

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la  
Propriété Intellectuelle  
Bureau international



(10) Numéro de publication internationale  
**WO 2012/160316 A1**

(43) Date de la publication internationale  
29 novembre 2012 (29.11.2012)

WIPO | PCT

- (51) Classification internationale des brevets :  
*G01R 33/563* (2006.01) *A61B 5/055* (2006.01)
- (21) Numéro de la demande internationale :  
PCT/FR2012/051164
- (22) Date de dépôt international :  
23 mai 2012 (23.05.2012)
- (25) Langue de dépôt : français
- (26) Langue de publication : français
- (30) Données relatives à la priorité :  
1154469 23 mai 2011 (23.05.2011) FR
- (71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : ASSISTANCE PUBLIQUE - HÔPITAUX DE PARIS [FR/FR]; 3 avenue Victoria, F-75004 Paris (FR).
- (72) Inventeurs; et
- (75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : PUYBASSET, Louis [FR/FR]; 16 avenue du Président Kennedy, F-75016 Paris (FR). GALANAUD, Damien [FR/FR]; 12 rue Léonidas, F-75014 Paris (FR). BENALI, Habib [FR/FR]; 12bis chemin de l'Église, F-91700 Sainte-Geneviève-des-Bois (FR). PERLBARG, Vincent [FR/FR]; 86 rue Baudricourt, F-75013 Paris (FR). LEHERICY, Stéphane [FR/FR]; 32 rue Dareau, F-75014 Paris (FR).
- (74) Mandataire : ENDERLIN, Eric; Novagraaf Technologies, 122 rue Édouard Vaillant, F-92593 Levallois-Perret Cedex (FR).
- (81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), européen (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[Suite sur la page suivante]

(54) Title : METHOD FOR IDENTIFYING NEUROPROTECTIVE COMPOUNDS AND/OR NEUROREGENERATION STIMULATORS BY FRACTIONAL ANISOTROPY MEASUREMENTS BY DIFFUSION-BASED MRI SCANNING

(54) Titre : PROCÉDÉ D'IDENTIFICATION DE COMPOSÉS NEUROPROTECTEURS ET/OU STIMULATEURS DE LA REPOUSSE NEURONALE PAR MESURES DE FRACTION D'ANISOTROPIE PAR IRM DE DIFFUSION

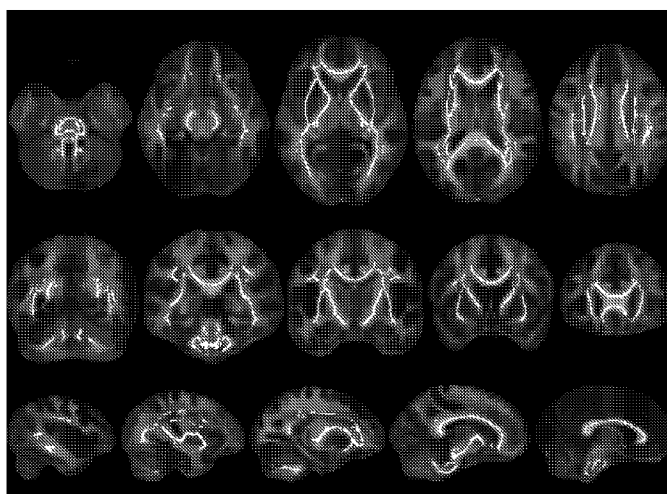


FIGURE 1

(57) Abstract : The present invention relates to a method for monitoring the effectiveness of a treatment on neuroprotection and to a method for identifying candidate molecules that are neuroprotectors and/or neuronal growth stimulators. The present invention can be used, in particular, in the field of pharmaceuticals, in the field of scientific research and in the field of clinical trials and validation of therapeutic substances.

(57) Abrégé : La présente

[Suite sur la page suivante]



WO 2012/160316 A1

**Publiée :**

— avec rapport de recherche internationale (Art. 21(3))

---

invention se rapporte à un procédé de suivi de l'efficacité d'un traitement sur la neuroprotection et à un procédé d'identification de molécules candidates neuroprotectrices et/ou stimulatrices de la pousse neuronale La présente invention trouve notamment une application dans le domaine pharmaceutique, dans le domaine de la recherche scientifique et dans le domaine des études cliniques et validation de substances thérapeutique.

**PROCEDE D'IDENTIFICATION DE COMPOSES NEUROPROTECTEURS ET/OU  
STIMULATEURS DE LA REPOUSSE NEURONALE PAR MESURES DE FRACTION  
D' ANISOTROPIE PAR IRM DE DIFFUSION**

5

**DESCRIPTION**

**Domaine technique**

La présente invention se rapporte à un procédé de suivi de l'efficacité d'un traitement sur la neuroprotection et à un procédé d'identification de  
10 composés candidats neuroprotecteurs et/ou stimulant la pousse neuronale.

La présente invention trouve notamment une application dans le domaine pharmaceutique, dans le domaine de la recherche scientifique et dans le domaine des études cliniques et validation de substances thérapeutique.

15 Dans la description ci-dessous, les références entre crochets ([ ]) renvoient à la liste des références présentée à la fin du texte.

**Etat de la technique**

A présent, il est extrêmement difficile de mettre en évidence une  
20 efficacité de médicaments, par exemple neuroprotecteurs ou neurostimulants, par exemple sur une simple évaluation clinique à 1 ou 2 ans après un traumatisme crânien, un accident vasculaire cérébral, une hémorragie méningée anévrysmale, un hématome intra-cérébral, une anoxie cérébrale d'origine circulatoire ou tout autre étiologie de lésions  
25 neurologiques aiguës.

Durant ces dernières années, et à la suite des résultats favorables obtenus chez l'animal, une quinzaine d'essais cliniques ont évalué les effets neuroprotecteurs de plusieurs molécules telles que les antagonistes glutamatergiques, les antagonistes calciques, les anti-oxydants, les  
30 canabinoïdes de synthèse, les anti-bradykinines, etc... Malheureusement, aucune de ces études n'a pu démontrer un bénéfice en termes

d'amélioration du pronostic clinique des patients traumatisés crâniens, ou des patients victimes d'un accident vasculaire cérébral, d'une hémorragie méningée anévrysmale, d'un hématome intra-cérébral, d'une anoxie cérébrale d'origine circulatoire ou toute autre étiologie de lésions neurologiques aiguës.

Plusieurs explications peuvent être données pour expliquer ces difficultés :

1. Les médicaments évalués n'ont effectivement aucune efficacité ce qui pourrait, par exemple, être le cas des canabinoïdes de synthèse.
2. Il y avait une efficacité, mais uniquement dans un sous-groupe. En effet, le traumatisme crânien est un syndrome et non une maladie et les mécanismes physiopathologiques mis en jeu dans les contusions sont probablement très différents de ceux observés lors des lésions axonales diffuses.

Il existe donc un réel besoin de trouver un procédé et/ou une méthode objective permettant d'évaluer efficacement l'effet d'une molécule sur, par exemple, les traumatismes crâniens, par exemple en fonction du mécanisme lésionnel en cause.

3. Il y avait une efficacité, mais faible, non détectable sur une catégorisation clinique du pronostic neurologique réalisée avec une échelle telle que celle de la GOSE, trop dépendante d'autres facteurs de type environnementaux.

Ces effets auraient été visibles si l'étude avait inclus plus de sujets (manque de puissance).

Il existe donc un réel besoin de trouver un procédé et/ou une méthode permettant d'évaluer avec un nombre limité de sujets les effets de molécules pour la neuroprotection et/ou la neurostimulation.

4. Il y avait une efficacité, mais faible, très inférieure en valeur absolue aux effets des facteurs confondants. C'est par exemple le cas des statines dans l'hémorragie méningée anévrysmale, elles sont efficaces sur un biomarqueur, la S100, mais leur effet est « noyé » par l'influence des

complications du geste endovasculaire ou opératoire et du grade clinique. Au total, les effets délétères sur la S100, des complications et du grade clinique pèsent beaucoup plus lourd que l'effet positif des statines qui devient invisible cliniquement.

5

Il existe donc un réel besoin de trouver un procédé et/ou une méthode palliant ces défauts, inconvénients et obstacles de l'art antérieur, en particulier un procédé permettant notamment de maîtriser le nombre de sujets, d'obtenir des résultats reproductibles et normalisés, de réduire les  
10 coûts et d'améliorer l'évaluation de molécules susceptibles d'avoir un effet neuroprotecteur et/ou stimulant la pousse neuronale.

### **Description de l'invention**

La présente invention permet précisément de résoudre et de  
15 surmonter les obstacles et inconvénients de l'art antérieur précités en fournissant un procédé de suivi de l'efficacité d'un traitement sur la neuroprotection comprenant :

- a) Mesure de la Fraction d'Anisotropie  $FA_1$  sur une image obtenue par Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) du  
20 cerveau d'un patient avant ledit traitement,
- b) Mesure de la Fraction d'Anisotropie  $FA_2$  sur une imagerie IRM du cerveau dudit patient après ledit traitement,
- c) Comparaison des valeurs de Fraction d'anisotropie et calcul d'un score (S) la formule suivante :

25

$$S = FA_2 / FA_1,$$

une valeur de S supérieur ou égale à 1 indiquant que le traitement est un traitement neuroprotecteur et/ou stimulateur de la pousse neuronal

En particulier, la présente invention a pour objet un procédé de suivi  
30 de l'efficacité d'un traitement sur la neuroprotection comprenant :

- 5
- a) Mesure de la Fraction d'Anisotropie  $FA_1$  dans au moins une région d'intérêt du cerveau sur une image obtenue par Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) du cerveau d'un patient avant ledit traitement,
- b) Mesure de la Fraction d'Anisotropie  $FA_2$  ladite au moins une région d'intérêt du cerveau sur une imagerie IRM du cerveau dudit patient après ledit traitement,
- 10 c) Comparaison des valeurs de Fraction d'anisotropie et calcul d'un score (S) pour chaque région d'intérêt en utilisant la formule suivante :

$$S = FA_2 / FA_1,$$

une valeur de S supérieure ou égale à 1,08 indiquant que le traitement est un traitement neuroprotecteur et/ou stimulateur de la pousse neuronale.

15 Dans la présente par valeur de S supérieure à 1,08 on entend une valeur de S supérieure à 1 plus 2 écart-types de la fluctuation observée durant la même période de temps dans la même région d'intérêt chez les sujets témoins dans au moins une des régions d'intérêt définies. En effet, en moyenne, la fluctuation de la FA observée spontanément chez les volontaires sains est de  $0 \pm 4\%$  après un délai moyen de 2 ans. Cette

20 fluctuation de 4% représente 1 écart-type (mesure représentant la moyenne mesurée sur l'ensemble des régions d'intérêt chez 12 sujets volontaires sains en deux ans). Selon l'invention, un médicament est efficace si la fluctuation est supérieure de 2 écart-types de la fluctuation spontanée soit 8%. Selon l'invention, une valeur de S supérieure ou égale

25 à 1,08 dans au moins une des régions d'intérêt étudiée indique que le traitement est un traitement neuroprotecteur et/ou stimulateur de la pousse neuronale.

