



Hémodynamique cérébrale et périphérique dans un contexte de variation de pression de perfusion d'origine environnementale ou pathologique

Damien Lanéelle

► To cite this version:

Damien Lanéelle. Hémodynamique cérébrale et périphérique dans un contexte de variation de pression de perfusion d'origine environnementale ou pathologique. Médecine humaine et pathologie. Normandie Université, 2023. Français. NNT : 2023NORMC430 . tel-04457260

HAL Id: tel-04457260

<https://theses.hal.science/tel-04457260>

Submitted on 14 Feb 2024

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

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

THÈSE

Pour obtenir le diplôme de doctorat

Spécialité **SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE**

Préparée au sein de l'**Université de Caen Normandie**

Hémodynamique cérébrale et périphérique dans un contexte de variation de pression de perfusion d'origine environnementale ou pathologique

Présentée et soutenue par
DAMIEN LANEELLE

Thèse soutenue le 20/12/2023
devant le jury composé de :

M. JACQUES-OLIVIER FORTRAT	Maître de conférences HDR - UNIVERSITE ANGERS	Rapporteur du jury
MME BLANDINE MAUREL DESANLIS	Professeur des universités PraticienHosp - UNIVERSITE NANTES	Rapporteur du jury
MME CLAIRE LE HELLO	Professeur des universités PraticienHosp - UNIVERSITE SAINT ETIENNE JEAN MONNET	Président du jury
M. HERVE NORMAND	Professeur des universités PraticienHosp - Université de Caen Normandie	Directeur de thèse
M. GUILLAUME MAHE	Professeur des universités - UNIVERSITE RENNES 1	Co-directeur de thèse

Thèse dirigée par **HERVE NORMAND** (Mobilités : vieillissement, pathologie, santé - COMETE) et **GUILLAUME MAHE** (UNIVERSITE RENNES 1)

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier les membres du jury qui ont accepté d'évaluer mon travail de thèse.

Merci à Madame le Professeur Blandine MAUREL DESANLIS, de l'université de Nantes, d'avoir accepté d'être rapporteure. Je vous remercie de votre disponibilité et suis très honoré que vous ayez accepté de juger ce travail.

Merci à Monsieur le Docteur Jacques-Olivier FORTRAT, de l'université d'Angers, d'avoir accepté d'être rapporteur de ce travail. Je te suis immensément reconnaissant de l'enseignement que tu m'as dispensé au début de ma carrière de médecin vasculaire et je suis très honoré que tu aies accepté de juger ce travail.

Merci à Madame le Professeur Claire LE HELLO, de l'université de Saint Etienne, d'avoir accepté de juger ce travail. Je bénéficie à Caen de la culture vasculaire que vous avez promue ainsi que du service que vous avez créé et je suis très honoré que vous m'en ayez confié la responsabilité.

Merci à mon directeur de thèse, le Professeur Hervé NORMAND, de l'université de Caen, de sa confiance et de son soutien. Tu m'as offert des opportunités professionnelles exceptionnelles, une grande autonomie dans la réalisation de ce travail et le goût pour la physiologie et la métrologie. Je t'exprime mon profond respect, ton humanité est un exemple.

Merci à mon co-directeur de thèse, le Professeur Guillaume MAHÉ, de l'université de Rennes, pour son accompagnement et sa prévenance tout au long de ce travail. Tes précieux conseils, ta gentillesse et ta rigueur scientifique m'ont guidé tout au long de cette thèse et je sais que ce n'est que le point de départ des nombreuses recherches que nous mènerons ensemble.

Thanks to Professor Damian Bailey, for welcoming me to the Cardiff Neurovascular Research Laboratory and thanks to Benjamin, Chris, Tom, David, Teresa, George and the whole lab team for sharing the secrets of hypoxia, free radicals, oxidative and nitrosative stress and, of course, Wales. Iechyd Da !

Merci à Jean-Marc, Christelle, Mikaël et toute l'équipe de Cyceron pour leurs professionnalisme et l'aide aux acquisitions et aux interprétations des IRM de flux.

Merci à Marion, Olga, Pierre, Olivier, Gâelle, Eve, Frédérine, Daniel, Thomas et toute l'équipe du laboratoire COMETE pour nos échanges toujours stimulants.

Merci au CNES et à l'ensemble du personnel de Novespace pour l'organisation des campagnes de vol parabolique.

Merci à Camille, Josselin, Flavie, Laurent, Jérôme, Bénédicte, Ludovic, Antoine, Sébastien, Mohammed, Olivier, Lucie, Jean-Eudes, Murielle et tous les autres médecins et chirurgiens qui me soutiennent dans les projets vasculaires Caennais.

Merci à mes amis et ma famille pour leurs encouragements et leur soutien sans faille.

PUBLICATIONS

Dans le cadre de ce travail de thèse les articles suivants ont été publiés :

- Wen, C., Gao, M., Fu, Y., Zhao, R., Tong, Y., Scissons, R., Lanéelle, D., & Mahé, G. (2020). A high variability of arterial Doppler waveform descriptions exists in China. *Vascular medicine*, 25, 221–222. DOI: 10.1177/1358863X20903808
- Lanéelle, D., Scissons, R., & Mahé, G. (2020). Inter-observer reliability of a 4-item Doppler ultrasound waveforms classification. *VASA*, 49(6), 518–519. DOI: 10.1024/0301-1526/a000906
- Zhao, R., Lanéelle, D., Gao, M., Fu, Y., Tong, Y., Scissons, R., Wen, C., & Mahé, G. (2020). Inter-rater Reliability of 4-Item Arterial Doppler Waveform Classification System for Description of Arterial Doppler Waveforms. *Frontiers in cardiovascular medicine*, 7, 584274. DOI: 10.3389/fcvm.2020.584274
- Lanéelle, D., Guillaumat, J., Trihan, J. E., Pottier, C., Omarjee, L., Mahé, G., & SFMV PAD Study Group (2021). Inter-rater Reliability of a 13-Category Arterial Doppler Waveform Classification and Practice of French Vascular Physicians. *Frontiers in cardiovascular medicine*, 8, 640838. DOI: 10.3389/fcvm.2021.640838
- Bailey, D. M., Lanéelle, D., Trihan, J. E., Marchi, N., Stacey, B. S., Tamiya, K., Washio, T., Tuaillon, E., Hirtz, C., Lehmann, S., Ogoh, S., & Normand, H. (2020). Gravitational Transitions Increase Posterior Cerebral Perfusion and Systemic Oxidative-nitrosative Stress: Implications for Neurovascular Unit Integrity. *Neuroscience*, 441, 142–160. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2020.05.048
- Lanéelle, D., Ogoh, S., Trihan, J. E., Bailey, D. M., & Normand, H. (2023). Selective elevation in external carotid artery flow during acute gravitational transition to microgravity during parabolic flight. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*, 325, 665–672. DOI: 10.1152/ajpheart.00341.2023

Les travaux suivants ont été publiés en parallèle avec une participation moindre ou un lien indirect avec la thématique et seules les références seront présentées :

- Trihan, JE ; Perez-Martin, A ; Guillaumat, J ; Lanéelle, D , Normative and pathological values of hemodynamic and Doppler ultrasound arterial findings in children. *Vasa*, 2020, 49, 264-274
- Métairie, A ; Tollenaere, Q ; Lanéelle, D ; Le Faucheur, A ; Le Pabic, E ; Omarjee, L & al , Simplification of ankle-brachial-index measurement using Doppler-waveform classification in symptomatic patients suspected of lower extremity artery disease. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9, 941600
- Trihan, JE ; Mahé, G ; Croquette, M ; Coutant, V ; Thollot, C ; Guillaumat, J & al , Accuracy of Acceleration Time of Distal Arteries to Diagnose Severe Peripheral Arterial Disease. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8, 744354
- Guilcher, A ; Laneelle, D ; Mahé, G , Use of a Pre-Trained Neural Network for Automatic Classification of Arterial Doppler Flow Waveforms: A Proof of Concept. *J Clin Med*, 2021, 10
- Guilcher, A ; Lanéelle, D ; Hoffmann, C ; Guillaumat, J ; Constans, J ; Bressollette, L & al , Comparison of the Use of Arterial Doppler Waveform Classifications in Clinical Routine to Describe Lower Limb Flow. *J Clin Med*, 2021, 10,

TABLE DES MATIÈRES

I Introduction	8
I.1 Définition et contexte	8
I.2 Techniques de mesures et méthodologies	10
II L'artériopathie comme modèle de variation de pression périphérique	27
II.1 Description de sonogramme et apport d'une classification	29
II.2 Reproductibilité inter-observateur d'une classification de sonogramme	32
II.3 Reproductibilité d'une classification de sonogramme en fonction de l'expérience	34
II.4 Étude des pratiques d'analyses de sonogramme en France	40
II.5 Conclusion de la première partie	48
III Les transitions gravitationnelles comme modèle de variation de pression cérébrale	49
III.1 Hémodynamique cérébrale lors de transitions gravitationnelles et impact neurovasculaire .	50
III.2 Variation du débit de la carotide externe lors de transitions gravitationnelles	72
III.3 Variations anatomiques et répartition du débit cérébral lors d'un stress hémodynamique	84
III.4 Conclusion de la seconde partie	89
IV Conclusion	90
V Références	91

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1: La première mesure de la pression artérielle, rapportée en 1733.	10
Figure 1.2: L'origine de la mesure de la pression artérielle en millimètre de mercure.	11
Figure 1.3: Enregistrement analogique d'une courbe de pression artérielle en continu.	11
Figure 1.4: Un sphygmomanomètre à méthode oscillométrique manuelle.	12
Figure 1.5: Utilisation d'une sonde doppler continu pour la détection du flux artériel.	14
Figure 1.6: Signal doppler d'une artère radiale obtenu par doppler à émission continue.	15
Figure 1.7: Chronogramme du doppler pulsé.	17
Figure 1.8: Le mode duplex, associant l'image 2D et le doppler pulsé.	18
Figure 1.9: Le doppler couleur, associant l'image 2D et les flux.	19
Figure 1.10: Le mode triplex, associant l'image 2D, le doppler couleur et le doppler pulsé.	19
Figure 1.11: Le doppler spectral, analyse spectrale en temps réel du signal doppler	20
Figure 1.12: Temps de relaxation de l'aimantation tissulaire après impulsion radiofréquence	21
Figure 1.13: Chronogramme d'une séquence IRM en écho de spin.	23
Figure 1.14: Chronogramme d'une séquence IRM en écho de gradient.	24
Figure 1.15: Angiographie de résonance magnétique par temps de vol.	25
Figure 2.1: Hétérogénéité de description des sonogrammes : classification à 4 catégories.	30
Figure 2.2: Utilisation des classifications de sonogramme en France par les médecins vasculaires. . .	43
Figure 2.3: Hétérogénéité de description des sonogrammes : classification à 13 catégories.	44
Figure 3.1: Stress gravitationnel, hémodynamique, moléculaire et structurel.	51
Figure 3.2: Organisation des expérimentations pour le groupe expérimental et control.	52
Figure 3.3: Vitesses de l'artère cérébrale moyenne lors des transitions gravitationnelles.	58
Figure 3.4: Radicaux libres et monoxyde d'azote lors de transitions gravitationnelles.	61
Figure 3.5: Effets des transitions gravitationnelles sur l'unité neurovasculaire.	63
Figure 3.6: Chronographe d'une parabole (A) et expérimentations en vol parabolique (B).	74
Figure 3.7: Hémodynamique extra et intracrânienne lors de transitions gravitationnelles.	78
Figure 3.8: ARM par TOF 2D et 3D du cercle artériel de la base du crâne.	85
Figure 3.9: Localisation sur ARM par TOF 3D des 11 sites de mesure de débit cérébraux.	86
Figure 3.10: Mesure du débit sanguin d'une artère intracrânienne.	86

LISTE DES TABLEAUX

Table 2.1: Reproductibilité d'une classification de sonogramme en fonction de la profession.	33
Table 2.2: Classification de 30 sonogrammes à l'aide d'une classification à 4 catégories.	36
Table 2.3: Reproductibilité inter-observateur d'une classification de sonogramme à 4 catégories.	36
Table 2.4: Caractéristiques démographiques des médecins vasculaires français inclus.	43
Table 2.5: Reproductibilité inter-observateur d'une classification de sonogramme à 13 catégories. ..	43
Table 2.6: Utilisation d'une classification en fonction des caractéristiques des médecins.	44
Table 3.1: Fonction cardio-pneumo-vasculaire lors des transitions gravitationnelles.	58
Table 3.2: Hémodynamique cérébrale antérieure lors des transitions gravitationnelles.	59
Table 3.3: Hémodynamique cérébrale postérieure lors des transitions gravitationnelles.	60
Table 3.4: Hémodynamique cérébrale globale lors des transitions gravitationnelles.	60
Table 3.5: Stress moléculaire et structurel lors de transitions gravitationnelles.	62
Table 3.6: Réponses hémodynamiques lors de transitions gravitationnelles.	77
Table 3.7: Réponses hémodynamiques par rapport aux valeurs de base.	77
Table 3.8: Caractéristiques démographiques en fonction de l'anatomie du cercle artériel.	86
Table 3.9: Effet de l'hypercapnie et de l'hypovolémie simulée sur la distribution du débit cérébral. .	87

LISTE DES ABRÉVIATIONS

0G	Microgravité
1.8G	Hypergravité
A[•]	Ascorbate oxydé / Ascorbate free radical
AH⁻	Anion Ascorbate / Ascorbate monanion
ACI / ICA	Artère Carotide Interne / Internal Carotid Artery
ACE / ECA	Artère Carotide Externe / External Carotid Artery
AV / VA	Artère Vertébrale / Vertebral Artery
ACP / PCA	Artère Cérébrale Postérieure / Posterior Cerebral Artery
ACA	Artère Cérébrale Antérieure / Anterior Cerebral Artery
ACM / MCA	Artère Cérébrale Moyenne / Middle Cerebral Artery
AOMI	Artériopathie Oblitérante des Membres Inférieurs
ARM TOF	Angiographie de Résonance Magnétique par temps de vol
ARM PC	Angiographie de Résonance Magnétique par contraste de phase
BBB	Blood-Brain Barrier / Barrière Hémato-Encéphalique
CO₂	Dioxyde de carbone / carbon dioxide
CW	Doppler continu / Continuous Wave
PW	Doppler pulsé / Pulsed Wave
dCA	Autorégulation Cérébrale Dynamique / Dynamic Cerebral Autoregulation
DSC / CBF	Débit Sanguin Cérébral / Cerebral Blood Flow
E°	Potentiel de réduction
Fc / HR	Fréquence Cardiaque / Heart Rate
GE	Echo de gradient / Gradient Echo
GFAP	Glial fibrillary acidic protein / Protéine Acide Fibrillaire Gliale
HbNO	Nitrosylhaemoglobin
HbsNO	S-nitrosohaemoglobin
IMC / BMI	Index de masse corporelle / Body Mass Index
IRM / MRI	Imagerie par Résonance Magnétique / Magnetic Resonance Imaging
LBNP	Lower Body Negative Pressure / Dépression du bas du corps
$\vec{M}$	Aimantation tissulaire
$\vec{M}_z$	Composante longitudinale de $\vec{M}$
$\vec{M}_{xy}$	Composante transversale de $\vec{M}$
mmHg	Millimètre de mercure
NF-L	Neurofilament light-chain
NO	Nitric Oxide / Oxyde Nitrique
NSE	Neuron-specific enolase
O₂	Dioxygène
PAM / MAP	Pression Artérielle Moyenne / Mean Arterial Pressure
PA	Pression Artérielle
PcomA	Artère communicante postérieure / Posterior communicating Artery
PF	Vol parabolique / Parabolic flight
PV	Pression Veineuse
$\dot{Q}$	Débit cardiaque
R[•]	Radical libre
RF	RadioFréquence
RSNO	S-nitrosothiols
RVP / SVR	Résistance Vasculaires Périphériques / Systemic Vascular Resistance
S100β	Protéine S100 Bêta

SANS Syndrome Neuro-Occulaire associé aux vols spatiaux / Spaceflight-associated neuro-ocular syndrome
SE Echo de Spin / Spin Echo
SI Système international
SOP Procédure Opérationnelle Standard / Standard Operating Procedure
TE Temps d'Echo
TI Impédance thoracique / Thoracic Impedance
TR Temps de Répétition
UCH-L1 Ubiquitin carboxyterminal hydrolase L1
UNV / NVU Unité neurovasculaire / NeuroVascular Unit
VES / SV Volume d'Ejection Systolique / Stroke Volume
VSC / CBV Volume sanguin central / Central Blood Volume

INTRODUCTION

Définition et contexte

L'hémodynamique est l'étude de la circulation du sang dans l'organisme et des mécanismes qui interviennent dans sa régulation. Ces mécanismes sont complexes et intriqués, parmi eux on peut citer de manière non exhaustive la fréquence cardiaque (F_c), la quantité de sang éjecté par le cœur à chaque battement ou volume d'éjection systolique (VES), les résistances vasculaires périphériques (RVP), l'élasticité des vaisseaux ainsi que des paramètres qui en dépendent comme le pouls, la pression artérielle, le débit sanguin ou les vitesses circulatoires.

La relation entre les résistances vasculaires périphériques (RVP), la pression artérielle moyenne (PAM) et le débit cardiaque ($\dot{Q}$) est habituellement décrite ainsi :

$$RVP = \frac{PAM}{\dot{Q}}$$

Le débit cardiaque étant le produit de la fréquence cardiaque (F_c) par le volume d'éjection systolique (VES). Par extension, le débit d'un organe ($\dot{Q}_{\text{Organe}}$) dépend de ses résistances vasculaires périphériques propres (RVP_{Organe}) et de la différence de pression entre le réseau artériel (PA) et le réseau veineux (PV) :

$$\dot{Q}_{\text{Organe}} = \frac{PA - PV}{RVP_{\text{Organe}}}$$

Une autre définition possible du $\dot{Q}_{\text{Organe}}$ que nous utiliserons à plusieurs reprises dans ce travail, est le produit de la vitesse moyenne du sang artériel (v_{moyenne}) par la surface de section de l'artère (ou des artères) afférente de cet organe. Un certain nombre de mesure utilisera comme approximation la surface de section de l'artère comme le produit du carré du rayon (r^2) par π tel que :

$$\dot{Q}_{\text{Organe}} = v_{\text{moyenne}} \cdot \pi \cdot r^2$$

Nous nous sommes intéressés à l'étude de ces paramètres en cas de modifications de la pression, qu'elle soit d'origine environnementale ou pathologique.

Plus précisément nous avons souhaité d'une part explorer le retentissement sur la vascularisation du cerveau de variations de volume sanguin central et de transfert liquidien tel que cela se produit lors d'un vol spatial ou d'une chute libre. D'autre part nous avons souhaité explorer l'apport de l'analyse des courbes de vitesses circulatoires en cas de maladie artérielle périphérique.

Ce travail se divise donc en deux parties : la première décrivant l'analyse des courbes de vitesse et la seconde partie concerne l'étude du débit cérébral et de sa régulation en réponse à différents stress hémodynamiques.

Ce travail a fait l'objet de plusieurs publications dans des journaux avec comité de lecture; afin de conserver l'intérêt de cette relecture les différentes parties présenteront les résultats de façon aussi fidèle que possible aux articles publiés, dans la langue de la publication avec uniquement des traductions en français du résumé ainsi que des légendes des figures et des tableaux. Les références bibliographiques générales seront appelées entre crochets [référence] et seront listées à la fin de la thèse. Les références bibliographiques propres à chaque article seront appelées entre parenthèses (référence) et seront listés à la fin de chaque article.

Les deux parties de ce travail font appel à des instruments de mesure que nous allons décrire dans un premier temps avant d'aborder les différents modèles de variation de pression. Parmi les outils utilisés

nous détaillerons plus particulièrement le fonctionnement de l'échographie doppler et l'imagerie de flux par résonance magnétique.

Techniques de mesures et méthodologies

HISTORIQUE

Historiquement les premières descriptions de pouls artériels remontent aux civilisations antiques [1] mais la première mesure directe de pression artérielle est documentée en 1733 [2] et repose sur l'introduction d'un cathéter dans une artère connecté à un tube en verre vertical gradué qui fait office de manomètre (Figure 1.1). Cette technique invasive a permis d'identifier une valeur haute, correspondant à la contraction ventriculaire ou systole et une valeur basse, correspondant à la relaxation ventriculaire ou diastole.

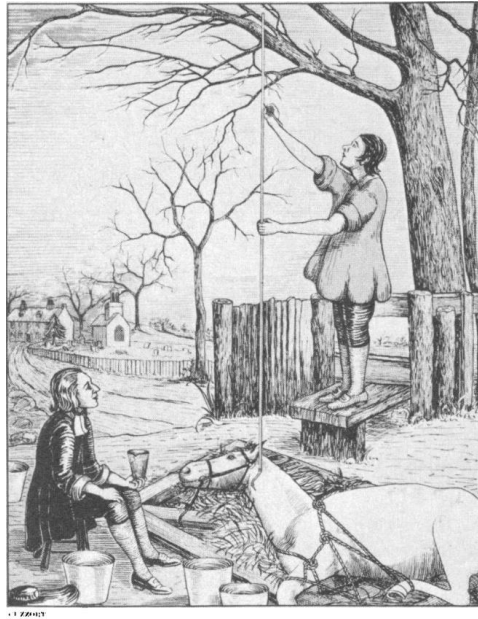


Figure 1.1: La première mesure de la pression artérielle, rapportée en 1733.

Un cathéter est positionné dans l'artère fémorale d'une jument, connecté à un tube gradué. Le sang monte jusqu'à 250 cm et le niveau varie de plusieurs centimètres à chaque battement cardiaque. Crédit : Medical time, USA, 1944.

La technique est améliorée en 1828 [3] par l'utilisation d'un tube en verre courbe rempli de mercure dont la densité importante permet de limiter la longueur : c'est l'origine de la mesure de la pression artérielle en millimètre de mercure (mmHg) qui est actuellement l'unité la plus utilisée (Figure 1.2), bien qu'elle ne soit ni l'unité de pression du Système International (SI), ni dérivable directement à partir d'une unité du SI. L'unité de référence habituelle dans ce contexte est le Torr, équivalente au mmHg (à 10^{-7} près), est définie comme la 760^{ème} part d'une Atmosphère (atm) elle-même strictement définie comme 101325 Pascal (Pa) l'unité de pression du SI. Cependant on utilisera dans ce travail indifféremment Torr et mmHg.



Figure 1.2: L'origine de la mesure de la pression artérielle en millimètre de mercure. L'hémodynamomètre de Poiseuille permet le calcul de la pression artérielle en additionnant le déplacement du mercure vers le bas sur la première branche au déplacement vers le haut sur la seconde. Crédit : Wikimedia Commons.

Le procédé sera encore amélioré en 1847 pour permettre un enregistrement continu [4] en ajoutant un flotteur mobile dans la colonne de mercure. Ce mobile inscrit à l'aide d'un stylet les déplacements du mercure sur un rouleau de papier tournant permettant d'obtenir la courbe de pression artérielle en fonction du temps, ou kymogramme (kymo du grec κύμα pour vague, Figure 1.3).

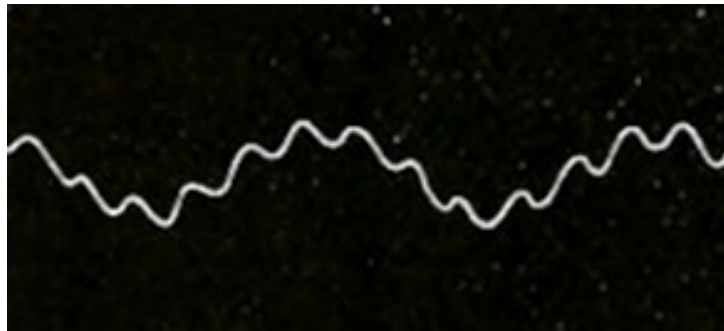


Figure 1.3: Enregistrement analogique d'une courbe de pression artérielle en continu. L'enregistrement mécanique du déplacement de la colonne de mercure permet de visualiser en temps réel les variations de pression artérielle, d'origines cardiaque et respiratoire. Le temps est représenté en abscisse en fonction de la vitesse de rotation du tambour qui supporte le papier. Crédit : Wikimedia Commons.

En parallèle de nombreux outils non invasifs apparaissent pour permettre la visualisation du pouls artériel tel le sphygmomètre (sphygmōs du grec σφυγμός pour pouls) qui permet une transmission de la pulsation de la paroi artérielle (radiale principalement) à une colonne de mercure [5]. Le sphygmomètre servira de base à l'invention du sphygmomanomètre en 1876 [6] : il s'agit d'un réservoir d'eau en caoutchouc appliqué sur la peau en regard d'une artère (brachiale dans ce cas) pendant que, de l'autre main, l'examineur palpe le pouls en aval. Une pression progressive est appliquée manuellement sur le réservoir jusqu'à disparition du pouls. Le réservoir est relié à une jauge à mercure qui permet à l'examineur de connaître la pression nécessaire pour comprimer totalement l'artère, et donc de connaître la pression artérielle systolique. Une première amélioration en 1889 remplace le réservoir d'eau par un réservoir d'air [7] et une seconde en 1896 développe le sphygmomanomètre avec brassard à air circulaire tel que nous le connaissons aujourd'hui [8]. Le remplacement de la colonne de mercure par un capteur de pression mécanique, sphygmomanomètre dit anéroïde, est proposé dès l'origine mais concernant la détection du flux sanguin d'aval la méthode palpatoire va rester la méthode de référence jusqu'en 1905, date à laquelle la méthode auscultatoire est proposée [9]. D'autres méthodes seront développées par la suite, notamment la méthode pléthysmographique et la méthode doppler.

LE SPHYGMOMANOMÈTRE ET LA MÉTHODE AUSCULTATOIRE

Le stéthoscope couplé au sphygmomanomètre permet l'audition du flux sanguin rendu turbulent par la compression de l'artère et donc de déterminer avec précision non seulement la pression artérielle systolique mais également la pression artérielle diastolique. Cette utilisation concerne très majoritairement l'artère brachiale, le pavillon du stéthoscope est alors positionné au pli du coude, ou fosse ulnaire. A noter que, pour les membres inférieurs, la mesure de la pression artérielle de la cuisse avec positionnement du pavillon du stéthoscope au niveau de la fosse poplitée est recommandée dès 1939 [10]. L'utilisation du sphygmomanomètre avec la méthode auscultatoire au niveau du bras est restée très longtemps majoritaire en médecine pour la mesure de la pression artérielle et reste largement majoritaire même si l'utilisation du sphygmomanomètre automatique est croissante en routine clinique.

LE SPHYGMOMANOMÈTRE ET LA MÉTHODE OSCILLOMÉTRIQUE

La détermination de la pression à l'aide de la méthode oscillométrique, c'est à dire de l'oscillation des parois de l'artère soumises à la pression du brassard, est décrite dès 1909 [11]. La forme manuelle de la méthode oscillométrique sera surtout utilisée dans les laboratoires ou pour le diagnostic d'artériopathie avant l'invention de la méthode doppler (Figure 1.4). La forme électronique de cette méthode est aujourd'hui la base de fonctionnement des sphygmomanomètres automatiques, ou tensiomètres.



Figure 1.4: Un sphygmomanomètre à méthode oscillométrique manuelle.

L'appareil de Pachon permet de déterminer sans stéthoscope la pression artérielle systolique, moyenne et diastolique à l'aide de l'oscillation plus ou moins forte de la paroi artérielle. Crédit : service de médecine vasculaire, CHU de Caen.

LE SPHYGMOMANOMÈTRE ET LA MÉTHODE PLÉTHYSMOGRAPHIQUE

L'utilisation de la pression digitale pour la détection du retour du flux d'aval est proposée dès la fin du 19ème siècle [12], [13] mais sera peu utilisée sous cette forme. La pléthysmographie (plethysmos du grec $\pi\lambda\eta\theta\upsilon\sigma\mu\acute{o}\varsigma$ pour augmentation) fut utilisée dès 1905 pour mesurer le débit artériel du bras en utilisant le principe d'occlusion veineuse [14]. Le principe de la pléthysmographie digitale est le suivant : les modifications de volume intra et extracellulaire ou lymphatique du doigt sont considérées comme nulles et de plus les doigts ne contiennent pas de fibre musculaire. En conséquence les modifications de volume du doigt reflètent les changements de volume sanguin contenu dans le réseau

vasculaire digital (artérioles, capillaires, veinules, ...). La mesure de modification de volume peut être réalisée à partir du déplacement d'un volume d'eau (la mesure « historique »), d'un volume de gaz ou évaluée indirectement à l'aide d'une jauge de contrainte ou par la réflexion, ou la transmission, d'une quantité de lumière émise par une diode électroluminescente (LED) à un récepteur ou photodétecteur au contact de la peau (photopléthysmographie). C'est la technique de photopléthysmographie digitale qui est actuellement utilisée pour la mesure non-invasive de la pression artérielle en continu. Cette méthode a été introduite pour la première fois par le physiologiste tchèque J Peňáz en 1973 [15]. Il a démontré qu'il était possible d'effectuer des mesures continues de la pression artérielle au niveau du doigt en utilisant un doigtier particulier. Celui-ci se compose d'un ballonnet gonflable et d'un pléthysmographe, qui comprend une source lumineuse (LED) et un détecteur. La lumière est absorbée par le sang et la variation du diamètre artériel lors d'un battement cardiaque provoque une pulsation du signal du détecteur de lumière, parce que la quantité de sang présent sous le capteur varie. Ce signal contrôle une valve pneumatique proportionnelle qui ajuste en permanence la pression du ballonnet de telle sorte que la variation du signal lumineux soit nulle tout au long du cycle cardiaque. La pression mesurée dans le ballonnet est alors la pression artérielle dans les artères du doigt. Un algorithme est ensuite utilisé pour estimer la pression centrale en se basant sur des modèles statistiques et en fonction des paramètres suivants : l'âge, le poids, la taille et le sexe [16]. Cette méthode est très largement utilisée dans les laboratoires de physiologie et semble, jusqu'à un certain point, permettre d'obtenir des mesures de pression artérielle comparables à celles mesurées de manière invasive par cathétérisme artériel [17].

LE SPHYGMOMANOMÈTRE ET LA MÉTHODE DOPPLER

L'utilisation d'une sonde doppler continu pour la détection du flux artériel est décrite en 1956 [18]. Le principe est l'analyse d'un signal sonore émis par un transducteur électroacoustique à une fréquence connue (la fréquence étant définie comme le nombre d'oscillations par seconde, en hertz ou Hz) à proximité d'un vaisseau, réfléchi par les interfaces mobiles du sang (principalement les érythrocytes) puis perçus par un second transducteur électroacoustique positionné à côté du premier (Figure 1.5). Ce transducteur électroacoustique était à la base un cristal piézoélectrique (piézo du grec $\pi\acute{\epsilon}\zeta\omega$ pour presser) capable de générer un courant électrique en cas de pression et à l'inverse de se déformer, ou d'osciller, lorsqu'il est soumis à une stimulation électrique. Dans le cadre des explorations vasculaires ; le sang circule à une vitesse comprise entre quelques centimètres (cm/s) et quelques mètres par seconde (m/s) et l'onde sonore est émise à une fréquence comprise habituellement entre 3 et 12 millions de Hz (3-5 MHz) bien supérieure à la perception de l'oreille humaine se situant dans une plage de fréquence de 20 à 20 000 Hz, d'où le terme d'ultrasons.

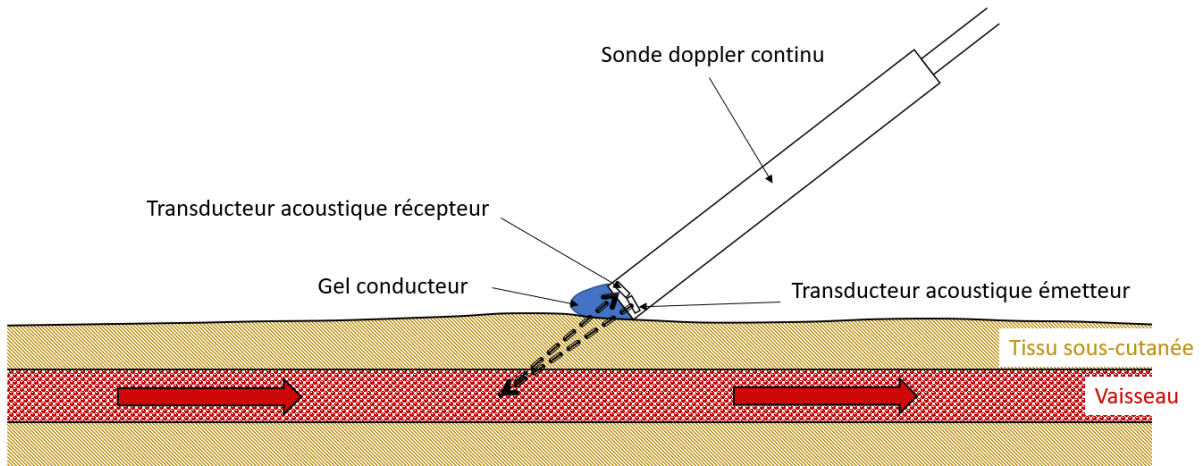


Figure 1.5: Utilisation d'une sonde doppler continu pour la détection du flux artériel.

Un transducteur émet une onde ultrasonore de fréquence f_e pendant que l'autre transducteur réceptionne une onde sonore réfléchiée par les érythrocytes de fréquence f_r . La différence, appelée signal doppler ou Δf , est dans une gamme de fréquence audible. L'angle formé par le faisceau d'ultrasons et le vaisseau est noté θ . Crédit : D. Lanéelle.

L'effet physique sous-jacent porte le nom d'effet doppler ; appliqué à la circulation sanguine il implique que si les globules rouges se rapprochent des transducteurs, les ultrasons réfléchis seront perçus avec une fréquence plus élevée que celle émise (ils sembleraient plus « aigus » si nous pouvions les entendre) et si les globules rouges s'éloignent des transducteurs, les ultrasons réfléchis seront perçus avec une fréquence plus basse que celle émise (ils sembleraient plus « graves » si nous pouvions les entendre).

Cette différence, ou décalage, entre la fréquence de l'onde ultrasonore réfléchiée (f_r) et celle de l'onde émise (f_e) est appelée fréquence ou signal doppler (Δf), définie en valeur absolue comme :

$$\Delta f = |f_e - f_r|$$

Plus précisément Δf dépend de la vitesse de déplacement des globules rouges (v), de la fréquence d'émission (f_e) ainsi que de l'angle θ formé par le faisceau d'ultrasons et le vaisseau [19], tel que :

$$\Delta f = \frac{2v \cdot \cos(\theta) \cdot f_e}{c}$$

Avec c : Vitesse de propagation des ultrasons dans un tissu biologique, considérée comme une constante (1540 m/s).

Cette formule amène plusieurs constats :

- le premier concerne le besoin de connaître l'angle θ et de le minimiser pour obtenir une mesure fiable. En effet plus l'angle augmente plus l'erreur est importante avec à l'extrême $\cos 90^\circ = 0$; en pratique on veillera donc à maintenir un angle θ entre 30° et 60° , c'est-à-dire un compromis entre l'évaluation fiable de la vitesse ($\theta < 60^\circ$) et limiter l'atténuation de l'intensité acoustique lors de la traversée des tissus entre la sonde et le vaisseau ($\theta > 30^\circ$).
- Le second constat est que, même si f_e est au-delà de la perception de l'oreille humaine (c'est la définition des ultrasons), la valeur de Δf se situe par un heureux hasard, en exploration vasculaire (donc pour v compris entre quelques cm/s et quelques m/s), entre 50 Hz et 20000 Hz, c'est-à-dire perceptible par l'oreille humaine.
- Enfin v peut être calculée facilement :

$$v = \frac{\Delta f \cdot c}{2 \cdot f_e \cdot \cos(\theta)}$$

Le doppler continu a une grande sensibilité pour détecter des flux lents et n'est pas limité en cas de flux rapides mais présente surtout un avantage important dans le contexte de mesure de pression au membres inférieurs : la sonde est suffisamment fine pour permettre un enregistrement au niveau de la cheville, là où les reliefs osseux empêchent l'utilisation du stéthoscope. Sa principale limite est l'absence de résolution spatiale : en effet f_r est la fréquence qui somme les signaux venant de l'ensemble des vaisseaux traversés par l'onde ultrasonore de fréquence f_e .

Actuellement le sphygmomanomètre utilisé avec la méthode doppler est l'outil de référence pour le diagnostic et le suivi de l'artériopathie périphérique, son coût est faible, la précision est bonne (72.1-89.2%) et la spécificité a été évaluée comme excellente (83.3-99.0%) [20]. Récemment son utilisation est remise en question, principalement du fait de l'évolution de l'épidémiologie de la maladie artérielle périphérique. En effet le vieillissement de la population et les pathologies qui y sont associées (diabète, insuffisance rénale) entraînent une prévalence plus importante de lésions qui rigidifient les parois des artères des jambes, rendant difficile ou impossible la compression artérielle par le brassard du sphygmomanomètre, étape indispensable à la mesure quelle que soit la technique d'enregistrement du flux artériel [21].

Initialement le doppler continu permettait uniquement à un examinateur l'audition de Δf grâce à un haut-parleur et donc le repérage d'un vaisseau « à l'oreille ». Il a connu des améliorations successives permettant notamment la détermination du sens du flux, la représentation graphique du signal doppler (Figure 1.6) et surtout l'analyse du spectre de fréquence [22] permettant la représentation graphique du profil d'écoulement dans le vaisseau.

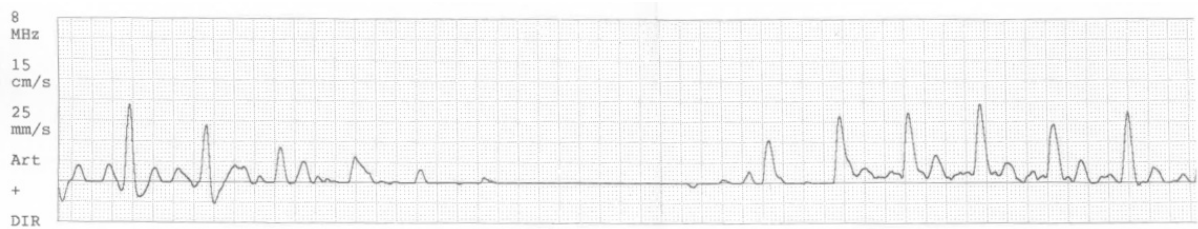


Figure 1.6: Signal doppler d'une artère radiale obtenu par doppler à émission continue. Enregistrement analogique chez un sujet sain de 37 ans lors de l'occlusion de l'artère brachiale à l'aide d'un sphygmomanomètre pour la mesure de pression artérielle systolique. Crédit : D. Lanéelle.

A noter également que l'atténuation est d'autant plus rapide que leur fréquence est élevée. A titre d'exemple, pour l'exploration d'une aorte abdominale située à 20 cm de la sonde, f_e doit être basse (2 à 5 MHz) alors que pour l'exploration d'une carotide située à une distance de 3 cm de la sonde, une f_e plus élevée (5 à 12 MHz) peut être utilisée.

L'ÉCHOGRAPHIE

Les techniques échographiques développées à partir des années 1950 se basent également sur l'utilisation des ultrasons et de leurs réflexions (écho du grec ἠχώ , une nymphe de la mythologie grecque condamnée à répéter les derniers mots entendus) [23]. Ces techniques permettent la construction d'images bidimensionnelles (2D) en temps réel à l'aide de plusieurs dizaines de transducteurs électromécaniques. La construction de l'image échographique classique (appelée « mode B » pour brillance), se fonde sur 2 mécanismes :

- les différentes structures anatomiques et leurs interfaces ont une capacité variable à réfléchir les ultrasons, cette variabilité est codée à l'écran sous forme de pixel plus ou moins gris,
- le temps séparant l'émission de l'onde ultrasonore et la réception de l'écho est proportionnelle à la distance parcourue : ce délai permet de connaître la profondeur de la structure anatomique réfléchissante et donc de positionner le pixel à l'écran.

LE DOPPLER PULSÉ

Comme son nom l'indique le principe du doppler pulsé repose sur l'émission et la réception d'une onde ultrasonore de manière discontinue. La sonde n'est composée que d'un seul transducteur électroacoustique qui va alternativement émettre puis recevoir l'onde ultrasonore [24]. L'intérêt principal du doppler pulsé par rapport au doppler continu est de connaître l'origine exacte des signaux recueillis dans l'espace. Cette résolution spatiale est permise par 2 mécanismes :

- le temps entre l'émission et la réception,
- la durée de réception.

En effet, la réception de l'onde réfléchi est contrôlée dans le temps ; c'est-à-dire que la sonde n'est pas en permanence « à l'écoute » d'une potentielle onde réfléchi mais uniquement à certain moment précis. Si le vaisseau à étudier est profond alors le délai entre l'émission de l'onde sonore est l'activation de la réception sera long. A l'inverse si le vaisseau à enregistrer est superficiel le délai entre l'émission de l'onde ultrasonore et l'activation de la réception sera court. Ce choix est laissé à l'opérateur qui détermine la profondeur d'exploration, secondairement interprétée par l'électronique de l'instrument comme un délai à respecter entre l'émission et l'activation de la réception.

La durée de réception de l'onde sonore réfléchi est restreinte : si cet intervalle de temps est court alors le volume de mesure sera étroit, à l'inverse si cet intervalle de temps est long alors le volume de mesure sera large. Ce choix est également laissé à l'opérateur qui détermine la largeur du volume de mesure, interprétée par l'électronique de l'instrument comme une durée de réception à respecter.

Lorsque l'opérateur indique la profondeur d'exploration souhaitée (P , en mètre) l'électronique réalise la conversion en termes de temps séparant l'émission de la réception (p , en seconde) mais également le réglage du délai entre chaque émission (T). La vitesse des ultrasons dans les tissus biologiques mous étant connue ($c = 1540$ m/s), le temps que mettent les ultrasons à faire l'aller-retour entre la sonde et le vaisseau est :

$$p = \frac{2 \cdot P}{c}$$

A titre d'exemple, pour l'exploration d'une aorte abdominale située à 20 cm de la sonde, le temps séparant l'émission de la réception est de 259 μ s alors que pour l'exploration d'une carotide située à une distance de 3 cm de la sonde, le temps séparant l'émission de la réception est de 38,9 μ s.

L'électronique du doppler continu organise (Figure 1.7) :

- une succession de brèves émissions ultrasonores de fréquence f_e et d'une durée de quelques microsecondes (μ s),
- la réception de leurs échos de fréquence f_r dans l'intervalle de temps séparant chaque impulsion.

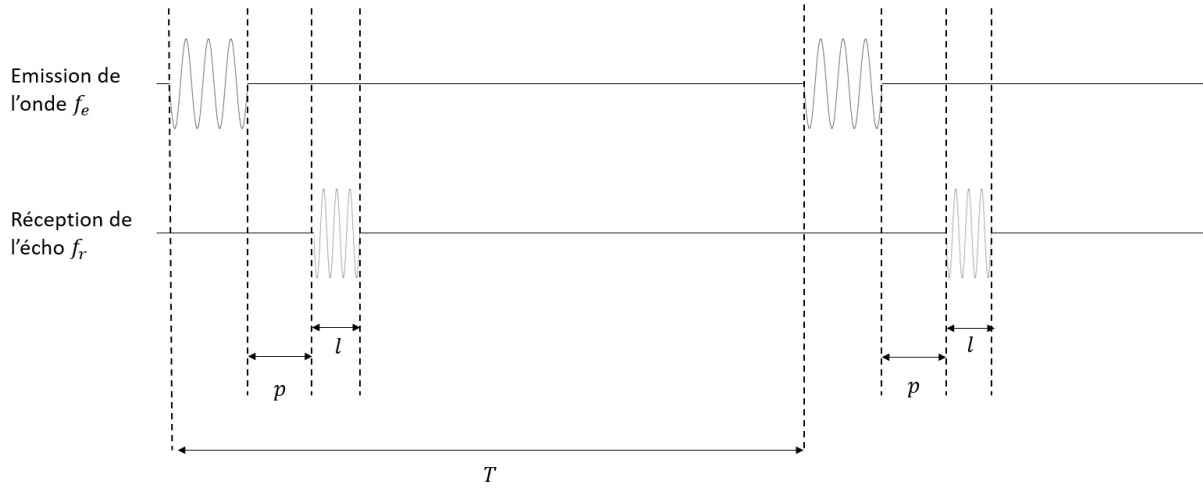


Figure 1.7: Chronogramme du doppler pulsé.

