 avec anticorps anti-NMO, à 310 sujets sains et 161 patients SEP. Les patients NMO séronégatifs présentaient une fréquence plus élevée de l'allèle HLA-DQA1*102 et les patients séropositifs une fréquence plus élevée de l'allèle HLA-DRB1*03 ceci par rapport aux sujets sains mais non par rapport aux patients SEP. L'allèle trouvé chez les patients japonais n'a pas été trouvé chez ces patients caucasiens. La plus grande fréquence de l'allèle DRB1*03 vient d'être confirmée dans une population brésilienne de patients NMO séropositifs.³⁶ Il semblerait donc y avoir une susceptibilité génétique différente, liée au complexe majeur d'histocompatibilité, entre patients NMO séropositifs et séronégatifs.

3. Etude du liquide céphalo-rachidien

Classiquement, l'étude du liquide céphalo-rachidien (LCR) des patients atteints de NMO associe une pléiocytose avec une hyperprotéinorachie. Ainsi, 79 % des 53 premiers patients de la Mayo Clinic avaient une pléiocytose (plus de 5 globules blancs par mm³) avec la présence de quelques polynucléaires neutrophiles dans 57 % des cas.³⁷ Dans la série

française, l'étude du LCR a montré la présence en moyenne de $23 \pm 7,4$ lymphocytes/mm³ et de $9 \pm 14,7$ polynucléaires neutrophiles/mm³.¹⁹ La présence de globules blancs dans le LCR n'est cependant pas un élément de différenciation avec la SEP.³⁸

A contrario, il existe une différence significative entre SEP et NMO concernant la présence de bandes oligoclonales en IgG (BOC). Ainsi, dans la NMO seuls 23 à 35 % des patients présentent des BOC, alors que c'est le cas chez près de 90 % des SEP.³⁸ Par ailleurs, ces BOC disparaissent souvent au cours de la maladie.³⁹ Enfin, la réaction intrathécale polypécifique lymphocytaire B (ou réaction MRZ pour oreillons, rubéole et zona) est habituelle dans la SEP mais absente dans la NMO.⁴⁰

4. IRM

Deux parties du système nerveux central peuvent être explorées dans la NMO grâce à l'imagerie par résonance magnétique (IRM) : la moelle épinière et l'encéphale. Par ailleurs, cette exploration peut se faire grâce à des séquences classiques (séquences pondérées en T1, T2 ou T2-FLAIR avec ou sans injection de Gadolinium) ou bien grâce à des séquences plus rarement utilisées (transfert d'aimantation, diffusion...).

a. IRM médullaire

L'IRM médullaire est un examen clé du diagnostic. En effet, l'existence d'un aspect de myélite transverse extensive caractérise les atteintes médullaires de la NMO. Chez les patients NMO, l'IRM médullaire en séquence T2 montre habituellement des lésions étendues sur plus de 3 segments vertébraux.³⁹ Au stade aigu de la maladie, les lésions médullaires peuvent s'accompagner d'une prise de contraste de gadolinium (69 % des poussées) – le plus souvent diffus, entourant la zone d'hypersignal –, d'un œdème de la moelle épinière (67 % des poussées), et d'une nécrose sous la forme d'une cavitation (16 % des poussées).⁴¹ L'extension verticale sur trois ou plus de trois segments vertébraux est le marqueur IRM le plus important de la pathologie.³⁹ La partie cervicale de la moelle est touchée dans près des deux tiers des cas.⁴¹ Les poussées au niveau de la moelle épinière récidivent au même endroit ou à proximité dans 67 % des cas. Sur le plan axial, c'est la partie centrale de la moelle épinière qui est la plus touchée. Le suivi en IRM permet de voir une diminution progressive de l'œdème et de l'hypersignal T2 avec parfois une fragmentation des anomalies

de signal. La persistance de la cavitation est possible mais en général rare.⁴¹ Le développement d'une atrophie médullaire est retrouvée dans 13 à 22 % des cas.^{37,41}

En dehors des séquences conventionnelles, il est aussi possible de pratiquer des séquences d'IRM de diffusion. La diffusion peut être définie comme un mouvement microscopique translationnel aléatoire de molécules dans un système fluide. Dans le SNC la diffusion est influencée par les composants microstructuraux des tissus, tels que les membranes cellulaires et les organelles.⁴² Le coefficient de diffusion de tissus biologiques est ainsi inférieur à celui de l'eau libre : il est appelé coefficient apparent de diffusion (ADC).⁴² Ainsi, les séquences de diffusion et en particulier l'ADC permettent d'évaluer le mouvement des molécules d'eau qui peut être modifié lors de processus pathologiques.⁴³ Etant donné que certaines structures cellulaires sont alignées sur l'échelle d'un pixel d'IRM, la mesure de la diffusion est dépendante de la direction dans laquelle la diffusion est mesurée.⁴² Une mesure de la diffusion indépendante de l'orientation des structures cellulaires est la diffusivité moyenne (MD) qui correspond à la moyenne de l'ADC mesurée dans trois directions orthogonales. Une pleine caractérisation de la diffusion peut être obtenue en terme de tenseur. Le tenseur de diffusion en IRM est une matrice (3x3) représentant la corrélation du déplacement moléculaire selon plusieurs directions orthogonales. A partir du tenseur de diffusion il est possible de retrouver la MD mais aussi des index d'anisotropie dont le plus courant est la fraction d'anisotropie. La FA représente une mesure de la cohérence des fibres à l'intérieur du voxel.

Dans la NMO, l'imagerie par tenseur de diffusion de la moelle épinière montre une augmentation significative de la MD et de la FA des lésions médullaires par rapport aux lésions médullaires de SEP. Ces modifications sont corrélées au handicap (EDSS), de même qu'à l'étendue des lésions tissulaires.⁴⁴⁻⁴⁵

Une autre technique IRM non conventionnelle est le transfert de magnétisation (MTR). Cette technique serait un indicateur non spécifique de l'intégrité des tissus.⁴⁶ Son principe repose sur le transfert de magnétisation longitudinale d'un noyau d'hydrogène d'une molécule d'eau dont les mouvements sont restreints (par exemple une molécule d'eau liée via une liaison hydrogène à une macromolécule telle qu'une protéine ou un lipide), vers un autre noyau d'hydrogène d'une molécule d'eau qui peut se mouvoir selon de nombreux degrés de

liberté.⁴⁷ La partie cervicale de la moelle épinière des patients NMO a été comparée à celle de sujets témoins. Le transfert de magnétisation mesuré par son ratio en pourcentage est significativement différent des sujets témoins.⁴⁸ Les lésions médullaires de SEP et de NMO ont été comparées en MTR : Filippi *et al.* n'ont pas trouvé de différences significatives entre ces deux types de lésions.⁴⁹

b. IRM cérébrale

Alors que sur les descriptions princeps de la NMO l'absence d'atteinte cérébrale faisait partie du tableau de la maladie, l'IRM cérébrale a permis de changer la vision classique de cette pathologie. En effet, 60 à 65 % des patients présenteraient des lésions cérébrales à un moment donné.⁵⁰⁻⁵¹ Une équipe japonaise a même montré la présence de lésions cérébrales chez 89 % des patients avec 56 % de prises de contraste.⁵² Une équipe espagnole a suggéré à partir de l'étude de 3 cas que les lésions cérébrales pouvaient être présentes au niveau périventriculaire lors d'une poussée puis disparaître rapidement alors que les lésions sous-corticales, du corps calleux et du tronc pouvaient persister.⁵³ Cependant, la cohorte française de 125 patients a montré qu'il existait peu de lésions cérébrales. Ainsi, seuls 0,06 % des patients ont des lésions sur leur première IRM cérébrale, et aucun n'avait les critères de Barkhof ou de Paty. Parmi les 8 patients qui avaient des lésions, 2 avaient des lésions aspécifiques (fréquentes après 50 ans), 2 avaient des lésions évoquant une vascularite, et 4 avaient des lésions prenant le contraste évoquant une encéphalomyélite aiguë disséminée (ADEM).^{19,54} Et malgré un suivi de plus de $10 \pm 7,8$ ans, l'IRM cérébrale restait normale chez près de 75 % des patients. Il convient aussi de souligner que les lésions décrites par l'équipe de la Mayo Clinic de Rochester sont le plus souvent aspécifiques. En effet, parmi les 59 patients de leur cohorte ayant bénéficié d'IRM cérébrales, 29 avaient une première IRM anormale (49 %) ; sur 29 patients, 24 patients (83 %) avaient des lésions aspécifiques et de faible volume, 3 patients (10 %) des lésions remplissant les critères de Barkhof de SEP, 1 patient avait des lésions du tronc et 1 patient une hydrocéphalie.⁵⁵

Les lésions spécifiques en hypersignal T2, d'allure inflammatoire, sont localisées au niveau cérébral dans des zones riches en AQP4 (tronc cérébral, cervelet, et régions périventriculaires). Sur 120 patients étudiés, seuls 8 (6,6 %) avaient des lésions inflammatoires nettes de ce type.⁵⁰

L'IRM cérébrale avec injection en séquence T1 peut montrer la présence de prises de contrastes décrites comme ressemblant à des nuages. En effet, cette prise de contraste se fait sous la forme de petites zones adjacentes multiples, comme une accumulation de nuages. A contrario, dans la SEP la prise de contraste est souvent plus nette et isolée.⁵²

En IRM non conventionnelle, le cerveau des patients a été étudié par tenseur de diffusion, MTR, spectroscopie et IRM fonctionnelle.

En tenseur de diffusion, la mesure de la fraction d'anisotropie s'est avérée normale au niveau du tissu cérébral dans son ensemble, mais elle est diminuée dans la substance blanche.⁵⁶⁻⁵⁷ Ceci pourrait être le reflet d'un défaut d'intégrité structurelle de la substance blanche d'apparence normale (SBAN). De plus, la MD est augmentée dans la SBAN et surtout dans la substance grise d'apparence normale (SGAN).⁵⁶⁻⁵⁸

En MTR, une première étude ne s'est intéressée qu'à la substance blanche. Le MTR est identique aux témoins au niveau de la SBAN, alors qu'il est diminué au même niveau chez les patients SEP.⁴⁹ Une seconde étude s'est intéressée à la fois à la SBAN et la SGAN.⁵⁸ Elle trouve une diminution du MTR mais uniquement au niveau de la SGAN et confirme l'absence d'anomalie en MTR au niveau de la SBAN.⁵⁸

La spectroscopie par résonance magnétique (spectro-IRM) a pour but de visualiser différentes molécules ainsi que leur concentration, contenues dans un tissu biologique. En spectro-IRM protonique médicale, les molécules suivantes sont habituellement mesurées :

1. Le N-acétylaspartate (NAA) donne la raie de plus grande amplitude. Ce métabolite est essentiellement synthétisé dans les neurones et transporté le long des axones. Il est distribué uniformément dans le tissu cérébral sain. L'intensité du NAA diminue lorsqu'il y a souffrance cérébrale. Il semblerait qu'il puisse être associé au nombre de neurones fonctionnels, et donc au dysfonctionnement et/ou à la perte axonale/neuronale.⁵⁹⁻⁶⁰

2. Les composés à choline (Cho) correspondent aux produits de dégradation des phospholipides membranaires. Ainsi le pic de Cho est considéré comme un bon indicateur de l'activité de synthèse ou de dégradation membranaire.⁵⁹

3. Les composés à créatine (Cr) sont impliqués dans le métabolisme énergétique.

4. Le myo-inositol (Mi) jouerait un rôle dans la régulation osmotique et le volume cellulaire. Il est considéré comme un marqueur de la glie.

5. Le glutamate (Glu) et la glutamine (Gln) sont des acides aminés, le premier est aussi le neurotransmetteur exciteur le plus répandu. La mesure de leur pic est complexe.⁵⁹

6. Les lactates ne sont habituellement pas retrouvés dans les cerveaux sains. Il s'agit des produits de dégradations de la glycolyse anaérobie.⁶⁰

7. Le pic des lipides associe en réalité lipides et macromolécules. Dans les tissus sains, il apparaît comme plusieurs pics de faible hauteur.⁶⁰

Les résultats de l'étude par spectro-IRM sera développé dans la partie résultat de cette thèse. Nous discuterons les autres études en spectro-IRM à la suite.

Les études en IRM fonctionnelle ont été de deux types : soit réalisée à l'état de repos, soit lors d'une tâche motrice.^{48,61} Cette dernière étude a consisté à enregistrer l'activité cérébrale des patients NMO lors d'une tâche répétitive avec la main (flexion/extension des 4 derniers doigts à droite puis à gauche) , à la comparer à des sujets témoins, et à corrélés ces résultats à l'atteinte de l'intégrité de la moelle épinière dans sa partie cervicale en utilisant le MTR. Comparativement aux témoins, les patients NMO présentent une augmentation du recrutement de plusieurs régions du réseau sensitivo-moteur (cortex primaire moteur et sensitif, gyrus postcentral, gyrus frontal médian, opercule rolandique, cortex secondaire moteur et sensitif, pré-cunéus et cervelet), ainsi que d'autres régions dans les lobes occipitaux et temporaux. Par ailleurs, les auteurs ont trouvé une corrélation nette entre l'activation relative des aires sensitivo-motrices corticales et la sévérité de l'atteinte cervicale.⁴⁸ L'étude en IRM fonctionnelle de repos à quant à elle montrée une diminution significative de l'activité par rapport aux témoins dans certaines régions : pré-cuneus, cortex cingulaire postérieur, gyrus lingual ; et une augmentation dans d'autres régions : gyrus frontal médian, noyau caudé et thalamus.⁶¹ Ces modifications de l'activité cérébrale interrogent évidemment sur le statut cognitif des patients, comme nous le verrons dans la partie résultat de cette thèse.

Critères diagnostiques de Neuromyéélite Optique de Devic

La première proposition de critères diagnostiques de NMO fut publiée en 1999.³⁷ A l'époque, les critères étaient les suivants :

Critères absolus : névrite optique, myélite aiguë, absence d'atteinte clinique en dehors du nerf optique et de la moelle épinière.

Critères secondaires : au moins un critère majeur ou deux critères mineurs :

Critères majeurs : 1. IRM cérébrale normale ou ne remplissant pas les critères de Paty de SEP ; 2. Présence à l'IRM médullaire d'une lésion supérieure ou égale à 3 segments vertébraux ; 3. L'étude du liquide céphalo-rachidien montre ≥ 50 globules blancs / mm^3 ou ≥ 5 polynucléaires neutrophiles/ mm^3 .

Critères mineurs : 1. Névrite optique bilatérale ; 2. Névrite optique sévère avec acuité visuelle résiduelle $\leq 1/10$; 3. Parésie sévère d'au moins un membre.

Cependant, ces critères avaient leurs limites. En particulier, ils empêchaient d'inclure des patients NMO présentant des symptômes autres que myélite et névrite optique. De même ils empêchaient d'inclure des patients NMO avec lésions inflammatoires cérébrales pouvant remplir les critères de SEP. A l'inverse, certains patients atteints d'une SEP débutante ayant eu névrite optique et myélite, mais sans lésions cérébrales, pouvaient remplir ces critères dans l'évolution de leur maladie. Par ailleurs, la découverte des anticorps anti-NMO a modifié l'approche de cette pathologie comme nous l'avons vu plus haut. C'est pourquoi, l'équipe de la Mayo Clinic de Rochester a proposé de réviser ces critères.⁶²

Les critères révisés de NMO associent névrite optique et myélite aiguë à au moins deux autres critères sur trois : 1. Lésion médullaire IRM d'au moins 3 segments vertébraux de hauteur ; 2. IRM cérébrale ne remplissant pas les critères de Paty ; 3. Anticorps anti-NMO positifs.

Les critères IRM de SEP dits de Paty sont les suivants : 1. Au moins 4 lésions de plus de 3 mm ou 2. Au moins 3 lésions de plus de 3 mm dont une affecte les ventricules latéraux.⁶³

Ces nouveaux critères ont une sensibilité de 99 % et une spécificité de 90 %, valeurs calculées à partir de 96 patients atteints de NMO et 33 de SEP.⁶²

Traitement

Le traitement de la NMO est basé sur le mécanisme physiopathologique supposé de la maladie, en l'occurrence une inflammation médiée par les lymphocytes B. Comme dans la SEP, le traitement de la NMO peut être subdivisé en traitement de la poussée et traitement de fond.

Peu de données existent sur le traitement des poussées. En effet, le traitement de la poussée est calqué sur le traitement de la poussée dans les vascularites : le traitement de première intention consiste en des perfusions de méthyprednisolone, le plus souvent de 1000 mg par jour et pendant au moins 3 à 5 jours pour une dose totale de 3 à 10 grammes.⁶⁴ L'intérêt de la corticothérapie précoce a été montrée sur la protection de l'épaisseur des fibres nerveuses rétiniennes ainsi que sur l'acuité visuelle résiduelle.⁶⁵

S'il existe une résistance au traitement par corticoïdes, un traitement par plasmaphérèse peut être envisagé ; en fait, c'est sur la base de descriptions de cas cliniques isolés que les plasmaphérèses ont commencé à être utilisées dans la NMO.⁶⁶⁻⁶⁷ Par la suite, des études plus conséquentes ont démontré l'efficacité des plasmaphérèses en cas de cortico-résistance. D'abord en 2007, l'étude de 6 patients NMO semblant résistants à la corticothérapie a montré que l'état de 4 patients sur les 6 s'est amélioré après 3 à 5 plasmaphérèses.⁶⁸ Ces résultats ont été largement confirmés suite à l'étude d'une cohorte de 43 patients du CHU de Martinique. Nos collègues ont étudié l'intérêt des plasmaphérèses chez les patients NMO faisant des poussées médullaires, ceci en analysant l'évolution du score de handicap (EDSS) (voir définition dans le § Evolution), – sa valeur est de 4,0 avant les poussées et de 8,0 pendant les poussées. Les sujets traités par corticoïdes et plasmaphérèse ont vu leur EDSS baisser à 5,1 (le patient marche sans canne), alors que chez les patients uniquement traités par corticoïdes il ne baisse qu'à 6,8 (à 6,5 le patient doit utiliser deux cannes pour marcher ; à 7,0 il est pratiquement confiné au fauteuil roulant).⁶⁹ Compte tenu

de l'efficacité de la corticothérapie et des plasmaphéreses lors des poussées, certains ont proposé de les utiliser aussi comme traitement de fond.

Ainsi, les premiers traitements de fond proposés dans cette pathologie consistaient en une corticothérapie orale (prednisone) seule ou bien associée à l'azathioprine.⁷⁰ Ceci sur la base d'une étude sur 7 patients suivis tous les deux mois pendant 18 mois, dans laquelle il a été montré que l'EDSS a baissé chez tous les 7 patients, qui n'ont eu aucune poussée pendant 18 mois. Une autre étude a porté sur l'intérêt de la mitoxantrone chez 5 patients.⁷¹ Cette petite étude a montré une amélioration des EDSS, mais au prix d'une poussée chez deux patients dans les 5 premiers mois, et surtout d'une toxicité cardiaque chez un troisième patient. Le rituximab, un anticorps anti-lymphocytes B CD20+, a aussi été essayé par plusieurs équipes dans le monde.⁷² Une étude rétrospective multicentrique à partir de 25 patients a montré que 80 % des patients ont eu une diminution du nombre de poussées et une stabilisation du handicap, alors que 23 de ces patients avaient une résistance à d'autres traitements immunosuppresseurs ou immunomodulateurs. Cependant, 28 % des patients ont eu des complications liées à la perfusion et 20 % des complications infectieuses. Par ailleurs, deux patients sont décédés dont un d'une infection, et certains autres patients semblent résistants au traitement. Le mycophénolate mofétil, un immunosuppresseur per os utilisé notamment dans la prévention des rejets de greffe, est également efficace dans la prévention des poussées de NMO et dans la diminution du handicap, selon une étude rétrospective de la Mayo Clinic de Rochester. En effet, les 24 patients, soumis à un traitement de 27 mois (1 à 89 mois) en moyenne, ont montré une diminution du taux annualisé de poussée de 1,3 (0,23 à 11,8) à 0,09 (0 à 1,5), et 22 d'entre eux une diminution du handicap. Cependant, 25 % des patients ont eu des effets secondaires : un décès (dont il est difficile de savoir quelle est la part liée au médicament et la part liée à la maladie), des troubles digestifs, céphalée, perte de cheveux, anxiété et leucopénie.

En pratique clinique, en France, les patients reçoivent en moyenne $1,9 \pm 1,4$ lignes de traitement au cours d'un suivi de $10 \pm 7,8$ ans. Les traitements les plus prescrits sont : les immunosuppresseurs intraveineux (cyclophosphamide, 26 % ; mitoxantrone, 12 % ; rituximab, 2,5 % ; natalizumab, 1,5 %), les immunosuppresseurs per os (mycophénolate mofétil, 20 % ; azathioprine, 14 % ; methotrexate, 2 %), et malgré leur absence d'efficacité prouvée les immunomodulateurs (interféron bêta, 16 % ; glatiramer acétate, 3 %).

L'introduction d'un traitement se fait en moyenne 4,6 ans \pm 5,9 après le début des symptômes.¹⁹ Compte tenu du risque évolutif tant au niveau du handicap que de la mortalité, il semble nécessaire que l'introduction des traitements soit plus précoce.

Evolution

L'évolution de la NMO était mal connue jusqu'à une période récente. Les données étaient fragiles et parlaient d'une évolution parfois catastrophique des patients. L'évolution du handicap chez les patients NMO a été évaluée chez 3 cohortes, grâce à l'observation de l'évolution de l'échelle EDSS (Expanded Disability Status Scale) . Il s'agit d'une échelle allant de 0 à 10 avec une subdivision qui peut se faire en trois niveaux : un premier niveau tenant compte des déficiences repérées à l'examen clinique (EDSS 0 à 3), un deuxième niveau caractérisé par une limitation à divers degrés de la marche (3,5 à 7,0) et un troisième niveau au-delà de 7 où la marche est impossible.⁷³⁻⁷⁵ La cohorte italienne de 46 patients a montré que le temps moyen pour atteindre un EDSS de 3 était de 6 mois, et pour atteindre un EDSS à 6 était de 7 ans.²¹ La cohorte française de 125 patients a montré que le temps moyen pour atteindre un EDSS de 4 était de 7,3 ans (intervalle de confiance à 95 % de 4,7 à 9,9), de 10 ans pour un EDSS de 6 (intervalle de confiance à 95 % de 7,4 à 12,6), et de 21,4 ans pour un EDSS de 7 (intervalle de confiance à 95 % de 8,3 à 34,5). La cohorte antillaise de 96 patients montrait une évolution rapide : un EDSS de 3 était atteint en 1 an, un EDSS de 6 en 8 ans, et un EDSS de 8 en 22 ans.⁷⁶

L'acuité visuelle peut être lourdement atteinte dans la NMO. Ainsi plus de 30 % des patients ont une acuité visuelle à 10 ans inférieure à 1/10^{ème} (baisse d'acuité visuelle résiduelle sévère, BAVS) pour un œil, et inférieur à 13 % pour les deux yeux.¹⁹ La présence de lésions cérébrales à l'IRM est associée avec une diminution de l'intervalle de temps entre le début de la maladie et la BAVS.¹⁹

La fréquence des poussées semble dépendre du stade de la pathologie : en effet, dans la cohorte française le nombre moyen de poussées diminue nettement après 2 ans. En moyenne, les patients font une poussée par an.¹⁹

La mortalité est importante mais semble varier nettement selon les cohortes puisque dans la cohorte antillaise la mortalité était de 25 % à 9,5 ans,⁷⁶ de 22,5 % à 7,6 ans dans la cohorte

américaine, de 13 % à 8,8 ans dans la cohorte italienne, de 2,9 % à 5,8 ans dans la cohorte mexicaine, et de 3 % à 9 ans dans la cohorte française.¹⁹ La majorité des décès est liée à une atteinte important soit du tronc cérébral, soit de la moelle épinière cervicale.

Mécanismes physiopathologiques de la Neuromyéélite Optique

La découverte des anticorps anti-NMO et de leur cible, l'aquaporine 4 (AQP4) – le canal hydrique le plus abondant du système nerveux central (SNC) –, fait de la NMO la première pathologie démyélinisante inflammatoire du SNC avec auto-anticorps identifié. Cependant, il est probable que cette pathologie ne soit pas uniquement liée à la présence de ces auto-anticorps.

Auto-anticorps anti-aquaporine 4

Après avoir découvert chez les patients atteints de NMO (ou maladie de Devic) l'existence d'auto-anticorps spécifiques de cette pathologie (appelés anticorps anti-NMO), l'équipe de Vanda Lennon a également montré que la cible de ces anticorps est l'aquaporine 4 (AQP4).⁷⁷ Plusieurs éléments sont en faveur de cette cible antigénique : des analyses par immunoprécipitation et Western blot ont révélé un doublet de bandes correspondant au poids moléculaire attendu ; des essais d'immunohistochimie ont montré une co-localisation du signal obtenu avec les anticorps anti-NMO et des anticorps de lapin anti-AQP4 au niveau du cerveau, de l'estomac ou des reins de souris, les mêmes anticorps ne révélant aucun signal au niveau des mêmes tissus provenant d'une lignée de souris invalidées pour le gène codant la protéine AQP4 (souris AQP4 -/-) ; des essais d'immuno-cytofluorescence ont montré que les anticorps anti-NMO se fixent sur des cellules HEK-293 (rein humain) transfectées avec un plasmide GFP-AQP4, mais pas sur celles transfectées avec le vecteur-GFP (*green fluorescent protein*) témoin.

Aquaporine 4

L'aquaporine 4 (AQP4) et l'aquaporine 1 (AQP1) sont les principaux canaux hydriques du cerveau et de la moelle épinière. Chaque jour, chez l'homme, environ 0,5 à 0,9 litres d'eau diffusent essentiellement à travers les canaux AQP1 des plexus choroïdes vers les ventricules cérébraux et le canal de l'épendyme de la moelle épinière, ainsi que dans le parenchyme du SNC. Un autre apport d'eau se fait via le métabolisme du glucose à l'intérieur du parenchyme du SNC. Afin de maintenir l'homéostasie hydrique, une quantité équivalente

d'eau doit sortir du SNC par diffusion vers les capillaires et les espaces sous arachnoïdiens. Ceci se fait essentiellement via l'AQP4.⁷⁸

L'AQP4 est insérée dans la membrane cytoplasmique sous la forme d'un hétéro-tétramère, dont chaque monomère est composé de 323 acides aminés (isoforme M1) ou de 301 acides aminés (isoforme M23).⁷⁹ L'AQP4 est composée de deux séquences en tandem comportant chacune trois hélices α transmembranaires. Ces hélices sont reliées entre elles par des boucles dont deux contiennent un motif NPA (asparagine-proline-alanine), ces deux motifs étant directement impliqués dans la structure tridimensionnelle du pore et en particulier de la constriction qui permet une filtration sélective de l'eau.⁸⁰

L'AQP4 est concentrée au niveau des podocytes des astrocytes, aux interfaces SNC-sang et SNC-liquide céphalo-rachidien, au niveau des espaces sous-arachnoïdiens, sous-épendymaires et péri-capillaires (Figure 1).⁸¹ Elle a aussi été détectée dans la membrane des cellules épendymaires mais pas dans les neurones, les oligodendrocytes et les cellules épithéliales choroïdiennes.⁸² La principale fonction de l'AQP4 est le transport rapide de l'eau à travers la membrane plasmique grâce aux gradients osmotiques comme nous l'avons vu plus haut. L'AQP4 est hyper-sélective, ne laissant passer que les molécules de H₂O, à l'exclusion de tout autre molécule ou ion (y compris les protons, sous forme d'ions H₃O⁺ en solution).⁸³ L'AQP4 aurait aussi un rôle dans les mécanismes de protection du système nerveux central.⁸⁴

L'AQP4 intervient au moins à trois niveaux différents :

1. L'AQP4 a un rôle clé dans l'équilibre hydrique cérébral. En effet, dans un contexte d'œdème cytotoxique, tels que l'ischémie artérielle cérébrale, des souris invalidées pour l'AQP4 (AQP4^{-/-}) présentent un œdème cérébral moins important et une évolution clinique meilleure que les souris sauvages (AQP4^{+/+}).⁸⁵ A contrario, dans un contexte d'œdème vasogénique, tels que l'abcès cérébral ou l'hydrocéphalie, l'évolution clinique est bien plus grave chez les souris AQP4^{-/-}.⁸⁵
2. L'AQP4 intervient dans la modulation de la cicatrisation gliale. Il a été montré qu'en réponse à un stimulus chimiotactique, la migration d'astrocytes AQP4^{-/-} murins en culture est ralentie comparé aux astrocytes AQP4^{+/+}. Ce résultat a été confirmé *in*

vivo, dans la mesure où la progression de la cicatrice gliale est également ralentie chez les souris AQP4^{-/-} comparée aux souris sauvages.⁸⁵

3. L'AQP4 a aussi un rôle dans la transduction du signal neuronal. Pour bien comprendre cet aspect, il convient de faire quelques rappels sur les espaces extracellulaires du cerveau (ECS). Les ECS représentent environ 20 % du volume du tissu cérébral. Il s'agit d'une matrice comparable à un gel dans lequel neurones, cellules gliales et vaisseaux sont enchâssés. L'ECS est aussi un lieu de communication puisque neurones et cellules gliales y interagissent. Les neurones y communiquent entre eux via des contacts synaptiques spécialisés, ainsi que par diffusion extrasynaptique d'ions et de neurotransmetteurs. Neurones et glie y communiquent via des messagers, des métabolites et des ions, mais aussi par des contacts synaptiques.⁸⁶ Ainsi, l'activité neuronale est associée avec une dépolarisation de neurones et de cellules gliales adjacentes, et avec une augmentation du glutamate et du potassium (K⁺) extracellulaire qui peuvent synchroniser l'activité neuronale et aussi activer le métabolisme des cellules gliales. Maintenant, s'agissant du lien entre l'AQP4 avec la transduction du signal neuronal, il apparaît que par rapport aux souris sauvages, les souris AQP4^{-/-} ont une capacité moindre de recapture du K⁺ par les astrocytes, et par ailleurs présentent des modifications électrophysiologiques les rendant plus sensibles à l'épilepsie.⁸⁵ Les souris AQP4^{-/-} présentent aussi des modifications de l'homéostasie du glutamate, comme nous le verrons en infra.