30 Dans la présente par « IRM » on entend une méthode d'imagerie médicale basée sur le phénomène de la résonance magnétique, qui permet d'obtenir des images tomographiques de tissus, par exemple de tissus mous.

Dans la présente par « image IRM » on entend toute image obtenue à partir d'un dispositif IRM, par exemple un appareil IRM 1,5 Teslas, 3,0 Teslas ou 7,0 Teslas, par exemple de la société Philips, de la société Général Electric (GE), ou de la société Siemens.

5 Selon l'invention l'image IRM peut être toute image obtenue par un dispositif IRM, par exemple une image non pondérée, de préférence une image pondérée en diffusion.

Dans la présente par « IRM de diffusion » on entend une séquence sensible aux caractéristiques locales de la diffusion des molécules d'eau dans les tissus comme décrit dans Basser et al. 1994 [1]. Dans le cerveau, l'organisation des axones en faisceaux de fibres induit une diffusion anisotrope des molécules d'eau, plus importante dans la direction des fibres que dans le plan transversal. L'IRM du tenseur de diffusion (DTI) permet de quantifier cette anisotropie localement en mesurant la diffusion locale dans les trois directions principales ( $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$  et  $\lambda_3$ ) du modèle du tenseur à partir de mesures de diffusion répétées dans différentes directions de l'espace comme décrit dans Basser and Pierpaoli 1996 [2]. Ces mesures permettent d'évaluer la diffusibilité axiale ou AD (pour « axial diffusivity ») ( $AD = \lambda_1$ ), la diffusibilité radiale ou RD (pour « radial diffusivity ») ( $RD = (\lambda_2 + \lambda_3)/2$ ), la diffusibilité moyenne ou MD (pour « mean diffusivity ») ( $MD = (\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3)/3$ ) et la fraction d'anisotropie ou FA (pour « fractionnal anisotropy ») ( $FA = \sqrt{1/2} * \sqrt{(\lambda_1 - \lambda_2)^2 + (\lambda_1 - \lambda_3)^2 + (\lambda_2 - \lambda_3)^2} / \sqrt{\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2}$ ). Dans le contexte du traumatisme crânien, une baisse de FA locale est interprétée comme une perte d'intégrité des fibres de matière blanche due à la présence de lésions. La baisse de FA est associée à une augmentation de RD liée à une perte locale de myéline et à une baisse de AD lié à des lésions axonales

Dans la présente par « mesure de la Fraction d'Anisotropie » on entend, par exemple la mesure décrite dans Basser and Pierpaoli 1996

[22] calculée à partir des trois premières valeurs propres du modèle du tenseur ( $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$  et  $\lambda_3$ ) telle que :

$$FA = \text{sqrt}(1/2) * \text{sqrt}((\lambda_1 - \lambda_2)^2 + (\lambda_1 - \lambda_3)^2 + (\lambda_2 - \lambda_3)^2) / \text{sqrt}(\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2)$$

Dans la présente, par « patient », il est entendu tout individu susceptible d'avoir, par exemple une cérébrolésion, par exemple une  
5 cérébrolésion aiguë, il peut s'agir par exemple d'un mammifère, de manière préférée un humain.

Dans la présente le patient peut être un patient ayant subi, par exemple une cérébrolésion et/ou traumatisme crânien et/ou une  
10 hémorragie méningée, par exemple une hémorragie méningée anévrysmale et/ou un accident ischémique et/ou un accident hémorragique, par exemple un accident hémorragique intraparenchymateux et/ou anoxie cérébrale, par exemple dans les suites d'un arrêt cardiaque ou circulatoire.

15 Il peut s'agir également d'un patient atteint d'une maladie chronique de la substance blanche, par exemple un patient atteint de la sclérose en plaque.

Dans la présente par « traitement » on entend par exemple un traitement médical, par exemple allopathique, faisant intervenir la prise de  
20 molécules, par exemple des molécules chimiques, par exemple des molécules obtenues par synthèse organique, des molécules d'origines biologiques, par exemples des protéines, des molécules provenant d'organismes vivants, par exemple de mammifères, de microorganismes, de plantes et/ou synthétisées par des organismes vivant, par exemple des  
25 protéines, des molécules d'acides nucléique, ou tout autre traitement non chimique, par exemple la rééducation, ou tout autre traitement basée sur la thérapie cellulaire, par exemple l'injection de cellules souches, l'injection de cellules neuronales différenciées.

Dans la présente, les mesures de la Fraction d'Anisotropie aux  
30 étapes a) et b) peuvent être effectuées dans des régions identiques ou différentes du cerveau, de préférence dans des régions identiques.

Dans la présente, les mesures de Fraction d'anisotropie des étapes a) et b) peuvent être effectuées dans au moins une des régions du cerveau, également nommé région d'intérêt, choisie parmi le pédoncule cérébelleux moyen (ICBM #1), le tronc cérébral antérieur (ICBM #2,7,8), le tronc cérébral postérieur (ICBM #9,10,11,12,13,14) , le genou du corps calleux (ICBM #3), le tronc du corps calleux (ICBM #4), le splénium du corps calleux (ICBM #5), le pédoncule cérébral droit (ICBM #15), le pédoncule cérébral gauche (ICBM #16), le stratum sagittal droit (ICBM #21,29,31,47), le stratum sagittal gauche (ICBM #22,30,32,48), le Faisceau longitudinal supérieur droit (ICBM #41), le faisceau longitudinal supérieur gauche (ICBM #42), le bras antérieur de la capsule interne droit (ICBM #17) le bras antérieur de la capsule interne gauche (ICBM #18), le bras postérieur de la capsule interne droit (ICBM #19), la Bras postérieur de la capsule interne gauche (ICBM #20), le capsule externe droite (ICBM #33), le capsule externe gauche (ICBM #34), la couronne radiée droite (ICBM #23,25,27), la couronne radiée gauche (ICBM #24,26,28).

Dans la présente, « ICBM #n » fait référence à la nième région de l'atlas de 48 régions de matière blanche construit à partir de données de diffusion de 81 sujets sains (l'atlas 'ICBM-DTI-81' (Mori et al. 2005 [9]) disponible dans le logiciel FSL (Smith et al. 2004 [7]).

Dans la présente, les mesures de Fraction d'anisotropie peuvent être effectuée, par exemple dans au moins une des régions du squelette des faisceaux de matière blanche définie à partir de l'approche TBSS (pour « Tract-Based Spatial Statistics ») tel que décrit dans Smith et al. 2006 [88]. Il peut s'agir par exemple d'au moins une région, également nommé région d'intérêt, du cerveau choisie parmi le pédoncule cérébelleux moyen (ICBM #1), le tronc cérébral antérieur (ICBM #2,7,8), le tronc cérébral postérieur (ICBM #9,10,11,12,13,14) , le genou du corps calleux (ICBM #3), le tronc du corps calleux (ICBM #4), le splénium du corps calleux (ICBM #5), le pédoncule cérébral droit (ICBM #15), le pédoncule cérébral gauche (ICBM #16), le stratum sagittal droit (ICBM #21,29,31,47), le

stratum sagittal gauche (ICBM #22,30,32,48), le Faisceau longitudinal supérieur droit (ICBM #41), le faisceau longitudinal supérieur gauche (ICBM #42), le bras antérieur de la capsule interne droit (ICBM #17), le bras antérieur de la capsule interne gauche (ICBM #18), le bras postérieur de la capsule interne droit (ICBM #19), la Bras postérieur de la capsule interne gauche (ICBM #20), le capsule externe droite (ICBM #33), le capsule externe gauche (ICBM #34), la couronne radiée droite (ICBM #23,25,27), la couronne radiée gauche (ICBM #24,26,28).

De préférence selon l'invention les mesures sont effectuées dans au moins 2, ou 3, ou 4 ou 5 ou 6 ou 7 ou 8 ou 9 ou 10 ou 11 ou 12 ou 13 ou 14 ou 15 ou 16 ou 17 ou 18 ou 19 ou 20 des régions du cerveau, également nommé région d'intérêt, choisies parmi le pédoncule cérébelleux moyen (ICBM #1), le tronc cérébral antérieur (ICBM #2,7,8), le tronc cérébral postérieur (ICBM #9,10,11,12,13,14) , le genou du corps calleux (ICBM #3), le tronc du corps calleux (ICBM #4), le splénium du corps calleux (ICBM #5), le pédoncule cérébral droit (ICBM #15), le pédoncule cérébral gauche (ICBM #16), le stratum sagittal droit (ICBM #21,29,31,47), le stratum sagittal gauche (ICBM #22,30,32,48), le Faisceau longitudinal supérieur droit (ICBM #41), le faisceau longitudinal supérieur gauche (ICBM #42), le bras antérieur de la capsule interne droit (ICBM #17) le bras antérieur de la capsule interne gauche (ICBM #18), le bras postérieur de la capsule interne droit (ICBM #19), la Bras postérieur de la capsule interne gauche (ICBM #20), le capsule externe droite (ICBM #33), le capsule externe gauche (ICBM #34), la couronne radiée droite (ICBM #23,25,27), la couronne radiée gauche (ICBM #24,26,28).

De préférence, les mesures sont effectuées dans plusieurs ou l'ensemble des régions du cerveau, également nommé région d'intérêt, suivantes le pédoncule cérébelleux moyen (ICBM #1), le tronc cérébral antérieur (ICBM #2,7,8), le tronc cérébral postérieur (ICBM #9,10,11,12,13,14) , le genou du corps calleux (ICBM #3), le tronc du corps calleux (ICBM #4), le splénium du corps calleux (ICBM #5), le

pédoncule cérébral droit (ICBM #15), le pédoncule cérébral gauche (ICBM #16), le stratum sagittal droit (ICBM #21,29,31,47), le stratum sagittal gauche (ICBM #22,30,32,48), le Faisceau longitudinal supérieur droit (ICBM #41), le faisceau longitudinal supérieur gauche (ICBM #42), le bras  
5 antérieur de la capsule interne droit (ICBM #17) le bras antérieur de la capsule interne gauche (ICBM #18), le bras postérieur de la capsule interne droit (ICBM #19), la Bras postérieur de la capsule interne gauche (ICBM #20), le capsule externe droite (ICBM #33), le capsule externe gauche (ICBM #34), la couronne radiée droite (ICBM #23,25,27), la  
10 couronne radiée gauche (ICBM #24,26,28).

Selon l'invention, la valeur de la Fraction d'Anisotropie  $FA_1$  et/ou  $FA_2$  peut être égale à la moyenne des FA mesurées ou à la mesure de la FA mesurée dans chaque région.

En d'autres termes, la valeur de la Fraction d'Anisotropie  $FA_1$  et/ou  
15  $FA_2$  peut être égale à la moyenne de la Fractions d'Anisotropies mesurée indépendamment dans chaque région d'intérêt.

Ainsi, si la mesure de la Fraction d'Anisotropie est effectuée dans une région, la valeur de FA sera égale à la moyenne des valeurs mesurées, par exemple pour chaque voxel de l'image obtenue par IRM de la région.

20 Si la valeur de la Fraction d'Anisotropie est mesurée dans plusieurs régions d'intérêts, chaque région aura une valeur de FA propre correspondant à la moyenne des valeurs mesurées pour chaque voxel de l'image obtenu par IRM de chaque région.