La profondeur d'exploration détermine à la fois le délai (p) à respecter entre l'émission de l'onde ultrasonore et la réception de son écho et également le délai (T) entre 2 émissions d'ultrasons. La largeur du volume de mesure détermine la durée (l) à respecter entre le début et la fin de la réception de l'écho. Crédit : D. Lanéelle.

Il faut attendre le retour des échos avant d'émettre de nouvelles ondes ultrasonores. Le délai T entre 2 émissions d'ultrasons ne peut donc pas être inférieur à " p ", délai séparant l'émission de la réception, qui dépend de la profondeur P . Le nombre d'émissions d'ultrasons par seconde, qui varie habituellement entre 1000 et 10000, est appelé la PRF pour Pulse Repetition Frequency, et cette fréquence ne peut pas être supérieure à $1 / p$ tel que :

$$PRF < \frac{c}{2P}$$

Avec c : Vitesse de propagation des ultrasons dans un tissu biologique, considérée comme une constante (1540 m/s) ; P : profondeur du vaisseau (en mètre).

A titre d'exemple, pour l'exploration d'une aorte abdominale située à 20 cm de la sonde, la PRF ne peut pas être supérieure à 3,8 kHz alors que pour l'exploration d'une carotide située à une distance de 3 cm de la sonde, la PRF peut monter jusqu'à 25,6 kHz.

Cette PRF, qui peut être considérée comme une fréquence d'échantillonnage ajustable par l'opérateur, détermine la sensibilité au flux : une PRF basse ne permet pas de quantifier les flux rapides (phénomène d'aliasing ou d'ambiguïté spectrale) et une PRF haute détecte mal les flux lents. Le phénomène d'ambiguïté spectrale, ou effet stroboscopique, est un artefact qui impose que la PRF, qui est la fréquence d'échantillonnage du signal Δf , soit au moins égale à 2 fois la fréquence de Δf .

A titre d'exemple, pour l'exploration d'une aorte abdominale située à 20 cm de la sonde, la PRF ne peut pas être supérieure à 3,8 kHz, ne permettant de quantifier correctement qu'un signal doppler Δf de fréquence inférieure à 1,9 kHz. Avec une fréquence d'émission f_e de 5 MHz et un angle θ de 60° la vitesse circulatoire maximale mesurable est de 58 cm/s. Si les vitesses circulatoires sont plus rapides on observera un phénomène d'ambiguïté spectrale, qui peut disparaître en choisissant une fréquence f_e plus basse (cf. formule d'évaluation de Δf en fonction de f_e , la diminution de $\cos\theta$ pour maintenir artificiellement Δf au-dessus de 1,9 kHz expose à une trop grande erreur d'estimation de vitesse).

L'ÉCHOGRAPHIE DOPPLER

L'association de l'échographie 2D, permettant le repérage du vaisseau, et le doppler pulsé, permettant d'afficher le sonogramme de ce vaisseau en regard de l'image morphologique, fut développée dans les années 1970 [25]. Cette association est habituellement appelée duplex (Figure 1.8).

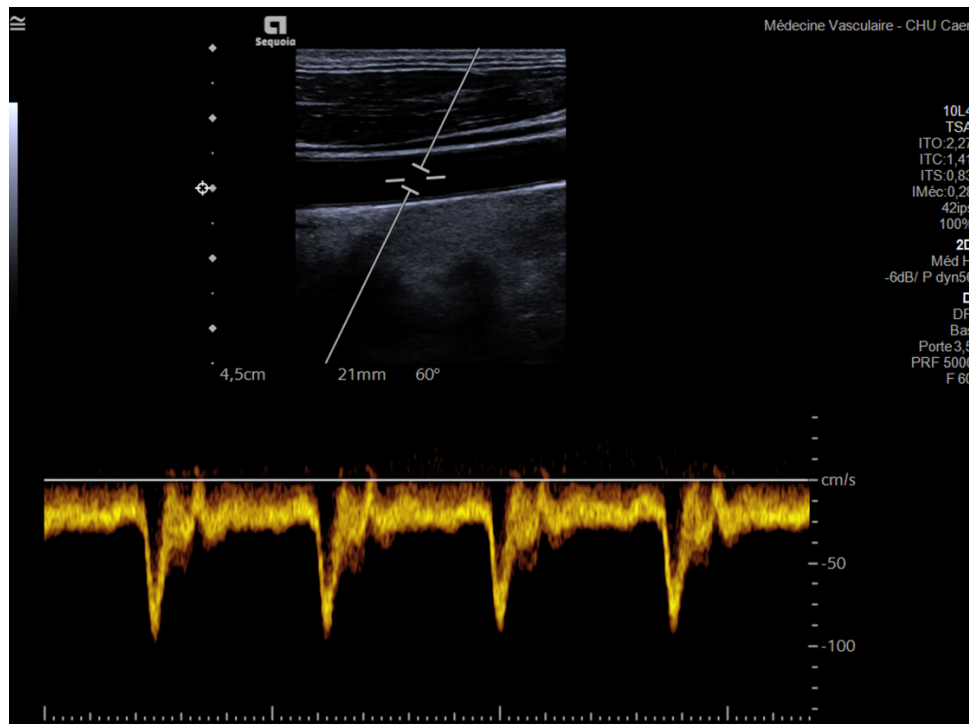


Figure 1.8: Le mode duplex, associant l'image 2D et le doppler pulsé.

Acquisition ultrasonore en mode duplex ; l'image anatomique permet de localiser la carotide commune, l'opérateur indique la profondeur de mesure, le volume d'échantillonnage et l'angle formé par le faisceau d'ultrasons et le vaisseau (ici $P = 21 \text{ mm}$ et $\theta = 60^\circ$). Le signal doppler est acquis avec une PRF de 5000 Hz et un volume de mesure de 3.5mm. Crédit : D. Lanéelle.

Le doppler couleur est disponible depuis les années 1980 ; il permet de visualiser les informations des flux à l'intérieur d'un vaisseau (direction et vitesse), codées à l'écran sous forme de pixels de couleur en surimpression de la coupe échographique 2D, les couleurs les plus fréquemment utilisées sont le bleu et le rouge (Figure 1.9). Il présente les mêmes limites que le doppler pulsé en termes d'ambiguïté spectrale puisqu'il repose sur une technique similaire.

L'échographie doppler triplex associe l'image échographique 2D, le doppler couleur en surimpression de cette image et le sonogramme d'un vaisseau, obtenu par doppler pulsé (Figure 1.10).

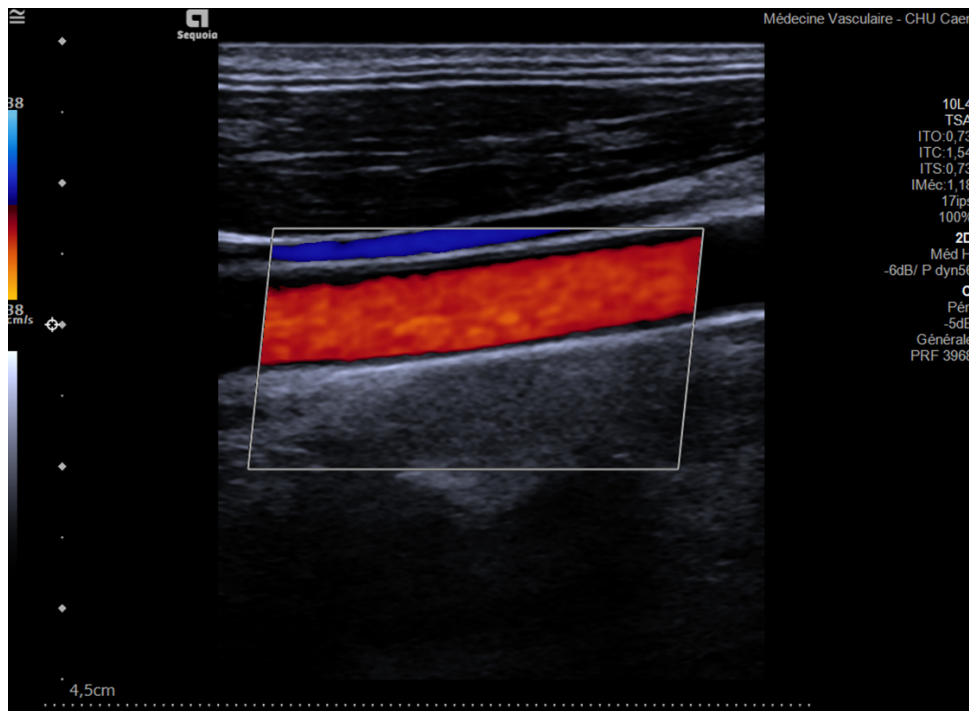


Figure 1.9: Le doppler couleur, associant l'image 2D et les flux.

Acquisition ultrasonore en mode doppler couleur ; les informations de flux sont superposées à l'image anatomique permettant d'identifier les vitesses des flux et le sens de circulation de la carotide commune (en rouge ici) ainsi que de la jugulaire (en bleu ici). Crédit : D. Lanéele.

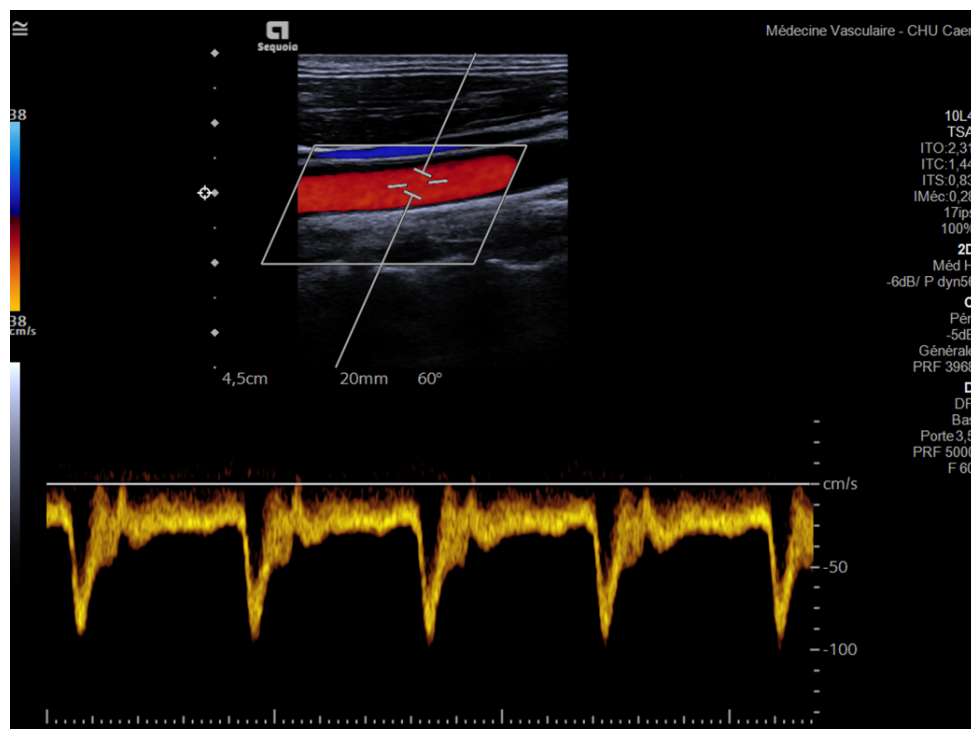


Figure 1.10: Le mode triplex, associant l'image 2D, le doppler couleur et le doppler pulsé.

Acquisition ultrasonore en mode triplex ; les informations de flux sont superposées à l'image anatomique pour faciliter l'identification du vaisseau et le positionnement du volume de mesure du doppler pulsé. Crédit : D. Lanéele.

LE DOPPLER SPECTRAL

Le doppler spectral, ou sonogramme, est la représentation en temps réel des résultats de l'analyse spectrale du signal doppler (Figure 1.11). Les modalités de cette analyse dépassent le cadre de ce travail mais elle est réalisée le plus souvent à l'aide d'une technique dite de « transformée de Fourier rapide » et repose sur le théorème du même nom qui postule qu'on peut décomposer un signal complexe discrétisé en une série de sinusoides d'amplitudes et de fréquences propres [26]. On obtient donc, pour chaque fréquence composant le signal doppler à un instant donné (donc chaque vitesse d'érythrocyte si l'utilisateur fourni à l'échographe l'angle θ), une information sur l'énergie (la quantité d'érythrocyte se déplaçant à cette vitesse) et ceci au cours du temps. Ces 3 informations que sont les vitesses, la quantité d'érythrocyte et le temps sont ensuite représentées sur le sonogramme respectivement en ordonnées, en brillance (plus il y a d'érythrocyte plus le signal est intense) et en abscisses.

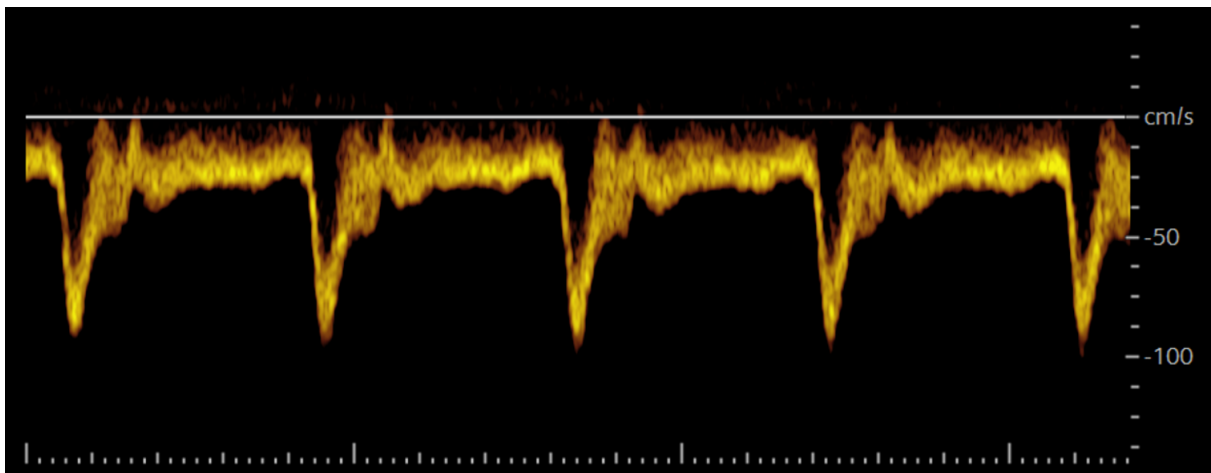


Figure 1.11: Le doppler spectral, analyse spectrale en temps réel du signal doppler
 Le sonogramme d'une carotide commune enregistré au cours de 4 cycle cardiaque complet permet d'identifier un flux laminaire à faible dispersion pendant la systole et une dispersion plus importante pendant la diastole. Les vitesses maximales sont de l'ordre de 100 cm/s et les vitesses minimales de l'ordre de 20 cm/s.
 Crédit : D. Lanéelle.

LE PARAMÉTRAGE ÉCHODOPPLER

Dans ce travail, le choix des sondes échodoppler s'est appuyé sur les recommandations de bonnes pratiques cliniques en fonction de la profondeur de pénétration, de la résolution spatiale souhaitée et la gamme de vitesses circulatoires attendues. Le gain spectral a systématiquement été adapté de manière à limiter le bruit de fond tout en conservant les informations sur les vitesses les moins énergétiques. Le volume d'échantillonnage était centré sur le vaisseau et occupait les 2/3 du diamètre. L'échelle de vitesse de l'analyse spectrale était réglée de manière à afficher l'ensemble du sonogramme en maximisant l'occupation de l'échelle verticale en adaptant la PRF et la ligne de base. Un filtre passe-haut (éliminant les fréquences basses de moins de 50 Hz) était systématiquement utilisé pour limiter les artefacts produits par les réflexions des ultrasons sur les parois du vaisseau en mouvement.

L'IMAGERIE PAR RÉSONANCE MAGNÉTIQUE

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) utilise le principe de la résonance, dans un champ magnétique, des noyaux des atomes d'hydrogène de l'eau soumis à une brève stimulation, pour réaliser des images de tissus biologiques. Le champ magnétique $\vec{B}_0$ utilisé dans ce travail est généré dans une direction connue par un électro-aimant supraconducteur à une intensité de 3 Tesla (T). A titre de com-

paraison le champ magnétique terrestre est de l'ordre de 5.10^{-5} T [27]. Lorsque les noyaux en question sont soumis à $\vec{B}_0$ ils subissent un changement de leurs propriétés magnétiques ; leurs aimantations s'orientent suivant $\vec{B}_0$ et se mettent à tourner autour à une fréquence connue ($f_0 = 127,74$ MHz) avec cependant un déphasage aléatoire de cette rotation entre les noyaux. A l'échelle d'un organe ou d'un tissu cela se traduit par l'acquisition d'une très faible aimantation tissulaire ($\vec{M}$), tournant à la même fréquence autour de $\vec{B}_0$, caractérisée par :

- une composante longitudinale à $\vec{B}_0$, notée $\vec{M}_z$, somme des aimantations des protons,
- une aimantation transversale à $\vec{B}_0$, notée $\vec{M}_{xy}$, résultante des déphasages.

On applique ensuite aux protons des tissus une excitation, ou transfert d'énergie, à l'aide d'une onde électromagnétique de fréquence identique à f_0 [28], c'est le phénomène de résonance. Cette onde électromagnétique est émise de manière pulsée par une antenne à une fréquence de 127,74 MHz, ce qui correspond à une gamme de fréquence d'onde radio, d'où son appellation de radiofréquence (RF). Pour illustrer, la France autorise pour la radio FM la diffusion d'onde électromagnétique dans une gamme de fréquence allant de 87,5 Mhz jusqu'à 107,9 MHz. Cette excitation des protons des atomes d'hydrogène entraîne une bascule de $\vec{M}$ et à 2 effets :

- les protons se mettent en phase ($\vec{M}_{xy}$ est maximale),
- la direction de l'aimantation s'inverse ($\vec{M}_z$ décroît progressivement jusqu'à s'annuler puis devient négative suivant la durée ou l'intensité de l'impulsion).

L'angle entre la direction de $\vec{B}_0$ et $\vec{M}$ est appelé angle de bascule (90° , 180° , ...) et dépend de l'amplitude et de la durée de l'impulsion RF. A l'arrêt de l'impulsion RF le phénomène inverse se produit ; les différents atomes d'hydrogène reprennent leurs positions d'équilibre en libérant de l'énergie, c'est la relaxation, qui associe :

- la « relaxation » de $\vec{M}_z$ durant un temps de relaxation longitudinale T1 (plus exactement T1 est le temps en milliseconde nécessaire pour que $\vec{M}_z$ atteigne 63% de sa valeur initiale, Figure 1.12 -A),
- le déphasage des protons (décroissance de $\vec{M}_{xy}$) durant un temps de relaxation transversale T2 (plus exactement T2 est le temps en milliseconde nécessaire pour que $\vec{M}_{xy}$ atteigne 37% de sa valeur initiale, beaucoup plus rapide que T1, Figure 1.12 -B).

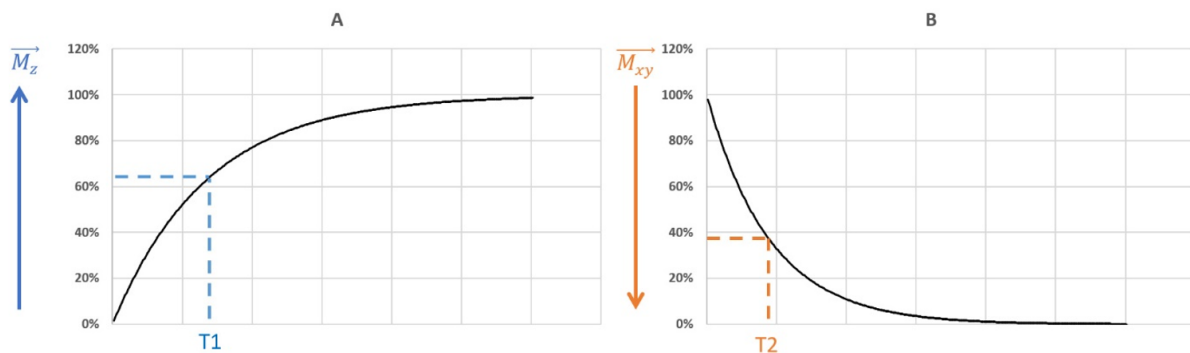


Figure 1.12: Temps de relaxation de l'aimantation tissulaire après impulsion radiofréquence
 Expression de la relaxation selon la composante longitudinale ($\vec{M}_z$) et transversale ($\vec{M}_{xy}$). A : relaxation selon $\vec{M}_z$ permettant de déterminer T1, c'est-à-dire le temps en milliseconde mis pour atteindre 63% de sa valeur initiale. B : relaxation selon $\vec{M}_{xy}$ permettant de déterminer T2, temps en milliseconde mis pour atteindre 37% de sa valeur initiale. Crédit : D. Lanéelle, d'après J. Vion-Dury "Cours de résonance magnétique".

L'intérêt de mesurer cette relaxation est qu'elle dépend de la nature des tissus : T1 et T2 sont différents d'un tissu biologique à l'autre et on peut donc obtenir un contraste.

Ces différences sont observées grâce au principe d'induction électromagnétique : les rotations de $\vec{M}$ induisent un courant dans une antenne de réception positionnée autour du tissu examiné, la tête dans le cas qui nous intéresse. La construction de l'image passe par le codage de l'intensité du signal de l'eau en fonction de sa position dans l'espace. Ce codage est obtenu grâce à de faibles champs magnétiques additionnels, appelés gradients, dans les 3 axes de l'espace qui permettent de délimiter un plan de coupe suivant un gradient dit de coupe puis de coder la localisation dans ce plan à l'aide des 2 gradients restant appelés gradient de phase et gradient de fréquence (ou de lecture). Ces gradients sont des variations contrôlées et linéaires de $\vec{B}_0$ qui font correspondre à tout point de l'espace une valeur donnée de champ magnétique avec une fréquence et une phase de résonance différentes.

Le signal reçu, qui provient de $\vec{M}_{xy}$, est de type sinusoïdal amorti, parasité par des hétérogénéités de champ, ce qui explique que la décroissance mesurée de $\vec{M}_{xy}$ en T2 est plus rapide qu'attendue : ce signal plus bref est nommé T2*. Cette hétérogénéité peut être compensée par une méthode décrite plus loin.

Les modalités de l'analyse du signal reçu par l'antenne de tête dépassent le cadre de ce travail mais, comme pour l'analyse du signal doppler, elle est réalisée à l'aide d'une discrétisation du signal par un convertisseur analogique-numérique (obtention d'un plan de Fourier dit espace K) puis une (double) transformée de Fourier rapide.

Chaque examen IRM est une succession de séquences constituées d'une impulsion RF initiale, de gradients d'encodage spatial et d'acquisition d'un signal (ou écho) suivant des modalités variables. On appelle séquence l'ensemble des paramètres définissant les impulsion RF, les caractéristiques des gradients et l'acquisition des échos ainsi que le temps qui les sépare. Il existe plusieurs centaines de séquences qui répondent à des objectifs cliniques et/ou de recherches différents et sont un compromis entre l'obtention d'un contraste maximal pour l'organe d'intérêt, le temps d'acquisition et le rapport signal/bruit. Classiquement on distingue 2 types de séquence en fonction de la méthode d'obtention de l'écho :

- l'écho de spin (SE pour Spin Echo), qui implique une seconde impulsion RF de 180° de rephasage qui permet de compenser les hétérogénéités de champ et d'obtenir un écho pondéré en T2 et non en T2*,
- l'écho de gradient (GE pour Gradient Echo), qui implique une première impulsion RF de α° (ou angle de bascule de $\vec{M}$) inférieur à 90° et l'absence de seconde impulsion RF de rephasage. Dans ce cas les hétérogénéités de champ ne sont pas compensées et l'écho, pondéré en T2*, est obtenu par l'application d'un gradient de lecture bipolaire dans la direction du codage en fréquence.

Afin d'augmenter ou de diminuer le contraste entre 2 tissus différents, en fonction de leurs caractéristiques de T1 et T2, une séquence d'IRM fixe 2 paramètres de durée : le temps de répétition (TR) et le temps d'écho (TE).

Le TR est l'intervalle de temps entre deux impulsions RF successives (c'est-à-dire RF de 90° en SE et RF de α° en GE). Il conditionne la relaxation des $\vec{M}_z$ des tissus explorés, qui dépend de leurs T1 respectifs. Plus le TR est long et plus les relaxations des $\vec{M}_z$ sont complètes (les $\vec{M}_z$ tendent vers leur maximum). Le raccourcissement du TR pondère l'image en T1, c'est-à-dire que pour des tissus ayant des T1 différents, la mesure rapide de la relaxation de leur $\vec{M}_z$ respectif permet d'obtenir une image avec un fort contraste entre ces 2 tissus. À chaque répétition, une ligne de l'espace des k est remplie, grâce à un codage de phase différent.

Le TE est l'intervalle de temps entre l'impulsion RF initiale (90° en SE et α° en GE) et le recueil de l'écho. La décroissance des $\vec{M}_{xy}$ se fait suivant les constantes de temps T2 propres à chaque tissu. L'allongement du TE pondère l'image en T2, c'est-à-dire que pour des tissus ayant des T2 différents, la mesure retardée de la décroissance de leur $\vec{M}_{xy}$ respectif permet d'obtenir une image avec un fort contraste entre ces 2 tissus.

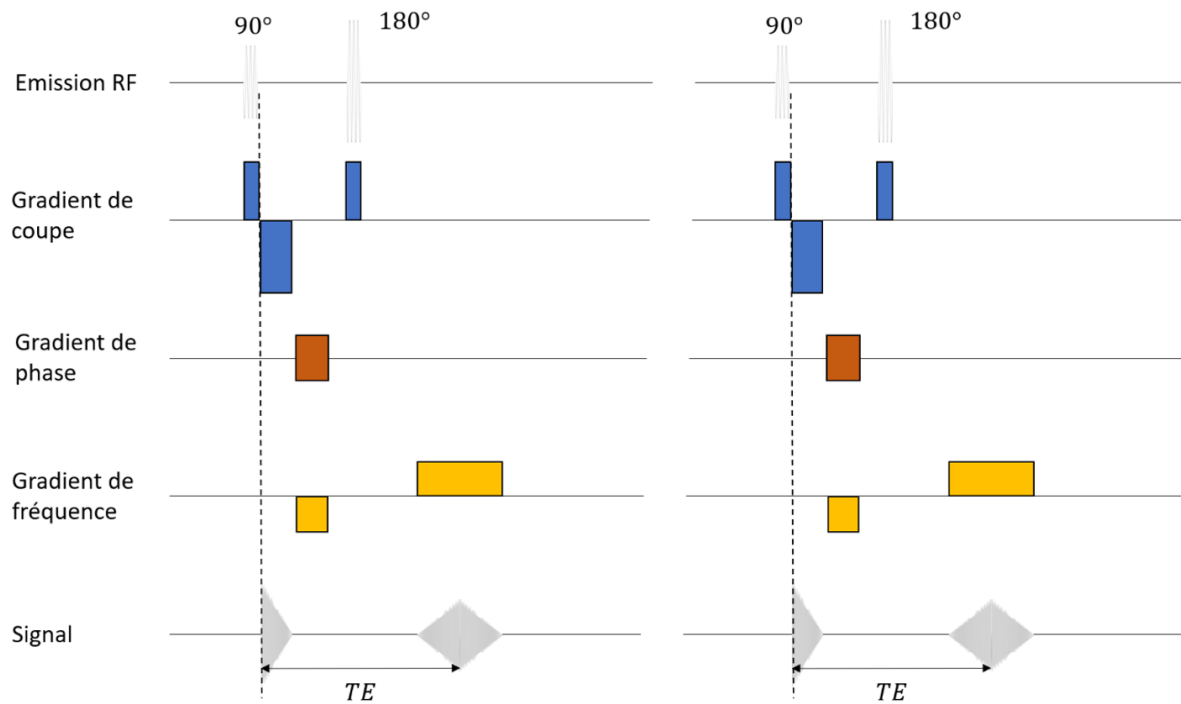


Figure 1.13: Chronogramme d'une séquence IRM en écho de spin.

Une première impulsion radiofréquence (RF) de 90° suivit d'une seconde impulsion de 180° de rephasage puis la lecture du signal au temps d'écho (TE). Cet enchaînement est répété à chaque intervalle de temps TR (Temps de Répétition). Crédit : D. Lanéelle, d'après J. Vion-Dury "Cours de résonance magnétique".

La séquence « SE » est la première séquence utilisée historiquement, elle permet d'obtenir des images pondérées en T1 utilisées en clinique et également pondérées en T2 mais au prix d'une durée d'acquisition peu compatible avec une utilisation en routine (Figure 1.13).

A l'inverse les séquences GE permettent un TR court car une impulsion RF initiale de α° (angle inférieur à 90°) diminue la bascule de $\vec{M}$. Le retour à l'équilibre s'effectue plus rapidement car $\vec{M}_z$ reste positive. Les TR et les TE peuvent être réduits, tout comme la durée totale d'acquisition (Figure 1.14). Lorsque α diminue, $\vec{M}_z$ résiduelle augmente et le temps nécessaire à sa relaxation complète raccourci. Lorsque α augmente on se rapproche des conditions de la séquence SE classique.

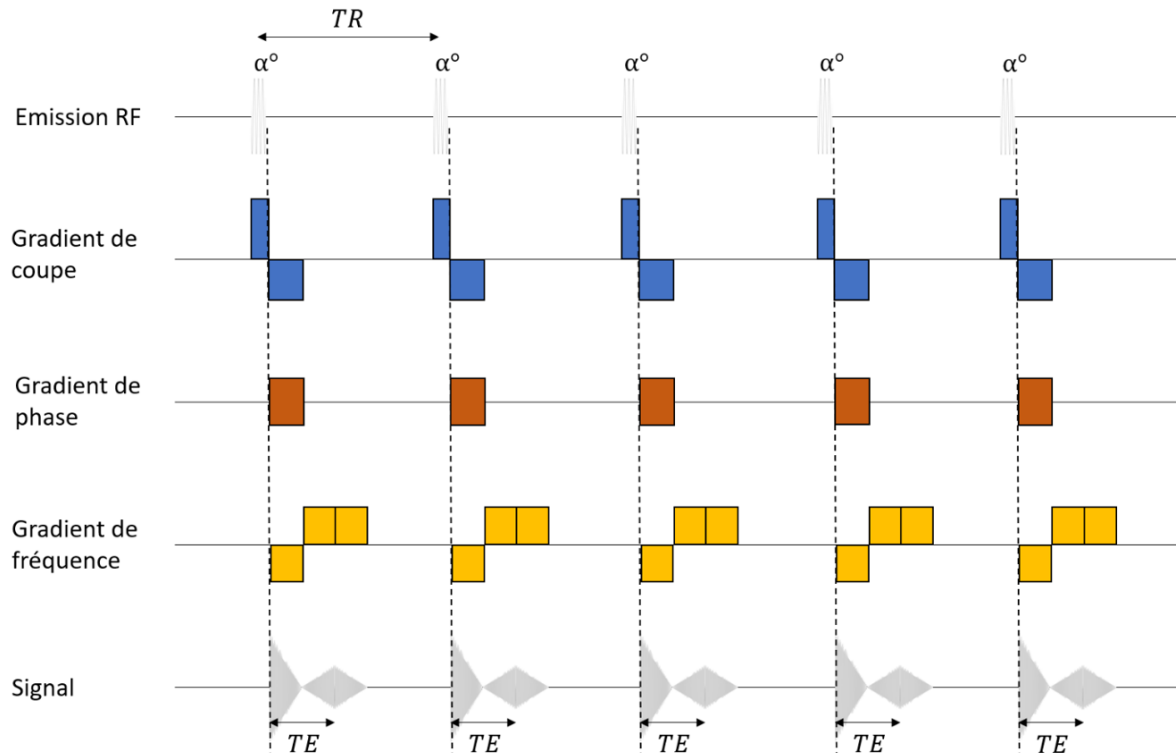


Figure 1.14: Chronogramme d'une séquence IRM en écho de gradient.

Une première impulsion radiofréquence (RF) de α° sans impulsion de rephasage puis la lecture du signal au temps d'écho (TE). Cet enchaînement est répété à chaque intervalle de temps TR (Temps de Répétition).

Crédit : D. Lanéelle, d'après J. Vion-Dury "Cours de résonance magnétique".

Le déplacement du sang dans les vaisseaux est à l'origine d'artéfacts et de perturbations du codage spatial en IRM. Avec des séquences adaptées ces phénomènes de flux sont utilisés pour visualiser les vaisseaux sans injection de produit de contraste. Plusieurs techniques dites d'angiographie de résonance magnétique (ARM) exploitent le flux sanguin pour obtenir un signal vasculaire tout en annulant le signal des protons stationnaires environnants. Contrairement à la tomodensitométrie ou l'acquisition se fait coupe par coupe et la reconstruction d'un volume consiste à empiler les coupes, les spécificités du codage spatial en IRM permettent l'acquisition directe d'un vrai volume en 3D.

Deux techniques d'ARM dont 2 sont utilisées dans ce travail :

- le temps de vol (ou TOF pour Time-of-flight) en utilisant les modifications liées au déplacement du volume sanguin, qui ne sera pas soumis à l'ensemble des impulsions radiofréquences contrairement aux tissus stationnaires,
- le contraste de phase (ou PC pour Phase Contrast) en exploitant le déphasage de l'aimantation transversale des spins mobiles soumis à un gradient.

Ces 2 techniques utilisent des séquences dérivées de séquences GE pondérées T1.

ANGIOGRAPHIE DE RÉSONNANCE MAGNÉTIQUE PAR TEMPS DE VOL

L'ARM par TOF optimise des séquences GE pour privilégier le signal vasculaire par rapport à celui des tissus environnants. Les TR sont très courts, cela limite la relaxation $\overrightarrow{M_z}$ des tissus environnants qui reste faible ou nulle : ces tissus sont dits saturés. Les spins du sang présents dans la coupe sont aussi excités par l'impulsion de sélection de coupe mais les spins du sang entrant dans la coupe au temps TR ne l'ont pas été, $\overrightarrow{M_z}$ du sang est maximale (Figure 1.15) [29]. Le signal provenant du flux

sanguin en ARM par TOF est élevé mais soumis à des variations en fonction de la vitesse (plus les flux sont rapides plus $\overline{M_z}$ du sang est élevé), du type de flux (plus le flux est laminaire plus le signal est important), de l'orientation du vaisseau (un vaisseau perpendiculaire à la coupe permet d'obtenir un meilleur signal), de l'épaisseur de la coupe (les flux lents sont saturés en cas de coupe trop épaisse) et de l'angle de bascule (un angle élevé permet une meilleure saturation des tissus stationnaires).

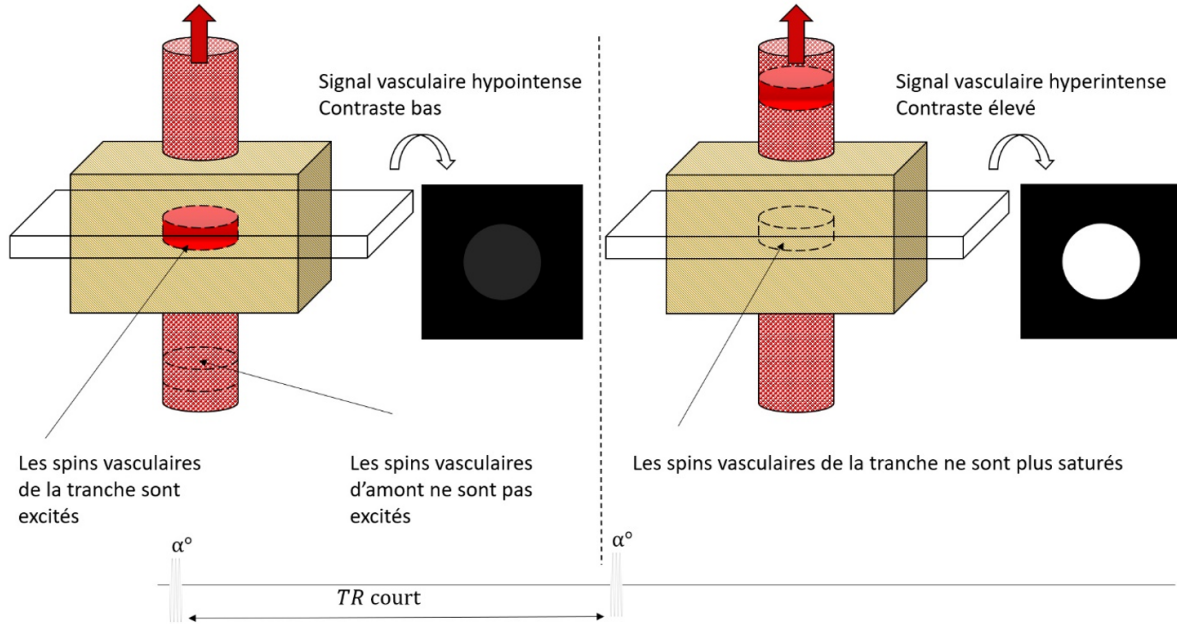


Figure 1.15: Angiographie de résonance magnétique par temps de vol.

La séquence est de type écho de gradient. En raison du flux sanguin, ici du bas vers le haut, les spins vasculaires excités dans le plan de coupe, ou tranche, sont remplacés entre 2 impulsions par des spins vasculaires qui n'ont pas été excités. Le temps de répétition (TR) court sature le tissu environnant qui est stationnaire. L'hypersignal vasculaire est d'autant plus marqué que la vitesse du sang est élevée. Crédit : D. Lanéelle, d'après J. Vion-Dury "Cours de résonance magnétique".

ANGIOGRAPHIE PAR CONTRASTE DE PHASE

L'ARM par PC donne accès à la quantification des vitesses et à l'estimation des débits sanguins en calculant le produit de la vitesse moyenne du sang (v_{moyenne}) par la section du vaisseau.

La technique repose sur le déphasage des spins mobiles (ici les spins du sang) soumis à un gradient magnétique perpendiculaire au flux. Ce déphasage est proportionnel à la vitesse des spins, à l'intensité du gradient et au carré du temps d'application du gradient selon la relation suivante :

$$\delta_{\varphi} = 2\pi \cdot \gamma \cdot G \cdot \delta_v \cdot \left(\frac{TE}{2} \right)^2$$

Avec δ_{φ} : Différence de phase, γ : rapport gyromagnétique (constante), G : Gradient appliqué, δ_v : distribution des vitesses, TE : temps d'écho.

Pour un gradient G d'intensité et de durée déterminées, le déphasage δ_{φ} des spins mobiles du sang se déplaçant dans l'axe du gradient permet de calculer la vitesse des spins et donc du sang. Les valeurs de phase possibles sont comprises entre -180° et $+180^\circ$. De manière similaire au doppler pulsé avec la PRF, l'opérateur doit régler la gamme de vitesse attendue (convertie en gradient d'encodage) de façon à éviter des phénomènes de repliement (aliasing) pour les vitesses élevées. L'acquisition en contraste de phase comprend des séquences avec et sans encodage des flux, dont sont issues les images en magni-

tude (aspect « anatomique » visualisant les lignes de flux) et en phase (aspect « quantitatif » : direction et vitesse des flux).

En pratique on réalise l'acquisition d'une paire d'images : une première image avec gradient de polarité positive puis une seconde acquisition en inversant l'ordre des lobes du gradient d'encodage. La soustraction des 2 images élimine les spins stationnaires et amplifie les spins en mouvement :

- le déphasage des spins stationnaires dû aux hétérogénéités de champ est identique dans les deux acquisitions et s'annule lors de la soustraction,
- les spins mobiles accumulent deux déphasages de sens opposé que la soustraction des images additionne.

On répète l'acquisition avec des gradients d'encodage de flux dans chacune des trois directions de l'espace et une acquisition supplémentaire sans gradient d'encodage de flux sert de référence. De même qu'en ARM par TOF les flux complexes ou turbulents entraînant une perte de signal.

L'ARTÉRIOPATHIE COMME MODÈLE DE VARIATION DE PRESSION PÉRIPHÉRIQUE

L'artériopathie oblitérante des membres inférieurs (AOMI) est une maladie vasculaire définie comme une obstruction partielle ou totale des artères des membres inférieurs qui entraîne une claudication (douleurs lors de la marche entraînant l'arrêt de cette dernière) et dans les formes sévères des douleurs de repos de l'avant-pied ainsi que des troubles trophiques [30]. Ces symptômes sont l'expression d'une ischémie tissulaire, c'est à dire le manque d'oxygénation nécessaire au fonctionnement musculaire et à la survie cellulaire [31]. La cause de cette obstruction est presque exclusivement l'athérome dont les facteurs de risques sont bien connus [32]. Cette maladie, sous-diagnostiquée et dont la prévalence augmente, atteint 200 millions de personnes dans le monde et près d'un million en France [33], [34].

L'examen paraclinique non-invasif de référence permettant le diagnostic et le suivi quantitatif de l'AOMI est historiquement la mesure de l'index de pression systolique (IPS) de cheville, c'est-à-dire le rapport de la pression artérielle mesurée à la cheville sur la pression artérielle systolique mesurée à la jambe. Dans le cadre de l'AOMI les recommandations sont de réaliser ces mesures de pression artérielle systolique à l'aide d'un sphygmomanomètre pour la compression artérielle et d'un doppler continu pour identifier le retour du flux sanguin dans l'artère d'aval [35]. Cependant le principe du sphygmomanomètre, comme exposé plus haut, dépend de la déformabilité de la paroi de l'artère qui, si elle est rigide, ne permet plus d'évaluation fiable de la pression qui règne à l'intérieur.

Or, en raison du vieillissement de la population et de l'augmentation de la prévalence du diabète, un nombre croissant de situation clinique entraîne la rigidification des artères de jambes par un phénomène de calcification pariétale appelée médiacalcosse (la média étant la couche intermédiaire de la paroi artérielle). Cette rigidification rend la mesure de l'IPS de cheville peu pertinente en routine pour le dépistage et le suivi de l'AOMI chez ces patients [36].

D'autres outils de mesure de pression permettent de poser le diagnostic en évaluant la pression de manière plus distale telles que la pression d'orteil qui utilise un brassard digital associé à une méthode de détection photopléthysmographie ou encore la mesure de pression transcutanée en oxygène, cependant la diffusion et l'utilisation de ces outils sont inconnues et habituellement rapporté comme faible [37]. En parallèle l'échographie doppler s'est largement diffusée et a permis de structurer la spécialité de médecine vasculaire autour d'un outil non invasif, non irradiant et rentable, permettant de répondre rapidement à des problématiques simples (maladie artérielle ou non, occlusion, sténose). L'échodoppler permet de quantifier de façon fiable un degré de sténose (sensibilité de 85%-90% et spécificité supérieure à 95% pour les sténoses supérieures à 50%) cependant il ne permet pas de quantifier l'AOMI de façon objective et globale [38].

La mesure du débit artériel du membre pourrait être intéressante à l'avenir [39], [40] cependant sa mesure en échodoppler est peu reproductible avec un coefficient de variation (le rapport entre l'écart-type et la moyenne) de 37% pour l'artère fémorale commune et jusqu'à 47% pour l'artère poplitée [41].

De nombreux paramètres objectifs existent pour décrire de façon quantitative un sonogramme de flux artériels, obtenu en doppler continu ou pulsé, tel que l'index de résistance, le temps d'ascension systolique ou l'index de pulsatilité. Néanmoins ces éléments sont rarement rapportés dans les comptes-rendus médicaux et leur utilisation n'est pas recommandée dans le suivi ou le dépistage de l'AOMI [42]–[44].