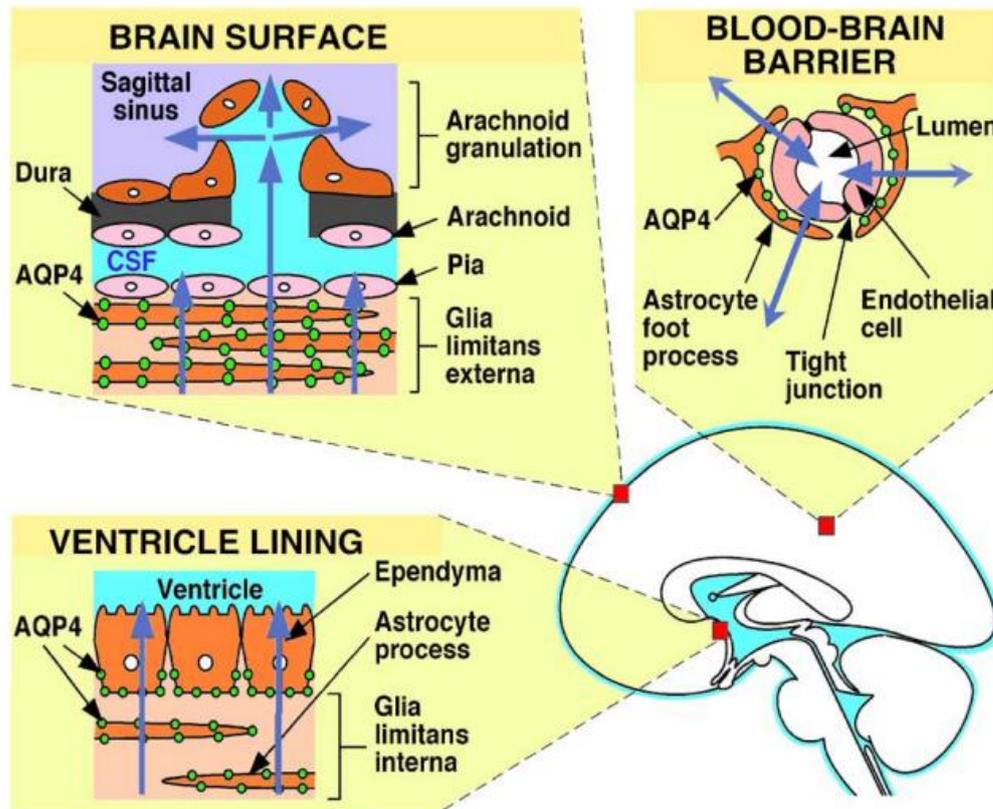


Figure 1 : Schéma montrant les sites d'expression de l'AQP4 (en vert) ainsi que les mouvements d'eau auxquels elle participe au niveau cérébral. Issu de Verkman *et al.* 2006, Biochimica et Biophysica Acta.

Aquaporine 4 et homéostasie du glutamate

L'analyse d'astrocytes de souris AQP4^{-/-} en culture montre une diminution du taux du transporteur 1 du glutamate (GLT-1 ; transporteur Na⁺-dépendant) associé à une diminution des capacités de capture du glutamate.⁸⁷ Hinson *et al.* ont apporté un certain nombre d'éléments permettant de mieux comprendre ce lien avec le glutamate. En effet, des essais réalisés sur des astrocytes corticaux de rat en culture ont montré que l'AQP4, présente dans la membrane cytoplasmique, est liée à l'EAAT2 (*Excitatory Amino Acid Transporter 2*, homologue humain du GLT-1 murin). Sous l'effet des anticorps anti-NMO, le complexe AQP4-EAAT2 est internalisé par les cellules, et le captage du glutamate Na⁺-dépendant est fortement diminué. Dans les lésions de NMO la perte d'AQP4 s'accompagne aussi également d'une nette diminution de l'EAAT2.⁸⁸

Ainsi la régulation négative de l'EAAT2 par les anticorps anti-NMO représente un élément intéressant dans le potentiel lésionnel de ces anticorps sur les cellules présentes à proximité des astrocytes. En effet, neurones et oligodendrocytes sont particulièrement sensibles à la toxicité du glutamate.⁸⁹ Ce mécanisme excitotoxique pourrait être par ailleurs renforcé par la présence de cellules microgliales et macrophagiques, elles-mêmes pourvoyeuses de glutamate.⁹⁰

Aquaporine 4 et neuromyéélite optique

En plus de la présence d'anticorps anti-AQP4 chez les patients NMO, d'autres arguments plaident en faveur de la relation auto-anticorps/AQP4/NMO. Concernant l'expression de l'AQP4 dans le SNC, il est à noter que bien qu'elle soit ubiquitaire, les niveaux d'expression ne sont pas les mêmes partout. Ainsi, la protéine AQP4 est beaucoup plus fortement exprimée au niveau de la rétine, des nerfs optiques et du tractus optique.^{81,91} Ceci est également vrai au niveau médullaire.⁹²⁻⁹³ Or, il se trouve que le système nerveux visuel et la moelle épinière sont les deux principales zones atteintes dans la NMO. Par ailleurs, les premières lésions détectables à l'examen histologique du SNC des patients NMO se localisent en périvasculaire, au niveau des podocytes astrocytaires, qui est la localisation préférentielle de l'AQP4.¹⁶

Par ailleurs, trois équipes différentes ont montré une perte importante d'AQP4 au niveau des lésions médullaires dans la NMO.⁹⁴⁻⁹⁶ A contrario, au niveau des lésions de la SEP, ils ont observé une surexpression de l'AQP4.⁹⁴⁻⁹⁶ Une seule autre pathologie démyélinisante du SNC présente aussi une diminution de l'AQP4 dans les lésions. Il s'agit de la sclérose concentrique de Baló, une pathologie rare se caractérisant au niveau lésionnel par une alternance d'anneaux de démyélinisation et de couches de myéline préservée.⁹⁷ Cependant, on ne retrouve pas de dépôts d'immunoglobulines ou de complément autour des vaisseaux comme dans la NMO, mais uniquement des lymphocytes T.⁹⁷

1. Rôle potentiel des anticorps anti-NMO dans la rupture de la barrière hémato-encéphalique

Vincent *et al.* ont montré *in vitro* que l'interaction entre astrocytes et anticorps NMO altère l'expression de l'AQP4, sa polarité au sein de l'astrocyte, et augmente la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BHE) –endothélium/astrocyte.⁹⁸ Zhou *et al.* avaient précédemment montré que l'absence d'AQP4 chez les souris AQP4^{-/-} était à l'origine de l'ouverture des jonctions serrées et donc d'une hyperperméabilité de la BHE.⁹⁹ Puis secondairement il est probable que l'inflammation médiée par le complément et la cytotoxicité vis-à-vis des astrocytes achève de léser la BHE.

2. Les anticorps anti-NMO favoriseraient l'inflammation périvasculaire

Les anticorps anti-NMO sont des IgG, et avec une prédominance d'IgG1 qui sont de puissants activateurs du complément. Ainsi, les anticorps anti-NMO liés aux astrocytes pourraient servir d'activateur du complément et être à l'origine de la libération d'anaphylatoxines de type C3a et C5a. Hinson *et al.* ont montré *in vivo* que le complexe d'attaque membranaire s'assemble après contact entre les anticorps anti-NMO et l'AQP4.⁸⁸ Parallèlement, il existe une internalisation et une dégradation de l'AQP4 sous l'effet des anticorps anti-NMO. Cette internalisation de l'AQP4 perturbe également l'homéostasie du glutamate (cf. supra) en limitant sa capture par les astrocytes.

Par ailleurs, Vincent *et al.* ont montré *in vitro* que la liaison entre astrocyte fœtal et anticorps anti-NMO est à l'origine de la dégranulation des cellules NK (*natural killer*), de la mort des astrocytes par cytotoxicité anticorps-dépendante, ainsi que de l'afflux de polynucléaires à travers la BHE sous dépendance du complément.⁹⁸

La mort des astrocytes semble être un point important dans la physiopathologie de la NMO. Récemment, Takano *et al.* ont réalisé une analyse longitudinale du LCR de patients SEP et NMO, portant sur les niveaux de GFAP (protéine acide fibrillaire gliale ; un marqueur astrocytaire), la MBP (protéine basique de la myéline ; un marqueur des oligodendrocytes), et le NF-H (neurofilament H ; un marqueur neuronal). Ces dosages n'ont montré aucune différence entre les patients NMO et SEP pour la MBP et le NF-H. Par contre, la GFAP est

nettement plus élevée chez les patients NMO que chez les patients SEP, la concentration étant corrélée au niveau de handicap des patients, pendant et en dehors des poussées. De plus, sous traitement, la GFAP revient à un niveau normal.¹⁰⁰

Limites de l'hypothèse pathogénique liée aux seuls anticorps anti-AQP4

Chez les patients NMO, tous les tissus contenant de l'AQP4 ne sont pas pathologiques (par exemple le rein, l'épithélium intestinal). La raison en est inconnue. Ceci pourrait être dû à des problèmes de masquage du ou des épitopes reconnus par les anticorps, l'environnement moléculaire direct de l'AQP n'étant pas forcément tout à fait le même dans différents tissus.¹⁰¹ Une autre possibilité serait que les anticorps NMO soient générés suite à la formation de lésions dans les tissus.

Par ailleurs, comme nous l'avons vu plus haut, au moins 40 % des patients atteints de NMO n'ont pas d'anticorps anti-AQP4.

De plus il n'existe à ce jour aucun modèle animal NMO où l'injection d'anticorps anti-AQP4, ou bien l'injection d'antigène AQP4 suffisent à développer la pathologie NMO. Pour tous les modèles actuellement publiés, un préalable est nécessaire comme l'injection de MBP avec adjuvant de Freund.¹⁰²⁻¹⁰³ Les modèles MOG (Myéline oligodendrocyte glycoprotéine) d'EAE (Encéphalomyélite autoimmune expérimentale) semblent par contre être de bons modèles de NMO, notamment du fait de la localisation lésionnelle optico-spinale.¹⁰⁴⁻¹⁰⁵ Nous avons récemment développé un modèle de NMO à partir de rats Brown Norway injectés avec de la MOG (1-118) et d'adjuvant de Freund incomplet.¹⁰⁶ Alors que ces rats ont essentiellement développés des atteintes optico-spinales, le pattern d'atteinte AQP4 était cependant différent de celui des patients NMO. En effet, ces rats sur-expriment l'AQP4 au niveau des lésions médullaires – comme chez les patients SEP –, et la sous-expriment au niveau des nerfs optiques – comme chez les patients NMO.

Seule l'équipe de Londres a réussi à faire développer des lésions de NMO au niveau cérébral à partir de l'injection intracérébrale d'anticorps anti-NMO de patients et de complément. Cependant, ces animaux sont quasi asymptomatiques, et les seuls troubles neurologiques discrets repérés (souris allant plus à droite quand elles sont injectées à droite) pourraient

être simplement dus à la lésion provoquée par l'aiguille de la seringue au cours de l'injection intracérébrale.¹⁰⁷

Du point de vue clinique il n'existe à ce jour aucun cas de transmission materno-fœtale de NMO, alors que cette transmission est classique dans l'autre pathologie neurologique médiée par les anticorps qu'est la myasthénie.¹⁰⁸ Cette dernière atteint cependant la partie périphérique du système nerveux non protégée par la barrière hémato-encéphalique.

Récemment un nouveau modèle de démyélinisation de la moelle épinière a été décrit. La démyélinisation médullaire apparaît à la suite de l'injection de lipopolysaccharides (LPS) dans la substance blanche de la moelle. A la suite de cette injection, on observe une activation précoce de la microglie, et ce n'est que secondairement, 5 à 6 jours plus tard, qu'apparaît la démyélinisation. Sharma *et al.* ont montré que des modifications structurales et fonctionnelles des astrocytes apparaissent précocement, comme dans la NMO. Ce qui les a conduit à s'interroger sur le rôle de des astrocytes dans la démyélinisation et dans la cascade inflammatoire associée.¹⁰⁹ Des données récentes lyonnaises, obtenues à la fois *in vitro* et *ex-vivo* montrent une diminution des oligodendrocytes d'environ 30 % dans le contexte de contact entre astrocytes et anticorps anti-NMO.¹¹⁰

Question posée

Cliniquement, la NMO reste très confinée à l'atteinte optico-spinale. En IRM, l'atteinte cérébrale semble réelle au vu des résultats en imagerie non conventionnelle – les données en IRM conventionnelle étant plutôt contradictoires. Les données anatomopathologiques au niveau cérébral sont malheureusement insuffisantes.

Dans la mesure où la neuropsychologie peut se définir comme la discipline qui étudie les liens entre le fonctionnement du cerveau et le comportement. L'évaluation neuropsychologique des patients est sans doute un des éléments cliniques les plus fins et les plus sensibles dans la détection d'une atteinte cérébrale. Nous en voulons pour preuve l'expérience de tout neurologue avec des patients atteints de SEP. Chez ces patients, en dehors des poussées, en début de maladie, il est fréquent de ne trouver aucune anomalie à l'examen physique neurologique complet. A contrario, ces patients ont déjà fréquemment des troubles cognitifs qui sont objectivés grâce à l'évaluation neuropsychologique. Souvent, malgré un bon interrogatoire du patient, les troubles cognitifs peuvent ne pas être détectés par le neurologue ou le clinicien.¹¹¹

Nous avons donc souhaité utiliser l'évaluation neuropsychologique chez les patients NMO afin d'objectiver ou non une atteinte cérébrale (article 1). Puis, nous avons tenté de mieux comprendre l'origine des troubles neuropsychologiques trouvés chez les patients NMO en utilisant la spectroscopie IRM (article 2). Enfin, nous avons recherché une éventuelle atrophie cérébrale globale et focale, puis tenté de corrélérer les résultats de l'évaluation cognitive à la concentration de substance blanche (SB) et de substance grise (SG) (article 3).

**Etude des fonctions cognitives dans la
neuromyéélite optique de Devic**

Article 1

Archives of Neurology 2008 ; 65(1) : 84-88.

Cognitive Functions in Neuromyelitis Optica

Frédéric Blanc, MD; Hélène Zéphir, MD; Christine Lebrun, MD; Pierre Labauge, MD, PhD; Giovanni Castelnovo, MD; Marie Fleury, MD; François Sellal, MD; Christine Tranchant, MD; Kathy Dujardin, PhD; Patrick Vermersch, MD, PhD; Jérôme de Seze, MD, PhD

Background: Neuromyelitis optica (NMO) is characterized by optic neuritis and longitudinally extensive acute transverse myelitis. The brain is generally considered healthy in NMO, though very recent studies have demonstrated that magnetic resonance imaging abnormalities may be observed in various brain regions of NMO patients. To date, cognitive functions have never been investigated in NMO.

Objective: To investigate cognitive functions in a cohort of 30 patients with NMO.

Design: Observational, prospective study.

Patients: We studied 30 patients with NMO and compared them with 30 patients with multiple sclerosis and 30 healthy controls matched for age, sex, and educational level.

Main Outcome Measure: We applied a French translation of the Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests for Multiple Sclerosis and 3 additional tests.

Results: Cognitive performance was significantly lower in the NMO and multiple sclerosis groups than in healthy controls for the 2-second ($P < .001$) and 3-second ($P = .001$) Paced Auditory Serial Addition Test, the digit symbol modality test ($P = .005$), word generation ($P = .02$), and forward ($P = .002$) and backward ($P = .007$) digit span test. We did not observe any difference in test performance between NMO and multiple sclerosis patients. We found no differences between the 3 groups for the other tests. We did not find any correlation between clinical, biological, or magnetic resonance imaging results and cognitive dysfunction.

Conclusions: This study confirms the recent concept of a possible brain involvement in NMO. Additional studies are needed to confirm these initial results and to better understand the mechanisms of such abnormalities.

Arch Neurol. 2008;65(1):84-88

Author Affiliations:

Department of Neurology, Strasbourg University, Alsace, France (Drs Blanc, Fleury, Sellal, Tranchant, and de Seze); Department of Neurology, Lille University, Lille, France (Drs Zéphir, Dujardin, and Vermersch); Department of Neurology, Nice University, Nice, France (Dr Lebrun); and Department of Neurology, Nîmes University, Nîmes, France (Drs Labauge and Castelnovo).

NEUROMYELITIS OPTICA (NMO) is characterized by optic neuritis and longitudinally extensive transverse myelitis, which are usually relapsing diseases but may also be monophasic. In the past, NMO was often considered a form of multiple sclerosis (MS), but now there is a lot of evidence showing that they are different diseases. A serum autoantibody, called NMO antibody, which binds specifically to aquaporin 4, the dominant central nervous system water channel protein, was recently discovered.^{1,2} About 70% of NMO patients are positive for NMO antibody.¹ Aquaporin 4 is found throughout the central nervous system but in the optic nerve and spinal cord in particular.^{3,4} In the brain, aquaporin 4 is preferentially expressed in periventricular organs.⁵

Generally, the brain has been considered to be without disease in NMO patients, though very recent studies have demonstrated that T2-weighted abnormalities may be observed in various brain

regions, prevailing in the diencephalon and brainstem.⁶ A recent study found strong correlations between brain magnetic resonance imaging (MRI) abnormalities and aquaporin 4 localizations in periependymal regions.⁷

All these findings have helped to define a larger spectrum for NMO disease, leading to a revision of the criteria first published in 1999.⁸ These new criteria require optic neuritis and myelitis as absolute criteria and at least 2 of the following 3 criteria: positive NMO antibody test results, normal brain MRI results, and presence of an extensive spinal cord lesion (> 2 vertebral segments on spinal cord MRI).⁹ These new criteria allow diagnosis in NMO patients with clinical brain abnormalities or abnormalities shown on MRI but nevertheless remain highly specific.¹⁰

During the past 10 years, numerous studies have revealed frequent and early cognitive impairment in MS. Cognitive deficiency chiefly involves attention, executive, and visuoconstructive functions. An internationally recognized battery of tests

Table 1. Characteristics of NMO and MS Patients and Healthy Controls^a

Characteristic	Patients With NMO (n = 30)	Patients With MS (n = 30)	Controls (n = 30)	P Value
Sex, F/M, No.	23/7	23/7	23/7	> .05
Age, y	43.5 (12.3)	43.4 (12.1)	43.5 (12.3)	> .05
Educational level, y	12.8 (2.8)	13.3 (2.5)	12.8 (2.8)	> .05
Positive for NMO antibodies, No. (%)	17 (56.7)	0	NA	< .001
Disease duration, y	7.3 (5.4)	9.7 (4.9)	NA	> .05
EDSS score	4.6 (2.4)	2.4 (1.4)	NA	.007
Brain MRI (Barkhof criteria), No. (%)	3 (10)	30 (100)	NA	< .001

Abbreviations: EDSS, Expanded Disability Status Scale; MRI, magnetic resonance imaging; MS, multiple sclerosis; NA, not applicable; NMO, neuromyelitis optica.

^aValues are mean (SD) unless otherwise indicated.

called the Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests for Multiple Sclerosis¹¹ has revealed that about 40% of MS patients have significant cognitive impairment. In a recent study validating a French adaptation of this battery,¹² we found that 20% to 30% of patients during the first years of MS had cognitive impairment.

To date, cognitive functions have never been investigated in NMO. In light of both the confirmed frequent cognitive impairment in MS and the possible brain abnormalities in NMO, we aimed to investigate whether or not there is cognitive impairment in NMO. We examined a cohort of 30 patients (24 with diagnosed NMO and 6 with a high risk of conversion to NMO after optic neuritis or myelitis and an NMO antibody-positive result) to determine whether cognitive impairment occurs in NMO and, if so, its frequency and the spectrum of cognitive dysfunction compared with that reported in MS.

METHODS

NMO CHARACTERISTICS

We prospectively investigated 30 patients in 4 neurology departments that specialize in inflammatory diseases of the central nervous system. We only included patients with an Expanded Disability Status Scale (EDSS) score of 7 or lower because of the difficulty of applying cognitive tests in patients with more severe disabilities. Twenty-four patients had NMO according to the recently revised criteria.⁹ The remaining 6 patients were considered to be at a high risk for NMO, as they had recurrent optic neuritis (n=2) or transverse myelitis (n=4) and a positive NMO antibody test. Testing for NMO antibodies was conducted using a previously described method¹ and results were positive in 17 of the 30 patients (56.7%). The mean (SD) age of the patients (23 women and 7 men) at the time of the study was 42.3 (12.3) years (range, 21-63 years). The presenting symptoms were optic neuritis in 12 cases, myelitis in 15 cases, and both optic neuritis and myelitis in 3 cases. Neuromyelitis optica was monophasic in 3 cases and multiphasic in the other cases, with a mean (SD) number of relapses of 4.2 (2.9; range, 0-11). The mean (SD) number of relapses per year was 0.8 (0.5; range, 0.1-2). Two patients were blind. The mean (SD) follow-up of NMO was 7.3 (5.4) years (range, 1-23 years). The mean EDSS score was 4.6 (SD, 2.4; range, 0-7). Four patients had other autoimmune diseases (Sjögren syndrome, n=1; systemic lupus erythematosus, n=1; Sjögren syndrome and sys-

temic lupus erythematosus, n=1; Sjögren syndrome and myasthenia gravis, n=1) and 2 patients had endocrinopathy (diabetes mellitus and thyroiditis).

All patients had brain and spinal cord MRI with conventional sequences in a 1.5-T machine (T1-weighted images before and after gadolinium infusion and T2-weighted, fluid-attenuated inversion recovery images). Brain MRI results were abnormal in 6 cases showing unspecific periventricular T2-weighted hyperintensities (n=2), numerous brain lesions corresponding to MS criteria (n=3), and periaqueductal lesion (n=1). Spinal cord MRI results showed an extended lesion (> 2 vertebral segments) on T2-weighted images in all patients except 2 and were normal in 2 cases (the 2 patients with recurrent optic neuritis and a positive NMO antibody test). We compared these 30 NMO patients with 30 MS patients and 30 healthy controls selected from a previous study who were matched for age, sex, and educational level.¹² Characteristics of these populations are summarized in **Table 1**.

COGNITIVE ASSESSMENT

The *Batterie Courte d'évaluation Cognitive destinée aux patients souffrant de Sclérose en Plaques (BCCogSEP)*¹² and the Beck Depression Inventory¹³ were administered to each participant during one test session. The BCCogSEP is a battery of tests specially designed for MS patients to evaluate cognitive functions. It is based on the Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests for Multiple Sclerosis proposed by Rao et al¹¹ and comprises the French translation of the 5 following Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests for Multiple Sclerosis tests:

1. The Selective Reminding Test, which evaluates verbal episodic memory. Performance was assessed by the mean number of words (of 15) correctly recalled at the free recall trials, a list learning index, and the number of words correctly recalled at the delayed recall.
2. The 10/36 Spatial Recall Test evaluating visuospatial episodic memory. Performance was assessed in terms of the mean number of localizations (of 10) correctly recalled at the immediate and delayed free recall trials.
3. The Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT), which evaluates speed of information processing and sustained attention. Series of 61 numbers from 1 to 9 were randomly delivered at presentation rates of one number every 2 seconds and every 3 seconds. Participants were instructed to add each number to the one immediately preceding it. Performance was assessed by percentage of correct additions.
4. A word generation test evaluating verbal initiation. Participants were required to produce as many words as they could

Table 2. Results of Cognitive Tests in NMO and Patients With MS

Cognitive Test	Mean Score (SD)			P Value
	Patients With NMO (n = 30)	Patients With MS (n = 30)	Controls (n = 30)	
Selective Reminding Test				
Number of words	11 (1.8)	11.1 (1.7)	11.7 (1.4)	> .05
Learning	61.7 (19)	65.8 (18.5)	72.5 (17.4)	> .05
Deferred recall	12.2 (2.5)	13.1 (3)	13.8 (1.9)	> .05
10/36 Spatial Recall Test				
Immediate recall	16.6 (6.6)	17.4 (4.6)	17.7 (6.1)	> .05
Delayed recall	6.4 (2.8)	6.7 (2.3)	6.8 (2.7)	> .05
Digit span				
Direct	6.6 (1.4)	6.6 (0.9)	7.7 (1.7)	.002
Indirect	5.8 (2.2)	5.6 (1.5)	7.3 (2.5)	.007
WAIS-R symbol digit modalities test	54.8 (19.5)	53.6 (14.9)	66.1 (12.6)	.005
Paced Auditory Serial Addition Test				
2 s	28.5 (12.7)	25.6 (15.4)	36.5 (10.5)	.001
3 s	38.9 (12.7)	37.8 (21.9)	47.6 (8.2)	< .001
Cross tapping	1.1 (1.8)	1.1 (1.6)	0.7 (0.9)	> .05
Go/no-go	1.4 (2.5)	0.6 (1.2)	0.6 (0.8)	> .05
Fluencies				
Phonemic	14.3 (5.2)	13.5 (5.5)	16.9 (4.9)	.02
Semantic	22.1 (5.7)	20.4 (4.8)	21.7 (3.5)	> .05

Abbreviations: MS, multiple sclerosis; NMO, neuromyelitis optica; WAIS-R, Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised.

starting with the letter *P* and then as many animal names as they could. Each trial was limited to 1 minute. Performance was assessed by the number of different words generated.

5. The symbol digit modalities test of the Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised, which evaluates information processing speed. Participants had to match (as quickly as possible and without error) symbols and numbers according to a key code. The task lasted 90 seconds and performance was assessed in terms of the number of symbols correctly coded.

The following 3 tasks were added to provide additional information about working memory and executive functions:

1. A cross-tapping test evaluating set-shifting abilities and resistance to interference. Participants were given a stick and were instructed to listen to a sound recording. When they heard a single brief sound they had to tap twice on the table with the stick; when they heard 2 consecutive brief sounds they had to tap once. Ten practice trials were run before starting the actual task, which comprised 40 trials. Performance was assessed in terms of the number of errors.

2. The go/no-go test evaluating inhibition. Participants were given a stick and were instructed to listen to a sound recording. When they heard a single brief sound they had to tap once on the table with the stick; when they heard 2 consecutive brief sounds they had to do nothing. Ten practice trials were run before starting the actual task, which comprised 40 trials. Performance was assessed in terms of the number of errors.

3. The Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised, digit span subtest evaluating audio-verbal working memory.

For the 2 blind patients, the 10/36 Spatial Recall Test and the digit symbol tests were omitted. We also evaluated the main mental functions by regrouping the following categories: long-term memory (Selective Reminding and 10/36 Spatial Recall tests), short-term memory (direct and indirect span number), speed of information processing (digit symbol), executive functions (PASAT, cross-tapping, and go/no-go test), and language (phonemic and semantic fluencies).

DATA ANALYSIS

Results were expressed as mean (SD). We performed analysis of variance to compare the 3 subgroups. We looked for correlation between cognitive dysfunction and the following parameters: age, sex, disease duration, NMO antibodies, and presence of brain MRI abnormalities. For this statistical analysis we performed Wilcoxon and Pearson tests. $P < .05$ was considered significant. We considered patients to have abnormal mental functioning if their test results differed by more than 2 SDs from those of healthy controls.

RESULTS

The main demographic, clinical, and laboratory results are summarized in Table 1. The results of the cognitive tests are summarized in **Table 2**. Patients with NMO and MS showed significant impairment compared with healthy controls in the following tests: the 2-second PASAT ($P < .001$), the 3-second PASAT ($P = .001$), the symbol digit modalities test of the Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised ($P = .005$), phonemic fluencies ($P = .02$), and the direct ($P = .002$) and indirect ($P = .007$) digit span test. When we compared NMO and MS patients' performances for these tests, we did not observe any differences. We did not find any differences between the 3 groups for the Selective Reminding Test, the go/no-go test, the 10/36 Spatial Recall Test, the cross-tapping test, or the semantic fluencies evaluation. The Beck depression scores did not differ between the 3 groups. Symptomatic treatments did not differ between the NMO and MS groups.

Seventeen NMO patients (56.7%) and 11 MS patients (36.7%) had at least one result that differed by more than 2 SDs from that of healthy controls. The main cog-

nitive impairments are detailed in the **Figure**. Nine NMO patients (30%) had abnormal long-term memory impairment, 1 patient (3.3%) had abnormal short-term memory, 6 patients (20%) had abnormal information-processing speed, 8 patients (26.7%) had executive function dysfunction, and 4 patients (13.3%) had language dysfunctions. We did not find a significant difference between NMO and MS patients concerning the main cognitive dysfunctions (**Figure**). Five of the 6 patients with only a high-risk syndrome had at least one abnormal cognitive test. We did not find any correlations between cognitive dysfunctions and the various clinical parameters, especially Beck depression score, disease duration, and visual acuity. The only correlation we found was between the EDSS and symbol digit modalities test of the Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised, scores ($P=.02$). We did not find any correlations between cognitive dysfunctions and brain abnormalities on MRI or NMO antibody status.

COMMENT

To our knowledge, this is the first study to have evaluated cognitive functions in NMO. In these patients, we found an unexpectedly high frequency of cognitive impairment and the results of the cognitive evaluation in our NMO cohort were very similar to those of the MS group, as we did not find any differences between these 2 groups for any of the subtests. Although these results could be considered surprising in a disease considered to be restricted to the optic nerve and spinal cord, recent MRI and immunopathologic findings suggest that tissue damage in NMO is more extensive than previously thought, including damage in the brainstem or brain.^{6,7,14-16} These results could be explained in part by the difference of disease severity between NMO and MS demonstrated by the EDSS scores (4.6 and 2.4, respectively). As NMO is a more severe disease than MS, the difference in EDSS score is not surprising.

Visual dysfunctions could also influence the results, but only 6 of the 8 subtests imply visual functions and we did not observe any correlation between visual function and cognitive tests. Cognitive tests could also be influenced by symptomatic medications (for urinary functions and mood disorders and antispastic treatments, etc). This was not taken into account in our study, but classically symptomatic treatments are not different in NMO and MS.