Dans ce mode de réalisation, la mesure de S pourra être calculée  
25 indépendamment pour chaque région d'intérêt.

Dans la présente, la mesure de la Fraction d'Anisotropie à l'étape a) peut être réalisée sur une image IRM prise dans une période de 1 à 180 jours, par exemple suivant une cérébrolésion, de 48 heures à 31 jours, dans un délai inférieur à 31 jours.

30 Dans la présente la mesure de la Fraction d'Anisotropie à l'étape b) peut être réalisée sur une image IRM prise dans une période d'environ 1 à

plusieurs mois, par exemple de 1 à 12 mois, par exemple de 1 à 9 mois, par exemple 6 mois, de 1 à 6 mois, par exemple 3 mois, de 1 à 3 mois, d'environ un an à plusieurs années, par exemple de 1 à 5 ans, de 1 à 3 ans, de 1 à 2 ans suivant la mesure de Fraction d'Anisotropie à l'étape a).

5 La mesure de la Fraction d'Anisotropie à l'étape a) est la première mesure de Fraction d'Anisotropie.

Le procédé de l'invention peut comprendre en outre une étape d) de mesure de la diffusibilité axiale, de diffusibilité radiaire, de diffusibilité moyenne, de coefficient apparent de diffusion

10 Dans la présente par « diffusibilité axiale » on entend la première valeur propre  $\lambda_1$  du modèle du tenseur calculée à partir d'images d'IRM pondérée en diffusion et correspondante à la direction principale de diffusion.

15 Dans la présente par « diffusibilité radiaire » on entend la moyenne de la deuxième et de la troisième valeur propre  $(\lambda_2 + \lambda_3)/2$  du modèle du tenseur calculée à partir d'images d'IRM pondérée en diffusion et correspondante à la direction principale de diffusion.

20 Dans la présente par « diffusibilité moyenne » on entend la moyenne des trois valeurs propres  $(\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3)/3$  du modèle du tenseur calculée à partir d'images d'IRM pondérée en diffusion et correspondante à la direction principale de diffusion.

25 Dans la présente par « coefficient apparent de diffusion » on entend la mesure de la mobilité des molécules d'eau localement par comparaison des images IRM sans pondération en diffusion ( $b=0$ ) et celles pondérées en diffusion ( $b>0$ ).

Le procédé de la présente invention trouve avantageusement une application dans le domaine médical où il pourra être utilisé, par exemple lors d'essais cliniques afin de déterminer et/ou de valider l'efficacité d'un traitement sur la neuroprotection.

30 En outre le procédé de l'invention permet avantageusement l'obtention d'un résultat fiable, reproductible et qui peut être comparé.

La présente invention a également pour objet un procédé d'identification d'une molécule candidate neuroprotectrice et/ou stimulante la pousse neuronale comprenant :

- 5 a) Mesure de la Fraction d'Anisotropie  $FA_1$  sur une image obtenue par Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) du cerveau d'un patient avant traitement avec ledit composé,
- b) Mesure de la Fraction d'Anisotropie  $FA_2$  sur une imagerie IRM du cerveau dudit patient après ledit traitement,
- 10 c) Comparaison des valeurs de Fraction d'anisotropie et calcul d'un score (S) la formule suivante :
- $$S = FA_2 - FA_1,$$

une valeur de S supérieure ou égale à 1 indiquant que la molécule est un neuroprotectrice et/ou stimule de la pousse neuronale.

15 En particulier, la présente invention a également pour objet un procédé d'identification d'une molécule candidate neuroprotectrice et/ou stimulante la pousse neuronale comprenant :

- a) Mesure de la Fraction d'Anisotropie  $FA_1$  dans des régions d'intérêt du cerveau sur une image obtenue par Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) du cerveau d'un patient avant ledit traitement,
- 20 b) Mesure de la Fraction d'Anisotropie  $FA_2$  dans les mêmes régions d'intérêt du cerveau sur une imagerie IRM du cerveau dudit patient après ledit traitement,
- 25 c) Comparaison des valeurs de Fraction d'anisotropie et calcul d'un score (S) pour chaque région d'intérêt en utilisant la formule suivante :
- $$S = FA_2 / FA_1,$$

30 une valeur de S supérieure à 1,08 indiquant que la molécule est un neuroprotectrice et/ou stimule de la pousse neuronale.

Dans la présente par neuroprotecteur on entend la conservation de la structure neurale et/ou la diminution de la neurodégénération, par exemple une diminution et/ou un arrêt total de la neurodégénération. Dans la présente, la diminution et/ou l'arrêt total de la neurodégénération peut être évaluée, par exemple par analyse des modifications des diffusibilités radiales et axiales.

Dans la présente, par stimulateur de la pousse neurale, on entend par exemple une augmentation de la croissance neurale, il peut s'agir par exemple d'une augmentation, par exemple de la valeur de la mesure de la fraction d'anisotropie d'au moins 8 % chez un patient après traitement.

En particulier, il peut s'agir d'une augmentation d'au moins 2 écart-types de la valeur de la mesure de la fraction d'anisotropie, c'est à dire au moins deux fois la fluctuation de mesure observée durant la même période de temps dans la même région d'intérêt chez les sujets contrôles.

Dans la présente par « molécule candidate » on entend toute molécule que l'on souhaite tester. Il peut s'agir par exemple de molécules chimique et/ou biologique. Il peut s'agir, par exemple de molécules thérapeutiques utilisable pour le traitement de pathologies, de médicament par exemple toute substance ou composé connu de l'homme du métier possédant des propriétés curatives et/ou préventives à l'égard de pathologies, lésions, traumatisme, maladies humaines ou animales. Il peut s'agir par exemple de produit pharmaceutique à usage humain et/ou vétérinaire.

La présente invention a également pour objet la molécule candidate comme neuroprotecteur et/ou stimulant la pousse neuronale identifiée par le procédé de l'invention.

La présente invention a également pour objet le composé candidat identifié pour son utilisation comme médicament neuroprotecteur et/ou stimulant la pousse neuronale.

La présente invention permet donc avantageusement d'évaluer l'efficacité de molécules en tant que neuroprotecteur en fournissant un

résultat fiable, reproductible et comparable. En outre le procédé de l'invention peut permettre avantageusement de valider l'efficacité de composés suite à un essai clinique.

La présente invention permet également d'identifier de nouvelles molécules candidates susceptibles d'avoir une action neuroprotectrice et/ou neurostimulatrice, pouvant, par exemple d'être utilisées dans des pathologies neurale, par exemple la maladie d'Alzheimer et ou d'être utilisé suite à une cérébrolésion afin, par exemple de conserver l'intégrité du cortex neural ou de diminuer la dégénérescence neurale, en particulier de la substance blanche.

En outre, la présente invention permet de comparer l'efficacité de molécule les unes par rapport aux autres, par exemple par rapport à des molécules déjà connues pour les applications précitées.

D'autres avantages pourront encore apparaître à l'homme du métier à la lecture des exemples ci-dessous, illustrés par les figures annexées, donnés à titre illustratif.

### **Brève description des figures**

- La figure 1 est une image représentant le squelette des principaux faisceaux de FA superposé à l'image moyenne de FA sur 58 volontaires sains FMRIB58\_FA.

- La figure 2 est une image représentant le masque des 20 régions d'intérêt pour l'extraction de la FA.

- La figure 3 est un diagramme représentant les valeurs moyennes des FA régionales normalisées pour les deux groupes de patients, carrés plein : bons pronostics, losange pleins : mauvais pronostic. Pour chaque région la valeur normale est à 1. Les régions sont ordonnées par valeurs croissantes du groupe bon pronostic. L'abscisse indique les différentes régions du cerveau, l'ordonné les valeurs moyennes de FA.

- La figure 4 est un diagramme représentant la différence de FA mesurées et l'abscisse les régions du cerveau dans lesquelles ont été mesurées ces valeurs.

5

## EXEMPLES

### Exemple 1 : Détermination des régions pour la mesure de la Fraction d'Anisotropie (FA), Méthode pour l'extraction des biomarqueurs d'IRM

10

#### *a) Acquisitions d'IRM du tenseur de diffusion*

Une acquisition DTI comporte une acquisition pondérée en T2 (correspondant à un facteur  $b=0$ ) et des acquisitions avec des gradients de pondération en diffusion ( $b \sim 1000$  s/mm<sup>2</sup>). Pour appliquer le modèle du tenseur, l'acquisition avec des gradients dans au moins 6 directions différentes de l'espace a été nécessaire.

15

#### *b) Prétraitements des images*

Une série de prétraitement des données DTI brutes est effectuée à l'aide du logiciel FSL (<http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/>, Smith et al. 2004 [7]:

20

- correction des distorsions induites par les courants de Foucault (avec la fonction « eddycorrect »). Cette correction a consisté à recalculer (recalage rigide) les volumes pondérés en diffusion sur le volume pondéré en T2 comme décrit dans Jenkinson et al. 2002 [44].

25

- extraction du masque du cerveau en retirant du volume tous les tissus hors cerveau (avec la fonction bet) comme décrit dans Smith 2002 [66].

30

- Calcul des 3 valeurs propres ( $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$  et  $\lambda_3$ ) du modèle du tenseur pour chaque voxel comme décrit dans Basser et al. 1996 [2] permettant le calcul de la carte paramétrique d'anisotropie fractionnelle (FA) (avec la fonction dtifit).

En particulier, l'obtention des mesures de diffusion régionales a été réalisée comme suite. Les calculs ont été effectués sur une station de travail équipée d'un système d'exploitation Linux (Ubuntu 10.04 LTS).

5 L'acquisition IRM cérébrale a été réalisée par imagerie du tenseur de diffusion comprenant un volume pondérée en T2 (correspondant à un facteur  $b=0$ ) et une série de volumes (au moins 6) pondérés en diffusion (correspondant à un facteur  $b>0$ , typiquement  $b$  varie entre 500 et 1500  $s/mm^2$ ). La série d'images pondérée en diffusion a été sauvegardé au  
10 format image digital et communication en médecine (« Digital Imaging and Communications in Medicine ») DICOM (<http://medical.nema.org/>) et exportée sur une station de travail indépendante.