Pour autant ces mêmes recommandations évoquent parfois la possibilité de recourir à l'analyse de sonogramme mais il s'agit alors d'une analyse binaire (flux normaux ou anormaux) ou d'une analyse complémentaire et ces recommandations ne précisent à aucun moment les modalités de cette analyse :

- recommandations de la société européenne de cardiologie : « En cas d'artères jambières incompressibles des méthodes alternatives comme l'analyse de sonogramme [...] peuvent être utilisées » [42],
- recommandations de la société européenne de médecine vasculaire : « En cas de pressions jambières invraisemblables [...] l'évaluation du sonogramme est une mesure complémentaire valable pour le diagnostic d'AOMI, [...] l'aspect monophasique du sonogramme est associé à la présence de lésions aorto-iliaque avec une valeur prédictive positive de 92% » [43],
- recommandation du collège américain de cardiologie : « En cas d'AOMI connue et d'artères incompressibles, dans un contexte d'ulcère ou de gangrène, la mesure de l'index de pression d'orteil associée à l'analyse du sonogramme peut être utile pour évaluer la perfusion locale » [44].

De plus il existe plusieurs classifications de sonogramme dont la pertinence clinique reste peu ou pas évaluée, les plus décrites étant :

- la classification de Spronk à 4 catégories : triphasique, biphasique, monophasique, autre [45],
- la classification de Descotes et Cathignol à 5 catégories : type N, I, II, III, IV suivant la sévérité de l'AOMI [46],
- la classification de Saint-Bonnet à 13 catégories : N, A, B, CD, E pouvant être associées à la présence d'un flux diastolique non nul (noté CF), FA, U et O pour occluse [47],

Il faut noter également plusieurs tentatives de standardisation de l'analyse de sonogramme récentes, après le début de cette thèse, tel que :

- le consensus des sociétés américaines de médecine vasculaire et d'ultrason vasculaire : « Les éléments majeurs de la description d'un sonogramme artériel sont la direction, la phase (monophasique ou multiphasique) et la résistance (élevée, modérée, faible) » [48],
- le consensus des sociétés françaises de médecine vasculaire et de chirurgie endovasculaire : « Nous suggérons que la classification de Saint-Bonnet soit utilisée pour décrire les sonogrammes et que les catégories C, D et E [...] soient considérées comme pathologiques » [49].

Néanmoins ces consensus américain et français s'appuient sur un nombre limité d'études cliniques et ne proposent pas de valeurs objectives tel que les vitesses, l'index de résistance ou de pulsatilité pour la description de sonogramme. La problématique était donc double au moment du lancement de ce travail de thèse :

- l'absence d'éléments dans la littérature scientifique permettant de standardiser l'analyse de sonogramme,
- le besoin d'un outil utilisable en clinique, donc simple et rapide, permettant de remplacer les mesures de pression de cheville pour la quantification objective de l'AOMI.

En pratique de nombreux médecins vasculaires en France réalisent une description plus ou moins précise des sonogrammes artériels, avec ou sans l'aide d'une classification, sans que nous connaissions réellement les modalités de cette pratique, l'apport de ces descriptions et la reproductibilité de ces classifications.

Nous avons donc souhaité explorer ces différents aspects de l'analyse de sonogramme artériel.

Dans les travaux qui vont suivre l'ensemble des sonogrammes proviennent d'enregistrement artériels des membres inférieurs chez des sujets sains ou malades, en doppler continu ou en doppler pulsé.

Description de sonogramme et apport d'une classification

Dans ce premier travail publié en 2020, nous nous sommes intéressés à la variabilité des termes utilisés pour décrire un sonogramme artériel et l'apport d'une classification en terme de réduction de cette variabilité [50]. Cette hétérogénéité a déjà été décrite en France mais sur un effectif réduit et uniquement avec des étudiants peu expérimentés [51]. Il existe plusieurs classifications de sonogramme différentes et celle à 4 catégories (de Spronck) semble être la plus diffusée. Cette classification a servi de méthode d'évaluation des pratiques de soignants pour la description de sonogramme en 2008 aux Etats-Unis [52]. Nous avons voulu confirmer ces éléments avec un effectif plus important et avec des échographistes expérimentés.

Lors d'une conférence nationale d'échographie les participants ont été invités à décrire trente sonogrammes artériels comme ils le feraient dans le cadre de leurs activités professionnelles. Après avoir visionné la présentation d'une classification en 4 catégories (« triphasique », « biphasique », « monophasique » et « autre »), les participants ont été invités à décrire à nouveau ces sonogrammes : 15 sonogrammes artériels obtenus au doppler continu (CW) et 15 sonogrammes obtenus au doppler pulsé (PW). Nous avons repris les mêmes sonogrammes que ceux de 2008 proposés par Scissons dans sa publication afin de pouvoir comparer les résultats. Les réponses des participants ont été enregistrées, l'hétérogénéité des descriptions entre la première et la seconde session de description a été analysée à l'aide d'un test des rangs signé de Wilcoxon.

Un total de 97 participants ont décrit les flux avec et sans la classification suggérée. Le nombre de description différente pour chaque flux était en moyenne de 40.1 ± 8.0 sans la classification et de 3.4 ± 0.8 ($p < 0.05$) avec la classification suggérée, le taux de bonne réponse était de 76% avec la classification. Cette répartition était identique que les sonogrammes soient enregistrés en doppler continu ou en doppler pulsé.

Ce travail permet de conclure que les descriptions des sonogrammes sont très variables, en doppler pulsé comme en doppler continu, et que cette variabilité diminue avec l'utilisation d'une classification. Cette étude illustre l'importance d'utiliser des classifications de sonogramme pour homogénéiser les descriptions des sonogrammes artériels.

Wen, C., Gao, M., Fu, Y., Zhao, R., Tong, Y., Scissons, R., Lanéelle, D., & Mahé, G. (2020). A high variability of arterial Doppler waveform descriptions exists in China. *Vascular medicine*, 25, 221–222.DOI: 10.1177/1358863X20903808

BACKGROUND

Doppler ultrasound is standardly used for non-invasive evaluation of peripheral artery disease (PAD). The analysis of Doppler ultrasound waveforms provides a method for detecting and evaluating arterial stenosis in peripheral arteries (1, 2). We have previously demonstrated in France that there is significant heterogeneity of description of Doppler waveforms by vascular residents (3). However, the heterogeneity of describing Doppler waveforms was significantly reduced when using a 4-item Doppler classification (3, 4). This study aimed to assess the heterogeneity of Doppler waveforms description among Chinese ultrasound specialists and the impact of the use of a 4-item Doppler classification.

METHODS

During a national annual ultrasound congress in Beijing (May 5-6th, 2019) ultrasound specialist attendees were invited to fill an online questionnaire developed by Scissons (5). The questionnaire contained thirty Doppler waveforms (3). Attendees were invited to describe 30 Doppler waveforms as they would in their usual clinical practice (first round) and then using a four-item classification (triphasic, biphasic, monophasic, and others) (second round). This study was validated by the ethical committee of Rennes (France) and registered on clinicaltrials.gov (NCT03827512). The Wilcoxon signed-rank test was used to compare the heterogeneity of descriptions between the first and the second

round. Comparisons of correct answers (in percent) were compared using the chi-squared test. Statistical analyses were made using R software (Vienna, Austria, [http:// www.R-project.org](http://www.R-project.org)). A two-tailed p-value < 0.05 was considered as statistically significant.

RESULTS

A total of 209 participants from 23 provinces in China were included in the study: 128 in the first round, 178 in the second; 97 participated in both rounds. The median number of years working in vascular ultrasound was 7 [4–7] years. There were 198 medical doctors and 11 sonographers. Among the 209 participants, 10, 59 and 140 worked in a primary hospital, secondary hospital, and tertiary hospital, respectively. In the first round, among 128 participants, the average number of terms used to describe the 30 Doppler waveforms was 51.2 ± 10.5 . Among the 97 participants who participated in both the first and second rounds, the average number of different descriptions was 40.1 ± 8.0 for the interpretation without classification compared to 3.4 ± 0.8 ($p < 0.05$, Figure 2.1) with the suggested four-item classification.

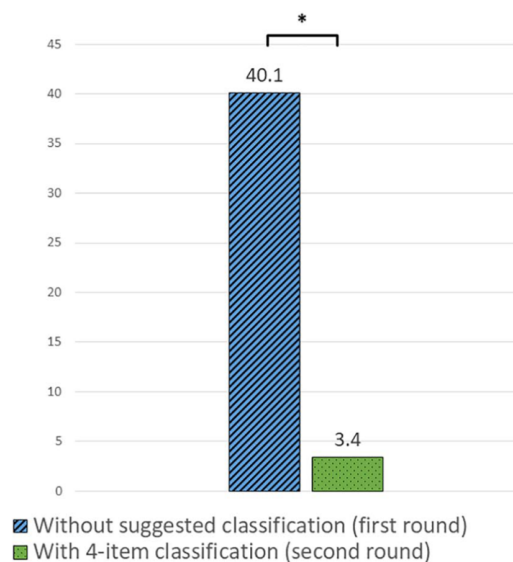


Figure 2.1: Hétérogénéité de description des sonogrammes : classification à 4 catégories. Nombre de descriptions différentes d'un sonogramme par 97 sonographistes. Moyenne sur 30 sonogrammes. *: $p < 0,05$.

An average of 76% (range 9–100%) of Doppler waveforms were correctly identified by the 97

participants who participated in both rounds. There was no statistical difference between the average identification rate of PW and CW ($p > 0.05$).

DISCUSSION

Scissons has previously reported that the description of Doppler waveforms is an issue in the United States of America (5). Our previous work realized in France found also that there was a huge heterogeneity in the description on the Doppler waveforms (3). There are several possible explanations. First, there is no international consensus defining the different Doppler waveform profiles, despite the fact that Doppler waveform analysis is recommended in the diagnosis of PAD (6). Second, as shown by Nicolaïdes and Yao (7), the same word can be used for the description of different Doppler waveforms. This contributes to maintain the confusion in ultrasound practice. In the present study, the percentage of correct answers (76%) was similar to the one previously reported by Scissons (74%), suggesting a similar level of vascular ultrasound knowledge between our participants and American sonographers (5). The number of correct answers is slightly lower than the one reported among French residents, but the number of participants was low ($n=19$) (3). Finally, from the results of the present study we also suggest that the number of different answers is statistically reduced when using a classification, as previously found (3). It might be interesting to see if similar results are found with other classifications, such as the Saint-Bonnet or Descotes classification (1, 2, 9).

CONCLUSION

To conclude, the results of the present study highlight the heterogeneity of descriptions of Doppler waveforms by Chinese ultrasound specialists and strongly suggest that the use of a dedicated classification can reduce the number of terms used for the description of Doppler waveforms. This improvement of reporting Doppler waveforms and the high percentage of correctly classified waveforms when using a predefined set of terms illustrate that there is an urgent need to standardize Doppler waveform descriptions in order to improve the clinical management of pa-

tients with PAD. Such harmonization of waveform descriptions will not be achieved just by bringing out additional recommendations – it requires effort and special attention in the initial vascular training program, continuous training of vascular physicians, and training on simulators, preferably with an online tool.

plex waveform at the common femoral artery for diagnosing obstructive aortoiliac disease. *J Vasc Surg.* 2005;42:236–42.

REFERENCES

1. Mahé G, Boulon C, Désormais I, Lacroix P, Bressollette L et al. College of the French Vascular Medicine Teachers statement: Arterial Doppler waveforms analysis, simplified Saint-Bonnet classification. *J Med Vasc.* 2018 Jul; 43(4):255-261. doi: 10.1016/j.jdmv.2018.05.002.
2. Mahé G, Boulon C, Desormais I, Lacroix P, Bressollette L, Guilmot J-L, et al. Statement for Doppler waveforms analysis. *VASA Z Gefasskrankheiten.* 2017;1–9.
3. Omarjee L, Stivalet O & Hoffmann C, et al. Heterogeneity of Doppler waveform description is decreased with the use of a dedicated classification. *Vasa* 2018; 47(6):471–474.
4. Scissons R & Comerota A. Confusion of Peripheral Arterial Doppler Waveform Terminology. *J Diagn Med Sonogr.* 2009;25:185–94.
5. Scissons R. Characterizing Triphasic, Biphasic, and Monophasic Doppler Waveforms: Should a Simple Task Be So Difficult? *J Diagn Med Sonog* 2008;24:269–276.
6. Gerhard-Herman MD, Gornik HL, Barrett C, Barshes NR, Corriere MA & Drachman DE, et al. 2016 AHA/ACC Guideline on the Management of Patients With Lower Extremity Peripheral Artery Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation.* 2017;135:e726–79.
7. Nicolaides, Andrew N; Yao, James S T. Investigation of vascular disorders. New York : Churchill Livingstone, p 543. 1981.
8. Descotes J & Cathignol D. Classification of changes in circulatory rate in the arteries of the lower limbs. Transcutaneous measurement by Doppler effect. *Nouv Presse Med.* 1975;4:2091–3.
9. Spronk S, den Hoed PT, de Jonge LCW, van Dijk LC & Pattynama PMT. Value of the du-

Reproductibilité inter-observateur d'une classification de sonogramme

Pour cette analyse nous avons repris les résultats de l'étude américaine publiée en 2008, qui évaluait les capacités de 97 soignants à décrire les sonogrammes artériels à l'aide d'une classification à 4 catégories. L'analyse initiale ne rapportait pas la reproductibilité inter-observateur et les données semblaient intéressantes car le recueil incluait la profession des participants (étudiant, paramédical, médecin).

Nous avons donc fait une nouvelle analyse des réponses des 97 soignants pour évaluer la reproductibilité inter-observateur en fonction de la profession du soignant [53].

La reproductibilité inter-observateur globale était très faible ($\kappa=0.378$). En sélectionnant uniquement les descriptions des médecins la reproductibilité restait très faible ($\kappa=0.329$) et faible pour les paramédicaux ($\kappa=0.462$).

Cette étude permet de conclure que la reproductibilité inter-observateur de la classification de sonogramme en 4 catégories est faible à très faible et que la profession de l'échographiste ne modifie pas de manière majeure cette reproductibilité.

Lanéelle D, Scissons R, Mahé G. Inter-observer reliability of a 4-item Doppler ultrasound waveforms classification based on a retrospective analysis of American data among ultrasound professionals. Vasa 2020;49:341–342

BACKGROUND

The analysis of Doppler ultrasound velocity waveforms (DW) provides a method for evaluating the peripheral arterial disease (PAD) severity, however there is significant heterogeneity in this DW description (1, 2) and different classifications have been proposed, in particular the 4-item classification (3): Triphasic: three phases—forward flow, flow reversal, and a second forward component Biphasic: two phases—one forward flow and one reverse component Monophasic: single phase—forward flow with no reverse flow component Other: when the DW does not correspond to any previous item.

METHODS

The inter-observer reliability of this 4-item DW classification is not known and this study aims to assess this reliability among American ultrasound professionals based on a previously published practice survey. We analyzed the responses of American ultrasound professionals to a questionnaire developed by Scissons in 2008 to calculate an inter-observer reliability of 4-item arterial Doppler Classification (4). The questionnaire requested general information about the participants and contained thirty DW, displayed for 15 seconds, during which participants must score one of the predefined waveform descriptors noted above (triphasic, biphasic, monopha-

sic, other). We calculated inter-rater reliability between the attendees for the arterial DW classification through the Kappa coefficient of Fleiss (κ) with interpretations of values according to McHugh (5): 0.21-0.39: minimal; 0.40-0.59: weak; 0.60-0.79: moderate; 0.80-0.90: strong; > 0.90: perfect. We performed the analysis using R v3.0.1 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). Probability and coefficients were expressed using a 95% confidence interval. A p value < 0.005 was considered as statistically significant.

RESULTS

Ninety-seven participants were included in the study: 22 sonography students, 25 physicians and 50 paramedics with various certifications or diplomas. Average number of years working in vascular ultrasound field among physicians and paramedics was 13 years ± 8 (respectively 8 years ± 5 and 15 years ± 8). Kappa coefficient of Fleiss (κ) classification of the 97 American attendees' raters is 0.378 ($p < 0.005$). With only sonography professionals (regardless responses of students) $\kappa=0.402$ ($p < 0.005$). The inter-rater reliability of the arterial DW classification for each classification category and occupation is showed in Table 2.1.

Table 2.1: Reproductibilité d'une classification de sonogramme en fonction de la profession.

Category	κ of Student	κ of Physician	κ of Paramedic	Global κ
N°	22	25	50	97
Monophasic	0.399* [0.387-0.411]	0.493* [0.490-0.497]	0.551* [0.547-0.555]	0.493* [0.489-0.497]
Biphasic	0.238* [0.227-0.248]	0.230* [0.228-0.233]	0.369* [0.364-0.374]	0.281* [0.283-0.479]
Triphasic	0.361* [0.357-0.365]	0.355* [0.349-0.361]	0.615* [0.609-0.620]	0.450* [0.445-0.455]
Other	0.241* [0.237-0.245]	0.185* [0.184-0.186]	0.246* [0.244-0.249]	0.224* [0.218-0.230]
Global classification	0.319* [0.324-0.324]	0.329* [0.326-0.333]	0.462* [0.457-0.468]	0.378* [0.371-0.385]

κ : Coefficient Kappa de Fleiss , N° : Nombre de participants. *: $p < 0.005$ (comparaison avec l'hypothèse nulle $\kappa = 0$)

DISCUSSION

This is the first study that assesses the inter-rater reliability of an arterial DW classification, considered as minimal among students and weak among professionals. It has been shown several times that it is important to use a classification to reduce the heterogeneity of DW descriptions (2) but the next step is to find a classification with the best reliability. A better agreement would be expected for a classification with only 4 categories. The category "Other" obtained the worse result ($\kappa=0.224$) with a reliability that can be considered as minimal whereas the reliability of the "triphasic" or "monophasic" categories was better but stayed weak (respectively $\kappa=0.455$ and $\kappa=0.493$). This inter-rater reliability has to be weighed since the attendees were mostly using it for the first time and were therefore unfamiliar with it. However, congress attendees and students are people who are interested in the vascular field and this has allowed us to have the results that probably reflect the reliability of 4-item DW classification in the USA in the late 2000s. Better reliability could be expected with sonographers trained with this classification. Other DW classifications exist such as the classification of Cathignol et Descotes (5 categories) and the Saint-Bonnet classification (3) (12 categories) but their respective reliabilities have not been evaluated yet. Finally, the estimation of intra-observer reproducibility could not be achieved but was not the objective of this work.

CONCLUSION

The inter-rater reliability of 4-item arterial DW classification among 30 DW and 97 sonographers' raters is minimal to weak. The present study shows the importance to assess the reliability of DW classifications to choose the most reliable for standardization of medical reporting.

REFERENCES

1. Omarjee L, Stivalet O, Hoffmann C, Scissons R, Bressollette L, Mahé G, et al. Heterogeneity of Doppler waveform description is decreased with the use of a dedicated classification. *Vasa*. 2018;471-474.
2. Wen C, Gao M, Fu Y, Zhao R, Tong Y Scissons R, et al. A high variability of arterial Doppler waveform descriptions exists in China. *Vasc Med*. 2020;221-222.
3. Mahé G, Boulon C, Desormais I, Lacroix P, Bressollette L, Guilmot J-L, et al. Statement for Doppler waveforms analysis. *Vasa*. 2017;1-9.
4. Scissons R. Characterizing Triphasic, Biphasic, and Monophasic Doppler Waveforms: Should a Simple Task Be So Difficult? *J Diagn Med Sonog* 2008;24:269-276.
5. McHugh ML. Interrater reliability: the kappa statistic. *Biochem Med*. 2012;22(3):276-82.

Reproductibilité d'une classification de sonogramme en fonction de l'expérience

Le travail présenté ci-dessous reprend les données du premier papier concernant la description des sonogrammes en évaluant la reproductibilité inter-observateur de la classification à 4 catégories et le taux de bonne réponse en fonction de l'expérience de l'échographiste [54].

Il s'agit donc des mêmes données que précédemment obtenues lors d'une conférence nationale d'échographie où les participants ont été invités à décrire trente sonogrammes artériels comme ils le feraient dans le cadre de leurs activités professionnelles. Après avoir visionné la présentation d'une classification en 4 catégories (triphasique, biphasique, monophasique et autre), les participants ont été invités à décrire à nouveau ces sonogrammes : 15 sonogrammes artériels obtenus au doppler continu (CW) et 15 sonogrammes obtenus au doppler pulsé (PW). Leurs réponses ont été enregistrées, la reproductibilité de cette classification a été estimée par l'analyse du Kappa de Fleiss.

Cent soixante-dix-huit participants ont pris part à l'analyse de reproductibilité. Le coefficient de Kappa de Fleiss (κ) pour tous les participants était de 0,522 ($p < 0,005$) avec un intervalle de confiance à 95 % (IC) : 0,520-0,523. La reproductibilité de la catégorie « triphasique » était la plus élevée ($\kappa=0,621$, $p < 0,005$), et celle de la catégorie « Autre » était la plus faible ($\kappa=0,341$, $p < 0,005$). Il n'y avait pas de différence de reproductibilité entre les flux enregistrés en doppler continu et ceux enregistrés en doppler pulsé et pas de différence de taux de bonne réponse que les échographistes soient expérimentés ou non.

Ce travail permet de conclure que la reproductibilité inter-observateur de cette classification de sonogrammes artériels en 4 catégories par des échographistes est faible ($\kappa=0,522$, IC95% : 0,520-0,523, $p < 0,005$) et que l'expérience de l'échographiste n'a pas d'impact. Cette étude illustre l'importance d'évaluer la reproductibilité des classifications de sonogramme.

Zhao R, Lanéelle D, Gao M, Fu Y, Tong Y, Scissons R, Wen C and Mahé G (2020) Inter-rater Reliability of 4-Item Arterial Doppler Waveform Classification System for Description of Arterial Doppler Waveforms. Front. Cardiovasc. Med. 7:584274. DOI: 10.3389/fcvm.2020.584274

BACKGROUND

Doppler ultrasound is routinely used for the non-invasive evaluation of lower extremity peripheral artery disease (PAD) and arterial Doppler waveform (DW) analysis provides a subjective method for categorizing arterial disease (1). In extremities at rest, Doppler waveforms are reflective of high resistive vascular beds. In the absence of PAD, arterial Doppler waveforms are multiphasic with high forward flow during systole, flow reversal in early diastole, and a smaller forward flow component in late diastole (2). As the severity of PAD increases the forward flow component in late diastole is lost and the DW progresses from a biphasic (two phase) to monophasic (single phase) waveform pattern (3). The absence of diastolic flow reversal is an important element in the noninvasive diagnosis of diseased blood vessels (4). For low-resistant vascular beds such as the brain, kidneys and liver, Doppler waveforms display continuous

forward flow and the presence of atherosclerotic disease is assessed by changes in mean velocity and systolic acceleration ratio (5).

While arterial DW analysis is commonly used for the categorization of PAD severity (6), waveform definitions are not standardized and have contradictory characteristics for the same waveform descriptor in literature (7). These inconsistencies have perpetuated confusion in DW classification by vascular ultrasound professionals and other medical care providers (8). Studies have demonstrated there is significant heterogeneity in DW descriptions of physicians and residents, which can be significantly reduced with standardized waveform nomenclature (8,9). A 4-category arterial DW classification (triphasic, biphasic, monophasic and others) has previously been reported (10), however, the reliability of this classification has only been studied on small and

heterogeneous population in the United States (USA) and remains unknown in China. This study aims to assess the reliability of this classification among Chinese sonographers.

METHODS

This study was validated by the ethical committee of Rennes (France) and registered on clinicaltrials.gov (NCT03827512). During a 2019 national ultrasound congress in Beijing, attendees were invited to evaluate the reliability of a 4-category DW classification. Attendees were not selected and freely chose to answer the questionnaire. A DW survey previously developed and used in the USA study was presented to attendee (10). The survey depicted thirty Doppler waveforms: 15 PW and 15 CW arterial Doppler waveforms (supplemental material figure 1). Each CW and PW waveform group had 10 normal (triphasic or biphasic), 4 abnormal (monophasic) waveforms with varying levels of peripheral (outflow) resistance and 1 “other” waveform: a CW artery waveform with significant venous interference and a PW waveform within the neck of an arterial pseudoaneurysm.

Study Design. The 4-category Doppler waveform classification system was presented in Chinese prior to the online questionnaire. The classification method used the following predefined waveform descriptors:

- Triphasic: three phases—forward flow, flow reversal, and a second forward component
- Biphasic: two phases—one forward flow and one reverse component
- Monophasic: single phase—forward flow with no reverse flow component
- Other: waveforms considered neither triphasic, biphasic, nor monophasic or a waveform that could not be categorized.

After the waveform classification presentation made as on oral communication during the congress, an online questionnaire was provided. The questionnaire included general questions about their experience and the location where they practiced. The classification was displayed together with the questions to avoid a possible memory bias. DW images were of equal quality and remained on the conference presentation

screen for one minute each for a total of 30 minutes. All attendees proceeded to the next DW in the same time. Each Doppler waveform was numbered from 1 to 30 and attendees were invited to select one of the 4-category previously defined waveform descriptors via their mobile phone. The CW and PW waveforms were alternated and the responses entered into a database for correct answer comparison in accordance with the original presentation (10). Two answers were accepted as correct responses in four CW (waveform N° 5, 13, 27, 15) and five PW (waveform N° 6, 18, 20, 24, 28). “Other” was considered an incorrect response for all waveforms, excluding CW waveform N° 29 and PW N° 6.

Statistical Analysis. Results are expressed as a median (first to third quartile) for quantitative variables and percentage for categorical variables. Attendee DW inter-rater reliability was calculated using the Kappa coefficient of Fleiss (κ) with corresponding 95% confidence intervals (11). We performed a comparison of the number of correct responses between the most and least experienced group of attendees, defined by the median age of experience. We also performed a complementary analysis of reliability by merging the 2 sub-categories “triphasic” and “biphasic” that can be considered as “normal category”. Two different interpretations of Kappa values were used: 1) Landis and Koch and 2) McHugh (12,13), the latter is considered a more stringent methodology. While the Landis and Koch use: 0.21-0.40: fair; 0.41-0.60: moderate, 0.61-0.80: substantial; >0.80: almost perfect reliability, the McHugh method uses: 0.21-0.39: minimal; 0.40-0.59: weak; 0.60-0.79: moderate; 0.80-0.90: strong; > 0.90: almost perfect. The analysis was performed using R software version 3.0.1 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria; www.R-project.org), with the package “irr” (14). Probability and coefficients were expressed using a 95% confidence interval; correct responses (in percent) were compared using the Chi-squared test. The p value of < 0.005 was considered statistically significant.

RESULTS

One hundred seventy-eight attendees with 1 to 33 years of ultrasound vascular experience and

representing 23 Chinese provinces were included in the study.

Table 2.2: Classification de 30 sonogrammes à l'aide d'une classification à 4 catégories.

N°	Tri	Bi	Mono	Other	correct responses
1	0	15	137	26	77%
3	175	2	0	1	98%
5	138	25	12	3	92%
7	3	6	165	4	93%
9	15	159	1	3	89%
11	2	166	1	9	93%
13	53	5	0	120	33%
15	12	151	7	8	89%
17	0	2	115	61	65%
19	6	154	2	16	87%
21	8	33	124	13	19%
23	0	3	156	19	88%
25	2	17	145	14	10%
27	134	26	1	17	90%
29	1	3	1	173	97%
2	3	39	131	5	74%
4	163	1	0	14	92%
6	2	99	2	75	98%
8	141	16	8	13	79%
10	1	20	145	12	81%
12	10	36	129	3	20%
14	43	84	4	47	47%
16	11	163	0	4	92%
18	46	72	5	55	66%
20	150	22	1	5	97%
22	3	134	31	10	75%
24	9	135	17	17	85%
26	4	34	113	27	63%
28	4	35	136	3	96%
30	0	31	77	70	43%

N° : numéro du sonogramme, pour 15 sonogrammes en doppler pulsé (numéros pairs) et 15 sonogrammes en doppler continu (numéros impairs) selon les catégories : "triphasique", "biphasique", "monophasique" et "autre".

The median number of years working experience in vascular ultrasound was 7 years (first quartile - third quartile: 3 - 13 years).

Correct responses: the designated correct CW and PW responses and the average percentage of triphasic, biphasic, monophasic, and "other" responses by all attendees are presented in Table 2.2. The mean average of correctly identified waveforms was 74% (range 10–98%). The maximum value was 98% for CW waveform N° 3 and PW waveform N° 6. The minimal values were 10 % for CW waveform N° 25 and 20% for PW waveform N° 12. No statistical differences were noted between averages for all PW and CW Doppler waveforms ($p > 0.005$).

There was no significant difference in correct responses between the group with more than 7 years of experience and the group with 7 years of experience or less.

Reliability of 4-category arterial Doppler Classification. The Kappa coefficient of Fleiss for 178 attendees was 0.522 (CI95%: 0.520-0.523, $p < 0.005$). The inter-rater reliability for classifications in each category is presented in Table 2.3

Table 2.3: Reproductibilité inter-observateur d'une classification de sonogramme à 4 catégories.

Category	κ [CI95%]
Monophasic	0.591* [0.589-0.593]
Biphasic	0.481* [0.480-0.482]
Triphasic	0.631* [0.629-0.633]
Other	0.341* [0.340-0.342]
Global classification	0.522* [0.520-0.523]

κ : coefficient Kappa de Fleiss , CI95% : Intervalle de confiance à 95%, *: $p < 0.005$ (comparaison avec l'hypothèse nulle $\kappa = 0$)

A post hoc analysis was carried out by merging the "biphasic" and "triphasic" categories: similar inter-rater reliability was found with a reliability for this new category of $\kappa=0.559$ (CI95%: 0.557-0.561, $p < 0.005$).

DISCUSSION

In our investigation, the 4-category classification system produced "moderate" or "weak" inter-rater interpretation reliability ($\kappa=0.522$, CI95%:

0.520-0.523, $p < 0.005$). Previous investigations have demonstrated the importance of having a definitive classification system to reduce the heterogeneity of DW descriptions (8-10). To prevent DW characterization from being excessively discriminatory the classification system should not be too restrictive, e.g., normal and abnormal (two categories). Conversely, a classification system with an excessive number of DW descriptors might create confusion and the potential for DW characterization overlapping into more than one category.

The “moderate” or “weak” inter-rater reliability in our study was surprising. While we believe the more stringent guideline as offered by McHugh may be more appropriate for clinical data or healthcare research, we believe a 4-category system produces greater agreement. There was “substantial” or “moderate” agreement with the triphasic descriptor ($\kappa = 0.631$, CI95%: 0.629-0.632) and slightly less ($\kappa = 0.591$, CI95%: 0.589-0.593) using the monophasic term. The biphasic waveform descriptor, however, was less reliable ($\kappa = 0.481$, CI95%: 0.479-0.482) and “fair” or “minimal” reliability ($\kappa = 0.341$, CI95%: 0.338-0.344) when using “Other” suggests this waveform descriptor term should be avoided.

The inter-observer reliability noted in this study should be weighed with consideration that congress attendees were using the 4-category classification system for the first time. Improved reliability should be expected when sonographers became more familiar with the 4-category classification method, however, this assumption remains to be validated. Additionally, the waveform classification presentation exhibited to the attendees was made with schematic Doppler waveforms. It is likely that inter-observer reliability would improve if actual clinical waveforms were used instead of a pedagogical presentation. While other waveform classification methods have been proposed: Cathignol et Descotes (5-categories) and Saint-Bonnet (12-categories) (3,15), their interpretive reliability has also not been evaluated.

Of particular interest is the percentage of correct DW responses in this study. Conference atten-

dees in China correctly identified 74% of the presented waveforms, which is remarkably similar (73%) to a previous study published in 2008 in the United States (10).

Comparisons in terms of reliability is difficult between the American study and the present Chinese study because the American population was smaller ($n=97$) and included three different categories of healthcare professionals (students; physicians with an average à 8 years of experience and sonographers with an average of 15 years of experience). Moreover, the initial study did not include an analysis of reliability with a kappa value but simply a count of the correct answers. An additional analysis was performed to obtain an objective kappa value (16). The reliability of the overall population was poorer ($\kappa = 0.378$). Reliabilities for the 25 students without experience, for the 23 physicians with an average of 8 years (± 5) of experience and for the 24 sonographers with an average of 15 years (± 8) of experience were $\kappa = 0.319$, $\kappa = 0.329$, and $\kappa = 0.462$, respectively. If we only compare the reliability of the American sonographer subgroup ($\kappa = 0.462$) with that of our study ($\kappa = 0.522$), we observe that it is quite similar.

Another study among French vascular medicine residents using the same arterial DW questionnaire found a higher percentage of correct responses (82%) but with a small sample size. Of interest the reliability of the classification was not evaluated in this study due to a too small sample size ($n=19$) (8). The high rate of good response can be explained by the fact that vascular medicine residents were familiar with the Doppler waveform analysis during the initial vascular medicine training. The strength of our study compared to previous work is to evaluate the reliability of this classification over a large and homogenous sample in terms of occupation and experience. A first American consensus about Doppler waveform interpretation has just been released in July 2020 to try to clarify the way of reporting Doppler waveforms in clinical practice but it did not address the reliability of Doppler waveform analysis (17).

Study limitations. The primary limitation of this study is that attendees from different parts of China were unfamiliar with the presented 4-category DW classification method. Additionally, the attendee presentation used a mixture of CW and PW waveforms from the original 2008 investigation (10). Second, in the absence of reliability calculations in previous studies, we did not calculate the number of subjects required. This is a relative limitation of this survey but the present study can be considered as a pilot study. Third, Doppler waveforms were also presented without medical context, patient age of and the arterial bed being examined. Fourth, we did not investigate how DW classification can changed patient's management. The impact of arterial DW on clinical management remains an issue. We believe a reliable waveform classification system should incorporate the medical context and vascular bed being examined. Fifth, we did not assess the attendees' knowledge of the classification prior to the presentation. However, to our knowledge, this classification is not taught in China. Finally, while the estimation of intra-observer reliability was not achieved this was not the primary purpose of this study.

CONCLUSION

The inter-rater reliability of a previous reported 4-category arterial Doppler waveform classification method among Chinese sonographers was considered weak ($\kappa = 0.522$, $p < 0.005$). This study reinforces the importance of assessing DW categorization reliability and the development of DW descriptors that are more accurately predictive of clinical hemodynamic events.

REFERENCES

1. Strandness DE. Transcutaneous ultrasonic imaging in peripheral vascular diseases. *Am J Card Imaging* 1993;7:99–108
2. Shehada RE, Cobbold RS, Johnston KW, Aarnink R. Three-dimensional display of calculated velocity profiles for physiological flow waveforms. *J Vasc Surg* 1993;17:656–660
3. Mahé G, Boulon C, Desormais I, Lacroix P, Bressollette L, Guilmot JL, et al. Statement for Doppler waveforms analysis. *Vasa* 2017;5:337–345
4. Spronk S, den Hoed PT, de Jonge LC, van Dijk LC, Pattynama PM. Value of the duplex waveform at the common femoral artery for diagnosing obstructive aortoiliac disease. *J Vasc Surg* 2005;2:236–242
5. Schulte-Altedorneburg G, Droste DW, Felszeghy S, Csiba L, Popa V, Hegedüs K, et al. Detection of carotid artery stenosis by in vivo duplex ultrasound: correlation with planimetric measurements of the corresponding postmortem specimens. *Stroke* 2002;10:2402–2409
6. Gerhard-Herman MD, Gornik HL, Barrett C, Barshes NR, Corriere MA, Drachman DE, et al. AHA/ACC Guideline on the Management of Patients With Lower Extremity Peripheral Artery Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation* 2017;135:726–779
7. Nicolaides, Andrew N; Yao, James S T. Investigation of vascular disorders. New York : Churchill Livingstone, 1981
8. Omarjee L, Stivalet O, Hoffmann C, Scissons R, Bressollette L, Mahé G, et al. Heterogeneity of Doppler waveform description is decreased with the use of a dedicated classification. *Vasa* 2018;6:471–474
9. Wen C, Gao M, Fu Y, Zhao R, Tong Y, Scissons R, et al. A high variability of arterial Doppler waveform descriptions exists in China. *Vasc Med* 2020;23:1–2
10. Scissons R. Characterizing Triphasic, Biphasic, and Monophasic Doppler Waveforms: Should a Simple Task Be So Difficult? *J Diagn Med Sonog* 2008;24:269–276
11. Fleiss J. Measuring Nominal Scale Agreement among Many Raters. *Psychological Bulletin* 1971;5:378–382
12. Landis JR, Koch GG. The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. *Biometrics* 1977;1:159–174
13. McHugh ML. Interrater reliability: the kappa statistic. *Biochem Med* 2012;22(3):276–282
14. IRR: Various Coefficients of Interrater Reliability and Agreement. Gamer. <https://cran.r-project.org/web/packages/irr/index.html>. Published January 22, 2012. Accessed May 15, 2020

15. Descotes J, Cathignol D. Classification of changes in circulatory rate in the arteries of the lower limbs. Transcutaneous measurement by Doppler effect. *Nouv Presse Med* 1975;4:2091–2093
16. Lanéelle D, Scissons R, Mahé G. Inter-observer reliability of a 4-item Doppler ultrasound waveforms classification based on a retrospective analysis of American data among ultrasound professionals. *Vasa*. (2020) 49:435–2.
17. Kim ES, Sharma AM, Scissons R, Dawson D, Eberhardt RT, Gerhard-Herman M, et al. Interpretation of peripheral arterial and venous Doppler waveforms: A Consensus Statement from the Society for Vascular Medicine and Society for Vascular Ultrasound. *Vasc Med*. 2020.

Étude des pratiques d'analyses de sonogramme en France

Dans les travaux précédents nous avons exploré les pratiques d'échographistes aux Etats-Unis d'Amérique ainsi qu'en Chine. Cette évaluation concernait l'utilisation et la reproductibilité d'une classification à 4 catégories pour la description de sonogramme.

Dans l'étude présentée ci-dessous et publiée en 2021, nous nous sommes intéressés aux pratiques des médecins vasculaires en France concernant l'utilisation des classifications les plus fréquentes à 4, 5 ou 13 catégories ainsi que l'étude de la reproductibilité de la classification de Saint-Bonnet à 13 catégories, proposée plus récemment.

Pour ce faire nous avons organisé une enquête auprès de tous les médecins vasculaires adhérents à Société Française de Médecine Vasculaire. Ils étaient invités par email à consulter un site internet présentant 20 sonogrammes différents ; une première fois avec la consigne de décrire les sonogrammes selon leurs pratiques habituelles et une seconde en utilisant la classification de Saint-Bonnet à 13 catégories qui était rappelée à chaque sonogramme. Ils devaient également répondre à des questions générales sur leurs exercices professionnels (lieu, mode, ancienneté, ...). Les descriptions des sonogrammes lors de la première visualisation permettaient d'identifier à l'aide d'une analyse sémantique la classification utilisée ou la non utilisation d'une classification. Lorsqu'une classification était utilisée nous avons évalué son taux de déviance, défini comme le pourcentage d'utilisation de termes complémentaires venant s'ajouter aux catégories prévues par la classification (ex : « monophasique bien pulsé », « type 2 diastolisé », « stade A avec amortissement »). Les descriptions des sonogrammes lors de la seconde visualisation permettaient l'évaluation de la reproductibilité inter-observateur de la classification à 13 catégories à l'aide du kappa de Fleiss.

Au total 110 médecins vasculaires ont participé : plus de la moitié (55%) n'utilise pas de classification dans leur pratique habituelle. Parmi les médecins restants la classification la plus utilisée est celle à 4 catégories (31%) suivi de celle à 5 catégories (10%) et enfin celle à 13 catégories (5%) avec des taux de déviance de respectivement 88%, 82% et 5%. En analyse multivariée, l'utilisation d'une classification était associée avec un nombre d'année d'expérience inférieur et avec la localisation géographique.

En conclusion les médecins vasculaires français n'utilisent majoritairement pas de classification pour décrire les flux artériels qu'ils rencontrent au quotidien. La reproductibilité inter-observateur de la classification à 13 catégories de Saint-Bonnet est faible à modérée mais présente un taux de déviance bas.

Lanéelle, D., Guillaumat, J., Trihan, J. E., Pottier, C., Omarjee, L., Mahé, G., & SFMV PAD Study Group (2021). Inter-rater Reliability of a 13-Category Arterial Doppler Waveform Classification and Practice of French Vascular Physicians. Frontiers in cardiovascular medicine, 8, 640838. DOI: 10.3389/fcvm.2021.640838

BACKGROUND

Arterial Doppler ultrasound is commonly used for non-invasive diagnosis of peripheral artery disease (PAD) (1) and analysis of Doppler ultrasound waveforms (DW) is a proficient method for evaluating the disease severity (2). Indeed, the aspect of the DW at rest, below an arterial lesion is the hemodynamic result of several components: the vessel wall compliance, the direct effect of the stenosis or occlusion, and the distal vasodilatation level. There is significant heterogeneity in the DW description, leading to confusion among

care providers but which can be significantly reduced by the use of a DW classification (3–5). Different classifications have been proposed, some with 4 categories (6), others with 5 (7) or 13 categories (8) but reliability of this DW classification is either unknown or weak to moderate for the one with the fewest categories as shown among American and Chinese care givers (9, 10). Furthermore, the practices of caregivers performing ultrasounds remain unknown with respect to the use of the 3 main classifications (Spronk classi-

fication (4-category), Descotes (5-category) and Saint-Bonnet (13-category)) in France.

This study aims to assess the inter-observer reliability of the 13-category DW classification. The secondary objective was to determine the utilization rate of the most common classifications. In addition, there appears to be a misuse of classifications with few categories, prompting physicians to add one or more terms to the initial categories to improve the description. This misuse, contrary to the initial purpose of standardization and reduction of variability, has never been described or quantified and is also the subject of this work.

METHODS

All vascular physicians who are members of French society of vascular medicine (SFMV) were invited to participate by email. This study was validated by the ethical committee of Rennes, France (n° 1818) and registered on clinicaltrials.gov (NCT03827512).

A 3-step online questionnaire based on arterial DW record (supplementary material) was presented on the website of the SFMV. The first part consisted of general questions: the localization and years of practice, the practitioner's age and mode of practice (hospital, private practice, mixed activity). The second part of the questionnaire presented 20 DW with a free text area to describe in a few words the aspect of the DW as it would be described in a medical report. The arterial flows were presented with the usual settings (scrolling speed at 66mm/s) without precision on the recording conditions (insonation angle, gate width, and probe type) considered as optimal. The heterogeneity of descriptions was defined by the number of different descriptions for the same DW. The third part of the questionnaire assessed the inter-observer reliability of the 13-category classification. The same DWs that were presented in part 2 were shown but this time with the display of a 13-category classification (Saint-Bonnet). In this part, physicians were asked to describe DW using the Saint-Bonnet classification. The total response time to this questionnaire was 15-20 minutes.

We previously selected the DW to cover all possible situations encountered in common clinical practice. A semantic analysis allowed us to classify the physicians' responses according to the terms used. Three different classifications were identified from the responses to describe the waveform: Spronk (4-category), Descotes (5-category) and Saint-Bonnet (13-category). In the free interpretation, the Saint-Bonnet classification could be used as well as the others, whereas in the third part of the questionnaire, only the Saint-Bonnet classification had to be used by all the participants.

Classification by Spronk is comprised of four waveform categories and described as follows in the original publication (6):

- Triphasic: three phases—forward flow, flow reversal, and a second forward component
- Biphasic: two phases—one forward flow and one reverse component
- Monophasic: single phase—forward flow with no reverse flow component
- Other: when the DW does not correspond to any previous category.

Classification by Descotes was proposed in 1975 and suggests five types in diagnosing an arterial obstruction. The various types (from type 0 or N to type 4) are described as follows in the original publication (7):

- Type 0 or N: normal profile
- Type 1: Disappearance of the reflux wave and the second positive wave
- Type 2: lengthening of the time of descent of the positive wave
- Type 3: lengthening of the time of descent and ascent, disappearance of the interval between 2 successive waves
- Type 4: severe deterioration preceding the occlusion, very low speed, difficult to record

The simplified Saint-Bonnet classification was proposed in 2017, comprises eight types, and allows considering the continuous character of the flow (mentioned with the abbreviation CF) for 13 total categories. The various types are described as follows in the original publication (11):

- Stage N: short ascent time, short descent time, the negative diastolic component, the positive diastolic rebound and the return to baseline
- Stage A: the disappearance of positive diastolic rebound
- Stage B: the disappearance of the negative diastolic component
- Stage CD: Increase in fall time and systolic rise time with the presence of a “blunted” systolic peak
- Stage E: Loss of signal phase
- Stage 0: No waveform
- Stage FA: short rise time and short fall time followed by a long diastolic negative component (False aneurysm DW),
- Stage U: when the DW does not correspond to any previous category

If the signal does not return to the baseline, the flow is said to be continuous (CF) and can be encountered at all stages of classification (except for the Saint-Bonnet 0, U and FA stages). We have also differentiated, by response, the use of the classification in its original form or the addition of a detailed information (adverb, precision, object complement).