The new, recently published criteria for NMO allow for brain involvement but maintain specificity by requiring, in addition to the absolute criteria of optic neuritis and myelitis, the presence of at least 2 of the following 3 additional criteria: (1) brain MRI results negative or nondiagnostic for MS at onset, (2) MRI evidence of a spinal cord T2 lesion of 3 or more vertebral segments, and (3) a serological test result positive for NMO antibodies.⁹ Our NMO cohort is in very close concordance with those of recent NMO studies in terms of clinical and radiological parameters.^{8,17-19} It is now clear that trying to define "pure NMO," though useful in defining the core elements of the disease, limits the understanding of the

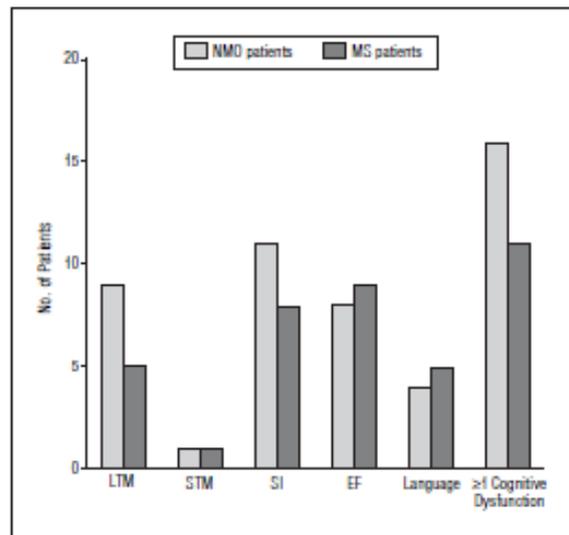


Figure. Number of patients with neuromyelitis optica (NMO) and multiple sclerosis (MS) with cognitive dysfunctions in each main mental function. EF indicates executive functions; LTM, long-term memory; SI, speed of information; and STM, short-term memory.

spectrum and should be abandoned. Recent MRI and neuropathologic studies argue for the concept of a disease that mainly involves the optic nerve and spinal cord but that also can extend to all central nervous system regions. Furthermore, a recent study on brain MRI of NMO patients with magnetic transfer and diffusion tensor MRI found abnormalities in normal-appearing gray matter.²⁰ Our patients were investigated only with routine MRI techniques and it would therefore be interesting to apply these new techniques and also functional imaging in conjunction with the evaluation of cognitive performance.

Because aquaporin 4 is ubiquitous in the central nervous system, it is not really surprising to observe these results. However, our knowledge of the pathologic role of aquaporin 4 in NMO remains sparse and a better understanding is needed before any conclusions can be drawn. One might suspect a direct toxicity of NMO antibodies via IgG and complement deposits, as suggested in a previous neuropathologic study.²¹ As in 4 of our cases, NMO is frequently associated with other autoimmune diseases, such as Sjögren syndrome and systemic lupus erythematosus. Brain damage and cognitive impairment are described in these autoimmune diseases, but their exact mechanism remains unknown. New neuropathologic studies on NMO are warranted to try to improve our knowledge of these mechanisms. The frequency of each cognitive defect is near to that generally found in MS, including the speed of information processing and executive functions.²²⁻²⁴

We also found a long-term memory impairment in about 30% of our NMO patients. Surprisingly, we did not find any correlation between the results of the cognitive tests and disease duration. In contrast, 5 of 6 patients with only high-risk syndromes for NMO had cognitive defects. A similar result was also found in previous studies on MS patients, where cognitive dysfunctions did not correlate with disease duration.²²⁻²⁴ We did not find any cor-

relation with MRI lesions, but T2-weighted hyperintensities were observed in only 6 patients, 3 of whom met the criteria for MS. This lack of correlation is also observed in MS, in which cognitive dysfunctions are rarely correlated with the MS lesion load or localization.²²⁻²⁴

Our findings may have therapeutic implications as both immunomodulatory and immunosuppressive drugs have been shown to be effective in treating cognitive dysfunction in MS. Recent studies argue in favor of using immunosuppressive drugs in NMO rather than immunomodulatory drugs.^{25,26} Owing to the large panel of treatments in our NMO patients, we cannot draw any conclusion concerning immunosuppressive drugs' influence on cognitive dysfunction, but it would be of interest to propose systematic cognitive testing in further prospective studies on NMO.

Accepted for Publication: July 19, 2007.

Correspondence: Jérôme de Seze, MD, PhD, Department of Neurology, Hôpital Civil, 1 Place de l'hôpital, BP 426, 67091, Strasbourg, France (jerome.de.seze@chru-strasbourg.fr).

Author Contributions: *Study concept and design:* Blanc, Vermersch, and de Seze. *Acquisition of data:* Blanc, Zéphir, Lebrun, Labauge, Castelnovo, Fleury, Tranchant, Vermersch, and de Seze. *Analysis and interpretation of data:* Blanc, Castelnovo, Sellal, Dujardin, Vermersch, and de Seze. *Drafting of the manuscript:* Blanc, Zéphir, Labauge, and Castelnovo. *Critical revision of the manuscript for important intellectual content:* Blanc, Lebrun, Labauge, Fleury, Sellal, Tranchant, Dujardin, Vermersch, and de Seze. *Obtained funding:* Lebrun, Fleury, and Vermersch. *Administrative, technical, and material support:* Lebrun, Labauge, Castelnovo, Dujardin, and Vermersch. *Study supervision:* Lebrun, Labauge, and de Seze. *Financial Disclosure:* None reported.

Funding/Support: This work was supported in part by a research grant from Association pour la recherche sur la sclérose en plaques (ARSEP), Paris, France.

Additional Contributions: Anne Demasie, PhD, Catherine Franconie, PhD, Catherine Kleitz, PhD, and Maryline Cabaret, PhD, assessed the neuropsychological tests. Pascal Meyer, MD, assisted with statistical analysis.

REFERENCES

- Lennon VA, Wingerchuk DM, Kryzer TJ, et al. A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Lancet*. 2004;364(9451):2106-2112.
- Lennon VA, Kryzer TJ, Pittock SJ, Verkman AS, Hinson SR. IgG marker of optic-splinal multiple sclerosis binds to the aquaporin-4 water channel. *J Exp Med*. 2005; 202(4):473-477.
- Nagehus EA, Veruki ML, Torp R, et al. Aquaporin-4 water channel protein in the rat retina and optic nerve: polarized expression in Müller cells and fibrous astrocytes. *J Neurosci*. 1998;18(7):2506-2519.
- Vitellaro-Zuccarello L, Mazzetti S, Bosisio P, Monti C, De Biasi S. Distribution of Aquaporin 4 in rodent spinal cord: relationship with astrocyte markers and chondroitin sulfate proteoglycans. *Glia*. 2005;51(2):148-159.
- Venero JL, Vizuete ML, Ilundain AA, Machado A, Echevarria M, Cano J. Detailed localization of aquaporin-4 messenger RNA in the CNS: preferential expression in periventricular organs. *Neuroscience*. 1999;94(1):239-250.
- Pittock SJ, Lennon VA, Krecke K, Wingerchuk DM, Lucchinetti CF, Weinstenker BG. Brain abnormalities in neuromyelitis optica. *Arch Neurol*. 2006;63(3):390-396.
- Pittock SJ, Weinstenker BG, Lucchinetti CF, Wingerchuk DM, Corboy JR, Lennon VA. Neuromyelitis optica brain lesions localized at sites of high aquaporin 4 expression. *Arch Neurol*. 2006;63(7):964-968.
- Wingerchuk DM, Hogancamp WF, O'Brien PC, Weinstenker BG. The clinical course of neuromyelitis optica (Devic's syndrome). *Neurology*. 1999;53(5):1107-1114.
- Wingerchuk DM, Lennon VA, Pittock SJ, Lucchinetti CF, Weinstenker BG. Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica. *Neurology*. 2006;66(10): 1485-1489.
- Rubiera M, Rio J, Tinore M, et al. Neuromyelitis optica diagnosis in clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis. *Neurology*. 2006;66(10): 1568-1570.
- Rao SM, Leo GJ, Ellington L, Nauertz T, Bernardin L, Unverzagt F. Cognitive dysfunction in multiple sclerosis: Impact on employment and social functioning. *Neurology*. 1991;41(5):682-686.
- Dujardin K, Sockaël P, Cabaret M, de Seze J, La Vermersch P. BCogSEP: une batterie courte des fonctions cognitives destinée aux patients souffrant de sclérose en plaques. *Rev Neurol (Paris)*. 2004;160(1):51-62.
- Beck AT, Steer RA, Ball R, Ranieri W. Comparison of Beck Depression Inventories -IA and -II in psychiatric outpatients. *J Pers Assess*. 1996;67(3):588-597.
- Nakamura M, Endo M, Murakami K, Konno H, Fujihara K, Itoyama Y. An autopsy case of neuromyelitis optica with a large cavity cerebral lesion. *Mult Scler*. 2005;11(6):735-738.
- Chalumeau-Lemolne L, Chretien F, Si Larbi AG, et al. Devic disease with brainstem lesions. *Arch Neurol*. 2006;63(4):591-593.
- Misu T, Fujihara K, Nakamura M, et al. Loss of aquaporin-4 in active perivascular lesions in neuromyelitis optica: a case report. *Tohoku J Exp Med*. 2006; 209(3):269-275.
- O'Riordan JI, Gallagher HL, Thompson AJ, et al. Clinical, CSF, and MRI findings in Devic's neuromyelitis optica. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1996;60(4): 382-387.
- de Seze J, Stojkovic T, Ferrity D, et al. Devic's neuromyelitis optica: clinical, laboratory, MRI and outcome profile. *J Neurol Sci*. 2002;197(1-2):57-61.
- de Seze J, Lebrun C, Stojkovic T, Ferrity D, Chatelet M, Vermersch P. Is Devic's neuromyelitis optica a separate disease? a comparative study with multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2003;9(5):521-525.
- Rocca MA, Agosta F, Mezzapesa DM, et al. Magnetization transfer and diffusion tensor MRI show gray matter damage in neuromyelitis optica. *Neurology*. 2004; 62(3):476-478.
- Lucchinetti CF, Mandler RN, McGavern D, et al. A role for humoral mechanisms in the pathogenesis of Devic's neuromyelitis optica. *Brain*. 2002;125(pt 7): 1450-1461.
- Rao SM. Neuropsychology of multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol*. 1995;8(3):216-220.
- Ciccarelli O, Brex PA, Thompson AJ, Miller DH. Disability and lesion load in MS: a reassessment with MS functional composite score and 3D fast FLAIR. *J Neurol*. 2002;249(1):18-24.
- Hildebrandt H, Hahn HK, Kraus JA, Schulte-Herbruggen A, Schwarze B, Schwendemann G. Memory performance in multiple sclerosis patients correlates with central brain atrophy. *Mult Scler*. 2006;12(4):428-436.
- Mandler RN, Ahmed W, Dencoff JE. Devic's neuromyelitis optica: a prospective study of seven patients treated with prednisone and azathioprine. *Neurology*. 1998; 51(4):1219-1220.
- Cree BA, Lamb S, Morgan K, Chen A, Waubant E, Genain C. An open label study of the effects of rituximab in neuromyelitis optica. *Neurology*. 2005;64(7):1270-1272.

Commentaires

Nous avons mené une étude multicentrique sur la cognition des patients NMO réunissant 4 centres français, étudiant 90 sujets dont 30 patients NMO, 30 patients SEP et 30 témoins appariés en âge, sexe, et niveau socio-éducatif. Tous ont bénéficié de tests cognitifs via la BCcogSEP. Comme nous le développons dans l'article, la BCcogSEP est une batterie de tests cognitifs issue de la BRB-N de Rao, à laquelle ont été ajoutés trois tests (ordres contraires, Go-no-Go et empan de chiffres). Le développement de cette batterie s'est faite sous la direction de Kathy Dujardin en collaboration avec l'équipe de Neurologie des maladies inflammatoires du CHU de Lille.

Les résultats de cette étude montrent pour la première fois l'existence de troubles cognitifs chez 56,7 % des patients NMO (différence d'au moins deux déviations standards [SD] sur un test, par rapport aux sujets contrôles) contre 36,7 % des patients SEP. Ce résultat nous a paru surprenant au vu des connaissances actuelles sur la pathologie, censée peu toucher le cerveau en dehors des nerfs optiques.

Ce résultat a été confirmé depuis par au moins deux autres équipes.¹¹² Une équipe cubaine, Cabrera-Gomez *et al.*, a communiqué en congrès sur l'existence de troubles cognitifs dans la NMO à hauteur de 71 % de leur population mais leurs résultats n'ont pas été publiés.¹¹³ Une équipe japonaise, Saji *et al.*, a utilisé la BRB-N chez 17 patients NMO, et ont trouvé une diminution significative des scores par rapport aux sujets témoins avec le SDMT, le PASAT et le SRT.¹¹² Nous avons aussi trouvé une différence significative par rapport aux témoins pour le SDMT ($p=0,005$), le PASAT 3 et 2 secondes ($p\leq 0,001$), mais pas pour le SRT (pour ses trois subtests). Cependant, pour ce dernier test, alors qu'il n'existait pas de différences significatives entre le groupe NMO et le groupe témoin dans notre étude, individuellement 30 % des patients avaient des troubles de la mémoire à long terme objectivés soit par le rappel différé du SRT, soit par celui du 10/36. Nous pouvons donc considérer que les résultats trouvés par l'équipe japonaise sont très proches des nôtres.

1. Limites de cette étude

Idéalement, il eut été intéressant de pouvoir majorer la puissance de notre étude en augmentant le nombre de patients inclus. Cependant, compte tenu de la rareté de cette

pathologie, 30 patients représente un nombre déjà important. En effet, malgré la réunion de 25 centres de Neurologie répartis sur l'ensemble du territoire français, l'étude épidémiologique sur la NMO menée par Nicolas Collongues sous la direction de Jérôme de Seze n'a réussi à rassembler que 125 patients NMO, ce qui représente la plus grande cohorte mondiale connue à ce jour.¹⁹ De plus, il eut été intéressant de pouvoir appairer patients SEP et NMO en termes de handicap et donc d'EDSS. Nous n'avons pas réussi à appairer les patients sur cet élément supplémentaire, sans doute du fait de la sévérité connue de la NMO.¹⁹ Enfin, il eut été intéressant de pouvoir tester les patients avec d'autres tests évaluant notamment le langage, les gnosies, les praxies, la mémoire sémantique... Cependant les patients NMO comme les patients SEP semblent fatigables face à l'évaluation cognitive. Nous avons ainsi montré récemment que la fatigue est retrouvée chez les patients NMO, comme cela était déjà connu chez les patients SEP.¹¹⁴ Ainsi, il est difficile de correctement interpréter le résultat de tests cognitifs quand ceux-ci durent plus de 1 h 30, que ce soit dans la SEP ou la NMO, à moins de programmer des pauses régulières.

2. Profil cognitif

Le profil cognitif que nous avons trouvé chez nos patients NMO (figure de l'article) associe à la fois une diminution de la vitesse de traitement de l'information (WAIS-R SDMT) chez 40 % des patients (il existe une erreur dans le texte de l'article, mais pas dans la figure), des troubles de la mémoire à long terme chez 30 % des patients (rappel différé SRT, rappel différé 10/36), et des troubles des fonctions exécutives (PASAT, Go-no-Go, ordres contraires) chez 26,7 % des patients. Les troubles étiquetés « troubles du langage » (13,3 %), liés au déficit aux fluences, sont probablement à mettre plus en relation avec les troubles des fonctions exécutives. En effet, les fluences permettent de vérifier l'intégrité du stock lexico-sémantique mais aussi les processus de récupération des mots en mémoire. Par ailleurs, les patients ayant présenté un déficit en rappel différé du SRT ont tous eu un score normal en reconnaissance des mots (non montré dans l'article). Nous pouvons donc conclure davantage à un trouble de la récupération qu'à un trouble du stockage en mémoire à long terme chez les patients NMO. Enfin, il convient de noter que l'association de déficits au PASAT n'est pas spécifique de troubles des fonctions exécutives. En effet, ce test est considéré comme un « *dirty test* » (test sale)¹¹⁵ dans le sens où il met en jeu simultanément

différentes fonctions cognitives comprenant les fonctions exécutives, la vitesse de traitement de l'information, ainsi que la mémoire de travail et l'attention.

L'existence de troubles cognitifs chez les patients NMO interroge sur leur significativité pour le patient lui-même. En effet, sont-ils un facteur de mauvais pronostic de l'évolution de la maladie comme cela a été récemment montré dans la SEP par l'équipe de Bruno Brochet?¹¹⁶ Ont-ils des conséquences dans la vie courante des patients comme cela est le cas chez les patients SEP ?¹¹⁷ Il conviendra de répondre à ces questions dans les années à venir.

Nous n'avons pas trouvé de différence significative entre les performances cognitives des patients NMO et celles des patients SEP pour chaque subtest cognitif (tableau 2). Il faut cependant rappeler que la BCcogSEP n'a pas été construite pour analyser au mieux le pattern cognitif des patients mais pour détecter des troubles cognitifs dans la SEP avec une grande sensibilité.¹¹⁸ Ainsi, nous avons récemment mené une même étude chez 25 patients atteints de syndrome de Gougerot-Sjögren (SGS) avec plainte cognitive, comparés à 25 patients SEP.¹¹⁹ Là encore, nous n'avons pas trouvé de différence significative en termes de troubles cognitifs à la BCcogSEP entre les deux groupes de SGS et SEP. Ces résultats interrogent aussi sur un éventuel pattern cognitif commun aux pathologies inflammatoires du système nerveux central (SEP, NMO, SGS...).

3. Absence de corrélation avec l'IRM conventionnelle

Les troubles cognitifs dans la SEP sont présents chez 40 à 70 % des patients. Ils peuvent apparaître très précocement au stade de CIS (syndrome cliniquement isolé) comme l'a montré l'équipe de Jean Pelletier.¹²⁰ Nous avons aussi montré récemment, à l'initiative de Christine Lebrun-Fresnay, que des troubles cognitifs existaient déjà pour certains au stade de RIS (syndrome radiologiquement isolé ; le patient n'a jamais eu de symptômes neurologiques clairement identifiés).¹²¹ Au stade de CIS ou de RIS, il n'y a pas de corrélation entre les troubles cognitifs et la charge lésionnelle.¹²¹⁻¹²²

Dans notre étude nous n'avons pas non plus trouvé de corrélation entre la charge lésionnelle à l'IRM cérébrale et l'intensité des troubles cognitifs chez les patients NMO. Alors que dans la SEP, à un stade plus évolué de la maladie que celui de CIS ou RIS, plusieurs articles ont

montré une telle corrélation.¹²³⁻¹²⁷ Cependant seuls trois patients NMO de notre cohorte remplissaient les critères de Barkhof.

L'étude en IRM fonctionnelle de repos des patients NMO a récemment démontré l'existence de modifications de cet état de repos. Ainsi, on observe une diminution significative de l'activité par rapport aux témoins dans certaines régions (pré-cunéus, cortex cingulaire postérieur, gyrus lingual), et une augmentation dans d'autres régions (gyrus frontal médian, noyau caudé et thalamus). Cependant, ces résultats n'ont pas été comparés au statut cognitif des patients.⁶¹ On peut néanmoins supposer que les modifications fonctionnelles en IRM puissent avoir un lien avec les modifications cognitives des patients. Nous aborderons cette problématique dans l'article 3.

L'absence de corrélation entre les troubles cognitifs et l'IRM cérébrale conventionnelle cérébrale nous a poussé à nous interroger sur l'existence de modifications métaboliques de la substance grise ou de la substance blanche en spectroscopie IRM; c'est ce que nous allons développer dans l'article 2. Puis nous avons cherché à corréler les troubles cognitifs à la volumétrie cérébrale globale et focale, afin de mieux comprendre l'origine de ces troubles ; cet aspect sera développé dans l'article 3.

**Evaluation des patients atteints de neuromyérite
optique par spectroscopie de résonance
magnétique**

Article 2

Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry

2010 ; 81 : 409-411.

Magnetic resonance spectroscopy evaluation in patients with neuromyelitis optica

Jérôme de Seze,¹ Frédéric Blanc,¹ Stéphane Kremer,² Nicolas Collongues,¹ Marie Fleury,¹ Christophe Marcel,¹ Izzie-Jacques Namer³

¹Department of Neurology, Strasbourg University, Strasbourg, France
²Neuroradiology, Strasbourg University, Strasbourg, France
³Nuclear Medicine, Strasbourg University, Strasbourg, France

Correspondence to
 Professor Jérôme de Seze, Department of Neurology, Hôpital Civil, 1 place de l'hôpital, BP 426, 67091, Strasbourg cedex, France; jerome.de.seze@chru-strasbourg.fr

Received 15 November 2008
 Revised 23 February 2009
 Accepted 31 March 2009

ABSTRACT

Objective Neuromyelitis optica (NMO) is an inflammatory disease associated with optic neuritis and myelitis. Although some studies have reported multiple sclerosis (MS)-like lesions in 10–30% of NMO patients, brain MRI is usually normal. Several studies have observed metabolic abnormalities on MR spectroscopy in MS, even in normal-appearing white matter (NAWM). To the authors' knowledge, MR spectroscopy has never been used to investigate NMO. The aim of this study was to evaluate metabolic abnormalities in the NAWM and normal-appearing grey matter (NAGM) of NMO patients. **Methods** The authors evaluated 24 patients (17 women and seven men, with a mean age of 44.6 years). NMO was diagnosed according to revised criteria. All patients had a brain and spinal cord MR imaging including MR spectroscopy sequences in both NAWM and NAGM. Patients were compared with 12 healthy subjects. **Results** NAA/creatinine ratios in NAWM (1.89 ± 0.26 in NMO compared with 1.91 ± 0.15 in control subjects) and NAGM (1.62 ± 0.21 compared with 1.59 ± 0.18) were normal, as were choline/creatinine ratios in NAWM (1.03 ± 0.18 compared with 1.08 ± 0.14) and NAGM (0.89 ± 0.2 compared with 0.94 ± 0.2). Myo-inositol values in NAWM were also normal (0.42 ± 0.12 compared with 0.42 ± 0.18). **Conclusion** Our results are clearly different from those found in MS, where NAA is frequently decreased and choline increased, even in NAWM. Our findings could have an impact on the differentiation between MS and NMO.

INTRODUCTION

Neuromyelitis optica (NMO) is an inflammatory disease associated with optic neuritis and myelitis.^{1–3} In the past, NMO was frequently considered to be a form of multiple sclerosis (MS), but there is now much evidence to suggest that they are different diseases. The brain has generally been considered to be spared in NMO, although recent MRI and immunopathological findings suggest that tissue damage in NMO is more extensive than previously thought, involving the brainstem or brain.^{4–9} Although some studies have reported MS-like lesions in about 10–30% of NMO patients, brain MRI is usually normal.³ However, recent evidence suggests that brain lesions are more frequent than previously thought in NMO; indeed, lesions unlike those occurring in MS have been detected in the hypothalamus and around the 4th ventricle, corresponding to areas with a high concentration of aquaporin 4, in NMO patients.⁶

In MS, several studies observed metabolic abnormalities on MR spectroscopy, even in normal-appearing white matter (NAWM) and normal-appearing grey matter (NAGM).^{10–12} These studies showed a decrease in N-acetyl-aspartate (NAA) in MS patients, suggesting infra-radiological destruction, including axonal loss. NMO is a severe disease that is frequently more disabling than MS.³ However, progression between relapse episodes is very rare.¹³ This suggests that, in contrast to MS, NMO is a more regionally restricted disease and that axonal loss and necrosis are only located in the region affected by inflammatory lesions, without whole-brain abnormalities. To our knowledge, MR spectroscopy has never been used to investigate NMO.

The aim of our study was to evaluate metabolic abnormalities in the NAWM and NAGM of NMO patients.

METHODS

Patients

The study was cross-sectional. We prospectively and consecutively included 24 NMO patients (17 women and seven men, with a mean age of 44 years). NMO was diagnosed according to the revised criteria recently proposed by Wingerchuck *et al.*¹⁴ Clinical, demographic and laboratory data are summarised in table 1. All patients had definite NMO according to the recently revised criteria.¹⁴ All but one patient had a relapsing form of NMO. All patients but four had bilateral optic neuritis (ON). We compared these 24 NMO patients with a control group of 12 healthy volunteers from our database. All patients and controls gave their written informed consent to participate in the study. The study was approved by the ethics committee of Strasbourg hospital.

MRI evaluation

All patients had a brain and spinal cord MRI on a 1.5 T machine (Siemens, Erlangen, Germany). In addition to the usual protocol for the follow-up of these patients, we performed MR spectroscopy sequences in both NAWM and NAGM.

All MR studies were conducted with a 1.5 T MR imager (Siemens 1.5 T Avanto system). MR spectra were obtained using a double spin-echo point-resolved spectroscopy (PRESS) sequence with two-dimensional 16×16 phase-encoding (2D-MRSI). A transverse plane was positioned in the centrum ovale within the volume of interest resulting in maps of 8×8 spectra (figure 1). Measurement parameters were as follows: TR, 1500 ms; TE, 135 ms; slice thickness, 15 mm; FOV, 240 mm; data

Short report

Table 1 Clinical, laboratory and MR spectroscopy data for neuromyelitis optica (NMO) patients and controls

	NMO patients n=24	Control group n=12	p Values
Sex (women/men)	17/7	8/4	0.95
Age in years (mean±SD)	44.6±10.7	31.1±6.9	0.01
Disease duration, y (mean±SD)	6.1±5.5	—	—
No of relapses (mean±SD)	4±2.3	—	—
NMO-IgG antibody positive	17/24 (58.8%)	—	—
NAWM			
NAA/creatinine (mean±SD)	1.89±0.26	1.91±0.15	0.8
Choline/creatinine (mean±SD)	1.03±0.18	1.08±0.14	0.7
NAGM			
NAA/creatinine (mean±SD)	1.62±0.21	1.59±0.18	0.8
Choline/creatinine (mean±SD)	0.89±0.2	0.94±0.2	0.7
Myo-inositol (mean±SD)	0.42±0.12	0.42±0.18	0.9

NAA, N-acetyl aspartate; NAGM, normal-appearing gray matter; NAWM, normal-appearing white matter.

points, 1024; and acquisition time, 7 min. An additional single-voxel acquisition was performed with an 8 cm³ voxel (2×2×2 cm); TE, 30 ms; and acquisition time, 3 min. The field homogeneity achieved in automated non-localised multiple angle projection shimming resulted in water peak linewidths <8 Hz in the volume of interest. Water suppression was achieved with 2.56 ms sinc-Hanning-shaped RF pulses for chemical shift selective excitation (CHESS). The 2D-MRSI and single-voxel raw data were analysed with standard postprocessing software (Siemens, Germany). For 2D-MRSI, postprocessing included zero-filling to 32×32 and apodisation in the spatial domain, which resulted in an effective voxel size of 0.84 cm³. The time-domain data were

zero-filled to 2048 data points and apodized with a Gaussian function, which corresponded to 2 Hz line-broadening in the frequency domain. Spectral phasing and a polynomial baseline correction were also performed. The signals of NAA, choline-containing compounds (Cho), total creatine (Cr), the lactate doublet (Lac) and mobile lipids (Lip) were quantitated by means of curve fitting. The spectral regions for the numerical integration of peaks were: 3.22 ppm for Cho, 3.03 ppm for Cr, 2.02 ppm for NAA, 1.32 ppm for Lac and 0.8–1.5 ppm for Lip peak. Quantification of the metabolites was done from the CSI 135 ms by taking the mean of three spectra for white matter and grey matter for Cho, Cr and Lac, from a single voxel from the SVS 30 ms for myo-inositol.

Data analysis

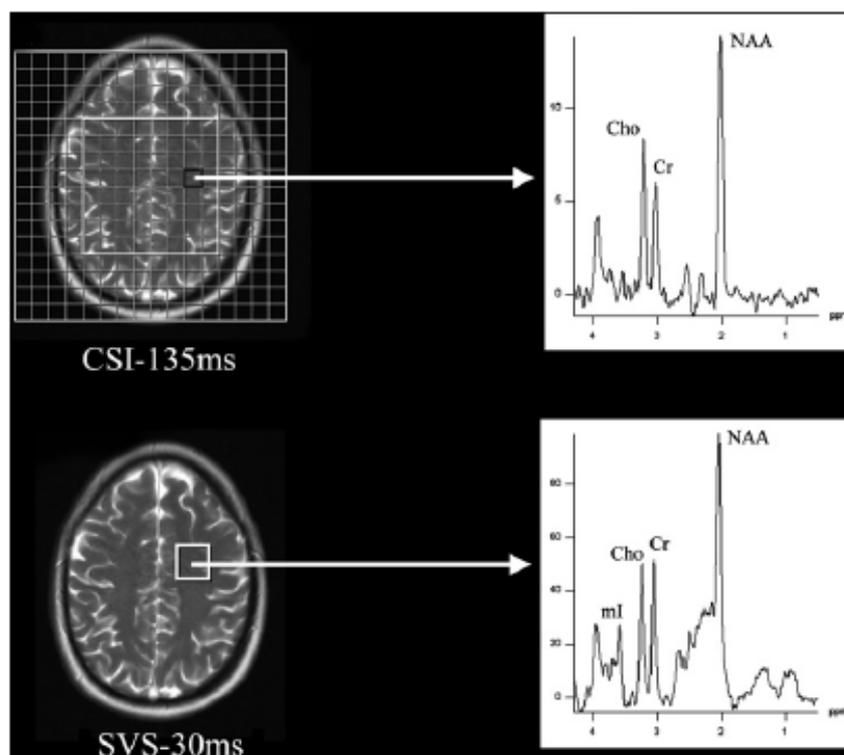
Results were expressed as mean±SD. Statistical evaluation was performed using a χ^2 test for qualitative values and non-paired Student t test for quantitative values.

RESULTS

Eleven patients (46%) had T2-weighted abnormalities on brain MRI, including seven patients (29.1%) with non-specific lesions and four (16.7%) with MS lesions.

The main MRI and MR spectroscopy findings are summarised in table 1. In NMO patients, the NAA/creatinine ratios in NAWM (NMO: 1.89±0.26; controls: 1.91±0.15) and NAGM (NMO: 1.62±0.21; controls: 1.59±0.18) and the choline/creatinine ratios in NAWM (NMO: 1.03±0.18; controls: 1.08±0.14) and NAGM (NMO: 0.89±0.2; controls: 0.94±0.2 in healthy controls) were not different from the values in normal subjects. Lastly, myo-inositol values in NAWM were not different in NMO patients when compared with the control group (NMO: 0.42±0.12; controls: 0.42±0.18).

Figure 1 Voxel placement of MR spectroscopy.



Furthermore, we did not find any differences in spectroscopy findings when we compared patients with and patients without brain MRI T2 lesions.

DISCUSSION

Our study demonstrates that MR spectroscopy findings are normal in both NAWM and NAGM in NMO patients for the main metabolic parameters (NAA, choline and myo-inositol), corresponding to axonal loss, inflammation and gliosis, respectively. This is clearly different from the findings in MS, where NAA is frequently decreased and choline increased, even in NAWM.^{10–12} Our present results are somewhat surprising considering our recent findings on cognitive disturbances in NMO.¹⁵ In that study we found a similar profile and frequency of cognitive impairment in two MS and NMO cohorts. Those results led us to suspect diffuse brain tissue damage in NMO. This apparent discordance could be explained by the choice of brain region for spectroscopy. In the present study, we focused on NAWM in the centrum ovale within the volume of interest, resulting in maps of typically 8×8 spectra. Whole-brain spectroscopy or the analysis of other regions, such as the temporal lobe (and especially the hippocampus), would therefore be interesting. However, the cognitive abnormalities in NMO might also be explained by mechanisms other than NAWM and NAGM involvement.