Les images (« Digital Imaging and Communications in Medicine ») DICOM obtenues ont été en volume 4D au format NIFTI-1 (Cox et al. 2004  
15 [12]) ([nifti.nimh.nih.gov/nifti-1](http://nifti.nimh.nih.gov/nifti-1)) à l'aide du logiciel dcm2nii (Rorden & Brett, 2000[13])

<http://www.mccauslandcenter.sc.edu/mricro/mricron/dcm2nii.html>

ou du logiciel MRIconvert comme suit :

Les fichiers DICOM à convertir étaient dans le dossier  
20 ~/DTI\_DICOM et un terminal a été ouvert, la commande suivante a été lancée :

```
dcm2nii ~/DTI_DICOM
```

ont été alors écrit dans ce même dossier, le fichier du volume 4D de diffusion nommé dti4D.nii, le fichier nommé dti4D.bval décrivant la valeur  
25 du facteur  $b$  pour chaque direction de gradient et le fichier nommé dti4D.bvec décrivant les coordonnées des différentes directions de gradient. Ces trois fichiers ont été déplacés dans un dossier dont le chemin d'accès est ~/DTI\_NII

Le calcul des cartes paramétriques d'anisotropie fractionnelle (FA),  
30 de diffusivité radiaire (RD), de diffusivité axiale (AD) et de diffusivité moyenne (MD)) a été réalisé comme suit :

Ce calcul a été effectué par un enchaînement de procédures implémentées dans le logiciel FSL (version 4.1) (Smith et al. 2004[14]) disponible gratuitement (<http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/>)

- correction des distorsions induites par les courants de Foucault

5 Cette correction consiste à recalcr (recalage rigide) les volumes pondérés en diffusion sur le volume pondéré en T2 comme décrit dans Jenkinson et al. 2002 [44], la commande suivante a été lancée :

```
eddy_correct ~/DTI_NII/dti4D.nii ~/DTI_NII/corr_dti4D 0
```

le volume 4D corrigé est ~/DTI\_NII/corr\_dti4D.nii.

10

- extraction du masque du cerveau

Cette étape consiste à retirer du volume tous les tissus hors cerveau comme décrit dans Smith 2002 [66]. la commande suivante a été lancée :

```
bet2 ~/DTI_NII/corr_dti4D.nii ~/DTI_NII/brain_corr_dti4D -f 0.2 -m
```

15 Le fichier correspondant au volume 4D masqué est ~/DTI\_NII/brain\_corr\_dti4D.nii.

Le fichier correspondant au masque du cerveau binaire est ~/DTI\_NII/brain\_corr\_dti4D\_mask.nii.

20

- Calcul des volumes de FA, MD, AD et RD

Il s'agit de calculer les 3 valeurs propres ( $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$  et  $\lambda_3$ ) du modèle du tenseur pour chaque voxel comme décrit dans Basser et al. 1996 [2] et de les combiner pour calculer les 4 paramètres d'intérêts, la diffusibilité axiale ou AD (pour « axial diffusivity ») ( $AD = \lambda_1$ ), la diffusibilité radiale ou RD (pour « radial diffusivity ») ( $RD = (\lambda_2 + \lambda_3)/2$ ), la diffusibilité moyenne ou MD (pour « mean diffusivity ») ( $MD = (\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3)/3$ ) et la fraction d'anisotropie ou FA (pour « fractionnal anisotropy ») ( $FA = \sqrt{1/2} * \sqrt{(\lambda_1 - \lambda_2)^2 + (\lambda_1 - \lambda_3)^2 + (\lambda_2 - \lambda_3)^2} / \sqrt{\lambda_1^2 + \lambda_2^2 + \lambda_3^2}$ ). Pour ce faire la commande suivante a été lancée :

25

30 dtifit -data=~/DTI\_NII/brain\_corr\_dti4D.nii --

```
out=~ /DTI_NII/dti_corr_dti4D --mask=~ /DTI_NII/brain_corr_dti4D_mask  
--bvecs=~ /DTI_NII/ dti4D.bvec --bvals=~ /DTI_NII/ dti4D.bval
```

Le fichier correspondant au volume de FA est  
5 ~ /DTI\_NII/dti\_corr\_dti4D\_FA.nii, Le fichier correspondant au volume de  
MD est ~ /DTI\_NII/dti\_corr\_dti4D\_MD.nii, le fichier correspondant volume  
de AD est ~ /DTI\_NII/dti\_corr\_dti4D\_L1.nii et le fichier correspondant le  
volume de RD est ~ /DTI\_NII/dti\_corr\_dti4D\_Lt.nii.

A la fin de cette étape de prétraitement, chaque patient a été  
10 caractérisé par une image représentant une carte de FA.

### *c) Extraction des paramètres régionaux*

De manière à comparer les cartes entre elles, les cartes de FA ont  
été projetées dans un espace standard. Pour cela, les cartes de FA  
15 individuelles ont été tout d'abord recalées par un recalage non-linéaire  
FNIRT (« FMRIB's Non-linear Image Registration Tool ») [Andersson et al.  
2007a, 2007b] dans un espace de référence caractérisé par une image de  
référence calculée sur 58 sujets sains (FMRIB58\_FA). Pour ne tenir  
compte que des valeurs maximales de FA le long des faisceaux, ces  
20 valeurs locales maximales ont été projetées sur le squelette des principaux  
faisceaux de FA (voir figure 1) suivant la méthode TBSS décrite dans  
Smith et al. 2006 [8].

La figure 1 est une image représentant le squelette des principaux  
faisceaux de FA superposé à l'image moyenne de FA sur 58 volontaires  
25 sains. Comme représenté sur cette figure, on remarque clairement que ce  
squelette représente les centres communs au groupe des principaux  
faisceaux de matière blanche dans le cerveau.

En particulier, les volumes paramétriques ont été normalisés  
30 spatialement comme suit :

Le volume de FA a été projeté dans un espace standard pour

permettre l'extraction des paramètres régionaux suivant la référence spatiale de l'atlas utilisé pour définir les régions d'intérêt. Pour cela, une méthode en quatre étape « tract-based spatial statistics » (TBSS) décrite dans Smith et al. 2006 [88] a été utilisée. Un dossier informatique « tbss » localisé ~/DTI\_NII/tbss dans lequel a été copié le fichier correspondant au volume de FA dti\_corr\_dti4D\_FA.nii a été créé. Avant de lancer les procédures, il a fallu se placer dans le dossier :cd ~/DTI\_NII/tbss

#### TBSS-1 : Prétraitements

Cette étape érode légèrement les images et supprime la première et dernière coupe du volume. Pour cela la commande suivante a été lancée :  
tbss\_1\_preproc \*

#### TBSS-2: Recalage non-linéaire - calcul de la transformation

Le volume de FA a été recalé par un recalage non-linéaire FNIRT (« FMRIB's Non-linear Image Registration Tool ») tel que décrit dans Andersson et al. 2007a [10], 2007b [11] dans un espace de référence caractérisé par une image de référence calculée sur 58 sujets sains (FMRIB58\_FA). Pour cela la commande suivante a été lancée :  
tbss\_2\_reg -T

#### TBSS-3: Recalage non-linéaire- Application de la transformation

La transformation précédemment calculée a été appliquée au volume de FA. Le volume est projeté dans l'espace du MNI152 1x1x1mm. Pour cela la commande suivante a été lancée :

```
tbss_3_postreg -T
```

Le fichier correspondant au volume résultant était  
~/DTI\_NII/tbss/stats/all\_FA.nii.

#### TBSS-4: Projection des valeurs sur le squelette de FA

Pour ne tenir compte que des valeurs maximales de FA le long des faisceaux, ces valeurs locales maximales ont été projetées sur le squelette des principaux faisceaux de FA. Pour cela, une carte des distances au squelette de FA de référence a été calculée avant d'effectuer la projection des valeurs tel que décrit dans Smith et al. 2006 [8]). Pour cela la

commande suivante a été lancée : tbss\_4\_prestats 0.2

Le fichier correspondant au volume des valeurs de FA sur le squelette était ~/DTI\_NII/tbss/stats/all\_FA\_skeletonised.nii.

Application de la transformation aux volumes AD, RD et MD

5 Le recalage non-linéaire et la projection sur le squelette de FA ont été appliqués de la même manière aux volumes de AD, RD et MD. Par exemple, pour MD, un dossier dont le chemin d'accès est ~/DTI\_NII/tbss/MD a été crée dans lequel le fichier correspondant au volume de MD dti\_corr\_dti4D\_MD.nii a été copié et renommé en  
10 dti\_corr\_dti4D\_FA.nii. A partir du dossier dont le chemin d'accès est ~/DTI\_NII/tbss, la commande suivante a été lancée : tbss\_non\_FA MD

Le fichier correspondant au volume des valeurs de MD sur le squelette est ~/DTI\_NII/tbss/stats/all\_MD\_skeletonised.nii.

Le fichier correspondant aux volumes  
15 ~/DTI\_NII/tbss/stats/all\_L1\_skeletonised.nii et  
~/DTI\_NII/tbss/stats/all\_L1\_skeletonised.nii ont été obtenus de la même manière.

Par ailleurs, 20 régions d'intérêt (ROIs) ont été définies sur la base de  
20 l'atlas de 48 régions de matière blanche construit à partir de données de diffusion de 81 sujets sains (l'atlas 'ICBM-DTI-81' disponible dans le logiciel fsl). Ces 20 ROIs ont été choisis par un collège d'experts (2 neuroradiologues et 1 neuroréanimateur) en tenant compte de leur taille (les petites ROIs d'origines ont été éliminées ou fusionnées) et de leur potentiel intérêt diagnostique. Ces 20 régions d'intérêts sont représentées sur  
25 la figure 2, elles sont indiquées par un numéro de 1 à 20 en fonction de la coloration de l'image en corrélation avec l'échelle de dégradé. Il s'agit du Pédoncule cérébelleux moyen indiqué 1 (ICBM #1), du tronc cérébral antérieur indiqué 2 (ICBM #2,7,8), du tronc cérébral postérieur indiqué 3 (ICBM #9,10,11,12,13,14), du genou du corps calleux indiqué 4 (ICBM #3),  
30 du tronc du corps calleux indiqué (ICBM #4), du splénium du corps calleux indiqué 6 (ICBM #5), du pédoncule cérébral droit indiqué 7(ICBM

#15), du pédoncule cérébral gauche indiqué 8 (ICBM #16), du stratum sagittal droit indiqué 9 (ICBM #21,29,31,47), du stratum sagittal gauche indiqué 10 (ICBM #22,30,32,48), du faisceau longitudinal supérieur droit indiqué 11 (ICBM #41), du faisceau longitudinal supérieur gauche indiqué 5 12 (ICBM #42), du bras antérieur de la capsule interne droit indiqué 13 (ICBM #17), du bras antérieur de la capsule interne gauche indiqué 14 (ICBM #18), du bras postérieur de la capsule interne droit indiqué 15 (ICBM #19), du bras postérieur de la capsule interne gauche indiqué 16 (ICBM #20), de la capsule externe droite indiqué 17 (ICBM #33), de la 10 capsule externe gauche indiqué 18 (ICBM #34), de la couronne radiée droite indiqué 19 (ICBM #23,25,27) et de la couronne radiée gauche indiqué 20 (ICBM #24,26,28) sur la figure 2.

Les 20 paramètres régionaux de FA de chaque patient sont les moyennes dans chaque ROI de la FA sur le squelette tel qu'obtenu dans le 15 fichier dont le chemin d'accès est ~/DTI\_NII/tbss/stats/all\_FA\_skeletonised.nii.

Les 20 paramètres de MD, AD et RD ont été calculés de la même manière.

Les inventeurs ont montré de manière surprenante que l'utilisation de 20 ces ROIs, c'est-à-dire la mesure de la FA dans ces régions permet, d'une part, une évaluation locale des lésions et d'autre part, une comparaison robuste entre acquisitions et/ou sujets.