We considered that the caregiver used the Spronk classification if their descriptions contained “monophasic”, “biphasic” “triphasic” and “sharp”, “poor” or “blunted” to characterize the waveforms. We considered that the caregiver used the Descotes classification if their responses contained from type 0 to type 4. We considered that the caregiver used the Saint-Bonnet Classification if their responses contained from type A to type E and type U, FA, 0 and the mention CF. A physician was considered to be a user of a classification when 50% of his or her responses were related to it.

The use of a classification was considered to deviate from its original form if it contained other elements of description like the use of an adverb, adjective or other detailed information (good, satisfactory, correct, fair, average, moderate, extensive, bad, slightly, little, enough, partially, clearly, discreet, damped, tardus, delayed, parvus, attenuated, parvus et tardus, rebound, notch, ample,

resistive, non-laminar, dispersion, turbulent, disordered, chaotic).

Statistical analysis: Results are expressed in mean $\pm$ standard deviation or as a percentage. When the mean does not allow the expression of the dispersion of the quantitative data, they are expressed as a median with [first quartile - third quartile]. Wilcoxon-test was used to compare the heterogeneity of descriptions between the free interpretation and that with suggested Saint-Bonnet classification. We calculated inter-rater reliability between the physicians for the arterial DW classification through the Kappa coefficient of Fleiss (K). The reliability of this classification was estimated by Fleiss’ Kappa expressed with [95% confidence interval]. Two different interpretations of kappa values were used: that of Landis and Koch, which is the most used (12) and that of McHugh (13), which is more stringent. The Landis and Koch interpretation: 0.21-0.40: fair; 0.41-0.60: moderate, 0.61-0.80: substantial; >0.80: almost perfect. The McHugh interpretation: 0.21-0.39: minimal; 0.40-0.59: weak; 0.60-0.79: moderate; 0.80-0.90: strong; > 0.90: almost perfect. We performed the analysis using R software version 3.0.1 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria; www.R-project.org), with the package “irr” (14). Multivariable logistic regression analyses after univariate feature selection (forward stepwise) were used to identify the factors explaining the differences in the use of classification by physicians. A p value < 0.05 was considered as statistically significant.

RESULTS

Participation: Of the 1936 solicitations sent out, 380 vascular physicians (19.6%) responded and 110 of those responses (5.6%) were complete and analyzable. These 110 vascular physicians had a hospital activity in 38% of cases, a private practice in 48% and a mixed activity in 14%. They were from different parts of France with 1 to 48 years of ultrasound experience. Median number of years working in vascular ultrasound was 13 years [5-24]. The characteristics of the population are presented in Table 2.4.

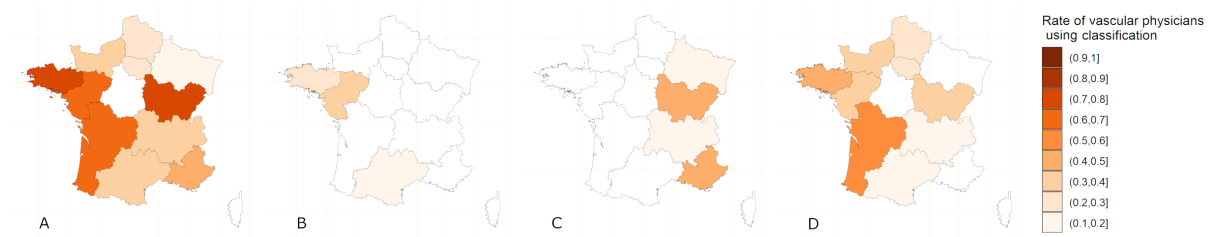


Figure 2.2: Utilisation des classifications de sonogramme en France par les médecins vasculaires.

A : toutes classifications confondues. B : 13 catégories. C : 5 catégories. D : 4 catégories.

Practice of French vascular physicians: The semantic analysis of the spontaneous responses shows that 54% percent of vascular physicians used no classification at all. They used Spronk (4-category) classification for 31% of them, the Descotes (5-category) classification for 10% and the classification of Saint-Bonnet (13-category) in 5% (Figure 2.2).

Table 2.4: Caractéristiques démographiques des médecins vasculaires français inclus.

Variables	n = 110
Age	45 ± 11
Ultrasound experience	15 ± 10
Male Sex	71%
Hospital Activity	40%
• Local hospital	15%
• University hospital	25%
Private or mixed practice	60%
• Worked alone	23%
• Group practice	26%
• Private clinic	8%
• Other	3%

Les résultats sont exprimés sous forme de moyenne avec ($\pm$) écart-type ou de pourcentage (%).

For the Descotes, Spronk and Saint-Bonnet classifications, supplemental information was given in 82%, 88%, and 5% respectively ($p < 0.005$).

In univariate analysis, there is a significant difference in the use of classification between vascular physicians according to the age, year of experience, practice activity and localization but no difference according to the gender. The multivariate analysis showed that only experience (the use of a classification is inversely proportional to

the age of exercise) and localization (the use of a classification is associated with region of exercise) had a significant influence on the use or not of either classification (Table 2.6).

Inter-rater reliability of Saint-Bonnet classification: Fleiss' Kappa (κ) for 110 French vascular physicians using Saint-Bonnet classification concerning 20 DW was 0.546 [0.544-0.547] ($p < 0.001$). Inter-rate reliability among categories varies between κ of 0.075 and 0.864 and is shown in Table 2.5.

Table 2.5: Reproductibilité inter-observateur d'une classification de sonogramme à 13 catégories.

Category	κ [CI95%]
N	0.591* [0.617-0.619]
N-CF	0.434* [0.429-0.439]
A	0.864* [0.862-0.867]
A-CF	0.387* [0.384-0.390]
B	0.586* [0.585-0.587]
B-CF	0.243* [0.240-0.247]
CD	0.460* [0.455-0.566]
CD-CF	0.622* [0.620-0.624]
E	0.463* [0.459-0.566]
E-CF	0.702* [0.701-0.703]
FA	0.621* [0.620-0.623]
U	0.075* [0.055-0.096]
Global classification	0.546* [0.544-0.547]

κ : coefficient Kappa de Fleiss, CI95% : Intervalle de confiance à 95%. Reproductibilité évaluée pour 20 sonogrammes par 110 médecins vasculaires. *: $p < 0.0001$ (comparaison avec l'hypothèse nulle $\kappa = 0$)

Table 2.6: Utilisation d'une classification en fonction des caractéristiques des médecins.

Physician characteristics	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	OR (95% CI)	p-value	OR (95% CI)	p-value
Gender		0.092		
- male	Reference		Reference	
- female	0.49 (0.21-1.12)	0.097		
Age (in years)	0.94 (0.91-0.98)	0.002		
Experience (in years)	0.93 (0.89-0.97)	0.002	0.94 (0.89-0.98)	0.003
Geographic location		0.040		0.021
Practice activity		0.023		0.104
- Private	Reference		Reference	
- Hospital	2.54 (1.14-5.84)	0.025	1.36 (0.50-3.67)	0.104

OR : Odds Ratio, 95% CI : Intervale de confiance à 95%. Les variables "age" and "experience" étant collinéaires, nous avons seulement inclus dans le modèle multivarié la variable avec le plus haute significativité (l'expérience). Seul l'effet global de la localisation géographique est affiché sans l'OR par région

The average heterogeneity in case of free interpretation is 92.8 +/- 10.7. The use of the Saint-Bonnet classification allows to reduce the average heterogeneity to 6.1 +/- 2 (Figure 18).

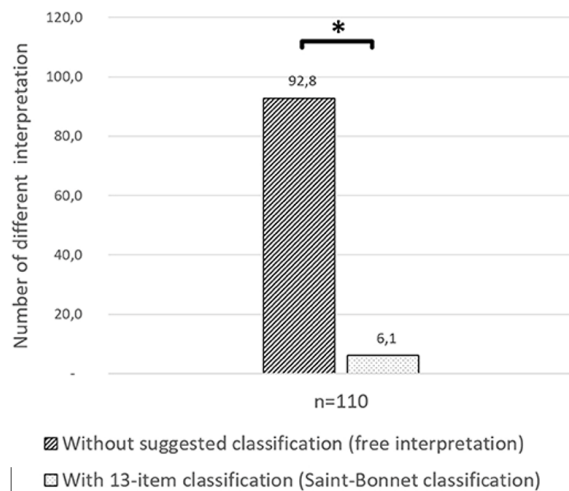


Figure 2.3: Hétérogénéité de description des sonogrammes : classification à 13 catégories. Nombre de descriptions différentes d'un sonogramme par 110 médecins vasculaires. Moyenne sur 20 sonogrammes. *: $p < 0,05$.

DISCUSSION

This is the first study assessing the reliability of 13-category Saint-Bonnet classification in a whole country. It has already been noted the importance of the use of a any classification to reduce the heterogeneity of DW descriptions and

this work confirms previous data obtained with other classifications and in other countries (3–5). However, the classification should not be too restrictive to avoid the risk of not being discriminatory (with only two categories at the extreme: normal and abnormal). Conversely, excessive multiplication of categories can lead to confusion and possible assignment of a DW to two different categories.

This Saint-Bonnet classification is the classification taught in France for the past 2 years for the vascular residents but which is not part of the continuing education program for practicing physicians (8). It contains 13 categories that allow a better classification of the DW than other classification (15). In the present study, the reliability is considered as weak to moderate ($\kappa = 0.546$ [0.544-0.547], $p < 0.005$) in vascular caregivers unfamiliar with this Saint-Bonnet classification. Reliability of a 4-category classification has been studied among Chinese and American populations and the inter-rater reliability is minimal to moderate, κ ranged from 0.402 to 0.522 (9, 10). It can be noted that, in spite of a large number of choices, the Saint-Bonnet classification does not seem less reliable than a 4-category classification. The "U" category obtained the worst result ($\kappa = 0.075$) with a zero reliability, although reliabilities of the "A" or "E-CF" categories were

strong (respectively $\kappa = 0.864$ [0.861-0.892] and $\kappa = 0.702$ [0.698-0.707]). It is possible that the use of the “U” category, which corresponds to a DW that cannot be classified in any other category and therefore does not correspond to any well-established hemodynamic pattern, does not bring any benefit with respect to the initial purpose: standardization and reduction of the heterogeneity of the DW descriptions. This “weak” or “moderate” inter-rater reliability should be regarded with caution since the vascular physicians were using this thirteen category Saint-Bonnet classification for the first time and were therefore unfamiliar with it. Indeed, only 5% were familiar with the Saint-bonnet classification. The explanation is that this classification was recently adopted by the French Vascular Medicine teachers. Unfortunately, it was not possible to assess the reliability of the classification in this small subgroup of physicians who were familiar with the saint-Bonnet classification. We would expect a better reliability in physicians or sonographers familiar with this classification. This remains to be studied.

This study also highlights the practices and the description of DW by French vascular physicians of which 54% do not use any classification, 31% use Spronk and 10% use Descotes. The lesser use of the Saint-Bonnet classification is probably related to its more recent description (2017) compared to that of Descotes and Spronck (1975 and 2005, respectively). Nevertheless, these “old” classifications are not used “as there were initially described” and physicians almost systematically (88% for Spronk and 82% for Descotes) add one or more terms to the category to characterize the DW description (example: slightly damped biphasic, continuous monophasic, type 2 resistive). This misuse, contrary to the initial objective of the classification, increases the heterogeneity of the DW descriptions. The Saint-Bonnet classification does not seem to be subject to this misuse since very few (5%) complementary terms are added to the category by physicians, making it a classification of choice for standardizing DW descriptions but this should be confirmed in a larger sample of users.

Of interest we also assessed the reasons of the variability of the use of the classifications. The geographical variability in the use of classification is probably related to the habits of training locations. These results confirm that the description of DW is an issue in the vascular field and this is a barrier to the homogeneity of vascular analyses and the use of Doppler ultrasound in common vascular explorations as well as in clinical research. Regarding the use of a classification based on experience, it should be noted that in previous decades, medicine was less standardized and recommendations were rarer and less disseminated. We can therefore hypothesize that older practitioners have not been trained in the use of DW classifications. Another hypothesis is that with experience comes the conviction that accurate DW classification, although allowing standardization of practice, is of little clinical interest. This is the first time that such data about the use of Doppler waveforms is published demonstrating the issue of the homogenization of the teaching on a whole country. Similar issues were found for ABI and pressures measurements in France (16, 17).

Furthermore, the 13-category classification of Saint-Bonnet is used by only 5% of the participants, which is expected for a classification that has been described for only 4 years, and should rapidly see an increase in its use due to its adoption by French vascular medicine teachers. In this context, it might be interesting to evaluate the methods of teaching a classification to vascular physicians, a specialty in its own right, recently individualized in France (18). It also has the added benefit of being a predictive marker of maximum walking distance (11). A first American consensus about Doppler waveform interpretation has just been released in July 2020 to try to clarify the way of reporting Doppler waveforms in clinical practice but it did not address the reliability of Doppler waveform analysis (19). We must also mention a risk that will have to be avoided in the future: that the Saint-Bonnet classification will not be massively adopted by vascular physicians leading to the coexistence of 3 distinct classifications and that users of the last classification will contribute to the heterogeneity of practices. The

best way to avoid this risk is through continuing education but also to prove the relevance of this classification for the stratification of vascular risk or patient management. Finally, we can hope that the use of deep learning type artificial intelligence techniques will quickly help us in the description of DWs.

Study Limitation. The main limitation of this study is that we have selected the DW to get a representative panel, but these DW were not drawn at random. In addition, in the previous American and Chinese studies, the reliability estimates of the 4- category classification was not carried out with these same DW, which complicates the comparison (9, 10). Moreover, DW were presented without medical context. This is a limitation related to the objective of establishing a classification of DW, independently of the medical context, the age of the patient and implicitly, the arterial bed examined. Another limitation of this study is the participation on a voluntary basis, potentially selecting vascular physicians already sensitized and interested in the subject. We believe that a good classification should be independent of the medical context or vascular beds and should not state whether the DW is normal or abnormal. Finally, we were not able to study intra-observer reliability or make a comparison with a 5-category classification (like Descotes classification).

CONCLUSION

The inter-rater reliability of 13-category Saint-Bonnet arterial Doppler classification among 20 DW and 110 vascular physician raters is weak to moderate, however unlike the other classifications, it seems to be self-sufficient, meaning that it is sufficiently precise so that the user does not need to complete its description. There is a significant heterogeneity in the use of arterial Doppler classifications in France. These results encourage an assessment of the reliability of this classification in trained physicians and coordinated teaching of the most reproducible classification.

Acknowledgements The authors thank the vascular physicians for their participation in this study.

REFERENCES

1. Mahé G, Boge G, Bura-Rivière A, et al (2021) Disparities Between International Guidelines Concerning Lower Extremity Arterial Disease: Consensus of the French Society of Vascular Medicine and the French Society for Vascular and Endovascular Surgery. *Ann Vasc Surg* 72:1–56. <https://doi.org/10.1016/j.avsg.2020.11.011>
2. Gerhard-Herman MD, Gornik HL, Barrett C, et al (2017) 2016 AHA/ACC Guideline on the Management of Patients With Lower Extremity Peripheral Artery Disease: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 69:1465–1508. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.11.008>
3. Wen C, Gao M, Fu Y, et al (2020) A high variability of arterial Doppler waveform descriptions exists in China. *Vasc Med* 1358863X20903808. <https://doi.org/10.1177/1358863X20903808>
4. Omarjee L, Stivalet O, Hoffmann C, et al (2018) Heterogeneity of Doppler waveform description is decreased with the use of a dedicated classification. *VASA Z Gefasskrankheiten* 47:471–474. <https://doi.org/10.1024/0301-1526/a000724>
5. Scissons R (2008) Characterizing Triphasic, Biphasic, and Monophasic Doppler Waveforms: Should a Simple Task Be So Difficult? *J Diagn Med Sonogr* 24:269–276. <https://doi.org/10.1177/8756479308323128>
6. Spronk S, den Hoed PT, de Jonge LCW, et al (2005) Value of the duplex waveform at the common femoral artery for diagnosing obstructive aortoiliac disease. *J Vasc Surg* 42:236–242; discussion 242. <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2005.04.048>
7. Descotes J, Cathignol D (1975) Classification of changes in circulatory rate in the arteries of the lower limbs. Transcutaneous measurement by Doppler effect. *Nouv Presse Med* 4:2091–2093
8. Mahé G, Boulon C, Desormais I, et al (2017) Statement for Doppler waveforms analysis. *VASA Z Gefasskrankheiten* 46:337–345. <https://doi.org/10.1024/0301-1526/a000638>

9. Lanéelle D, Scissons R, Mahé G (2020) Inter-observer reliability of a 4-item Doppler ultrasound waveforms classification. *VASA Z Gefasskrankheiten* 49:518–519. <https://doi.org/10.1024/0301-1526/a000906>
10. Zhao R, Lanéelle D, Gao M, et al (2020) Interrater Reliability of 4-Item Arterial Doppler Waveform Classification System for Description of Arterial Doppler Waveforms. *Front Cardiovasc Med* 7:. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2020.584274>
11. Scissons R, Mahé G (2020) Saint-Bonnet waveforme classification allow better classification of a DW to 2 different categories. *VASA Z Gefasskrankheiten* xx:518–519. <https://doi.org/10.1024/0301-1526/xxxx>
12. Landis JR, Koch GG (1977) The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 33:159–174
13. McHugh ML (2012) Interrater reliability: the kappa statistic. *Biochem Medica* 22:276–282. <https://doi.org/10.11613/BM.2012.031>
14. Gamer M, Lemon J, Singh IFP (2019) irr: Various Coefficients of Interrater Reliability and Agreement. Universität Hamburg, Hamburg
15. Scissons R, Mahé G, Guilcher A (2020) Saint-Bonnet waveforme classification: predictive marker of maximum walking distance. *VASA Z Gefasskrankheiten* xx:518–519. <https://doi.org/10.1024/0301-1526/xxxx>
16. Lanéelle D, Hoffmann C, Stivalet O, et al (2019) Vascular medicine residents lack adequate training for limb pressure measurement: A nationwide survey in France. *Vasc Med* 24:452–454. <https://doi.org/10.1177/1358863X19867759>
17. Stivalet O, Omarjee L, Chaudru S, et al (2018) Noninvasive Peripheral Artery Disease Screening Tools: A Deficient Knowledge among French Vascular Residents from 4 Medical Schools. *Ann Vasc Surg* 47:134–142. <https://doi.org/10.1016/j.avsg.2017.07.040>
18. Arrêté du 21 avril 2017 relatif aux connaissances, aux compétences et aux maquettes de formation des diplômes d'études spécialisées et fixant la liste de ces diplômes et des options et formations spécialisées transversales du troisième cycle des études de médecine - Légifrance. <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000034502881/2020-04-28/>. Accessed 5 Nov 2020
19. Kim ES, Sharma AM, Scissons R, et al (2020) Interpretation of peripheral arterial and venous Doppler waveforms: A consensus statement from the Society for Vascular Medicine and Society for Vascular Ultrasound. *Vasc Med* 25:484–506. <https://doi.org/10.1177/1358863X20937665>

Conclusion de la première partie

Dans cette première partie nous avons évalué la reproductibilité de l'analyse de sonogramme par classification, étape préalable à la possible quantification hémodynamique de l'AOMI, caractérisée par une diminution de pression, sans mesurer cette pression artérielle de jambe. De plus des travaux récents suggèrent un intérêt de l'analyse de sonogramme pour simplifier la mesure de pression [56] ou pour prédire la distance de marche [57].

Nos résultats nous permettent de conclure que, malgré un intérêt clinique qui reste à démontrer, l'analyse de sonogramme artériel par classification :

- permet de diminuer logiquement l'hétérogénéité des réponses en doppler pulsé comme en doppler continu ;
- est utilisée par 46% des médecins vasculaire français ;
- présente une reproductibilité faible à très faible pour la classification la plus utilisée à 4 catégories ;
- présente une reproductibilité faible pour la classification la plus récente à 13 catégories ;
- présente une reproductibilité indépendante de la profession ou l'expérience de l'échographiste.

Ces éléments semblent similaires aux Etats-Unis et en Chine. A noter que, pour la France, la classification à 13 catégories de Saint-Bonnet présente un taux de déviance bas par rapport aux autre classification (5% contre 82 à 88%), c'est-à-dire que le médecin n'éprouve pas le besoin de compléter la classification qu'il utilise pour décrire le sonogramme.

Ces résultats encouragent à la poursuite de recherche pour identifier une méthode d'analyse du sonogramme plus reproductible. Plusieurs pistes sont envisagées ; l'apport de la reconnaissance automatique de sonogramme [58] ou la standardisation de mesures objectives (comme le temps d'ascension) à des endroits précis de l'arbre artériel [59].

En parallèle, d'autres recherches plus fondamentales doivent probablement être menées pour préciser les liens, complexes et intriqués, entre les données du sonogramme, vitesses et quantité de globule rouge par unité de temps, la pression artérielle, le diamètre des vaisseaux et les résistances vasculaires périphériques.

En effet, si l'on souhaite que l'analyse du sonogramme puisse quantifier de manière globale l'AOMI et remplacer la mesure de pression artérielle du membre (PA), cela passe probablement par l'étude de la corrélation entre ces 2 paramètres, dans des conditions standardisées fixant les valeurs de résistances vasculaires périphériques du membre inférieur (RVP_{MI}), de diamètre des artères et de pression du réseau veineux (PV), telles que les méthodes de calcul de débit d'un membre inférieur ($\dot{Q}_{MI}$) le laissent entrevoir :

$$\dot{Q}_{MI} = \frac{PA - PV}{RVP_{MI}} = v_{moyenne} \cdot \pi \cdot r^2$$

La standardisation de ces conditions de mesure fera l'objet de recherches ultérieures.

LES TRANSITIONS GRAVITATIONNELLES COMME MODÈLE DE VARIATION DE PRESSION CÉRÉBRALE

L'accélération gravitationnelle a été une contrainte fondamentale tout au long des quelques 4 milliards d'années de l'histoire de la Terre et a contribué à façonner l'évolution du système vasculaire des mammifères en général et des humains en particulier [60]. Notamment le maintien de la perfusion cérébrale en condition de normogravité fait appel à des mécanismes de régulation étendus et sophistiqués [61].

La suppression de ce stimuli gravitationnel en microgravité (abrégié 0G par commodité) dans l'espace est associée à une redistribution rapide des fluides des extrémités inférieures vers la tête et le thorax, avec œdème du visage, congestion nasale et réduction du volume des jambes, caractéristiques marquantes des vols spatiaux [62]. L'augmentation rapide du retour veineux entraîne une augmentation du débit cardiaque [63] sans élévation de la PAM [64] conséquence probable d'une vasodilatation systémique : les résistances vasculaires périphériques (RVP) diminuent de 20 à 25 % à la fois lors d'un vol parabolique et d'un vol spatial [65]. De plus les complications ophtalmiques en rapport avec la microgravité (aplatissement du globe, plissement de la choroïde et œdème du disque optique) connues sous le nom de syndrome neuro-oculaire associé aux vols spatiaux (ou SANS, l'acronyme anglais) sont identifiés par les agences spatiales internationales comme un sujet de recherche prioritaire pour les vols spatiaux de longue durée [66].

De plus, l'impact de la microgravité sur la fonction hémodynamique cérébrale demeure incertaine, avec des résultats contradictoires sur l'élévation du débit sanguin cérébral (DSC) et de la pression intracrânienne, compliquée en partie par les défis logistiques associés à la collecte de données, la petite taille des échantillons limitant la puissance statistique, l'absence de comparateurs de contrôle en normogravité et les techniques de mesure indirectes [67].

Aucune étude à ce jour n'a examiné l'impact de la microgravité sur la distribution du débit sanguin cérébral ni l'existence d'une éventuelle différence de régulation entre la circulation antérieure et postérieure, ce qui semble être le cas en normogravité [68]. De plus les artères cervico-céphaliques qui ne sont pas impliquées directement dans la vascularisation du cerveau n'ont jamais été étudiées dans ce contexte.

Nous nous sommes intéressés dans les travaux qui suivent à l'hémodynamique cérébrale en cas de stress systémique notamment celui lié aux transitions gravitationnelles ainsi qu'à l'impact des variations anatomiques sur la répartition du débit cérébral lors d'un stress équivalent.

Hémodynamique cérébrale lors de transitions gravitationnelles et impact neurovasculaire

Nous avons souhaité dans l'étude suivante analyser l'effet d'épisodes répétés de microgravité et d'hypergravité pendant un vol parabolique sur l'hémodynamique cérébrale et l'intégrité structurelle de l'unité neurovasculaire (NVU pour neuro vascular unit, défini comme l'ensemble des éléments cellulaires et moléculaires régulant l'interface entre le sang et le parenchyme cérébral).

Six participants (5 hommes, 1 femme) âgés de 29 ± 11 ans ont été examinés avant, pendant et après un vol parabolique de 3 heures et comparés à six sujets témoins (ne subissant pas de transitions gravitationnelles) appariés sur le sexe et l'âge (27 ± 6 ans). Le débit sanguin a été mesuré dans la circulation antérieure (artère cérébrale moyenne, ACM ; artère carotide interne, ACI) et postérieure (artère vertébrale, AV) en échographie doppler, en vol, au cours de 15 paraboles par sujet. Les analyses des radicaux libres (par spectroscopie de résonance magnétique), de l'oxyde nitrique (NO, par chimiluminescence à base d'ozone) et de l'intégrité des NVU (par chimiluminescence/ELISA de protéines spécifiques : GFAP, S100 β , NSE, NF-L, UCH-L1, Tau) ont été réalisées sur des échantillons sanguins prélevés en normogravité avant et après l'exposition aux 31 paraboles.

Alors que la vitesse de l'ACM et le débit de l'ACI n'ont pas changé ($P > 0,05$), une augmentation sélective du débit de l'AV a été observée pendant la transition gravitationnelle la plus marquée, de la microgravité à l'hypergravité ($P < 0,05$). Un stress oxydant et nitrosant accru, défini par une réduction du NO biodisponible due à l'augmentation des radicaux libres, et une élévation de la GFAP et de la S100 β ont été observés après le vol parabolique ($P < 0,05$), cette dernière étant proportionnelle à l'augmentation du flux de l'AV ($r = 0,908$, $P < 0,05$). En revanche, les biomarqueurs des lésions neuro-axonales n'ont pas changé ($P > 0,05$).

Collectivement, ces résultats suggèrent que les effets cumulatifs des transitions gravitationnelles répétées peuvent favoriser une rupture mineure de la barrière hémato-encéphalique, potentiellement liée aux effets combinés du stress hémodynamique (hyperperfusion cérébrale postérieure) et moléculaire (stress oxydant et nitrosant).

Bailey, D. M., Lanéelle, D., Trihan, J. E., Marchi, N., Stacey, B. S., Tamiya, K., Washio, T., Tuailon, E., Hirtz, C., Lehmann, S., Ogoh, S., & Normand, H. (2020). *Gravitational Transitions Increase Posterior Cerebral Perfusion and Systemic Oxidative-nitrosative Stress: Implications for Neurovascular Unit Integrity*. *Neuroscience*, 441, 142–160. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2020.05.048

BACKGROUND

Gravitational acceleration has been a fundamental reference throughout the 4 billion years of Earth's history that has helped shape evolution of the human brain given the pressure for directed locomotion when life transitioned from water to land (Morey-Holton, 2003). Given its disproportionately high energetic demands, humans have since evolved extensive and sophisticated regulatory mechanisms to maintain cerebral perfusion and O_2 homeostasis in normogravity (Bailey et al., 2017). Alterations in gravitational fluid-pressure gradients caused by the microgravity of orbital spaceflight and hypergravity associated with take-off/landing thus pose unique physiological challenges for the astronaut brain

with recent interest focused on the complex pathophysiology underlying a constellation of debilitating neurological, ophthalmological and neurovestibular symptoms known collectively as the spaceflight-associated neuro-ocular syndrome (SANS, formerly the visual impairment/intracranial pressure syndrome) (Lee et al., 2020). As a ground-based spaceflight analogue, parabolic flight (PF) provides a unique opportunity to induce rapidly alternating shifts in central blood volume (CBV) subsequent to repeated exposures to microgravity (0G) interspersed with hypergravity (1.8 Gz) (Shelhamer, 2016) to provide insight into cerebral hemodynamic function.

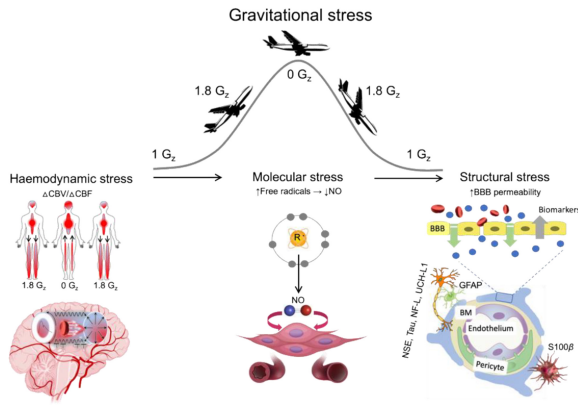


Figure 3.1: Stress gravitationnel, hémodynamique, moléculaire et structurel.

Le stress hémodynamique est évalué par les variations de volume sanguin et de débit cérébral (CBV et CBF), le stress moléculaire par le dosage de radicaux libre plasmatique, la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BBB) est évaluée par la détection de biomarqueurs spécifiques.

However, to what extent intermittent alterations in CBV during PF impacts cerebral blood flow (CBF) remains inconclusive, complicated in part by the logistical challenges associated with data collection, small sample sizes constrained by statistical power, absence of normogravity control comparators and technical limitations associated with indirect measurement techniques (Zhang and Hargens, 2018). Indeed, the differential regulation of extra/intracranial blood flow to the anterior and posterior cerebral circulation has not previously been investigated which is surprising given that the latter is more prone to hyperperfusion injury (Ogoh et al., 2015a,b; Bailey, 2019).

Furthermore, there are no published human studies that have examined how altered CBF impacts the blood–brain barrier (BBB) or structural integrity of the neurovascular unit (NVU) including its functional regulation by free radicals and associated reactive oxygen-nitrogen species (ROS-RNS), previously shown to increase during simulated microgravity and following prolonged spaceflight (Stein, 2002). This is equally surprising given that neurovascular cell damage and BBB permeability are acknowledged contributors to neurological sequelae (Sweeney et al., 2019) with emerging evidence for increased permeability in human cerebral microvascular endothelial

cells (Szulcek et al., 2015; Kim and Kwon, 2018) and blood–brain/retinal brain permeability in mice (Mao et al., 2019; Dubayle et al., 2020) exposed to alternating gravitational stress.

In light of these findings, we conducted the first functionally-integrated study to examine how repeated acute gravitational transitions induced by PF impact regional cerebral perfusion, free radical formation and NVU integrity. We tested three working hypotheses as illustrated in Figure 3.1. First, gravitational shifts and reciprocal changes in CBV would be associated with proportional changes in intra/extracranial CBF ($\downarrow$ hypergravity/ $\uparrow$ microgravity) ‘in-flight’ that would be especially pronounced in the posterior (vertebral artery) compared to the anterior (internal carotid/middle cerebral artery) circulation given its differential vulnerability to hyperperfusion (Willie et al., 2014). Second, this would be associated with a ‘post-flight’ free radical-mediated reduction in systemic nitric oxide (NO) bioavailability collectively referred to as oxidative-nitrosative stress. Third, the combined effects of hemodynamic/molecular stress ($\uparrow$ perfusion/ $\uparrow$ oxidative-nitrosative stress) would be transmitted to the arterial endothelium resulting in increased BBB permeability ‘post-flight’, confirmed by a selective elevation in the systemic concentration of brain-specific biomarkers.

METHODS

Ethics: the experimental protocol was approved by the “Comité de protection des personnes”, Besançon, France (CPP #8/589; ANSM #2018-A01090-55) and the University of South Wales, Pontypridd, UK (#201712BS01). All experimental procedures were carried out in accordance with the most (7th) recent amendment of the Declaration of Helsinki of the World Medical Association (WMA, 2013) (with the exception that it was not registered in a publicly accessible database prior to participant recruitment) with verbal and written informed consent obtained from all participants.

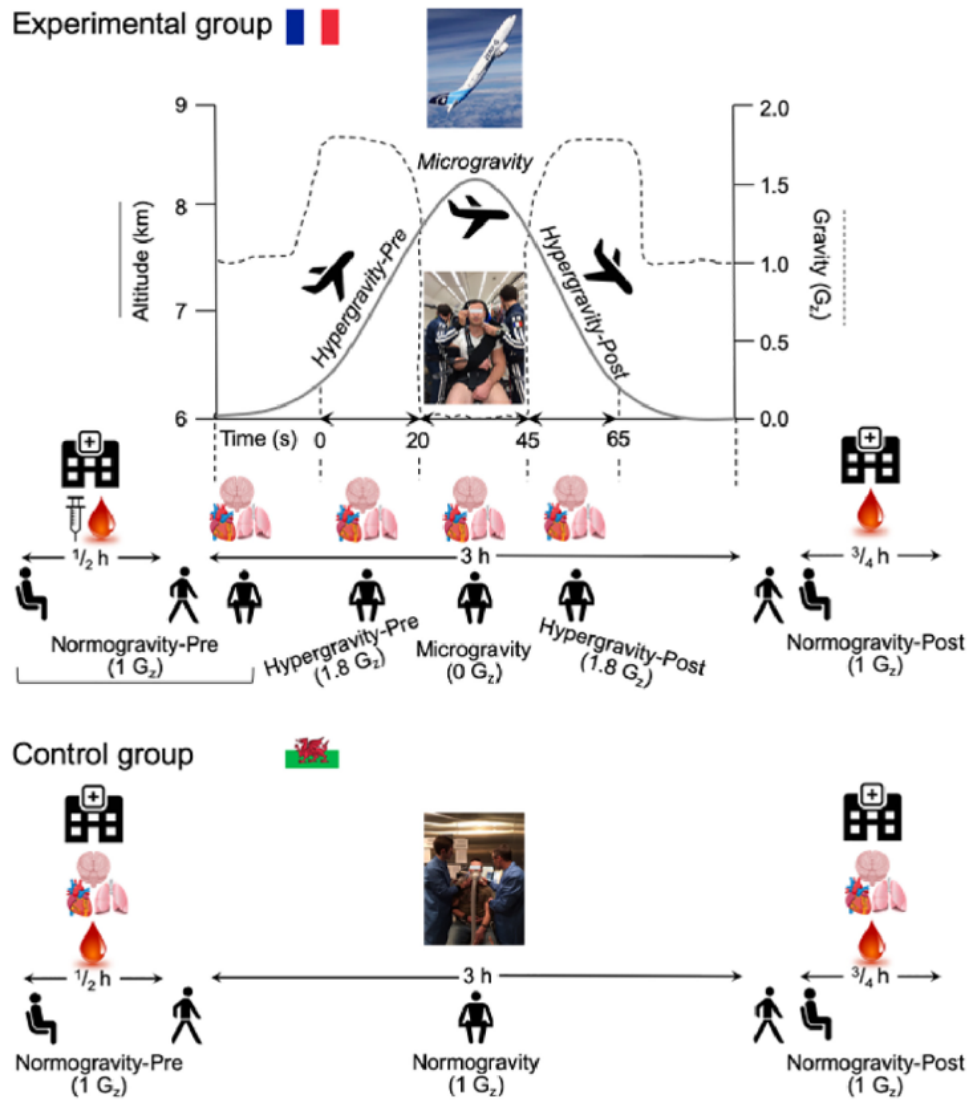


Figure 3.2: Organisation des expérimentations pour le groupe expérimental et control.

Les lieux sont précisés (plateforme médicale au sol ou avion) ainsi que la chronologie : injection de scopolamine (aiguille), prélèvement sanguin (gouttelettes) et mesures vasculaires. Les données moléculaires obtenues en normogravité après le vol reflètent la réponse cumulée de l'ensemble du groupe aux 31 paraboles (vol complet). Pour des raisons logistiques les données hémodynamiques reflètent à la fois la réponse cumulée de la première moitié du groupe à 16 paraboles (moitié du vol comprenant la parabole d'entraînement), et à la fois la seconde moitié du groupe exposée à l'ensemble des 31 paraboles (totalité du vol).

Design: the study adopted a cross-sectional repeated measures comparative design with participants selectively assigned to either an experimental (PF testing) or control (ground-level testing) group as illustrated in Figure 3.2. All studies on experimental group participants were performed in Bordeaux-Mérignac airport, Bordeaux (France) via Novespace (www.novespace.fr) whereas a separate group of control participants were examined at the Neurovascu-

lar Research Laboratory, University of South Wales (UK) between September to October 2018. The investigators performing the analyses were blinded to study endpoints. Unfortunately, it was not logistically feasible to conduct a crossover-repeated measures design given that only one set of specialist analytical equipment was available during the PF campaign with access exclusively dedicated to 'in-flight' measurements (see below) combined with the (follow-up) challenges posed

by experimental participants living in different parts of Europe.

Participants: six healthy participants (5♂, 1♀) aged 29 ± 11 years with a body mass index (BMI) of 24 ± 3 kg/m² were recruited from the Centre Hospitalo-Universitaire, Caen (France) to participate in the 55th CNES PF Campaign organised by the Centre National d'Études Spatiales (CNES). All were PF naïve, with the exception of one male who had participated in a PF study 5 years ago and unfortunately, it was not possible to recruit same sex participants exclusively. Six sex and age-matched controls aged 27 ± 6 years with a BMI of 25 ± 2 kg/m² were recruited from the University of South Wales (UK). All participants were non-smokers and subject to an extensive clinical examination that consisted of a thorough medical history, chest auscultation and 12-lead ECG to confirm they were free of cardiopulmonary or cerebrovascular disease with good vestibular function. They were physically active and were not taking nutritional supplements including over-the-counter antioxidant or anti-inflammatory medications. They were asked to refrain from physical activity, caffeine and alcohol and to follow a low nitrate/nitrite (NO /NO₂) diet 24 h prior to formal experimentation (Bailey et al., 2017). Breakfast was consumed 3 h prior to experimentation and was standardized to muesli and milk.

Protocol: Experimental group (PF) Pre-flight: PFs were scheduled over 3 consecutive days with two participants studied per flight with the order of testing randomized (see later). Approximately 30 min prior to the PF, all participants were injected with scopolamine (0.25 mg/1 mL; 0.7 mL for males and 0.5 mL for females), a muscarinic receptor antagonist to alleviate motion sickness consistent with standard operating procedures (SoP). This was administered by the campaign medical doctor (Dr M Verschave-Keysers) in the medical facility of the hangar. A venous blood sample (see later) was obtained after 20 min rest to normalize plasma volume (PV) (Fall et al., 2011) prior to boarding Novespace's ZERO-G Airbus A300 where all hemodynamic equipment had been installed as per SoP the day prior to the scheduled flight day. In-flight: Having

reached the target location (20 min), each participant was instrumented and secured upright in a custom seat where they were asked to remain motionless with eyes closed to reduce visually evoked changes in CBF. Each flight day lasted 2.5–3 h and consisted of 31 parabolas with one practice run to optimize the experimental set-up followed by 6 blocks (20 min) of 5 parabolas with each block separated by 5 min for experimental supervision. Each parabola consisted of four specific phases: normogravity (1Gz; baseline control, Normogravity-Pre); ≈ 20 s of hypergravity (1.8 Gz; pull-up phase, HyperPre), 20 s of microgravity (0 Gz; injection phase, Micro), return to 20 s of hypergravity (1.8 Gz; pull-out phase, Hyper-Post) and finally, a return to normogravity for 2 min before the next parabola (Fig. 2). Gravity was measured continuously from an accelerometer placed on the measurement rack (Model FA101, FGP sensors and instrumentation, Les Clayes sous Bois, France). During each in-flight day, hemodynamic measurements (see below) were obtained from the first participant during the first 15 parabolas (3 blocks of 5). The second participant was instrumented between parabolas 15 and 16 (after an 8 min break) and measurements obtained during the remaining 15 parabolas (3 blocks of 5). Post-flight: A second venous blood sample was obtained 45 min following completion of the final parabola, allowing for the return flight to the airport (20 min), transfer to the medical facility (5 min) and equilibration of PV (20 min). Measurement timing and cumulative parabola exposure. Dictated by the unavoidable logistics constraints (2 participants were randomly examined during either the first or second 'select' block of 15 parabolas per testing day), hemodynamic data (see below) reflect half of the group's cumulative response to 16 parabolas (half flight including the practice parabola, $n = 3$) whereas the remaining half were exposed to all 31 parabolas (entire flight, $n = 3$). In contrast, molecular blood-borne data (see later) obtained in normogravity before and after PF reflect the entire group's cumulative response to all 31 parabolas (entire flight, $n = 6$). Control group (normogravity). We also chose to conduct control measurements in a separate group of participants who were subject to the same procedures/

experimental timeline with the exception of PF (and scopolamine administration for ethical reasons) in an attempt to more accurately isolate the independent hemodynamic-molecular effects of gravitational stress. Venous blood samples and hemodynamic measurements were obtained 30 min before and 45 min after 3 h of seated rest.

Hemodynamic measurements: Cardiopulmonary data were sampled continuously inside the aircraft at 1 kHz using an analog-to-digital converter (DT9804; Measurement Computing Corporation, Norton, USA and Powerlab/16SP ML795; ADInstruments, Dunedin, New Zealand) interfaced with a computer using specialist acquisition software (NOTOCORD-hem 4.3, NOTOCORD Systems, Croissy-sur-Seine, France and Chart version 7.2.2, ADInstruments, Dunedin, New Zealand). For all cardiopulmonary measures, the 20 s preceding the onset of each parabola was averaged and taken to reflect the baseline (Normogravity-Pre) data. All hypergravity data were averaged over 20 s. To account for the ‘carry-over’ effect of hypergravity on the microgravity responses, data from the first (MicrogravityEarly) and final (Microgravity-Late) 10 s of microgravity were analysed separately and averaged (Ogoh et al., 2015a,b). Cerebrovascular measurements were averaged over 20 s of each of the phases.

Cardiopulmonary function; Heart rate (HR), mean arterial pressure (MAP) stroke volume (SV) and cardiac output ($\dot{Q}$): HR was measured using a lead II electrocardiogram (Contact Precision Instruments, Cambridge, USA and Dual BioAmp; ADInstruments). Finger photoplethysmography (Finometer PRO, Finapres Medical Systems, Amsterdam, The Netherlands) was used to monitor beat-to-beat MAP non-invasively using the Modelflow algorithm (Wesseling et al., 1993) that incorporates participant sex, age, stature and mass (BeatScope 1.0 software; TNO; TPD Biomedical Instrumentation, Amsterdam, The Netherlands) to measure SV and derive $\dot{Q}$. We corrected for vertical displacement of the finger cuff relative to heart level using a reference probe placed on the chest at the 4th intercostal space in the mid-clavicular line (in 0 Gz the finger was placed at the level of the 4th

intercostal space). An additional upper-arm cuff circuitry was employed to perform a ‘Return-to-Flow’ calibration of the brachial waveform by measuring systolic pressure. The MAP and TCD channels were also ‘time-aligned’ in Chart given the time delay (1.07 s) associated with MAP signal processing when using the Finometer PRO device (Bailey et al., 2013a,b).