Our results could have an impact on the differentiation between MS and NMO in cases presenting differential diagnosis difficulties. It is interesting to note that, even in the few patients with brain T2 lesions, MR spectroscopy findings remained normal, suggesting that NMO is a more regionally restricted disease than MS, where diffuse tissue damage is frequently observed. In this respect, it would be interesting to perform MR spectroscopy in patients with acute demyelinating encephalomyelitis, which is unlikely to be associated with NAWM/NAGM alterations. However, MR spectroscopy is rarely used as part of the routine diagnosis strategy, as the majority of studies showed intergroup differences but also found a considerable overlap between normal controls and MS patients.

Our results are in good correlation with clinical findings in NMO showing a monophasic or relapsing evolution but relatively restricted to optic nerve and spinal cord. Furthermore, inter-relapse progression, which has been reported only very rarely in previous studies on NMO,¹³ was not observed in any of the patients in our study. In MS, however, disability progression is frequently observed, even in patients without relapses, especially in secondary progressive MS, suggesting subclinical

destruction. A recent study with diffusion tensor tractography found that, in NMO, abnormalities remained restricted to both optic and corticospinal tracts.⁹ All these results argue in favour of a different pathophysiological process in NMO compared with MS, as demonstrated by recent neuropathological studies.^{4,5}

Our study, based on metabolic measurement using MR spectroscopy, provides further evidence that the brain is frequently spared in NMO. MR spectroscopy could usefully be added to the diagnostic work-up for differentiation between MS and NMO in some difficult cases.

Competing interests None.

Ethics approval Ethics approval was provided by the Strasbourg.

Patient consent Obtained.

Provenance and peer review Not commissioned; externally peer reviewed.

REFERENCES

1. **Wingerchuk DM, Hogancamp WF, O'Brien PC, et al.** The clinical course of neuromyelitis optica (Devic's syndrome). *Neurology* 1999;**53**:1107–14.
2. **de Seze J, Stojkovic T, Ferrby D, et al.** Devic's neuromyelitis optica: clinical, laboratory, MRI and outcome profile. *J Neurol Sci* 2002;**197**:57–61.
3. **de Seze J, Lebrun C, Stojkovic T, et al.** Is Devic's neuromyelitis optica a separate disease? A comparative study with multiple sclerosis. *Mult Scler* 2003;**9**:521–5.
4. **Lucchinetti CF, Mandler RN, McGavern D, et al.** A role for humoral mechanisms in the pathogenesis of Devic's neuromyelitis optica. *Brain* 2002;**125**:1450–61.
5. **Chalumeau-Lemoine L, Chretien F, Si Larbi AG, et al.** Devic disease with brainstem lesions. *Arch Neurol* 2006;**63**:591–3.
6. **Pittock SJ, Lennon VA, Krecke K, et al.** Brain abnormalities in neuromyelitis optica. *Arch Neurol* 2006;**63**:390–6.
7. **Pittock SJ, Weinshenker BG, Lucchinetti CF, et al.** Neuromyelitis optica brain lesions localized at sites of high aquaporin 4 expression. *Arch Neurol* 2006;**63**:964–8.
8. **Rocca MA, Agosta F, Mezzapesa DM, et al.** Magnetization transfer and diffusion tensor MRI show gray matter damage in neuromyelitis optica. *Neurology* 2004;**62**:476–8.
9. **Lin F, Yu C, Jiang T, et al.** Quantitative analysis along the pyramidal tract by length-normalized parameterization based on diffusion tensor tractography: application to patients with relapsing neuromyelitis optica. *Neuroimage* 2008;**33**:154–60.
10. **Sastre Gariga J, Ingole GT, Chard DT, et al.** Metabolite changes in normal-appearing gray and white matter are linked with disability in early primary progressive multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2005;**62**:569–73.
11. **Wattjes MP, Harzheim M, Lutterbey GG, et al.** Axonal damage but no increased glial cell activity in the normal-appearing white matter of patients with clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis using high-field magnetic resonance spectroscopy. *Am J Neuroradiol* 2007;**28**:1306–12.
12. **Gustafsson MC, Delqvist O, Jaworski J, et al.** Low choline concentrations in normal-appearing white matter of patients with multiple sclerosis and normal MR imaging brain scans. *Am J Neuroradiol* 2007;**28**:1517–22.
13. **Wingerchuk DM, Pittock SJ, Lucchinetti CF, et al.** A secondary progressive clinical course is uncommon in neuromyelitis optica. *Neurology* 2007;**68**:600–5.
14. **Wingerchuk DM, Lennon VA, Pittock SJ, et al.** Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica. *Neurology* 2006;**66**:1485–9.
15. **Blanc F, Zephir H, Lebrun C, et al.** Cognitive functions in neuromyelitis optica. *Arch Neurol* 2008;**65**:84–8.

Commentaires

L'objectif principal de cette étude était de rechercher en spectroscopie IRM des anomalies au niveau de la substance blanche d'apparence normale (SBAN) et de la substance grise d'apparence normale (SGAN) du cerveau des sujets NMO. Aucune anomalie n'a été trouvée chez les 24 patients comparativement aux 12 témoins.

Ces résultats ont été confirmés par deux autres équipes.¹²⁸ La première est une équipe brésilienne qui a étudié en spectro-IRM la SBAN des patients. A partir de 16 patients comparés à 16 témoins, les auteurs n'ont pas trouvé de différence significative entre les deux groupes au niveau de la partie postéro-supérieure gauche de la substance blanche périventriculaire.¹²⁸ La seconde équipe, autrichienne, s'est aussi intéressée à la SBAN de 8 patients NMO qui ont été comparés à 8 patients contrôles.¹²⁹ La zone d'intérêt se trouvait cette fois-ci au niveau frontal antérieur, au-dessus des ventricules latéraux. Cette zone d'intérêt est proche de celle que nous avons utilisé pour la substance blanche.

1. Limites de cette étude

La première limite de cette étude est le fait qu'elle a porté sur l'étude non pas de la totalité du cerveau des patients NMO mais seulement une partie du lobe frontal. En effet, il est désormais possible d'obtenir une spectroscopie de l'ensemble du cerveau. Grâce à une spectroscopie multi-coupe, Mathiesen *et al.* ont montré qu'il existait une relation entre troubles cognitifs dans la SEP et le NAA de l'ensemble du cerveau.¹³⁰ Cependant, grâce aux trois études suscitées, dont la nôtre, il est possible d'avoir une appréciation déjà intéressante de plusieurs régions du cerveau, dont le lobe frontal dans sa partie antérieure et le lobe pariétal dans sa partie supérieure.

Par ailleurs, nous n'avons pas tenté de comparer le groupe de patients avec troubles cognitifs avec celui sans troubles cognitifs. Il est cependant peu probable que nous trouvions une différence entre ces deux groupes au vu des résultats du groupe témoin très proche de nos patients.

Enfin, le groupe de patients NMO a un âge significativement différent de celui des témoins. Mais ceci paraît peu important du fait de l'âge plus jeunes des témoins et non pas l'inverse.

Si nous avons trouvé une différence, nous aurions été gênés par l'âge plus jeune de nos témoins. Les deux autres études, quant à elles, ne donnent aucune information sur leurs témoins, si ce n'est leur nombre.

2. Spectroscopie IRM dans la NMO et dans la SEP

Les résultats que nous venons de développer sur la NMO contrastent avec ceux connus dans la SEP qui présente une dysfonction ou une perte axonale/neuronale détectée grâce à une baisse du NAA en SBAN.^{60,131-133} De même, des anomalies ont été trouvées au niveau de la SGAN.¹³⁴ Ainsi, au niveau des thalami on observe une diminution du NAA corrélée à l'atrophie des thalami.¹³⁵

Il peut aussi arriver dans la SEP qu'il y ait une augmentation de la choline et des lipides en SBAN. Deux équipes ont suivi ces zones d'augmentation de façon longitudinale, et ont montré qu'elles évoluaient vers des lésions classiques de SEP.¹³⁶⁻¹³⁷

Cependant en début de maladie, tous les patients SEP ne présentent pas de diminution du NAA au niveau de la SBAN. Ainsi, Tourbah *et al.* ont montré chez 42 patients CIS présentant une névrite optique que seuls 14 présentaient une diminution du NAA.¹³⁸ D'autres, à partir de 96 patients CIS, ont trouvé une augmentation du Mi (myo-inositol) mais pas du NAA.¹³⁹ Enfin Wattjes *et al.* ont montré à partir de 31 patients CIS une diminution du NAA de 8 % ($p=0,012$) par rapport aux témoins, et a contrario aucune modification du Mi.¹⁴⁰ Ainsi les résultats concernant les patients CIS ne sont pas unicastes, probablement du fait de techniques de spectroscopie un peu différentes, mais aussi du fait de l'hétérogénéité probable des CIS. Cet exemple des CIS montre bien que les résultats en spectroscopie peuvent être variables et souvent normaux.

Par contre, l'existence d'un lien entre l'évolution progressive de la maladie et la baisse du NAA a été rapportée récemment. Sijens *et al.* avaient d'abord montré sur de petites cohortes de moins de 10 patients que le NAA diminue chez les patients avec SEP progressive, mais pas chez les patients avec SEP rémittente.¹⁴¹ Aboul-Enein *et al.* ont confirmé ce résultat avec une plus grande cohorte de 37 patients.¹⁴²

Or, la NMO a de façon extrêmement rare une évolution secondairement ou primitivement progressive. En effet, sur les 96 patients suivis par l'équipe de la Mayo Clinic, seuls 2 ont une évolution progressive (2 %).¹⁴³

Ainsi, l'absence d'anomalies détectées chez les patients NMO s'explique mieux au vu des résultats chez les patients SEP où les anomalies, notamment du NAA, sont en rapport avec l'évolution progressive de la maladie, ce qui est rare dans la NMO ; aucun de nos patients n'avait une telle évolution.

3. D'autres approches IRM pourraient-elles expliquer les troubles cognitifs ?

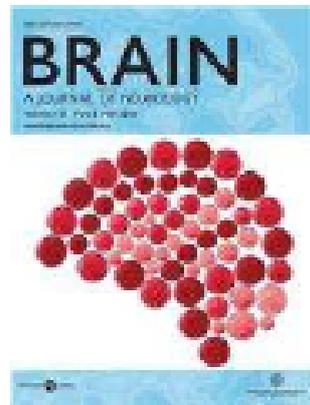
La normalité de la spectroscopie IRM nous a poussé à rechercher d'autres approches via l'IRM afin de mieux expliquer ces troubles cognitifs. Nous avons donc choisi d'étudier les corrélations éventuelles entre la volumétrie globale et focale, et les performances cognitives de nos patients.

Volume cérébral et fonctions cognitive dans la neuromyéélite optique

Article 3

Brain

2010 ; soumis.



Brain Volume and Cognitive Functions in Neuromyelitis Optica

Journal:	Brain
Manuscript ID:	Draft
Manuscript Type:	Original Paper
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Blanc, Frederic; University Hospital of Strasbourg, Neurology; University of Strasbourg and CNRS, LINC Vincent, Noblet; CNRS, LSIIT Jung, Barbara; University Hospital of Strasbourg, Neurology Rousseau, François; CNRS, LSIIT Renard, Felix; University of Strasbourg and CNRS, LINC Bourne, Bertrand; University Hospital of Strasbourg, Neurology; University of Strasbourg and CNRS, LINC Longato, Nadine; University Hospital of Strasbourg, Neurology Nadjette, Cremel; University Hospital of Strasbourg, Neurology Di Bitonto, Laure; University Hospital of Strasbourg, Neurology Kleitz, Catherine; University Hospital of Strasbourg, Neurology Collonques, Nicolas; University Hospital of Strasbourg, Neurology; University of Strasbourg and CNRS, LINC Foucher, Jack; INSERM, U666 Kremer, Stéphane; University Hospital of Strasbourg, Neurology Armspach, Jean-Paul; University of Strasbourg and CNRS, LINC de Seze, Jerome; University Hospital of Strasbourg, Neurology; University of Strasbourg and CNRS, LINC
Key Words:	
Please choose up to 5 keywords from the list:	Neuromyelitis Optica, MRI, cognitive impairment, voxel-based-morphometry, neuropsychology

(Article)**Brain volume and cognitive functions in neuromyelitis optica**

Frédéric Blanc,^{1,2,3} Vincent Noblet,⁴ Barbara Jung,^{1,3} François Rousseau,⁴ Félix Renard,^{2,4} Bertrand Bourre,^{1,2} Nadine Longato,^{1,3} Nadjette Cremet,^{1,3} Laure Di Bitonto,^{1,3} Catherine Kleitz,^{1,3} Nicolas Collongues,^{1,2} Jack Foucher,⁵ Stéphane Kremer,^{2,6} Jean-Paul Armspach,² Jérôme de Seze^{1,2}

1 Neuropsychology Service, Department of Neurology, University Hospital of Strasbourg, Strasbourg, France.

2 LINC (Cognitive Neurosciences and Imagery Laboratory), FRE 3289, University of Strasbourg and CNRS, Strasbourg, France.

3 CMRR (Memory Resource and Research Centre), Department of Neurology, University Hospital of Strasbourg, Strasbourg, France.

4 LSIT (Image Science, Computer Science and Remote Sensing Laboratory), UMR 7005, University of Strasbourg and CNRS, Strasbourg, France.

5 INSERM U666, University Hospital of Strasbourg, Strasbourg, France.

6 Neuroradiology service, University Hospital of Strasbourg, Strasbourg, France.

Running title: Brain MRI and cognition in NMO

Word count: 4115 (abstract: 291 words) + 40 references, 5 Tables and 3 Figures

Keywords: neuromyelitis optica, cognitive impairment, neuropsychology, VBM, MRI

Correspondence to: Dr. Frédéric Blanc, Neuropsychology Service, Department of Neurology, University Hospital of Strasbourg, 1 place de l'Hôpital, 67091, Strasbourg, France.

E-mail: Frederic.Blanc@chru-Strasbourg.fr

Phone: +33-388116892 ; fax: 0033 388116882

Abstract

Neuromyelitis optica (NMO) is an inflammatory disease of central nervous system characterized by optic neuritis and longitudinally extensive acute transverse myelitis. We recently demonstrated that NMO patients have cognitive dysfunctions. In the present study, we aimed to investigate whether cognitive dysfunctions and brain volume were correlated. The study population consisted of 32 patients with NMO and 32 healthy control subjects matched for age, sex and educational level. We applied a French translation of the Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests for Multiple Sclerosis with 14 subtests (BCcogSEP) to the NMO patients. Using SIENAx for global brain volume and a voxel-based morphometry method (VBM) for focal brain volume, NMO patients and controls were compared. Voxel-level correlations between grey matter (GM) or white matter (WM) concentration and cognitive performance for each test were performed using residual scores. Eighteen NMO patients (57%) had cognitive impairment with memory, executive function, attention and speed of information processing deficits. Global and focal brain atrophy of WM but not GM was found in the NMO patients group. The focal WM atrophy included the optic chiasm, optic nerves, pons, cerebellum, the anterior part of the corpus callosum and parts of the frontal and parietal lobes. The intensity of cognitive impairment was correlated to whole brain volume. Verbal memory performances were correlated to focal GM volume; visual memory, speed of information processing, working memory and executive functions were correlated to focal WM volumes. Lastly, we found a decreased global and focal white matter volume in the brain of NMO patients compared to healthy subjects. Moreover, we observed correlations between cognitive test performances and white matter volumes. Further studies are needed to better understand the precise origin of cognitive impairment in the brain of NMO patients, particularly in the white matter.

Introduction

Neuromyelitis optica (NMO) is a central nervous system (CNS) inflammatory disease characterized by optic neuritis (ON) and longitudinally extensive acute transverse myelitis (ATM). First described by Eugene Devic and others in the 19th century as a distinct disease, NMO or Devic's disease was then classified as a subtype of multiple sclerosis (MS) (Gault, 1894). However, the discovery of an autoantibody called NMO-IgG that targets aquaporin-4 (AQP4), indicates that NMO is clearly a different CNS pathology (Lennon *et al.* , 2004). Testing for NMO-IgG has a reported sensitivity of 54-76% and a specificity of 85-99% for NMO (Lennon *et al.* , 2004, Jarius *et al.* , 2007, Nakashima *et al.* , 2006). Moreover, the analysis of the pathology of the lesions supports a role for humoral immunity in the pathogenesis of NMO, because of complement activation, eosinophilic infiltration and vascular fibrosis (Lucchinetti *et al.* , 2002). AQP4 is the main water channel protein in the CNS, mainly expressed on astrocyte end-feet at the blood-brain barrier (BBB) and the brain-cerebrospinal fluid barrier, in white matter (WM) and grey matter (GM) throughout the CNS. Patients with NMO have an extensive loss of AQP4 and a decreased astrocyte concentration in acute and chronic NMO lesions of the spinal cord and the optic nerves (Misu *et al.* , 2007). The median age at NMO onset is about 35 years and there is a female preponderance. NMO usually follows a relapsing course, less often a monophasic course and very rarely a progressive course (Collongues *et al.* , 2010). Rapid progression of disability is frequent in NMO: median delay from onset to Expanded Disability Status Scale (EDSS) score 6 (assistance required to walk) is about 10 years (Collongues *et al.* , 2010). Brain involvement in NMO patients seems to be more frequent than previously described. Brain MRI at the beginning of the disease is usually normal. However, after a disease course of several years, non-MS-like lesions were found in 50% of patients, whereas MS-like lesions

were present in only 10% of cases (Pittock *et al.* , 2006). Logically, brain lesions in NMO are localized at sites of high AQP4 expression (Pittock *et al.* , 2006). Using diffusion tensor imaging, brain tissue abnormalities have been found in normal appearing GM (NAGM) and normal appearing WM (NAWM) (Yu *et al.* , 2006). Furthermore, using magnetization transfer (MT) MRI, Rocca *et al.*, showed reduced MT ratio of the NAGM.(Rocca *et al.* , 2004) However, magnetic resonance (MR) spectroscopy showed no abnormality in brain NMO, including GM (de Seze *et al.* , 2010, About-Enein *et al.* , 2010, Bichuetti *et al.* , 2008). Only a few NMO patients have undergone brain pathology analysis (Pittock *et al.* , 2006, Hengstman *et al.* , 2007, Nakamura *et al.* , 2005). In these cases, macrophage and eosinophil infiltration was found in brain lesions, as previously described in spinal cord lesions (Hengstman *et al.* , 2007). But no pathological data has been published on NAWM and NAGM of brain NMO patients.

We recently demonstrated that NMO patients had cognitive dysfunctions, a finding subsequently confirmed by others (Blanc *et al.* , 2008, Saji *et al.* , 2010). Cognitive impairment mainly affects long-term memory, speed of information processing, attention and executive functions. As far as we are aware, there have been no previous studies on correlations between brain atrophy and cognitive functions in NMO patients.

In the present study, we aimed to investigate whether there are correlations between cognitive dysfunctions and global and/or focal GM and WM volume/concentration in NMO patients.

Materials and methods

Setting and participants

Thirty-two patients with definite NMO according to the recently revised criteria (Wingerchuk *et al.* , 2006) or considered to be at high risk of NMO (NMO patient group), and 32 healthy volunteers (control group) matched for sex, age and educational level were included in the

study. Patients' characteristics are detailed in Table 1. Patients were recruited at the Department of Neurology (University Hospital of Strasbourg). Twenty-seven patients fulfilled the revised criteria for NMO (Wingerchuk *et al.*, 2006). Five patients were considered to be at high risk of NMO, due to the presence of recurrent optic neuritis (n=2) or transverse myelitis (n=3) and a positive NMO-IgG test. All patients had a Beck Depression Inventory score <10 (Beck *et al.*, 1961), and an EDSS score ≤ 6.5 (Kurtzke, 1983). Testing for NMO-IgG was conducted using indirect immunofluorescence analysis, as previously described (Marignier *et al.*, 2008). Eight patients, including three with cognitive impairment, had also participated in the previously published multicentre study on cognitive functions in NMO (Blanc *et al.*, 2008). All NMO patients and healthy subjects gave their written informed consent to participate in the study. The study was approved by the local ethics committee.

Neuropsychological assessment

We assessed NMO patients using the the BCcogSEP (*Batterie Courte d'évaluation cognitive destinée aux patients souffrant de Sclérose En Plaques*) (Dujardin *et al.*, 2004). The BCcogSEP is a battery of tests to evaluate cognitive functions and was specially designed for MS patients. It is based on the Brief Repeatable Battery of Neuropsychological tests for Multiple Sclerosis (BRB-N) proposed by Rao *et al.*, (Rao *et al.*, 1991) and comprises the French version of the 5 BRB-N tests:

- a Selective Reminding Test (SRT) evaluating the ability to store and consolidate verbal information: Participants had to memorize a list of 15 words. Performance was assessed in terms of the mean number of words correctly recalled at the free recall trials, a list learning index and the number of word correctly recalled at the delayed recall.

- a visuospatial memory test (10/36) evaluating the ability to store and consolidate the localization of 10 dots placed on a 6x6 grid. Performance was assessed in terms of the mean number of localizations correctly recalled during the immediate and delayed free recall trials.
- the Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT) evaluating speed of information processing and sustained attention. Series of 61 numbers from 1 to 9 were randomly delivered at presentation rates of one number every 3 or 2 sec. Participants were instructed to add each new number to the one immediately preceding it. Performance was assessed in terms of the percentage of correct additions.
- a verbal fluency test evaluating verbal initiation. Participants were required to produce as many words as they could starting with the letter "P" and then as many animal names as they could. Each trial was limited to 1 minute. Performance was assessed in terms of the number of different words generated.
- the digit symbol subtest of the WAIS-R (Code) evaluating information processing speed. Participants had to match, as quickly as possible and without error, symbols and numbers according to a key code. The task lasted 90 sec and performance was assessed in terms of the number of symbols correctly coded.

Three tasks were added in order to provide additional information about working memory and executive functions:

- The crossed tapping test, evaluating set-shifting abilities and resistance to interference (Godefroy *et al.* , 1992). Participants were given a stick and were instructed to listen to a sound recording. When they heard a single, brief sound, they had to tap twice on the table with the stick; when they heard two, consecutive, brief sounds, they had to tap once. Ten practice trials were run before starting the actual task, which comprised 40 trials. Performance was assessed in terms of the number of errors.

Blanc 7

- a "Go-No-Go" test evaluating inhibition. Participants were given a stick and were instructed to listen to a sound recording. When they heard a single, brief sound, they had to tap once on the table with the stick; when they heard two, consecutive, brief sounds, they had to do nothing. Ten practice trials were run before starting the actual task, which comprised 40 trials. Performance was assessed in terms of the number of errors.

- The WAIS-R digit span subtest evaluating auditory-verbal working memory.

Cognitive impairment was considered if four or more of the 14 subtests were inferior to the 5th percentile, as described by Dujardin et al. (Dujardin *et al.*, 2004).

For the four blind patients we did not perform the 10/36 and the digit symbol tests.

Structural image analysis

MRI examination of participants was performed on a 1.5 Tesla whole body unit, using a standard head coil (SIEMENS Avanto MR, Erlangen, Germany). Brain MRI was performed the same day as the neuropsychological assessment.

The following sequences were acquired:

- 1) 3D high resolution T1-weighted (MPRAGE) images (TR = 1900, TE = 2.68, TI = 1100, flip 15°, FOV 230 mm, matrix 260x320, slice thickness 1.0 mm; voxel size: 1x1x1 mm);
- 2) Axial turbo spin-echo (TSE) T2-weighted sequence (TR = 4000, TE = 14/109, echo train length = 5, FOV 220x165 mm², matrix 256x192, slice thickness 4.0 mm);
- 3) Axial FLAIR T2-weighted sequence (TR = 9000, TE = 87, TI = 2500, echo train length = 16, FOV 230 mm, matrix 224x256, slice thickness 4.0 mm).

Global brain volume was estimated for each subject with high-resolution T1-weighted images according to the SIENAx method (Image Analysis Group, Oxford, UK) (Smith *et al.*, 2002, De Stefano *et al.*, 2002). Briefly, SIENAx estimates the total brain tissue volume, from a single whole-head input image, normalized for skull size. It first strips non-brain tissue, and

then uses the brain and skull images to estimate the scaling between the subject's image and standard space. It then runs tissue segmentation with partial volume estimation to estimate the volume of brain tissue (GM, WM), and applies a normalization factor to reduce head-size-related variability between subjects.

Focal brain volume loss was also analyzed and compared for patients and controls with high-resolution T1-weighted images according to the method for VBM with SPM5 (Statistical Parametric Mapping, Wellcome Department of Cognitive Neurology, London, UK) and Matlab 7.7 software (The MathWorks, MA, USA).

Briefly, this method involves an initial segmentation of T1-weighted MRI into GM and WM images in native space, followed by a normalization of the GM and WM images to GM and WM templates in stereotactic space. To improve segmentation, the normalization parameters obtained from the nonlinear normalization of the GM and WM images are re-applied to the original whole-brain MRI and the normalized whole-brain MRI is then segmented into WM and GM images in a second segmentation step. GM and WM concentration images (i.e., not modulated by the Jacobian of the transformation) were then smoothed with a 12-mm full-width half-maximum (FWHM) Gaussian kernel.

We performed voxel-level correlations of GM or WM concentration between patients and controls using a two-sample t-test, without covariates. Statistical maps were thresholded with false discovery rate (FDR) correction with P value <0.05 and with a minimum cluster size of 125 voxels.

MNI Space Utility (MSU, http://www.ihb.spb.ru/~pet_lab/MSU/MSUMain.html) and Talairach software (<http://www.talairach.org/index.html>) were used to create reports about cluster localization in terms of Talairach Daemon anatomical region labels.

Data analysis

We considered patients to have abnormal cognitive performance if their results were inferior to the 5th percentile, using the norms of Dujeardin et al. (Dujeardin *et al.*, 2004).

We looked for correlation between cognitive dysfunction and the following parameters: disease duration, EDSS, treatments, NMO antibodies, and also global brain volume, grey matter volume, and white matter volume (normalized). For this statistical analysis, we used the Pearson test for continuous variables, and the Spearman rank correlation test for ordinal data, using SPSS 18. To correct for multiple comparisons, a P value ≤ 0.01 was considered statistically significant, a P value between 0.01 and 0.05 was considered as a trend, and a P value > 0.05 was considered not significant.

The nonparametric Mann-Whitney U test was used to compare total brain, GM, and WM volumes between patients and controls (SPSS 18).

We performed voxel-level correlations between GM or WM concentration and cognitive performance for each subtest of the BCcogSEP using residual scores with SPM5. Statistical maps were thresholded without correction with P value < 0.001 and with a minimum cluster size of 125 voxels.

Results

The main demographical, clinical and laboratory results are summarized in Table 1. NMO was monophasic in three cases and multiphasic in the other cases. Four patients were blind.

Table 1 Clinical and demographic features of patients with neuromyelitis optica included in the study

Patients	n = 32
Age ^a	45.0 years (12.4)
Years of education ^a	12.2 (2.9)
Female/male	21/11
EDSS score ^b	3.25 (0-6.5)
Disease duration (years) ^a	11.1 (10.4)
Immunosuppressant treatment ^c	14
Immunomodulatory treatment ^c	3
First signs	Optic neuritis (n=19), myelitis (n=9), optic neuritis and myelitis (n=2), brainstem signs (n=2)
NMO-IgG + (%)	14 (44)
CSF	
Protein (g/l)	0.51
White cells/mm ³	23.4 (42.5)
Positive IgG Oligoclonal bands (%)	19

^a mean (standard deviation)^b median (range); EDSS—Expanded Disability Status Scale^c At the time of cognitive tests and brain MRI

Cognitive impairment

Eighteen NMO patients (57%) had cognitive impairment with more than four subtests of the BC cogSEP inferior to the 5th percentile. The results of the cognitive tests are summarized in Table 2. More than 40% of NMO patients had an impairment in the following tests: the Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT) 3 seconds (3%), the Code or Symbol Digit Modalities Tests (SDMT) of the R-WAIS, and the selective reminding tests (SRT) for the mean number of words and learning.

Correlations were found between EDSS score and PASAT 2s ($P=0.002$, $\rho=-0.53$), PASAT 3s ($P=0.006$, $\rho=-0.48$), and SRT learning ($P=0.001$, $\rho=-0.56$).

No correlation was found with mean duration of disease, treatment and NMO-IgG antibodies.

Blanc 11

Table 2 Number (percentage) of NMO patients with a score inferior to the 5th percentile for each cognitive subtests of the BCcogSEP

Cognitive Tests		Number of patients with cognitive dysfunction (percentage)
Selective reminding test		
	Number of words	14 (42.75)
	Learning	15 (45.87)
	Deferred recall	12 (37.5)
10/26 Spatial Recall Test		
	Immediate recall	6 (20.22)
	Delayed recall	3 (11.11)
Digit Span		
	Direct	3 (28.12)
	Indirect	3 (28.12)
WAIS-R symbol digit modalities test		
		11 (40.74)
Revised Auditory-Serial Addition Test		
	2 s	8 (25.00)
	3 s	15 (46.87)
Cross tapping		
		3 (11.11)
Go/no-go		
		4 (12.5)
Fluencies		
	Phonemic	8 (25.00)
	Semantic	4 (12.5)
BCcog-SEP battery		
		18 (57)

Global and focal brain volume

Global brain volume

Using SIENAx, no significant difference in global brain volume was found between NMO patients and controls ($P=0.06$). Similarly, no difference in brain GM volume was found between NMO patients and controls ($P=0.79$). However, we found a difference in brain WM volume between NMO patients and controls ($P=0.028$).

A trend towards a correlation was found between normalized GM volume and SRT mean number of words ($P=0.035$, $\rho=0.46$), SRT delayed recall ($P=0.04$, $\rho=0.37$).

A trend towards a correlation was found between normalized WM volume and PASAT 3s ($P=0.024$, $\rho=0.40$) and PASAT 2s ($P=0.046$, $\rho=0.36$).

Correlations were found between normalized global brain volume and PASAT 3s ($P=0.001$, $\rho=0.57$), and PASAT 2s ($P=0.004$, $\rho=0.50$).

A trend towards a correlation was found between normalized global brain volume and the number of subtests inferior to the 5th percentile ($P=0.023$, $\rho=0.40$).

Focal brain volume

Using VBM, focal brain atrophy of the WM was found as shown in Fig. 1 and Table 3.

Correlations between focal brain volume and cognitive tests

No correlation was found between some of the cognitive subtests (Code, direct digit span, crossed tapping test, Go/NoGo test, and semantic fluencies) and regional grey matter volume in the NMO group. Neither was any correlation found between cognitive subtests (SRT, direct digit span, crossed tapping test, Go/NoGo test and fluencies) and regional white matter volume in the NMO group.