Chaque patient a donc été caractérisé par plus de 20 paramètres de FA (moyenne de la FA sur le squelette dans chaque ROI) reflétant 25 l'intégrité régionale des faisceaux de matière blanche. Ces paramètres ont été extraits par masquage des cartes de FA projeté sur le squelette avec le masque des 20 ROIs. Pour que ces paramètres puissent être interprétables par rapport à un niveau normal de référence, la valeur de FA mesurée dans chaque ROI est normalisée par rapport à une valeur 30 moyenne calculée sur une population de sujets sains, à savoir 10 individus, à partir de la même machine et des mêmes protocoles

d'acquisition d'IRM. Cette normalisation permet également de comparer les mesures d'une machine d'IRM à une autre.

### ***Evaluation des biomarqueurs***

#### 5           d) *Populations et acquisitions*

41 patients dans le coma après traumatisme crânien ont été admis dans le service de neuro-réanimation de la Pitié-Salpêtrière. Ils ont été inclus dans l'étude s'ils remplissaient les critères suivants :

- 10           1) nécessité d'une respiration mécaniquement assistée pour des raisons neurologiques,
- 2) absence de réponse aux ordres simples au moment de la signature du consentement légal par le représentant autorisé, au moins sept jours après l'accident
- 3) absence de réponse aux ordres simples non liée à  
15           l'administration de sédatifs
- 4) état clinique général permettant le transport du patient
- 5) Compliance cérébrale permettant le maintien de la position allongée pour l'acquisition IRM sans développement d'une  
            hypertension intra-crânienne

20           Des acquisitions d'IRM ont été réalisées sur ces patients à la phase aiguë du traumatisme (temps 1) c'est-à-dire environ trois semaines après l'accident. La prise en charge de ces patients a suivi l'algorithme décrit dans Lescot et al. 2008 [55]. Une évaluation clinique de ces patients a été  
25           faite au moins 1 an après le traumatisme pour déterminer leur GOS (Glasgow Coma Scale) permettant de les classer en deux groupes: 21 patients de pronostic favorable (GOS 4-5) et 20 de pronostic défavorable (GOS 1-3). Une deuxième acquisition IRM à long terme (>1 ans après l'accident) a été effectuée pour 18 des 41 patients (temps 2). Enfin, une  
30           acquisition IRM a été effectuée sur la même machine chez 15 sujets contrôles pour permettre la normalisation des mesures de diffusion.

Les détails des acquisitions IRM sont les suivants. Pour l'acquisition des patients à la phase aiguë (temps 1), ceux-ci étaient sous ventilation mécanique et sédation (sufentanil (20–30 µg/h) et propofol (100–200 mg/h)):

- 5       • machine IRM: GE Signa 1.5T
- séquence pondérée en diffusion 24 directions
  - TR/TE = 8,000/84,9 ms
  - 24 directions; diffusion b value=700 s/mm
  - Épaisseur de coupe = 5 mm sans trou
  - 10       - 27 coupes
  - Champ de vue = 32 x 32 cm<sup>2</sup>
  - Matrice 256 x 256
- séquence pondéré en diffusion 11 directions
  - TR/TE = 13,000/85,9 ms
  - 15       - 24 directions; diffusion b value=900 s/mm
  - Épaisseur de coupe = 3 mm sans trou
  - 47 coupes
  - Champ de vue = 28 x 28 cm<sup>2</sup>
  - Matrice 256 x 256

20

Toutes les acquisitions n'ont pas pu être faites chez tous les patients. Le tableau 1 montre le détail sur les 18 patients revus à la phase consolidée, pour l'examen au temps 1, seule l'acquisition DTI 24 directions a été effectuée sur l'ensemble des 41 patients:

25

Tableau 1

Patient	11d tps1	11d tps2	24d tps1	24d tps2	Délai tps2-tps1 (jours)
1	X	X	X	X	612
2	X	X	X	X	376
3	-	-	X	X	1095
4	-	X	X	X	1088
5	-	X	X	X	1445
6	X	X	X	X	457
7	-	X	X	X	574
8	-	X	X	X	1116
9	X	X	X	X	746
10	X	X	X	X	815
11	X	X	X	-	887
12	X	X	X	-	817
13	-	X	X	X	1226
14	-	X	X	X	1074
15	-	-	X	X	1639
16	-	X	X	X	1342
17	X	X	X	-	614
18	X	X	X	-	1017

Dans le tableau 1, les acquisitions faites sont représentés par (X) et non faites par (-) pour les 18 patients inclus pour l'étude de suivi longitudinal Les **X** indiquent les examens où une même acquisition a été faite aux deux temps d'acquisition. Le délai en jours entre les deux acquisitions est indiqué dans la dernière colonne.

5

*e) Résultats*

- **Données DTI 24 directions des 41 patients à la phase aiguë**

Les inventeurs ont extrait sur chacun de ces patients les 20 valeurs de FA régionales que nous avons normalisées par rapport aux valeurs contrôles. Les valeurs moyennes de ces mesures sur les deux groupes (pronostic favorable et pronostic défavorable) sont représentées Figure 3. Comme représenté sur cette figure, une baisse de FA a été mesurée : de 7% pour les patients de bon pronostic et de 18% pour ceux de mauvais pronostic. La différence de baisse de FA entre les deux groupes a été évalué statistiquement par le « two-sample t-test » avec  $p < 0,05$ . Cette évaluation a montré une différence significative pour toutes les régions.

La figure 3 décrit les valeurs moyennes des FA régionales normalisées pour les deux groupes de patients (bons et mauvais pronostic). Pour chaque région la valeur normale est à 1. Les régions sont ordonnées par valeurs croissantes du groupe bon pronostic.

Les 20 mesures de FA régionales ont permis de quantifier la gravité des lésions de matière blanche; plus les lésions sont sévères au sens de la FA, moins bon est le pronostic neurologique du patient.

- **Données DTI 11 et 24 directions des 18 patients pour le suivi longitudinal.**

Les mesures de FA ont été calculées dans les 20 régions pour chaque patient et chaque examen (11 et 24 directions, temps1 et temps2). La distribution des différences temps2-temps1 en valeur absolue pour chaque patient et chaque type d'acquisition est reportée figure 4. La figure 4 représente les différentes valeurs obtenues en fonction des différentes régions à savoir : pédoncule cérébelleux moyen (MCP), tronc cérébral antérieur (antBS), tronc cérébral postérieur (postBS), genou du corps calleux (gCC), tronc du corps calleux (bCC), splénium du corps calleux (sCC), pédoncule cérébral droit (CP\_R), pédoncule cérébral gauche (CP\_L), stratum sagittal droit (SS\_R), stratum sagittal gauche (SS\_L), faisceau longitudinal supérieur droit (SLF\_R), faisceau longitudinal supérieur gauche (SLF\_L), bras antérieur de la capsule interne droit

(ALIC\_R), bras antérieur de la capsule interne gauche (ALIC\_L), bras postérieur de la capsule interne droit (PLIC\_R), bras postérieur de la capsule interne gauche (PLIC\_L), capsule externe droite (EC\_R), capsule externe gauche (EC\_L), couronne radiée droite (CR\_R) et couronne radiée gauche (CR\_L). Un test de Student apparié a montré que ces différences ne sont pas significativement différentes de 0 ( $p > 0,1$ ) quelle que soit la région (résultats non fournis).

Cet exemple démontre donc, en l'absence de tout traitement spécifique, qu'il n'y a pas de modification significative des mesures de FA régionales entre une acquisition précoce et une acquisition en phase consolidée pour des patients traumatisés crâniens sévères.

Les résultats obtenus dans cet exemple démontrent donc clairement que :

- les mesures de FA normalisées dans les 20 régions choisies sont des biomarqueurs pertinents de la gravité neurologique des lésions après traumatisme crânien sévère.
- Les mesures de FA normalisées dans les 20 régions choisies restent stables entre deux acquisitions à distance, c'est-à-dire à différent temps, l'une à la phase aiguë, l'autre à la phase consolidée.

A la lumière de ces deux conclusions, un procédé comprenant la mesure de FA permet de mesurer l'efficacité de médicaments, par exemple des neuroprotecteurs administrés dans le cadre de la pathologie cérébrale aiguë.

La moyenne des mesures de FA sur les 18 patients (temps 1 et 2 confondus) est  $m = 0,948$  et la variance est  $s = 0,006$ . Une hausse de cette mesure de FA moyenne de 5% (soit  $d = 0,05 * m = 0,047$ ) avec une erreur de type I de 5% et une puissance statistique de 80% ( $\beta = 20\%$ ) est détecté lorsque le nombre de sujet par groupe (placebo et traité) est de  $n = 15$ .

En outre, comme démontré dans cet exemple, le procédé de l'invention permet d'évaluer les effets de différents traitements, par exemple neuroprotecteur ou activateur de la repousse neuronale ou procédé non chimique. Il est utile, par exemple lors d'études clinique de phase IIb (validation de la preuve de concept « proof of concept»). Le procédé de l'invention permet donc avantageusement une réduction drastique du nombre de sujets à inclure pour affirmer ou infirmer l'efficacité d'un médicament par rapport aux études cliniques traditionnelles. Dans ce type d'approche, une étude de phase III ne sera mise en place que si une efficacité sur le biomarqueur IRM a pu être mise en évidence en phase IIb. Le procédé de l'invention permet donc de tester beaucoup plus de molécules à un coût moindre. Il permet également aussi éviter d'exposer des patients à des traitements inefficaces et de réduire le nombre de patients recevant un placebo.

15

### **Exemple 2 : Evaluation d'une molécule candidate par mesure de la FA régionale**

- 2 groupes de n patients traumatisés crânien sévère, l'un traité, l'autre placebo.
- Protocole de traitement en phase aiguë (injection, ...) ou chronique
- Protocole d'imagerie pour suivre l'évolution : une acquisition précoce puis acquisition à 3 mois, 6 mois, et/ou 1 an ou plus tardive encore.
- Comparaison de la modification dans le temps des FA régionales entre les deux groupes. Toute interaction significative signe l'efficacité du traitement, si le groupe traité a des valeurs de FA qui augmentent significativement dans le temps par rapport au groupe placebo. Les mesures de FA faites dans le groupe placebo ne varient pas dans le temps.

30

### Listes des références

1. [Basser et al. 1994] P.J. Basser, J. Mattiello, D. LeBihan, *MR diffusion tensor spectroscopy and imaging*. Biophysical Journal, 5  
66(1):259-267, 1994.
2. [Basser and Pierpaoli 1996] P. J. Basser and C. Pierpaoli, *Microstructural and Physiological Features of Tissues Elucidated by Quantitative-Diffusion-Tensor MRI*. Journal of Magnetic Resonance, 111(3):209-219, 1996.
- 10 3. [Jenkinson and Smith 2001] M. Jenkinson and S.M. Smith, *A global optimisation method for robust affine registration of brain images*. Medical Image Analysis, 5(2):143-156, 2001.
4. [Jenkinson et al. 2002] M. Jenkinson, P.R. Bannister, J.M. Brady, and S.M. Smith, *Improved optimisation for the robust and accurate linear registration and motion correction of brain images*. 15  
NeuroImage, 17(2):825-841, 2002.
5. [Lescot et al. 2008] T. Lescot, L. Abdenmour, A.-L. Boch, L. Puybasset, *Treatment of intracranialhypertension*. Curr Opin Crit Care, 14:129–134, 2008.
- 20 6. [Smith 2002] S.M. Smith, *Fast robust automated brain extraction*. Human Brain Mapping, 17(3):143-155, 2002.
7. [Smith et al. 2004] S.M. Smith, M. Jenkinson, M.W. Woolrich, C.F. Beckmann, T.E.J. Behrens, H. Johansen-Berg, P.R. Bannister, M. De Luca, I. Drobnjak, D.E. Flitney, R. Niazy, J. Saunders, 25  
J. Vickers, Y. Zhang, N. De Stefano, J.M. Brady, and P.M. Matthews, *Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL*. NeuroImage, 23(S1):208-219, 2004.