Central blood volume (CBV): Changes in CBV were measured according to established methods using a tetrapolar high-resolution impedance monitor fourchannel digital impedance meter (THRIM 2994D, UFI, Morro Bay, CA, USA) (Montgomery et al., 1993; Montgomery, 1993). The CBV was obtained within the thoracic segment operationally defined by electrode placement on anatomical landmarks that delimit thoracic circulation, from the left supraclavicular area to the xyphoid process. Ag/AgCl electrocardiogram electrodes were attached at these segmental boundaries and a low-amperage (0.1 mA) and high-frequency (50 kHz) electrical current was injected throughout the body via two supplementary electrodes placed on the left shoulder and left foot, covering the thoracic segment. Electrical resistance was measured using the segmental pairs as sampling electrodes. The midline distance between the sampling electrodes was determined using a tape measure. Changes in CBV were estimated, based on haematocrit (Hct), during each phase of the parabola using the following formula (Kim, 1989):

$$\Delta\text{CBV (mL)} = \rho \cdot \frac{L^2}{R_o R_1} \cdot \Delta R$$

where ρ = electrical conductivity of blood given by $53.2 \times e^{0.022 \cdot \text{Hct}}$ and assumed constant throughout (Geddes and Sadler, 1973); L = midline distance between the sampling electrodes; R_o = resistance of a specific segment at 1 g, R_1 = resistance at 0 Gz or 1.8 Gz, and ΔR is the change in resistance ($R_1 - R_o$) during the transition between 1 Gz and 0 g or 1.8 Gz.

End-tidal partial pressures of carbon dioxide (PETCO₂): PETCO₂ was measured with either a nasal cannula (Smart CapnoLine Plus, Covidien, Boulder, CO, USA) connected to a

gas analyser (Microcap, EtCO₂, Oridion, Needham, MA, USA) in experimental participants (nose-breathing) or via standard (mouthbreathing) capnography (ML 206, ADInstruments Ltd, Oxford, UK) in control participants.

Cerebral blood flow: Regional CBF was assessed by trained investigators (2 for each group) who were randomly assigned to insonate the ICA and VA (1st investigator) or MCA (2nd investigator). In-flight measurements required investigators to be fitted with climbing harnesses secured tightly to the cabin floor. For ICA and VA measurements, we employed a 12-MHz, multifrequency, linear array vascular duplex ultrasound (Vivid-I, GE Healthcare, Tokyo, Japan) according to established methods (Thomas et al., 2015). Arterial diameter was measured via B-mode imaging, whereas peak blood velocity was simultaneously measured with pulse-wave mode. The ICA was insonated 1.5 cm from the common carotid bifurcation to eliminate measures of turbulent and retrograde flow. The VA was measured proximal to the C4 vertebral process, between the C4 and subclavian, or between the C4 and C5 vertebral processes depending on individual anatomy. Sample volume was positioned in the centre of each vessel and adjusted to cover the width of the vessel diameter, while precautions were taken to ensure that the angle of insonation was stable and maintained at 60°. The time-averaged mean flow velocity was calculated on the basis of velocity waveforms traced automatically by off-line analysis. The systolic and diastolic diameters were determined by electrocardiographic signal and colored Doppler images. We calculated arterial mean diameters four times from each recording period and averaged these for blood flow analysis. Importantly, the diameter was measured at the same site as velocity to calculate corresponding blood flow. MCAv was measured by transcranial Doppler ultrasonography (Philips CX50, Philips, the Netherlands) using a 5–1 MHz transducer over the right temporal window with the site confirmed via the bilateral ipsilateral common carotid compression technique. The within investigator coefficients of variation (CV) for all measurements were < 10% (unpublished observations).

Calculations

- Mean diameter ($D\bar{x}$ in cm) was calculated from systolic diameter (D_{systolic}) and diastolic diameter ($D_{\text{diastolic}}$) as:

$$D\bar{x} = \frac{D_{\text{systolic}} + 2 \cdot D_{\text{diastolic}}}{3}$$

- Volumetric flow of artery ($\dot{Q}_{\text{artery}}$ in mL/min) was the product of artery surface area and time average mean velocity (TAMV) as (Evans, 1985):

$$\dot{Q}_{\text{ICA}} \text{ or } \dot{Q}_{\text{VA}} = \text{TAMV} \cdot \pi \cdot \left(\frac{1}{2} \cdot D\bar{x} \right)^2$$

- Notwithstanding potential limitations associated with contralateral asymmetry (Mysior and Stefanczyk, 2007), global CBF (gCBF in mL/min) was calculated as:

$$\text{gCBF} = (\dot{Q}_{\text{ICA}} + \dot{Q}_{\text{VA}}) \cdot 2$$

- The relative contribution (in arbitrary unit, AU) of $\dot{Q}$ to gCBF was calculated as:

$$\text{Contribution} = \frac{\text{gCBF}}{\dot{Q}}$$

- Cerebrovascular indice (CVRi in mmHg/mL/min) were calculated as:

$$\text{CVRi} = \frac{\text{MAP}}{\text{gCBF}}$$

- Total peripheral resistance (TPR in mmHg/L/min) were calculated as:

$$\text{TPR} = \frac{\text{MAP}}{\dot{Q}}$$

- Cerebrovascular conductance index and total vascular conductance (CVCi and TVC) was calculated as:

$$\text{Conductance} = \frac{1}{\text{CVRi or TPR}}$$

- Regional and global cerebral O₂ delivery (DO_2 in mL/min) was determined from estimated arterial O₂ content (caO₂ in mM) as:

$$DO_2 = \dot{Q}_{\text{ICA}} \text{ or } \dot{Q}_{\text{VA}} \text{ or } \text{gCBF} \cdot \text{caO}_2$$

- Estimated caO_2 was calculated from Haemoglobin (Hb in g/dL) as:

$$Hb \cdot 1.39 \cdot \frac{SaO_2}{100} + 0.003 \cdot PaO_2$$

assuming an arterial oxyHb saturation (SaO_2 in percentage) of 97% and arterial pressure of O_2 (SaO_2) of 100 mmHg.

- Shear rate (SR in s^{-1}) was calculated according to standard methods (Tremblay et al., 2019):

$$SR = 4 \cdot \frac{TAMV}{D\bar{x}}$$

- Several indices of arterial compliance, distensibility, stiffness, elastic modulus and normalised pulsatility index (PI_{Norm} , respectively in cm/mmHg, mmHg, AU, mmHg and AU) were calculated using established formulae (Lim et al., 2015):

$$Compliance = \frac{D_{Sys} - D_{Dia}}{P_{Sys} - P_{Dia}}$$

$$Distensibility = Compliance \cdot \frac{1}{D_{Dia}}$$

$$\beta\text{-stiffness index} = \frac{\ln(P_{Sys}/P_{Dia})}{(D_{Sys} - D_{Dia})/D_{Dia}}$$

$$Elastic\ modulus = \frac{(P_{Sys} - P_{Dia}) \cdot D_{Dia}}{D_{Sys} - D_{Dia}}$$

$$PI_{Norm} = \left(\frac{\dot{Q}_{Sys} - \dot{Q}_{Dia}}{\dot{Q}_{\bar{x}}} \right) / MAP$$

where P refer to pressure, D is diameter, Sys is systole, Dia is diastole

Molecular function: Blood was obtained at the various timepoints illustrated in Figure 3.2 without stasis from an indwelling cannula located in a forearm antecubital vein into Vacutainers (Becton, Dickinson and Company, Oxford, UK) before immediate centrifugation at 600g (4 °C) for 10 min. Serum, plasma and red blood cell (RBC) samples were decanted into cryogenic vials (Nalgene Labware, Thermo Fisher Scientific Inc, Waltham, MA, USA) and stored under nitrogen gas (Cryopak, Taylor-Wharton, Theodore, AL, USA) prior

to transport and analysis in the UK. Samples were left to defrost at 37 °C in the dark for 5 min before batch analysis.

Hb and Hct. Hb was measured photometrically according to established procedures (Vanzetti, 1966) (HaemoCue, B-Haemoglobin, Sheffield, UK). Hct was prepared via ultracentrifugation (Hawksley and Sons Ltd, Sussex, UK) and measured using a Hawksley Micro Haematocrit Reader (Hawksley and Sons Ltd, Sussex, UK), corrected for 1.5% plasma trapped between erythrocytes (Harrison, 1985). Triplicate samples were obtained for both Hb and Hct and the mean value used in overall analysis.

Oxidative stress. The ascorbate free radical ($A^{\bullet-}$) was employed as a direct measure of global systemic free radical formation (Bailey et al., 2018). Exactly 1 mL of plasma was injected into a high-sensitivity multiple-bore sample cell (AquaX, Bruker Daltonics Inc., Billerica, MA, USA) housed within a TM110 cavity of an EPR spectrometer operating at X-band (9.87 GHz). Samples were recorded by cumulative signal averaging of 10 scans using the following instrument parameters: resolution, 1024 points; microwave power, 20 mW; modulation amplitude, 0.65 G; receiver gain, 2×10^5 ; time constant, 40.96 ms; sweep rate, 0.14 G/s; sweep width, 6 G; centre field, 3486 G. All spectra were filtered identically (moving average, 15 conversion points) using WINEPR software (Version 2.11, Bruker, Karlsruhe, Germany) and the double integral of each doublet quantified using Origin 8 software (OriginLab Corps, MA, USA). The intra- and interassay CVs were both < 5%.

Nitrosative stress an nitric oxide (NO). Ozone-based chemiluminescence (Sievers NOA 280i, Analytix Ltd, Durham, UK) was employed to detect systemic NO liberated from plasma and RBC samples via chemical reagent cleavage. A detailed overview of the methods including principles of detection has previously been published (Bailey et al., 2017). This facilitated detection of plasma: nitrite (NO_2^-) and S-nitrosothiols (RSNO) and RBC: NO_2^- , S-nitrosohaemoglobin (HbSNO) and iron nitrosylhaemoglobin (HbNO). Signal output (mV) was plotted against time (s) using Origin 8

software (OriginLab Corps, Massachusetts, USA) and smoothed using a 150point averaging algorithm. The Peak Analysis package was used to calculate the area under the curve (mV/s) and subsequently converted to a concentration, using standard curves of known concentrations of sodium nitrite. The intra- and inter-assay CVs for all metabolites were < 10%.

Structural stress: NVU. Systemic blood-borne biomarkers of NVU function were tracked and quantified. Serum S100 β and glial fibrillary acidic protein (GFAP) were employed as biomarkers of BBB permeability and glio-vascular damage (Marchi et al., 2013; Dadas et al., 2016). Neuron-specific enolase (NSE), neurofilament light-chain (NF-L), ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1 (UCH-L1), and tau protein were taken to reflect neuronal and axonal damage (Sweeney et al., 2019). Automated clinical grade ELISA (LIAISON, DiaSorin, Saluggia, Italy as previously described (Bailey et al., 2009a,b; Bain et al., 2018)) and Single Molecule Array (Simoa) technology (Neuro 4Plexassay kit, QuanterixTM, Lexington, MA, USA (Rissin et al., 2010) were used to dose S100 β /NSE and GFAP/ NF-L/UCH-L1/Tau proteins respectively. Based on singulation of enzyme labelled immune-complex on paramagnetic beads, this digital ELISA assay is considered 500–1000 fold more sensitive than conventional immunoassays, with for example, a limit for Tau of 0.02 pg/mL (Darlix et al., 2019). All samples were analyzed diluted 4-fold with the diluent provided in the kit (phosphate buffer with bovine serum and heterophilic blocker solution) to minimize matrix effects. The intra- and inter-assay CVs for all metabolites were < 5%.

Statistical analysis: Effect sizes and power calculations were performed using G Power (V. 3.1). Inferential analyses based on independent sampling (single number from each participant used for final data analyses) were performed using SPSS Version 26 (IBM). Repeated Shapiro-Wilks W tests were employed to confirm distribution normality. Cardiopulmonary and cerebrovascular data were analyzed using a combination of one-factor repeated measures analyses of variance (ANOVA) with Greenhouse-Geisser correction where appropriate (Mauchly's Test for

Sphericity $P < 0.05$ and $\epsilon < 0.75$) for experimental data and paired samples t-tests for control data. Following a main effect, differences in means were located using Sidak correction. Molecular data were analyzed using a two-way (Group: experimental vs. control x Condition: pre vs. post) repeated measures ANOVA. Following an interaction, post hoc analysis was performed using a combination of paired (within group) and independent (between group) samples t-tests. Relationships between select dependent variables were determined using Pearson Product Moment correlations. Significance was determined at an alpha level of 0.05 for all two-tailed tests and

RESULTS

Tolerance and technical constraints: all participants tolerated the PFs well with no symptoms of nausea or vomiting reported. A full complement of ICA and VA measurements was recorded during each of the 4 gravitational phases and averaged over 6–8 ($n = 4$ participants) or 10 ($n = 2$) out of a total of 15 parabolas. We did not observe any order effects associated with in-flight testing, namely the magnitude of changes in any of the measurements performed was not different ($P > 0.05$ vs. Normogravity-Pre) between those participants examined during the second compared to the first half of parabolas.

Cardiopulmonary function: experimental participants were characterized by elevated DBP, HR, TPR and lower SV, TVC and PETCO₂ compared to controls ($P < 0.05$, Table 3.1). During PF, the initial transition to hypergravity was associated with an increase in HR and TPR and reduction in SV ($P < 0.05$ vs. Normogravity-Pre). Microgravity was associated with a reduction in SBP, DBP, MAP and TPR and increase in CBV that became increasingly more pronounced over time ($P < 0.05$ vs. Normogravity-Pre). While no changes were observed in PETCO₂ throughout the duration of PF ($P > 0.05$ vs. Normogravity-Pre) participants were mildly hypocapneic ($P > 0.05$ vs. control group). Cardiopulmonary parameters remained stable in the control group ($P > 0.05$).

Table 3.1: Fonction cardio-pneumo-vasculaire lors des transitions gravitationnelles.

Group:	Experimental (n = 6)					Control (n = 6)	
Condition:	Normogravity-Pre	Hypergravity-Pre	Microgravity-Early	Microgravity-Late	Hypergravity-Post	Normogravity-Pre	Normogravity-Post
SBP (mmHg)	132 ± 7 $F_{1,139,5,695} = 36.396, P = 0.001, \eta^2 = 0.879$	141 ± 8	125 ± 10	113 ± 9 [§]	144 ± 10 [¶]	142 ± 9 Within: $t_5 = <0.001, P = 1.000$ Between: $t_{10} = -1.947, P = 0.080$	142 ± 20
DBP (mmHg)	81 ± 5 [†] $F_{1,1058,5,291} = 28.687, P = 0.002, \eta^2 = 0.852$	90 ± 7	71 ± 7 [^]	64 ± 6 [§]	90 ± 9 [¶]	67 ± 6 Within: $t_5 = 0.959, P = 0.382$ Between: $t_{10} = 4.226, P = 0.002$	62 ± 9
MAP (mmHg)	98 ± 5 $F_{1,1059,5,296} = 36.396, P = 0.002, \eta^2 = 0.868$	107 ± 7	89 ± 8 [^]	80 ± 7 [§]	108 ± 9	92 ± 6 Within: $t_5 = 0.669, P = 0.533$ Between: $t_{10} = 1.864, P = 0.092$	88 ± 7
HR (b/min)	78 ± 13 [†] $F_{1,1254,6,268} = 8.253, P = 0.024, \eta^2 = 0.623$	84 ± 15 [*]	72 ± 7	78 ± 11	84 ± 16	57 ± 15 Within: $t_5 = -0.371, P = 0.726$ Between: $t_{10} = 2.573, P = 0.028$	59 ± 10
SV (mL)	54 ± 3 [†] $F_{1,1394,6,971} = 12.635, P = 0.007, \eta^2 = 0.716$	46 ± 1 [*]	61 ± 8 [^]	58 ± 8 [^]	50 ± 2 [^]	100 ± 1 Within: $t_5 = -0.791, P = 0.465$ Between: $t_{10} = -35.306, P = <0.001$	100 ± 1
$\dot{Q}$ (L/min)	4.2 ± 0.8 $F_{1,1321,6,606} = 5.097, P = 0.045, \eta^2 = 0.505$	3.9 ± 0.7	4.4 ± 0.9	4.6 ± 1.0	4.2 ± 0.7 [^]	5.7 ± 1.5 Within: $t_5 = -0.452, P = 0.670$ Between: $t_{10} = -2.109, P = 0.061$	5.9 ± 0.9
TPR (mmHg/L/min)	24.16 ± 6.54 [†] $F_{1,147,5,735} = 24.993, P = 0.002, \eta^2 = 0.833$	28.48 ± 6.98 [*]	21.31 ± 6.26	18.44 ± 5.82 [§]	26.74 ± 6.36 [^] [¶]	16.90 ± 4.25 Within: $t_5 = 1.354, P = 0.234$ Between: $t_{10} = 2.281, P = 0.046$	15.33 ± 3.21
TVC (L/min/mmHg)	0.04 ± 0.01 [†] $F_{4,20} = 10.354, P = <0.001, \eta^2 = 0.674$	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.01 [§]	0.04 ± 0.01	0.06 ± 0.02 Within: $t_5 = -1.348, P = 0.235$ Between: $t_{10} = -2.606, P = 0.026$	0.07 ± 0.01
CBV (ΔmL)	NA $F_{1,114,5,570} = 152.494, P = <0.001, \eta^2 = 0.968$	-160 ± 37	361 ± 78 [^]	388 ± 76 [^]	-121 ± 40 [¶]	NA	NA
PETCO ₂ (mmHg)	34 ± 2 [†] $F_{1,521,7,604} = 3.916, P = 0.075, \eta^2 = 0.439$	34 ± 2	33 ± 2	35 ± 3	33 ± 2	43 ± 5 Within: $t_5 = 0.946, P = 0.388$ Between: $t_{10} = -4.292, P = 0.002$	42 ± 3

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes avec ($\pm$) l'écart type ; SBP, pression artérielle systolique ; DBP, pression artérielle diastolique ; MAP, pression artérielle moyenne ; HR, fréquence cardiaque ; SV, volume systolique ; $\dot{Q}$, débit cardiaque ; TPR, résistance périphérique totale ; TVC, conductance vasculaire totale ; CBV, volume sanguin central (les valeurs reflètent le déplacement net du volume sanguin de/vers la cavité thoracique) ; PETCO₂, pression partielle de dioxyde de carbone en fin d'expiration. NA, non évalué. Les conditions de microgravité précoce et tardive reflètent les mesures moyennées sur les 10 premières et dernières secondes de la phase de microgravité. * Différence vs Normogravité-Pré ($P < 0,05$) ; ^diff rence vs Hypergravité-Pr  ($P < 0,05$) ; §différence vs Microgravité-D but ($P < 0,05$) ; ¶différence vs Microgravité-D but ($P < 0,05$) ; †différence entre les groupes ($P < 0,05$).

Cerebrovascular function: Experimental participants were characterized by higher ICA/VA compliance, ICA distensibility and lower ICA β -stiffness and ICA elastic modulus compared to controls (Supplemental Table). No changes were observed in MCAv, $\dot{Q}_{ICA}$, SR, DO₂, CVRi or any of the stiffness metrics during any phases of PF ($P > 0.05$, Table 3.2 and Supplemental Table, Figure 3.3).

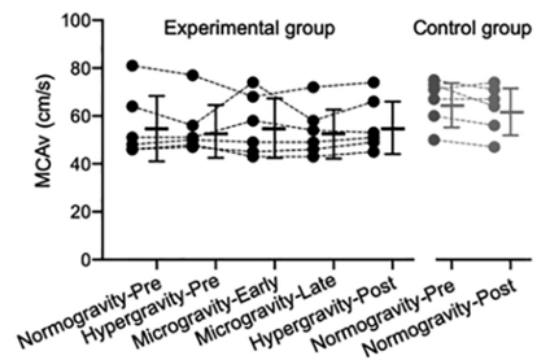


Figure 3.3: Vitesses de l'artère cérébrale moyenne lors des transitions gravitationnelles.

Table 3.2: Hémodynamique cérébrale antérieure lors des transitions gravitationnelles.

Group:	Experimental (n = 6)				Control (n = 6)	
Condition:	Normogravity-Pre	Hypergravity-Pre	Microgravity	Hypergravity-Post	Normogravity-Pre	Normogravity-Post
Anterior circulation (ICA)						
TA peak velocity (cm/s)	30.1 ± 3.8 $F_{3,15} = 1.134, P = 0.367, \eta^2 = 0.185$	28.2 ± 5.1	28.3 ± 6.1	27.9 ± 6.5	30.9 ± 5.5 Within: $t_5 = 2.554, P = 0.051$ Between: $t_{10} = -0.264, P = 0.797$	29.5 ± 6.0 Within: $t_5 = -2.712, P = 0.042$ Between: $t_{10} = -0.717, P = 0.490$
Diameter (cm)	0.48 ± 0.04 $F_{1,283,6,417} = 0.432, P = 0.583, \eta^2 = 0.079$	0.47 ± 0.05	0.48 ± 0.03	0.48 ± 0.03	0.50 ± 0.05 Within: $t_5 = 1.183, P = 0.290$ Between: $t_{10} = -0.597, P = 0.564$	0.51 ± 0.06 Within: $t_5 = 2.766, P = 0.040$ Between: $t_{10} = -0.028, P = 0.978$
$\dot{Q}_{ICA}$ (mL/min)	337 ± 90 $F_{3,15} = 1.941, P = 0.166, \eta^2 = 0.280$	298 ± 84	306 ± 65	305 ± 89	360 ± 38 Within: $t_5 = 1.297, P = 0.251$ Between: $t_{10} = -0.409, P = 0.698$	355 ± 44 Within: $t_5 = 0.265, P = 0.801$ Between: $t_{10} = 1.511, P = 0.162$
Shear rate (1/s)	250 ± 29 $F_{3,15} = 0.530, P = 0.668, \eta^2 = 0.096$	242 ± 44	237 ± 59	233 ± 54	251 ± 67 Within: $t_5 = -0.503, P = 0.636$ Between: $t_{10} = -1.266, P = 0.234$	237 ± 69 Within: $t_5 = 1.367, P = 0.230$ Between: $t_{10} = 1.106, P = 0.295$
DO_2 (mM/min)	2.95 ± 0.85 $F_{3,15} = 2.008, P = 0.156, \eta^2 = 0.286$	2.59 ± 0.74	2.68 ± 0.64	2.67 ± 0.86	3.09 ± 0.20 Within: $t_5 = 1.297, P = 0.251$ Between: $t_{10} = -0.409, P = 0.698$	3.04 ± 0.21 Within: $t_5 = 0.265, P = 0.801$ Between: $t_{10} = 1.511, P = 0.162$
CVRi (mmHg/mL/min)	0.31 ± 0.07 $F_{1,093,5,465} = 4.660, P = 0.017, \eta^2 = 0.484$	0.40 ± 0.18	0.30 ± 0.05	0.28 ± 0.08	0.26 ± 0.03 Within: $t_5 = 1.511, P = 0.162$ Between: $t_{10} = -0.409, P = 0.698$	0.25 ± 0.05 Within: $t_5 = 0.265, P = 0.801$ Between: $t_{10} = 1.511, P = 0.162$
CVCi (mL/min/mmHg)	3.44 ± 0.88 $F_{3,15} = 24.993, P = <0.001, \eta^2 = 0.699$	2.80 ± 0.82	3.43 ± 0.63	3.79 ± 0.99 [*]	3.94 ± 0.40 Within: $t_5 = -0.503, P = 0.636$ Between: $t_{10} = -1.266, P = 0.234$	4.06 ± 0.79 Within: $t_5 = 1.367, P = 0.230$ Between: $t_{10} = 1.106, P = 0.295$
$\dot{Q}_{ICA}/\dot{Q}$ (mL/min/L/min)	85 ± 37 $F_{3,15} = 2.697, P = 0.083, \eta^2 = 0.350$	80 ± 32	74 ± 29 [*]	72 ± 36	66 ± 17 Within: $t_5 = 1.367, P = 0.230$ Between: $t_{10} = 1.106, P = 0.295$	61 ± 9 Within: $t_5 = 1.367, P = 0.230$ Between: $t_{10} = 1.106, P = 0.295$

Les résultats concernant l'artère carotide interne (ICA) et sont exprimés sous forme de moyennes avec ($\pm$) l'écart type. TA : moyenne temporelle ; $\dot{Q}_{ICA}$: débit de l'artère carotide interne ; DO_2 : apport d'oxygène ; CVR/ CVCi : indice de résistance/conductance cérébrovasculaire ; $\dot{Q}_{ICA}/\dot{Q}$: rapport du débit de la carotide interne sur le débit cardiaque. * différent vs. Normogravité-Pré pour le groupe donné ($P < 0,05$) ; [^] différent vs. Hypergravité-Pré pour le groupe expérimental ($P < 0,05$).

Microgravity was associated with a reduction in $\frac{\dot{Q}_{ICA}}{\dot{Q}}$ ($P < 0.05$ vs. Normogravity-Pre, Table 8). The second transition to hypergravity was associated with elevated CVCi compared to the first transition ($P < 0.05$ vs. Hypergravity-Pre) due to an increase in $\dot{Q}$.

In contrast, the initial transition to hypergravity was associated with an increase in VA CVRi and reciprocal reduction in CVCi ($P < 0.05$ vs. Normogravity-Pre, Table 3.3).

Furthermore, selective increases in $\dot{Q}_{VA}$, DO_2 and CVCi and reduction in CVRi and PINorm were observed during the transition from micro to hypergravity ($P < 0.05$ vs. Normogravity-Pre and/or Microgravity, Table 9 and Supplemental Table). No changes were observed in $\frac{\dot{Q}_{VA}}{\dot{Q}}$ ($P > 0.05$) or SR ($P > 0.05$, data not shown) during PF.

While global CBF was unaffected, a reduction/increase in CVRi/CVCi was observed during the second phase of hypergravity ($P < 0.05$ vs. Microgravity, Table 3.4) Cerebrovascular parameters remained stable in the control group ($P > 0.05$).

Molecular function: A selective increase in systemic oxidative-nitrosative stress was observed in normogravity following the PF as indicated by the combined increase in $A^{\bullet}$ and corresponding reduction in plasma/RBC NO_2^- and plasma RSNO bioavailability ($P < 0.05$ vs. Normogravity-Pre, Table 3.5 and Figure 3.4).

Table 3.3: Hémodynamique cérébrale postérieure lors des transitions gravitationnelles.

Group:	Experimental (n = 6)				Control (n = 6)	
Condition:	Normogravity-Pre	Hypergravity-Pre	Microgravity	Hypergravity-Post	Normogravity-Pre	Normogravity-Post
Posterior circulation (VA)						
Velocity (cm/s)	19.8 ± 3.4 $F_{1,165,5.823} = 1.778, P = 0.194, \eta^2 = 0.262$	18.8 ± 2.0	19.9 ± 5.0	22.4 ± 5.4	18.9 ± 3.4 Within: $t_5 = 1.118, P = 0.315$ Between: $t_{10} = 0.422, P = 0.682$	18.3 ± 2.9 Within: $t_5 = -2.712, P = 0.042$ Between: $t_{10} = 0.239, P = 0.816$
Diameter (cm)	0.37 ± 0.03 $F_{3,15} = 1.486, P = 0.258, \eta^2 = 0.229$	0.37 ± 0.03	0.37 ± 0.03	0.38 ± 0.03	0.37 ± 0.06 Within: $t_5 = -2.712, P = 0.042$ Between: $t_{10} = 0.239, P = 0.816$	0.38 ± 0.06 Within: $t_5 = 0.225, P = 0.831$ Between: $t_{10} = <0.000, P = 1.000$
$\dot{Q}_{VA}$ (mL/min)	129 ± 21 $F_{3,15} = 4.065, P = 0.027, \eta^2 = 0.448$	121 ± 16	130 ± 35	152 ± 44¶	129 ± 60 Within: $t_5 = 0.225, P = 0.831$ Between: $t_{10} = <0.000, P = 1.000$	128 ± 53 Within: $t_5 = 1.529, P = 0.187$ Between: $t_{10} = 0.357, P = 0.732$
Shear rate (1/s)	214 ± 55 $F_{1,180,5.898} = 1.068, P = 0.357, \eta^2 = 0.176$	204 ± 34	216 ± 58	238 ± 60	206 ± 20 Within: $t_5 = 1.529, P = 0.187$ Between: $t_{10} = 0.357, P = 0.732$	195 ± 19 Within: $t_5 = 0.349, P = 0.741$ Between: $t_{10} = 0.066, P = 0.949$
DO_2 (mM/min)	1.13 ± 0.22 $F_{3,15} = 3.510, P = 0.042, \eta^2 = 0.412$	1.06 ± 0.18	1.15 ± 0.37	1.34 ± 0.44¶	1.12 ± 0.54 Within: $t_5 = 0.349, P = 0.741$ Between: $t_{10} = 0.066, P = 0.949$	1.12 ± 0.48 Within: $t_5 = 1.397, P = 0.221$ Between: $t_{10} = -0.486, P = 0.638$
CVRi (mmHg/mL/min)	0.78 ± 0.16 $F_{3,15} = 12.493, P = <0.001, \eta^2 = 0.714$	0.89 ± 0.13*	0.73 ± 0.21	0.57 ± 0.20*¶	0.88 ± 0.50 Within: $t_5 = 1.397, P = 0.221$ Between: $t_{10} = -0.486, P = 0.638$	0.82 ± 0.45 Within: $t_5 = -0.324, P = 0.759$ Between: $t_{10} = -0.334, P = 0.745$
CVCi (mL/min/mmHg)	1.33 ± 0.25 $F_{1,154,5.770} = 13.441, P = 0.010, \eta^2 = 0.729$	1.14 ± 0.16*	1.47 ± 0.41	1.91 ± 0.56*¶	1.44 ± 0.74 Within: $t_5 = -0.324, P = 0.759$ Between: $t_{10} = -0.334, P = 0.745$	1.47 ± 0.62 Within: $t_5 = 0.918, P = 0.401$ Between: $t_{10} = 1.354, P = 0.205$
$\dot{Q}_{VA}/\dot{Q}$ (mL/min/L/min)	32 ± 11 $F_{3,15} = 1.158, P = 0.358, \eta^2 = 0.188$	33 ± 11	32 ± 15	35 ± 17	23 ± 11 Within: $t_5 = 0.918, P = 0.401$ Between: $t_{10} = 1.354, P = 0.205$	22 ± 9 Within: $t_5 = 0.918, P = 0.401$ Between: $t_{10} = 1.354, P = 0.205$

Les résultats concernant l'artère vertébrale (VA) et sont exprimés sous forme de moyennes avec ($\pm$) l'écart type. $\dot{Q}_{VA}$: débit de l'artère vertébrale ; DO_2 : apport d'oxygène ; CVR/ CVCi : indice de résistance/conductance cérébrovasculaire ; $\dot{Q}$: débit cardiaque. * différent vs. Normogravité-Pré ($P < 0,05$) ; ^ différent vs. Hypergravité-Pré ($P < 0,05$) ; ¶ différent vs. Microgravité ($P < 0,05$).

Table 3.4: Hémodynamique cérébrale globale lors des transitions gravitationnelles.

Group:	Experimental (n = 6)				Control (n = 6)	
Condition:	Normogravity-Pre	Hypergravity-Pre	Microgravity	Hypergravity-Post	Normogravity-Pre	Normogravity-Post
gCBF (mL/min)	931 ± 209 $F_{3,15} = 2.213, P = 0.129, \eta^2 = 0.307$	839 ± 185	874 ± 184	913 ± 242	979 ± 139 Within: $t_5 = 1.150, P = 0.302$ Between: $t_{10} = -0.466, P = 0.651$	967 ± 127 Within: $t_5 = 0.415, P = 0.695$ Between: $t_{10} = 1.366, P = 0.202$
gCVRi (mmHg/mL/min)	0.11 ± 0.02 $F_{1,163,5.814} = 10.163, P = 0.018, \eta^2 = 0.670$	0.13 ± 0.04	0.11 ± 0.02	0.09 ± 0.02*¶	0.10 ± 0.02 Within: $t_5 = 0.415, P = 0.695$ Between: $t_{10} = 1.366, P = 0.202$	0.09 ± 0.02 Within: $t_5 = -0.457, P = 0.667$ Between: $t_{10} = -1.042, P = 0.322$
gCVCi (mL/min/mmHg)	9.54 ± 2.10 $F_{3,15} = 19.218, P = <0.001, \eta^2 = 0.794$	7.88 ± 1.84	9.81 ± 1.89^	11.39 ± 2.78*¶	10.75 ± 1.94 Within: $t_5 = -0.457, P = 0.667$ Between: $t_{10} = -1.042, P = 0.322$	11.06 ± 2.23 Within: $t_5 = 1.193, P = 0.287$ Between: $t_{10} = -0.288, P = 0.780$
gCDO ₂ (mM/min)	8.15 ± 2.05 $F_{3,15} = 2.225, P = 0.127, \eta^2 = 0.308$	7.31 ± 1.70	7.66 ± 1.93	8.02 ± 2.45	8.43 ± 1.25 Within: $t_5 = 1.193, P = 0.287$ Between: $t_{10} = -0.288, P = 0.780$	8.32 ± 1.07 Within: $t_5 = 1.341, P = 0.238$ Between: $t_{10} = 1.264, P = 0.235$
gCBF/ $\dot{Q}$ (mL/min/L/min)	234 ± 94 $F_{3,15} = 1.635, P = 0.223, \eta^2 = 0.246$	226 ± 82	211 ± 86*	215 ± 104	180 ± 46 Within: $t_5 = 1.341, P = 0.238$ Between: $t_{10} = 1.264, P = 0.235$	166 ± 27 Within: $t_5 = 1.341, P = 0.238$ Between: $t_{10} = 1.264, P = 0.235$

Les résultats sont exprimés sous forme de moyennes avec ($\pm$) l'écart type ; gCBF : débit cérébral global, gCDO₂ : apport d'oxygène cérébral ; gCVRi/ gCVCi : indice de résistance/conductance cérébrovasculaire, gCBF/ $\dot{Q}$: rapport du gCBF sur le débit cardiaque. * différent vs. Normogravité-Pré ($P < 0,05$) ; ^ différent vs. Hypergravité-Pré ($P < 0,05$) ; ¶ différent vs. Microgravité ($P < 0,05$).

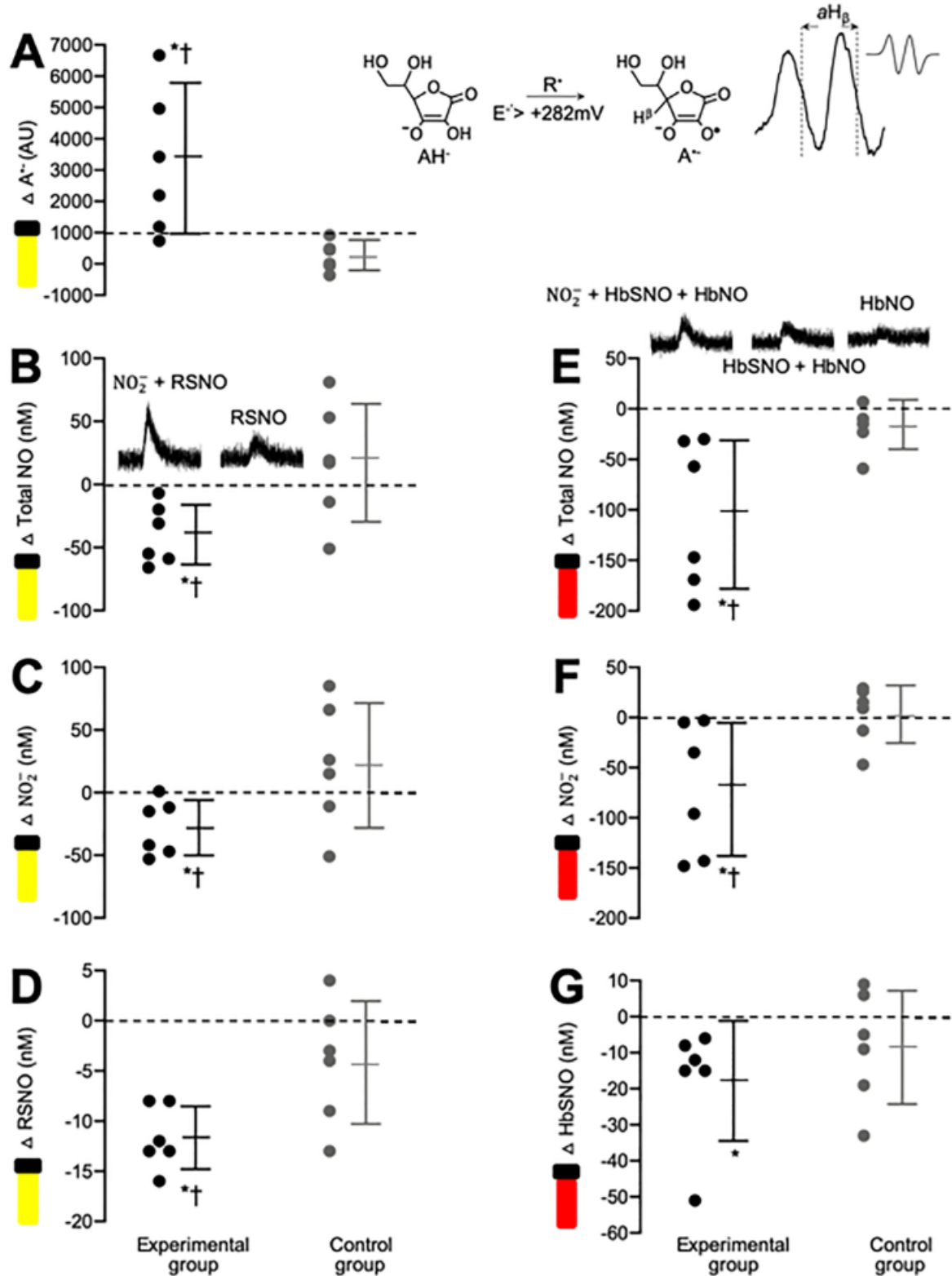


Figure 3.4: Radicaux libres et monoxyde d'azote lors de transitions gravitationnelles.

(A) Oxidation du monoanion ascorbate (AH^-) par tout radical libre ($R^\bullet$) dont le potentiel de réduction (E°) est supérieure à +282 mV et qui donne $A^\bullet$. L'électron non apparié se fixe sur un système carbonyl permettant sa détection directe par spectroscopie de résonance magnétique. (B-G) Monoxyde d'azote (NO) et métabolites (sang et plasma). * différence avant/après le vol ($P < 0.05$) ; † différence entre les groupes ($P < 0.05$). NO_2^- , nitrite; RSNO, S-nitrosothiols; HbSNO, S-nitrosohemoglobine; HbNO, nitrosylhemoglobine.

Table 3.5: Stress moléculaire et structurel lors de transitions gravitationnelles.

Group:	Experimental (n = 6)		Control (n = 6)	
Condition:	Normogravity-Pre	Normogravity-Post	Normogravity-Pre	Normogravity-Post
Free radicals				
A [•] ($\times 10^3$, AU)	13.7 $\pm$ 0.9	16.9 $\pm$ 2.4*†	13.1 $\pm$ 1.4	13.4 $\pm$ 1.2
Group $F_{1,10}$ = 7.160, P = 0.023, η^2 = 0.417; Condition $F_{1,10}$ = 12.911, P = 0.005, η^2 = 0.564; Group $\times$ Condition $F_{1,10}$ = 9.545, P = 0.011, η^2 = 0.488				
NO metabolites				
Plasma NO ₂ ⁻ (nM)	116 $\pm$ 43	88 $\pm$ 31*†	119 $\pm$ 52	141 $\pm$ 19
Group $F_{1,10}$ = 2.130, P = 0.175, η^2 = 0.176; Condition $F_{1,10}$ = 0.081, P = 0.782, η^2 = 0.008; Group $\times$ Condition $F_{1,10}$ = 4.988, P = 0.050, η^2 = 0.333				
Plasma RSNO (nM)	20 $\pm$ 5	9 $\pm$ 8*	13 $\pm$ 4	9 $\pm$ 2
Group $F_{1,10}$ = 2.316, P = 0.159, η^2 = 0.188; Condition $F_{1,10}$ = 31.845, P = <0.001, η^2 = 0.761; Group $\times$ Condition $F_{1,10}$ = 7.145, P = 0.023, η^2 = 0.417				
Plasma Total NO (nM)	136 $\pm$ 39	96 $\pm$ 30*†	132 $\pm$ 49	149 $\pm$ 20
Group $F_{1,10}$ = 1.772, P = 0.213, η^2 = 0.150; Condition $F_{1,10}$ = 1.067, P = 0.326, η^2 = 0.096; Group $\times$ Condition $F_{1,10}$ = 7.099, P = 0.024, η^2 = 0.415				
RBC NO ₂ ⁻ (nM)	142 $\pm$ 58	71 $\pm$ 23*	98 $\pm$ 37	101 $\pm$ 33
Group $F_{1,10}$ = 0.149, P = 0.708, η^2 = 0.015; Condition $F_{1,10}$ = 5.383, P = 0.043, η^2 = 0.350; Group $\times$ Condition $F_{1,10}$ = 6.424, P = 0.030, η^2 = 0.391				
HbSNO (nM)	38 $\pm$ 23	20 $\pm$ 11	36 $\pm$ 13	27 $\pm$ 9
Group $F_{1,10}$ = 0.169, P = 0.690, η^2 = 0.017; Condition $F_{1,10}$ = 7.921, P = 0.018, η^2 = 0.442; Group $\times$ Condition $F_{1,10}$ = 0.995, P = 0.342, η^2 = 0.090				
HbNO (nM)	47 $\pm$ 12	32 $\pm$ 13	33 $\pm$ 11	23 $\pm$ 19
Group $F_{1,10}$ = 3.084, P = 0.110, η^2 = 0.236; Condition $F_{1,10}$ = 9.149, P = 0.013, η^2 = 0.478; Group $\times$ Condition $F_{1,10}$ = 0.376, P = 0.554, η^2 = 0.036				
RBC Total NO (nM)	227 $\pm$ 64	122 $\pm$ 22*†	167 $\pm$ 20	151 $\pm$ 22
Group $F_{1,10}$ = 1.157, P = 0.307, η^2 = 0.104; Condition $F_{1,10}$ = 14.465, P = 0.003, η^2 = 0.591; Group $\times$ Condition $F_{1,10}$ = 7.972, P = 0.018, η^2 = 0.444				
NVU biomarkers				
S100 β (μ g/L)	0.056 $\pm$ 0.017	0.096 $\pm$ 0.010*†	0.052 $\pm$ 0.034	0.053 $\pm$ 0.023
Group $F_{1,10}$ = 5.047, P = 0.048, η^2 = 0.335; Condition $F_{1,10}$ = 6.404, P = 0.030, η^2 = 0.390; Group $\times$ Condition $F_{1,10}$ = 5.707, P = 0.038, η^2 = 0.363				
NSE (μ g/L)	10.224 $\pm$ 2.327	11.057 $\pm$ 4.523	8.983 $\pm$ 1.035	9.228 $\pm$ 0.413
Group $F_{1,10}$ = 2.074, P = 0.180, η^2 = 0.172; Condition $F_{1,10}$ = 0.259, P = 0.622, η^2 = 0.025; Group $\times$ Condition $F_{1,10}$ = 0.077, P = 0.787, η^2 = 0.008				
Tau (pg/mL)	0.03 $\pm$ 0.07	0.02 $\pm$ 0.03	0.15 $\pm$ 0.34	0.16 $\pm$ 0.34
Group $F_{1,10}$ = 0.815, P = 0.388, η^2 = 0.075; Condition $F_{1,10}$ = 0.022, P = 0.886, η^2 = 0.002; Group $\times$ Condition $F_{1,10}$ = 1.746, P = 0.216, η^2 = 0.149				
NF-L (pg/mL)	6.06 $\pm$ 3.69	5.89 $\pm$ 3.41	6.40 $\pm$ 2.02	6.24 $\pm$ 2.01
Group $F_{1,10}$ = 0.044, P = 0.839, η^2 = 0.004; Condition $F_{1,10}$ = 0.445, P = 0.520, η^2 = 0.043; Group $\times$ Condition $F_{1,10}$ = <0.001, P = 1.000, η^2 = <0.001				
GFAP (pg/mL)	96.85 $\pm$ 53.80	107.09 $\pm$ 48.90*	74.57 $\pm$ 19.67	76.80 $\pm$ 27.34
Group $F_{1,10}$ = 1.317, P = 0.278, η^2 = 0.116; Condition $F_{1,10}$ = 3.623, P = 0.086, η^2 = 0.266; Group $\times$ Condition $F_{1,10}$ = 1.494, P = 0.045, η^2 = 0.130				
UCH-L1 (pg/mL)	10.46 $\pm$ 22.40	12.50 $\pm$ 20.46	27.84 $\pm$ 33.25	32.14 $\pm$ 31.54
Group $F_{1,10}$ = 1.413, P = 0.262, η^2 = 0.124; Condition $F_{1,10}$ = 1.072, P = 0.325, η^2 = 0.097; Group $\times$ Condition $F_{1,10}$ = 0.136, P = 0.720, η^2 = 0.013				

Les résultats reflètent les concentrations systémiques et sont exprimés sous forme de moyennes avec ($\pm$) l'écart type. A[•] : ascorbate oxydé ; NO₂⁻ : nitrite ; RSNO : S-nitrosothiols ; HbSNO : S-nitrosohémoglobine ; HbNO : nitrosylhémoglobine ; NVU : unité neurovasculaire ; NSE : enolase spécifique des neurones ; NF-L : chaîne légère des neurofilaments ; GFAP : protéine acide fibrillaire gliale ; UCH-L1 : ubiquitine carboxyterminale hydrolase L1. * différent au sein des groupes pour une condition donnée ($P < 0,05$) ; † différent entre les groupes pour une condition donnée ($P < 0,05$).