Correlations were found between regional white matter volume and the 10/36 spatial memory test, code and PASAT 3s, as shown in Table 4. Two main structures were correlated with 10/36 immediate recall: optic chiasm and corpus callosum. Many white matter structures were correlated with 10/36 delayed recall (Fig. 2 and Table 4): parts of the visual system (optic chiasm, optic nerves, and occipital lobe), parts of the frontal lobe including the right dorsolateral prefrontal area and the pre-motor area, part of the limbic system including parahippocampal regions, and part of the parietal lobe including post-central gyrus and inferior parietal lobule. The pons was correlated with speed information processing (code). The pons and the corpus callosum were correlated with PASAT 3s.

Correlations were found between regional grey matter volume and SRT, PASAT 3s, backward digit span, and crossed tapping, as shown in Table 5. Many grey matter structures were correlated with PASAT 3s, including parts of the frontal, parietal, temporal, occipital

Blanc 13

and limbic lobes. Many structures were also correlated with SRT, including the frontal, parietal and limbic lobes. Performances in backward digit span and also in phonemic fluencies were correlated with the thalami. Performances in crossed tapping were correlated with the cerebellum and pons.

Discussion

Our data show that 57% of NMO patients had cognitive impairment according to their BCcogSEP performance. We also found a decreased global and focal white matter volume in NMO patients compared to healthy subjects. Furthermore, we observed correlations between cognitive tests performance and white matter volume.

We demonstrated cognitive impairment in more than 50% of NMO patients in a previously published multicentre study (Blanc *et al.*, 2008). Recently, Saji *et al.* also reported cognitive impairment in NMO patients (Saji *et al.*, 2010). In these two studies and the present study, the cognitive pattern in NMO patients was a subcortical cognitive impairment, including a decreased speed treatment of information (code), executive function impairment (PASAT, fluencies), and memory impairment (SRT, 10/36). No cognitive differences were found between NMO and MS patients (Blanc *et al.*, 2008). In the previous two studies, there was no correlation between brain lesions and cognitive impairment. Thus, we wanted to better understand the relationship between white and grey matter volumes and cognitive functions in NMO patients.

We did not find any decrease in the volume of brain grey matter volume in NMO patients, using SIENAx for global volume and VBM in SPM5 for focal volume. Similarly, using MR spectroscopy of the brain we did not find any abnormality in the grey matter in an earlier

study (de Seze *et al.*, 2010). However, it seems that brain NAGM in NMO has a decreased MT ratio (Rocca *et al.*, 2004). Furthermore, abnormal diffusivity (increased mean diffusivity) of NAGM has been reported (Yu *et al.*, 2006). However, these abnormalities of grey tissues have mainly been found in regions connected with the spinal white matter tracts and optic nerves (Yu *et al.*, 2006). Using statistical correlations we found links between cognitive impairment and a focal "decrease" in grey matter concentration. In particular, precentral and postcentral gyri volumes were correlated with PASAT 3s and SRT performance, the two tests most impaired among NMO patients. We also found a logical correlation between cognitive impairment and grey matter concentration. Thus, we found a correlation between SRT immediate recall and delayed recall performances and the left inferior parietal lobe (or left ventral parietal cortex), known to be the "episodic buffer" and involved in episodic memory retrieval (Wagner *et al.*, 2005). The SRT learning index was correlated with the posterior cingulate, known to be involved in encoding tasks (Desgranges *et al.*, 1998). SRT immediate recall was also correlated with the cerebellum, known to be involved in retrieval tasks (Desgranges *et al.*, 1998). PASAT is considered to be a "dirty test" because it tests many different cognitive functions such as executive function, working memory, attention and speed information treatment. Logically, this test was correlated with many grey matter areas (Fig. 3). This type of correlations was previously demonstrated with MS patients (Morgen *et al.*, 2006).

We found a decrease in white matter brain volume in NMO patients, using SIENAx for global volume and VBM in SPM5 for focal volume. This result, found using two different methods, strengthens the discovery of such atrophy. Abnormalities of NAWM in the brain of NMO patients were previously found using diffusion tensor imaging (Yu *et al.*, 2006, Rocca *et al.*, 2004). Yu *et al.* found a higher average mean diffusivity (MD) and a lower average fraction of

Blanc 15

anisotropy (FA). MD measures the average molecular motion and is affected by integrity, and FA reflects the degree of alignment of cellular structures and their structural integrity (Basser and Pierpaoli, 1996). Thus, subtle lesions of the white matter could be responsible for abnormal diffusion and atrophy. Using VBM, we found a decrease in the white matter concentration in particular regions. First, we found atrophy in the optic chiasm, which is a region known to be involved in NMO. We also found atrophy in regions connected to the cortico-spinal tract, such as the white matter in the pons and the precentral gyrus, and connected to the optic tracts, such as part of the white matter of the occipital region. These data are coherent with the known involvement of the spinal cord and the optic nerves in NMO. One can suppose that retrograde degeneration is potentially responsible for this atrophy of white matter. Yet, we also found atrophy of other regions in the frontal and the parietal lobes, not involved in the optic or corticospinal tracts. These data would appear to conflict with the results we previously published concerning the analysis of the brain of NMO patients with MR spectroscopy, in which no abnormality was found in the white matter. However, in that study we focused the analysis on the centrum ovale (de Seze *et al.*, 2010). To our best knowledge, no study has tested other regions of the white matter, or the whole brain using MR spectroscopy in NMO.

We also observed correlations between cognitive test performances and white matter volumes. First, we found an association between low performance for immediate topographical memory (10/36 immediate recall) and a reduced volume of the optic chiasm, the posterior part of the corpus callosum, and the thalamus. Visual impairment could explain difficulties in performing a visual memory task. Thus, the correlation found with the optic chiasm is logical. Chronic disconnection of the corpus callosum by surgery is known to be responsible for moderate memory impairment, particularly topographical memory (Zaidel,

1995). Moreover, some cases of stroke in the corpus callosum and posterior thalamus have shown memory impairment (Kim *et al.*, 2007). Many regions of white matter were correlated with delayed recall of 10/36. These included regions related to the visual system (chiasm, parietal regions, occipital regions) but also regions involved in memory (the parahippocampal gyri, the right dorsolateral prefrontal region). Reduced white matter in the pons was correlated with poor performances on Code and PASAT. Norepinephrine-synthesizing neurons that send diffuse projection from a part of the pons, the locus coeruleus, have a major role in attention, particularly in focused attention and the ability to redirect attention (Benarroch, 2009, Sara, 2009). Attention is of high importance to succeed in performing the PASAT and Code. PASAT 3s was also correlated with the anterior part of the corpus callosum. Anterior callosal abnormalities are reported to be correlated with impaired PASAT performance in MS (Cetürk *et al.*, 2010).

White matter atrophy detected with two methods and correlations between white matter and cognitive tests, are important arguments in favour of brain white matter involvement in NMO. NMO is an inflammatory disease of the CNS. AQP4 is known to be the main target antigen involved in this disease. AQP4 is a bidirectional water channel, found on all surfaces of astrocytes. The highest concentration of AQP4 is in the perivascular and peripial end-feet, in direct contact with the endothelium and pia mater, respectively. AQP4 immunoreactivity of the white matter in the brain is highest and mesh-like in the chiasm, the optic nerves and the brainstem, particularly in the pons (at the floor of the fourth ventricle) (Roemer *et al.*, 2007). These regions were found to be atrophic in NMO patients in comparison with controls. The other areas of white matter found to be atrophic, including the frontal and parietal lobes and the corpus callosum, have more limited AQP4 concentration on the surface of blood vessels.(Roemer *et al.*, 2007) This discrepancy between atrophy and AQP4 concentration in

these areas could be explained partly by a secondary degeneration caused by lesions in the spinal cord and optic nerves (Yu *et al.*, 2008).

There are some limitations to our study. Firstly, our cohort of NMO patients has only 44% of patients with NMO-IgG positivity. In North American patients, particularly in the Mayo Clinic (Rochester, MN, USA), NMO-IgG positivity was reported to be 73% (Lennon *et al.*, 2004). However, a more recent figure for NMO-IgG positivity ascertained by immunofluorescence in the Mayo clinic is 58% (95% confidence interval: 42-72) (McKeon *et al.*, 2009). Moreover, we demonstrated that among 111 patients in a French NMO cohort, only 54% had positive NMO-IgG and this test was necessary in order to confirm the diagnosis, using Wingerchuk's criteria, in only 10% of the cohort (Collongues *et al.*, 2010, Wingerchuk *et al.*, 2006). Secondly, the SIENAx method seems to have some limitations to evaluate brain atrophy. Thus, Sharma *et al.*, recently demonstrated, using an atrophy simulation of the brain, with various sources of error (bias-field inhomogeneity, noise, etc.), that SIENAx has a mean absolute error of evaluation of 3 to 4% (against 0.5% for SIENA) (Sharma *et al.*, 2010). Nonetheless, we also found white matter atrophy in NMO patients when we used SPM5 software.

Conclusion

Fifty-seven percent of the NMO patients in our study had cognitive impairment according to their performance on the French version of the BRB-N. We found also a decreased global and focal white matter volume in the brain of NMO patients compared to healthy subjects. Furthermore, we observed correlations between cognitive tests performances and white matter concentrations. Further studies are now needed to elucidate more precisely the origin of cognitive impairment in the brain of NMO patients, particularly in the white matter. We are

therefore planning to use diffusion tensor imaging (DTI) to analyse the correlations between cognitive impairment and DTI parameters.

References

- Gault F. De la Neuromyélie Optique aiguë. Thèse à la faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon. 1894 28 novembre 1894;981.
- Lennon VA, Wingerchuk DM, Kryzer TI, Pittock SJ, Lucchinetti CF, Fujihara K, et al. A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Lancet*. 2004 Dec 11-17;364(9451):2106-12.
- Jarius S, Franciotta D, Bergamaschi R, Wright H, Littleton E, Palace J, et al. NMO-IgG in the diagnosis of neuromyelitis optica. *Neurology*. 2007 Mar 27;68(13):1076-7.
- Nakashima I, Fujihara K, Miyazawa I, Misu T, Narikawa K, Nakamura M, et al. Clinical and MRI features of Japanese patients with multiple sclerosis positive for NMO-IgG. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2006 Sep;77(9):1073-5.
- Lucchinetti CF, Mandler RN, McGovern D, Bruck W, Gleich G, Ransohoff RM, et al. A role for humoral mechanisms in the pathogenesis of Devic's neuromyelitis optica. *Brain*. 2002 Jul;125(Pt 7):1450-61.
- Misu T, Fujihara K, Kakita A, Konno H, Nakamura M, Watanabe S, et al. Loss of aquaporin 4 in lesions of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Brain*. 2007 May;130(Pt 5):1224-34.
- Collongues N, Marignier R, Zephir H, Papeix C, Blanc F, Ritteng C, et al. Neuromyelitis optica in France: a multicenter study of 125 patients. *Neurology*. 2010 Mar 2;74(9):736-42.
- Pittock SJ, Lennon VA, Krecke K, Wingerchuk DM, Lucchinetti CF, Weinshenker BG. Brain abnormalities in neuromyelitis optica. *Arch Neurol*. 2006 Mar;63(3):390-6.
- Pittock SJ, Weinshenker BG, Lucchinetti CF, Wingerchuk DM, Corboy JR, Lennon VA. Neuromyelitis optica brain lesions localized at sites of high aquaporin 4 expression. *Arch Neurol*. 2006 Jul;63(7):964-8.
- Yu CS, Lin FC, Li KC, Jiang TZ, Zhu CZ, Qin W, et al. Diffusion tensor imaging in the assessment of normal-appearing brain tissue damage in relapsing neuromyelitis optica. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2006 May;27(5):1009-15.
- Rocca MA, Agosta F, Mezzapesa DM, Martinelli V, Salvi F, Ghezzi A, et al. Magnetization transfer and diffusion tensor MRI show gray matter damage in neuromyelitis optica. *Neurology*. 2004 Feb 10;62(3):476-8.
- de Seze J, Blanc F, Kremer S, Collongues N, Fleury M, Marcel C, et al. Magnetic resonance spectroscopy evaluation in patients with neuromyelitis optica. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2010 Apr;81(4):409-11.
- Aboul-Enein F, Krssak M, Hoffberger R, Prayer D, Kristoferitsch W. Diffuse white matter damage is absent in neuromyelitis optica. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2010 Jan;31(1):76-9.
- Bichetti DB, Rivero RI, de Oliveira EM, Oliveira DM, de Souza NA, Nogueira RG, et al. White matter spectroscopy in neuromyelitis optica: a case control study. *J Neurol*. 2008 Dec;255(12):1895-9.
- Hengstman GJ, Wesseling P, Franken CW, Jongen PJ. Neuromyelitis optica with clinical and histopathological involvement of the brain. *Mult Scler*. 2007 Jun;13(5):679-82.
- Nakamura M, Endo M, Murakami K, Konno H, Fujihara K, Itoyama Y. An autopsied case of neuromyelitis optica with a large cavitory cerebral lesion. *Mult Scler*. 2005 Dec;11(6):735-8.

Blanc 19

- Blanc F, Zephir H, Lebrun C, Lahaie P, Castelnovo G, Fleury M, et al. Cognitive functions in neuromyelitis optica. *Arch Neurol*. 2008 Jan;65(1):84-8.
- Saji E, Toyoshima Y, Yanagawa K, Nishizawa M, Kawachi I. Neuropsychiatric Presentation of Neuromyelitis Optica Spectrum Disorders. *Neurology*. 2010;74(9):A169.
- Wingerchuk DM, Lennon VA, Pittock SJ, Lucchinetti CF, Weinshenker BG. Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica. *Neurology*. 2006 May 23;66(10):1485-9.
- Beck AT, Ward CH, Mendelson M, Mock J, Erbaugh J. An inventory for measuring depression. *Arch Gen Psychiatry*. 1961 Jun;4:561-71.
- Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*. 1983 Nov;33(11):1444-52.
- Marignier R, De Seze J, Vukusic S, Durand-Dubief F, Zephir H, Vermersch P, et al. NMO-IgG and Devic's neuromyelitis optica: a French experience. *Mult Scler*. 2008 May;14(4):440-5.
- Dujardin K, Sockeel P, Cabaret M, De Seze J, Vermersch P. [IBCcogSEP: a French test battery evaluating cognitive functions in multiple sclerosis]. *Rev Neurol (Paris)*. 2004 Jan;160(1):51-62.
- Rao SM, Leo GI, Bernardin L, Unverzagt F. Cognitive dysfunction in multiple sclerosis. I. Frequency, patterns, and prediction. *Neurology*. 1991 May;41(5):685-91.
- Godefroy O, Rousseaux M, Leys D, Destee A, Scheltens P, Pruvo JP. Frontal lobe dysfunction in unilateral lentículostríate infarcts. Prominent role of cortical lesions. *Arch Neurol*. 1992 Dec;49(12):1285-9.
- Smith SM, Zhang Y, Jenkinson M, Chen J, Matthews PM, Federico A, et al. Accurate, robust, and automated longitudinal and cross-sectional brain change analysis. *Neuroimage*. 2002 Sep;17(1):479-89.
- De Stefano N, Narayanan S, Francis SJ, Smith S, Mortilla M, Tartaglia MC, et al. Diffuse axonal and tissue injury in patients with multiple sclerosis with low cerebral lesion load and no disability. *Arch Neurol*. 2002 Oct;59(10):1565-71.
- Wagner AD, Shannon BJ, Kahn I, Buckner RL. Parietal lobe contributions to episodic memory retrieval. *Trends Cogn Sci*. 2005 Sep;9(9):445-53.
- Desgranges B, Baron JC, Eustache F. The functional neuroanatomy of episodic memory: the role of the frontal lobes, the hippocampal formation, and other areas. *Neuroimage*. 1998 Aug;8(2):198-213.
- Morgen K, Samner G, Courtney SM, Wolters T, Melchior H, Blocker CR, et al. Evidence for a direct association between cortical atrophy and cognitive impairment in relapsing-remitting MS. *Neuroimage*. 2006 Apr 15;30(3):891-8.
- Basser PJ, Pierpaoli C. Microstructural and physiological features of tissues elucidated by quantitative-diffusion-tensor MRI. *J Magn Reson B*. 1996 Jun;111(3):209-19.
- Zaidel DW. The case for a relationship between human memory, hippocampus and corpus callosum. *Biol Res*. 1995;28(1):51-7.
- Kim JH, Park KY, Seo SW, Na DL, Chung CS, Lee KH, et al. Reversible verbal and visual memory deficits after left retrosplenial infarction. *J Clin Neurol*. 2007 Mar;3(1):62-6.
- Benarroch EE. The locus ceruleus norepinephrine system: functional organization and potential clinical significance. *Neurology*. 2009 Nov 17;73(20):1699-704.
- Sara SJ. The locus coeruleus and noradrenergic modulation of cognition. *Nat Rev Neurosci*. 2009 Mar;10(3):211-23.
- Öztürk A, Smith SA, Gordon-Lipkin EM, Harrison DM, Shice N, Pham DL, et al. MRI of the corpus callosum in multiple sclerosis: association with disability. *Mult Scler*. 2010 Feb;16(2):166-77.

- Roemer SF, Parisi JE, Lennon VA, Benarroch EE, Lassmann H, Bruck W, et al. Pattern-specific loss of aquaporin-4 immunoreactivity distinguishes neuromyelitis optica from multiple sclerosis. *Brain*. 2007 May;130(Pt 5):1194-205.
- Yu C, Lin F, Li K, Jiang T, Qin W, Sun H, et al. Pathogenesis of normal-appearing white matter damage in neuromyelitis optica: diffusion-tensor MR imaging. *Radiology*. 2008 Jan;246(1):222-8.
- McKeon A, Fryer JP, Apiwattanakul M, Lennon VA, Hinson SR, Kryzer TJ, et al. Diagnosis of neuromyelitis spectrum disorders: comparative sensitivities and specificities of immunohistochemical and immunoprecipitation assays. *Arch Neurol*. 2009 Sep;66(9):1134-8.
- Sharma S, Noblet V, Rousseau F, Heitz F, Rumbach I, Arnsperger JP. Evaluation of brain atrophy estimation algorithms using simulated ground-truth data. *Med Image Anal*. 2010 Jun;14(3):373-89.

FOR P

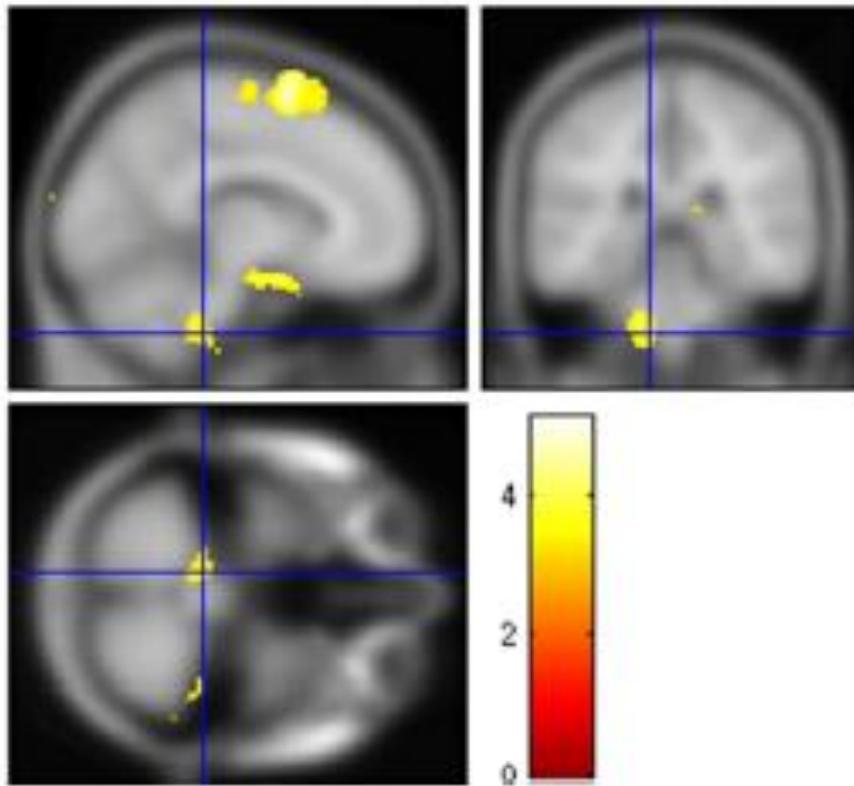


Figure 1 White matter volume regional differences between the NMO group (n=32) and the control group (n=32) using VBM. Note that the NMO group overall showed a decreased WM volume in the pons, optic chiasm and optic nerves, and frontal regions compared to healthy control subjects. ($P < 0.05$, false discovery rate, cluster size threshold > 125 voxels).
158x141mm (216 x 216 DPI)

Table 3 Clusters of significant white matter loss in patients with NMO relative to controls (For each cluster, the extension in which local maxima are located, along with the coordinates in the MNI space and the T level of the most significant voxel are reported)

Region	BA vicinity	Side	Nb. Voxels	T	Coordinates (mm)			P
					x	y	z	
Frontal lobe, superior frontal gyrus and precentral gyrus	6 and 8	L/R	8259	5.12	-12	8	72	0.012
Parietal lobe, precuneus and occipital lobe, cuneus	7	R/L	421	4.98	2	-84	50	0.012
Optic chiasma	NA	Bilateral	646	4.92	6	4	-22	0.012
Frontal lobe, medial frontal gyrus and sub-gyral, and anterior cingulate	32 and 9	R	550	4.18	22	28	20	0.013
Frontal lobe, superior frontal gyrus	8	L	207	4.06	-18	40	62	0.014
Brainstem, pons	NA	L	360	3.98	-12	-36	-42	0.015
Frontal lobe, superior frontal gyrus	11	R	163	3.88	6	66	-26	0.017
Posterior corpus callosum	NA	R	197	3.30	4	-26	14	0.034

T=$P$$0.05$, corrected using false discovery rate (FDR); BA=Brodmann's area; L=left; R=right; NA=not applicable; Nb.=number.

Table 4 Correlation between performance on cognitive tests and regional white matter volume

Cognitive subtests	Regions of White Matter	BA vicinity	Side	Nb. Voxels	Z value	Coordinates (mm)			P
						x	y	z	
10/36 immediate recall	Optic chiasm, interhemispheric regions	NA	R/L	330	3.44	0	8	0	0.000
10/36 delayed recall	Corpus callosum (posterior part), thalamus (pulvinar)	NA	R	799	3.73	10	-26	20	0.000
	Optic chiasm, optic nerves, and limbic lobes, parahippocampal gyri	34	R/L	1285	4.90	10	-2	-24	0.000
	Frontal lobe, sub-gyral, middle frontal gyrus	46	R	153	4.81	32	34	16	0.000
	Occipital lobe, sub-gyral, inferior occipital gyrus	18	L	329	4.34	-34	-104	-14	0.000
	Parietal lobe, postcentral gyrus	3, 40	L	235	4.24	-34	-38	38	0.000
	Occipital lobe, middle occipital gyrus	19, 18	L	165	4.23	-52	-88	-8	0.000
	Parietal lobe, postcentral gyrus	2, 40, 3, 1	R	264	4.17	46	-32	52	0.000
	Frontal lobe, middle frontal gyrus	6, 8	L	150	4.16	-48	6	50	0.000
	Parietal lobe, postcentral gyrus, inferior parietal lobule, sub-gyral and insula	40, 13	R	265	4.07	46	-32	24	0.000
	Occipital lobe, cuneus and middle occipital gyrus	18, 17	R	191	3.98	22	-100	-6	0.000
	Sub-lobar, parietal lobe, temporal lobe, inferior parietal lobule, extranuclear	NA	L	567	3.85	-24	-24	2	0.000
	Cerebellum, anterior lobe nodule and culmen	NA	R	213	3.59	8	-52	-34	0.000
	Code	Brainstem, Pons and medulla	NA	R/L	147	3.53	6	-20	-42
PASAT 3s	Brainstem, pons and medulla	NA	R/L	565	4.53	10	-20	-52	0.000
	Corpus callosum (anterior part)	NA	L/R	488	3.75	-6	24	2	0.000

F = $P < 0.001$, uncorrected; BA = Brodmann's area; L = left; R = right; NA = not applicable; Nb. = number.

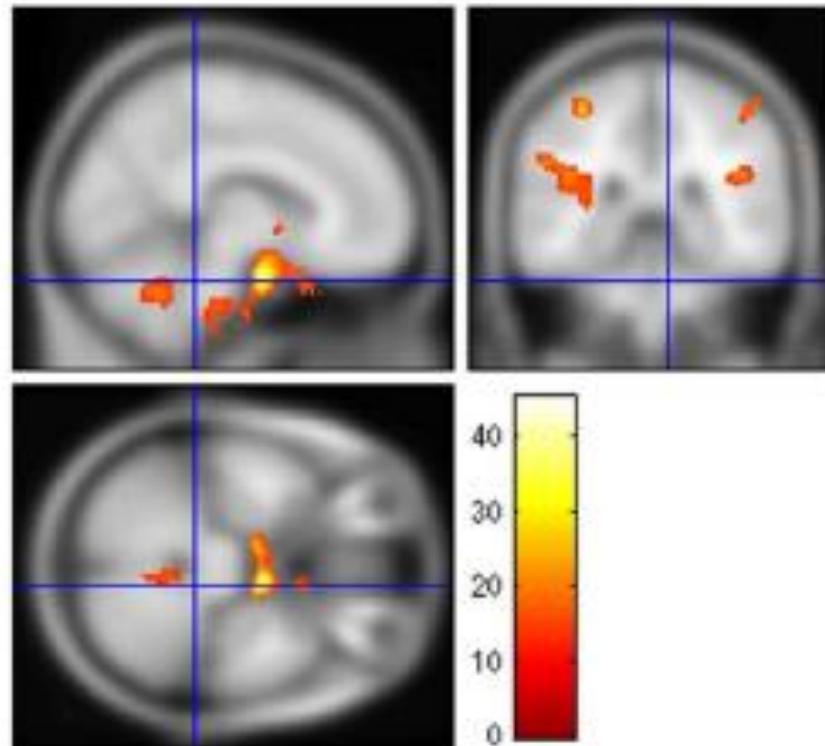


Figure 2 Correlation between performance on 10/36 delayed recall (topographical memory) and regional white matter volumes of 32 NMO patients, using VBM. Note the correlations with optic chiasm, parietal regions, and cerebellum. Statistical maps were thresholded without correction, with P value <0.001 and with a minimum cluster size of 125 voxels.

219x194mm (104 x 104 DPI)

Table 5 Correlation between performance on cognitive tests and regional grey matter volume

Cognitive subtests	Regions of Grey Matter	BA	Side	Nb. Voxels	Z value	Coordinates (mm)			
						x	y	z	P
SRT immediate recall	Frontal lobe, inferior frontal gyrus, precentral gyrus and insula	44, 11, 47, 45	R	303	4.20	50	16	12	0.000
	Cerebellum, tuber and pyramis	NA	L	372	4.12	-38	-80	-32	0.000
SRT learning index	Parietal lobe, angular gyrus and supramarginal gyrus	36, 40	L	217	3.56	-48	-70	34	0.000
	Limbic lobe, posterior cingulate	NA	R	199	3.82	18	-54	18	0.000
SRT delayed recall	Parietal lobe, inferior parietal lobule, postcentral gyrus	40, 7, 3	L	254	4.12	-42	-40	42	0.000
Backward digit span	Thalamus, medial dorsal nucleus	NA	L/R	220	3.91	2	-20	8	0.000
PASAT 3c	Occipital lobe, cuneus, middle occipital gyrus	18, 19	L	652	4.40	-34	-108	12	0.000
	Frontal lobe, middle frontal gyrus, precentral gyrus, inferior frontal gyrus	6, 8, 9, 4	R	1184	4.38	46	4	30	0.000
	Occipital lobe, cuneus, middle occipital gyrus	18, 19	R	489	4.32	20	-104	34	0.000
	Parietal lobe, inferior and superior parietal lobule, precuneus	7, 7, 1	L	3232	4.25	-48	-88	42	0.000
	Temporal lobe and limbic lobe, parahippocampal gyrus, superior temporal gyrus, posterior cingulate	13, 31, 34, 37	L	4051	4.18	-10	-60	8	0.000
	Limbic lobe, parahippocampal gyrus	28	R/L	2923	4.06	18	-14	-24	0.000
	Frontal lobe, superior and medial frontal gyrus	9, 10	R	1672	4.06	20	60	50	0.000
	Parietal lobe, inferior parietal lobule, postcentral gyrus	2, 40	R	185	4.03	78	-30	16	0.000
	Frontal lobe, middle and superior frontal gyrus, precentral gyrus	6, 8, 9, 46	L	1742	4.00	-52	44	38	0.000
	Frontal lobe, superior and middle frontal gyrus	6, 8	R	826	3.96	34	16	60	0.000
	Frontal lobe, superior and middle frontal gyrus	10	L	191	3.86	-24	76	18	0.000
	Limbic and Frontal lobe, cingulate gyrus and paracentral lobule	31	R	251	3.79	4	-32	42	0.000
	Temporal lobe, inferior temporal gyrus	20	L	168	3.75	-50	-14	-42	0.000
	Temporal lobe, superior temporal gyrus	13, 22	R	408	3.72	44	-14	0	0.000
	Parietal lobe, inferior parietal lobule	40	R	262	3.69	42	-54	62	0.000
	Frontal lobe, inferior frontal gyrus, precentral gyrus and insula	44, 45, 47, 13	L	316	3.57	-46	10	26	0.000
	Parietal lobe, postcentral gyrus	5, 7	L	217	3.46	-22	-52	76	0.000
	Parietal lobe, postcentral gyrus, inferior parietal lobule	40, 2, 1	R	128	3.43	56	-30	60	0.000
	Thalamus, medial dorsal nucleus	NA	R/L	506	4.54	6	-20	10	0.000
Phonemic fluencies	Thalamus, medial dorsal nucleus	NA	R/L	506	4.54	6	-20	10	0.000
Crossed tapping	Cerebellum anterior lobe and midbrain, pons	NA	R/L	272	3.71	-2	-48	-26	0.000

F= $P < 0.001$, uncorrected; BA=Brodmann's area; L=left; R=right; NA=not applicable; Nb.=number.