8. [Smith et al. 2006] S.M. Smith, M. Jenkinson, H. Johansen-Berg, D. Rueckert, T.E. Nichols, C.E. Mackay, K.E. Watkins, O. Ciccarelli, M.Z. Cader, P.M. Matthews, and T.E.J. Behrens, *Tract-based spatial statistics: Voxelwise analysis of multi-subject diffusion data*. NeuroImage, 31:1487-1505, 2006.
9. [Mori et al. 2005] S. Mori, S. Wakana, L.M. Nagae-Poetscher, and P.C.M. van Zijl. *MRI Atlas of Human White Matter*. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands (2005)
10. [Andersson 2007a] J.L.R. Andersson, M. Jenkinson and S. Smith. *Non-linear optimisation*. FMRIB technical report TR07JA1 from [www.fmrib.ox.ac.uk/analysis/techrep](http://www.fmrib.ox.ac.uk/analysis/techrep)
11. [Andersson 2007b] J.L.R. Andersson, M. Jenkinson and S. Smith. *Non-linear registration, aka Spatial normalisation*. FMRIB technical report TR07JA2 from [www.fmrib.ox.ac.uk/analysis/techrep](http://www.fmrib.ox.ac.uk/analysis/techrep)
12. [Cox et al. 2004] Robert W Cox, John Ashburner, Hester Breman, Kate Fissell, Christian Haselgrove, Colin J Holmes, Jack L Lancaster, David E Rex, Stephen M Smith, Jeffrey B Woodward, Stephen C Strother (2004). A (Sort of) New Image Data Format Standard: NifTI-1. NeuroImage, Vol. 22 (2004)
13. [Rorden & Brett, 2000] Rorden, C., Brett, M. (2000). Stereotaxic display of brain lesions. Behavioural Neurology, 12, 191-200.
14. [Smith et al. 2004] S.M. Smith, M. Jenkinson, M.W. Woolrich, C.F. Beckmann, T.E.J. Behrens, H. Johansen-Berg, P.R. Bannister, M. De Luca, I. Drobnjak, D.E. Flitney, R. Niazy, J. Saunders, J. Vickers, Y. Zhang, N. De Stefano, J.M. Brady, and P.M. Matthews (2004). Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. NeuroImage, 23(S1):208-219.

## REVENDEICATIONS

1. Procédé de suivi de l'efficacité d'un traitement sur la neuroprotection comprenant :

5 a) Mesure de la Fraction d'Anisotropie  $FA_1$  dans au moins une région d'intérêt du cerveau sur une image obtenue par Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) du cerveau d'un patient avant ledit traitement,

10 b) Mesure de la Fraction d'Anisotropie  $FA_2$  ladite au moins une région d'intérêt du cerveau sur une imagerie IRM du cerveau dudit patient après ledit traitement,

c) Comparaison des valeurs de Fraction d'anisotropie et calcul d'un score (S) selon la formule suivante :

$$S = FA_2 / FA_1,$$

15 une valeur de S supérieure à 1,08 indiquant que le traitement est un traitement neuroprotecteur et/ou stimulateur de la pousse neuronale.

2. Procédé selon la revendication 1 comprenant en outre une étape d) de mesure de la diffusibilité axiale, de diffusibilité radiaire, de diffusibilité  
20 moyenne, de coefficient apparent de diffusion.

3. Procédé selon la revendication 1 dans lequel les mesures de Fraction d'anisotropie des étapes a) et b) sont effectuées dans au moins  
25 une des régions d'intérêt du cerveau choisie parmi le pédoncule cérébelleux moyen (ICBM #1), le tronc cérébral antérieur (ICBM #2,7,8), le tronc cérébral postérieur (ICBM #9,10,11,12,13,14) , le genou du corps calleux (ICBM #3), le tronc du corps calleux (ICBM #4), le splénium du corps calleux (ICBM #5), le pédoncule cérébral droit (ICBM #15), le pédoncule cérébral gauche (ICBM #16), le stratum sagittal droit (ICBM  
30 #21,29,31,47), le stratum sagittal gauche (ICBM #22,30,32,48), le Faisceau longitudinal supérieur droit (ICBM #41), le faisceau longitudinal

supérieur gauche (ICBM #42), le bras antérieur de la capsule interne droit (ICBM #17) le bras antérieur de la capsule interne gauche (ICBM #18), le bras postérieur de la capsule interne droit (ICBM #19), la Bras postérieur de la capsule interne gauche (ICBM #20), le capsule externe droite (ICBM #33), le capsule externe gauche (ICBM #34), la couronne radiée droite (ICBM #23,25,27), la couronne radiée gauche (ICBM #24,26,28).

4. Procédé selon la revendication 1 ou 2 dans lequel les mesures de fraction d'anisotropie des étapes a) et b) sont effectuées dans les régions d'intérêt du cerveau choisies parmi le pédoncule cérébelleux moyen (ICBM #1), le tronc cérébral antérieur (ICBM #2,7,8), le tronc cérébral postérieur (ICBM #9,10,11,12,13,14), le genou du corps calleux (ICBM #3), le tronc du corps calleux (ICBM #4), le splénium du corps calleux (ICBM #5), le pédoncule cérébral droit (ICBM #15), le pédoncule cérébral gauche (ICBM #16), le stratum sagittal droit (ICBM #21,29,31,47), le stratum sagittal gauche (ICBM #22,30,32,48), le Faisceau longitudinal supérieur droit (ICBM #41), le faisceau longitudinal supérieur gauche (ICBM #42), le bras antérieur de la capsule interne droit (ICBM #17) le bras antérieur de la capsule interne gauche (ICBM #18), le bras postérieur de la capsule interne droit (ICBM #19), la Bras postérieur de la capsule interne gauche (ICBM #20), le capsule externe droite (ICBM #33), le capsule externe gauche (ICBM #34), la couronne radiée droite (ICBM #23,25,27), la couronne radiée gauche (ICBM #24,26,28).

5. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes dans lequel les mesure d'anisotropie fractionnelle est réalisée sur une image IRM d'un patient ayant subit une cérébrolésion dont traumatisme crânien, hémorragie méningée anévrysmale, accidents ischémiques et hémorragiques intraparenchymateux, anoxie cérébrale.

6. Procédé selon la revendication 5 dans lequel la mesure de  $FA_1$  est réalisée sur une image IRM prise dans une période de 48h à 31 jours suivant la cérébrolésion.

5 7. Procédé selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel la mesure de  $FA_2$  est réalisée sur une image IRM prise dans une période d'au moins un mois suivant la mesure de  $FA_1$ .

8. Procédé d'identification d'une molécule candidate  
10 neuroprotectrice et/ou stimulatrice la pousse neuronale comprenant :

a) Mesure de la Fraction d'Anisotropie  $FA_1$  dans au moins une région d'intérêt du cerveau sur une image obtenue par Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) du cerveau d'un patient avant ledit traitement,

15 b) Mesure de la Fraction d'Anisotropie  $FA_2$  ladite au moins une région d'intérêt du cerveau sur une imagerie IRM du cerveau dudit patient après ledit traitement,

c) Comparaison des valeurs de Fraction d'anisotropie et calcul d'un score (S) selon la formule suivante :

20 
$$S = FA_2 / FA_1,$$

une valeur de S supérieure ou égale à 1,08 indiquant que la molécule candidate est neuroprotectrice et/ou stimulatrice de la pousse neuronale.

9. Procédé selon la revendication 8 dans lequel les mesures de  
25 fraction d'anisotropie des étapes a) et b) sont effectuées dans au moins une des régions d'intérêt du cerveau choisie parmi le pédoncule cérébelleux moyen (ICBM #1), le tronc cérébral antérieur (ICBM #2,7,8), le tronc cérébral postérieur (ICBM #9,10,11,12,13,14) , le genou du corps calleux (ICBM #3), le tronc du corps calleux (ICBM #4), le splénium du  
30 corps calleux (ICBM #5), le pédoncule cérébral droit (ICBM #15), le pédoncule cérébral gauche (ICBM #16), le stratum sagittal droit (ICBM

#21,29,31,47), le stratum sagittal gauche (ICBM #22,30,32,48), le Faisceau longitudinal supérieur droit (ICBM #41), le faisceau longitudinal supérieur gauche (ICBM #42), le bras antérieur de la capsule interne droit (ICBM #17) le bras antérieur de la capsule interne gauche (ICBM #18), le  
5 bras postérieur de la capsule interne droit (ICBM #19), la Bras postérieur de la capsule interne gauche (ICBM #20), le capsule externe droite (ICBM #33), le capsule externe gauche (ICBM #34), la couronne radiée droite (ICBM #23,25,27), la couronne radiée gauche (ICBM #24,26,28).

10 10. Procédé selon la revendication 8 dans lequel les mesures de fraction d'anisotropie des étapes a) et b) sont effectuées dans les régions d'intérêt du cerveau choisies parmi le pédoncule cérébelleux moyen (ICBM #1), le tronc cérébral antérieur (ICBM #2,7,8), le tronc cérébral postérieur (ICBM #9,10,11,12,13,14) , le genou du corps calleux (ICBM #3), le tronc  
15 du corps calleux (ICBM #4), le splénium du corps calleux (ICBM #5), le pédoncule cérébral droit (ICBM #15), le pédoncule cérébral gauche (ICBM #16), le stratum sagittal droit (ICBM #21,29,31,47), le stratum sagittal gauche (ICBM #22,30,32,48), le Faisceau longitudinal supérieur droit (ICBM #41), le faisceau longitudinal supérieur gauche (ICBM #42), le bras  
20 antérieur de la capsule interne droit (ICBM #17) le bras antérieur de la capsule interne gauche (ICBM #18), le bras postérieur de la capsule interne droit (ICBM #19), la Bras postérieur de la capsule interne gauche (ICBM #20), le capsule externe droite (ICBM #33), le capsule externe gauche (ICBM #34), la couronne radiée droite (ICBM #23,25,27), la  
25 couronne radiée gauche (ICBM #24,26,28).

11. Procédé selon l'une quelconque des revendications 8 à 10 dans lequel les mesure d'anisotropie fractionnelle est réalisée sur une image  
IRM d'un patient ayant subit une cérébrolésion dont traumatisme crânien,  
30 hémorragie méningée anévrysmale, accidents ischémiques et hémorragiques intraparenchymateux, anoxie cérébrale

12. Procédé selon la revendication 8 dans lequel la mesure de  $FA_1$  est réalisée sur une image IRM prise dans une période de 48h à 31 jours suivant la cérébrolésion.