Though return to normogravity was associated with a general reduction in HbSNO and HbNO ($P < 0.05$ main effect for condition), this was not different between groups ($P > 0.05$, Table 3.5).

These changes were associated with a systemic increase in the blood-borne concentrations of cerebrovascular permeability proteins S100 β and GFAP ($P < 0.05$ vs. Normogravity-Pre, Table 3.5)

with S100 β only shown to be directly proportional to the increase in $\dot{Q}_{VA}$ and CBV (Figure 3.5) observed during the second transition to hypergravity. In contrast, blood levels of neuronal-axonal damage were unaffected by PF and remained stable in the control group. We did not observe any differences in any of the baseline NVU biomarkers measured ($P > 0.05$).

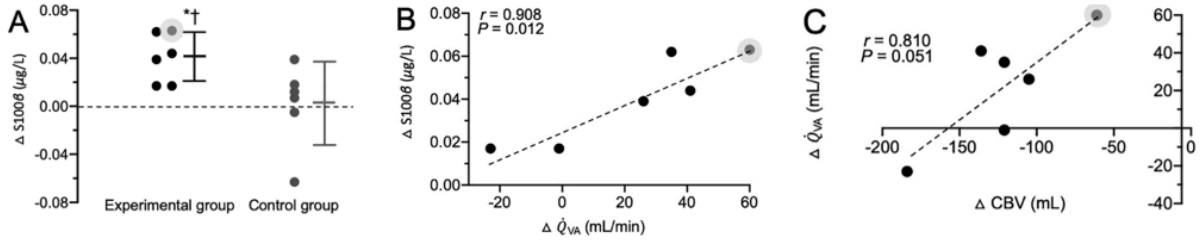


Figure 3.5: Effets des transitions gravitationnelles sur l'unité neurovasculaire.

A : Variation de la concentration plasmatique de la protéine S100β. B : Relation avec les variations du débit de l'artère vertébrale postérieure ($\dot{Q}_{VA}$). C : Relation entre les variations de débit de l'artère vertébrale postérieure et les variations de volume sanguin central (CBV pour central blood volume). Différences moyennes $\pm$ SD. * différence avant/après le vol ($P < 0.05$) ; † différence entre les groupes ($P < 0.05$).

DISCUSSION

The present study has identified three important findings within the setting of PF. First, while microgravity per se had no demonstrable impact on CBF, a selective albeit modest increase in perfusion to the posterior circulation was observed during the most marked gravitational differential imposed by the micro- to hypergravity transition. Second, this was associated with an elevation in systemic oxidative-nitrosative stress confirmed by a free radical-mediated reduction in (plasma and RBC) NO bioavailability that was detectable 'post-flight' upon return to normogravity. Third, despite no molecular evidence for structural neuronal-axonal damage, the selective elevations in GFAP and S100β post-flight were taken to reflect ongoing, albeit mild disruption of the BBB, changes that were proportional to the hypergravity-induced increase in posterior CBF. Collectively, these data are the first in humans to suggest that the cumulative effects of repeated gravitational transitions may promote BBB permeability transients that may be related to the combined effects of hemodynamic-molecular stress.

Cerebrovascular function: To what extent acute gravitational transitions impact CBF in humans remains inconclusive, complicated in part by differences in experimental techniques, analogues and design. Researchers have traditionally relied on the transcranial doppler ultrasonographic assessment of MCAv as a surrogate for CBF during PF. Here, we report no changes in MCAv, consistent with other studies (Ogoh et al., 2015a,b). However, while this technique can provide important insight into the temporal dynamics of

CBF, the fundamental assumptions that arterial diameter remains constant combined with velocity errors caused by spectral broadening complicate interpretation (Coverdale et al., 2014). This motivated our decision to include simultaneous (duplex) assessment of $\dot{Q}_{ICA}/\dot{Q}_{VA}$ providing the first opportunity to the best of our knowledge, to more accurately examine 'true' changes in the regional distribution of CBF.

As anticipated, gravitational transitions induced reciprocal alterations in CBV and $\dot{Q}$ ($\uparrow$ microgravity/ $\downarrow$ hypergravity), changes that in normogravity would be expected to incur proportional changes in CBF (Ogoh et al., 2005). However, contrary to our original expectations, microgravity failed to affect any of the CBF metrics, attributable in part to a reciprocal reduction in the contribution of $\dot{Q}$ to $\dot{Q}_{ICA}$. This may reflect selective redistribution of CBV from the anterior to the systemic circulation via arterial and cardiopulmonary baroreflex-mediated peripheral vasodilatation (Ogoh et al., 2015a,b); an intrinsic mechanism to avoid cerebrovascular damage subsequent to hyperperfusion that may have otherwise occurred following rapid CBV expansion in normogravity.

In contrast, the lack of change in $\dot{Q}_{VA}/\dot{Q}$ during microgravity highlights the selective absence of any such flow restraint in the posterior circulation. Furthermore, the second and most pronounced gravitational differential (micro- to hypergravity) was associated with a selective albeit mild (though potentially relevant in terms of BBB disruption, see later) increase in $\dot{Q}_{VA}$ implying a potential 'threshold' effect given that we

did not observe this during the initial transition (normo- to hypergravity). This was unexpected given that equivalent degrees of mild hypergravity imposed by centrifugation (+1.5 Gz) albeit over longer periods have typically been associated with a marked reduction in MCAv despite compensatory improvements in dynamic cerebral autoregulation (dCA) (Iwasaki et al., 2012), highlighting the significance of the gravitational ‘differential’. Indeed, the selective hyperaemia combined with the reduction in CVRi confined to the posterior circulation despite the elevation in systemic TPR (presumed subsequent to sympathetic activation, see below) during the micro- to hypergravity transition suggests that dCA may have been transiently reduced even in the face of mild hypocapnia, further highlighting regional heterogeneity in the redistribution of CBF (Willie et al., 2014). Though not a primary focus, a more comprehensive analysis of the pressure–flow coupling dynamic (using transfer function analysis, for example) while acknowledging that no single ‘gold-standard’ metric exists to model such a complex nonlinear process (Tzeng et al., 2012), would help determine to what extent potential changes in dCA can be considered deficient or indeed, abnormal.

These findings are consistent with reports that the posterior circulation is characterised by lower dCA compared to the anterior circulation (Sato et al., 2012a, b) notwithstanding other factors including some reports of comparatively lower sympathetic innervation (Edvinsson et al., 1976) and CO₂ vasoreactivity (Sato et al., 2012a,b) and thus better equipped to ‘defend’ CBF against central hypovolemia. This makes teleological sense given that the territories the vertebral-basilar system feeds, notably the medulla oblongata, cerebellum, hypothalamus, thalamus and brainstem, are phylogenetically older with priority over other (younger, more anterior) regions for O₂ and glucose supply given their arguably more critical roles in maintaining homeostasis (Bailey, 2019), though even mild hyperperfusion may have structural consequences that may not necessarily prove adaptive (see below).

It was unfortunate that we did not address potential differences in the neurogenic sympathetic

control of the cerebral circulation, notwithstanding the complexities/controversies associated with the myriad metrics that underpin its analysis (Brassard et al., 2017; Shaffer and Ginsberg, 2017). Application of time domain/power spectral analyses of heart rate variability (Mukai et al., 1991; Capderou et al., 2001; Beckers et al., 2003; Verheyden et al., 2005) and direct recordings of muscle sympathetic nerve activity (Iwase et al., 1999) in standing/seated humans have identified reciprocal elevations in sympathetic/parasympathetic activity during the hyper-/microgravity phases respectively of PF; observations that concur with the HR, MAP and TPR responses observed in the present study. Sympathetic activation has classically been attributed to unloading of intrathoracic low-pressure/volume receptors with vagal dominance the consequence of cardiopulmonary low pressure/volume receptor and baroreceptor activation mediated by transient changes in CBV and MAP (Iwase et al., 1999).

Free radical metabolism: Both real and simulated micro-/hypergravity induce oxidative damage to lipids and DNA that can persist for up to several weeks in normogravity following return from spaceflight (Stein, 2002). However, researchers have traditionally relied on indirect, non-specific biological ‘footprints’ of oxidative damage, whereas in the present study we specifically chose to employ EPR spectroscopy since it represents the most direct, specific and sensitive analytical technique for the molecular detection and subsequent characterization of free radicals *sine qua non* (Bailey et al., 2018).

Given that the concentration of ascorbate in human plasma is orders of magnitude greater than any oxidizing free radical combined with the low one-electron reduction potential for the A[•] / ascorbate monanion (AH[−]) couple ($E^{\circ} = 282 \text{ mV}$) (Williams and Yandell, 1982), any oxidising species ($R^{\bullet}$) has the potential to react with this terminal antioxidant to form the A[•] “doublet” ($\text{AH}^{-} + R^{\bullet} \rightarrow \text{A}^{\bullet} + \text{R-H}$) (Buettner, 1993). Thus, the elevation in plasma A[•] provides the first direct analytical evidence for an increased systemic formation of free radicals following PF. Though speculative, this may be related to subtle alterations in the cerebral flow/shear/strain

‘phenotype’, blood-endothelial inflammation-activation or alternatively, to mechanical deformation of the brain that is histologically vulnerable to free radical attack (Cobley et al., 2018). Indeed, microgravity has recently been associated with upward and posterior brain displacement, increased density of brain tissue at the vertex, contraction of adjacent extra-axial cerebrospinal fluid spaces and increased ventricular volume (Roberts et al., 2017).

Free radical formation was accompanied by a corresponding reduction in NO bioavailability, potentially attributable to oxidative inactivation [$R^\bullet + NO^\bullet \rightarrow$ peroxynitrite ($ONOO^-$)], collectively referred to as oxidative-nitrosative stress that we have previously associated with impaired dCA (Bailey et al., 2009a,b, 2011) and systemic/cerebrovascular endothelial dysfunction (Bailey et al., 2013a,b, 2019). Indeed, we observed consistent decreases in all bioactive species, namely NO_2^- and RSNO in both plasma and RBCs, whereas the tendency towards a reduction in Hb-SNO failed to achieve significance due to insufficient statistical power (group/interaction effects = 0.10/0.15). Oxidative inactivation was likely the dominant stimulus opposing the selective elevation in $\dot{Q}_{VA}$ and tendency towards increased endothelial shear that would otherwise be expected to stimulate Akt-dependent activation of (VA) endothelial NO synthase resulting in local vasodilation and NO_2^- / RSNO / HbSNO formation (Bailey et al., 2017).

Structural integrity: the NVU encompassing the BBB consists primarily of tight-junctioned microvascular endothelial cells, astrocyte and mural cells that strictly control permeability gradients and segregate blood from the brain parenchyma (Giannoni et al., 2018). At the cellular level, microgravity has been associated with a loss of cytoskeletal integrity through dissociation of actin and tubulin bundles (Carlsson et al., 2003) and an albeit limited body of evidence in animal models suggests that BBB disruption may occur during the early phases of unloading induced by suspension or microgravity (Porte and Morel, 2012). Indeed, while it has been argued that dCA remains well preserved, if not indeed improved following prolonged exposure to microgravity in humans

(Iwasaki et al., 2007), PF studies have nonetheless identified a pronounced increase in MCAv during the first seconds of microgravity (Bondar et al., 1991; Ogoh et al., 2015a,b), presumably before the cardiopulmonary baroreflex and dCA are operant given comparable latency (Zhang et al., 2002). This implies that the initial buffering of hyperperfusion may be inadequate, potentially predisposing to autoregulatory breakthrough. Likewise, hypergravity induced by prolonged centrifugation (+2.0 Gz) has been associated with increased BBB permeability in mice (Dubayle et al., 2020). Surprisingly, despite predictions that BBB disruption albeit during the (more prolonged) microgravity of spaceflight subsequent to gravitational unloading and loss of hydrostatic cohesion of endothelial junctions could compound intracranial hypertension and predispose to neurological sequelae that could adversely impact crew health and performance (Lakin et al., 2007), Hence, we chose to incorporate a panel of peripheral biomarkers confined to the systemic circulation and specific to the NVU using ultra-sensitive assays to differentiate between potential changes in barrier permeability from structural neuronal-axonal damage (Marchi et al., 2003, 2004).

However, owing to logistics/ ethics constraints, we were unable to sample blood serially following the PF to retrospectively ‘time-align’ these molecular biomarkers given their delayed systemic extravasation (estimated half-lives of S100 β : 60-120 min (Thelin et al., 2017); NSE: 30 h (Rundgren et al., 2014); UCHL-1: 7–9 h (Brophy et al., 2011); GFAP: 48 h (Diaz-Arrastia et al., 2014); NFL: 21d (Shahim et al., 2017); Tau: 10 h (Randall et al., 2013)). Limitations notwithstanding, no increases were observed in NSE, an intracytoplasmic glycolytic enzyme derived from neuronal cytoplasm and neuroendocrine cells (Pahlman et al., 1984), UCH-L1, a neuron-specific cytoplasmic enzyme and marker of neuronal injury/apoptosis concentrated in dendrites (Thompson et al., 1983) or NFL, the smallest component of the axonal cytoskeleton (Al Nimer et al., 2015), thus ruling out any significant neuronal-axonal damage.

In contrast, we observed an increase in GFAP, the main intermediary filament of astrocytes essential for maintaining the shape and motility of

astrocytic processes, white matter architecture, myelination and BBB integrity (Brunkhorst et al., 2010). Given that GFAP is highly brain specific, its release into the systemic circulation reflects loss of glio-vascular integrity (Marchi et al., 2003, 2004). In parallel, we observed an elevation in S100 β , a low-molecular-mass (21 kDa) calcium-binding protein expressed and released predominantly by astrocytes and Schwann cells found at the perivascular brain space (Michetti et al., 2019). Its appearance in blood has previously been shown to correlate with the extent and temporal sequence of BBB opening in humans, also corroborated by gadolinium parenchymal uptake (Kanner et al., 2003). Retrospective calculation of standardized mean differences (Cohen's d) and power estimates observed for GFAP and S100 β were 1.24/0.68 and 1.95/0.96 respectively implying that the effect sizes for these two parameters were indeed very large (>0.8) (Cohen, 1988).

The linear relationship observed between S100 β and increase in $\dot{Q}_{VA}$, though not disassociating cause from effect, tentatively suggests that altered gravity may have induced mild barrier disruption subsequent to posterior hyperperfusion/autoregulatory breakthrough. To what extent this was caused by systemic oxidative-nitrosative stress was beyond the scope of the present study, despite emerging evidence that free radicals can directly compromise BBB integrity via modulation of tight junction /cytoskeletal integrity and matrix metalloproteinase activation (Pun et al., 2009; Lochhead et al., 2010). From a clinical perspective, hypertensive disease-induced primary intracerebral hemorrhage is known to occur mainly at the small penetrating blood vessels in the posterior rather than the anterior cerebral circulation subsequent to free radical-mediated vascular endothelial dysfunction (Iadecola and Davisson, 2008), implying that the posterior circulation may be more vulnerable to oxidative-nitrosative stress. Given that S100 β is not solely exclusive to the BBB (Pham et al., 2010), follow-up studies employing dynamic contrast-enhanced magnetic resonance (MR)-based techniques combining low dose intravenous gadolinium with fast T1 imaging (Taheri et al., 2011) are warranted

to establish if gravitational shifts do indeed cause mild barrier disruption.

Limitations: though limited to a (maximum) sample size of only 6 participants during this 3-day PF campaign, retrospective calculations revealed that for the most part, we were adequately powered (≥ 0.80 at $P < 0.05$) to detect treatment effects. Furthermore, we chose to include a time-aligned normogravity control group to account for the inevitable and oftentimes ignored changes associated with biological variation (Davison et al., 2012). However, we were not in a position to consider the potential, albeit mild oxidative-nitrosative stress and hypocapnia associated with inspiratory hypoxia (equivalent to 16% O_2 or 1600 m simulated altitude) given the hypobaria of PF (Bailey et al., 2001). Despite matching for select demographics, control participants were not assessed in the same environment as the experimental participants (laboratory vs. aircraft) owing to logistics constraints and thus were not subject to the same stress/noise. Indeed, this may contribute in part to the observed differences in cardiopulmonary measures at baseline, with the elevation in HR/TPR and persistent hypocapnia in the experimental participants likely reflecting 'pre-flight' anxiety/stress that could not be 'recreated' in the controls. However, it is important to emphasize that despite these baseline differences, our attention was more focused towards the within-group, 'in-flight' response kinetic to gravitational stress. While retrospective analyses suggested that habituation did not appear to influence the results obtained in those participants where measurements were performed during the second half of each day's PF (following cumulative exposure to 31 as opposed to 16 parabolas) this warrants further consideration given the small sample sizes for comparison ($n = 3$ vs. 3). Furthermore, scopolamine, a non-selective muscarinic acetylcholine receptor antagonist, was selectively administered to PF participants only (and not controls, subject to ethical restrictions) to prevent motion sickness as per SoP, with a maximum drug concentration occurring 30 min after administration and 4 h duration of action. While we acknowledge that scopolamine has been shown to induce neuro-ox-

idative stress in rodents (Haider et al., 2016), the drug is unlikely to explain the selective increase in (posterior) cerebral perfusion in the present study. To the contrary, the true increase may have been 'blunted' given that cholinergic muscarinic blockade (albeit at much higher doses) is typically associated with a dose-dependent 'reduction' in cerebral metabolism and (mostly frontal cortical) blood flow (Prohovnik et al., 1997). We also acknowledge the limitations of finger pulse contour analysis that likely underestimated the observed increase in $\dot{Q}$ during microgravity given the underlying assumptions/inability of the Modelflow algorithm to account for volume shifts to the splanchnic area (Hughson et al., 2017), notwithstanding other concerns related to calibration and atrial filling changes (van Houwelingen and Langewouters, 2018). Ethical constraints meant that we were not in a position to perform serial (blood) sampling (including arteriojugular venous gradients to assess local trans-cerebral exchange) in/post-flight to isolate the source and independent responses to micro-/hypergravity including temporal kinetics associated with the (delayed) systemic extravasation of peripheral NVU biomarkers defined by varied half-lives, notwithstanding the interpretive complications associated with potential plasma volume shifts. These confounds, though difficult to manage in the current setting given ethical and/or logistical constraints, nonetheless warrant consideration.

CONCLUSION

These findings are the first to suggest that PF-induced gravitational transitions may promote minor BBB disruption, potentially related to the combined effects of hemodynamic (posterior cerebral hyperperfusion) and molecular (systemic oxidative-nitrosative) stress. Future studies employing pharmacological manipulation of free radicals combined with contrast-enhanced MRI are encouraged to confirm our preliminary findings. While we appreciate that PF is an entirely different stimulus dominated by hypergravity, our findings may nonetheless provide some background for understanding the long-term health risks associated with the prolonged microgravity of deep spaceflight given that increased BBB permeability directly impacts neuronal function,

eliciting or accelerating neurological sequelae and brain disease (Sweeney et al., 2019).

REFERENCES

- Al Nimer F, Thelin E, Nystrom H, Dring AM, Svenningsson A, Piehl F, et al. (2015) Comparative assessment of the prognostic value of biomarkers in traumatic brain injury reveals an independent role for serum levels of neurofilament light. *PLoS ONE* 10 e0132177.
- Bailey DM (2019) Oxygen, evolution and redox signalling in the human brain; quantum in the quotidian. *J Physiol* 597:15–28.
- Bailey DM, Brugniaux JV, Filipponi T, Marley CJ, Stacey B, Soria R, et al. (2019) Exaggerated systemic oxidative-inflammatory nitrosative stress in chronic mountain sickness is associated with cognitive decline and depression. *J Physiol* 597:611–629.
- Bailey DM, Davies B, Young IS (2001) Intermittent hypoxic training: Implications for lipid peroxidation induced by acute normoxic exercise in active men. *Clin Sci (London)* 101:465–475.
- Bailey DM, Evans KA, James PE, McEneny J, Young IS, Fall L, et al. (2009a) Altered free radical metabolism in acute mountain sickness: Implications for dynamic cerebral autoregulation and blood-brain barrier function. *J Physiol* 587:73–85.
- Bailey DM, Evans KA, McEneny J, Young IS, Hullin DA, James PE, et al. (2011) Exercise-induced oxidative-nitrosative stress is associated with impaired dynamic cerebral autoregulation and blood-brain barrier leakage. *Exp Physiol* 96:1196–1207.
- Bailey DM, Jones DW, Sinnott A, Brugniaux JV, New KJ, Hodson D, et al. (2013a) Impaired cerebral haemodynamic function associated with chronic traumatic brain injury in professional boxers. *Clin Sci* 124:177–189.
- Bailey DM, Rasmussen P, Evans KA, Bohm AM, Zaar M, Nielsen HB, et al. (2018) Hypoxia compounds exercise-induced free radical formation in humans; partitioning contributions from the cerebral and femoral circulation. *Free Radical Biol Med*:104–113.
- Bailey DM, Rasmussen P, Overgaard M, Evans KA, Bohm AM, Seifert T, et al. (2017) Nitrite

- and s-nitrosohemoglobin exchange across the human cerebral and femoral circulation: relationship to basal and exercise blood flow responses to hypoxia. *Circulation* 135:166–176.
- Bailey DM, Rimoldi SF, Rexhaj E, Pratali L, Salinas Salmon C, Villena M, et al. (2013b) Oxidative-nitrosative stress and systemic vascular function in highlanders with and without exaggerated hypoxemia. *Chest* 143:444–451.
 - Bailey DM, Taudorf S, Berg RMG, Lundby C, McEneny J, Young IS, et al. (2009b) Increased cerebral output of free radicals during hypoxia: implications for acute mountain sickness? *Am J Physiol* 297:R1283–R1292.
 - Bain AR, Ainslie PN, Hoiland RL, Barak OF, Drvis I, Stenbridge M, et al. (2018) Competitive apnea and its effect on the human brain: focus on the redox regulation of blood-brain barrier permeability and neuronal-parenchymal integrity. *FASEB J* 32:2305–2314.
 - Beckers F, Seps B, Ramaekers D, Verheyden B, Aubert AE (2003) Parasympathetic heart rate modulation during parabolic flights. *Eur J Appl Physiol* 90:83–91.
 - Bondar RL, Stein F, Kassam MS, Dunphy PT, Bennett BS, Johnston KW (1991) Cerebral blood flow velocities by transcranial doppler during parabolic flight. *J Clin Pharmacol* 31:915–919.
 - Brassard P, Tymko MM, Ainslie PN (2017) Sympathetic control of the brain circulation: appreciating the complexities to better understand the controversy. *Auton Neurosci* 207:37–47.
 - Brophy GM, Mondello S, Papa L, Robicsek SA, Gabrielli A, Tepas 3rd J, et al. (2011) Biokinetic analysis of ubiquitin c-terminal hydrolase-l1 (uch-l1) in severe traumatic brain injury patient biofluids. *J Neurotrauma* 28:861–870.
 - Brunkhorst R, Pfeilschifter W, Foerch C (2010) Astroglial proteins as diagnostic markers of acute intracerebral hemorrhagepathophysiological background and clinical findings. *Transl Stroke Res* 1:246–251.
 - Buettner GR (1993) The pecking order of free radicals and antioxidants: Lipid peroxidation, a-tocopherol, and ascorbate. *Arch Biochem Biophys* 300:535–543.
 - Capderou A, Bailliant O, Maison-Blanche P, Kedra AW, Atkov O, Techoueyres P, et al. (2001) Parasympathetic activity during parabolic flight, effect of lbnp during microgravity. *Aviat Space Environ Med* 72:361–367.
 - Carlsson SI, Bertilaccio MT, Ballabio E, Maier JA (2003) Endothelial stress by gravitational unloading: effects on cell growth and cytoskeletal organization. *Biochim Biophys Acta* 1642:173–179.
 - Copley JN, Fiorello ML, Bailey DM (2018) 13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress. *Redox Biol* 15:490–503.
 - Cohen JB (1988) Statistical power analysis for the behavioral sciences. New York, NY: Routledge Academic.
 - Coverdale NS, Gati JS, Opalevych O, Perrotta A, Shoemaker JK (2014) Cerebral blood flow velocity underestimates cerebral blood flow during modest hypercapnia and hypocapnia. *J Appl Physiol* 117:1090–1096.
 - Dadas A, Washington J, Marchi N, Janigro D (2016) Improving the clinical management of traumatic brain injury through the pharmacokinetic modeling of peripheral blood biomarkers. *Fluids Barriers CNS* 13:21.
 - Darlix A, Hirtz C, Thezenas S, Maceski A, Gabelle A, Lopez-Crapez E, et al. (2019) The prognostic value of the tau protein serum level in metastatic breast cancer patients and its correlation with brain metastases. *BMC Cancer* 19:110.
 - Davison GW, Ashton T, McEneny J, Young IS, Davies B, Bailey DM (2012) Critical difference applied to exercise-induced oxidative stress: the dilemma of distinguishing biological from statistical change. *J Physiol Biochem* 68:377–384.
 - Diaz-Arrastia R, Wang KK, Papa L, Sorani MD, Yue JK, Puccio AM, et al. (2014) Acute biomarkers of traumatic brain injury: relationship between plasma levels of ubiquitin c-terminal hydrolase-l1 and glial fibrillary acidic protein. *J Neurotrauma* 31:19–25.
 - Dubayle D, Vanden-Bossche A, Beraneck M, Vico L, Morel JL (2020) Effects of centrifugation and whole-body vibrations on blood-brain barrier permeability in mice. *NPJ Microgravity* 6:1.
 - Edvinsson L, Owman C, Sjöberg NO (1976) Autonomic nerves, mast cells, and amine receptors in human brain vessels. A histochemical

- and pharmacological study. *Brain Res* 115:377–393.
- Evans DH (1985) On the measurement of the mean velocity of blood flow over the cardiac cycle using doppler ultrasound. *Ultrasound Med Biol* 11:735–741.
 - Fall L, Evans KA, Lewis MH, Bailey DM (2011) Haemostatic response to hypoxaemic/exercise stress: the dilemma of plasma volume correction. *J Clin Pathol* 64:269–271.
 - Geddes LA, Sadler C (1973) The specific resistance of blood at body temperature. *Med Biol Eng* 11:336–339.
 - Giannoni P, Badaut J, Dargazanli C, De Maudave AF, Klement W, Costalat V, et al. (2018) The pericyte-glia interface at the bloodbrain barrier. *Clin Sci* 132:361–374.
 - Haider S, Tabassum S, Perveen T (2016) Scopolamine-induced greater alterations in neurochemical profile and increased oxidative stress demonstrated a better model of dementia: a comparative study. *Brain Res Bull* 127:234–247.
 - Harrison MH (1985) Effects of thermal stress and exercise on blood volume in humans. *Physiol Rev* 65:149–209.
 - Hughson RL, Peterson SD, Yee NJ, Greaves DK (2017) Cardiac output by pulse contour analysis does not match the increase measured by rebreathing during human spaceflight. *J Appl Physiol* 123:1145–1149.
 - Iadecola C, Davisson RL (2008) Hypertension and cerebrovascular dysfunction. *Cell Metab* 7:476–484.
 - Iwasaki K, Levine BD, Zhang R, Zuckerman JH, Pawelczyk JA, Diedrich A, et al. (2007) Human cerebral autoregulation before, during and after spaceflight. *J Physiol* 579:799–810.
 - Iwasaki K, Ogawa Y, Aoki K, Yanagida R (2012) Cerebral circulation during mild +Gz hypergravity by short-arm human centrifuge. *J Appl Physiol* 112:266–271.
 - Iwase S, Mano T, Cui J, Kitazawa H, Kamiya A, Miyazaki S, et al. (1999) Sympathetic outflow to muscle in humans during short periods of microgravity produced by parabolic flight. *Am J Physiol* 277:R419–R426.
 - Kanner AA, Marchi N, Fazio V, Mayberg MR, Koltz MT, Siomin V, et al. (2003) Serum s100b: a noninvasive marker of blood-brain barrier function and brain lesions. *Cancer* 97:2806–2813.
 - Kim D, Kwon S (2018) Mechanical load increase-induced changes in cytoskeletal structure and cellular barrier function in human cerebral endothelial cells. *Biotechnol Bioeng* 115:2624–2631.
 - Kim DW (1989) Detection of physiological events by impedance. *Yonsei Med J* 30:1–11.
 - Lakin WD, Stevens SA, Penar PL (2007) Modeling intracranial pressures in microgravity: the influence of the blood-brain barrier. *Aviat Space Environ Med* 78:932–936.
 - Lee AG, Mader TH, Gibson CR, Tarver W, Rabbie P, Riascos RF, et al. (2020) Spaceflight associated neuro-ocular syndrome (sans) and the neuro-ophthalmologic effects of microgravity: a review and an update. *NPJ Microgravity* 6:7.
 - Lim J, Pearman ME, Park W, Alkatan M, Machin DR, Tanaka H (2015) Impact of blood pressure perturbations on arterial stiffness. *Am J Physiol* 309:R1540–R1545.
 - Lochhead JJ, McCaffrey G, Quigley CE, Finch J, DeMarco KM, Nametz N, et al. (2010) Oxidative stress increases blood-brain barrier permeability and induces alterations in occludin during hypoxia-reoxygenation. *J Cereb Blood Flow Metab* 30:1625–1636.
 - Mao XW, Nishiyama NC, Byrum SD, Stanboully S, Jones T, Drew A, et al. (2019) Characterization of mouse ocular response to a 35day spaceflight mission: evidence of blood-retinal barrier disruption and ocular adaptations. *Sci Rep* 9:8215.
 - Marchi N, Bazarian JJ, Puvenna V, Janigro M, Ghosh C, Zhong J, et al. (2013) Consequences of repeated blood-brain barrier disruption in football players. *PLoS ONE* 8 e56805.
 - Marchi N, Cavaglia M, Fazio V, Bhudia S, Hal-lene K, Janigro D (2004) Peripheral markers of blood-brain barrier damage. *Clin Chim Acta* 342:1–12.
 - Marchi N, Rasmussen P, Kapural M, Fazio V, Kight K, Mayberg MR, et al. (2003) Peripheral markers of brain damage and blood-brain barrier dysfunction. *Restor Neurol Neurosci* 21:109–121.
 - Michetti F, D'Ambrosi N, Toesca A, Puglisi MA, Serrano A, Marchese E, et al. (2019) The s100b

- story: from biomarker to active factor in neural injury. *J Neurochem* 148:168–187.
- Montgomery LD (1993) Body volume changes during simulated microgravity i: technique and comparison of men and women during horizontal bed rest. *Aviat Space Environ Med* 64:893–898.
 - Montgomery LD, Parmet AJ, Booher CR (1993) Body volume changes during simulated microgravity: auditory changes, segmental fluid redistribution, and regional hemodynamics. *Ann Biomed Eng* 21:417–433.
 - Morey-Holton ER (2003) The impact of gravity on life. In: Rothschild LJ, Lister AM, editors. *Evolution on planet earth; the impact of the physical environment*. London, UK: Academic Press. p. 143–159.
 - Mukai CN, Lathers CM, Charles JB, Bennett BS, Igarashi M, Patel S (1991) Acute hemodynamic responses to weightlessness during parabolic flight. *J Clin Pharmacol* 31:993–1000.
 - Mysior M, Stefanczyk L (2007) Doppler ultrasound criteria of physiological flow in asymmetrical vertebral arteries. *Med Sci Monit* 13(-Suppl 1):73–77.
 - Ogoh S, Brothers RM, Barnes Q, Eubank WL, Hawkins MN, Purkayastha S, et al. (2005) The effect of changes in cardiac output on middle cerebral artery mean blood velocity at rest and during exercise. *J Physiol* 569:697–704.
 - Ogoh S, Hirasawa A, Raven PB, Rebuffat T, Denise P, Lericollais R, et al. (2015a) Effect of an acute increase in central blood volume on cerebral hemodynamics. *Am J Physiol* 309:R902–R911.
 - Ogoh S, Sato K, Okazaki K, Miyamoto T, Hirasawa A, Sadamoto T, et al. (2015b) Blood flow in internal carotid and vertebral arteries during graded lower body negative pressure in humans. *Exp Physiol* 100:259–266.
 - Pahlman S, Esscher T, Bergvall P, Odelstad L (1984) Purification and characterization of human neuron-specific enolase: radioimmunoassay development. *Tumour Biol* 5:127–139.
 - Pham N, Fazio V, Cucullo L, Teng Q, Biberthaler P, Bazarian JJ, et al. (2010) Extracranial sources of s100b do not affect serum levels. *PLoS ONE*: 5.
 - Porte Y, Morel JL (2012) Learning on jupiter, learning on the moon: the dark side of the g-force. Effects of gravity changes on neurovascular unit and modulation of learning and memory. *Front Behav Neurosci* 6:64.
 - Prohovnik I, Arnold SE, Smith G, Lucas LR (1997) Physostigmine reversal of scopolamine-induced hypofrontality. *J Cerebral Blood Flow Metabol* 17:220–228.
 - Pun PB, Lu J, Moochhala S (2009) Involvement of ros in bbb dysfunction. *Free Radical Res* 43:348–364.
 - Randall J, Mortberg E, Provuncher GK, Fournier DR, Duffy DC, Rubertsson S, et al. (2013) Tau proteins in serum predict neurological outcome after hypoxic brain injury from cardiac arrest: results of a pilot study. *Resuscitation* 84:351–356.
 - Rissin DM, Kan CW, Campbell TG, Howes SC, Fournier DR, Song L, et al. (2010) Single-molecule enzyme-linked immunosorbent assay detects serum proteins at subfemtomolar concentrations. *Nat Biotechnol* 28:595–599.
 - Roberts DR, Albrecht MH, Collins HR, Asemani D, Chatterjee AR, Spampinato MV, et al. (2017) Effects of spaceflight on astronaut brain structure as indicated on mri. *N Engl J Med* 377:1746–1753.
 - Rundgren M, Cronberg T, Friberg H, Isaksson A (2014) Serum neuron specific enolase - impact of storage and measuring method. *BMC Res Notes* 7:726.
 - Sato K, Fisher JP, Seifert T, Overgaard M, Secher NH, Ogoh S (2012a) Blood flow in internal carotid and vertebral arteries during orthostatic stress. *Exp Physiol* 97:1272–1280.
 - Sato K, Sadamoto T, Hirasawa A, Oue A, Subudhi AW, Miyazawa T, et al. (2012b) Differential blood flow responses to co2 in human internal and external carotid and vertebral arteries. *J Physiol* 590:3277–3290.
 - Shaffer F, Ginsberg JP (2017) An overview of heart rate variability metrics and norms. *Front Public Health* 5:258.
 - Shahim P, Zetterberg H, Tegner Y, Blennow K (2017) Serum neurofilament light as a biomarker for mild traumatic brain injury in contact sports. *Neurology* 88:1788–1794.

- Shelhamer M (2016) Parabolic flight as a space-flight analog. *J Appl Physiol* 120:1442–1448.
- Stein TP (2002) Space flight and oxidative stress. *Nutrition* 18:867–871.
- Sweeney MD, Zhao Z, Montagne A, Nelson AR, Zlokovic BV (2019) Blood-brain barrier: from physiology to disease and back. *Physiol Rev* 99:21–78.
- Szulcek R, van Bezu J, Boonstra J, van Loon JJ, van Nieuw Amerongen GP (2015) Transient intervals of hyper-gravity enhance endothelial barrier integrity: impact of mechanical and gravitational forces measured electrically. *PLoS ONE* 10 e0144269.
- Taheri S, Gasparovic C, Shah NJ, Rosenberg GA (2011) Quantitative measurement of blood-brain barrier permeability in human using dynamic contrast-enhanced MRI with fast t1 mapping. *Magn Reson Med* 65:1036–1042.
- Thelin EP, Nelson DW, Bellander BM (2017) A review of the clinical utility of serum s100b protein levels in the assessment of traumatic brain injury. *Acta Neurochir (Wien)* 159:209–225.
- Thomas KN, Lewis NC, Hill BG, Ainslie PN (2015) Technical recommendations for the use of carotid duplex ultrasound for the assessment of extracranial blood flow. *Am J Physiol* 309: R707–R720.
- Thompson RJ, Doran JF, Jackson P, Dhillon AP, Rode J (1983) Pgp 9.5—a new marker for vertebrate neurons and neuroendocrine cells. *Brain Res* 278:224–228.
- Tremblay JC, Hoiland RL, Howe CA, Coombs GB, Vizcardo-Galindo GA, Figueroa-Mujica RJ, et al. (2019) Global reach 2018: High blood viscosity and hemoglobin concentration contribute to reduced flow-mediated dilation in high-altitude excessive erythrocytosis. *Hypertension* 73:1327–1335.
- Tzeng YC, Ainslie PN, Cooke WH, Peebles KC, Willie CK, MacRae BA, et al. (2012) Assessment of cerebral autoregulation: the quandary of quantification. *Am J Physiol Heart Circul Physiol* 303: H658–H671.
- van Houwelingen MJ, Langewouters G (2018) Response to “cardiac output by pulse contour analysis does not match the increase measured by rebreathing during human spaceflight”. *J Appl Physiol* 125:226–227.
- Vanzetti G (1966) An azide-methemoglobin method for hemoglobin determination in blood. *J Lab Clin Med* 67:116–126.
- Verheyden B, Beckers F, Aubert AE (2005) Spectral characteristics of heart rate fluctuations during parabolic flight. *Eur J Appl Physiol* 95:557–568.
- Wesseling KH, Jansen JR, Settels JJ, Schreuder JJ (1993) Computation of aortic flow from pressure in humans using a nonlinear, three-element model. *J Appl Physiol* 74:2566–2573.
- Williams NH, Yandell JK (1982) Outer-sphere electron-transfer reactions of ascorbic anions. *Aust J Chem* 35:1133–1144.
- Willie CK, Tzeng YC, Fisher JA, Ainslie PN (2014) Integrative regulation of human brain blood flow. *J Physiol* 592:841–859.
- WMA (2013) World medical association declaration of helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *J Am Med Assoc* 310:2191–2194.
- Zhang LF, Hargens AR (2018) Spaceflight-induced intracranial hypertension and visual impairment: pathophysiology and countermeasures. *Physiol Rev* 98:59–87.
- Zhang R, Zuckerman JH, Iwasaki K, Wilson TE, Crandall CG, Levine BD (2002) Autonomic neural control of dynamic cerebral autoregulation in humans. *Circulation* 106:1814–1820.

Variation du débit de la carotide externe lors de transitions gravitationnelles

L'étude présentée ci-dessous est le prolongement de la recherche précédente, réalisée à partir des données compilées de 2 campagnes de vol parabolique de 11 sujets différents à bord d'un avion Airbus A310-ZERO G. Nous avons souhaité explorer l'effet des transitions gravitationnelles, et plus particulièrement de la microgravité (que nous abrègerons 0G par commodité) sur l'augmentation du volume sanguin central (VSC) et la distribution du débit sanguin cérébral (DSC) à l'étage cervical et cérébral.

Les effets hémodynamiques des 15 paraboles, par sujet exposé au 0G et à l'hypergravité (1.8G), étaient évalués en position assise : la pression artérielle moyenne (PAM) et la fréquence cardiaque (F_c) étaient enregistrées en continu et utilisées pour estimer le volume d'éjection systolique (VES), le débit cardiaque ($\dot{Q}$), et les résistances vasculaires périphériques (RVP).

Les modifications de VSC étaient mesurées à l'aide d'un moniteur d'impédancemétrie. Les débits des artères extracrâniennes (carotides internes, externes et vertébrales, respectivement $\dot{Q}_{ICA}$, $\dot{Q}_{ECA}$ and $\dot{Q}_{VA}$) et les vitesses des artères intracrâniennes étaient mesurés par échographie doppler.

L'exposition 0G, relativement aux conditions de base (1G), entraînait une augmentation du VSC ($+375 \pm 98$ mL, $P = 0.004$), du $\dot{Q}$ ($+16\% \pm 14$, $P = 0.024$) et une diminution des RVP (-7.3 ± 5 mmHg.min.L-1, $P = 0.002$) ainsi que de la PAM (-13 ± 4 mmHg, $P = 0.001$). Dans le même temps le $\dot{Q}_{ECA}$ augmente de 46% (± 43 ; $P = 0.030$) alors qu'aucun changement n'était observé pour le DSC, le $\dot{Q}_{ICA}$ ou le $\dot{Q}_{VA}$ (respectivement $P = 0.102$, $P = 0.637$ and $P = 0.095$). De même aucun changement n'était observé pour les vitesses des artères intracrâniennes.

Nos résultats montrent qu'en 0G, il existe une augmentation sélective du débit sanguin de l'artère carotide externe alors que le débit sanguin cérébral global et régional reste préservé. Notre hypothèse, qui reste à confirmer, est que cela reflète une réponse adaptative et neuroprotectrice à une éventuelle sur-perfusion cérébrale.

Lanéelle, D., Ogoh, S., Trihan, J. E., Bailey, D. M., & Normand, H. (2023). Selective elevation in external carotid artery flow during acute gravitational transition to microgravity during parabolic flight. American journal of physiology. Heart and circulatory physiology, 325, 665–672. DOI: 10.1152/ajpheart.00341.2023.

Oral presentation of results at the 41nd Congress of the International Society of Gravity Physiology (ISGP), may 2021, Texas A&M University, USA.

BACKGROUNDS

Gravity strongly affects blood circulation: blood and fluids are drawn towards the centre of the earth. When we are standing, gravity facilitates venous return from the head, located above the heart, but limits venous return from the lower extremities, located below the heart. For the lower extremities, it is muscle contractions and joint movements, if any, that allow blood to be mobilised towards the heart, assisted by unidirectional valves that split the blood column.

During acute or chronic microgravity (parabolic-flight or spaceflight), venous translocation of blood from the lower segments of the body to the upper body increases central blood volume

(CBV, 1). This is accompanied by an increase in left atrial diameter and corresponding reduction in intrathoracic pressure, increasing cardiac filling, stroke volume (SV) and cardiac output ($\dot{Q}$, 2).

These parabolic-flight induced volumetric changes do not translate into elevated MAP (3), the likely consequence of systemic vasodilation. In support, systemic total vascular resistance (SVR) has been consistently shown to decrease by 20-25% both in parabolic-flight and in space flight (4). There are other models of microgravity, such as head-down tilt position, but they do not eliminate the so-called Gz gradient, or front-back gradient, present in the supine position, which can limit the interpretation of variations in brain arterial flow.

The microgravity-induced shifts in CBV cause facial puffiness and ophthalmic complications (globe flattening, choroidal folding, and optic disc edema) known collectively as the spaceflight-associated neuro-ocular syndrome, identified by international space agencies as a ‘red risk’ priority issue for long-duration space flights (5). The risks ranked as ‘red’ have the highest priority based on both the likelihood of occurrence and the severity of their impact on human health, performance in mission, and long-term quality of life. However, the distribution of cerebral flow in microgravity (0G) is not known precisely and, above all, the arteries of the head that are not involved in the vascularization of the brain, such as the external carotid artery (ECA), have never been studied in this context of parabolic-flight.