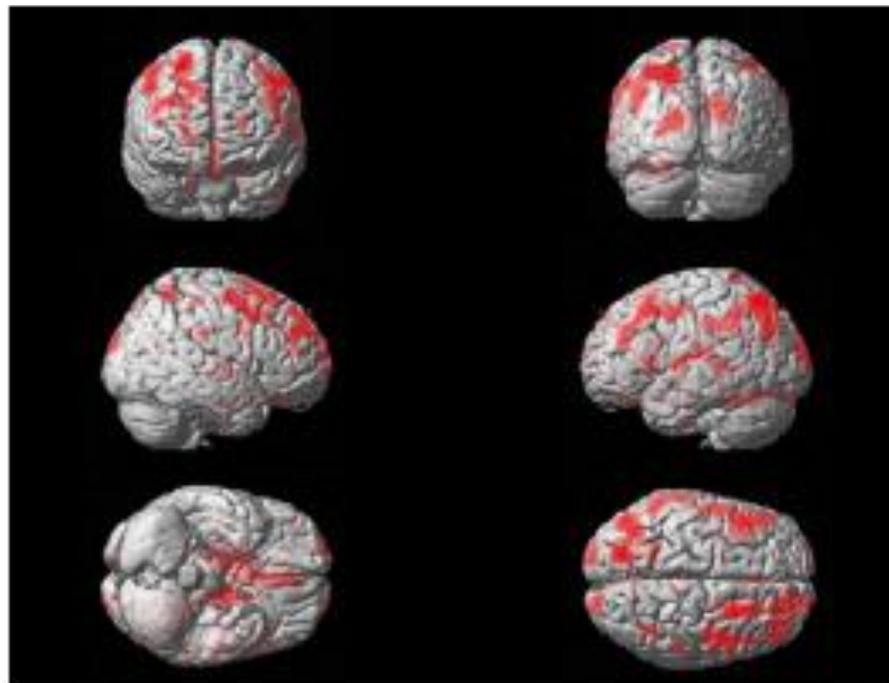


Figure 3 Correlation between performance on PASAT 3 seconds and regional grey matter volume of 32 NMO patients, using VBM. Statistical maps were thresholded without correction, with P value <0.001 and with a minimum cluster size of 125 voxels.
238x185mm (96 x 96 DPI)

Commentaires

Nous montrons dans cette étude l'existence d'une diminution du volume de substance blanche chez les patients NMO et l'existence d'une corrélation entre concentration de substance blanche et performances cognitives.

1. Les troubles cognitifs

Grâce à cette nouvelle cohorte, nous avons montré qu'il existe des troubles cognitifs chez plus de 50 % des patients NMO (57 %), confirmant ainsi nos propres résultats et ceux de Saji *et al.* En effet, 24 nouveaux patients ont été inclus dans cette étude. De plus, seuls 3 patients sur les 8 patients communs aux deux études avaient des troubles cognitifs dans la précédente étude. Ainsi, près de 80 % des patients avec troubles cognitifs dans cette étude ne faisaient pas partie de l'étude initiale. Le pattern de troubles cognitifs trouvé est identique avec essentiellement des troubles des fonctions exécutives (PASAT, fluences), une diminution de la vitesse de traitement de l'information (SDMT, PASAT), des troubles de la mémoire (SRT, 10/36), et des troubles attentionnels (PASAT, SRT, empan de chiffres).

Nous avons à nouveau trouvé des corrélations entre l'EDSS et les performances cognitives à certains tests. Ainsi, il existait une corrélation entre l'EDSS et les tests les plus fréquemment déficitaires (PASAT, SRT), à l'exception du SDMT (vitesse de traitement de l'information), alors que dans la précédente étude nous avons trouvé une corrélation entre EDSS et SDMT. Ce type de corrélation est à considérer avec prudence. En effet, l'EDSS est une bonne échelle de handicap dans les pathologies inflammatoires, mais il ne s'agit pas d'une échelle linéaire. De plus, Saji *et al.* n'ont pas trouvé une telle corrélation – leur étude étant réalisée à partir d'une population de patients moindre, au nombre de 17.¹¹²

Ces corrélations, même si elles sont discutables, interrogent sur le lien entre l'intensité de la pathologie NMO et l'existence de troubles cognitifs. En effet, l'EDSS correspond chez le patient NMO aux séquelles des poussées antérieures et donc à l'intensité de la pathologie à un moment donné. En effet, comme nous l'avons développé précédemment, il n'existe pas de forme progressive dans la NMO. L'existence de troubles cognitifs corrélés à ces séquelles optico-spinales pourraient signifier qu'il existe une « mémoire » cérébrale de l'intensité de la maladie. Nous aborderons à nouveau ces aspects dans la discussion générale de la thèse.

Nous n'avons pas trouvé de corrélations entre les troubles cognitifs et le taux d'anticorps anti-NMO, ni dans cette étude, ni dans la précédente (article 1). Saji *et al.* ont trouvé la même absence de corrélation.¹¹² Ainsi, la présence d'anticorps anti-NMO semblent ne pas avoir d'influence sur le statut cognitif des patients. De même, nous n'avons pas trouvé de lien entre l'EDSS et la présence d'anticorps anti-NMO ($p=0,87$; données non présentées dans l'article). Ainsi, le statut des anticorps anti-NMO ne semble avoir d'influence ni sur le handicap cognitif, ni sur le handicap physique. Cependant, nos collègues antillais avaient trouvé un lien entre EDSS et anticorps anti-NMO.²⁸ De plus, il est vraisemblable que le taux des anticorps varie régulièrement ; ainsi, sur un petit échantillon de 9 patients, il a été démontré que le taux d'anticorps était multiplié par trois au moment des poussées.³⁰ On peut ainsi penser que ces anticorps puissent être détectables à certains moments et indétectables à d'autres (ce qui correspond à notre expérience clinique).

Nous n'avons pas trouvé de corrélations entre l'existence de troubles cognitifs et la prise d'un traitement soit par immunosuppresseur, soit par immunomodulateur. Cette précaution était importante dans la mesure où certaines données en cancérologie suggèrent l'existence d'un lien entre chimiothérapie et troubles cognitifs secondaires. Par ailleurs, il existe même chez les enfants atteints de leucémie suivis à long terme, une corrélation entre ces troubles cognitifs et une diminution de volume frontal.¹⁴⁴

Nous n'avons pas trouvé non plus de corrélation entre la durée moyenne de la maladie et les performances cognitives. Ceci s'explique sans doute par l'absence d'évolution progressive de la maladie dans notre cohorte (et en général chez les patients NMO).

2. Volumétrie cérébrale

Tout d'abord, nous n'avons trouvé ni atrophie globale, ni atrophie focale de la substance grise, ce qui est surprenant à plus d'un titre. En effet, l'existence de troubles cognitifs aurait pu faire supposer l'existence d'une telle atrophie. Par ailleurs, le cortex est riche en AQP4, elle-même cible de la pathologie. De plus, comme nous l'avons vu au cours de notre introduction générale, il existe des modifications de la substance grise des patients NMO en MTR et DTI (MD), ce qui fait suspecter des modifications structurelles de la substance grise. Cependant, nous avons trouvé des corrélations entre les performances aux tests cognitifs et la volumétrie focale de SG. En fait, il se pourrait que, comparées à un groupe témoin, les

différences de volume de la SG, secondaires aux modifications structurelles, ne soient pas suffisamment importantes pour être détectées telles que, mais que, sensibilisées par les performances cognitives, elles puissent le devenir. Une autre possibilité serait que ce soit simplement le reflet d'un lien entre une fonction cognitive et un volume de SG. En effet, il est possible en VBM de trouver chez les sujets sains des corrélations entre les performances cognitives et la concentration de substance grise. Ceci a par exemple été fait pour des tests tels que le *trail-making test B* (TMTB) ou le *controlled oral word association test* (COWAT), où des corrélations entre les régions frontales gauches et d'autres régions cérébrales ont été trouvées. Cependant, cette étude a nécessité un groupe de 221 sujets sains âgés de 18 à 24 ans pour parvenir à des corrélations avec $p < 0,001$, non corrigées.¹⁴⁵ Ainsi, il aura fallu une cohorte 7 fois plus grande que la nôtre pour parvenir à établir des corrélations. En effet, l'étude de sujets sains diminue la variance à la fois des performances aux tests et du volume de substance grise ou blanche.

Nous avons aussi montré l'existence d'une diminution globale et focale de la substance blanche. Une diminution globale de la substance blanche avait déjà été montrée dans le contexte de trouble cognitif léger pré-Alzheimer,¹⁴⁶ ainsi que dans le contexte de pathologies inflammatoires telles que la SEP et le lupus érythémateux disséminé.¹⁴⁷ Les localisations de la diminution de la concentration de substance blanche sont pour certaines possiblement liées à l'atteinte des voies optiques et cortico-spinales dans la NMO, et pour d'autres sont en dehors de ces voies. Ainsi, le chiasma optique, qui est à la confluence des deux nerfs optiques, est connu pour être atteint dans la NMO,¹⁴⁸ ce d'autant qu'il est riche en AQP4.⁹¹ D'autres zones appartiennent au système visuel, telle la SB du cunéus du lobe occipital. De même, nous avons trouvé une diminution de la SB sur les voies cortico-spinales ou à leur proximité : le pont du tronc cérébral, et la SB du gyrus précentral. Les autres zones recouvrent une partie du lobe frontal, le pré-cuneus dans le lobe pariétal et une partie postérieure du corps calleux. Certaines de ces régions sont certes proches des régions centrales, mais il semble clair que cette atrophie ne se limite pas à un phénomène de déafférentation cortico-spinale et des voies optiques. Certaines de ces zones seront d'ailleurs corrélées aux performances cognitives des patients.

3. Cognition et volumétrie locale

Deux tests fréquemment déficitaires dans notre cohorte de patients NMO (SDMT ou code, et PASAT 3s) sont corrélés à la concentration de SB. Ainsi, les performances au code et au PASAT sont corrélées au pont (et partiellement au bulbe). Le point commun à ces deux tests sont les capacités d'attention et de vitesse de traitement de l'information. Au sein du pont se situe le système locus coeruleus/noradréline (LCNA), riche en AQP4.¹⁴⁹ Le système LCNA est central dans l'attention, dans la mesure où il facilite la focalisation de l'attention et permet d'optimiser la performance aux tâches cognitives.¹⁵⁰⁻¹⁵¹ Or, PASAT et SDMT nécessitent une nette focalisation de l'attention pour obtenir des performances correctes. Ce système LCNA permet aussi de rapidement rediriger l'attention en réponse à un nouveau stimulus (ceci est nécessaire pour le PASAT puisqu'un nouveau stimulus est donné toutes les deux ou trois secondes). Cette réorientation nécessite une interaction coordonnée entre d'une part le réseau dorsal fronto-pariétal bilatéral, qui permet l'attention dirigée vers un but, et d'autre part le réseau fronto-pariétal ventral droit, qui permet l'attention dirigée vers un stimulus avec lequel le système LCNA interagit.¹⁵¹⁻¹⁵²

Le PASAT est aussi corrélé au corps calleux dans sa partie antérieure. La partie antérieure du corps calleux permet le passage d'informations entre les deux lobes frontaux.¹⁵³ Une telle connexion est indispensable pour une tâche aussi complexe que le PASAT. Ainsi, de telles corrélations ont déjà été mises en évidence dans la SEP.¹⁵⁴

Le rappel immédiat et le rappel différé du 10/36 explorent la mémoire visuo-spatiale. De nombreuses corrélations ont été retrouvées avec ces tests. Le lien entre cette fonction et ces structures a été déjà développé dans la discussion de l'article.

De même, nous n'insisterons pas sur les corrélations retrouvées avec la substance grise, puisque nous avons déjà développé l'argumentaire dans la discussion de l'article. Cependant, nous nous interrogeons sur la valeur de telles corrélations, compte tenu de l'absence de diminution de volume détectée lors de la comparaison NMO versus témoins. Il eut été judicieux de pratiquer les mêmes tests cognitifs sur les témoins et de rechercher de telles corrélations pour les témoins.

4. Limites de cette étude

Les témoins, à l'inverse des patients, n'ont pas bénéficié de tests cognitifs. Pour des raisons pratiques, ceci n'a pu se faire. En effet, les témoins de cette étude ont été recrutés indépendamment des patients. Cependant, d'autres témoins avaient bénéficié de la BCcogSEP dans un premier temps (article 1).

Nous n'avons pas utilisé la correction FWE (Family Wise Error), plus stringente, mais la correction FDR (False Discovery Rate). FDR et FWE sont des méthodes statistiques utilisées dans un contexte d'hypothèses multiples. Elles permettent de corriger les multiples comparaisons faites. Le FDR permet de contrôler la proportion attendue d'erreurs rejetées de façon incorrecte, parmi l'ensemble des hypothèses rejetées. Le FWE permet de contrôler la probabilité de faire une ou plusieurs fausses découvertes parmi les hypothèses retenues. Chumbley *et al.* ont récemment comparé ces deux méthodes.¹⁵⁵ Il semblerait que la méthode FDR soit plus sensible que la FWE mais seulement aux dépens de la précision spatiale. Afin de rendre nos mesures les plus précises possibles, nous avons donné une taille minimale aux clusters de 125 voxels (1 mm^3), ce qui correspond à la résolution de nos images IRM T1 3D.

L'approche VBM nécessite une transformation spatiale des cartes de SB et SG vers un espace standard d'atlas. Il semblerait qu'une telle transformation puisse diminuer la précision pour les cerveaux avec atrophie.¹⁴⁵ Cependant, cela ne nous a pas empêché de détecter une diminution de volume/concentration en VBM aussi.

L'équipe de traitement d'image du LINC (Laboratoire d'Imagerie et de Neurosciences Cognitives) a récemment évalué la précision de plusieurs logiciels de volumétrie dont SIENAx. Evaluer un tel logiciel est une tâche complexe, qui nécessite de simuler une diminution de volume cérébral à partir de modèles. L'étude de 18 modèles anatomiques de cerveau avec simulation d'atrophie de 0,2 à 1,5 % leur a permis d'évaluer 3 logiciels de volumétrie (SIENA, SIENAx, BSI-UCD). Lors de l'acquisition des images IRM, des artefacts peuvent avoir un impact important sur la mesure de l'atrophie cérébrale. Ces artefacts sont fréquents et nombreux : artefacts de mouvement, variations de séquence, effet de volume partiel, bruit dans les images, inhomogénéité de champs. Il existe aussi des artefacts de non-linéarité de gradients de champs magnétiques ou de puissance du gradient de champs

magnétiques.¹⁵⁶ En plus de simuler l'atrophie, et afin d'être au plus près de la réalité, ils ont aussi simulé une inhomogénéité de champs et de bruit. A partir des modèles avec simulation, ils ont établi que les erreurs moyennes sont comme suit : SIENAx, $4 \pm 2,41$ % ; BSI-UCD $1,79 \pm 0,97$ % ; et SIENA, $0,64 \pm 0,53$ %.¹⁵⁷ Cependant, nous ne pouvions utiliser SIENA comme méthode de d'évaluation de volume globale, ce logiciel permettant uniquement d'évaluer l'évolution du volume cérébral du même patient à deux moments différents. Afin de mener à bien notre étude, nous avons besoin d'une évaluation à un moment donné de ce volume cérébral.¹⁵⁸

Discussion

L'existence de troubles neurologiques physiques non cognitifs d'origine cérébrale chez les patients NMO est rare et est habituellement associée à des lésions visibles en IRM cérébrale conventionnelle. L'absence de tels symptômes et l'atteinte clinique optico-spinale quasi exclusive des patients NMO interroge sur l'origine des troubles cognitifs et de leur corrélat anatomique, l'atrophie de substance blanche.

A partir des données de la littérature et des études que nous avons développées dans cette thèse, nous allons tenter de formuler des hypothèses sur les mécanismes pouvant expliquer ce « paradoxe ».

1. Atteintes connues de la substance blanche et de la substance grise dans la NMO

Synthèse des résultats connus en IRM non conventionnelle

Le tableau 1 présenté ci-dessous résume les atteintes détectées à l'IRM cérébrale (différentes séquences ou différents modes de traitement d'image ont été utilisés). On peut constater que quel que soit le tissu considéré (la substance blanche, la grise ou l'ensemble du tissu cérébral), il existe toujours une anomalie.

Plusieurs études, dont la nôtre, se sont intéressées à l'évaluation de la substance blanche et de la substance grise cérébrale des patients NMO en spectroscopie IRM. Aucune des trois études n'a trouvé d'anomalies.^{128,159-160} Il ne semble donc pas y avoir de destruction axonale au niveau cérébral. Cependant une étude en MTR (transfert de magnétisation) a montré des anomalies au niveau de la SG : ceci pourrait être le reflet d'une démyélinisation et/ou d'une diminution du pourcentage d'axones.⁵⁸ Dans tous les cas, cela reflète une moindre structuration du tissu.¹⁶¹ Les études en diffusion avec mesure de la fraction d'anisotropie et de la diffusion moyenne ont montré des altérations au niveau de la SB.⁵⁶⁻⁵⁷ Ainsi, la mesure de la fraction d'anisotropie s'est avérée normale au niveau du tissu cérébral dans son ensemble, mais elle est diminuée dans la SB. Ce résultat est en faveur d'un défaut de cohérence des fibres, qui pourrait être le reflet d'un défaut d'intégrité structurelle de la SB. Il convient de souligner que ce résultat prédominait, mais n'était pas exclusif aux zones

impliquées dans les faisceaux cortico-spinaux. De plus, la diffusion moyenne qui permettrait de mesurer le mouvement moyen des molécules est augmenté dans la SB et surtout dans la SG et le tissu cérébral. Ces variations de diffusion sont connues pour être sensibles notamment dans la SEP. Cependant elles sont peu spécifiques (comme le MTR), pouvant aussi bien refléter la perméabilité des membranes que l'intégrité structurelle des tissus.

Des effets de volume partiel du fait de l'atrophie cérébrale pourraient être à l'origine d'une diminution de MTR de la SGAN et d'une augmentation de la MD (par inclusion de voxels partiellement contaminés par du LCR).⁵⁸ Cependant, nous n'avons pas retrouvé d'atrophie de la SG, tout comme Rocca *et al.*⁵⁸

Ainsi, il semble que chez les patients NMO il y ait un défaut de cohérence des fibres blanches, prédominant sur le faisceau corticospinal, ainsi qu'une atrophie de la SB et des modifications de la SG.

Tableau 1 : Comparaison des différentes anomalies trouvées au niveau cérébral chez les patients NMO avec l'IRM non conventionnelle.

	Substance Blanche	Substance Grise	Cerveau (substance blanche et grise)
Atrophie (SIENAx et SPM)	+	-	- (p=0,06)
Diffusion FA ⁵⁶⁻⁵⁷	+	NF	-
Diffusion MD ⁵⁶⁻⁵⁷	+	++	++
MTR ⁵⁸	-	+	NF
Spectroscopie ^{128,159-160}	-	-	NF

+ = p<0,05 ; ++ = p<0,01 ; - = non significatif ; NF = non fait.

Corrélations avec les tests cognitifs

La diminution de concentration de SB que nous avons trouvé chez les patients NMO concerne les zones suivantes :

- Dans la partie frontale : gyri frontaux supérieurs, gyri précentraux, gyrus frontal médial, gyrus cingulaire antérieur droit ;
- Dans la partie pariétale : precuneï ;
- Dans la partie occipitale : cuneï ;
- Le chiasma optique ;
- Le pont ;
- Le corps calleux.

Or les zones de corrélations entre les performances à différents tests cognitifs (10/36, code, et PASAT) et les zones de diminution de volume ne sont pas toujours communes. De même, nous n'avons pas trouvé d'atrophie de la SG, et pourtant nous avons montré qu'il y a des corrélations entre la concentration de SG et certains tests cognitifs (SRT, empan de chiffres, PASAT, fluences phonémiques, ordres contraires). Ces résultats interrogent sur le lien entre SG, SB et troubles cognitifs.

2. Les troubles cognitifs peuvent-ils être uniquement liés à l'atteinte optico-spinale ?

Cette hypothèse ne doit en effet pas être négligée, compte tenu des résultats sus-cités. Nous allons nous servir des données relatives à la SEP afin d'argumenter notre propos.

Concernant la SEP, on peut faire l'hypothèse suivante : l'atteinte tissulaire diffuse pourrait altérer la connectivité intra- et inter-hémisphérique. Ainsi, cette atteinte pourrait entraîner des perturbations dans les tâches cognitives particulièrement dépendantes des connexions à longue distance. L'équipe de Marseille a ainsi montré que la connectivité fonctionnelle altérée était corrélée au MTR altéré dans les régions impliquées dans la mémoire de travail.¹⁶²⁻¹⁶³ De même, l'équipe de Bordeaux a montré que les performances cognitives au

PASAT étaient corrélées à l'altération en MTR de la SBAN.¹⁶⁴ L'atteinte de la SBAN dès les premiers stades de la SEP pourrait être à l'origine d'une diminution de la vitesse de propagation de l'influx nerveux, et pourrait se répercuter préférentiellement sur les systèmes reposant sur la synchronisation d'activation neuronale à distance.¹⁶⁵

Les troubles cognitifs que nous avons trouvés dans la NMO sont comparables à ceux de la SEP (cf. article 1). Pour autant, dans la SEP, il existe une atrophie à la fois de la SB et de la SG,¹⁶⁶ alors que dans notre étude nous n'avons trouvé qu'une atrophie de la SB. Cependant, ce résultat est à pondérer par le fait que nous avons trouvé des corrélations claires entre les volumes de SG et les performances à certains tests cognitifs (en particulier les performances au SRT qui, à contrario, n'étaient pas corrélées aux volumes de la SB).

Ainsi, une atteinte moins diffuse de la SB, comme dans la NMO, peut-elle expliquer les résultats du SDMT et en partie du PASAT ? Pour cela, il faudrait qu'une atteinte plus focale de la SB puisse avoir des conséquences sur des fibres blanches à proximité.

Le faisceau longitudinal supérieur (FLS) est un faisceau de fibres blanches important, connectant le lobe frontal au lobe pariétal, occipital et temporal. Ce faisceau est subdivisé en trois parties nommées FLS I, II, et III.¹⁶⁷ Le FLS II est le faisceau principal ; il fait le lien entre les régions dorso-latérales préfrontales et les régions pariétales. Son rôle dans le réseau de la mémoire de travail et sa synchronisation est capital.¹⁶⁸

Or, le faisceau corticospinal et le FLS s'entrecroisent au niveau du centre semi-ovale (voir figure 2 ci-dessous).¹⁶⁷ De même, les radiations optiques sont en contact direct et s'entrecroisent avec la partie inférieure du FLS.¹⁶⁹

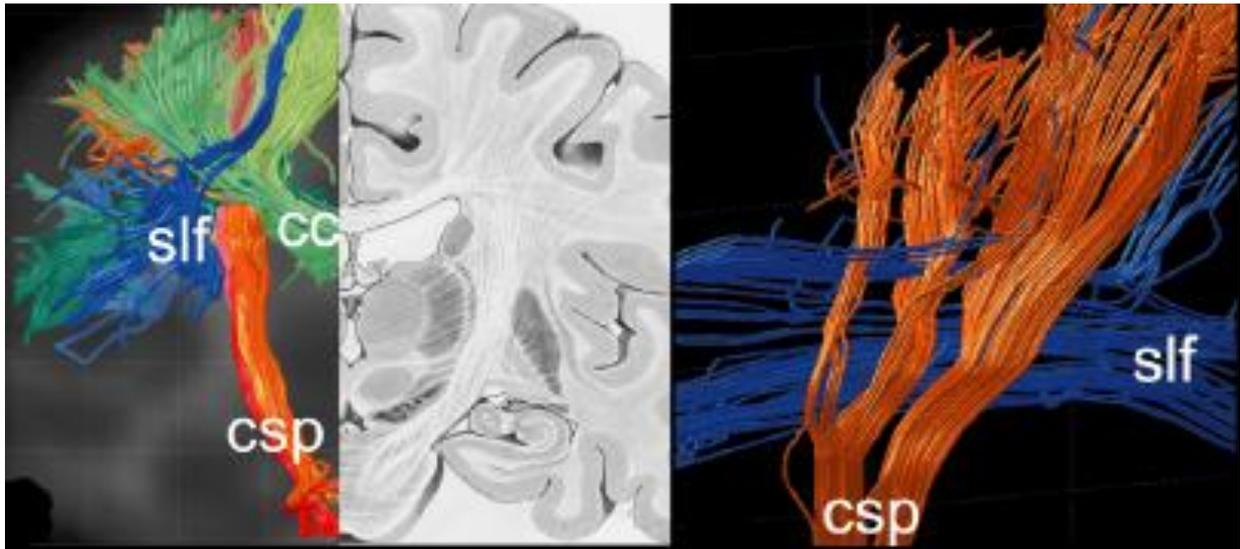


Figure 2 : Entrecroisement et proximité du faisceau corticospinal (csp) et du faisceau longitudinal supérieur (slf) au niveau du centre semi-oval. (Adapté de Hagmann *et al.* 2004.¹⁷⁰)

Ce lien très étroit entre le faisceau corticospinal et les voies optiques – lésés dans la NMO –, et le FLS – a priori indemne, mais jouant un rôle majeur dans la cognition – pourrait-il expliquer une partie des troubles cognitifs de la NMO ?

3. Comment faire le lien entre ces hypothèses ?

Si les patients NMO n'avaient qu'une atteinte des nerfs optiques et de la moelle épinière, nous aurions pu avoir au mieux des zones d'atrophie par dégénérescence rétrograde de la substance blanche sur le faisceau corticospinal et les voies visuelles. Or, nous avons eu de tels résultats pour les nerfs optiques avec le chiasma et les cunei, et pour l'atteinte médullaire avec le pont, mais d'autres régions sont elles aussi atrophiées en SB (cf. supra). Il convient néanmoins de noter que ces zones supplémentaires atrophiées sont proches du faisceau corticospinal (gyri frontaux supérieurs, gyri précentraux, precuneus et corps calleux).

L'existence d'une atteinte de la substance blanche à proximité des zones habituellement impliquées dans la NMO, suppose que l'origine pathogène de la maladie soit transmise par voie systémique ou bien par voie locorégionale.

La voie systémique

Les anticorps anti-NMO ciblent le canal hydrique AQP4, qui est exprimé de manière ubiquitaire dans le SNC, ne se limitant donc pas aux seuls tissus atteints par la maladie, c'est-à-dire la moelle épinière et les nerfs optiques. Il est notamment présent dans le cortex, mais également dans la substance blanche ; une étude par hybridation *in situ* du cerveau de rat montre d'ailleurs une localisation préférentielle des ARNmAQP4 en périventriculaire.¹⁴⁹ Récemment, Saini *et al.* ont analysé par RT-PCR l'expression de l'ARN messenger (ARNm) de l'AQP4 dans le SNC de sujets sains. L'analyse de l'ARNm AQP4 total dans différentes régions du CNS révèle dans les tissus vulnérables des niveaux d'expression relatifs bien plus élevés (moelle épinière : 100 ; nerf optique : 90 ;) que dans les tissus moins sensibles (cortex : 50 ; tronc cérébral : 30 ; cervelet : 10). L'analyse des ARNm codant les isoformes M1 et M23 de l'AQP4 montre que le rapport M1:M23 varie essentiellement dans le même sens, c'est-à-dire nettement plus élevé dans les tissus vulnérables que dans les tissus moins sensibles, sauf pour le tronc cérébral.¹⁷¹ Dans cette étude, la SB isolée n'a pas été étudiée.

Cette distribution ubiquitaire mais non uniforme des ARNmAQP4, distinguant de manière cohérente les tissus vulnérables de ceux qui sont moins sensibles, ainsi que la présence d'auto-anticorps anti-AQP4 sériques, font suspecter une atteinte relativement diffuse du SNC, ce qui pourrait expliquer l'existence de troubles cognitifs chez plus de la moitié des patients NMO.

Une telle atteinte systémique est d'autant plus plausible qu'une augmentation de l'interleukine 6 (Il-6) a été observée, à la fois dans le LCR et le sérum des patients NMO, et ce comparativement à des patients SEP et des sujets sains.¹⁷²⁻¹⁷³ L'Il-6 stimule l'activité des macrophages et active les lymphocytes B et T, conduisant ainsi à une inflammation chronique systémique.¹⁷⁴

La voie locale ou locorégionale

Outre les multiples connexions qu'il existe entre les neurones via les synapses, il existe aussi d'autres voies de connexion et de transmission : les jonctions gap et les nanotubes tunnels, qui pourrait faciliter l'atteinte plus diffuse de la NMO au niveau cérébral.

a. Les jonctions gap

La jonction gap ou jonction communicante (*gap junction*) est un canal transmembranaire reliant le cytoplasme de deux cellules adjacentes. Cette structure est formée par l'assemblage de deux héli-canaux appelés connexons (un par cellule partenaire). Chaque connexon est formé de 6 protéines transmembranaires appelées connexines ; dans la mesure où différentes isoformes sont exprimées, les connexons peuvent être homo- ou hétéromériques. Les jonctions gap sont souvent regroupées par dizaines voire par centaines, formant ainsi des plaques jonctionnelles. En raison du faible diamètre interne du canal (2 nm), les jonctions gap ne permettent le passage que de petites molécules (jusqu'à environ 1200 Da) : des métabolites (ATP, ADP, glucose, glutamate) ; des ions, ce qui est d'importance pour le passage de potentiels électriques dans les cellules excitables et non excitables.¹⁷⁵ Récemment, l'existence d'héli-canaux ou de connexons libres (non connectés à un autre connexon d'une autre cellule) ont été découverts.¹⁷⁶ La séparation ou la rupture des gap junctions en héli-canaux met alors le cytoplasme en contact direct avec le milieu extracellulaire. De tels héli-canaux ont été observés au niveau des astrocytes corticaux, ceci dans un contexte de modifications métaboliques (diminution de l'oxygène et du glucose)¹⁷⁵ et après exposition à des cytokines pro-inflammatoires.¹⁷⁷

Les neurones du SNC expriment les connexines 36 et 46. Chacune est exprimée dans des zones très focales : la connexine 45 est exprimée au niveau de la rétine et du bulbe olfactif du rat, tandis que la connexine 36 est exprimée au niveau la moelle épinière (surtout dans la substance grise), de la rétine, du cortex visuel, du pont (locus ceruleus), du bulbe (olive), des noyaux suprachiasmatiques et du bulbe olfactif. En dehors du bulbe olfactif, peu développé chez l'homme, il est intéressant de noter que les zones d'expression de la connexine 36 correspondent aux zones d'expression clinique de la NMO. La connexine 36 est d'ailleurs colocalisée avec l'AQP4.¹⁷⁸

Alors que les neurones expriment 2 types de connexines, les astrocytes en expriment 5 : les connexines 26, 30, 40, 43 et 45.¹⁷⁵ Les jonctions gap des astrocytes permettraient de protéger les neurones : une diminution de la communication par les jonctions gap entre astrocytes est à l'origine d'une neurotoxicité.¹⁷⁹ Après stimulation, les cellules microgliales

peuvent libérer un grand nombre de cytokines pro-inflammatoires, qui sont à l'origine de dysfonctions dans la communication astrocytaire et donc de cette toxicité neuronale.