5

13. Procédé selon l'une quelconque des revendications 8 à 12, dans lequel la mesure de  $FA_2$  est réalisée sur une image IRM prise dans une période d'au moins un mois suivant la mesure de  $FA_1$ .

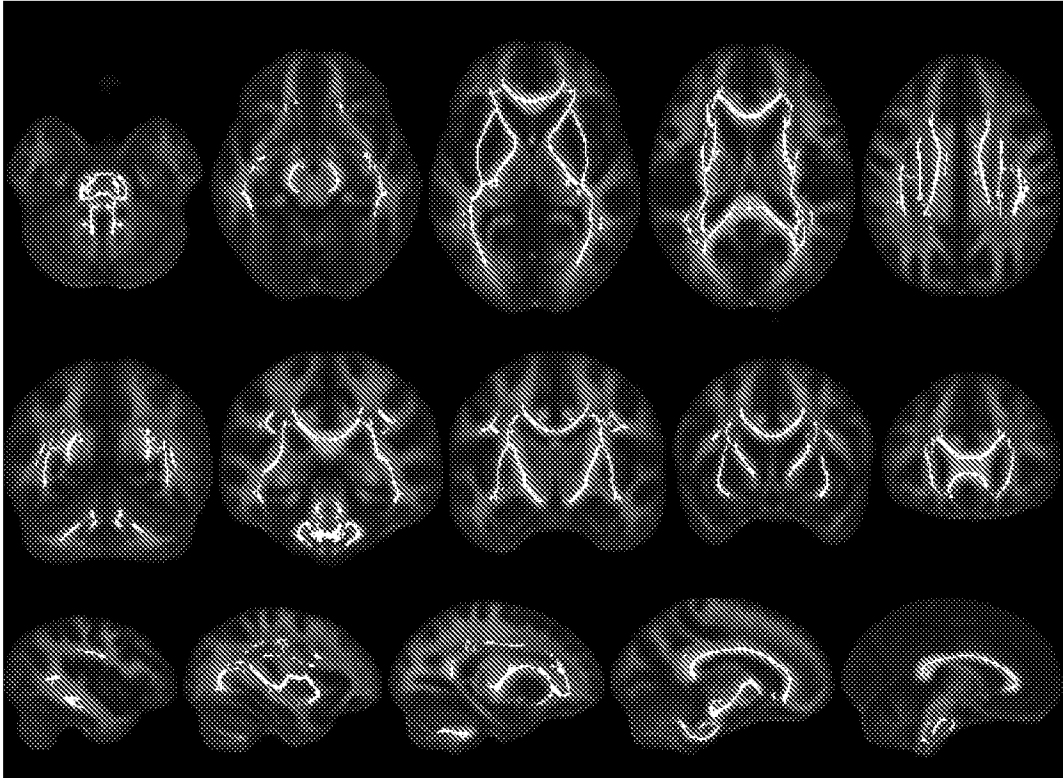


FIGURE 1

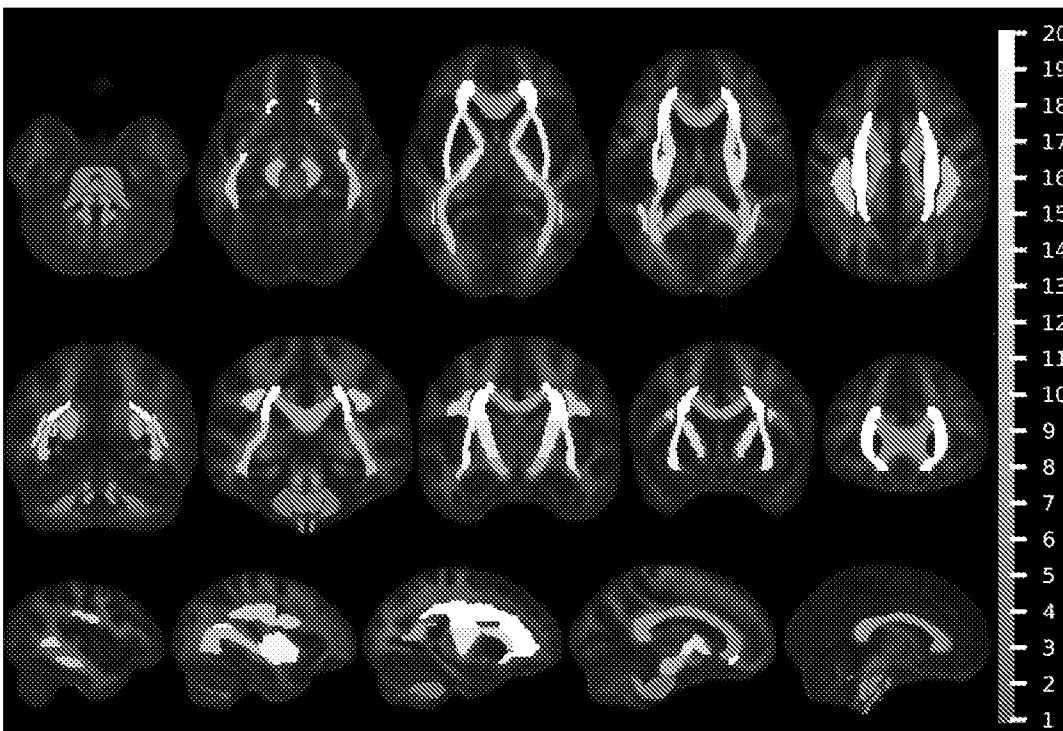


FIGURE 2

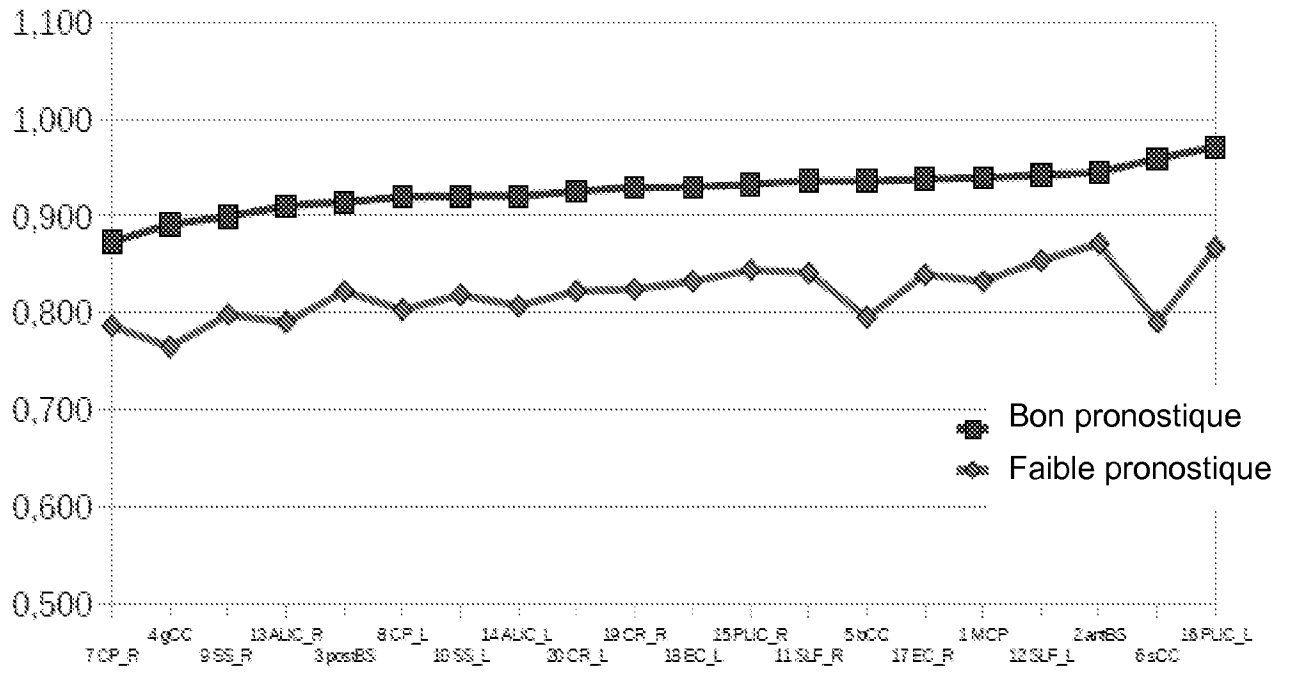


FIGURE 3

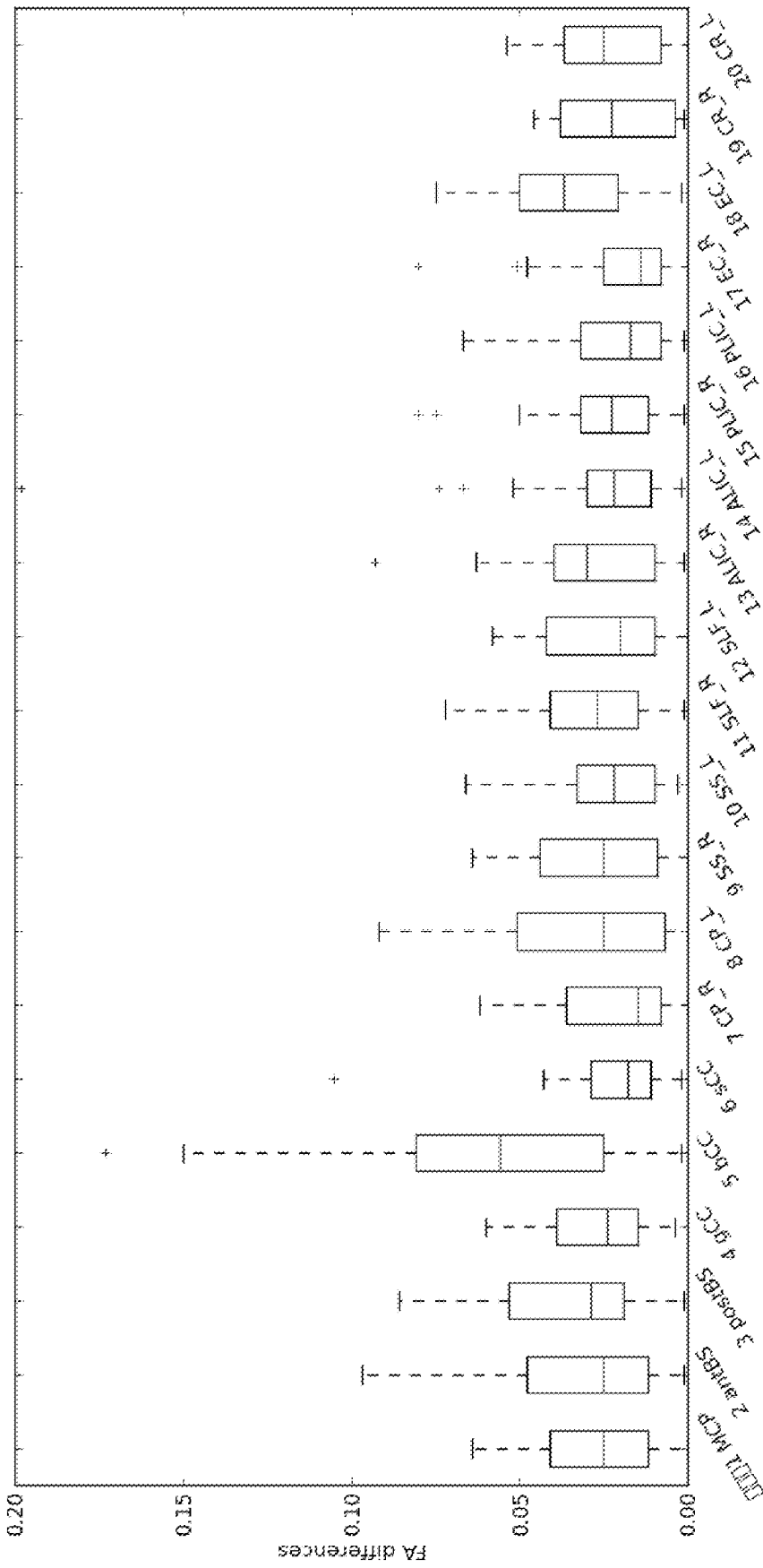


FIGURE 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/FR2012/051164

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
INV. G01R33/563 A61B5/055  
ADD.  
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED  
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
G01R A61B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	L. LI ET AL: "MRI Identification of White Matter Reorganization Enhanced by Erythropoietin Treatment in a Rat Model of Focal Ischemia", STROKE, vol. 40, no. 3, 15 January 2009 (2009-01-15), pages 936-941, XP55016092, ISSN: 0039-2499, DOI: 10.1161/STROKEAHA.108.527713 page 936 - page 940; figures 1-3 ----- -/--	1-13