Indeed, an important feature of the ECA is anastomosis with the cerebral arterial system especially between the facial and ophthalmic arteries, which are well described in traditional studies under classic gravity conditions (6). These anastomoses are useful for patients with arterial pathology as collateral circulation on Earth (7) but in a 0G setting, their possible involvement and impact are not known. Because of their size, these anastomoses are difficult to study directly, but variations in flow in the external carotid artery could be an indirect reflection of their involvement. Here, we investigate to what extent acute 0G induced by parabolic-flight impacts regional cerebral blood flow (CBF) distribution. We tested the hypothesis that a rapid elevation in CBV would result in a selective increase in $\dot{Q}_{\text{ECA}}$ in the face of unchanged global CBF (gCBF) during the 0G phase of each parabola.

METHODS

Subjects: eleven healthy participants (10 males, 1 female) aged 33 ± 9 years (mean $\pm$ SD), with a body mass index of 24 ± 3 kg/m² were recruited from the Université de Caen (France) to participate in the 55th and 57th parabolic-flight Campaign organized by the Centre National d’Études Spatiales. All participants were physically active, non-smokers and subjected to an extensive clinical examination that consisted of a thorough medical history, chest auscultation and ECG

to confirm they were free of cardiopulmonary or cerebrovascular disease with good vestibular function. All were parabolic-flight naïve with the exception of one male who had participated in a parabolic-flight study 5 years ago. They were asked to refrain from physical activity, caffeine and alcohol diet 24 h prior to formal experimentation.

Ethics: the experimental protocol was approved by the “Comité de Protection des Personnes Est-II”, Besançon, France (8/589; ANSM 2018-A01090-55). All experimental procedures were carried out in accordance with the most (7th) recent amendment of the Declaration of Helsinki of the World Medical Association (World Medical Association, 2013), excluding registration of names in a database, with verbal and written informed consent from all participants.

Protocol: All studies were performed at Bordeaux-Mérignac airport, Bordeaux (France) courtesy of Novespace (www.novespace.fr) from September to October 2018 and September to October 2019. Each campaign was conducted aboard the Airbus A300-ZERO G aircraft (Novespace) and consisted of 3 consecutive parabolic-flights with one flight per day. Participants received intra-muscular scopolamine (0.7 mL for males and 0.5 mL for females), a muscarinic receptor antagonist to alleviate motion sickness, administered 1h prior to the parabolic-flights in accordance with standard operating procedures. Each flight lasted 3.0 h and included 31 parabolas. Each parabola was composed as shown in Figure 3.6, panel A. Gravity was measured continuously from an accelerometer (FGP sensors, France). The hypergravity phases before and after the 0G phase are a consequence of the flight technique that enables weightlessness, which is the phase of interest: hypergravity is induced by acceleration (pull-up phase) and deceleration (pull-out of the fall phase). The term microgravity refers to weightlessness or perceived zerogravity. Due to small residual forces, such as air drag or solar pressure, perceived gravity is not exactly 0 and is expressed as a fraction of g (from 10-2g to 10-6g), where g is the gravitational acceleration at Earth’s surface, on average 9.81 m/s².

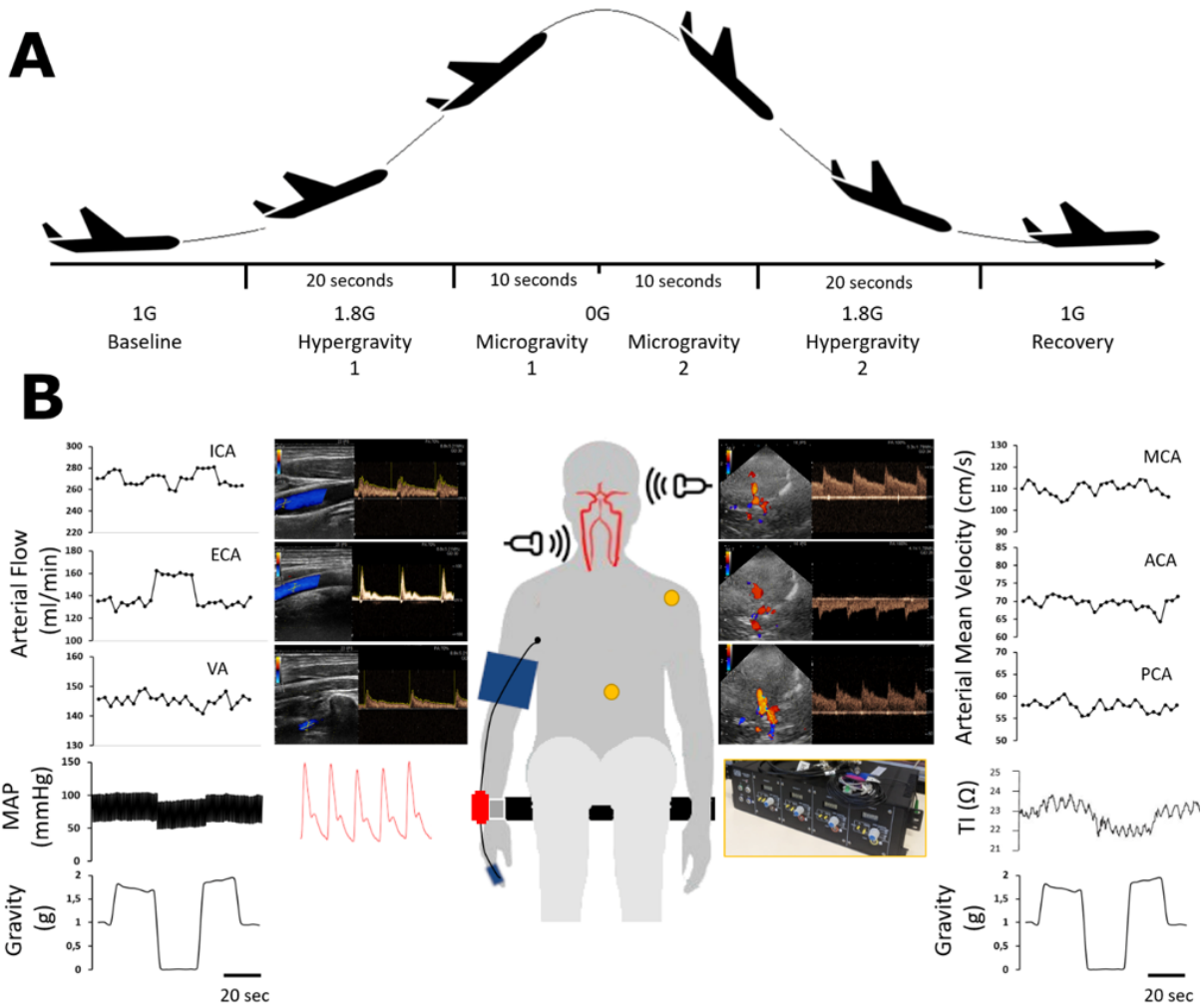


Figure 3.6: Chronographe d'une parabole (A) et expérimentations en vol parabolique (B).

A : Chaque vol dure 3 heures et se compose de 31 paraboles. Chaque parabole est composée de trois phases de ~20 s d'hypergravité (1,8G ; Hypergravity 1), 20 s de microgravité (0G) séparées en 2 périodes d'analyse de 10 secondes chacune, et à nouveau 20 s d'hypergravité (1,8G, Hypergravity 2). Un retour à la gravité normale (1G, Recovery) de 2 minutes sépare 2 paraboles. B : Les modifications hémodynamiques ont été mesurées au cours de chacune des 15 paraboles pour chaque sujet. Le débit sanguin a été évalué dans l'artère carotide interne (ICA), l'artère carotide externe (ECA) et l'artère vertébrale (VA) par un premier opérateur avec un échodoppler par insonation cervicale gauche. Le débit sanguin cérébral (CBF) a été calculé. Les vitesses moyennes de l'artère cérébrale postérieure (ACP), cérébrale antérieure (ACA) et cérébrale moyenne (ACM) ont été mesurées par un second opérateur avec un échodoppler transcrânien au-dessus de la fenêtre temporale droite. La variation de l'impédance thoracique (TI) a été mesurée par un impédancemètre tétra polaire à haute résolution et quantifie la variation du volume sanguin central (les électrodes de mesure sont en jaune, les électrodes d'injection ne sont pas représentées). La pression artérielle battement par battement a été mesurée par photopléthysmographie au doigt et la pression artérielle moyenne (MAP), le volume systolique, le débit cardiaque et les résistances vasculaires périphériques ont été calculés. Les acquisitions de la fréquence cardiaque et de la pression partielle de dioxyde de carbone en fin d'expiration ne sont pas représentées.

During parabolic-flight campaigns the main g levels achieved for (perceived) microgravity is 0.041 ± 0.005 g and $1.87 \text{ g} \pm 0.003$ g for hypergravity. For reasons of comprehension and in consid-

eration of the residual gravity, we will use the term microgravity rather than zero-gravity to describe the phase of interest.

Two participants per flight were studied. The first participant was tested during the first 15 parabolas. The second participant was instrumented between two blocks of parabolas, i.e., between parabolas 15 and 16, and followed the same procedure as the first participant. During each test session, participants were attached to a seat, and asked to remain relaxed with their eyes closed. The hemodynamic changes were measured during each of the collective 15 parabolas. Experimental measurements: all data were sampled continuously at 1 kHz using an analog-to-digital converter interfaced with a computer using dedicated acquisition software (NOTOCORD Systems, France). Heart rate (HR) was measured using a lead II electrocardiogram (ADInstruments, New Zealand). Experimental set-up with representative traces is shown in Figure 3.6, panel B.

Finger photoplethysmography (Finapres Medical Systems, The Netherlands) was used to measure beat-by-beat arterial blood pressure for calculation of MAP, SV and $\dot{Q}$ using the Modelflow algorithm (8) that incorporates participant sex, age, stature and mass (TPD Biomedical Instrumentation, Amsterdam). The finger cuff was placed and adapted to the size of the middle finger on the right hand. An additional upper arm cuff circuitry was employed to perform a “Return-to-Flow” calibration of the brachial waveform by measuring systolic pressure. Pressure values provided by this type of device do not significantly differ from those taken directly from the radial artery in various physiological conditions (9).

Changes in CBV were measured using a tetra polar high-resolution impedance meter (UFI, USA) connected to two pairs of Ag/AgCl electrocardiogram electrodes (10). Injection electrodes with low-amperage (0.1 mA) and high-frequency (50 kHz) electric current were placed on the left hand and left foot, covering the thoracic segment, and measuring electrodes were placed inside the electric field, at the clavicular level and xiphoidal process, to assess the impedance across the thorax. Electrical resistance was assessed using the segmental pairs as sampling electrodes. The midline distance between the sampling electrodes was determined using a tape measure. The absolute values of thoracic impedance data are

variable, as the individual’s impedance value is related to the subject’s body size, etc. However, the change in impedance between each gravitational condition quantifies the change in CBV.

Expired air was sampled breath-by-breath, and end-tidal partial pressure of carbon dioxide (PETCO₂) was measured via capnography (Microcap, EtCO₂, Oridion, USA) and a CO₂ nasal cannula (Smart CapnoLine Plus, Covidien, USA). Concurrent measures of continuous blood velocity and vessel diameter were assessed in the ICA, ECA and vertebral artery (VA) by two trained investigators secured by harnesses to the cabin floor. Mean velocity of posterior cerebral artery (PCAv), anterior cerebral artery (ACAv) and MCAv were measured by transcranial doppler ultrasonography (CX50, Philips, the Netherlands) with a multifrequency (1-5 MHz) sector transducer over the right temporal window with the head held in position via head straps. For ICA, ECA and VA measurements, we employed a vascular duplex ultrasound (Vivid-I, GE, USA) with a multifrequency (4.0-12.0 MHz) linear transducer using according to established methods (11). Arterial diameter was measured via B-mode imaging, whereas peak blood velocity was simultaneously measured with pulse-wave mode. The ICA and ECA were insonated 1.5 cm from the common carotid bifurcation to eliminate measures of turbulent and retrograde flow. The VA was measured proximal to the C4 vertebral process, between the C4 and subclavian, or between the C4 and C5 vertebral processes depending on individual anatomy. Sample volume was positioned in the center of each vessel and adjusted to cover the width of the vessel diameter, while precautions were taken to ensure that the angle of insonation was stable and maintained at 60°. All files were collected in AVI format for offline analysis at 30 Hz using custom designed software. Simultaneous measurements of luminal diameter and blood flow velocity over a minimum of 10 cardiac cycles were used to calculate $\dot{Q}_{ICA}$, $\dot{Q}_{ECA}$ and VA blood flow ($\dot{Q}_{VA}$). Screen capture software was used for ultrasound recordings, and video files were stored for offline analysis. Blood flow results are expressed for the right and left arteries, as indicated below. The within investigator co-

efficient of variation for ICA, ECA and VA measurements were all < 10% (velocity and diameter). The within investigator coefficient of variation for MCA, PCA and ACA were all < 5% (velocity only).

Systemic vascular resistance (SVR, also known as total peripheral resistance, in mmHg.min.L⁻¹) was calculated as $MAP/\dot{Q}$. The gCBF is defined as the volume of blood passing through the arteries of the brain per unit of time (mL.min⁻¹). Given the short duration of the acquisition phases and the exploration of the intracranial arteries on the right side, only the left carotid and left vertebral arteries were recorded. In order to evaluate the gCBF, these values were multiplied by 2 to consider the flow of the right vertebral and right carotid arteries as $gCBF = 2(\dot{Q}_{ICA} + \dot{Q}_{VA})$. The 10 s preceding the onset of each parabola was averaged as baseline data. By design, the parabolic-flight included the 1.8G periods before and after 0G (for 20 s each). The data of the final 10 s of the first and second 1.8G sequences were also analyzed as Hypergravity 1 and Hypergravity 2 conditions. The first (microgravity 1) and last (microgravity 2) 10 s of 0G were analyzed separately. Recovery data were averaged from the initial 10 s immediately after the hypergravity 2 period.

Statistical analysis: The power of the study was calculated a priori at 10 subjects, based on the previous studies cited in the background. We included 11 subjects because of the risk of motion sickness despite the injection of scopolamine. Repeated Shapiro-Wilks W tests were employed to confirm distribution normality. One-factor repeated-measures ANOVA was used to determine the effect of condition (Baseline, Hypergravity 1, Microgravity 1, Microgravity 2, Hypergravity 2, and Recovery) on the responses. Following a main effect, differences in means were analysed using Bonferroni-corrected paired samples t-tests, between each condition. Then, in the absence of differences, the results will be expressed as the mean between microgravity periods 1 and 2 and hypergravity periods 1 and 2. Significance was determined at an alpha level of 0.05 for all two-tailed tests and data presented as mean $\pm$ standard deviation (SD). We performed the analysis using R software version 3.0.1 (R

Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

RESULTS

Owing to technical complications, in-flight CBV data were collected but could be retrieved post-flight only for 4 participants. Thus, the CBV datasets are based on a sample size of four; participant demographics, with and without the excluded participants due to data loss, is shown in supplemental table S1. Sample size was $n = 11$ for all hemodynamic measurements (MAP, $\dot{Q}$, SVR, PETCO₂, HR) and all intracranial blood velocity measurements, $n = 10$ for all extracranial blood flow measurements except for external carotid artery blood flow ($n = 9$).

There was no difference between the first participants (parabolas 1 to 15) and second participant groups (parabolas 16 to 31) in terms of hemodynamic responses during parabolic-flight. Similarly, there was no difference between the microgravity 1 and microgravity 2 sequences, nor between the hypergravity 1 and hypergravity 2 (Table 3.6). Consequently, in the following, and as anticipated in the method section, the results presented for the hypergravity and microgravity conditions are the averages of the corresponding sequences.

Cardiopulmonary responses: during parabolic-flight, hypergravity was associated with a reduction in CBV and SV and increase in HR and SVR ($P < 0.05$). Microgravity was associated with an increase in CBV ($+375 \pm 98$ mL, $P = 0.004$) and $\dot{Q}$ ($+16\% \pm 14$, $P = 0.024$) and reduction of SVR (-7.3 ± 5 mmHg.min.L⁻¹, $P = 0.002$). No changes were observed in PETCO₂ throughout the duration of parabolic-flight. MAP at baseline was 103 mmHg ± 8 , increased to 111mmHg ± 12 ($P = 0.007$) in 1.8G and decreased to 90 mmHg ± 8 ($P = 0.001$) in 0G.

Cerebrovascular responses: in 0G, despite a profound elevation in $\dot{Q}$, gCBF did not change and remained preserved ($P = 0.102$, Table 3.7). There was also no change in $\dot{Q}_{ICA}$ ($P = 0.637$) and we observed a tendency for the VA blood flow to increase (from 140 ± 34 to 156 ± 55 , $P = 0.095$).

Table 3.6: Réponses hémodynamiques lors de transitions gravitationnelles.

Variables	Baseline	HyperG 1	MicroG 1	MicroG 2	HyperG 2	Recovery
Gravity, G	1.0 ± 0	1.8 ± 0	0.0 ± 0	0.0 ± 0	1.8 ± 0	1.0 ± 0
HR, min ⁻¹	71.3 ± 13	78.4 ± 15*	68.8 ± 9	72.6 ± 11	77 ± 15	70 ± 10
SBP, mmHg	136.3 ± 10	144 ± 11	129 ± 9	120.3 ± 8*	143 ± 16	136.1 ± 9
DBP, mmHg	84 ± 7	93.2 ± 9	73.9 ± 7	67 ± 7*	89.1 ± 13	82.5 ± 7
MAP, mmHg	103.8 ± 8	112 ± 9	93.9 ± 7	87 ± 8*	109.2 ± 14	102.6 ± 8
SV, mL	52 ± 11	44.6 ± 9*	59.3 ± 13*	60.9 ± 13*	50.5 ± 10	53 ± 12
$\dot{Q}$, L.min ⁻¹	3.8 ± 1.2	3.5 ± 1.1	4.1 ± 1.2	4.4 ± 1.3	3.9 ± 1.1	3.7 ± 1.1
SVR, mmHg.min.L ⁻¹	31.1 ± 10	35.5 ± 11*	25.4 ± 8*	21.5 ± 6*	31 ± 10	30.3 ± 9
PetCO ₂ , mmHg	33.6 ± 3	32.7 ± 3	32.2 ± 3	34.9 ± 3	32.6 ± 3	32.7 ± 3
CBV, ΔmL		-160 ± 48	361.3 ± 101	387.8 ± 97	-121.4 ± 51	-2.1 ± 6

Les données sont exprimées en moyennes ± SD. HR : Fréquence cardiaque ; SBP : pression artérielle systolique ; DBP : pression artérielle diastolique ; PAM : pression artérielle moyenne ; SV : volume d'éjection systolique ; $\dot{Q}$: débit cardiaque ; SVR : résistance vasculaire systémique ; PetCO₂ : pression partielle de dioxyde de carbone en fin d'expiration ; CBV : volume sanguin central (les valeurs reflètent le déplacement net du volume sanguin de/vers la cavité thoracique). *Différent par rapport aux valeurs de base, $P < 0,05$; il n'y avait pas de différence entre les séquences de microgravité (microG) 1 et 2, ni entre les séquences d'hypergravité (hyperG) 1 et 2.

Table 3.7: Réponses hémodynamiques par rapport aux valeurs de base.

Variables	MicroG	HyperG
Gravity, g	0.0 ± 0	1.8 ± 0
Δ MAP, %	-12%*	7%*
Δ $\dot{Q}$, %	16%*	-1%
Δ SVR, %	-24%*	8%
Δ gCBF, %	4%	3%
Δ $\dot{Q}_{ICA}$, %	2%	3%
Δ $\dot{Q}_{VA}$, %	11%	4%
Δ $\dot{Q}_{ECA}$, %	46%*	-1%

Les données sont exprimées en pourcentage des valeurs de base ; MAP : pression artérielle moyenne ; $\dot{Q}$: débit cardiaque ; SVR : résistance vasculaire systémique ; gCBF : débit sanguin cérébral global ; $\dot{Q}_{VA}$: débit de l'artère vertébrale ; $\dot{Q}_{ICA}$: débit sanguin de l'artère carotide interne ; $\dot{Q}_{ECA}$: débit sanguin de l'artère carotide externe. *Différence significative avec les valeurs de base, $P < 0,05$.

In contrast, $\dot{Q}_{ECA}$ increased by $46 \pm 43\%$, from baseline 133 ± 27 mL/min to 194 ± 84 mL/min in 0G ($P = 0.030$, Table 3.7).

No changes were observed in MCAv, ACAv and PCAv ($P = 0.530$, 0.904 and 0.951 respectively) between the baseline and 0G or baseline and 1.8G (Supplemental Figure S1, all Supplemental Material is available at <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.23691711>).

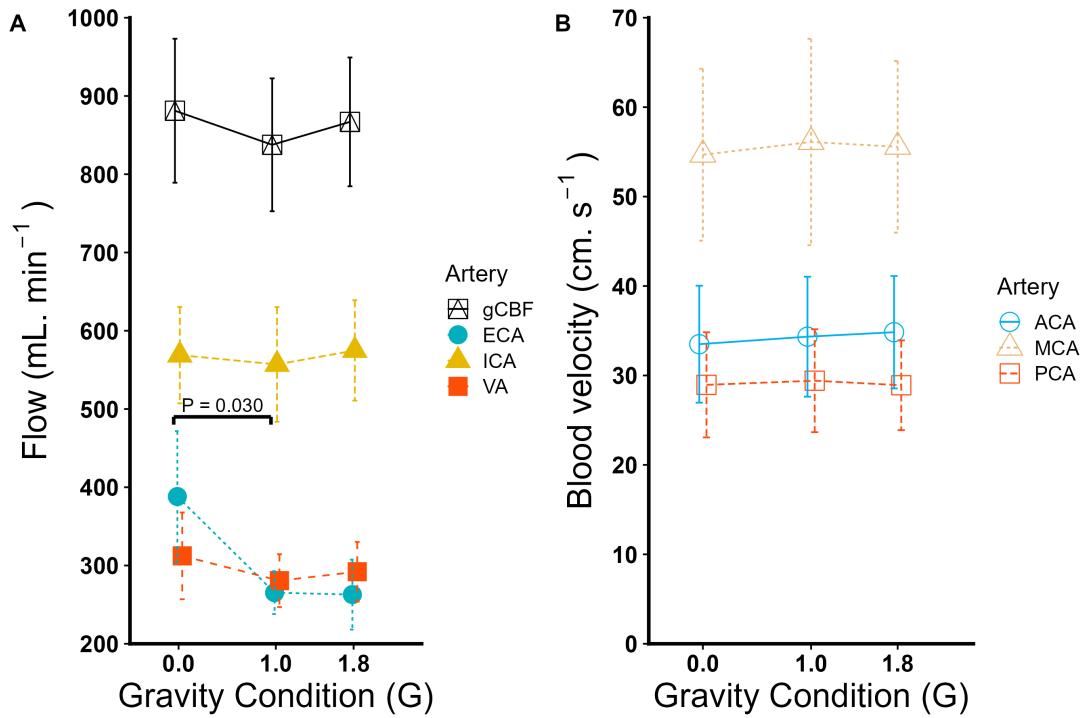


Figure 3.7: Hémodynamique extra et intracrânienne lors de transitions gravitationnelles. Valeurs moyennes avec écart-type. A : Débit sanguin extracrânien et débit sanguin cérébral global (gCBF). Les valeurs ont été multipliées par un facteur 2 pour le calcul du gCBF comme indiqué dans le texte. VA : artère vertébrale ; ICA : artère carotide interne, ECA : artère carotide externe. B : vitesse des artères intracrâniennes. MCAv : vitesse moyenne de l'artère cérébrale moyenne ; PCAv : vitesse moyenne de l'artère cérébrale postérieure ; ACAv : vitesse moyenne de l'artère cérébrale antérieure.

DISCUSSION

The present study has identified two important findings: $\dot{Q}_{ECA}$ was selectively elevated in 0G whereas gCBF was not modified and we report no changes in $\dot{Q}_{VA}$ during 0G or 1.8G.

The simultaneous assessment of $\dot{Q}_{ICA}$ and $\dot{Q}_{ECA}$ allowed examination of the (potential) role of ECA in the regulation of CBF in 0G. Furthermore, the simultaneous assessment of $\dot{Q}_{ICA}$, $\dot{Q}_{VA}$, MCAv, PCAv and ACAv provided, to the best of our knowledge, the first opportunity to examine how gravity influences the regional distribution of intra and extracranial gCBF during parabolic-flight. As anticipated, gravitational transitions induced reciprocal alterations in CBV and $\dot{Q}$ ($\uparrow$ 0G / $\downarrow$ 1.8G) and opposing changes in SVR ($\downarrow$ 0G / $\uparrow$ 1.8G). A decrease in MAP has already been shown in microgravity (12) and attributed to a decrease in sympathetic activity (13).

Our hypothesis concerning ECA is also confirmed: $\dot{Q}_{ECA}$ increased in 0G. These data tentatively suggest that regional diversion of flow towards the ECA may serve to protect the brain from over-perfusion when CBV increases during 0G given its inherent structural sensitivity (14). A similar neuroprotective phenomenon has been described during heavy dynamic exercise (15), resistance exercise (16), heat stress (17) and during the bioenergetic challenges associated with under-perfusion during acute hypotension (18) however, to our knowledge, our study is the first to demonstrate a similar effect in parabolic-flight.

In stark contrast, we report no changes in gCBF, $\dot{Q}_{ICA}$ or $\dot{Q}_{VA}$ and no changes in MCAv, PCAv or ACAv during 0G or 1.8G. This is surprising considering that previous data showed that the change in $\dot{Q}_{VA}$ is different from that in $\dot{Q}_{ICA}$ across identical levels of orthostatic stress (19) or for the same level of exercise-induced blood pressure increase (15, 20). The underlying mecha-

nisms have not been established but the presence of ECA, in close proximity to ICA, could partly explain this difference.

We have published in 2020 preliminary results on the present study documenting a selective increase in posterior perfusion ($\uparrow\dot{Q}_{VA}$) during the most marked gravitational transition from 0G to 1.8G (21). The publication of these preliminary results, which concerned only the part of the campaign, therefore only included a limited number of subjects (only 6). In addition, preliminary results did not include $\dot{Q}_{ECA}$. The present manuscript fills these gaps. This difference in regulation between the anterior and posterior cerebral circulation is not confirmed in this larger cohort but $\dot{Q}_{VA}$ tended to increase during parabolic flight ($P = 0.095$). This was likely constrained by inadequate statistical power ($1-\beta = 0.55$), difficulty of recording $\dot{Q}_{VA}$ (smaller artery than ICA and ECA) and the cervical-cranial vascular variability (28% of the subjects without both posterior communicating arteries, 16% of VA hypoplasia and unknown prevalence for occipital-vertebral anastomosis) (22–24).

Furthermore, regarding anastomoses, there are better-known communications between the ECA and ICA (including temporal artery anastomoses with the lacrimal artery and facial artery anastomoses with the ophthalmic artery) in cases of ICA under-perfusion (25, 26). Additionally, over-perfusion of the ECA has been demonstrated in hypoxia (27) and is suspected, through its meningeal anastomoses, of contributing at least in part, to the potential pathophysiology underlying the neurological sequelae associated with acute mountain sickness (28).

A recent study assessing the effect of acute head-down tilt position on the mean flow of the intra- and extracranial vessels suggests a shift from the external to the internal system that might play an important role in the pathomechanism of spaceflight-associated neuro-ocular syndrome (29). The weightlessness model is different and flow was measured by MRI, but the results indicate a 40% increase in $\dot{Q}_{ECA}$, with no increase in gCBF, with a 27% increase in internal jugular vein flow, suggesting a shunt from the ECA and its

branches to the internal jugular vein. The authors hypothesize that the bypassing of ICA autoregulation may result in additional strain on jugular outflow and result in localized intraorbital effects due to a potential collateralization. In our study, no increase in gCBF was observed either, but jugular flow was not recorded. We did not evaluate whether the increase in $\dot{Q}_{ECA}$ in 0G is an adaptive phenomenon for cerebral protection or a maladaptive phenomenon that contributes to the increase in pressure in the face territory. Indeed, the presence of communications between the ECA and the ophthalmic artery could be an element responsible for an increase in pressure in the orbital cavity. It is known that one of the main health risks during long-duration spaceflight is a visual impairment: the spaceflight-associated neuro-ocular syndrome, that remains poorly understood. Indeed, whether a link exists between symptomatology and selective elevation in $\dot{Q}_{ECA}$ during 0G. This may provide alternative, complementary insight into spaceflight-associated neuro-ocular syndrome physiopathology and help with design of potential countermeasures. For example, countermeasures can be envisaged to reduce vasodilation of the ECA territory and in particular the facial artery by reducing skin temperature, a principle already used in cryotherapy (30). In this particular case of facial cooling, the problem is the secondary increase in $\dot{Q}_{ICA}$ (31), the consequences of which are not known, but potentially harmful. The solution to limit the increase in $\dot{Q}_{ECA}$ in 0G while providing cerebral protection could be to divert blood flow from the cerebral vasculature to the upper limbs; by cooling the skin of the face and simultaneously warming the forearms and hands.

Hypergravity was associated with a reduction in CBV and SV and an increase in HR and SVR. These changes were expected (21, 32), and hypergravity was not our phase of interest but we confirmed that hypergravity in the seated position caused significant hemodynamic stress, similar to the hypovolemia simulated by low-body negative pressure. Because future space missions are likely to be conducted in hypoxia (33), the combined effects of hypoxia (34) and weightlessness on $\dot{Q}_{ECA}$ and its branches will have to be evalu-

ated considering the individual variability of both the Willis polygon and the anastomoses between extra and intracerebral vessels (7).

Study limitations: although parabolic-flight is a popular and cost-effective ground-based space-flight analogue, studies are characterized by small sample sizes that are underpowered, often lacking appropriate control comparators. Moreover, parabolic-flight does not provide a perfect reproduction of spaceflight conditions: periods of microgravity are short and acute, and are preceded and followed by periods of hypergravity that are just as short and acute. Our work has the same limitations and in addition, we could only analyse 7 complete CBV datasets. Likewise, the finger pulse contour analysis that likely underestimated the observed increase in $\dot{Q}$ during 0G given the underlying assumptions/inability of the Modelflow algorithm to account for volume shifts to the splanchnic area (35), in addition to other concerns related to calibration and atrial filling changes (36). These confounds, though difficult to manage in the current setting, warrant consideration in future studies. Furthermore, scopolamine, a non-selective muscarinic acetylcholine receptor antagonist, was administered to participants to prevent motion sickness as per standard operating procedure, with a maximum drug concentration occurring 30 min after administration and around 4 h duration of action. However, the drug is unlikely to explain the selective increase in ACE perfusion in the present study. Finally, to better explore the potential mechanistic link between neurovascular protection and $\dot{Q}_{\text{ECA}}$, it will be necessary to evaluate the structural integrity of the neurovascular unit, via MRI or molecular biology, employing different manipulations in both CBV and gCBF.

CONCLUSION

In summary, to the best of our knowledge, the present findings are the first to suggest that acute 0G is associated with a selective, abrupt elevation in $\dot{Q}_{\text{ECA}}$. Future studies will help establish whether a microgravity-induced increase in $\dot{Q}_{\text{ECA}}$ is an adaptive phenomenon with a neuroprotective basis or to the contrary, maladaptive

given the potential to increase facial blood pressure.

Acknowledgements We acknowledge the dedicated collaboration of the crew of Centre National d'Etudes Spatiales Airbus A300 ZERO-G operated by Novespace and clinical supervision provided by Dr M Verschave-Keysers and Dr F Abou-Kassem.

REFERENCES

1. Petersen LG, Damgaard M, Petersen JCG, Norsk P. Mechanisms of increase in cardiac output during acute weightlessness in humans. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md: 1985) 111: 407–411, 2011. doi: 10.1152/jappphysiol.01188.2010.
2. Johns JP, Vernalis MN, Karemaker JM, Latham RD. Doppler evaluation of cardiac filling and ejection properties in humans during parabolic flight. *Journal of Applied Physiology* 76: 2621–2626, 1994. doi: 10.1152/jappl.1994.76.6.2621.
3. Linnarsson D, Sundberg CJ, Tedner B, Haruna Y, Karemaker JM, Antonutto G, Di Prampero PE. Blood pressure and heart rate responses to sudden changes of gravity during exercise. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 270: H2132–H2142, 1996. doi: 10.1152/ajpheart.1996.270.6.H2132.
4. Norsk P, Damgaard M, Petersen L, Gybel M, Pump B, Gabrielsen A, Christensen NJ. Vasorelaxation in space. *Hypertension* 47: 69–73, 2006. doi: 10.1161/01.HYP.0000194332.98674.57.
5. Nelson ES, Mulugeta L, Myers JG. Microgravity-induced fluid shift and ophthalmic changes. *Life* 4: 621–665, 2014. doi: 10.3390/life4040621.
6. Louw L. Different ophthalmic artery origins: Embryology and clinical significance. *Clinical Anatomy* (New York, NY) 28: 576–583, 2015. doi: 10.1002/ca.22470.
7. Liu Y, Zhu L, Hou B, Wang T, Xu D, Tan C, Zhang H, Li C, Wang J. Study on the correlation between the circle of Willis structure and collateral circulation in bilateral carotid artery occlusion. *Neurological Sciences: Official Journal of the Italian Neurological So-*

- ciety and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology 42: 5335–5342, 2021. doi: 10.1007/s10072-021-05265-4.
8. Wesseling KH, Jansen JR, Settels JJ, Schreuder JJ. Computation of aortic flow from pressure in humans using a nonlinear, three-element model. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md: 1985) 74: 2566–2573, 1993. doi: 10.1152/jappl.1993.74.5.2566.
 9. Parati G, Casadei R, Groppelli A, Di Rienzo M, Mancia G. Comparison of finger and intra-arterial blood pressure monitoring at rest and during laboratory testing. *Hypertension* (Dallas, Tex: 1979) 13: 647–655, 1989. doi: 10.1161/01.hyp.13.6.647.
 10. Montgomery LD, Gerth WA, Montgomery RW, Lew SQ, Klein MM, Stewart JM, Medow MS, Velasquez MT. Monitoring intracellular, interstitial, and intravascular volume changes during fluid management procedures. *Medical & Biological Engineering & Computing* 51: 1167–1175, 2013. doi: 10.1007/s11517-013-1064-3.
 11. Thomas KN, Lewis NCS, Hill BG, Ainslie PN. Technical recommendations for the use of carotid duplex ultrasound for the assessment of extracranial blood flow. *American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 309: R707–720, 2015. doi: 10.1152/ajpregu.00211.2015.
 12. Ogoh S, Marais M, Lericollais R, Denise P, Raven PB, Normand H. Interaction between graviception and carotid baroreflex function in humans during parabolic flight-induced microgravity. *J Appl Physiol* 125(2): 634–641, 2018. doi: 10.1152/jappphysiol.00198.2018.
 13. Iwase S, Mano T, Cui J, Kitazawa H, Kamiya A, Miyazaki S, Sugiyama Y, Mukai C, Nagaoka S. Sympathetic outflow to muscle in humans during short periods of microgravity produced by parabolic flight. *Am J Physiol* 277(2): R419–26, 1999. doi: 10.1152/ajpregu.1999.277.2.R419.
 14. Copley JN, Fiorello ML, Bailey DM. 13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress. *Redox Biology* 15: 490–503, 2018. doi: 10.1016/j.redox.2018.01.008.
 15. Sato K, Ogoh S, Hirasawa A, Oue A, Sadamoto T. The distribution of blood flow in the carotid and vertebral arteries during dynamic exercise in humans. *The Journal of Physiology* 589: 2847–2856, 2011. doi: 10.1113/jphysiol.2010.204461.
 16. Hirasawa AI, Sato K, Yoneya M, Sadamoto T, Bailey DM, Ogoh S. Heterogeneous Regulation of Brain Blood Flow during Low-Intensity Resistance Exercise. *Med Sci Sports Exerc* 48: 1829–1834, 2016. doi: 10.1249/MSS.0000000000000948.
 17. Ogoh S, Sato K, Okazaki K, Miyamoto T, Hirasawa A, Morimoto K, Shibasaki M. Blood flow distribution during heat stress: cerebral and systemic blood flow. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism* 33: 1915–1920, 2013. doi: 10.1038/jcbfm.2013.149.
 18. Ogoh S, Lericollais R, Hirasawa A, Sakai S, Normand H, Bailey DM. Regional redistribution of blood flow in the external and internal carotid arteries during acute hypotension. *American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 306: R747–751, 2014. doi: 10.1152/ajpregu.00535.2013.
 19. Ogoh S, Sato K, Okazaki K, Miyamoto T, Hirasawa A, Sadamoto T, Shibasaki M. Blood flow in internal carotid and vertebral arteries during graded lower body negative pressure in humans. *Experimental Physiology* 100: 259–266, 2015. doi: 10.1113/expphysiol.2014.083964.
 20. Washio T, Sasaki H, Ogoh S. Transcranial Doppler-determined change in posterior cerebral artery blood flow velocity does not reflect vertebral artery blood flow during exercise. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology* 312: H827–H831, 2017. doi: 10.1152/ajpheart.00676.2016.
 21. Bailey DM, Lanéelle D, Trihan J-E, Marchi N, Stacey BS, Tamiya K, Washio T, Tuailon E, Hirtz C, Lehmann S, Ogoh S, Normand H. Gravitational Transitions Increase Posterior Cerebral Perfusion and Systemic Oxidative-nitrosative Stress: Implications for Neurovascular Unit Integrity. *Neuroscience* 441: 142–160, 2020. doi: 10.1016/j.neuroscience.2020.05.048.

22. Hindenes LB, Håberg AK, Johnsen LH, Mathiesen EB, Robben D, Vangberg TR. Variations in the Circle of Willis in a large population sample using 3D TOF angiography: The Tromsø Study. *PloS One* 15: e0241373, 2020. doi: 10.1371/journal.pone.0241373.
23. Thierfelder KM, Baumann AB, Sommer WH, Armbruster M, Opherck C, Janssen H, Reiser MF, Straube A, Baumgarten L von. Vertebral artery hypoplasia: frequency and effect on cerebellar blood flow characteristics. *Stroke* 45: 1363–1368, 2014. doi: 10.1161/STROKEAHA.113.004188.
24. Ayad M, Viñuela F, Rubinstein EH. The suboccipital carrefour: cervical and vertebral arterial anastomosis. *AJNR American journal of neuroradiology* 19: 925–931, 1998.
25. Tan T-Y, Schminke U, Lien L-M, Eicke BM, Tegeler CH. Extracranial internal carotid artery occlusion: the role of common carotid artery volume flow. *Journal of Neuroimaging: Official Journal of the American Society of Neuroimaging* 12: 144–147, 2002. doi: 10.1111/j.1552-6569.2002.tb00111.x.
26. Tanaka T, Doijiri R, Saito K, Kajimoto K, Ihara M, Yamagami H, Miyashita K, Nagatsuka K. Validation of ultrasound parameters to assess collateral flow via ophthalmic artery in internal carotid artery occlusion. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases: The Official Journal of National Stroke Association* 23: 1177–1182, 2014. doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2013.10.012.
27. Bailliart O, Marotte H, Normand H, Martineaud JP, Durand J. [Changes in the blood flow of the primary carotid and its branches during modifications of the O₂ and CO₂ composition of alveolar gas]. *Arch Int Physiol Biochim* 98: 179–192, 1990. doi: 10.3109/13813459009113976.
28. Ogoh S, Washio T, Stacey BS, Tsukamoto H, Iannetelli A, Owens TS, Calverley TA, Fall L, Marley CJ, Saito S, Watanabe H, Hashimoto T, Ando S, Miyamoto T, Bailey DM. Integrated respiratory chemoreflex-mediated regulation of cerebral blood flow in hypoxia: Implications for oxygen delivery and acute mountain sickness. *Experimental Physiology* 106: 1922–1938, 2021. doi: 10.1113/EP089660.
29. Boschert AL, Gauger P, Bach A, Gerlach D, Johannes B, Jordan J, Li Z, Elmenhorst D, Bauer A, Marshall-Goebel K, Tank J, Zange J, Rittweger J. External to internal cranial perfusion shifts during simulated weightlessness: Results from a randomized cross-over trial. *NPJ Microgravity*. 28;9(1):25, 2023. doi: 10.1038/s41526-023-00267-2.
30. Santos T de S, Osborne PR, Jacob ES, Araújo RTE, Nogueira CBP, Martins-Filho PRS. Effects of Water-Circulating Cooling Mask on Postoperative Outcomes in Orthognathic Surgery and Facial Trauma. *The Journal of Craniofacial Surgery* 31: 1981–1985, 2020. doi: 10.1097/SCS.0000000000006624.
31. Miyazawa T, Horiuchi M, Ichikawa D, Subudhi AW, Sugawara J, Ogoh S. Face cooling with mist water increases cerebral blood flow during exercise: Effect of changes in facial skin blood flow. *Front Physiol* 3: 308, 2012. doi: 10.3389/fphys.2012.00308.
32. Ogoh S, Hirasawa A, Raven PB, Rebuffat T, Denise P, Lericollais R, Sugawara J, Normand H. Effect of an acute increase in central blood volume on cerebral hemodynamics. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* R902–11, 2015. doi: 10.1152/ajpregu.00137.2015.
33. Norcross J, Conkin J, Wessel J, Petrat G, Law J, Arias D, Goodwin T, Crucian B, Whitmire A, Bloomberg J, Platts S, Ploutz-Snyder L, Douglas G. Risk of Hypoxia from the Exploration Atmosphere. *National Aeronautics and Space Administration Human Health Countermeasures Element*, 2015.
34. Ogoh S, Washio T, Stacey BS, Tsukamoto H, Iannetelli A, Owens TS, Calverley TA, Fall L, Marley CJ, Saito S, Watanabe H, Hashimoto T, Ando S, Miyamoto T, Bailey DM. Integrated respiratory chemoreflex-mediated regulation of cerebral blood flow in hypoxia: Implications for oxygen delivery and acute mountain sickness. *Experimental Physiology* 106: 1922–1938, 2021. doi: 10.1113/EP089660.
35. Hughson RL, Peterson SD, Yee NJ, Greaves DK. Cardiac output by pulse contour analysis does not match the increase measured by re-breathing during human spaceflight. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md: 1985)*

- 123: 1145–1149, 2017. doi: 10.1152/japplphysiol.00651.2017.
36. Houwelingen MJ van, Langewouters G. Response to “cardiac output by pulse contour analysis does not match the increase measured by rebreathing during human spaceflight”. *Journal of Applied Physiology* 125: 226–227, 2018. doi: 10.1152/japplphysiol.00003.2018.

Variations anatomiques et répartition du débit cérébral lors d'un stress hémodynamique

Dans l'étude suivante nous nous sommes intéressés au retentissement de la variation anatomique des artères cérébrales sur la répartition du débit cérébral en cas de stress hémodynamique, notamment l'hypovolémie qui peut être rencontrée par certains astronautes au retour de vols spatiaux [69].

Les collatéralités artérielles cérébrales sont variables d'un sujet à l'autre [70], et notamment la configuration anatomique du cercle artériel de la base du crâne (ou polygone de Willis), un réseau d'anastomose de forme circulaire à la base du cerveau, peut être qualifiée de complète ou d'incomplète en fonction de la présence des artères communicantes postérieures [71]. Les variations de la collatéralité artérielle cérébrale n'ont que peu d'implication au quotidien cependant en cas d'accident vasculaire cérébral sur occlusion d'une artère carotidienne, situation hémodynamique extrême, les séquelles sont plus importantes et la récupération moins bonne en cas de configuration incomplète de ce cercle artériel [72], [73].

Notre hypothèse est que l'importance de la collatéralité artérielle cérébrale peut également avoir des conséquences en situation de stress hémodynamique. L'objectif principal de l'étude était d'évaluer la répartition du débit cérébral en fonction de la configuration anatomique du cercle artériel de la base du crâne, lors d'un stress hémodynamique induit par hypovolémie simulée ou hypercapnie.