L'existence de jonctions gap entre astrocytes et neurones est fortement suspectée. Récemment, des transferts de colorant mais aussi un couplage électrique ont été observés entre astrocytes et neurones du locus coeruleus, faisant ainsi suspecter l'existence de jonctions gap mixtes.¹⁸⁰⁻¹⁸¹

Plus récemment, un autre type d'hémi-canal membranaire, constitué de protéines appelées pannexines, a été mis en évidence dans le cerveau.¹⁸² Les pannexines, qui ne présentent qu'une faible homologie de 16 % avec les connexines, sont essentiellement exprimées au niveau de la membrane des neurones et des astrocytes.

b. Les nanotubes tunnels

Les nanotubes tunnels ou *tunneling nanotubes* (TNT) sont de fins canaux inter-cellulaires formés à partir de la membrane cytoplasmique, et qui relient à distance le cytoplasme de deux ou plusieurs cellules, pouvant ainsi constituer de véritables réseaux cellulaires (Figure 3).¹⁸³ On peut noter la présence d'actine F dans ces structures.¹⁸⁴ A noter qu'il existe aussi des structures ressemblant aux TNT (« TNT-like ») mais ne permettant pas la communication directe entre cellules puisque dans ces cas-là le nanotube membranaire n'est pas directement connecté à l'autre cellule mais est simplement très proche de lui, permettant par exemple, dans le cas des lymphocytes de transmettre des antigènes par endocytose.¹⁸³

Les TNT ont un diamètre qui peut aller de 10 à plus de 700 nm et peuvent atteindre des longueurs très importantes. Ainsi, il a été montré que les cellules NK en cultures pouvaient générer des TNT de plus de 140 μm , leur croissance étant relativement rapide, de l'ordre de 0,2 $\mu\text{m}/\text{s}$. Ce sont aussi des structures dynamiques, dont la durée de vie peut aller de quelques minutes jusqu'à plus d'une heure.¹⁸⁵

Etant donné le diamètre des TNT, ils peuvent transporter des éléments de petite taille (ions, métabolites), des macromolécules (protéines, acides nucléiques), jusqu'à des structures aussi grandes que les mitochondries.¹⁸³⁻¹⁸⁴ La membrane des TNT elle-même, en continuité directe avec les membranes plasmiques des cellules partenaires, permet le libre déplacement de protéines membranaires entre les cellules.¹⁸³ Sont aussi transportées à

travers les TNT ou les TNT-like des protéines de membrane qui passent ainsi d'une cellule à l'autre en navigant sur la continuité de membranes entre deux cellules que sont les TNT.

Les TNT semblent aussi être impliqués dans la transmission volumique. Dans la mesure où ce sont des structures dynamiques, apparaissant et disparaissant assez rapidement, leur contenu se retrouve dans l'espace extra-cellulaire lors de leur dislocation.¹⁸⁶

Bien que la découverte des TNT soit très récente, il y a déjà nombre de données indiquant qu'ils ont très vraisemblablement un rôle physiologique et physiopathologique majeurs. Des études récentes ont montré que des agents infectieux, tels le VIH et le prion peuvent emprunter cette voie et ainsi se propager à d'autres cellules.¹⁸⁷⁻¹⁸⁸

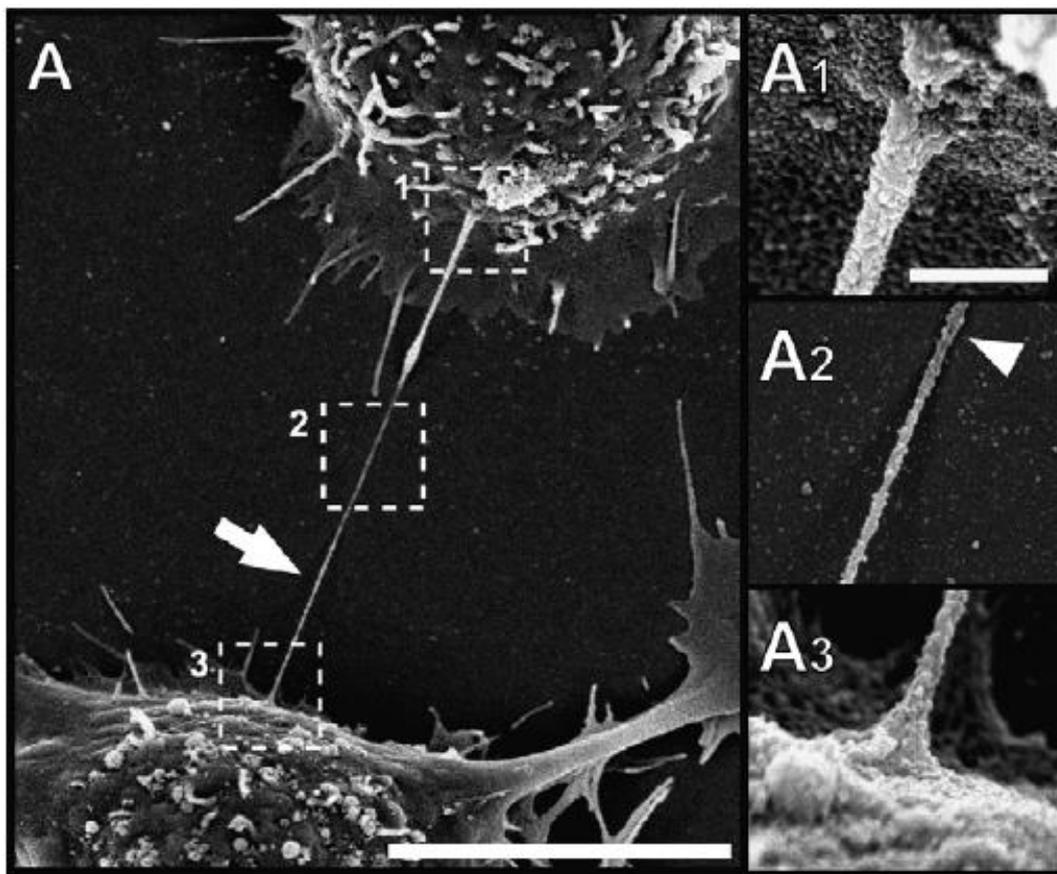


Figure 3 : Ultrastructure de nanotube tunnel entre deux cellules, en microscopie électronique. Notez la continuité membranaire entre les deux cellules connectées (A1-A3). (Adapté de Gerdes *et al.*, 2007, FEBS Letters.¹⁸⁹)

c. Les microvésicules

Les microvésicules impliquées dans la signalisation inter-cellulaire sont de deux types : les exosomes et les vésicules de délestage (*shedding vesicles*). Les exosomes proviennent des corps multivésiculaires du système endosomal, et déversent leur contenu directement dans le milieu extracellulaire (exocytose). Les vésicules de délestage, sont générées directement par bourgeonnement de la membrane plasmique, puis sont larguées par la cellule dans le milieu extracellulaire pour rejoindre les cellules cibles parfois très distantes.¹⁹⁰ Elles peuvent transporter nombre de molécules différentes, y compris des protéines et des ARN, Leur présence à entre autres été observés dans le LCR. Les microvésicules sont générées par pratiquement tous les types de cellules, y compris par les neurones et les astrocytes.¹⁹¹⁻¹⁹²

d. Concept de transmission volumique

Dès 1986, Agnati *et al.* ont émis l'hypothèse selon laquelle il y aurait deux types de communication intercellulaire dans le SNC : la transmission électrique (*wiring transmission*) et la transmission volumique (*volume transmission, VT*). Selon ce concept de VT, l'espace extracellulaire et le système ventriculaire sont considérés comme d'importants canaux de transmission chimique, complémentaires de la transmission électrique. Le VT permettrait la connexion entre neurones mais aussi et surtout entre tous les types de cellules du SNC (neurones, astrocytes, microglie...).¹⁹³ Les connexons, sous la forme d'hémi-canaux, ou bien les TNT, quand ils disparaissent, sont d'importants éléments de la VT.

Par ailleurs, Agni *et al.* ont aussi développé l'hypothèse selon laquelle le SNC serait composé de deux vastes réseaux : le réseau complexe cellulaire et le réseau global moléculaire. Ces deux réseaux pourraient fonctionner soit parallèlement, soit en série, en se rencontrant au niveau de la membrane cellulaire.¹⁹³

Hypothèses physiopathologiques de l'atteinte cérébrale

Dans la NMO, les premières cellules visées par le processus inflammatoire sont vraisemblablement les astrocytes. L'existence d'auto-anticorps anti-AQP4, dont nous avons

vu dans notre introduction qu'ils étaient surtout localisés au niveau des astrocytes, est évidemment un élément de poids. L'atteinte astrocytaire dans la NMO semble d'ailleurs plus importante que l'atteinte des oligodendrocytes (cf. introduction).¹⁰⁰

Les astrocytes sont des cellules non excitables, avec de nombreux filaments intermédiaires, siège de la protéine GFAP (marqueur immunohistochimique de ces cellules ; voir figure 4). Les ramifications des astrocytes entourent les vaisseaux ainsi que les synapses. Leur cytoplasme contient de nombreux granules de glycogène, destinées à alimenter en sucre les neurones. Les astrocytes communiquent entre eux par l'intermédiaire de jonctions gap (connexines 30 et 43, essentiellement). Ils ont un potentiel de membrane très négatif lié au gradient transmembranaire de K^+ . Enfin, ils sont en charge de la récupération du glutamate et du GABA par des transporteurs spécifiques.

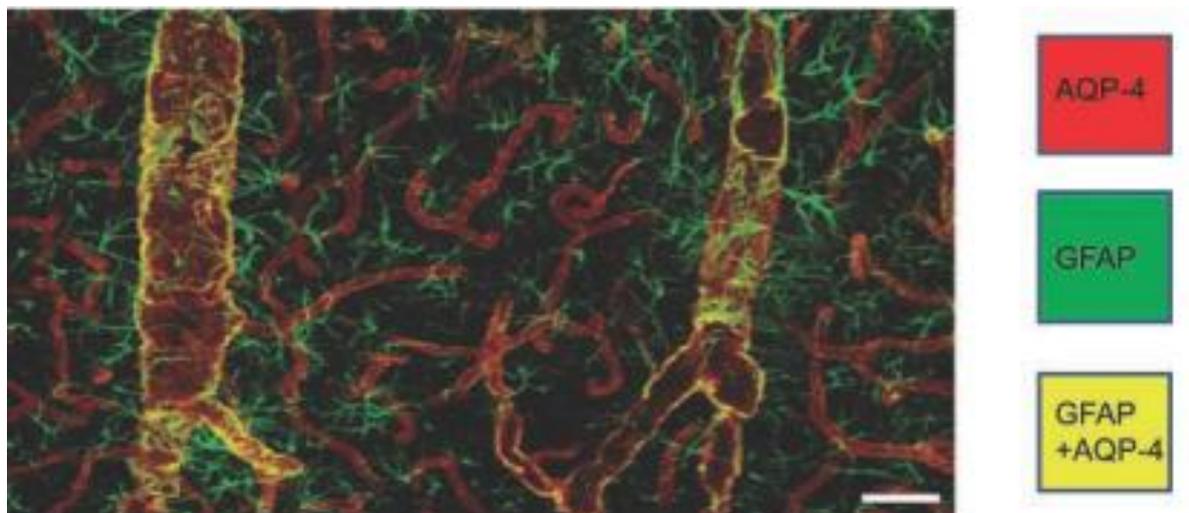


Figure 4 : Double immunomarquage d'astrocytes de cortex de rat. En rouge, l'AQP4 et en vert la GFAP. Notez que l'ensemble du réseau de vaisseaux est souligné par l'AQP4. La GFAP n'est colocalisée qu'au niveau des plus gros vaisseaux. (De Kimelberg, 2010, *The Neuroscientist*)

Rôle des canaux AQP4 et des jonctions gap

Dans les astrocytes, les connexines et aquaporines ont des rôles complémentaires. Ainsi, Nicchia *et al.* ont récemment montré que l'eau et les ions K^+ émis par les synapses dans l'espace extracellulaire sont récupérés par les astrocytes proximaux, puis transportés de

proche en proche vers d'autres astrocytes via des jonctions gap (connexine 43), pour finalement être éliminés via des canaux, dont l'AQP4 pour l'eau, vers les vaisseaux (figure 5).¹⁹⁴

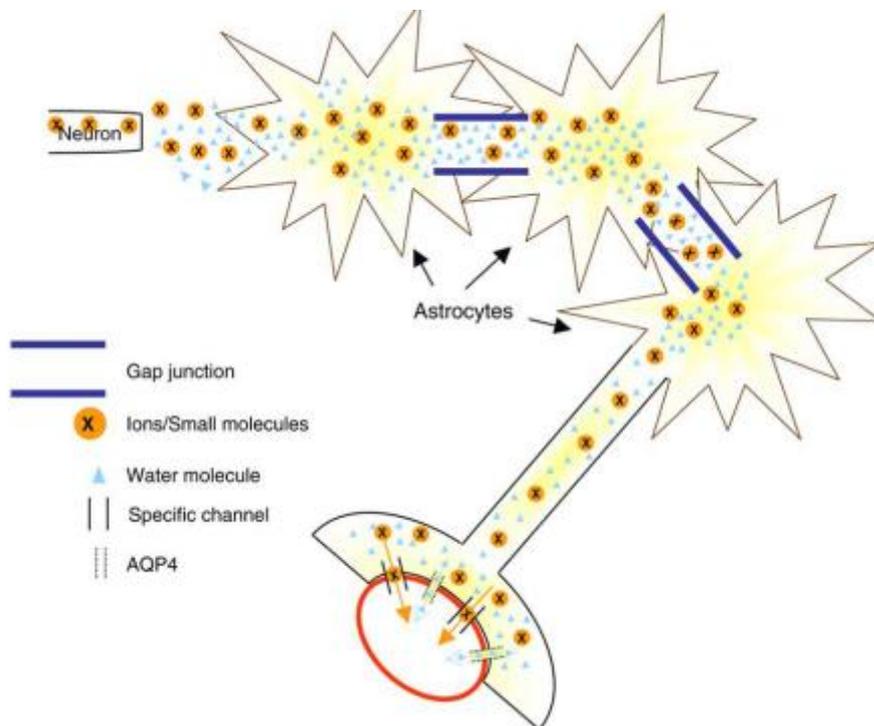


Figure 5 : Coopération fonctionnelle entre jonctions gap (connexine 43), et AQP4 pour éliminer l'eau, les ions, dont les ions K^+ , et les molécules du neuropile actif vers les vaisseaux. (De Nicchia *et al.*, 2005, FASEB. ¹⁹⁴)

Ainsi, un dérèglement des astrocytes via l'atteinte des AQP4 ou par d'autres mécanismes peut être à l'origine de modifications de la VT, et donc avoir des conséquences globales sur le fonctionnement cérébral. L'absence d'élimination correcte de l'afflux de K^+ dans l'espace extra-cellulaire pourrait entraîner un dysfonctionnement neuronal, y compris à distance.

Rôle des microvésicules

L'action de l'exocytose et des microvésicules nous intéresse dans le cas de l'astrocyte. Ainsi, le souffrance astrocytaire, quelle qu'en soit l'origine entraîne une libération d'ATP dans le milieu extracellulaire via l'exocytose.¹⁹⁵ Cette libération d'ATP stimule la fabrication d'Il-1 β par la microglie, qui libère cette cytokine via des microvésicules de délestage. Puis, l'Il1 β

diffuse dans le milieu extracellulaire, ce qui entraîne une réponse inflammatoire plus globale.¹⁹⁶

Rôle du transporteur du glutamate

Comme nous l'avons vu dans notre introduction, sous l'effet des anticorps anti-NMO, l'AQP4 et le transporteur du glutamate EAAT2 (GLT-1 chez la souris), disparaissent de la surface astrocytaire. De même, la perte d'AQP4 dans les lésions de NMO s'accompagne d'une nette diminution de l'EAAT2.⁸⁸ Enfin, l'application de sérum de patients NMO sur des astrocytes corticaux de rat entraîne une diminution de 50 % du captage du glutamate Na⁺ dépendant. Ainsi, la régulation négative de l'EAAT2 par les anticorps anti-NMO augmente la concentration de glutamate dans l'espace extracellulaire, qui devient certainement toxique pour les neurones et les oligodendrocytes.⁸⁹ Ce mécanisme excitotoxique pourrait être par ailleurs renforcé par la présence de cellules microgliales et macrophagiques, elle-même pourvoyeuses de glutamate.⁹⁰

Synthèse et conséquences locales et locorégionales

Ainsi, le défaut d'élimination des ions K⁺ et de l'eau du milieu extracellulaire par les astrocytes (connexines et AQP4), la libération d'ATP par exocytose, et le défaut de fonctionnement du transporteur du glutamate, sont probablement à la base de la physiopathologie de la NMO. Plus globalement, ce défaut de transmission volumique avec dérèglement du milieu extracellulaire ne se limite certainement pas à la moelle épinière et aux nerfs optiques, mais peut probablement se propager le long des systèmes visuels et cortico-spinaux, ainsi que, sans doute à un degré moindre, dans les zones riches en AQP4 comme le cortex et les régions périventriculaires cérébrales.

L'évaluation cognitive clinique est un excellent outil, dans le sens de la sensibilité, pour détecter une atteinte cérébrale. Nous avons d'ailleurs utilisé une batterie sensible pour la détection des troubles cognitifs dans les maladies inflammatoires.¹¹⁸ Il est ainsi possible d'imaginer que des modifications astrocytaires, mêmes minimes, dans la NMO puissent avoir des conséquences sur le milieu extracellulaire au niveau cérébral et donc sur le fonctionnement cognitif des patients, même en l'absence de destruction neuronale avérée (cf. résultats en spectroscopie).

L'existence de moyens de communication, autres que la synapse, entre cellules cérébrales est un changement de paradigme très enrichissant pour la neurologie et la neuropsychologie.¹⁹³ Les résultats « macroscopiques » (les troubles cognitifs et les corrélations avec l'atrophie discrète en substance blanche) que nous avons montrés ici, interrogent sur le changement nécessaire de paradigme pour mieux comprendre l'existence de déficits cognitifs en l'absence de lésions cérébrales clairement individualisées à l'IRM cérébrale conventionnelle.

Conclusion et perspectives

Nous avons montré par ce travail que la présence de troubles cognitifs chez les patients NMO est fréquente, puisque nous les avons détectés chez plus de la moitié d'entre eux. Par ailleurs, nous avons également montré l'existence d'une atrophie de la SB, corrélée à certains des troubles cognitifs et d'autre part l'absence d'atrophie de SG, avec cependant une corrélation avec certains troubles cognitifs. En nous appuyant sur nos propres résultats et ceux de la littérature, nous avons montré que les conséquences de la maladie sur le parenchyme cérébral sont subtiles, mais semblent prédominer sur la SB, sans épargner totalement la SG. Nous avons enfin émis des hypothèses sur les mécanismes sous-jacents aux déficits. Nous nous sommes interrogés sur l'existence d'un lien *(i)* entre l'inflammation systémique et les troubles cognitifs, et *(ii)* entre l'atteinte des faisceaux cortico-spinaux et des voies visuelles, et les troubles cognitifs. Nous avons aussi tenté de mieux comprendre les aspects microscopiques (moléculaires et cellulaires) - la communication des astrocytes et neurones entre eux, le rôle du milieu extracellulaire – afin de pouvoir mieux appréhender le macroscopique – les troubles cognitifs et les anomalies en IRM. Nous nous sommes aussi interrogés sur les conséquences cérébrales, et donc cognitives, des anticorps anti-AQP4. Ces questions et de nombreuses autres restent au moins en partie sans réponse. Nos perspectives seront de tenter de répondre à certaines d'entre elles.

La première question est de savoir quelle est l'évolution des troubles cognitifs dans la neuromyérite optique ? Nous avons d'ores et déjà initié un programme de suivi de ces patients à 1 an et 3 ans, qui va nous permettre d'avoir une idée de l'évolution cognitive à court et moyen terme. Actuellement, 10 patients ont été re-testés à 1 an. Dans le même esprit, nous allons observer l'évolution clinique du handicap général des patients afin de savoir si l'existence de troubles cognitifs dans les premières années de la maladie est un facteur de mauvais pronostic évolutif, comme cela vient d'être montré dans la SEP par l'équipe de Bruno Brochet.¹¹⁶

La seconde question concerne l'exploration de la SB cérébrale et les conséquences cognitives de son atteinte. Il convient en effet de mieux préciser les fibres et les faisceaux de la SB qui sont corrélées aux performances cognitives des patients. Nous utiliserons pour cela la diffusion et le tenseur en IRM que nous corréleront aux performances cognitives.

L'approche par la diffusion nous permettra peut-être de mieux appréhender le rôle du milieu extracellulaire et des astrocytes. La fraction d'anisotropie (FA) représente une mesure de la cohérence des fibres à l'intérieur du voxel. Nous utiliserons TBSS (Tract-Based Spatial Statistics) dans FSL afin de mieux analyser les fibres blanches. TBSS projette les fibres et faisceaux sur une représentation invariable appelée « squelette moyen de FA ». Grâce à ce procédé, il est ainsi possible d'aligner les images de FA de plusieurs sujets et donc de les comparer. Cependant, l'analyse de FA en SG n'est pas faite avec ce procédé. C'est pourquoi, nous allons aussi analyser les cartes de FA des patients NMO via VBM dans SMP5. Car comme nous l'avons vu dans cette thèse, malgré l'absence d'atrophie nette en SG, il existe des corrélations entre les performances cognitives et la concentration de SG. Outre la FA, nous analyserons aussi la diffusion (MD et ADC) des cerveaux des patients NMO. A chaque fois, que ce soit avec VBM ou TBSS, les patients NMO seront comparés aux sujets témoins. De plus, comme nous l'avons fait avec les séquences T1 3D, les performances cognitives seront corrélées aux analyses IRM.

Enfin, nous allons nous engager dans un programme visant à favoriser l'examen anatomopathologique des patients NMO au niveau médullaire et surtout cérébral. Nous participons déjà depuis quelques mois au programme neuro-CEB qui vise à élaborer une banque de cerveaux destinés aux recherches sur les pathologies du système nerveux en France. L'analyse approfondie des cerveaux de NMO en anatomopathologie est indispensable à la meilleure compréhension de leur dysfonctionnement.

Références

1. Clifford Allbutt T. On the ophtalmoscopic signs of spinal disease. *Lancet* 1870;95:76-8.
2. Gault F. De la Neuromyéélite Optique aiguë. Thèse à la faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon 1894;981.
3. Devic E. Myélite subaiguë compliquée de névrite optique. *Bull Med* 1894;8:1033-34.
4. Drake-Brockman EF. Reports on Medical & Surgical Practice in the Hospitals and Asylums of Great Britain, Ireland, and the Colonies. A case of double optic neuritis dependent on spinal disease. *Br Med J* 1892;2:76-8.
5. Dreschfeld J. Acute myelitis associated with optic neuritis. *Lancet* 1882;119:8-9 and 52-3.
6. Fuchs S. Klinische und anatomische Untersuchungen über einen Fall von multipler Neuritis. *J Neurol* 1893;4:38-78.
7. Sharkey SJ, Lawford JB. Optic Neuritis associated with acute Myelitis. *The Medical Times and Gazette* 1884;1:812.
8. Dreschfeld J. Acute disseminated myelitis. *British Medical Journal* 1894:1174-7.
9. Ortiz de Zarate JC, Tamaroff L, Sica RE, Rodriguez JA. Neuromyelitis optica versus subacute necrotic myelitis. II. Anatomical study of two cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1968;31:641-5.
10. Lefkowitz D, Angelo JN. Neuromyelitis optica with unusual vascular changes. *Arch Neurol* 1984;41:1103-5.
11. Lehoczky T. [Neuromyelitis optica; clinical and pathological study.]. *Confin Neurol* 1952;12:218-30.
12. April RS, Vansonnenberg E. A case of neuromyelitis optica (Devic's syndrome) in systemic lupus erythematosus. Clinicopathologic report and review of the literature. *Neurology* 1976;26:1066-70.
13. Borgesiturrisa J, Gonzalezalfonzo JE, Vonschilling B, Wanis H, Silvacordoba M. [Neuromyelitis Optica: Presentation Of A Case With Anatomopathologic Study.]. *Gac Med Caracas* 1963;71:153-64.
14. Totsuka S. Clinico-pathological studies on the two cases of neuromyelitis optica (Devic's disease) with a chronic clinical course, with especial reference on its relationship to multiple sclerosis. *Folia Psychiatr Neurol Jpn* 1962;64:1149-65.
15. Mandler RN, Davis LE, Jeffery DR, Kornfeld M. Devic's neuromyelitis optica: a clinicopathological study of 8 patients. *Ann Neurol* 1993;34:162-8.
16. Lucchinetti CF, Mandler RN, McGavern D, et al. A role for humoral mechanisms in the pathogenesis of Devic's neuromyelitis optica. *Brain* 2002;125:1450-61.
17. Hengstman GJ, Wesseling P, Frenken CW, Jongen PJ. Neuromyelitis optica with clinical and histopathological involvement of the brain. *Mult Scler* 2007;13:679-82.
18. Lee DH, Metz I, Berthele A, et al. Supraspinal demyelinating lesions in neuromyelitis optica display a typical astrocyte pathology. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2010.
19. Collongues N, Marignier R, Zephir H, et al. Neuromyelitis optica in France: a multicenter study of 125 patients. *Neurology* 2010;74:736-42.
20. Wingerchuk DM, Weinshenker BG. Neuromyelitis optica: clinical predictors of a relapsing course and survival. *Neurology* 2003;60:848-53.
21. Ghezzi A, Bergamaschi R, Martinelli V, et al. Clinical characteristics, course and prognosis of relapsing Devic's Neuromyelitis Optica. *J Neurol* 2004;251:47-52.
22. Rivera JF, Kurtzke JF, Booth VJ, Corona VT. Characteristics of Devic's disease (neuromyelitis optica) in Mexico. *J Neurol* 2008;255:710-5.
23. Lennon VA, Wingerchuk DM, Kryzer TJ, et al. A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Lancet* 2004;364:2106-12.
24. McKeon A, Fryer JP, Apiwattanakul M, et al. Diagnosis of neuromyelitis spectrum disorders: comparative sensitivities and specificities of immunohistochemical and immunoprecipitation assays. *Arch Neurol* 2009;66:1134-8.

25. Marignier R, De Seze J, Vukusic S, et al. NMO-IgG and Devic's neuromyelitis optica: a French experience. *Mult Scler* 2008;14:440-5.
26. Fazio R, Malosio ML, Lampasona V, et al. Antiaquaporin 4 antibodies detection by different techniques in neuromyelitis optica patients. *Mult Scler* 2009;15:1153-63.
27. Paul F, Jarius S, Aktas O, et al. Antibody to aquaporin 4 in the diagnosis of neuromyelitis optica. *PLoS Med* 2007;4:e133.
28. Cabrera-Gomez JA, Bonnan M, Gonzalez-Quevedo A, et al. Neuromyelitis optica positive antibodies confer a worse course in relapsing-neuromyelitis optica in Cuba and French West Indies. *Mult Scler* 2009;15:828-33.
29. Matsuoka T, Matsushita T, Kawano Y, et al. Heterogeneity of aquaporin-4 autoimmunity and spinal cord lesions in multiple sclerosis in Japanese. *Brain* 2007;130:1206-23.
30. Jarius S, Aboul-Enein F, Waters P, et al. Antibody to aquaporin-4 in the long-term course of neuromyelitis optica. *Brain* 2008;131:3072-80.
31. de Seze J, Arndt C, Jeanjean L, et al. Relapsing inflammatory optic neuritis: is it neuromyelitis optica? *Neurology* 2008;70:2075-6.
32. Matiello M, Lennon VA, Jacob A, et al. NMO-IgG predicts the outcome of recurrent optic neuritis. *Neurology* 2008;70:2197-200.
33. Weinshenker BG, Wingerchuk DM, Vukusic S, et al. Neuromyelitis optica IgG predicts relapse after longitudinally extensive transverse myelitis. *Ann Neurol* 2006;59:566-9.
34. Matsushita T, Matsuoka T, Isobe N, et al. Association of the HLA-DPB1*0501 allele with anti-aquaporin-4 antibody positivity in Japanese patients with idiopathic central nervous system demyelinating disorders. *Tissue Antigens* 2009;73:171-6.
35. Zephir H, Fajardy I, Outteryck O, et al. Is neuromyelitis optica associated with human leukocyte antigen? *Mult Scler* 2009;15:571-9.
36. Brum DG, Barreira AA, dos Santos AC, et al. HLA-DRB association in neuromyelitis optica is different from that observed in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2010;16:21-9.
37. Wingerchuk DM, Hogancamp WF, O'Brien PC, Weinshenker BG. The clinical course of neuromyelitis optica (Devic's syndrome). *Neurology* 1999;53:1107-14.
38. de Seze J, Lebrun C, Stojkovic T, Ferriby D, Chatel M, Vermersch P. Is Devic's neuromyelitis optica a separate disease? A comparative study with multiple sclerosis. *Mult Scler* 2003;9:521-5.
39. Jarius S, Paul F, Franciotta D, et al. Mechanisms of disease: aquaporin-4 antibodies in neuromyelitis optica. *Nat Clin Pract Neurol* 2008;4:202-14.
40. Jarius S, Franciotta D, Bergamaschi R, et al. Polyspecific, antiviral immune response distinguishes multiple sclerosis and neuromyelitis optica. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2008;79:1134-6.
41. Cassinotto C, Deramond H, Olindo S, Aveillan M, Smadja D, Cabre P. MRI of the spinal cord in neuromyelitis optica and recurrent longitudinal extensive myelitis. *J Neuroradiol* 2009;36:199-205.
42. Rovaris M, Gass A, Bammer R, et al. Diffusion MRI in multiple sclerosis. *Neurology* 2005;65:1526-32.
43. Kremer S, Oppenheim C, Schmitt E, Dietemann JL. [Diffusion MRI: technique and clinical applications]. *J Radiol* 2007;88:428-43.
44. Lin F, Yu C, Jiang T, et al. Discriminative analysis of relapsing neuromyelitis optica and relapsing-remitting multiple sclerosis based on two-dimensional histogram from diffusion tensor imaging. *Neuroimage* 2006;31:543-9.
45. Benedetti B, Valsasina P, Judica E, et al. Grading cervical cord damage in neuromyelitis optica and MS by diffusion tensor MRI. *Neurology* 2006;67:161-3.
46. Brochet B, Dousset V. Pathological correlates of magnetization transfer imaging abnormalities in animal models and humans with multiple sclerosis. *Neurology* 1999;53:S12-7.
47. Mehta RC, Pike GB, Enzmann DR. Magnetization transfer magnetic resonance imaging: a clinical review. *Top Magn Reson Imaging* 1996;8:214-30.
48. Rocca MA, Agosta F, Mezzapesa DM, et al. A functional MRI study of movement-associated cortical changes in patients with Devic's neuromyelitis optica. *Neuroimage* 2004;21:1061-8.