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

\* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

31 August 2012

Date of mailing of the international search report

06/09/2012

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Raguin, Guy

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/FR2012/051164

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	C FENG ET AL: "Stem Cell Treatment of Hemorrhagic Lesions Investigated by Longitudinal DTI Study of a Monkey Model", PROCEEDINGS OF THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR MAGNETIC RESONANCE IN MEDICINE, 18TH SCIENTIFIC MEETING AND EXHIBITION, STOCKHOLM, SWEDEN, 1-7 MAY 2010, vol. 18, 17 April 2010 (2010-04-17), page 4498, XP55033751, the whole document	1-13
A	SMITH S M ET AL: "Tract-based spatial statistics: Voxelwise analysis of multi-subject diffusion data", NEUROIMAGE, ACADEMIC PRESS, ORLANDO, FL, US, vol. 31, no. 4, 15 July 2006 (2006-07-15), pages 1487-1505, XP024906353, ISSN: 1053-8119, DOI: 10.1016/J.NEUROIMAGE.2006.02.024 [retrieved on 2006-07-15] cited in the application page 1500, column 1, paragraph 2 - column 2, paragraph 3; figure 14	1-13
A	BASSER P J ET AL: "MR DIFFUSION TENSOR SPECTROSCOPY AND IMAGING", BIOPHYSICAL JOURNAL, BIOPHYSICAL SOCIETY, US, vol. 66, no. 1, 1 January 1994 (1994-01-01), pages 259-267, XP001118671, ISSN: 0006-3495 cited in the application the whole document	1-13
A	BASSER P J ET AL: "MICROSTRUCTURAL AND PHYSIOLOGICAL FEATURES OF TISSUES ELUCIDATED BY QUANTITATIVE-DIFFUSION-TENSOR MRI", JOURNAL OF MAGNETIC RESONANCE. SERIES B, ACADEMIC PRESS, ORLANDO, FL, US, vol. 111, no. 3, 1 June 1996 (1996-06-01), pages 209-219, XP000626666, ISSN: 1064-1866, DOI: 10.1006/JMRB.1996.0086 cited in the application the whole document	1-13

-/--

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/FR2012/051164

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SMITH S M ET AL: "Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL", NEUROIMAGE, ACADEMIC PRESS, ORLANDO, FL, US, vol. 23, 1 January 2004 (2004-01-01), pages S208-S219, XP004609090, ISSN: 1053-8119, DOI: 10.1016/J.NEUROIMAGE.2004.07.051 cited in the application the whole document	1-13
A	----- PEK-LAN KHONG ET AL: "White Matter Anisotropy in Post-Treatment Childhood Cancer Survivors: Preliminary Evidence of Association With Neurocognitive Function", JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, vol. 24, no. 6, 17 January 2006 (2006-01-17), pages 884-890, XP055016095, ISSN: 0732-183X, DOI: 10.1200/JCO.2005.02.4505 the whole document	1-13
A	----- QIU D ET AL: "Mapping radiation dose distribution on the fractional anisotropy map: Applications in the assessment of treatment-induced white matter injury", NEUROIMAGE, ACADEMIC PRESS, ORLANDO, FL, US, vol. 31, no. 1, 15 May 2006 (2006-05-15), pages 109-115, XP024906487, ISSN: 1053-8119, DOI: 10.1016/J.NEUROIMAGE.2005.12.007 [retrieved on 2006-05-15] the whole document	1-13
A	----- VINCENT PERLBARG ET AL: "Relation between brain lesion location and clinical outcome in patients with severe traumatic brain injury: A diffusion tensor imaging study using voxel-based approaches", HUMAN BRAIN MAPPING, vol. 30, no. 12, 8 June 2009 (2009-06-08), pages 3924-3933, XP55033741, ISSN: 1065-9471, DOI: 10.1002/hbm.20817 the whole document	1-13
	----- -/--	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/FR2012/051164

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>Henning U. Voss ET AL: "MRI of neuronal network structure, function, and plasticity" In: "Neurotherapy: Progress in Restorative Neuroscience and Neurology", 4 August 2009 (2009-08-04), Elsevier, XP55033739, ISSN: 0079-6123 ISBN: 978-0-12-374511-8 vol. 175, pages 483-496, page 484, column 2 - page 487, column 2, paragraph 2; figure 1 -----</p>	1-13

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR2012/051164

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE INV. G01R33/563 A61B5/055 ADD.		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE		
Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) G01R A61B		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	L. LI ET AL: "MRI Identification of White Matter Reorganization Enhanced by Erythropoietin Treatment in a Rat Model of Focal Ischemia", STROKE, vol. 40, no. 3, 15 janvier 2009 (2009-01-15), pages 936-941, XP55016092, ISSN: 0039-2499, DOI: 10.1161/STROKEAHA.108.527713 page 936 - page 940; figures 1-3 ----- -/--	1-13
<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents		
<input type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités:		
"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent	"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention	
"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date	"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément	
"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)	"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier	
"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens	"&" document qui fait partie de la même famille de brevets	
"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée  31 août 2012	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale  06/09/2012	
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Fonctionnaire autorisé  Raguin, Guy	

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>C FENG ET AL: "Stem Cell Treatment of Hemorrhagic Lesions Investigated by Longitudinal DTI Study of a Monkey Model", PROCEEDINGS OF THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR MAGNETIC RESONANCE IN MEDICINE, 18TH SCIENTIFIC MEETING AND EXHIBITION, STOCKHOLM, SWEDEN, 1-7 MAY 2010, vol. 18, 17 avril 2010 (2010-04-17), page 4498, XP55033751, le document en entier</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-13
A	<p>SMITH S M ET AL: "Tract-based spatial statistics: Voxelwise analysis of multi-subject diffusion data", NEUROIMAGE, ACADEMIC PRESS, ORLANDO, FL, US, vol. 31, no. 4, 15 juillet 2006 (2006-07-15), pages 1487-1505, XP024906353, ISSN: 1053-8119, DOI: 10.1016/J.NEUROIMAGE.2006.02.024 [extrait le 2006-07-15] cité dans la demande page 1500, colonne 1, alinéa 2 - colonne 2, alinéa 3; figure 14</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-13
A	<p>BASSER P J ET AL: "MR DIFFUSION TENSOR SPECTROSCOPY AND IMAGING", BIOPHYSICAL JOURNAL, BIOPHYSICAL SOCIETY, US, vol. 66, no. 1, 1 janvier 1994 (1994-01-01), pages 259-267, XP001118671, ISSN: 0006-3495 cité dans la demande le document en entier</p> <p style="text-align: center;">-----</p>	1-13
A	<p>BASSER P J ET AL: "MICROSTRUCTURAL AND PHYSIOLOGICAL FEATURES OF TISSUES ELUCIDATED BYQUANTITATIVE-DIFFUSION-TENSOR MRI", JOURNAL OF MAGNETIC RESONANCE. SERIES B, ACADEMIC PRESS, ORLANDO, FL, US, vol. 111, no. 3, 1 juin 1996 (1996-06-01), pages 209-219, XP000626666, ISSN: 1064-1866, DOI: 10.1006/JMRB.1996.0086 cité dans la demande le document en entier</p> <p style="text-align: center;">-----</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	1-13

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>SMITH S M ET AL: "Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL",                      NEUROIMAGE, ACADEMIC PRESS, ORLANDO, FL, US,                      vol. 23, 1 janvier 2004 (2004-01-01),                      pages S208-S219, XP004609090,                      ISSN: 1053-8119, DOI:                      10.1016/J.NEUROIMAGE.2004.07.051                      cité dans la demande                      le document en entier</p>	1-13
A	<p>-----</p> <p>PEK-LAN KHONG ET AL: "White Matter Anisotropy in Post-Treatment Childhood Cancer Survivors: Preliminary Evidence of Association With Neurocognitive Function",                      JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY,                      vol. 24, no. 6,                      17 janvier 2006 (2006-01-17), pages                      884-890, XP055016095,                      ISSN: 0732-183X, DOI:                      10.1200/JCO.2005.02.4505                      le document en entier</p>	1-13
A	<p>-----</p> <p>QIU D ET AL: "Mapping radiation dose distribution on the fractional anisotropy map: Applications in the assessment of treatment-induced white matter injury",                      NEUROIMAGE, ACADEMIC PRESS, ORLANDO, FL, US,                      vol. 31, no. 1, 15 mai 2006 (2006-05-15),                      pages 109-115, XP024906487,                      ISSN: 1053-8119, DOI:                      10.1016/J.NEUROIMAGE.2005.12.007                      [extrait le 2006-05-15]                      le document en entier</p>	1-13
A	<p>-----</p> <p>VINCENT PERLBARG ET AL: "Relation between brain lesion location and clinical outcome in patients with severe traumatic brain injury: A diffusion tensor imaging study using voxel-based approaches",                      HUMAN BRAIN MAPPING,                      vol. 30, no. 12, 8 juin 2009 (2009-06-08),                      pages 3924-3933, XP55033741,                      ISSN: 1065-9471, DOI: 10.1002/hbm.20817                      le document en entier</p> <p>-----</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	1-13

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR2012/051164

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>Henning U. Voss ET AL: "MRI of neuronal network structure, function, and plasticity"                      In: "Neurotherapy: Progress in Restorative Neuroscience and Neurology",                      4 août 2009 (2009-08-04), Elsevier,                      XP55033739,                      ISSN: 0079-6123                      ISBN: 978-0-12-374511-8                      vol. 175, pages 483-496,                      page 484, colonne 2 - page 487, colonne 2,                      alinéa 2; figure 1                      -----</p>	1-13