Un échographe doppler a été utilisé lors d'une compression carotidienne de courte durée pour distinguer deux groupes parmi 76 sujets sains : 12 sujets avec un cercle artériel complet et 12 sujets avec un cercle artériel incomplet. La distribution du DSC a été évaluée à l'aide d'une IRM à 3T avec séquence ARM TOF et CP, pour 24 sujets pendant la phase de référence, l'inhalation de 5 % de dioxyde de carbone (CO₂) pendant 10 minutes et l'application d'une dépression du bas du corps (LBNP pour low body negative pressure) pendant 10 minutes. La segmentation, le tracé des artères, la vitesse, la surface et les mesures de débit ont été effectués pour 11 sites de mesure par sujet et par stimulation.

Les sujets avaient un âge moyen de 23 ans (± 4), douze femmes et onze hommes. Il n'y avait pas de différence entre nos 2 groupes en termes d'indice de masse corporelle, d'âge ou de sexe.

L'inhalation de CO₂ pendant 10 minutes augmente le DSC d'environ 30% et l'exposition au LBNP pendant 10 minutes diminue le DSC d'environ 10% mais sans différence entre les groupes. Il n'y avait pas de différence dans la régulation de la circulation postérieure par rapport à la circulation antérieure. Nous n'avons pas observé de différence dans la distribution des flux en fonction de l'anatomie du cercle de Willis : quel que soit le site de mesure ou la stimulation.

La variabilité de la collatéralité artérielle cérébrale ne semble pas se traduire par des modifications de la distribution du flux cérébral lors d'un stress hémodynamique, lorsque le DSC est augmenté par l'hypercapnie ou diminué par l'hypovolémie simulée. Il n'y a probablement pas de lien entre l'intolérance orthostatique de certains astronautes au retour de mission et la variabilité anatomique de leur circulation cérébrale.

Lanéelle, D., Salliot, Q., Naveau, M., Hay, M., Kuldavletova, O., & Normand, H. (2023). Cerebral Blood flow distribution according to cerebral arterial pattern variations during hemodynamic stress induced by simulated hypovolemia or hypercapnia: a triplex ultrasound and magnetic resonance imaging study. Oral presentation of results at the 42nd Congress of the International Society of Gravity Physiology (ISGP), July 2023, Antwerp, Belgium.

BACKGROUND

On return to Earth, space travelers heterogeneously develop orthostatic intolerance, the aetiology of which is not yet resolved. Several mech-

anisms have been proposed to explain this syndrome, and it is probably a multifactorial disorder (1).

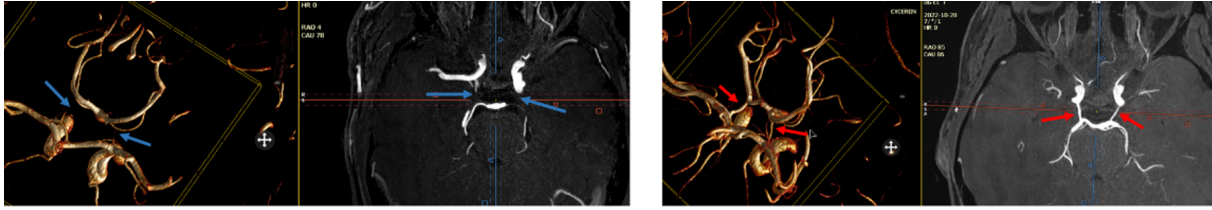


Figure 3.8: ARM par TOF 2D et 3D du cercle artériel de la base du crâne.

A gauche : configuration anatomique incomplète ; à droite : configuration anatomique complète. Les flèches rouges indiquent les communicantes postérieures, les flèches bleues l'absence de communicantes postérieures. Les artères cérébrales antérieures et les communicantes antérieures ne sont pas dans le plan de coupe 2D.

Hypovolemia may contribute to orthostatic hypotension after space flight, but remains an inadequate explanation, since restoration of plasma volume does not improve symptoms (2). The effects of this hypovolemia are probably amplified by changes in the venous system of the lower limbs (3) and by alterations in baroreflex function (4).

As the symptoms of orthostatic intolerance seem to be related to a decrease in cerebral blood flow (CBF), an anatomical reason could explain this heterogeneity. The Circle of Willis, a network of arterial anastomoses located at the base of the brain, shows variability in its conformation, in particular hypoplasias of the posterior communicating arteries (PComA, Figure 3.8).

We made the hypothesis that this heterogeneity of orthostatic intolerance could be explained by an anatomical reason like the variability of the circle of willis.

The aim of this study will be to assess the CBF according to this arterial pattern during hemodynamic stress induced by simulated hypovolemia or hypercapnia.

METHODS

Ethics: the experimental protocol was approved by the "Comité de Protection des Personnes Sud-Est-II", Lyon, France (2020-107; ANSM 2020-A02554-35). All experimental procedures were carried out in accordance with the most (7th) recent amendment of the Declaration of Helsinki.

Selection of subjects: All participants, students in Caen University, were subjected to an extensive clinical examination that consisted of a thorough

medical history and chest auscultation. They were asked to refrain from physical activity, caffeine and alcohol diet 24 h prior to formal experimentation.

A GE Vivid-i Doppler ultrasound machine was used in combination with a short (5s) carotid compression to distinguish two groups: 12 subjects with full arterial pattern and 12 subjects with incomplete arterial pattern. All subjects were screened for possible carotid disease and then applied firm pressure on both carotid arteries as describe by Jatuzis and al (5).

We first checked the effectiveness of the compression and then the absence or presence of flow in the MCA. Compression time was less than 5 seconds for each side and we have not reported any incidents.

Hemodynamic stress was induced by inhalation of 5% of carbon dioxide (CO_2 , known to increase CBF) or application of low body negative pressure (LBNP, known to decrease CBF): LBNP was set to -40 Torr and CO_2 was set to 5%. The order of stress types was randomized (LBNP or CO_2). For LBNP and CO_2 inhalation, the criteria for stopping the experiment were those defined by the Space Agency:

- A drop in systolic blood pressure below 70 mmHg, even in the absence of symptoms,
- A feeling of discomfort expressed by the subject,
- Heart rate 40 beats per minute higher than at the start of the test.

CBF distribution was assessed with 3 Tesla (SIGNA, GE MEDICAL SYSTEMS) time-resolved PC MRI with three-directional flow velocity en-

coding, referred to 4D flow MRI, for 24 subjects during baseline, inhalation of 5% carbon dioxide (CO₂) and lower body negative pressure (LBNP).

Segmentation, artery contouring, velocity, area and flow measurements were performed with CVI42 software and 4D FLOW module (v5.16-2022, Circle Vascular Imaging) for 11 flow measurements sites per subject (Figure 3.9) : right and left internal carotid artery (ICA), basilar artery (BA), right and left middle cerebral artery (MCA), right and left posterior cerebral artery (PCA), right and left anterior cerebral artery (ACA).



Figure 3.9: Localisation sur ARM par TOF 3D des 11 sites de mesure de débit cérébraux.

A gauche : artères cérébrales moyennes, antérieures et postérieures droite et gauche. Pour les artères cérébrales postérieures 2 mesures différentes étaient réalisées, en distal et proximal. A droite : artère carotide interne droite et gauche, artère basilaire. La somme des 3 permettant le calcul du débit cérébral.

We made a proximal and a distal measurement for each PCA. The total number of measurements expected was 1056 flow measurements: 24 subjects x 11 sites of measurement x 4 conditions (LBNP, CO₂ and baseline for each). Flow measurements from 4D flow sequence MRI was semi-automatic: Each artery was manually contoured on the first temporal acquisition of each stimulation, then automatically propagated to the next 21 acquisitions (22 acquisitions per reconstructed cardiac cycle). The software extracted the velocity data in the identified zone and then calculated the flow from the surface area of the artery Figure 3.10.



Figure 3.10: Mesure du débit sanguin d'une artère intracrânienne.

A gauche : segmentation et identification de l'artère (ici la basilaire). Au centre : le contour semi-automatique de l'artère. A droite : le calcul de la Vitesse et du débit.

The flow of right ICA ($\dot{Q}_{RICA}$), left ICA ($\dot{Q}_{LICA}$) and BA ($\dot{Q}_{BA}$) was used for calculated the global CBF (gCBF) as:

$$gCBF \text{ (mL/min)} = \dot{Q}_{LICA} + \dot{Q}_{RICA} + \dot{Q}_{BA}$$

RESULTS

We screened 76 healthy subjects, all students in Caen University, and excluded 52 for no ultrasound window or intermediate variation of CW (only one PComA). Unfortunately, we lost 1 MRI sequence due to technical fault.

Subjects had an average age of 23 years (± 4), twelve women and eleven men. There was no difference between our 2 groups in terms of BMI, age or sex (Table 3.8).

Table 3.8: Caractéristiques démographiques en fonction de l'anatomie du cercle artériel.

Char-acteris-tic	All N = 23	IP N = 11	FP N = 12	p-value
Sex (female)	52% (12/23)	36% (4/11)	67% (8/12)	0.15
Age (years)	22.5 (± 4.3)	22.9 (± 4.9)	22.1 (± 3.9)	0.5
BMI (kg/m ²)	22.48 (± 2.71)	23.02 (± 3.04)	21.93 (± 2.34)	0.2

BMI : Indice de masse corporelle (body mass index) ; IP : Configuration anatomique incomplète (incomplet pattern) ; FP : Configuration anatomique complète (full pattern).

Table 3.9: Effet de l'hypercapnie et de l'hypovolémie simulée sur la distribution du débit cérébral.

Stimulation	Characteristic	Incomplete Pattern n=11	Full Pattern n=12	95% CI	p-value
Inhalation of 5% CO₂	Δ gCBF (%)	35% ($\pm$ 21%)	24% ($\pm$ 14%)	[-4.7 ; 27]	0.2
	$-\Delta \dot{Q}_{BA}$ (%)	47% ($\pm$ 33%)	28% ($\pm$ 28%)	[-8.1 ; 46]	0.2
	$-\Delta \dot{Q}_{ICA}$ (%)	34% ($\pm$ 26%)	23% ($\pm$ 15%)	[-8.5 ; 29]	0.3
	$\Delta \dot{Q}_{BA} / \text{gCBF}$ (%)	4% ($\pm$ 24%)	-1% ($\pm$ 21%)	[-15 ; 25]	0.6
LBNP - 40 Torr	Δ gCBF (%)	-5% ($\pm$ 12%)	-12% ($\pm$ 13%)	[-4.6 ; 18]	0.2
	$-\Delta \dot{Q}_{BA}$ (%)	-10% ($\pm$ 19%)	-12% ($\pm$ 23%)	[-18 ; 21]	0.9
	$-\Delta \dot{Q}_{ICA}$ (%)	-3% ($\pm$ 13%)	-10% ($\pm$ 16%)	[-5.5 ; 21]	0.2
	$\Delta \dot{Q}_{BA} / \text{gCBF}$ (%)	-5% ($\pm$ 15%)	1% ($\pm$ 31%)	[-29 ; 16]	0.5

Les données sont exprimées en pourcentage des valeurs de base ; gCBF : débit sanguin cérébral global ; $\dot{Q}_{BA}$: débit de l'artère basilaire ; $\dot{Q}_{ICA}$: débit sanguin de l'artère carotide interne ; $\dot{Q}_{BA} / \text{gCBF}$: débit sanguin de l'artère basilaire rapporté au débit sanguin cérébral global.

The global CBG (gCBF), calculated by adding the flow of both Internal Carotid arteries ($\dot{Q}_{ICA}$) and the flow of Basilar Artery ($\dot{Q}_{BA}$), was 595 ($\pm$ 125) mL/min at baseline, increased to 774 ($\pm$ 169) mL/min for 5% of CO₂ ($P \leq 0.001$) and decreased to 529 ($\pm$ 92) mL/min for LBNP ($P = 0.007$). In percentage terms, this corresponds to an increase of 29% ($\pm$ 18) and a decrease of 11% ($\pm$ 10) respectively. There was no change in $\dot{Q}_{BA} / \text{gCBF}$ (24.7%, 25.2% and 24% at baseline, 5% of CO₂ and LBNP respectively). There was no difference in gCBF or CBF distribution by arterial pattern, at baseline, CO₂ or LBNP (Table 3.9).

DISCUSSION

All subjects included, the gCBF has clearly increased with CO₂ and clearly decreased with LBNP. This was an expected result. More interestingly, there was no difference in the regulation of the posterior circulation compared with the anterior circulation, as shown by the ratio of QBA to gCBF, which did not change at all. Inhalation of CO₂ during 10 minutes increase the gCBF by approximately 30% and exposition of LBNP during 10 minutes decrease the gCFB by approximately 10% but without difference between groups. Unfortunately, we did not confirm our hypothesis because we did not observe any difference in flow distribution according to the circle of Willis

anatomy: regardless of the measurement site or stimulation.

CONCLUSION

The heterogeneity of the cerebral arterial pattern does not appear to result in changes in cerebral flow distribution during hemodynamic stress when CBF is increased by hypercapnia or decreased by simulated hypovolemia. There is probably no link between the orthostatic intolerance of some astronauts on their return from mission and the anatomical variability of their cerebral circulation. The next stage of this project will involve analysis of the remaining data set: correlation with echodoppler measurement, analysis of spin-labeled MRI sequences, the relationship between LBNP pursuit ability, anatomical configuration and flow variations.

REFERENCES

1. Zhang L-F. Vascular adaptation to microgravity. Journal of Applied Physiology 97: 1584–1587, 2004. doi: 10.1152/jappphysiol.00534.2003.
2. Blomqvist CG, Nixon JV, Johnson RL, Mitchell JH. Early cardiovascular adaptation to zero gravity simulated by head-down tilt. Acta Astronaut 7: 543–553, 1980. doi: 10.1016/0094-5765(80)90043-0.

3. Kerbeci P, Shoemaker K, Hughson R, Roncin A, Arbeille P. Tibial and gastrocnemian vein response to LBNP after a 60 day bedrest with and without counter-measures (WISE study). *J Gravit Physiol* 14: P57-58, 2007.
4. Iwasaki KI, Zhang R, Zuckerman JH, Pawelczyk JA, Levine BD. Effect of head-down-tilt bed rest and hypovolemia on dynamic regulation of heart rate and blood pressure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 279: R2189-2199, 2000. doi: 10.1152/ajpregu.2000.279.6.R2189.
5. Jatuzis D, Zachrisson H, Blomstrand C, Ekholm S, Holm J, Volkmann R. Evaluation of posterior cerebral artery blood flow with transcranial Doppler sonography: value and risk of common carotid artery compression. *J Clin Ultrasound* 28: 452-460, 2000. doi: 10.1002/1097-0096(200011/12)28:93.0.co;2-6.

Conclusion de la seconde partie

Dans cette seconde partie nous avons montré que les effets cumulatifs des transitions gravitationnelles répétées peuvent favoriser une rupture mineure de la barrière hémato-encéphalique mise en évidence par l'augmentation significative dans le plasma de protéine spécifique que sont la protéine acide fibrillaire gliale et la protéine S100 bêta (respectivement GFAP et S100β, $P < 0,05$), potentiellement en rapport avec les effets combinés du stress hémodynamique, du stress oxydant et nitrosant (réduction du monoxyde d'azote biodisponible et augmentation des radicaux libres, $p < 0,05$).

Nous avons également observé, en microgravité, une augmentation sélective rapide du débit sanguin de l'artère carotide externe ($\dot{Q}_{ECA}$, 46% ; $P = 0.030$) alors que le débit sanguin cérébral (DSC) global et régional reste identique.

Par ailleurs nous avons montré qu'en cas d'hypercapnie le DSC augmente de 29% (± 18) et l'exposition à une hypovolémie simulée le diminue de 11% (± 10) mais que l'importance des anastomoses artérielles intracrâniennes ne modifie pas ces variations de DSC ni la distribution de ce débit, quel que soit le site de mesure.

Enfin nous n'avons pas mis en évidence de différence de régulation entre la circulation antérieure et postérieure.

Ces résultats encouragent à la poursuite de recherche pour évaluer l'effet combiné, potentiellement cumulatif, de l'hypoxie [78] et de la microgravité sur le $\dot{Q}_{ECA}$ et ses branches, notamment méningé et orbitaire, étant donné que les futures missions spatiales seront probablement menées en hypoxie [79].

De plus de futures études seront nécessaires d'une part pour confirmer notre hypothèse physiopathologie que l'augmentation du $\dot{Q}_{ECA}$ est en lien avec le syndrome neuro-oculaire associé aux vols spatiaux et d'autre part pour évaluer les contre-mesures envisagées par contrôle local des résistances vasculaires périphériques (cryothérapie faciale et/ou chauffage des membres supérieurs).

CONCLUSION

Dans la première partie de ce travail nous avons évalué la reproductibilité de l'analyse de sonogramme par classification, étape préalable à son utilisation comme méthode de quantification hémodynamique de l'artériopathie.

Nous avons montré que cette reproductibilité est faible quelle que soit la classification ($\kappa=0.522$ [0.520-0.523], $p < 0.005$ avec 4 catégories, $\kappa=0.546$ [0.544-0.547], $p < 0.001$ avec 13 catégories), et ceci indépendamment du diplôme ou de l'expérience de l'échographe. La classification à 13 catégories à l'avantage d'un taux de déviance faible par rapport aux autres classifications (5% contre 82 à 88%). Nous avons également montré que l'analyse de sonogramme est utilisée par 46% des médecins vasculaires français avec une importante variabilité géographique.

Ces résultats encouragent à la poursuite de recherche de méthode plus reproductible comme la reconnaissance automatique de sonogramme ou la standardisation de mesures objectives à des endroits précis de l'arbre artériel.

Dans la seconde partie de ce travail nous avons montré que les effets cumulatifs des transitions gravitationnelles répétées peuvent favoriser une rupture mineure de la barrière hémato-encéphalique, mise en évidence par l'augmentation significative dans le plasma de protéine spécifique que sont la protéine acide fibrillaire gliale et la protéine S100 bêta (respectivement GFAP et S100 β , $P < 0,05$). Dans le même temps nous avons mis en évidence une réduction du monoxyde d'azote biodisponible et une augmentation des radicaux libres ($p < 0,05$).

Nous avons également montré que la microgravité entraîne une augmentation sélective rapide du débit sanguin de l'artère carotide externe ($\dot{Q}_{ECA}$, 46% ; $P = 0,030$) alors que le débit sanguin cérébral (DSC) reste identique. De plus les variations de DSC liées à l'hypercapnie (+ 29% $\pm$ 18) ou à l'hypovolémie simulée (- 11% $\pm$ 10) sont indépendantes de l'anatomie artérielle intracrânienne et cette dernière n'a pas d'effet sur la distribution du débit, notamment entre la circulation cérébrale antérieure et postérieure.

Ces résultats encouragent à la poursuite de recherche pour évaluer l'effet combiné, potentiellement cumulatif, de l'hypoxie et de la microgravité sur le $\dot{Q}_{ECA}$ et ses branches, notamment méningé et orbitaire; ainsi que le lien entre l'augmentation du $\dot{Q}_{ECA}$ et les troubles neuro-oculaires associés aux vols spatiaux.

De manière générale ce travail de thèse associe des éléments de physiologie vasculaire et de médecine vasculaire en utilisant des techniques d'analyse du stress oxydant et nitrosant ainsi que du flux artériel par ultrasons et résonance magnétique. Il ouvre des perspectives sur l'étude du lien entre le sonogramme, la pression, le débit artériel et les résistances vasculaires périphériques. Le contrôle des résistances vasculaires périphériques pourrait permettre de standardiser les conditions d'acquisition des sonogrammes dans le cadre de l'artériopathie; et d'autre part, d'étudier les potentielles contre-mesures permettant une régulation des débits des différents troncs artériels supra-aortiques dans le cadre de la physiologie gravitationnelle.

RÉFÉRENCES

Voir à la fin de chaque article pour les références en rapport.

- [1] B. Ebbell, « The Papyrus Ebers: the greatest Egyptian medical document », vol. Oxford University Press, 1937.
- [2] S. Hales, « Statical Essays: Containing Hæmastaticks », vol. London, Royal Society, 1738.
- [3] J. Poiseuille, « Recherches sur la force du cœur aortique », vol. Thèse de médecine, bibliothèque interuniversitaire de santé, Paris, 1828.
- [4] K. F. W. Ludwig, « Beiträge zur Kenntniss des Einflusses der Respirationsbewegungen auf den Blutlauf im Aortensystem », vol. Archiv für Anatomie, Physiologie und Wissenschaftliche Medicin [Contributions à la connaissance de l'influence des mouvements respiratoires sur la circulation sanguine dans le système aortique. Archives d'anatomie, de physiologie et médecine scientifique], p. 241-302, 1847.
- [5] J. Hérissou, « Le sphygmomètre, instrument qui traduit à l'œil toute l'action des artères », vol. Mémoire présenté à l'Institut de France, Paris, 1834.
- [6] S. von Basch, « Über die Messung des Blutdruckes am Menschen », vol. Zeitschrift für Klinische Medizin [Sur la mesure de la pression artérielle chez l'homme. Revue de médecine clinique], p. 79-96, 1881.
- [7] P. E. Potain, « La mesure de la pression artérielle chez l'homme à l'état normal et pathologique », vol. Archives de physiologie normale et pathologique, no 1, p. 556-569, 1889.
- [8] S. Riva-Rocci, « Un nuovo sfigmomanometro », vol. Gazzetta medical di Torino, p. 47: 981-996, déc. 1896.
- [9] Н. Коротков, « К вопросу о методах исследования кровяного давления », vol. [Korotkov N.S. Sur les méthodes d'étude de la pression artérielle. Bulletin de l'Académie Impériale de médecine] 11, p. 365-367, 1905.
- [10] M. H. Barker et al., « Standardization of blood pressure readings: Joint recommendations of the American Heart Association and the Cardiac Society of Great Britain and Ireland », American Heart Journal, vol. 18, no 1, p. 95-101, juill. 1939, doi: 10.1016/S0002-8703(39)90933-6.
- [11] M. Pachon, « Sur la méthode des oscillations et les conditions correctes de son emploi en sphygmomanométrie clinique », vol. Comptes rendus de la société de biologie, 1909.
- [12] A. Mosso, « Sphygmomanomètre pour mesurer la pression du sang chez l'homme », vol. Archives Italiennes de Biologie, no 23, p. 177-197, 1895.
- [13] G. Gaertner, « Ueber einen neuen Blutdruckmesser », vol. Wiener Medicinische Wochenschrift [A propos d'un nouveau tensiomètre. Revue médicale viennoise.] 30, p. 1412-1417, 1899.
- [14] T. Brodie et Russel AE, « On the determination of the rate of blood flow through an organ », vol. J. Physiol. (Lond.) 32: 47-48P, 1905.
- [15] J. Peñáz, « Photoelectric measurement of blood pressure, volume and flow in the finger. Digest of the 10th International Conference on Medical and Biological Engineering », 1973.
- [16] K. H. Wesseling, J. R. Jansen, J. J. Settels, et J. J. Schreuder, « Computation of aortic flow from pressure in humans using a nonlinear, three-element model », J Appl Physiol (1985), vol. 74, no 5, p. 2566-2573, mai 1993, doi: 10.1152/jappl.1993.74.5.2566.
- [17] G. Parati, R. Casadei, A. Groppelli, M. Di Rienzo, et G. Mancia, « Comparison of finger and intra-arterial blood pressure monitoring at rest and during laboratory testing », Hypertension, vol. 13, no 6 Pt 1, p. 647-655, juin 1989, doi: 10.1161/01.hyp.13.6.647.
- [18] S. Satomura, S. Matsubara, et M. Yoshioka, « 機械振動による新しい測定法とその応用 », [Une nouvelle méthode de mesure par vibrations mécaniques et son application.. Mémoires de l'Institut de recherche scientifique et industrielle, Université d'Osaka.], vol. 13, p. 125, 1956.

- [19] P. Georges, L. Pourcelot, C. Fourcade, C. Guillaud, et J. Descottes, « Effet Doppler et mesure du débit sanguin », vol. Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences, p. 261:253-256, juill. 1965.
- [20] D. Xu et al., « Sensitivity and specificity of the ankle-brachial index to diagnose peripheral artery disease: a structured review », *Vasc Med*, vol. 15, no 5, p. 361-369, oct. 2010, doi: 10.1177/1358863X10378376.
- [21] C. E. Aubert et al., « Influence of peripheral vascular calcification on efficiency of screening tests for peripheral arterial occlusive disease in diabetes—a cross-sectional study », *Diabet Med*, vol. 31, no 2, p. 192-199, févr. 2014, doi: 10.1111/dme.12309.
- [22] Z. Kaneko et al., « Analysing blood flow with a sonograph », *Ultrasonics*, vol. 4, no 1, p. 22-23, janv. 1966, doi: 10.1016/0041-624X(66)90005-9.
- [23] F. Friedland, « Present status of ultrasound in medicine », *J Am Med Assoc*, vol. 163, no 10, p. 799-803, mars 1957, doi: 10.1001/jama.1957.02970450001001.
- [24] L. E. Baker, « Principles of the impedance technique », *IEEE Eng Med Biol Mag*, vol. 8, no 1, p. 11-15, 1989, doi: 10.1109/51.32398.
- [25] F. E. Barber, D. W. Baker, A. W. Nation, D. E. Strandness, et J. M. Reid, « Ultrasonic duplex echo-Doppler scanner », *IEEE Trans Biomed Eng*, vol. 21, no 2, p. 109-113, mars 1974, doi: 10.1109/TBME.1974.324295.
- [26] J.-B. Fourier, *Théorie analytique de la chaleur*, Edition Firmin Didot. 1822.
- [27] C. C. Finlay et al., « International Geomagnetic Reference Field: the eleventh generation », *Geophysical Journal International*, vol. 183, no 3, p. 1216-1230, déc. 2010, doi: 10.1111/j.1365-246X.2010.04804.x.
- [28] E. L. Hahn, « An Accurate Nuclear Magnetic Resonance Method for Measuring Spin-Lattice Relaxation Times », *Phys. Rev.*, vol. 76, no 1, p. 145-146, juill. 1949, doi: 10.1103/PhysRev.76.145.
- [29] A. J. Wheaton et M. Miyazaki, « Non-contrast enhanced MR angiography: physical principles », *J Magn Reson Imaging*, vol. 36, no 2, p. 286-304, août 2012, doi: 10.1002/jmri.23641.
- [30] J. Blacher et al., « Peripheral arterial disease versus other localizations of vascular disease: the ATTEST study », *J Vasc Surg*, vol. 44, no 2, p. 314-318, août 2006, doi: 10.1016/j.jvs.2006.04.002.
- [31] T. R. Foley, E. J. Armstrong, et S. W. Waldo, « Contemporary evaluation and management of lower extremity peripheral artery disease », *Heart*, vol. 102, no 18, p. 1436-1441, sept. 2016, doi: 10.1136/heartjnl-2015-309076.
- [32] M. H. Criqui et V. Aboyans, « Epidemiology of peripheral artery disease », *Circ Res*, vol. 116, no 9, p. 1509-1526, avr. 2015, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.303849.
- [33] F. G. R. Fowkes et al., « Comparison of global estimates of prevalence and risk factors for peripheral artery disease in 2000 and 2010: a systematic review and analysis », *Lancet*, vol. 382, no 9901, p. 1329-1340, oct. 2013, doi: 10.1016/S0140-6736(13)61249-0.
- [34] A. Bura Riviere, S. Bouée, C. Laurendeau, E. Torretton, J. Gourmelen, et F. Thomas-Delecourt, « Outcomes and management costs of peripheral arterial disease in France », *Journal of Vascular Surgery*, vol. 67, no 6, p. 1834-1843, juin 2018, doi: 10.1016/j.jvs.2017.09.041.
- [35] V. Aboyans et al., « Measurement and Interpretation of the Ankle-Brachial Index », *Circulation*, vol. 126, no 24, p. 2890-2909, déc. 2012, doi: 10.1161/CIR.0b013e318276fbc.
- [36] R. J. Hinchliffe et al., « Guidelines on diagnosis, prognosis, and management of peripheral artery disease in patients with foot ulcers and diabetes (IWGDF 2019 update) », *Diabetes Metab Res Rev*, vol. 36 Suppl 1, p. e3276, mars 2020, doi: 10.1002/dmrr.3276.
- [37] M. S. Conte et al., « Global vascular guidelines on the management of chronic limb-threatening ischemia », *J Vasc Surg*, vol. 69, no 6S, p. 3S-12S.e40, juin 2019, doi: 10.1016/j.jvs.2019.02.016.
- [38] R. Collins et al., « Duplex ultrasonography, magnetic resonance angiography, and computed tomography angiography for diagnosis and assessment of symptomatic, lower limb peripheral ar-

- terial disease: systematic review », *BMJ*, vol. 334, no 7606, p. 1257, juin 2007, doi: 10.1136/bmj.39217.473275.55.
- [39] B. Versluis et al., « Magnetic resonance imaging in peripheral arterial disease: reproducibility of the assessment of morphological and functional vascular status », *Invest Radiol*, vol. 46, no 1, p. 11-24, janv. 2011, doi: 10.1097/RLI.0b013e3181f2bfb8.
 - [40] A. Alashi, B. C. Vermillion, et A. J. Sinusas, « The Potential Role of PET in the Management of Peripheral Artery Disease », *Curr Cardiol Rep*, vol. 25, no 8, p. 831-839, août 2023, doi: 10.1007/s11886-023-01904-8.
 - [41] H.-L. Liang, « Doppler Flow Measurement of Lower Extremity Arteries Adjusted by Pulsatility Index », *American Journal of Roentgenology*, vol. 214, no 1, p. 10-17, janv. 2020, doi: 10.2214/AJR.19.21280.
 - [42] V. Aboyans et al., « 2017 ESC Guidelines on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS): Document covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries Endorsed by: the European Stroke Organization (ESO) The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Peripheral Arterial Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and of the European Society for Vascular Surgery (ESVS) », *Eur Heart J*, vol. 39, no 9, p. 763-816, mars 2018, doi: 10.1093/eurheartj/ehx095.
 - [43] U. Frank et al., « ESVM Guideline on peripheral arterial disease », *Vasa*, vol. 48, no Suppl 102, p. 1-79, sept. 2019, doi: 10.1024/0301-1526/a000834.
 - [44] M. D. Gerhard-Herman et al., « 2016 AHA/ACC Guideline on the Management of Patients With Lower Extremity Peripheral Artery Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines », *J. Am. Coll. Cardiol.*, nov. 2016, doi: 10.1016/j.jacc.2016.11.007.
 - [45] S. Spronk, P. T. den Hoed, L. C. W. de Jonge, L. C. van Dijk, et P. M. T. Pattynama, « Value of the duplex waveform at the common femoral artery for diagnosing obstructive aortoiliac disease », *J. Vasc. Surg.*, vol. 42, no 2, p. 236-242; discussion 242, août 2005, doi: 10.1016/j.jvs.2005.04.048.
 - [46] J. Descotes et D. Cathignol, « Classification of changes in circulatory rate in the arteries of the lower limbs. Transcutaneous measurement by Doppler effect », *Nouv Presse Med*, vol. 4, no 29, p. 2091-2093, sept. 1975.
 - [47] G. Mahé et al., « Statement for Doppler waveforms analysis », *VASA*, p. 1-9, mai 2017, doi: 10.1024/0301-1526/a000638.
 - [48] E. S. Kim et al., « Interpretation of peripheral arterial and venous Doppler waveforms: A consensus statement from the Society for Vascular Medicine and Society for Vascular Ultrasound », *Vasc Med*, vol. 25, no 5, p. 484-506, oct. 2020, doi: 10.1177/1358863X20937665.
 - [49] G. Mahé et al., « Disparities Between International Guidelines (AHA/ESC/ESVS/ESVM/SVS) Concerning Lower Extremity Arterial Disease: Consensus of the French Society of Vascular Medicine (SFMV) and the French Society for Vascular and Endovascular Surgery (SCVE) », *Ann Vasc Surg*, vol. 72, p. 1-56, avr. 2021, doi: 10.1016/j.avsg.2020.11.011.
 - [50] C. Wen et al., « A high variability of arterial Doppler waveform descriptions exists in China », *Vasc Med*, p. 1358863X20903808, mars 2020, doi: 10.1177/1358863X20903808.
 - [51] L. Omarjee et al., « Heterogeneity of Doppler waveform description is decreased with the use of a dedicated classification », *VASA*, vol. 47, no 6, p. 471-474, oct. 2018, doi: 10.1024/0301-1526/a000724.
 - [52] R. Scissons, « Characterizing Triphasic, Biphasic, and Monophasic Doppler Waveforms: Should a Simple Task Be So Difficult? », *Journal of Diagnostic Medical Sonography*, vol. 24, no 5, p. 269-276, août 2008, doi: 10.1177/8756479308323128.
 - [53] D. Lanéelle, R. Scissons, et G. Mahé, « Inter-observer reliability of a 4-item Doppler ultrasound waveforms classification », *Vasa*, vol. 49, no 6, p. 518-519, oct. 2020, doi: 10.1024/0301-1526/a000906.

- [54] R. Zhao et al., « Inter-rater Reliability of 4-Item Arterial Doppler Waveform Classification System for Description of Arterial Doppler Waveforms », *Front. Cardiovasc. Med.*, vol. 7, 2020, doi: 10.3389/fcvm.2020.584274.
- [55] P. S. Kotval, « Doppler waveform parvus and tardus. A sign of proximal flow obstruction », *J Ultrasound Med*, vol. 8, no 8, p. 435-440, août 1989.
- [56] A. Metairie et al., « Simplification of ankle-brachial-index measurement using Doppler-waveform classification in symptomatic patients suspected of lower extremity artery disease », *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, vol. 9, p. 941600, 2022, doi: 10.3389/fcvm.2022.941600.
- [57] A. Miossec et al., « Arterial doppler waveforms are independently associated with maximal walking distance in suspected peripheral artery disease patients », *Frontiers in cardiovascular medicine*, 2021, doi: 10.3389/fcvm.2021.608008.
- [58] A. Guilcher, D. Laneelle, et G. Mahé, « Use of a Pre-Trained Neural Network for Automatic Classification of Arterial Doppler Flow Waveforms: A Proof of Concept », *Journal of Clinical Medicine*, vol. 10, no 19, Art. no 19, janv. 2021, doi: 10.3390/jcm10194479.
- [59] J.-E. Trihan et al., « Arterial Blood-Flow Acceleration Time on Doppler Ultrasound Waveforms: What Are We Talking About? », *J Clin Med*, vol. 12, no 3, p. 1097, janv. 2023, doi: 10.3390/jcm12031097.
- [60] E. R. Morey-Holton, « The impact of gravity on life - The Impact of the Physical Environment », in *Evolution on Planet Earth*, L. J. Rothschild et A. M. Lister, Éd., London: Academic Press, 2003, p. 143-159. doi: 10.1016/B978-012598655-7/50036-7.
- [61] J. A. H. R. Claassen, D. H. J. Thijssen, R. B. Panerai, et F. M. Faraci, « Regulation of cerebral blood flow in humans: physiology and clinical implications of autoregulation », *Physiol Rev*, vol. 101, no 4, p. 1487-1559, oct. 2021, doi: 10.1152/physrev.00022.2020.
- [62] W. E. Thornton, T. P. Moore, et S. L. Pool, « Fluid shifts in weightlessness », *Aviat Space Environ Med*, vol. 58, no 9 Pt 2, p. A86-90, sept. 1987.
- [63] J. P. Johns, M. N. Vernalis, J. M. Karemaker, et R. D. Latham, « Doppler evaluation of cardiac filling and ejection properties in humans during parabolic flight », *Journal of Applied Physiology*, vol. 76, no 6, p. 2621-2626, juin 1994, doi: 10.1152/jappl.1994.76.6.2621.
- [64] D. Linnarsson et al., « Blood pressure and heart rate responses to sudden changes of gravity during exercise », *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, vol. 270, no 6, p. H2132-H2142, juin 1996, doi: 10.1152/ajpheart.1996.270.6.H2132.
- [65] P. Norsk et al., « Vasorelaxation in Space », *Hypertension*, vol. 47, no 1, p. 69-73, janv. 2006, doi: 10.1161/01.HYP.0000194332.98674.57.
- [66] E. S. Nelson, L. Mulugeta, et J. G. Myers, « Microgravity-Induced Fluid Shift and Ophthalmic Changes », *Life (Basel)*, vol. 4, no 4, p. 621-665, nov. 2014, doi: 10.3390/life4040621.
- [67] L.-F. Zhang et A. R. Hargens, « Spaceflight-Induced Intracranial Hypertension and Visual Impairment: Pathophysiology and Countermeasures », *Physiol Rev*, vol. 98, no 1, p. 59-87, janv. 2018, doi: 10.1152/physrev.00017.2016.
- [68] S. Ogoh et al., « Blood flow in internal carotid and vertebral arteries during graded lower body negative pressure in humans », *Exp Physiol*, vol. 100, no 3, p. 259-266, mars 2015, doi: 10.1113/exp-physiol.2014.083964.
- [69] C. G. Blomqvist, J. V. Nixon, R. L. Johnson, et J. H. Mitchell, « Early cardiovascular adaptation to zero gravity simulated by head-down tilt », *Acta Astronaut*, vol. 7, no 4-5, p. 543-553, 1980, doi: 10.1016/0094-5765(80)90043-0.
- [70] B. Eftekhari, M. Dadmehr, S. Ansari, M. Ghodsi, B. Nazparvar, et E. Ketabchi, « Are the distributions of variations of circle of Willis different in different populations? - Results of an anatomical study and review of literature », *BMC Neurol*, vol. 6, p. 22, juin 2006, doi: 10.1186/1471-2377-6-22.

- [71] V. Papantchev et al., « The role of Willis circle variations during unilateral selective cerebral perfusion: a study of 500 circles », *Eur J Cardiothorac Surg*, vol. 44, no 4, p. 743-753, oct. 2013, doi: 10.1093/ejcts/ezt103.
- [72] A. W. J. Hoksbergen, D. A. Legemate, L. Csiba, G. Csáti, P. Síró, et B. Fülesdi, « Absent collateral function of the circle of Willis as risk factor for ischemic stroke », *Cerebrovasc Dis*, vol. 16, no 3, p. 191-198, 2003, doi: 10.1159/000071115.
- [73] Y.-M. Chuang, C.-Y. Liu, P.-J. Pan, et C.-P. Lin, « Posterior communicating artery hypoplasia as a risk factor for acute ischemic stroke in the absence of carotid artery occlusion », *J Clin Neurosci*, vol. 15, no 12, p. 1376-1381, déc. 2008, doi: 10.1016/j.jocn.2008.02.002.
- [74] L.-F. Zhang, « Vascular adaptation to microgravity », *Journal of Applied Physiology*, vol. 97, no 4, p. 1584-1587, oct. 2004, doi: 10.1152/japplphysiol.00534.2003.
- [75] P. Kerbeci, K. Shoemaker, R. Hughson, A. Roncin, et P. Arbeille, « Tibial and gastrocnemian vein response to LBNP after a 60 day bedrest with and without counter-measures (WISE study) », *J Gravit Physiol*, vol. 14, no 1, p. P57-58, juill. 2007.
- [76] K. I. Iwasaki, R. Zhang, J. H. Zuckerman, J. A. Pawelczyk, et B. D. Levine, « Effect of head-down-tilt bed rest and hypovolemia on dynamic regulation of heart rate and blood pressure », *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, vol. 279, no 6, p. R2189-2199, déc. 2000, doi: 10.1152/ajpregu.2000.279.6.R2189.
- [77] D. Jatuzis, H. Zachrisson, C. Blomstrand, S. Ekholm, J. Holm, et R. Volkmann, « Evaluation of posterior cerebral artery blood flow with transcranial Doppler sonography: value and risk of common carotid artery compression », *J Clin Ultrasound*, vol. 28, no 9, p. 452-460, déc. 2000.
- [78] S. Ogoh et al., « Integrated respiratory chemoreflex-mediated regulation of cerebral blood flow in hypoxia: Implications for oxygen delivery and acute mountain sickness », *Experimental Physiology*, vol. 106, no 9, p. 1922-1938, 2021.
- [79] J. Norcross et al., « Risk of Hypoxia from the Exploration Atmosphere », *National Aeronautics and Space Administration*, vol. Human Health Countermeasures Element, 2015.

Titre : Hémodynamique cérébrale et périphérique dans un contexte de variation de pression de perfusion d'origine environnementale ou pathologique

Résumé : L'hémodynamique occupe une place centrale dans la prise en charge des maladies vasculaires et en physiologie gravitationnelle. Les travaux présentés ici explorent l'analyse spectrale du signal doppler (ou sonogramme) dans l'artériopathie et l'effet de la microgravité sur l'hémodynamique cérébrale. La reproductibilité de l'analyse de sonogramme est faible quelle que soit la classification utilisée ($\kappa=0.522$ [0.520-0.523], $p < 0.005$ avec 4 catégories, $\kappa=0.546$ [0.544-0.547], $p < 0.001$ avec 13 catégories), indépendamment du diplôme ou de l'expérience. La classification à 13 catégories a un taux de déviance faible par rapport aux autres (5% contre 82 à 88%). Ces résultats encouragent à identifier une méthode d'analyse du sonogramme plus reproductible. Les transitions gravitationnelles sont associées à une augmentation des biomarqueurs de rupture de la barrière hémato-encéphalique ainsi que du stress oxydant et nitrosant (augmentation des protéines GFAP et S100 β , augmentation des radicaux libres et réduction du monoxyde d'azote biodisponible, $p < 0,05$). La microgravité entraîne une augmentation sélective rapide du débit sanguin de l'artère carotide externe ($\dot{Q}_{ECA}$, 46% ; $p = 0,030$, mesuré en échodoppler) alors que le débit sanguin cérébral (DSC) reste identique. Les variations de DSC liées à l'hypercapnie (+ 29% $\pm$ 18) ou à l'hypovolémie simulée (- 11% $\pm$ 10) ainsi que la distribution de ce DSC (entre les circulations cérébrales antérieure et postérieure, mesuré en angiographie de flux par résonance magnétique) sont indépendantes de l'anatomie artérielle intracrânienne. Ces résultats encouragent à évaluer l'effet combiné de l'hypoxie et de la microgravité sur le $\dot{Q}_{ECA}$ ainsi que le lien avec les troubles neuro-oculaires associés aux vols spatiaux.

La perspective commune est l'étude des résistances vasculaires périphériques afin d'une part de standardiser les conditions d'acquisition des sonogrammes dans le cadre de l'artériopathie; et d'autre part, d'étudier les potentielles contre-mesures permettant une régulation des débits artériels dans le cadre de la physiologie gravitationnelle.

Abstract: The work presented here explore the spectral analysis of the sonogram and the impact of microgravity on cerebral haemodynamics. The reproducibility of sonogram analysis by classification is low ($\kappa=0.522$ [0.520-0.523], $p<0.005$ with 4 categories, $\kappa=0.546$ [0.544-0.547], $p<0.001$ with 13 categories) independently of the professional's diploma or experience. The 13-category classification had a low deviance rate (5% compared with 82% to 88%). Gravitational transitions can promote a minor rupture of the blood-brain barrier (significant increase in specific biomarkers, $p < 0.05$). Microgravity causes a selective increase in external carotid artery blood flow ($\dot{Q}_{ECA}$, 46%; $p = 0.030$) while cerebral blood flow (CBF) remains unchanged. The variations in CBF associated with hypercapnia (+29% $\pm$ 18) or simulated hypovolaemia (-11% $\pm$ 10) and the distribution of this CBF were independent of intracranial arterial anatomy. These results encourage us to evaluate the combined effect of hypoxia and microgravity on the $\dot{Q}_{ECA}$ as well as the link with the spaceflight associated neuro-ocular syndrome. The common perspective is to study the control of peripheral vascular resistance in order, on the one hand, to standardise the conditions for acquiring sonograms in the context of arteriopathy and, on the other hand, to study potential countermeasures for regulating the arterial flow in the context of gravitational physiology.

Mots clés : Artériopathie ; Sonogramme ; Signal doppler ; Reproductibilité ; Classification ; Physiologie gravitationnelle ; Vol parabolique ; Microgravité ; Débit sanguin cérébral ; Artère carotide externe.

Discipline : Sciences de la Vie et de la Santé.

Laboratoire : Unité INSERM UMR-S 1075 COMETE, Pôle des Formations et de Recherche en Santé, rue des Rochambelles, CS 14032, 14 032 CAEN Cedex, France.