49. Filippi M, Rocca MA, Momiola L, et al. MRI and magnetization transfer imaging changes in the brain and cervical cord of patients with Devic's neuromyelitis optica. *Neurology* 1999;53:1705-10.
50. Pittock SJ, Weinshenker BG, Lucchinetti CF, Wingerchuk DM, Corboy JR, Lennon VA. Neuromyelitis optica brain lesions localized at sites of high aquaporin 4 expression. *Arch Neurol* 2006;63:964-8.
51. Cabrera-Gomez JA, Quevedo-Sotolongo L, Gonzalez-Quevedo A, et al. Brain magnetic resonance imaging findings in relapsing neuromyelitis optica. *Mult Scler* 2007;13:186-92.
52. Ito S, Mori M, Makino T, Hayakawa S, Kuwabara S. "Cloud-like enhancement" is a magnetic resonance imaging abnormality specific to neuromyelitis optica. *Ann Neurol* 2009;66:425-8.
53. Cabrera-Gomez J, Saiz-Hinarejos A, Graus F, et al. Brain magnetic resonance imaging findings in acute relapses of neuromyelitis optica spectrum disorders. *Mult Scler* 2008;14:248-51.
54. de Seze J, Debouverie M, Zephir H, et al. Acute fulminant demyelinating disease: a descriptive study of 60 patients. *Arch Neurol* 2007;64:1426-32.
55. Pittock SJ, Lennon VA, Krecke K, Wingerchuk DM, Lucchinetti CF, Weinshenker BG. Brain abnormalities in neuromyelitis optica. *Arch Neurol* 2006;63:390-6.
56. Yu C, Lin F, Li K, et al. Pathogenesis of normal-appearing white matter damage in neuromyelitis optica: diffusion-tensor MR imaging. *Radiology* 2008;246:222-8.
57. Yu CS, Lin FC, Li KC, et al. Diffusion tensor imaging in the assessment of normal-appearing brain tissue damage in relapsing neuromyelitis optica. *AJNR Am J Neuroradiol* 2006;27:1009-15.
58. Rocca MA, Agosta F, Mezzapesa DM, et al. Magnetization transfer and diffusion tensor MRI show gray matter damage in neuromyelitis optica. *Neurology* 2004;62:476-8.
59. Le Bas JF, Esteve F, Grand S, et al. [NMR spectroscopy and brain diseases. Clinical applications]. *J Neuroradiol* 1998;25:55-69.
60. Sajja BR, Wolinsky JS, Narayana PA. Proton magnetic resonance spectroscopy in multiple sclerosis. *Neuroimaging Clin N Am* 2009;19:45-58.
61. Liu Y, Liang P, Duan Y, et al. Abnormal baseline brain activity in patients with neuromyelitis optica: A resting-state fMRI study. *Eur J Radiol* 2010.
62. Wingerchuk DM, Lennon VA, Pittock SJ, Lucchinetti CF, Weinshenker BG. Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica. *Neurology* 2006;66:1485-9.
63. Paty DW, Oger JJ, Kastrukoff LF, et al. MRI in the diagnosis of MS: a prospective study with comparison of clinical evaluation, evoked potentials, oligoclonal banding, and CT. *Neurology* 1988;38:180-5.
64. de Seze J. [Acute transverse myelitis]. *Rev Med Interne* 2009;30:1030-7.
65. Nakamura M, Nakazawa T, Doi H, et al. Early high-dose intravenous methylprednisolone is effective in preserving retinal nerve fiber layer thickness in patients with neuromyelitis optica. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2010.
66. Aguilera AJ, Carlow TJ, Smith KJ, Simon TL. Lymphocytapheresis in Devic's syndrome. *Transfusion* 1985;25:54-6.
67. Nozaki I, Hamaguchi T, Komai K, Yamada M. Fulminant Devic disease successfully treated by lymphocytapheresis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006;77:1094-5.
68. Watanabe S, Nakashima I, Misu T, et al. Therapeutic efficacy of plasma exchange in NMO-IgG-positive patients with neuromyelitis optica. *Mult Scler* 2007;13:128-32.
69. Bonnan M, Valentino R, Olindo S, Mehdaoui H, Smadja D, Cabre P. Plasma exchange in severe spinal attacks associated with neuromyelitis optica spectrum disorder. *Mult Scler* 2009;15:487-92.
70. Mandler RN, Ahmed W, Dencoff JE. Devic's neuromyelitis optica: a prospective study of seven patients treated with prednisone and azathioprine. *Neurology* 1998;51:1219-20.
71. Weinstock-Guttman B, Ramanathan M, Lincoff N, et al. Study of mitoxantrone for the treatment of recurrent neuromyelitis optica (Devic disease). *Arch Neurol* 2006;63:957-63.
72. Jacob A, Weinshenker BG, Violich I, et al. Treatment of neuromyelitis optica with rituximab: retrospective analysis of 25 patients. *Arch Neurol* 2008;65:1443-8.
73. Kurtzke JF. A new scale for evaluating disability in multiple sclerosis. *Neurology* 1955;5:580-3.
74. Kurtzke JF. On the evaluation of disability in multiple sclerosis. *Neurology* 1961;11:686-94.

75. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 1983;33:1444-52.
76. Cabre P, Gonzalez-Quevedo A, Bonnan M, et al. Relapsing neuromyelitis optica: long term history and clinical predictors of death. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2009;80:1162-4.
77. Lennon VA, Kryzer TJ, Pittock SJ, Verkman AS, Hinson SR. IgG marker of optic-spinal multiple sclerosis binds to the aquaporin-4 water channel. *J Exp Med* 2005;202:473-7.
78. Rash JE, Davidson KG, Yasumura T, Furman CS. Freeze-fracture and immunogold analysis of aquaporin-4 (AQP4) square arrays, with models of AQP4 lattice assembly. *Neuroscience* 2004;129:915-34.
79. Neely JD, Christensen BM, Nielsen S, Agre P. Heterotetrameric composition of aquaporin-4 water channels. *Biochemistry* 1999;38:11156-63.
80. Hiroaki Y, Tani K, Kamegawa A, et al. Implications of the aquaporin-4 structure on array formation and cell adhesion. *J Mol Biol* 2006;355:628-39.
81. Nielsen S, Nagelhus EA, Amiry-Moghaddam M, Bourque C, Agre P, Ottersen OP. Specialized membrane domains for water transport in glial cells: high-resolution immunogold cytochemistry of aquaporin-4 in rat brain. *J Neurosci* 1997;17:171-80.
82. Jung JS, Bhat RV, Preston GM, Guggino WB, Baraban JM, Agre P. Molecular characterization of an aquaporin cDNA from brain: candidate osmoreceptor and regulator of water balance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:13052-6.
83. Chrispeels MJ, Agre P. Aquaporins: water channel proteins of plant and animal cells. *Trends Biochem Sci* 1994;19:421-5.
84. Saadoun S, Papadopoulos MC, Watanabe H, Yan D, Manley GT, Verkman AS. Involvement of aquaporin-4 in astroglial cell migration and glial scar formation. *J Cell Sci* 2005;118:5691-8.
85. Verkman AS, Binder DK, Bloch O, Auguste K, Papadopoulos MC. Three distinct roles of aquaporin-4 in brain function revealed by knockout mice. *Biochim Biophys Acta* 2006;1758:1085-93.
86. Lin SC, Bergles DE. Synaptic signaling between neurons and glia. *Glia* 2004;47:290-8.
87. Zeng XN, Sun XL, Gao L, Fan Y, Ding JH, Hu G. Aquaporin-4 deficiency down-regulates glutamate uptake and GLT-1 expression in astrocytes. *Mol Cell Neurosci* 2007;34:34-9.
88. Hinson SR, Roemer SF, Lucchinetti CF, et al. Aquaporin-4-binding autoantibodies in patients with neuromyelitis optica impair glutamate transport by down-regulating EAAT2. *J Exp Med* 2008;205:2473-81.
89. McDonald JW, Althomsons SP, Hyrc KL, Choi DW, Goldberg MP. Oligodendrocytes from forebrain are highly vulnerable to AMPA/kainate receptor-mediated excitotoxicity. *Nat Med* 1998;4:291-7.
90. Hinson SR, McKeon A, Lennon VA. Neurological autoimmunity targeting aquaporin-4. *Neuroscience* 2010;168:1009-18.
91. Nagelhus EA, Veruki ML, Torp R, et al. Aquaporin-4 water channel protein in the rat retina and optic nerve: polarized expression in Muller cells and fibrous astrocytes. *J Neurosci* 1998;18:2506-19.
92. Rash JE, Yasumura T, Hudson CS, Agre P, Nielsen S. Direct immunogold labeling of aquaporin-4 in square arrays of astrocyte and ependymocyte plasma membranes in rat brain and spinal cord. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:11981-6.
93. Vitellaro-Zuccarello L, Mazzetti S, Bosisio P, Monti C, De Biasi S. Distribution of Aquaporin 4 in rodent spinal cord: relationship with astrocyte markers and chondroitin sulfate proteoglycans. *Glia* 2005;51:148-59.
94. Roemer SF, Parisi JE, Lennon VA, et al. Pattern-specific loss of aquaporin-4 immunoreactivity distinguishes neuromyelitis optica from multiple sclerosis. *Brain* 2007;130:1194-205.
95. Misu T, Fujihara K, Kakita A, et al. Loss of aquaporin 4 in lesions of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis. *Brain* 2007;130:1224-34.
96. Sinclair C, Kirk J, Herron B, Fitzgerald U, McQuaid S. Absence of aquaporin-4 expression in lesions of neuromyelitis optica but increased expression in multiple sclerosis lesions and normal-appearing white matter. *Acta Neuropathol* 2007;113:187-94.

97. Matsuoka T, Suzuki SO, Iwaki T, Tabira T, Ordinario AT, Kira JI. Aquaporin-4 astrocytopathy in Balo's disease. *Acta Neuropathol* 2010.
98. Vincent T, Saikali P, Cayrol R, et al. Functional consequences of neuromyelitis optica-IgG astrocyte interactions on blood-brain barrier permeability and granulocyte recruitment. *J Immunol* 2008;181:5730-7.
99. Zhou J, Kong H, Hua X, Xiao M, Ding J, Hu G. Altered blood-brain barrier integrity in adult aquaporin-4 knockout mice. *Neuroreport* 2008;19:1-5.
100. Takano R, Misu T, Takahashi T, Sato S, Fujihara K, Itoyama Y. Astrocytic damage is far more severe than demyelination in NMO: a clinical CSF biomarker study. *Neurology* 2010;75:208-16.
101. Graber DJ, Levy M, Kerr D, Wade WF. Neuromyelitis optica pathogenesis and aquaporin 4. *J Neuroinflammation* 2008;5:22.
102. Kinoshita M, Nakatsuji Y, Kimura T, et al. Neuromyelitis optica: Passive transfer to rats by human immunoglobulin. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;386:623-7.
103. Bennett JL, Lam C, Kalluri SR, et al. Intrathecal pathogenic anti-aquaporin-4 antibodies in early neuromyelitis optica. *Ann Neurol* 2009;66:617-29.
104. Storch MK, Stefferl A, Brehm U, et al. Autoimmunity to myelin oligodendrocyte glycoprotein in rats mimics the spectrum of multiple sclerosis pathology. *Brain Pathol* 1998;8:681-94.
105. Krishnamoorthy G, Lassmann H, Wekerle H, Holz A. Spontaneous opticospinal encephalomyelitis in a double-transgenic mouse model of autoimmune T cell/B cell cooperation. *J Clin Invest* 2006;116:2385-92.
106. Collongues N, Blanc F, Chanson J, et al. Evaluation of glial fibrillary acidic protein and aquaporin-4 in an opticospinal animal model of demyelination. *BMC Neurology*, submitted 2010.
107. Saadoun S, Waters P, Bell BA, Vincent A, Verkman AS, Papadopoulos MC. Intra-cerebral injection of neuromyelitis optica immunoglobulin G and human complement produces neuromyelitis optica lesions in mice. *Brain* 2010;133:349-61.
108. Diamond B, Huerta PT, Mina-Osorio P, Kowal C, Volpe BT. Losing your nerves? Maybe it's the antibodies. *Nat Rev Immunol* 2009;9:449-56.
109. Sharma R, Fischer MT, Bauer J, et al. Inflammation induced by innate immunity in the central nervous system leads to primary astrocyte dysfunction followed by demyelination. *Acta Neuropathol* 2010;120:223-36.
110. Marignier R, Nicolle A, Watrin C, et al. Oligodendrocytes are damaged by neuromyelitis optica immunoglobulin G via astrocyte injury. *Brain* 2010.
111. Peyser JM, Edwards KR, Poser CM, Filskov SB. Cognitive function in patients with multiple sclerosis. *Arch Neurol* 1980;37:577-9.
112. Saji E, Toyoshima Y, Yanagawa K, Nishizawa M, Kawachi I. Neuropsychiatric Presentation of Neuromyelitis Optica Spectrum Disorders. *Neurology* 2010;74:A169.
113. Galetta SL, Bennett J. Neuromyelitis optica is a variant of multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2007;64:901-3.
114. Chanson JB, Zephir H, Collongues N, et al. Evaluation of Health-Related Quality of Life, Fatigue and Depression in Neuromyelitis Optica. *Neurology* 2010;74:A171-A.
115. Hoffmann S, Tittgemeyer M, von Cramon DY. Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol* 2007;20:275-80.
116. Deloire M, Ruet A, Hamel D, Bonnet M, Brochet B. Early cognitive impairment in multiple sclerosis predicts disability outcome several years later. *Mult Scler* 2010;16:581-7.
117. Rao SM, Leo GJ, Ellington L, Nauertz T, Bernardin L, Unverzagt F. Cognitive dysfunction in multiple sclerosis. II. Impact on employment and social functioning. *Neurology* 1991;41:692-6.
118. Dujardin K, Sockeel P, Cabaret M, De Seze J, Vermersch P. [BCcogSEP: a French test battery evaluating cognitive functions in multiple sclerosis]. *Rev Neurol (Paris)* 2004;160:51-62.
119. Blanc F, Longato N, Jung B, et al. Mild cognitive impairment and dementia in Primary Sjögren Syndrome. *Arch Neurol* 2010;Submitted.
120. Feuillet L, Reuter F, Audoin B, et al. Early cognitive impairment in patients with clinically isolated syndrome suggestive of multiple sclerosis. *Mult Scler* 2007;13:124-7.

121. Lebrun C, Blanc F, Brassat D, Zephir H, de Seze J. Cognitive function in radiologically isolated syndrome. *Mult Scler* 2010;16:919-25.
122. Ranjeva JP, Audoin B, Au Duong MV, et al. Structural and functional surrogates of cognitive impairment at the very early stage of multiple sclerosis. *J Neurol Sci* 2006;245:161-7.
123. Rao SM, Leo GJ, Houghton VM, St Aubin-Faubert P, Bernardin L. Correlation of magnetic resonance imaging with neuropsychological testing in multiple sclerosis. *Neurology* 1989;39:161-6.
124. Comi G, Rovaris M, Leocani L, Martinelli V, Filippi M. Assessment of the damage of the cerebral hemispheres in MS using neuroimaging techniques. *J Neurol Sci* 2000;172 Suppl 1:S63-6.
125. Benedict RH, Weinstock-Guttman B, Fishman I, Sharma J, Tjoa CW, Bakshi R. Prediction of neuropsychological impairment in multiple sclerosis: comparison of conventional magnetic resonance imaging measures of atrophy and lesion burden. *Arch Neurol* 2004;61:226-30.
126. Lazeron RH, Boringa JB, Schouten M, et al. Brain atrophy and lesion load as explaining parameters for cognitive impairment in multiple sclerosis. *Mult Scler* 2005;11:524-31.
127. Houtchens MK, Benedict RH, Killiany R, et al. Thalamic atrophy and cognition in multiple sclerosis. *Neurology* 2007;69:1213-23.
128. Bichuetti DB, Rivero RL, de Oliveira EM, et al. White matter spectroscopy in neuromyelitis optica: a case control study. *J Neurol* 2008;255:1895-9.
129. Aboul-Enein F, Krssak M, Hoftberger R, Prayer D, Kristoferitsch W. Diffuse white matter damage is absent in neuromyelitis optica. *AJNR Am J Neuroradiol* 2010;31:76-9.
130. Mathiesen HK, Jonsson A, Tscherning T, et al. Correlation of global N-acetyl aspartate with cognitive impairment in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2006;63:533-6.
131. Davie CA, Barker GJ, Thompson AJ, Tofts PS, McDonald WI, Miller DH. 1H magnetic resonance spectroscopy of chronic cerebral white matter lesions and normal appearing white matter in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997;63:736-42.
132. Fu L, Matthews PM, De Stefano N, et al. Imaging axonal damage of normal-appearing white matter in multiple sclerosis. *Brain* 1998;121 (Pt 1):103-13.
133. Sarchielli P, Presciutti O, Pelliccioli GP, et al. Absolute quantification of brain metabolites by proton magnetic resonance spectroscopy in normal-appearing white matter of multiple sclerosis patients. *Brain* 1999;122 (Pt 3):513-21.
134. Sarchielli P, Presciutti O, Tarducci R, et al. Localized (1)H magnetic resonance spectroscopy in mainly cortical gray matter of patients with multiple sclerosis. *J Neurol* 2002;249:902-10.
135. Cifelli A, Arridge M, Jezard P, Esiri MM, Palace J, Matthews PM. Thalamic neurodegeneration in multiple sclerosis. *Annals of Neurology* 2002;52:650-3.
136. Narayana PA, Doyle TJ, Lai D, Wolinsky JS. Serial proton magnetic resonance spectroscopic imaging, contrast-enhanced magnetic resonance imaging, and quantitative lesion volumetry in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1998;43:56-71.
137. Tartaglia MC, Narayanan S, De Stefano N, et al. Choline is increased in pre-lesional normal appearing white matter in multiple sclerosis. *J Neurol* 2002;249:1382-90.
138. Tourbah A, Stievenart JL, Abanou A, et al. Normal-appearing white matter in optic neuritis and multiple sclerosis: a comparative proton spectroscopy study. *Neuroradiology* 1999;41:738-43.
139. Fernando KTM, McLean MA, Chard DT, et al. Elevated white matter myo-inositol in clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis. *Brain* 2004;127:1361-9.
140. Wattjes MP, Harzheim M, Lutterbey GG, Klotz L, Schild HH, Traber F. Axonal damage but no increased glial cell activity in the normal-appearing white matter of patients with clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis using high-field magnetic resonance Spectroscopy. *Am J Neuroradiol* 2007;28:1517-22.
141. Sijens PE, Mostert JP, Oudkerk M, De Keyser J. H-1 MR spectroscopy of the brain in multiple sclerosis subtypes with analysis of the metabolite concentrations in gray and white matter: initial findings. *European Radiology* 2006;16:489-95.
142. Aboul-Enein F, Krssak M, Hoftberger R, Prayer D, Kristoferitsch W. Reduced NAA-Levels in the NAWM of Patients with MS Is a Feature of Progression. A Study with Quantitative Magnetic Resonance Spectroscopy at 3 Tesla. *PLoS One* 2010;5:-.

143. Wingerchuk DM, Pittock SJ, Lucchinetti CF, Lennon VA, Weinshenker BG. A secondary progressive clinical course is uncommon in neuromyelitis optica. *Neurology* 2007;68:603-5.
144. Carey ME, Haut MW, Reminger SL, Hutter JJ, Theilmann R, Kaemingk KL. Reduced frontal white matter volume in long-term childhood leukemia survivors: a voxel-based morphometry study. *AJNR Am J Neuroradiol* 2008;29:792-7.
145. Newman LM, Trivedi MA, Bendlin BB, Ries ML, Johnson SC. The Relationship Between Gray Matter Morphometry and Neuropsychological Performance in a Large Sample of Cognitively Healthy Adults. *Brain Imaging Behav* 2007;1:3-10.
146. Schmidt-Wilcke T, Poljansky S, Hierlmeier S, Hausner J, Ibach B. Memory performance correlates with gray matter density in the ento-/perirhinal cortex and posterior hippocampus in patients with mild cognitive impairment and healthy controls - A voxel based morphometry study. *Neuroimage* 2009;47:1914-20.
147. Xu J, Cheng Y, Chai P, et al. White-matter volume reduction and the protective effect of immunosuppressive therapy in systemic lupus erythematosus patients with normal appearance by conventional magnetic resonance imaging. *J Rheumatol* 2010;37:974-86.
148. Rabadi MH, Kundi S, Brett D, Padmanabhan R. Neurological pictures. Primary Sjogren syndrome presenting as neuromyelitis optica. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2010;81:213-4.
149. Venero JL, Vizuite ML, Ilundain AA, Machado A, Echevarria M, Cano J. Detailed localization of aquaporin-4 messenger RNA in the CNS: preferential expression in periventricular organs. *Neuroscience* 1999;94:239-50.
150. Aston-Jones G, Cohen JD. An integrative theory of locus coeruleus-norepinephrine function: adaptive gain and optimal performance. *Annu Rev Neurosci* 2005;28:403-50.
151. Benarroch EE. The locus ceruleus norepinephrine system: functional organization and potential clinical significance. *Neurology* 2009;73:1699-704.
152. Dayan P, Yu AJ. Phasic norepinephrine: a neural interrupt signal for unexpected events. *Network* 2006;17:335-50.
153. Huang H, Zhang J, Jiang H, et al. DTI tractography based parcellation of white matter: application to the mid-sagittal morphology of corpus callosum. *Neuroimage* 2005;26:195-205.
154. Ozturk A, Smith SA, Gordon-Lipkin EM, et al. MRI of the corpus callosum in multiple sclerosis: association with disability. *Mult Scler* 2010;16:166-77.
155. Chumbley J, Worsley K, Flandin G, Friston K. Topological FDR for neuroimaging. *Neuroimage* 2010;49:3057-64.
156. Boyes RG, Rueckert D, Aljabar P, et al. Cerebral atrophy measurements using Jacobian integration: comparison with the boundary shift integral. *Neuroimage* 2006;32:159-69.
157. Sharma S, Noblet V, Rousseau F, Heitz F, Rumbach L, Armspach JP. Evaluation of brain atrophy estimation algorithms using simulated ground-truth data. *Med Image Anal* 2010;14:373-89.
158. Smith SM, Zhang Y, Jenkinson M, et al. Accurate, robust, and automated longitudinal and cross-sectional brain change analysis. *Neuroimage* 2002;17:479-89.
159. Aboul-Enein F, Krssak M, Hoftberger R, Prayer D, Kristoferitsch W. Diffuse White Matter Damage Is Absent in Neuromyelitis Optica. *AJNR Am J Neuroradiol* 2009.
160. de Seze J, Blanc F, Kremer S, et al. Magnetic resonance spectroscopy evaluation in patients with neuromyelitis optica. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2010;81:409-11.
161. Horsfield MA, Barker GJ, Barkhof F, Miller DH, Thompson AJ, Filippi M. Guidelines for using quantitative magnetization transfer magnetic resonance imaging for monitoring treatment of multiple sclerosis. *J Magn Reson Imaging* 2003;17:389-97.
162. Au Duong MV, Boulanouar K, Audoin B, et al. Modulation of effective connectivity inside the working memory network in patients at the earliest stage of multiple sclerosis. *Neuroimage* 2005;24:533-8.
163. Au Duong MV, Audoin B, Boulanouar K, et al. Altered functional connectivity related to white matter changes inside the working memory network at the very early stage of MS. *J Cereb Blood Flow Metab* 2005;25:1245-53.

164. Deloire MS, Salort E, Bonnet M, et al. Cognitive impairment as marker of diffuse brain abnormalities in early relapsing remitting multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2005;76:519-26.
165. Achiron A, Doniger GM, Harel Y, Appleboim-Gavish N, Lavie M, Simon ES. Prolonged response times characterize cognitive performance in multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 2007;14:1102-8.
166. Chard DT, Griffin CM, Parker GJ, Kapoor R, Thompson AJ, Miller DH. Brain atrophy in clinically early relapsing-remitting multiple sclerosis. *Brain* 2002;125:327-37.
167. Makris N, Kennedy DN, McInerney S, et al. Segmentation of subcomponents within the superior longitudinal fascicle in humans: a quantitative, in vivo, DT-MRI study. *Cereb Cortex* 2005;15:854-69.
168. Newman SD, Just MA, Carpenter PA. The synchronization of the human cortical working memory network. *Neuroimage* 2002;15:810-22.
169. Jellison BJ, Field AS, Medow J, Lazar M, Salamat MS, Alexander AL. Diffusion tensor imaging of cerebral white matter: a pictorial review of physics, fiber tract anatomy, and tumor imaging patterns. *AJNR Am J Neuroradiol* 2004;25:356-69.
170. Hagmann P, T.G. R, Tseng WYI, Meuli R, Thiran JP, Wedeen VJ. Diffusion Spectrum Imaging Tractography in Complex Cerebral White Matter: An Investigation of the Centrum Semiovale. *Proc Intl Soc Mag Reson Med* 2004;12:623.
171. Saini H, Fernandez G, Kerr D, Levy M. Differential expression of aquaporin-4 isoforms localizes with neuromyelitis optica disease activity. *J Neuroimmunol* 2010;221:68-72.
172. Icoz S, Tuzun E, Kurtuncu M, et al. Enhanced IL-6 production in aquaporin-4 antibody positive neuromyelitis optica patients. *Int J Neurosci* 2010;120:71-5.
173. Uzawa A, Mori M, Ito M, et al. Markedly increased CSF interleukin-6 levels in neuromyelitis optica, but not in multiple sclerosis. *J Neurol* 2009.
174. Gabay C. Interleukin-6 and chronic inflammation. *Arthritis Res Ther* 2006;8 Suppl 2:S3.
175. Orellana JA, Saez PJ, Shoji KF, et al. Modulation of brain hemichannels and gap junction channels by pro-inflammatory agents and their possible role in neurodegeneration. *Antioxid Redox Signal* 2009;11:369-99.
176. Saez JC, Retamal MA, Basilio D, Bukauskas FF, Bennett MV. Connexin-based gap junction hemichannels: gating mechanisms. *Biochim Biophys Acta* 2005;1711:215-24.
177. Retamal MA, Froger N, Palacios-Prado N, et al. Cx43 hemichannels and gap junction channels in astrocytes are regulated oppositely by proinflammatory cytokines released from activated microglia. *J Neurosci* 2007;27:13781-92.
178. Rash JE, Davidson KG, Kamasawa N, et al. Ultrastructural localization of connexins (Cx36, Cx43, Cx45), glutamate receptors and aquaporin-4 in rodent olfactory mucosa, olfactory nerve and olfactory bulb. *J Neurocytol* 2005;34:307-41.
179. Blanc EM, Bruce-Keller AJ, Mattson MP. Astrocytic gap junctional communication decreases neuronal vulnerability to oxidative stress-induced disruption of Ca²⁺ homeostasis and cell death. *J Neurochem* 1998;70:958-70.
180. Alvarez-Maubecin V, Garcia-Hernandez F, Williams JT, Van Bockstaele EJ. Functional coupling between neurons and glia. *J Neurosci* 2000;20:4091-8.
181. Van Bockstaele EJ, Garcia-Hernandez F, Fox K, Alvarez VA, Williams JT. Expression of connexins during development and following manipulation of afferent input in the rat locus coeruleus. *Neurochem Int* 2004;45:421-8.
182. Bruzzone R, Hormuzdi SG, Barbe MT, Herb A, Monyer H. Pannexins, a family of gap junction proteins expressed in brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:13644-9.
183. Gerdes HH, Carvalho RN. Intercellular transfer mediated by tunneling nanotubes. *Curr Opin Cell Biol* 2008;20:470-5.
184. Rustom A, Saffrich R, Markovic I, Walther P, Gerdes HH. Nanotubular highways for intercellular organelle transport. *Science* 2004;303:1007-10.
185. Onfelt B, Nedvetzki S, Yanagi K, Davis DM. Cutting edge: Membrane nanotubes connect immune cells. *J Immunol* 2004;173:1511-3.

186. Fuxe K, Dahlstrom AB, Jonsson G, et al. The discovery of central monoamine neurons gave volume transmission to the wired brain. *Prog Neurobiol* 2010;90:82-100.
187. Sowinski S, Jolly C, Berninghausen O, et al. Membrane nanotubes physically connect T cells over long distances presenting a novel route for HIV-1 transmission. *Nat Cell Biol* 2008;10:211-9.
188. Gousset K, Zurzolo C. Tunnelling nanotubes: a highway for prion spreading? *Prion* 2009;3:94-8.
189. Gerdes HH, Bukoreshtliev NV, Barroso JF. Tunneling nanotubes: a new route for the exchange of components between animal cells. *FEBS Lett* 2007;581:2194-201.
190. Cocucci E, Racchetti G, Meldolesi J. Shedding microvesicles: artefacts no more. *Trends Cell Biol* 2009;19:43-51.
191. Schiera G, Proia P, Alberti C, Mineo M, Savettieri G, Di Liegro I. Neurons produce FGF2 and VEGF and secrete them at least in part by shedding extracellular vesicles. *J Cell Mol Med* 2007;11:1384-94.
192. Proia P, Schiera G, Mineo M, et al. Astrocytes shed extracellular vesicles that contain fibroblast growth factor-2 and vascular endothelial growth factor. *Int J Mol Med* 2008;21:63-7.
193. Agnati LF, Guidolin D, Guescini M, Genedani S, Fuxe K. Understanding wiring and volume transmission. *Brain Res Rev* 2010;64:137-59.
194. Nicchia GP, Srinivas M, Li W, Brosnan CF, Frigeri A, Spray DC. New possible roles for aquaporin-4 in astrocytes: cell cytoskeleton and functional relationship with connexin43. *FASEB J* 2005;19:1674-6.
195. Pangrsic T, Potokar M, Stenovec M, et al. Exocytotic release of ATP from cultured astrocytes. *J Biol Chem* 2007;282:28749-58.
196. Bianco F, Pravettoni E, Colombo A, et al. Astrocyte-derived ATP induces vesicle shedding and IL-1 beta release from microglia. *J Immunol* 2005;174:7268-77.